

Mucor Miehei 凝乳酵素로 製造한 Camembert Cheese의

熟成에 關한 研究

朴茂一* · 金鍾禹**

The Ripening of Camembert Cheese Made with Mucor Miehei Rennet

Mooh Il Park* and Jong Woo Kim**

SUMMARY

Mucor miehei rennet(MR) was added as calf rennet(CR) substitutes in the fixed amounts of mixed rennets in making Camembert cheese. The conditions in the variations of chemical composition : water-soluble nitrogen, non-caseinic nitrogen, non-proteinic nitrogen, amino nitrogen, ammoniacal nitrogen, electrophoresis, molecular fractionation, mineral distribution, texture characteristics, free amino acids and free fatty acids, were checked up with the sensory test and the cheese yields at each ripening period. The results obtained by investigating the utility of *Mucor* rennet were summarized as follows :

1. CR cheese, MR cheese and the mixed-rennet cheese failed to show any significant difference in their yields of 15%.
2. The contents of protein, fat and ash in MR cheese gave lower value than CR cheese did and with progress of ripening lactose decreased rapidly after 14 days of ripening. The difference among the rate of addition of *mucor* rennet was not recognized.
3. The WSN contents of 5 fresh sample cheese were from 14.7% to 17.3% and WSN increased from 39.7% to 41.0% with progress of ripening. After 21 days of ripening MR cheese had more WSN than CR cheese did. In NCN and ammoniacal nitrogen MR cheese showed higher value.
4. As the ripening progressed, MR cheese showed more cysteine, phenylalanine and proline than CR cheese did but it failed to show any increase in aspartic acid, threonine and glutamic acid etc.
5. In the content of free fatty acid MR cheese showed higher value than CR cheese did and with the progress of ripening fatty acids increased from 8.36 mEq to 26.36 mEq but did not show any significant dif-

* 忠南大學校 大學院 (Graduate School, Chungnam Nat'l Univ., Taejŏn, Korea)

** 農科大學 酪農學科 (Dept. of Dairy Science, Coll. of Agriculture, Chungnam Nat'l Univ., Taejŏn, Korea)

- ference in the cheese types by the coagulant ratio.
6. Ca contents in the sample chesse were 0.238-0.27%, Mg 0.019-0.022%, Na 0.910-1.047%, and K 0.175-0.200%. The important non-sedimentable Ca in casein remained from 61% to 77% without regard the ripening periods and added-rennets and Mg remained from 59.1% to 92.5% in non-sedimentable and water-soluble conditions.
 7. In the fractionation of protein by ultrafiltration, $MW > 5 \times 10^4$ decreased from 95% at the beginning period of ripening to 45% and $MW < 10^4$ increased from 0.2% to 38% and definite caseinolysis was shown in all samples.
 8. All the cheese showed to different electrophoretic patterns for the added-amounts of mucor rennet in the 14 days of ripenig. In the 28 days or ripening, MR cheese kept some bands on the patterns compared with CR cheese.
 9. In vitro digestibility increased from 81.48-94.81% to 94.47-98.61% but failed to show any significant difference in the cheese types by the coagulant ratio.
 10. In hardness, MR cheese showed lower value compared with CR cheese as the ripening progressed.
 11. The results of the sensory test failed to show any difference in flora rind, feelings in mouth and hands, deep structure, flavor and bitterness between CR Camembert cheese and MR Camembert chesse.

緒 言

最近 國民所得의 向上에 따른 食生活의 高級化와 營養水準의 加速的 向上은 牛乳 및 乳製品에 힘입은바 크며 우리나라의 牛乳生産量은 最近 數年間 過剩生産 傾向을 나타낸 바도 있어 그로 인한 生乳의 生産調整 施策이 講究되어져야 할 段階에 直面하여 今後의 牛乳 및 乳製品의 需給不均衡을 如何히 解決하여 가느냐가 時急한 課題로 擡頭되고 있다. 그러나 우리나라의 食品營養에 있어서 牛乳 및 乳製品에 對한 依存率은 아직은 낮으며 繼續하여 增大傾向을 나타내고 있으나 世界主要 先進國의 牛乳 및 乳製品 供給量에 比하면 크게 低調함을 알 수 있다.

오늘날 우리나라의 牛乳市場을 크게 占有하고 있는 製品으로 市乳, 育兒用 粉乳 및 醱酵乳, 煉乳, 머-터등(104)이 主種을 이루고 있으나 消費量이 比較的 큰 市乳, 育兒用 粉乳는 그 市場性의 限界에 達하고 있으며 머-터 亦是 近來 消費者들의 高脂肪食品 忌避現象으로 需要擴大展望이 어려운 便이다. 이에 反하여 近間 主要 先進各國은 勿論 우리나라에서도 cheese 및 醱酵乳의 消費性은 크게 增加하고 있는 實情으로 特히 cheese産業의 展望에 크나큰 期待를 하고 있다. 國內에서 生産 販賣되고 있는 cheese는 自然熟成 cheese가 적고 大部分은 外國으로부터 輸入한 原料 cheese를 使用한 加工 cheese가 市場을 占

有하고 있는 實情이다. 이와같이 純粹한 國產 自然 cheese의 生産이 微微한 것은 大部分 有名 cheese製品들이 6個月 以上の 長期熟成을 要하는 것들로 原料乳의 微生物學的 品質不良은 勿論, 製造管理, 熟成技術上의 問題點 및 投入資本金의 回轉速度가 늦어 企業의 利潤性이 低調함에 있다하겠다. 우리 國民들의 大部分은 아직 純粹 自然cheese의 風味에 接해본 經驗이 적고, 어떤 種類의 cheese가 大部分 國民들의 味覺에 好感을 주게될지도 모르는 實情이다.

本 實驗의 對象이 된 Camembert cheese는 他種 cheese에 比하여 製造熟成期間이 4週間으로 가장 짧은 自然 熟成cheese로, 小規模資本施設로도 生産이 可能하며 投入資本回轉이 빨라 企業規模가 크지 않는 酪農家 共同의 投資設備 내지는 家內 工業의 規模의 設備로도 生産可能 할것으로 豫想되며 Camembert cheese 特有의 強한 風味가 다소 刺戟性이 強한 食品을 選好하는 우리國民의 食性에도 適合한 것으로 生覺된다. cheese는 製造에 使用되는 原料乳의 成分組成과 微生物學的 品質 및 凝乳酵素의 種類, 製造工程등에 그 品質이 크게 좌우되며 이중에서도 cheese 製造에 가장 重要한 것은 凝乳酵素라 할 수 있다. 凝乳酵素에 따라서 cheese의 body, 組織, 風味, 芳香 및 収率이 달라 cheese의 嗜好性과 生産량을 달리하는 것이다. 從來 傳統的으로 cheese 製造에 使用되는 凝乳酵素는 송아지의 第 4胃에 存在하는 蛋白質 凝乳酵素인 rennin과 一部 pepsin이 混合된 calf rennet를 使用하여

왔으나 世界 各國의 急激한 cheese生産 및 消費量 增加는 calf rennet만으로는 需要를 充當할 수 없게 됨에 따라 송아지를 屠殺하여 胃組織으로부터 calf rennet를 얻는 方法을 止揚하고 主로 屠殺되든 송아지는 肉類生産을 爲한 肥肉牛로 飼育하고 代身 더 經濟性이 있고 良質의 cheese를 얻을 수 있는 凝乳酵素 開發을 爲한 代用rennet 研究가 이루어져 왔다. 代用 rennet로서 主要한 것은 植物性, 動物性, 微生物性의 것으로 大別되고 있으며 이중 動物性 代用 rennet로써는 家畜의 胃에서 分離抽出한 pepsin이 있으나 이들 凝乳酵素들은 chymosin에 比하여 蛋白質 分解力이 너무 强하여 casein의 分解가 빠르고 cheese의 比率低下와 不良組織을 보이며 쓴맛을 發生시키기 때문에 쓴맛除去와 風味改善을 爲하여 單獨使用보다는 pepsin과 rennet의 1:1 混合酵素劑가 쓰이고 있다(24, 28).

植物性 凝乳酵素로는 papain, ficin, bromelin, ricin 등이 쓰이고 있으나 역시 蛋白質分解力이 너무 强하여 pepsin에서와 같은 結果를 보여 産業的 規模로는 使用되지 못하고 있는 實情이다. 微生物代用 rennet의 研究는 가장 活發하게 進行되어 其中 主要한 것으로는 Bacteria 由來의 것과 곰팡이 由來의 것이 있고 곰팡이 凝乳酵素로는 *Endothia parastica*, *Mucor pusillus*, *Mucor miehei* 등에서 分離한 蛋白質 分解酵素가 여러가지 商品名으로 市販되고 있으며 그 使用實驗例(100)가 變質의 長期熟成 cheese에 集中되고 있고 他種 cheese와 달리 *Penicillium camemberti*라는 흰 곰팡이가 starter로 cheese 表面에 塗布되어 成長하면서 cheese 熟成에 크게 關與하는 Camembert cheese에 適用한 研究가 國內에서는 發見할 수 없었고 外國의 境遇에서도 깊은 實驗事例를 찾아볼 수 없는 實情으로 本 研究는 短期熟成 自然 cheese인 Camembert cheese에 *Mucor miehei*로 부터 分離抽出한 微生物 凝乳酵素를 利用하여 製造한 cheese의 熟成 過程中的 理化學的 變化와 組織特性等을 調查하여 보다 經濟性이 있고 國民保健向上에 寄與할 수 있는 良質의 短期熟成 自然 cheese 生産技術의 基礎資料를 얻고자 實施하였다.

研究史

cheese 製造의 第1段階는 curd의 造成이며 curd는 牛乳를 乳酸이나 rennet 等の 凝乳酵素로 凝固시킨

것으로 그 主成分은 蛋白質, 脂肪 및 水分이며 其他 牛乳成分은 약간 含有되어 있는 程度에 지나지 않는다(101). 哺乳中인 송아지의 第4胃에서 分離抽出되는 凝乳酵素 chymosin은 牛乳中에 colloid狀態로 存在하는 casein micelle(60)의 表面에 分布되어 있는 k-casein을 para-k-casein micelle과 glyco-macropetide로 分解시키고(9) 이때 casein micelle은 安定性을 喪失하고 Ca^{++} 과 結合하여 牛乳를 凝固시켜 curd를 만든다(31, 60). 이때 curd中에 一部 남아있게 되는 rennet은 cheese製造時 添加된 starter 微生物, 原料乳自體內的 微生物 等과 서로 作用하여 cheese熟成中 各 casein을 分解하여 peptide, amino酸等の 低級化合物을 生成함으로써 cheese의 風味와 組織을 갖게 한다(12, 100).

即 添加된 凝乳酵素는 그 自體의 生化學的, 微生物學的, 酵素的 및 物理的 活動의 結果로써, 最終 얻어지는 cheese의 特性 即 body, 組織, 風味, 芳香面에서 影響을 준다(86). 한편 rennin 以外에도 牛乳를 凝固시키는 酵素는 自然界에 널리 存在하고 있어 보다 經濟性있는 凝乳酵素 即 代用 rennet를 얻기위한 研究가 進行되었으며 이들 凝乳酵素의 分析을 爲한 研究(4, 34)가 發表된바 있으나 돼지의 pepsin을 除外한 動物性, 植物性 等 大部分의 凝乳酵素들은 calf rennet과 달리 蛋白質 分解作用에 問題가 있어서 바람직하지 못한 것으로 報告된바 있다.

따라서 보다 經濟性있고 calf rennet과 類似한 蛋白質分解力을 갖고있는 cheese製造에 適合한 凝乳酵素 開發을 爲한 研究가 微生物을 對象으로 活發히 이루어져서 Bacillus屬의 박테리아(17), 酵母(3), Aspergillus屬(71, 72), Rhizopus屬(97), Penicillium屬(1) 등 곰팡이의 蛋白質 分解酵素를 對象으로 cheese製造用 凝乳酵素로서 適合性을 研究 檢討한바 calf rennet보다는 蛋白質分解力이 역시 너무 强하여 cheese製造에 適當치 못한 것으로 報告되었다. 그러나 微生物로 부터 良質의 凝乳酵素를 얻기위한 研究가 繼續되어 *Endothia parastica*, *Mucor pusillus*, *Mucor miehei* 등 곰팡이에서 分離抽出한 蛋白質分解酵素는 蛋白質分解力이 calf rennet과 가장 비슷하여 cheese製造用 凝乳酵素로 使用 可能한 것으로 判定되어 이에 關한 研究가 活發히 進行되었다.

Green(28)은 微生物 凝乳酵素의 蛋白質 分解特性에 關하여 研究 結果를 發表하였으며 Sardinas(84)와 Stenberg(90)는 이들 微生物 凝乳酵素의 分離方法 및 分解特性에 關해서 研究하고 또한 Aunstrup(6)과

Charles等(11)은 微生物凝乳酵素의 生産條件, 精製方法 및 特性에 關한 研究結果를 發表한바 있다.

Bech와 Foltman(7)은 *Mucor miehei*(strain CBS No. 37065)로부터 分離한 凝乳酵素의 amino酸 組成을 調査한 結果 이 酵素는 糖蛋白質으로써 aspartic protease에 屬하며 370個의 amino酸 配列에서 N-末端쪽 122個 配列中 49個가 calf chymosin과 類似하다고 하였고 Paquet等(73)은 *Mucor miehei*(NRRL 3169)로부터 分離한 凝乳酵素의 amino酸 組成과 amino酸 配列 順序를 調査하였으며 또한 Edward와 Kosikowski(21)는 calf rennet과 fungal rennet로 Cheddar cheese를 製造하여 熟成過程中 casein의 變化를 調査한 結果 calf rennet은 주로 α -casein을 *Endothia parastica*凝乳酵素는 주로 β -casein을 그리고 *Mucor rennet*은 α -casein과 β -casein을 거의 같은 水準으로 分解시킨다고 電氣泳動實施 結果를 통해서 發表하였다.

Vanderpoorten과 Weckx(92)는 veal rennet과 微生物에서 分離抽出한 凝乳酵素의 蛋白質分解力을 比較하기 爲하여 각 casein溶液과 Gouda cheese를 製造하여 非蛋白態窒素化合物定量 및 電氣泳動을 實施한 結果 全 casein에 對한 分解力은 *Endothia parastica*凝乳酵素가 가장 活發하였고, 그 다음이 *Mucor miehei*凝乳酵素, *Mucor pusillus*凝乳酵素 順序였으며 veal rennet이 가장 늦은 分解力을 나타냈음이 非蛋白態窒素化合物 定量과 電氣泳動 實施 結果로 나타났는데 이러한 傾向은 α -casein, β -casein, k -casein에 對해서도 同一하였으며 veal rennet은 k -casein에 對해서 낮은 分解力을 나타내었고 *Mucor*凝乳酵素는 k -casein 分解物인 para- k -casein을 더욱 빨리 分解하였으며 *Mucor miehei*가 *Mucor pusillus*보다 항상 약간 많은 量의 非蛋白態 窒素化合物을 生成하였다고 報告하였다.

Bendet와 Park(8)은 calf chymosin과 微生物 凝乳酵素로 精製分離된 casein을 分解시킨 結果 α -casein은 *Endothia parastica*凝乳酵素가 가장 많이 分解시켰으며 나머지 凝乳酵素는 비슷한 分解結果가 電氣泳動上에 나타났다고 하였고 Shovers等(88)은 rennin, 微生物 凝乳酵素等을 電氣泳動을 통해서 分離한 結果 *Mucor miehei*凝乳酵素는 單一 band로 나타났으며 다른 rennet과 一部 微生物 凝乳酵素는 2個의 band로 나타났고 凝乳酵素마다 電氣 泳動圖上에서 移動度의 差異가 있었다고 하였다.

Shamsuzzaman과 Harrod(87)는 凝乳酵素가 다른

Cheddar cheese를 製造하였을 때 收率은 calf rennet이 *Mucor miehei*凝乳酵素를 利用한 境遇보다 높았으며 水分含量은 *Mucor miehei*凝乳酵素를 利用한 境遇가 높았고 蛋白質 含量은 calf rennet을 利用한 境遇가 높았다고 發表하였다. 凝乳酵素의 種類에 따라서 蛋白質 分解力이 서로 다르고 이에 따라 形成된 curd의 組織도 달라지는데 Eino(22)등은 凝乳酵素가 다른 Cheddar cheese 組織을 電子顯微鏡으로 調査한 結果 소나 돼지의 pepsin으로 製造한 cheese 組織은 類似했으나 calf rennet으로 製造한 cheese보다 組織이 치밀하였다고 發表하였다. Sood와 Kosikowski(89)는 Cheddar cheese의 熟成促進을 爲하여 微生物 rennet를 添加하였을때 control cheese에 比하여 水溶性 蛋白質과 遊離脂肪酸이 增加하고 protease로 處理할때 α -casein과 遊離 amino酸이 높았음을 報告하였다.

Tsugo 等(103)은 *Mucor pusillus* lindt가 生産하는 微生物 rennet를 使用하여 Gouda type의 processed cheese等을 製造하고 calf rennet cheese와 比較檢討한 結果 *Mucor rennet* cheese는 溶解性이 떨어지고 curd가 물렸으나 數量과 熟成에 나쁜 影響을 주지않아 calf rennet代身 使用할 수 있는것으로 報告하였다.

또한 Kikuchi 等(98)은 微生物 rennet을 使用한 Edam cheese의 製造實驗에서 熟成中에 窒素化合物의 經時的 變化는 *Mucor rennet*가 calf rennet보다 熟成度가 높았고 12% TCA 可溶性 窒素量도 높았음을 報告하였다.

國內에서의 研究結果를 살펴보면 Kim(100)등은 *Mucor rennet*으로 製造한 Cheddar cheese의 一般成分 및 窒素化合物의 變化研究에서 *Mucor rennet*는 calf rennet보다 收率이 낮았고 固形物含量은 높았으며 pH가 높았고 乳清의 蛋白質含量이 높았다. 또한 水溶性窒素化合物과 12% TCA 可溶性 窒素化合物이 높았고 製造直後부터 蛋白質分解가 強하였음을 報告하고 있다.

Camembert cheese는 佛蘭西 Normandie 地方의 Vimoutiers라는 都市 Camembert 마을에서 1705년에 Harel이라는 女人이 처음으로 製造한 것으로 軟質白花皮 cheese의 代表的인 것으로 葡萄酒와 함께 佛蘭西인들의 自尊心의 象徵인 cheese이다(96). 典型的의 佛蘭西 Camembert cheese의 熟成에 關한 研究는 1907년까지 거슬러 올라가며 Lenior(53)는 Camembert cheese의 水溶性 및 암모니아性 窒素들을 定量하였다. 그 以後 比較的 進歩된 方法으로 Trieu-Cuot 等(91)은

Camembert cheese의 熟成期間中 蛋白分解酵素에 依한 蛋白分解度를 電氣泳動法을 通하여 研究하였다. Richard(80)는 生乳로 製造한 Camembert cheese의 表面에 生育하는 菌叢을 調査하였고 Vassal 等(93)은 Camembert cheese의 熟成室에 암모니아 含量을 약간 올려줌으로써 cheese 外部의 pH를 빨리 上昇시키어 蛋白分解度를 緩慢하게 하고 苦味發生을 줄인다고 報告하였다. LeGreat 等(50)은 cheese 熟成中 Ca, Mg, Na, K, Zn, Fe, Cu, NH₃, 無機磷酸鹽等의 cheese 内部擴散을 研究하였다. 한편 熟成中인 Camembert cheese의 物理的 特性이 研究되어 硬度和 부서지는 性質等이 研究(63)되어지고 物性的 特性에 미치는 pH, 窒素, 脂肪, Ca等에 關한 研究가 報告되었다(94). 加鹽時의 水分活性도와 食鹽의 擴散關係는 Hardy(35)와 Mpagana 等(64)이 研究하였으며 Rouseau(82)는 다시 Camembert 表面의 菌叢을 Booker(10)는 Ca-phosphate結晶等을 電子顯微鏡으로 觀察하였다.

Nukada 等(67)은 熟成中의 一般成分의 變化를 調査하고 Kataoka 等(42)은 表面의 蛋白分解活性度, 窒素, pH, 硬도等을 研究 報告하였다.

한편, 微生物 凝乳酵素를 利用하여 Camembert cheese를 製造實驗한 先行研究 事例는 Dolezalek 等(18)이 *Mucor miehei*에서 抽出한 "Rennilase"와 *Bacillus Subtillis*에서 抽出한 "Mirkozym"을 凝乳酵素로 使用하여 calf rennet인 "Lactochym"과 比較 實驗한바 微生物 凝乳酵素쪽이 熟成進行이 빨랐고 各各의 凝乳酵素에 따른 遊離amino酸 및 amines의 pattern에 有意性 있는 差異는 들어나지 않았고 最高 良質의 cheese는 calf rennet인 Lactochym을 使用하였을 때 이고 aldehyde와 methylketones는 利用되는 rennet의 種類에 따른 影響을 받지 않았다고 報告하였다.

다시 Dolezalek 等(19)은 微生物凝乳酵素로 製造한 Camembert cheese의 熟成 및 品質을 研究한 바 Rennilase는 熟成에 끼친 影響에서 calf rennet인 Lactochym에 흡사 하였으나 Lactochym cheese는 相當量의 alkaline peptidases를 含有하고 있어서 바람직하지 못하였으며 顯微鏡의 判讀結果는 Lactochym cheese가 最上이었고 다음이 Rennilase cheese였음을, 그리고 Mikrozym cheese는 熟成進行과 더불어 쓴맛을 增加시켰다고 報告한 바 있다.

材料 및 方法

1. 材 料

1) cheese製造 原料乳

cheese製造에 使用한 原料乳는 大田市 所在 忠南酪農協同組合 市乳處理場에서 受乳한 良質의 混合生乳를 65°C에서 30分間 殺菌한 것을 原料乳로 使用하였다.

2) Starter

starter는 Chr. Hansen Lab.(Copenhagen, Denmark)의 Lactic ferment No.41(*St. lactis* and *St. cremoris*)를 10% 還元脫脂乳에 繼代培養하여 活力을 增加시킨다음 本培養에 使用하였다.

3) 凝乳酵素

cheese製造에 使用된 凝乳酵素中 *Mucor rennet*은 *Mucor miehei* R-58765에서 分離한 凝乳酵素(Sigma Chemical Co. U.S.A)를 使用하였으며 calf rennet은 Denmark Chr. Hansen Lab.의 HA-LA rennet powder를 使用하였다.

4) *Penicillium camemberti*

cheese製造에 使用한 흰곰팡이 *Penicillium camemberti*는 韓國種菌協會에서 分讓받은 *Penicillium camemberti* KFCC 5855를 곰팡이 液體培地에 接種後, 培養하여 使用하였다.

2. 方 法

1) cheese의 製造

本 實驗에 使用한 cheese는 原料乳에 starter를 添加하고 calf rennet, calf rennet(75%)+*Mucor rennet*(25%), calf rennet(50%)+*Mucor rennet*(50%), calf rennet(25%)+*Mucor rennet*(75%) 및 *Mucor rennet*等 5가지 處理의 凝乳酵素를 使用하여 5가지 種類의 cheese를 各各 Fig. 1의 Kosikowski(47)의 方法으로 製造한 後 *Penicillium camemberti* 懸濁液을 cheese表面에 고르게 撒布한 後 18°C, 80±1% R.H.에서 5日間 豫備醱酵시킨 後 *Penicillium camemberti* 生育이 明瞭하게 된 다음 12±1°C, 90±1% R.H.에서 4週間 熟成시켰다.

또한 cheese의 分析實驗을 爲한 試料採取는 熟成時期에 따라 製造直後, 7日, 14日, 21日, 28日別로 採取하여 分析에 使用하였다.

2) 酸度 및 一般組成分

Raw milk

Pasteurization : 65°C 30. min.
 Starter added : Hansen's cheese starter 1%
 CaCl₂ : 0.01%
 Acidity of milk at renneting : 0.22%
 Renneting temp. 30°C
 Required time for milk clotting : 10 min.
 Time from renneting to cutting : 60 min.
 Acidity of whey at cutting : 0.1%
 Temp. of cooking : 38°C
 Moulding : 24 hrs.
 Cutting : 12×2 cm
 Salting : 3%
 Mould Inoculation : 0.004%
 Ripenig : 0→4 weeks
 : Temp. 12°C
 : Humidity 90%

Camembert cheese

Fig. I. Records of manufacturing process.

(1) 酸 度

酸度は酸度測定法에 따라 0.1N NaOH로 適正하여 適定酸度を 計算하였고 pH는 pH Meter(TOA Electric LTD, Japan)로 測定하였다.

(2) 一般組成分

蛋白質, 脂肪, 乳糖은 赤外線 牛乳分析機 (Milko-Scan 104 A/S N, Foss Electronic, Denmark)로 實施하고, 水分 및 灰分은 A. O. A. C. 方法으로 分析하였다.

3) 窒素의 定量

(1) 水溶性窒素化合物(Water-soluble nitrogen ; WSN)定量

Ling(57)의 方法에 따라 cheese 5g을 蒸溜水 約 20 ml을 넣고 잘 粉碎하여 均質化한 다음 4,000×g에서 20分間 遠心分離하여 脂肪을 除去하고 Toyo filter paper No.2 濾過紙를 使用하여 濾過하였으며, 이 過程을 反復하여 最終量이 50ml가 되도록 한 후 Kjeldahl 方法으로 定量하였다.

(2) 非케이스態 窒素化合物(Non caseinic nitrogen ; NCN)

O'keeffe 等(68)의 方法에 따라 供試 cheese 5g을 蒸溜水 10ml에 粉碎 및 均質化한 다음 42°C에서 1時

間동안 靜置시키고 4,000×g에서 20分間 遠心分離하여 脂肪을 除去하였다. 脂肪이 除去된 試料를 2N NaOH를 使用하여 pH 9.0으로 調整하고 30°C에서 1 時間 동안 靜置시킨 다음 다시 2N HCl을 使用하여 pH 4.6으로 調整하고 20,000×g, 0°C에서 90分間 遠心分離한 後 Toyo filter paper No.2 濾過紙를 使用하여 濾過된 上澄液을 Kjeldahl 方法으로 定量하였다.

(3) 非蛋白質態 窒素化合物(Non proteinic nitrogen ; NPN)

Rowland(83)의 方法에 따라 cheese 5g을 蒸溜水 10ml에 粉碎하여 均質化하고 4,000×g에서 20分間 遠心分離하여 脂肪을 除去한 다음 上澄液을 同量의 24 % TCA(Trichloroacetic acid)溶液과 잘 混合한 後 Toyo filter paper No.2 濾過紙를 使用하여 濾過한 溶液을 Kjeldahl 方法으로 定量하였다.

(4) 아미노態 窒素(amino nitrogen)定量

아미노態窒素은 遊離아미노酸 定量時 自動分析計에서 나온 各 아미노酸의 mole 數로부터 窒素를 計算하여 合計를 然後 總窒素의 %로 나타내었다.

(5) 암모니아態 窒素(ammoniacal nitrogen)定量

遊離아미노酸 定量時 용리되어 나오는 NH₃를 重量으로 換算, N를 計算한 다음 總窒素의 %로 나타내었다.

4) 遊離아미노酸(free amino acid)의 定量

遊離아미노酸의 定量은 cheese물 懸탁액에 24 % TCA를 加하여 蛋白質을 除去한 다음 ether로 脂肪과 TCA를 除去하고, 아미노酸 自動分析計(LKB. 4150 ; Alpha)로 分析하였다. 定量된 아미노酸의 量은 總窒素 16g當 各 아미노酸의 g으로 表示하였다.

5) 遊離脂肪酸(free fatty acid) 定量

cheese를 凍結乾燥하여 Soxhlet 장치에 依하여 脂肪 抽出을 한 다음 수기에 中性 Ether-Alcohol 溶液으로 脂肪을 溶解시킨 다음 0.05N NaOH로 滴定하여 mEq로 表示하였고(26), 酸價에 0.28을 곱하여 oleic acidity를 計算하였다(62).

6) 無機物의 定量

NSN 定量時 같은 fraction에서 Na, K, Ca, Mg, P을 定量하기 爲하여 各各의 非沈澱性無機物을 總量의 百分率로 表示하였다.

Na, K, Ca, Mg을 spectral buffer로 Lanthan oxid를 使用하여 原子吸光分析法(56)에 따라 原子吸光分析器

(Pye Unicam Model SP9)을 使用하여 定量하였다.

7) 分子量別 分割

5g의 cheese를 40ml의 2M Na citrate 溶液으로 均質하여 100ml로 채우고 이 溶液을 遠心分離(3,000 rpm)에 依하여 低溫에서 遠心分離한 後 上層의 脂肪을 4°C 低溫에서 濾過하여 脂肪을 除去한 다음 限外濾過하였다.

限外濾過裝置(Standard cell, 150ml 容量, Manhattan 서울)에 cut-off 50,000의 Membrane(Spectrum, USA), 20,000(Spectrum, USA), 10,000(Amicon, USA)로 順次的으로 濾過하였다. 各막에서 濾過後 減少된 N의 量을 全窒素의 %로 表示하였다.

8) 電氣泳動

電氣泳動은 acrylamide 10%로 TEMED와 Ammonium persulfate로 Tris-HCl緩衝溶液(pH 8.3)에서 重合시키고 Stacking gel과 running을 利用하여 SDS 存在下의 150V로 1時間 電氣泳動한후 Blue Coomassie로 染色한 다음, 脫色한후 gel dryer에 乾燥하였다(49).

9) *in vitro* 蛋白質 消化率

1%의 cheese蛋白質懸濁液을 調製한 다음 0.1 N HCl의 pepsin(20mg/100ml)을 製造, 同量 混合한 後 36°C에서 4時間 消化한 後 2次로 0.1N NaOH와 pH 8.0의 phosphate緩衝溶液에 溶解시킨 pancreatin 溶液을 넣고 다시 24時間 消化시키고 24% TCA處理한 後 窒素를 定量하여 總窒素中 NPN의 %로 表示하였다(58).

10) 組織特性調查

cheese의 組織特性은 Harvey 等(36)의 方法을 應用하여 Univresal Testing Machine, Model 1000(Instron Engineering Corp, Canton)을 使用하고 直徑 6 mm의 probe를 利用해 두께 20mm의 chesse를 16mm compression해서 cross head speed 100mm/min,

chart speed 100mm/min, chart magnify 1, deformation은 80% 條件으로 測定하였다.

Hardness는 주어진 變形을 얻기까지 必要한 force 로서, 첫번째 壓着에 依한 curve의 最高 높이를 kg으로 나타내었다.

11) 官能檢査

官能檢査는 Camembert cheese 評價에 準하여 panel을 選拔하여 3角試驗法(77)에 依하여 各 試料를 檢査하였다.

檢査項目은 外皮의 模樣, 觸感, 絶斷面 模樣, 風味, 苦味, 色相等을 calf rennet 群과 比較하여 評價하였다.

結果 및 考察

1. 原料乳의 組成分

原料乳의 組成分을 分析한 結果는 Table 1과 같다.

Table 1에 나타난 原料乳의 組成은 一般成分, 窒素分割 및 酸도에 있어 基準置를 나타내어 cheese 原料乳로서 適合함을 나타내었다.

2. 凝乳酵素의 添加比率에 따른 Camembert cheese의 收率

cheese의 收率은 鹽漬 直後 測定하였고 試料의 乾物量 및 脂肪量으로부터 各 乳組成分의 cheese로의 移動率, G係數(33)等을 計算하였다(Table 2).

Mucor rennet 添加量에 따른 蛋白質 移動率은 77~79%, 脂肪質 移動率 80~83%, 乳糖移動率은 3.2~3.7% 固形分 移動率은 52~54%로 나타났다. 蛋白質의 移動率은 試料處理區間에 有意性 있는 差異를 나타내지 않고 Alais(2)의 數値와 近似한 것으로 表現되어 Mucor rennet量에 따른 蛋白分解로 因한 收率 減少는 없는 것으로 나타났다. 脂肪은 標準值 92% 보다 10%程度 낮아 損失이 認定되고 乳糖은 5%보다 약간

Table 1. Analysis of raw milk for cheese production(%)

Moisture	Protein	Fat	Lactose	Ash	pH	Acidity	NCN/TN	NPN/TN	NSN/TN
87.13	3.46	3.77	4.48	0.77	6.67	0.17	23.00	5.00	48.00

* TN : total nitrogen, NCN : non-caseinic nitrogen,
NPN : non-proteinic nitrogen, NSN : non-sedimentable nitrogen

Table 2. Retention of raw milk constituents and yield in Camembert cheese with different ratio of Mucor rennet

Coagulant ratio*	raw milk kg	Retention % in cheese from raw milk				Coefficient G	Weights	
		total protein %	fat %	lactose %	DM %		cheese kg	yields %
Control	20	78.12	83.31	3.20	53.24	32.47	3.02	15.10
25%	20	79.67	83.33	3.61	53.94	34.03	3.08	15.40
50%	20	78.64	82.25	3.39	53.09	34.59	3.04	15.20
75%	20	79.99	81.44	3.36	52.26	33.26	3.01	15.05
100%	20	77.45	80.06	3.68	52.02	34.34	3.08	15.40

* Mucor rennet/calf rennet



Fig. 2. General appearance of Camembert cheese ripened for 28 days.

낮고 固形分은 50%보다 약간 높으나 이것은 cheese 種類와 季節에 따라 달라질 수 있는 것으로 알려져 있다 (2).

G係數도 32~34로 變化하여 正常範圍를 나타내었다. cheese의 重量은 20kg 原乳에서 3kg을 얻어 重量에 依한 收率은 15% 附近을 나타내었다(Table 2). 熟成 28日이된 Camembert cheese 模樣이 Fig.2에 나타나 있다. 表面 곰팡이(flower rind)는 製造 約 14日頃에 黑色이나 赤色の 반점이 없이 純粹한 白色을 나타내어 典型的인 Camembert cheese의 熟成狀態와 同一하였다.

Table 2에 나타난 結果에 依하면 Tsugo(103) 등이 報告한 Camembert cheese의 收率과는 差異를 나타

내나 이와 같은 結果는 製造時의 條件差異인 것으로 生覺되며 calf rennet와 Mucor rennet과는 差異가 없는 것으로 認定되었다.

3. 凝乳酵素劑의 添加比率에 따른 Camembert cheese whey의 化學的 組成

凝乳酵素劑의 差異와 添加比率에 따른 生産 whey의 化學的 組成成分을 分析한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3에 나타난 凝乳酵素劑 添加比率에 따른 whey 組成成分의 差異는 水分含量에 있어서는 全處理區에 있어 93.6%~93.85%로서 큰 差異가 없었으며 蛋白質에 있어서도 0.70~0.78%로 差異가 없어 Table 2의 蛋白質 移動率의 結果를 認定할 수 있었다. 따라서 乳清中 蛋白質量이 差異없는 것으로 보아 Mucor ren-

Table 3. Chemical composition of whey exuded from Camembert cheese made with different milk coagulant ratio (%)

Coagulant ratio*	Moisture	Protein	Fat	Lactose	Ach
control	93.83	0.76	0.60	4.11	0.50
25%	93.92	0.70	0.60	4.06	0.50
50%	93.79	0.74	0.61	4.04	0.50
75%	93.85	0.80	0.72	4.04	0.51
100%	93.61	0.78	0.87	3.93	0.59

* *Mucor rennet*/calf rennet

net量 增加에 따른 蛋白分解는 없는 것으로 보여진다 (78). 그러나 脂肪이 Table 2에서 約 10%程度 損失이 나타난 것처럼 乳清中 相當한 量(0.6%)이 檢出되었다. (Table 3). 乳糖과 灰分의 量은 正常 水準을 나타내었다(2).

4. 凝乳酵素劑 添加比率에 따른 熟成期間中의 組成分 變化

Camembert cheese를 製造한 後 28日間 熟成하면서 變化된 化學組成分의 變化狀態를 나타내면 Table 4와 같다.

Table 4에 나타난 組成分의 變化를 熟成期間에 따라 살펴보면 製造直後에 42.3~41.9%에 이르던 乾物量이 28일에 이르러서는 49.16~49.40%로 增加하였는 바 이는 熟成中 乾燥에 의한 水分減少이며 따라서 蛋白質, 脂肪, 灰分에 있어서도 근소한 增加를 가져왔다. cheese의 pH는 熟成期間中 4.6에서 부터 6.5附近까지 上昇하였다. 그리고 乳糖도 熟成 14일에는 거의 全部 損失되었다. 이와같은 pH 上昇과 乳糖의 損失은 곰팡이가 乳酸을 炭素源으로 利用하여 分解하고 遊離 NH₂ 基의 出現 및 脫炭酸反應 때문인 것으로 生覺된다 (20, 53, 54, 55, 94, 99). 水分定量에 의하여 乾物量을 計算하고 脂肪定量으로부터 無脂固形分(solids-non-fat, SNF)과 乾物量中 乳脂肪(fat in dry matter, FDM)을 計算하였는바 本 製造에서의 FDM은 50%의 高脂肪으로서 熟成初期의 固定된 乳脂肪이 熟成이 過多하게 進行됨에 따라 脂肪含量이 높아져 法的規制에 抵觸되거나 經濟的 損失을 招來함으로 標準化가 重要하다(61).

5. 凝乳酵素劑의 添加比率과 熟成期間에 따른 各種 窒素의 變化

凝乳酵素劑의 添加比率과 熟成期間에 따라 變化된 WSN, NCN, NPN, 아미노態窒素 및 암모니아態窒素의 變化狀態를 나타내면 Table 5와 같다.

Table 5에 나타난 結果에 依하면 熟成 21일까지 WSN이 *Mucor rennet* 含量增加에 따라 增加하였고 熟成 28일에는 40%까지 上昇하였는바 이 期間에는 添加群에 따른 蛋白分解度의 差異를 나타내지 않았다. NCN과 NPN도 모든 試料에서 熟成 28일까지 35%와 31%로 漸次 增加하였고 熟成 21일까지는 *Mucor rennet* 含量에 따라 두 數値가 若干 增加하였다가 熟成 末期에는 큰 差異가 없었다. 아미노態窒素는 熟成 7일부터 增加하기 始作하여 28일에서는 6% 水準까지 增加하였고 21일까지의 *Mucor rennet* 含量 比率間에는 差異가 없으며 28일에 到達해서는 *Mucor rennet* 含量增加에 따라 아미노態窒素가 增加하였다. 암모니아態窒素도 熟成 7일에 0.16~0.25%에서 熟成 28일에는 0.87~1.22%로 上昇하였으며 이 窒素도 아미노態窒素에서 처럼 熟成 21일부터 *Mucor rennet*의 含量 增加에 따라 增加하였다.

WSN, NCN, NPN들은 熟成 初期에 *Mucor rennet* 含量增加에 따라 增加하였다가 末期에는 差異가 없는 反面 이들보다도 低分子 物質인 아미노態窒素와 암모니아態窒素는 熟成 14일까지는 差異가 없다가 熟成 後半期에 *Mucor rennet* 量 增加에 따라 增加하였다. 이들 5種의 窒素化合物의 定量 結果를 綜合하면 *Mucor rennet*의 添加는 calf rennet보다 過多한 蛋白 分解를 일으키지 않는 것으로 보여진다. WSN의 熟成期間 進行에 따른 增加는 Yamamoto(102), Tsugo(103) 등의 結果와 그리고 NCN은 Kikuchi(99), Nukada(67)의 結果와 一致하였다. 아미노態窒素(102)와 암모니아態窒素(42, 103)도 熟成期間의 進行에 따라 增加하는 傾向을 나타내는데 軟質곰팡이

Table 4. Variation of chemical composition of Camembert cheese during ripening period (%)

Ripening period (days)	Coagulant ratio	pH	DM	Protein	Fat	SNF	FDM	Lactose	Ash
0	control	4.67	42.30	17.90	20.80	21.50	49.17	0.95	4.36
	25%	4.75	42.50	17.90	20.40	22.10	48.00	1.05	4.36
	50%	4.70	42.50	17.90	20.40	22.10	48.00	1.00	4.29
	75%	4.69	42.50	17.70	20.40	22.10	48.00	1.00	4.24
	100%	4.84	41.90	17.40	19.60	22.30	46.78	1.07	4.09
7	control	4.60	46.50	18.20	24.00	22.50	51.61	0.04	4.36
	25%	4.65	46.60	17.90	24.10	22.50	51.72	0.12	4.36
	50%	4.63	46.80	17.80	24.20	22.60	51.71	0.45	4.36
	75%	4.70	46.80	17.70	24.30	22.50	51.92	0.50	4.24
	100%	4.60	47.00	17.70	24.30	22.70	51.70	0.76	4.20
14	control	5.24	47.00	18.90	24.40	22.60	51.91	-	4.30
	25%	5.17	46.50	17.10	24.30	22.20	52.25	-	4.33
	50%	5.10	46.50	17.70	24.20	22.30	52.04	trace	4.33
	75%	5.16	46.20	17.30	24.90	21.30	53.81	-	4.33
	100%	5.10	45.90	17.50	24.70	21.20	53.81	trace	4.36
21	control	5.83	48.10	18.90	24.90	23.20	51.77	-	4.30
	25%	5.75	48.20	18.60	24.90	23.30	51.66	-	4.40
	50%	5.61	48.20	18.50	24.90	23.30	51.66	-	4.41
	75%	5.90	48.20	18.40	24.90	23.30	51.66	-	4.61
	100%	5.81	48.14	18.24	25.20	22.94	52.35	-	4.70
28	control	6.57	49.16	19.60	25.24	23.92	51.34	-	4.32
	25%	6.36	49.38	19.40	25.22	24.16	51.07	-	4.38
	50%	6.19	49.40	19.40	25.30	24.10	51.22	-	4.45
	75%	6.20	49.40	19.40	25.29	24.11	51.19	-	4.52
	100%	6.18	49.36	19.40	25.40	23.96	51.45	-	4.56

* DM : Dry matter, SNF : Solids-non-fat, FDM : Fat in dry matter,
 - : not detectable

cheese에 重要한 特性이고 이러한 增加들은 pH의 上昇과 密接한 關係가 있다(40,94).

한편 正統 Camembert cheese의 熟成에 關한 研究에서 6種의 窒素分割의 結果(40,54)가 本 研究에서의 結果와 비슷하게 一致되었다.

即 正統 Camembert cheese를 Mucor rennet를 利用해 大規模 工場에서 試驗 生産하여 熟成後 窒素分割이나 官能檢査를 實施한 結果 對照群과 비슷하였고 curd의 硬化速度가 약간 느리고 酸性化와 乳清滲出速度는 calf rennet보다 빨라서 이 凝乳酵素는 軟質곰팡이 cheese製造에 適合하다고 하였다(76).

또한 많은 研究들이 Mucor rennet의 蛋白分解 活性도를 實際로 可溶性 casein 溶液에서 測定하여 이 때에 活性도가 calf rennet보다 強力하다고 하였으나 이것은 實際의 cheese製造 條件과는 差異가 있고 苦

味の 出現은 어떤 境遇에서도 酵素와 使用方法的 缺陷에서 오는 것으로 報告하고(2,93) 또 다른 重要한 要因은 calf rennet는 pH에 따라 curd와 乳清에 對한 親和도가 다르고 Mucor rennet는 pH에 關係없이 一定한 親和도를 나타내기 때문인 것으로 報告하고 있다 (38).

6. 遊離 amino酸의 定量

遊離아미노酸의 定量은 熟成도와 嗜好도를 나타내는 또하나의 指標으로써 風味에 重要한 役割을 한다. 遊離아미노酸의 量은 熟成中 水分變化와 蛋白質量의 差異의 效果를 排除하기 爲하여 總蛋白質 100g當 遊離된 各 아미노酸의 g數와 이들의 總量으로 Table 6에 表示하였다.

製造直後의 試料들에서는 本 實驗의 濃縮度에서 遊

Table 5. Changes of various nitrogen form in the Camembert cheese during ripening period(%)

Ripening period (days)	Coagulant ratio	WSN/TN	NCN/TN	NPN/TN	Amino N/TN	Ammonia N/TN
0	control	14.70	9.59	6.51	—	—
	25%	16.00	12.81	6.51	—	—
	50%	16.30	13.17	6.52	—	—
	75%	17.10	14.08	6.53	—	—
	100%	17.30	14.65	6.59	—	—
7	control	18.40	14.53	10.42	2.62	0.25
	25%	19.10	14.54	10.53	2.75	0.24
	50%	10.19	14.56	11.88	2.43	0.23
	75%	19.30	14.58	12.63	2.05	0.16
	100%	19.50	14.96	14.96	2.05	0.16
0	control	33.90	29.70	21.80	3.40	0.29
	25%	34.10	29.70	27.40	3.63	0.35
	50%	34.70	29.60	27.40	3.81	0.37
	75%	35.50	29.80	27.70	4.62	0.38
	100%	37.40	30.20	27.90	3.15	0.27
21	control	35.90	33.40	31.20	3.48	0.48
	25%	37.70	32.80	29.70	4.09	0.52
	50%	38.60	32.80	29.70	4.08	0.42
	75%	39.10	32.80	29.60	4.80	0.47
	100%	39.20	32.10	29.60	5.36	0.60
28	control	41.00	34.30	34.60	6.30	0.87
	25%	40.80	34.60	31.90	5.59	0.98
	50%	40.80	35.20	31.90	5.59	1.03
	75%	40.40	35.70	31.40	5.96	1.12
	100%	39.70	35.90	31.20	8.42	1.22

* coagulant ratio : *Mucor rennet*/calf rennet TN : total nitrogen WSN : water-soluble nitrogen
 NCN : non-caseinic nitrogen NPN : non-proteinic nitrogen

Table 6-1. Free amino acid composition of Camembert cheese at 7 days of ripening made with different ratio of milk coagulants(%)

Amino acid	Coagulant ratio			
	25%	50%	75%	100%
Aspartic acid	0.077	0.090	0.015	0.124
Threonine	0.071	0.023	0.024	0.069
Serine	0.081	0.130	0.037	0.057
Glutamine	0.112	0.463	0.238	0.178
Proline	0.065	0.060	0.064	0.064
Glycine	0.180	0.086	0.017	0.008
Alanine	0.057	0.223	0.021	0.042
Cystein	0.077	0.063	0.041	0.002
Valine	0.058	0.384	0.062	0.003
Methionine	0.065	0.062	0.013	0.093
Iso-leucine	0.138	0.352	0.077	0.005
Leucine	0.145	0.029	0.070	0.005
Tyrosine	0.030	0.062	0.056	0.049
Phenylalanine	0.032	0.080	0.056	0.037
Histidine	1.024	0.516	0.327	0.321
Lysine	0.567	0.456	0.130	0.128
Arginin	0.008	0.004	0.009	0.009
Total	2.787	3.083	1.257	1.239

Table 6-2. Free amino acid composition of Camembert cheese at 14 days of ripenig made with different ratio of milk cogulants(%)

Amino acid	Coagulant ratio				
	control	25%	50%	75%	100%
Aspartic acid	0.321	0.210	0.285	0.476	0.048
Threonine	0.708	0.074	0.089	0.014	0.010
Serine	0.868	0.373	0.422	0.316	0.336
Glutamine	1.700	0.982	0.807	1.418	0.614
Proline	0.911	0.177	0.241	0.194	0.014
Glycine	0.228	0.230	0.267	0.281	0.077
Alanine	0.351	0.137	0.139	0.113	0.006
Cystein	0.161	0.006	0.006	0.086	0.001
Valine	0.214	0.154	0.059	0.161	0.036
Methionine	0.211	0.219	0.118	0.200	0.094
Iso-leucine	0.172	0.152	0.323	0.430	0.255
Leucine	0.501	0.509	0.016	0.075	0.016
Tyrosine	0.230	0.237	0.143	0.192	0.002
Phenylalanine	0.131	0.173	0.541	0.452	0.979
Histidine	0.974	0.698	0.749	0.906	0.495
Lysine	0.350	0.441	0.478	0.519	0.346
Arginin	0.145	0.266	0.005	0.006	0.003
Total	8.086	5.038	4.688	5.839	2.883

Table 6-3. Free amino acid composition of Camembert cheese at 21 days of ripenig made with different ratio of milk cogulants(%)

Amino acid	Coagulant ratio				
	control	25%	50%	75%	100%
Aspartic acid	0.308	0.300	0.283	0.493	0.579
Threonine	0.235	0.299	0.365	0.541	0.671
Serine	0.321	0.252	0.298	0.563	0.511
Glutamine	0.651	0.591	0.830	0.191	0.292
Proline	0.386	0.629	0.619	0.565	0.424
Glycine	0.050	0.016	0.085	0.089	0.105
Alanine	0.056	0.093	0.118	0.104	0.185
Cystein	0.004	0.006	0.011	0.011	0.011
Valine	0.067	0.030	0.085	0.142	0.142
Methionine	0.148	0.116	0.157	0.181	0.188
Iso-leucine	0.301	0.066	0.091	0.146	0.123
Leucine	0.014	0.274	0.290	0.101	0.437
Tyrosine	0.036	0.117	0.114	0.402	0.175
Phenylalanine	0.089	0.078	0.085	0.122	0.133
Histidine	0.701	0.715	0.752	0.904	0.951
Lysine	0.576	0.582	0.533	0.430	0.600
Arginin	0.150	0.145	0.180	0.149	0.125
Total	4.093	4.309	4.896	6.134	6.652

Table 6-4. Free amino acid composition of Camembert cheese at 28 days of ripening made with different ratio of milk coagulants(%)

Amino acid	Coagulant ratio				
	control	25%	50%	75%	100%
Aspartic acid	0.578	0.569	0.330	0.340	0.321
Threonine	1.700	0.611	0.536	0.665	0.939
Serine	0.457	0.384	0.408	0.500	0.723
Glutamine	1.213	1.273	1.279	0.554	0.836
Proline	0.411	0.481	0.241	0.657	0.921
Glycine	0.111	0.115	0.117	0.093	0.198
Alanine	0.186	0.196	0.189	0.176	0.343
Cystein	0.176	0.007	0.008	0.011	0.451
Valine	0.181	0.194	0.185	0.243	0.378
Methionine	0.238	0.244	0.226	0.281	0.414
Iso-leucine	0.174	0.178	0.157	0.187	0.289
Leucine	0.512	0.549	0.572	0.649	0.950
Tyrosine	0.202	0.226	0.264	0.287	0.400
Phenylalanine	0.180	0.183	0.204	0.235	0.362
Histidine	1.027	1.092	1.104	1.214	1.396
Lysine	0.609	0.650	0.773	0.855	1.162
Arginin	0.117	0.122	0.192	0.165	0.136
Total	8.072	7.074	6.785	7.122	10.219

離아미노酸이 檢出되지 않았으며 熟成 1週부터 *Mucor rennet* cheese를 除外하고는 全 試料에서 遊離 아미노酸이 出現 定量되었다. 全 熟成期間을 通하여 各 處理區間과 各아미노酸들간에 相互關係는 찾아볼 수 없었으나 概略적으로 全 아미노酸이 熟成期間동안 增加하였고 特히 總 아미노酸의 量은 熟成 1週에 1.2g 程度에서 3週에는 8g 水準으로 顯著하게 增加하였다. *Mucor rennet*만으로 製造하여 28日間 熟成시킨 cheese試料를 除外한 3週 以後의 試料들은 變變化가 없는 것으로 나타났다. 그리고 熟成 1~2週間에는 MR添加量 增加에 따라 總 아미노酸이 增加하였다.

이러한 結果는 fungal protease로 製造한 Blue cheese (41)의 遊離아미노酸이 正常 製造에서 보다 높은 結果와 一致한다. 熟成期間中 cheese 內的 遊離아미노酸들의 水準以下의 減少나 消滅은 熟成中 脫炭酸反應, 脫아미노反應 그 밖의 生理的 아미노酸이나 amine으로 轉換되거나 methionine이 細菌에 依하여 methanethiol로 轉換되기 때문인 것으로 生覺된다(2, 15, 25, 37, 46).

7. 遊離脂肪酸의 定量

凍結 乾燥한 試料를 Soxhlet장치로 脂肪을 抽出한

Table 7. Variation of total free fatty acid and oleic acid according to ripening (%)

Coagulant ratio	Ripening period (days)									
	0		7		14		21		28	
	mEq	OA	mEq	OA	mEq	OA	mEq	OA	mEq	OA
control	6.12	30.6	9.06	45.30	12.55	62.75	28.15	125.75	25.34	126.70
25%	8.92	44.6	9.20	46.00	9.23	46.15	22.81	114.05	25.34	126.70
50%	9.72	48.6	8.34	41.70	14.72	73.55	22.82	114.10	27.68	138.40
75%	6.51	32.5	9.94	49.70	12.73	63.65	28.24	114.20	27.54	137.70
100%	8.36	41.8	9.21	46.05	15.89	79.45	19.71	98.55	25.36	131.80

* Total free fatty acid : expressed as mEq

Oleic acidity (OA) : Acid degree Value×0.28

다음 0.05N NaOH로 pH 7까지 滴定하여 얻은 數値를 mEq로 換算하고 그 數値에 0.28을 곱하여 oleic酸 값으로 Table 7에 表示하였다.

이 方法의 難點은 抽出 溶媒가 乳脂肪의 特性때문에 全脂肪酸의 抽出이 困難하고 揮發性은 測定할 수 없어 正確한 總 脂肪酸의 量을 測定할 수 없다. 總脂肪酸의 量은 熟成期間이 進行됨에 따라 6에서 27가지 增加하였으나 Mucor rennet 含量間에는 有意性을 나타내지 않았다. rennet의 製造條件이 lipase나 aflatoxin을 含有하지 않아야 하므로(2) Mucor rennet가 脂肪分解를 促進한 것으로는 보이지 않는다. 遊離脂肪酸은 다른 아미노酸 및 C₄이하의 有機酸들과 아울러 cheese의 風味에 重要한 役割을 한다(14, 70).

硬質 cheese에서는 遊離脂肪酸의 量이 10以下이고 곱팡이 cheese에서 높은 數値를 나타내는데 Camembert cheese에서 22를 나타내어 本 研究의 21日 熟成에 該當하였다(20).

8. 無機物의 定量

NSN中の Na, K, Mg 및 P의 含量을 百分率로 나타내면 Table 8과 같다.

casein은 原乳에서 Ca ion의 作用으로 micelle상으로 있다가 chymosin의 作用을 받아 Ca-paracaseinate로 沈澱한다. cheese의 成分인 이 蛋白質이 部分的으로 加水分解 된다면 結合形의 Ca을 遊離시킬 것으로 보아 cheese 5% 水溶液을 超遠心分離한 後 沈澱되지 않은 水溶性 Ca, Mg, Na, K等を 定量하고 總量中 %로 表示하였다(52, 66). 試料中の Ca量은 各 試料의 水分量에 따라 0.238~0.272%, Mg量은 0.019~0.2206, Na은 0.910~1.047, K은 0.175~0.200%로 나타났다. casein에서 重要한 非沈澱性 Ca의 量은 熟成期間과 酵素添加量에 關係없이 61%에서 77%까지 Mg에서는 59.1%에서 95.2%까지 非沈澱性 水溶性으로 남아 있었다. 그러나 硬質의 加熱性(scalding) cheese인 中等度 程度의 Emmental cheese와 Cheddar

Table 8. Mineral distribution of Camembert cheese(%)

Ripening period (days)	Coagulant ratio	Ca			Mg			Na			K		
		T%	NS Ca	NS CA/T%	T%	NS Mg	NS Mg/T%	T%	NS Na	NS Na/T%	T%	NS K	NS K/T%
0	control	0.238	0.147	61.8	0.019	0.018	94.7	0.910	0.280	30.8	0.175	0.075	42.9
	25%	0.241	0.152	63.1	0.019	0.017	89.5	0.922	0.285	30.9	0.175	0.071	40.3
	50%	0.240	0.158	65.8	0.019	0.017	89.5	0.923	0.319	24.6	0.176	0.087	49.4
	75%	0.239	0.173	72.4	0.019	0.016	84.2	0.923	0.319	34.5	0.177	0.089	50.3
	100%	0.239	0.173	72.4	0.021	0.020	95.2	0.918	0.305	33.2	0.177	0.075	42.4
7	control	0.265	0.188	70.9	0.021	0.021	100	1.021	0.388	38.0	0.195	0.087	44.6
	25%	0.264	0.193	73.1	0.021	0.021	100	1.015	0.245	24.1	0.196	0.077	39.3
	50%	0.264	0.222	84.1	0.021	0.021	100	1.016	0.323	31.8	0.192	0.192	47.9
	75%	0.263	0.192	73.0	0.021	0.021	100	1.012	0.340	33.6	0.190	0.073	38.4
	100%	0.264	0.205	77.7	0.021	0.021	100	1.099	0.330	32.7	0.192	0.078	40.6
14	control	0.264	0.205	77.7	0.021	0.019	90.5	0.996	0.328	32.9	0.195	0.078	40.0
	25%	0.265	0.248	93.6	0.021	0.016	76.2	1.003	0.365	36.4	0.194	0.123	63.4
	50%	0.226	0.208	78.2	0.020	0.019	95.0	1.021	0.318	31.1	0.196	0.098	50.0
	75%	0.266	0.213	80.1	0.020	0.017	85.0	1.021	0.318	30.7	0.197	0.096	43.7
	100%	0.265	0.215	81.3	0.022	0.019	86.4	1.021	0.278	27.2	0.196	0.072	36.7
21	control	0.282	0.208	73.8	0.022	0.017	77.3	1.080	0.279	25.9	0.204	0.730	35.8
	25%	0.280	0.214	76.4	0.022	0.016	72.7	1.075	0.295	27.4	0.204	0.087	42.6
	50%	0.281	0.201	71.5	0.022	0.019	86.4	1.076	0.295	27.4	0.201	0.090	44.8
	75%	0.280	0.274	97.8	0.022	0.019	86.4	1.076	0.363	33.9	0.204	0.077	37.7
	100%	0.272	0.205	75.4	0.022	0.018	81.8	1.072	0.495	46.2	0.206	0.070	34.0
28	control	0.272	0.209	76.8	0.022	0.014	63.6	1.041	0.305	29.3	0.191	0.074	38.7
	25%	0.271	0.208	76.7	5.022	0.011	54.5	1.045	0.298	28.5	0.201	0.076	37.8
	50%	0.270	0.208	77.0	1.022	0.014	63.6	1.041	0.280	26.9	0.199	0.081	40.7
	75%	0.271	0.197	72.7	0.022	0.014	63.6	1.036	0.300	29.0	0.197	0.082	41.6
	100%	0.270	0.197	73.0	0.022	0.014	59.1	1.047	0.263	25.1	0.200	0.072	36.0

* T : total NS : non-sedimentable. Coagulant ratio : Mucor rennet/calf rennet

Table 9. Molecular fractionation of protein of Camembert cheese

Ripening period (day)	Coagulant ratio	$5 \times 10^4 < MW$	$5 \times 10^4 > MW < 2 \times 10^4$	$2 \times 10^4 > MW < 10^4$	$10^4 > MW$
0	control	94.7	3.0	0.1	2.2
	25%	94.7	3.7	0.1	1.5
	50%	94.2	4.1	1.5	0.2
	75%	96.7	1.5	0.4	1.4
	100%	95.4	3.4	0.1	1.1
7	control	93.3	2.5	0.8	3.4
	25%	89.3	3.5	3.9	3.3
	50%	95.0	1.0	1.3	2.7
	75%	88.6	7.7	2.0	1.7
	100%	90.3	5.1	3.0	1.6
14	control	72.1	9.5	11.4	7.0
	25%	67.8	8.6	16.1	7.5
	50%	63.0	13.5	15.3	8.2
	75%	65.6	8.0	15.6	10.8
	100%	72.8	4.0	11.2	12.0
21	control	64.8	4.7	14.7	15.8
	25%	69.8	1.4	16.0	12.8
	50%	68.0	7.1	6.9	18.0
	75%	69.9	1.9	12.5	15.7
	100%	61.2	16.3	6.4	16.1
28	control	57.6	15.4	3.4	26.6
	25%	45.1	5.5	12.4	37.0
	50%	49.5	1.8	10.0	38.7
	75%	46.9	6.0	11.3	35.8
	100%	50.3	2.1	13.0	34.6

* NW : Molecular weight. Coagulant ratio : *Mucor rennet*/calf rennet

cheese에서 非沈澱性 Ca과 Mg이 40~60이었다(52). 이러한 差異는 根本的으로 cheese 製造時 Camembert cheese의 curd는 rennet 依存性이 적고 酸性 curd의 性質이 優越하며 rennet性이 강한 硬質 cheese보다 Ca 依存性이 적기 때문인 것으로 보여 진다(2). 原乳에서 由來된 Na와 鹽漬에 의한 NaCl로 因하여 非沈澱性 Na%가 높을 것으로 豫想되었으나 24~51%로 Ca와 Mg보다 낮은 數值를 나타내었다. 한편 Ca이나 Mg과 같은 2價 陽イオン과는 길항적 作用을 하는 K의 可溶性 %는 上記 cheese들에게 67~55%를 나타내었으나(52) 本 實驗에서는 36~63%를 나타내었다.

9. 分子量別 分劃

cheese를 2M Na citrate로 分散시킨 懸液용액을 脫脂하여 5×10^4 , 2×10^4 및 10^4 의 cut-off의 膜을 利用하여 濾過함으로써 cheese의 全蛋白質을 分子量別로 分劃한 結果는 Table 9와 같다.

5×10^4 以上の fraction은 micelle상의 casein, $5 \times 10^4 - 2 \times 10^4$ fraction은 蛋白質로써 micelle상 casein의 解離體나 分解物이고 10^4 의 fraction은 NPN에 該當한다. 이러한 假定은 pH 4.6에서 不溶性과 可溶性을 나누어 各各 實施한 Gel chromatography에서 내린 結論과 相應한다(16).

本 研究에서의 限外 濾過에 의한 蛋白質의 總括的 分劃이 $MW > 5 \times 10^4$ 은 熟成期間이 進行됨에 따라 初期의 95%에서 45%까지 減少되고 $MW < 10^4$ 은 0.2에서 38%까지 增加되어 熟成에 의한 caseinolysis가 明白하였다. 그리고 $5 \times 10^4 - 2 \times 10^4$ 과 2×10^4 fraction에서 熟成 前半期인 2週까지는 前者가 優越하고 後半期인 3~4週에서는 後者의 fraction이 優越하여 熟成은 casein을 一般 Monomer段階로 分解 및 解離하였다가 다시 그 以下の 低分子로 分解하는 것으로 보여진다. 一般的으로 大部分의 蛋白分解 研究에서는 cheese 蛋白質內의 全分子量을 包括하여 分離시킬 수 있는 co-

lumn이 없기 때문에 pH 4.6에서 不溶性과 可溶性 fraction을 別途로 分割을 實施하는데 分子量別 明確한 區分과 그 含量을 定量하기가 어려웠다. 熟成의 蛋白 分解에서 限外 濾過의 利用은 상당히 有用한 것으로 보인다. 한편 Mucor rennet 添加量에 따른 5×10^4 이나 10^4 fraction의 有意性 있는 變化는 나타내지 않았다.

10. Casein의 電氣泳動

凝乳酵素를 달리하여 製造한 Camembert cheese의 熟成段階別 casein의 變化 polyacrylamide gel 電氣泳動은 Fig. 3에 나타나 있다. 製造直後에는 Mucor rennet 含量에 關係없이 變化를 나타내고 있지 않았다. 熟成 7日에서 α -casein의 十極쪽으로 1個의 Band가 出現하여 蛋白分解가 認定되었으나 Mucor rennet 含量에 關係없이 同一한 電氣泳像을 나타내었다. 熟成 14日에서는 顯著的한 蛋白分解가 일어나 電氣泳動現象을

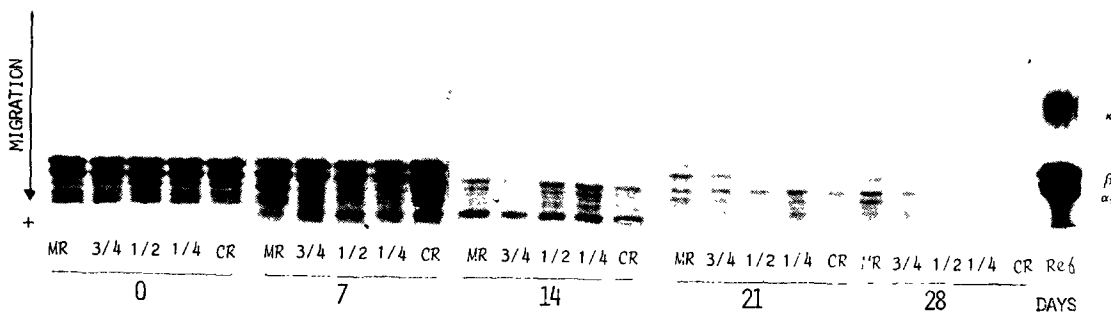


Fig. 3. Electrophoretic patterns of casein in Camembert cheese on polyacrylamide gel electrophoresis at different ripening periods.

심하게 變化시키었는데 各 試料가 公히 β -casein을 거의 分解시키었고 α -casein도 적은 量만 남아 있었다. 熟成 21日에 到達하여 熟成 14日과 비슷한 電氣泳動像을 나타내나 α -casein의 十極의 신속 泳動物質이 消滅되었다. 熟成 28日에는 calf rennet와 1/4 Mucor rennet 試料는 α -casein과 β -casein을 完全히 分解시키고 1/2 Mucor rennet試料는 α -casein만 남고 3/4과 Mucor rennet는 적은 量의 α -casein과 β -casein이 若干 남아 있었다. 分解가 進行됨에 따라 染色性도 減少하고 k -casein 水準에서 如何한 Band도 出現하지 않았다. 以上の 結果를 考察할 때 Mucor rennet는 α -casein을 먼저 分解하였는데 이것은 Scott(86)의 結果와 一致

하는 것으로 電氣泳動像에 依하면 Mucor rennet는 calf rennet보다 蛋白分解가 強하지 않은 것으로 나타났다.

11. Cheese 蛋白質의 *in vitro* 消化率

Rennet의 種類와 混合比를 달리한 Camembert cheese의 熟成에 있어서 *in vitro*消化率들은 이들 處理에 따라 어떤 有意性도 發見되지 않았다. (Table 11). Mucor rennet와 calf rennet가 部分的으로 分解시킨 殘餘 casein은 消化酵素의 蛋白分解等에 影響을 받지않고 또한 熟成이 進行된 蛋白質에 對하여서도 影響이 없는 것으로 간주되었다. 따라서 Koroleczuk等 (45)이 Gouda와 Tilsit cheese의 熟成中 蛋白分解度는

Table 11. Protein digestibility *in vitro* of Camembert cheese

Coagulant ratio	Ripening period(days)				
	0	7	14	21	28
control	99.71	97.75	86.66	99.50	95.84
25 %	81.48	82.95	84.42	93.76	96.84
50 %	94.81	84.30	88.93	86.79	94.61
75 %	84.41	87.26	99.20	83.33	94.47
100 %	82.74	87.30	87.26	84.55	98.61

* coagulant ratio : Mucor rennet/calf rennet

native casein에 比해서 큰 變化가 없다고 報告한 內容과 一致하였다.

12. 組織特性

凝乳酵素劑의 添加比率에 따른 Camembert cheese의 組織特性을 나타내면 Table 12와 같다.

Instron universal testing machine을 使用하여 Camembert cheese의 組織을 週別로 測定한 結果 熟成이 進行되면서 0.53~0.60에서부터 熟成末期에는 0.23~0.21로 減少하였다. 硬度的 減少는 cheese의 骨格蛋白質인 as-casein의 分解에 起因된 것이며(66) Camembert cheese에서 熟成이 進行됨에 따라 硬도가 減少(35, 42, 63, 94)하는 傾向은 本 研究의 結果와 一致하며 Mucor rennet의 含量增加에 따라 硬도가 減少하였는데 이것은 Ramet等(76)의 研究에서도 觀察할 수 있었다.

Table 12. Hardness of Camembert cheese at various ripening period

Ripening peroid(days)	coagulant ratio	Hardenss (kg)
0	control	0.60
	25%	0.59
	50%	0.57
	75%	0.56
	100%	0.53
7	control	0.54
	25%	0.54
	50%	0.53
	75%	0.50
	100%	0.50
14	control	0.47
	25%	0.45
	50%	0.44
	75%	0.38
	100%	0.32
21	control	0.35
	25%	0.27
	50%	0.27
	75%	0.25
	100%	0.25
28	control	0.29
	25%	0.26
	50%	0.26
	75%	0.25
	100%	0.23

* Coagulant ratio : Mucor rennet/calf rennet

13. 官能調査

官能調査는 分析試料 採取直後 우선적으로 實施하였다. 各 酵素添加群 試料들의 百花皮(flower rind)는 全 熟成期間을 通하여 出現速度 等に 아무런 差異를 나타내지 않았으며 Camembert cheese 熟成의 特性인 熟成模樣(不溶性 paste의 可溶性으로 轉換)이 圓心的으로 進行되는 範圍가 同一熟成기간에서 各 酵素添加區사이에 큰 差異를 나타내지 않아 表面곰팡이 *Penicillium camemberti*의 發育이 均一한 것으로 보여졌다. mellowness는 各 酵素群들이 21日頃 出現하였고 그 強度의 差異는 認定되지 않았다. 그밖의 非正常的인 新맛도 認知되지 않았으며 香氣의 強度도 酵素處理區들간에 差異가 없었다. 熟成味나 香味들은 유럽에서 生産된 典型的 Camembert cheese에 比하여 다소 못 미친다고 할 수 있으나 거의 類似하였다. 또한 絶斷等 손으로 取扱하는 가운데 느껴지는 組織感이나 絶斷面의 色相等 역시 各 酵素添加群間에 差異가 認定되지 않았으며 苦味등의 缺點이 나타나지 않았다.

以上の 諸結果를 綜合할때 calf rennet와 Mucor rennet間 및 混合比率間에 Camembert cheese의 收量 差는 거의 없었으며 一般組成分, 遊離脂肪酸, *in vitro* 消化率 및 官能檢査等に 있어서도 凝乳酵素間에 큰 差異를 나타내지 않았고 水溶性窒素, amino態 窒素 및 ammonia態 窒素에 있어서는 熟成期間이 進行됨에 따라 calf rennet에 比하여 Mucor rennet편이 增加하는 現象을 타나냈으며 amino酸의 變化에 있어서도 Mucor rennet편이 높은 amino酸量을 나타내고 있다. 또한 分子量別 分割에 있어서는 熟成에 따라 Mucor rennet편이 적은 分子量으로 分解되는 比率이 높은 것을 알 수 있었고 electrophoresis pattern에 있어서는 熟成의 경과에 따라 Mucor rennet의 band가 消失되는 現象, cheese의 hardenss가 낮아지는 現象등으로 calf rennet處理에 比하여 Mucor rennet處理 및 混合比率의 增加에 따라 分解의 促進 및 熟成期間의 短縮等を 窺할 수 있었다. 따라서 Camembert chesse의 製造에 있어 *Mucor miehei* rennet는 calf rennet一部 代用 내지 混合比率의 增加에 있어 問題가 없는 것으로 解析되고 製造方法의 變化에 따라서는 完全代置가 可能的 것으로 認識되었다.

摘 要

Camembert cheese 製造에 있어 calf rennet의 代替

利用을 爲한 基礎研究로서 *Mucor miehei* 凝乳酵素를 calf rennet와 一定 比率로 混合 添加하고 cheese의 收率, 熟成期間에 따른 一般 成分의 變化, 窒素化合物, 아미노酸, 遊離脂肪酸, 無機物의 變化 및 分子量別 分劃, 電氣泳動, 組織特性 및 官能檢査 研究에서 얻은 結果는 다음과 같다.

1. Camembert cheese의 收率は 15% 로서 calf rennet와 *Mucor rennet*間에는 큰 差異가 없었다.

2. 蛋白質, 脂肪 및 灰分含量은 *Mucor rennet*편이 적었으며 熟成이 進行됨에 따라 乳糖은 14일 以後 急激한 減少現像을 나타내고 添加比率에 따른 差異는 認定되지 않았다.

3. 製造直後 水溶性 窒素量은 14.7~17.3% 였으나 熟成이 進行됨에 따라 39.7~41.0% 로 增加하였으며 熟成 21日에는 calf rennet에 比하여 *Mucor rennet*편이 높았고 非케이스인態 窒素 및 암모니아態 窒素는 21日 以後 *Mucor rennet*편이 높은 增加率을 나타내었다.

4. 熟成이 進行됨에 따라 calf rennet에 比하여 *Mucor rennet*편이 cysteine, phenylalanine 및 proline 등이 增加하였으나 aspartic acid, threonine 및 glutamic acid 등은 減少하였다.

5. 遊離脂肪酸量은 calf rennet에 比하여 *Mucor rennet*편이 높았고 熟成이 進行됨에 따라 8.36 mEq로 부터 26.36 mEq에 이르는 含量 增加를 나타냈으나 處理間에는 有意性있는 큰 差異를 나타내지 않았다.

6. 試料中の Ca量은 0.238~0.272%, Mg量은 0.019~0.002%, Na은 0.910~1.047%, K은 0.175~0.200% 였으며 casein에서 重要한 非沈澱性 Ca量은 熟成期間과 酵素添加重에 關係없이 61% 에서 77% 까지 Mg에서는 59.1% 에서 92.5% 까지 非沈澱性 水溶性으로 남아 있었다.

7. 分子量 50,000以上の 蛋白質은 熟成이 進行됨에 따라 初期의 95% 에서 45% 까지 減少되고 分子量 10,000以下는 0.2에서 38% 까지 增加되어 熟成에 依한 casein의 分解가 確實하였다.

8. 熟成 2週부터 *Mucor rennet*의 添加比率에 따라 casein의 電氣泳動은 다르게 나타났으며 熟成 4週에는 calf rennet 處理區에 比하여 *Mucor rennet* 處理區의 全 band는 다소 殘存함을 볼 수 있었다.

9. *in vitro*消化率은 處理에 따라 81.48~94.81% 로 부터 94.47~98.61% 로 增加하였으며 處理間에는 有意한 差異를 나타내지 않았다.

10. *Mucor rennet* 處理區는 calf rennet處理區에 比하여 Hardness가 낮았으며 熟成이 進行됨에 따라 더욱 減少하였다.

11. 官能檢査 結果 Camembert cheese의 表面狀態, 觸感, 切斷面, 風味 및 苦味 등은 calf rennet와 *Mucor rennet* 處理間에 差異를 認定할 수 없었다.

引用 文 獻

1. Abdel-Fattah, A.F. and N.M. El-Hawwary. 1974. Activity and properties of the *Penicillium citricum* milk clotting enzyme. J. Dairy Sci., 37 : 4416
2. Alais C. 1975. Science du lait-principes des techniques laitiers. 3ème édition, Sepsac, Paris.
3. Alessandro, M. and F. Federico, 1980. Partial purification and characterization of a yeast extracellular acid protease. J. Dairy Sci., 63 : 1397-1402.
4. Andren, A., I. Bjorck and O. Claesson. 1981. Levels of chymosin and pepsin in bovine abomasal mucosa. Neth. Milk Dairy J., 35 : 365-366
5. A.O.A.C. 1980. Official methods of analysis., Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
6. Aunstrup, K. 1976. Enzyme of low proteolytic activity from *Mucor miehei*. U.S. Patent 39 88207.
7. Bech, A.M. and B. Foltman. 1981. Partial primary structure of *Mucor miehei* protease. Neth. Milk Dairy J., 35 : 275-280.
8. Benedet, M.D. and Y.K. Park. 1982. Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis of purified casein fractions treated with milk clot-

- ting enzymes. J. Dairy Sci., 65 : 899-901
9. Bingham, E.W. 1975. Action of rennin on *k*-casein. J. Dairy. Sci., 58 : 13-18
 10. Brooker B.E. 1987. The crystallization of calcium phosphate at surface of mould-ripened cheeses. Food Microstructure, 6 : 25-33.
 11. Charles, R. L. Gertzman and N.Melanchouris. 1970. Microbial rennets from *Mucor Miehei*. U.S. Patent 3549390.
 12. Creamer, L. K., O.Z. Mills and E.L. Richrds. 1971. Action of rennets on the caseins. I. Rennin action on Beta-casein-B in solution. J.Dairy Res., 38 : 269-280.
 13. Creamer, L. K. 1975. Casein degradation in Gouda and Cheddar cheese. J. Dairy Sci., 58 : 287-292.
 14. Cuer A. 1982. Les arômes de fromage. Parfums, Cosmetiques, Aromes, n°44 : 88-92.
 15. Davies L. and Law B. 1984. Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Elvier Applied Science Publishers, London and New York.
 16. Desmazeaud M.J. and Gripon J.C. 1977. General mechanism of protein breakdown during cheese ripening. Milchwissenschaft, 32 : 731-734.
 17. Dimitov, D. and B. Kuprova. 1972. Effect of metallic on activity of enzyme preparation form *Bacillus mesentericus* strain II-11. Promishlenost, 17 : 125-133. Cited from Dairy Sci. Abstr., 35 : 978.
 18. Dolezalek. J., Hlandik J. Brezina P. and Kondrodova B. 1978. The influence of microbial rennet on ripening and quality of Camembert cheese. XX International Dairy Congress, 1 : 490.
 19. Dolezalek J., Kontradova B. 1981. The effect of microbial rennet on ripening and quality of Camembert cheese. in Dairy Science Abstract, 43 : 3898, 475.
 20. Eck A. 1984. Le fromage. Diffusion Lavoisier, Paris.
 21. Edward, J.C. and F.V.Kosikowski. 1969. Electrophoretic patterns in Cheddar cheese by rennet and fungal rennets : Their significance to international classification of cheese varieties. J. Dairy sci., 52 : 1675-1678.
 22. Eino, M.F., D. A. Biggs, D.M. Irvine and D.Stanley. 1976. A comparison of micro structure of Cheddar cheese curd.
 23. Emmanuel, A., and M.L. Green. 1980. Preparation and properties of rennets from lambs and kid's abomasa. J. Dairy Res., 47 : 221-230.
 24. Emmanuel, A., B.C. Vinoglou and J.G. Kandarkis. 1981. Manufacture of Gruyere-type cheese with 50 : 50 rennet/swine pepsin. J.Dairy Res., 48 : 513-518.
 25. Ferchichi M., Hemme D., Nardi M. and Pamboukdjian. 1985. Production of methanethiol from methionine by *Brevibacterium linens* CNRZ 918. J. General Microbiology, 131 : 715-723.
 26. FIL (Fédération Internationale de Laiterie), 1959. Détermination de l'acidité de matière grasse, Norme internationale 6.
 27. Godo Shuseii, K.K. 1969. Milk clotting enzymes and method of preparation. Dairy Sci. Abstr., 31 : 3362.
 28. Green, M.L. 1972. Assessment of swine, bovine and chicken pepsins as rennet substitute for Cheddar cheese making. J. Dairy Res., 39 : 261-273.
 29. Green, M. L. and A. Stackpoole. 1975. The preparation and assessment of a suitable *Mucor pusillus* Lindt. Proteinase-swine pepsin mixture for Cheddar cheese making. J. Dairy Res., 42 : 197-312.
 30. Green, M.L. and 1977. Review of the progress of dairy science : Milk coagulants. : J. Dairy Res., 44 : 159-188.
 31. Green, M.L. and S.V. Morant. 1981 a. Mechanism of aggregation of casein micelles in rennet treated milk. J. Dairy Res., 48 : 57-63.
 32. Green, M. L. M. J. Valler and J. Kay. 1984. Assessment of suitability of Cheddar cheese making of purified and commercial chicken pepsin preparations. J. Dairy Res., 51 : 331-340.
 33. Guérault A. M. 1958. Pour une claire définition du coefficient G. Industire Laitière, 136, 17-18.
 34. Harboe, M. K. 1981. Analysis of milk-clotting en-

- zymes in commercial rennets. *Neth. Milk Dairy J.*, 35 : 367-369.
35. Hardy J. 1985. Diffusion du chlorure de sodium et activité de l'eau des fromages. *Science des Aliments*, 5 : 153-162.
36. Harvey, C. D., H. A. Morris and R. Jennes. 1982. Relation between melting and textural properties of process Cheddar cheese. *J. dairy Sci.*, 65 : 2291-2295.
37. Hemme D. : Bouillanne C. : Métro F. and Desmazeaud M.J. 1982. Microbial catabolism of amino acids during cheese ripening. *Science des Aliments*. 2 : 113-123.
38. Holmes, D.G., J. W. Duetsch and C. A. Ernstrom. 1977. Distribution of milk clotting enzymes between curd and whey and their survival during Cheddar cheese making. *J. Dairy Sci.*, 60 : 862-869.
39. Jacquet J. et Lenoir J. 1954. Sur l'affinage des fromages à Pâte molle du type Camembert. *C.R. Acad. Sci.*, 238, 2201-2203.
40. Jaquet J. et Lenoir J. 1969. Mécanismes intimes de l'affinage des fromages. *Economie et Médecine Animales*, 10 : 38-71.
41. Jolly R.C. and Kosikowski F. V. 1978. Effects of added microbial and animal lipases on protein hydrolysis in blue cheese made with pasturized milk. *J. Dairy Sci.*, 61 : 536-541.
42. Kataoka K, Nukada K, Miyamoto T. and Nakae T. 1987. Changes in hardness and protein degradation during Camembert ripening (Japanese). *Japanese J. Zootechnical Science*, 58 : 356-358.
43. Kato, I., K. Ando, K. Mikawa and T. Yasui. 1980. Action of rennin on casein. III. Effect of Alphas and Beta-casein on the secondary phase. *J. dairy Sci.*, 63 : 25-31.
44. Kim, Y. K., M. Yaguchi and D. Rose. 1969. Isolation and amino acid composition of para k-casein. *J. Dairy Sci.*, 52 : 316-320.
45. Koroleczuk J., Kwassniewska I., Cieslak D., Szkiłladz W., Luczynska A., and Bijork F. 1977. Effect of duration of ripening and storage on nutritive value of protein and proteolytic changes in Gouda and Tilsit-type cheese. *Roczniki Instytutu Przemysłu Mleczarskiego*. 19, 30 in *Food Science and Technology Abstracts*, 2 : 230, 1979.
46. Kosikowski, F.V. 1951. The liberation of free amino acids in raw and pasteurized milk Cheddar cheese during ripening. *J. Dairy Sci.* 34 : 235-241.
47. Kosikowski, F. V. 1977. *Cheese and fermented milk foods*. 2nd ed. Edwards Brothers, Inc., Ann Arbor.
48. Kuzdzal-Savoie S. et Kuzdzal W. 1971. Dosage des acides gras libres volatils dans quelques types de fromages français. *Technique laitière*, n° 717
49. Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structure protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
50. Le Graet Y., Lepienne A., Brûlé G. 1983. Migration du calcium et des phosphates inorganiques dans les fromages à Pâte molle de type de Camembert au cours de l'affinage. *Le lait*, 63 : 317-332.
51. Le Graet Y. et Brûlé G. 1988. Migration des macro et oligoéléments dans un fromage à pâte molle de type Camembert. *Le lait*, 68 : 219-234.
52. Lee B.O., Alais C. 1979. Etude biochimique de la fonte des fromages. I. Mesure de la Lelait 589-590, 59-596.
53. Lenoir J. 1963. Note sur la composition en matières azotées des fromages affinés de Camembert, Saint-Paulin et Gruyère de Comté. *Le lait*, Septembre-Octobre, 1-8.
54. Lenoir J. 1963. Note sur la dégradation des protéides au cours de la maturation du Camembert. *Le lait*, Mars-Avril, 1-11.
55. Lenoir J. 1963. Note sur la composition en matières azotées des fromages affinés de Camembert. Saint Paulin et Gruyère de Comté. *Ann. Technol. Agric.*, 12 : 51-57.
56. Linden G. 1971. Application de la spectrophotométrie d'absorption atomique dans les laboratoires d'industrie alimentaire. *Ind. Alim. Agri.*, 83 : 793.
57. Ling E.R. 1956. *A textbook of dairy chemistry*. London, Chapman et Hall Ltd.
58. Mauron J., Mottu F., Bujard E. and Egli R.H. 1955.

- The availability of lysine, methionine and tryptophan in condensed milk and milk powder. *In vitro* digestion studies. Archives of Biochemistry and Biophysics, 59 : 433-451.
59. McKenzie, H.A. 1971. Milk proteins. Vol. II. Academic Press. New York and London, 3-251.
 60. McMahon, D.J. and R. J. Brown. 1984 a. composition, structure and integrity of casein micelles : A review. *J. Dairy Sci.*, 67 : 499-512.
 61. Mietton B. 1986. La préparation des laits de fromagerie en technologie pâtes molles. *Industrie Alimentaire et Agricoles*, Octobre, 951-963.
 62. Mouillet L., Luquet F.M., Nicod H., Boudier J. F. et Mathieu H., 1981. La lipolyse des laits. Etude d'une méthode rapide de mesure. *Lelait*, 61 : 171-186.
 63. Mpagna M. et Hardy J. 1985. Propriétés de compression et de relaxation des fromages á pate molle. L'influence de l'affinage. *Sciences des Aliments*, 5 : 91-96.
 64. Mpagana M. and Hardy J. 1986. Effect of salting on some rheological properties of fresh Camembert cheese as measured by uniaxial compression. *Milchwissenschaft*. 41 : 210-213.
 65. Mulvihill, D.M. and P. F. Fox. 1979. Proteolytic specificity of chymosin on bovine Alpha s_1 -casein. *J. Dairy Res.*, 46 : 641-651.
 66. Noomen 1978. Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheese (Meshanger type). II. Activity of calf rennet. *Nether. Milk and Dairy J.*, 32 : 49-68.
 67. Nukada K., Miyake R., Nakae T., Kataoka K. and Sueyasu R. 1984. Studies on Camembert cheese ripening. I. Changes in chemical composition during ripening of Camembert cheese (Japanese). *Bulletin of the Okayama Prefectural Dairy Experiment Station*, 21 : 36-49.
 68. O'keeffe, A. M., P. F. Fox and C. Daly. 1976. Contribution of rennet and starter protease to proteolysis in Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, 43 : 97-107.
 69. O'keeffe, A. M., P. F. Fox and C. Daly. 1977. Denaturation of porcine pepsin during Cheddar cheese manufacture. *J. Dairy Res.*, 44 : 335-343.
 70. Okumura J. 1985. Camembert cheese flavour : review. *Koryo (Japanese)*, 148 : 37-45.
 71. Osman, H. G. and A. F. Abdel-Fattah. 1969. Production of a milk clotting enzyme prepared by *Aspergillus niger* and effect of various factors on its activity. *J. Gen. Microbiol.* 59 : 125-139.
 72. Osman, H. G. and A. F. Abdel-Fattah. 1969 a. Purification and some properties of some milk clotting enzyme from *Aspergillus niger*. *J. Gen. Microbiol.*, 59 : 131-135.
 73. Paguet, D., D. Lorient, L. Mejean and C. Alais. 1981. Structural study of a *Mucor miehei* acid proteinase from strain NRRL 3169. : Determination of N-terminal sequence. *Neth. Milk Dairy J.*, 35 : 358-360.
 74. Paquet D., Alais C. 1978. Action de proteases fongiques sur la caseine bovine et ses constituants. *Milchwissenschaft* 33 : 87-90.
 75. Puhon, E. 1966. Purification of milk clotting enzyme from *Bacillus subtilis*. *Dairy congress*. 199-204. Cited from *dairy Sci. Abstr.*, 28 : 3560.
 76. Ramet J. P. et Alais C. 1972. Etude d'une protéase coagulante produite par *Mucor miehei*. II. Utilisation de la Rennilase dans la fabrication de fromage á pâte molle. *Le lait*, 52 : 654-663.
 77. Ramet J. P. 1976. Thèse de Docteur Ingénieur, p.28, 48, Université de Nancy-I, CNRS A. O. 12170.
 78. Reps A., Poznanski S., Zelazomwska H. and Jedrychowski L. 1978. Nitrogen compound in whey produced with microbial rennet substitutes. XX International Dairy Congress, Volume E. 456-457.
 79. Reps A. : Poznanski S., Bauchowski A., Jedrychowski L. 1979. Propriétés des substituts de présure fabriqués á partir de *Mucor miehei*. *Le lait*, 59 : 1-12.
 80. Richard J. 1984. Evolution de la flore microbienne á la surface des Camemberts fabriqués avec du lait cru. *Le lait*, 64 : 496-520.
 81. Rothe G. A. L., Harboe M. K. and Martiny S.C. 1977. Quantification of milk-clotting enzymes in

- 40 commercial bovine rennet, comparing rocket immunoelectrophoresis with an activity ratio assay. *J. Dairy Res.*, 44 : 73-77.
82. Rousseau M. 1984. Study of the surface flora of traditional Camembert cheese by scanning electron microscopy. *Milchwissenschaft*, 39 : 129-134.
83. Rowland S. J. 1939. The precipitation of the proteins in milk. *J. Dairy Res.* 9 : 30-38.
84. Sardinas, J. L. 1972. Microbial rennets. *Advances in applied microbiology*, 20 : 135-157.
85. Sardinas, J. L. 1976. Calf rennet substitutes, process *Biochemistry*. 10-17.
86. Scott, R. 1981. *Cheesemaking Practice*. Elsevier Applied Science Publishers. London and New York.
87. Shamsuzzaman, K. and N. F. Haard. 1983. Evaluation of Harp Seal gastric protease as a rennet substitute for Cheddar cheese. *J. Food Sci.*, 48 : 179-182.
88. Shovers, J., G. Fossum and A. Neal. 1972. Procedure for electrophoretic separation and visualization of milk-clotting enzymes in milk coagulants. *J. Dairy Sci.*, 55 : 1532-1534.
89. Sood, V. K. and F. V. Kosikowski. 1979 a. Accelerated Cheddar cheese ripening by added microbial enzymes. *J. Dairy Sci.*, 62 : 1865-1872.
90. Stenberg, M. 1976. Microbial rennets. *Adv. in applied microbiology*, 20 : 135-157.
91. Trieu-Cuot P. and Gripon J. C. 1982. A study of proteolysis during Camembert cheese during ripening using isoelectric focusing and two-dimensional electrophoresis. *J. Dairy Res.*, 49 : 501-510.
92. Vanderpoorten, R. and M. Weckx, 1972. Break-down of casein by rennet and microbial milk clotting enzymes. *Neth. Milk Dairy J.*, 26 : 59.
93. Vassal L. et Gripon J. C. 1984. L'amertume des fromages à pâte molle de type Camembert : rôle de la présure et *Penicillium caseicola*, moyens de la contrôler. *Le lait*, 64 : 397-417.
94. Vassal L. : Monet V. : Le Bars D. : Roux C. et Gripon J. C. 1986. Relation entre le pH, la composition chimique et la texture des fromages de type de Camembert. *Le lait*, 66, 341-351.
95. Veselova, I. and Ya. Tipografe. 1965. *Aspergillus candidus* as milk-coagulation enzyme. *Pryiki, Biokhim, Mikhim*, 1 : 56-58, cited from *Dairy Sci. Abstr.*, 28 : 200.
96. Viard H. 1980. *Fromage de France*. Dargaud, Montréal, Canada.
97. Wang, M. L., D. I. Ruttle and C. W. Hesseltine. 1969. Milk clotting activity of proteinase produced by *Rhizopus*. *Can. J. Microbiology*, 15 : 99-104.
98. 菊池俊彦, 高藤慎一, 豊田修次, 祐川金次郎, 1968. 微生物レンネットに関する研究(II), 雪印乳業技術研究所報告, 70 : 7-
99. 菊池俊彦, 高藤慎一, 1969. カンマベールチーズの微生物に関する研究(Ⅰ), 日畜會報, 43 : 155~160.
100. 김기성, 1984. Mucor rennet로 제조한 Cheddar cheese의 숙성에 관한 연구, 고려대학교 박사학위논문.
101. 穴釜雄三, 1975. 乳學, p.452, 光琳書院, 東京. 本藤五郎, 吉武充, 1963, チーズの熟成におけるレンネットの作用に関する研究, 畜産試験場研究報告, 3 : 77~84.
102. 津路友吉, 谷口宏吉, 吉野梅夫, 小澤晶子, 有馬啓, 1964. *Mucor pusillus* Lindtの生産する凝乳酵素を用いたチーズ製造に関する研究, 日本畜産學會報, 35 : 229-237.
104. 한국유가공협회, 1988. 유업통계, 우유, 34 : 56-257.