

## 효소 첨가가 U.F. 치즈베이스 slurries의 숙성촉진에 미치는 영향

윤 경·곽해수

서울우유협동조합 기술연구소

### Effects of Commercial Food Grade Enzyme on Acceleration of Ripening in U.F. Cheese Base Slurries

Kyung Yoon and Hae-Soo Kwak

*Institute of Dairy Food Research, Seoul Dairy Co-op.*

#### Abstract

This study was conducted to investigate biochemical characteristics of enzyme-added cheese base slurries during accelerated ripening. Trichloroacetic acid (TCA) soluble nitrogen of cheese base slurries increased rapidly during the first day of ripening and the rate of increase slowed down thereafter. Cheese base slurries showed lower level in the production of the nitrogen than Cheddar cheese slurries. Productions of phosphotungstic (PTA) soluble amino nitrogen also showed similar trends as TCA soluble nitrogen. Electrophoresis revealed that all caseins in both cheese base slurries and Cheddar cheese slurries were hydrolyzed, but whey proteins in cheese base slurries were little hydrolyzed. Cheese base slurries produced free amino acids little more than half of Cheddar cheese slurries. Both slurries showed similar increasing trend in production of short-chain free fatty acids. The specificity of the fatty acids in the slurries was similar to that of natural ripened cheese. The results of this study showed that addition of enzyme was effective to accelerate cheese base ripening.

Key words: cheese base slurries, enzyme, acceleration, ripening

#### 서 론

일반적인 체다치즈의 제조에서는 유지방이 10%, 유단백질이 25% 정도 whey로 유입되므로서 수율이 제한된다. 그래서 최근 치즈제조에 ultrafiltration(U.F.)를 적용하여 수율을 증가시키는 기술이 발전되고 있다. U.F.의 사용은 1969년 프랑스에서 Maubois 등이 최초로 이용하였으며, 현재 유가공 분야에서는 치즈, 발효유 등의 제품에 이용되고 있다. U.F.를 이용한 치즈를 치즈베이스라고 하며 이는 최종치즈의 성분배에 맞고 최적의 품질이 유지되도록 성분조절이 용이하며,  $\beta$ -lactoglobulin과  $\alpha$ -lactalbumin의 손실이 거의 없고, 치즈제조시 케이신 응유효소인 rennet을 사용하지 않는 등, 전통적인 치즈제조방법보다 장점이 있다. 그럼에도 불구하고 가공치즈 제조시 U.F.치즈베이스는 조직의 특성때문에 이용율이 매우 제한되어 있으며(10~30%), 이것을 효과적으로 이용하기 위하여 3개월 정도 숙성해야한다<sup>1)</sup>. 그러나 숙성을 위해서는 낮은 온도의 숙성실(8~10°C), 인건비, 전기료 등이 소요되므로 이를 경비를 최소화하기 위하여

효소처리를 이용하여 치즈베이스의 숙성을 촉진시키는 방법이 효과적이다. 효소를 이용한 치즈숙성을 위하여 단백질가수분해 효소와 지방가수분해효소를 첨가하는 연구에서 여러종류의 단백질 및 지방가수분해효소를 첨가하여 휘발성 산, 가용성 단백질 및 풍미 성분이 촉진되었고<sup>2)</sup> 또한 체다치즈에 시판되는 단백질 및 지방가수분해효소를 혼합하여 첨가한 경우 숙성도가 현저히 증가하였으며<sup>3)</sup>, 체다치즈에 단백질 가수분해효소를 첨가하여 약 60%의 풍미강도를 증가시켰으며<sup>4)</sup>, 돼지 췌장에서 추출한 지방가수분해효소가 체다치즈 숙성 촉진에서 숙성도가 증가하였다<sup>5)</sup>.

이 실험은 치즈베이스의 숙성촉진을 위하여 slurries를 만들어 시판되는 단백질 및 지방가수분해효소를 치즈베이스 slurries에 첨가하여 단시간 숙성하는 동안에 이화학적 특성을 조사하므로써 치즈베이스를 가공치즈 제조에 효과적으로 이용하는데 그 목적을 두었다.

#### 재료 및 방법

##### 치즈베이스 제조

이 실험에 사용한 치즈베이스는 서울우유에 함유된 신선한 원유를 최종조성이 체다치즈와 같도록 표준화하여 HTST 방법으로 살균하고 5°C로 냉각하여 저장탱크에

Corresponding author: Hae-Soo Kwak, Institute of Dairy Food Research, Seoul Dairy Co-op., 1059 Shingil-dong, Ansan, Kyungki-do 425-125, Korea

저장하였으며, 이를 50°C에서 5분간 예열한 후 연속 U.F. 장치에서 U.F. membrane(DDS Co., Module M37/38, Denmark)을 통과시켜 retentate의 고형분을 42.5%로 농축하여 제조되었다. 이 과정에서 diafiltration을 실시하여 retentate 내의 유당을 1%로 감소시켰다. Retentate를 HTST 방법으로 살균하여 28°C로 냉각시킨 다음 2%의 *Streptococcus lactis*와 *Streptococcus cremoris* 혼합균주를 접종하고 32°C에서 18시간 배양시켰으며, 이때 pH가 5.2이었다. 이를 scraped surface heat exchanger (Model No. BP-0200/158, USA Luwa Co.)를 사용하여 총고형물이 62%로 될 때까지 농축하였으며, 농축온도를 45°C로 유지시켰다. 농축이 완료된 치즈베이스는 17 kg의 block 형태로 성형하고 cryovac 포장지로 진공포장한 후 10±2°C에 숙성시키면서 실험에 사용하였다.

#### 치즈베이스 slurries 제조

이 실험에 사용한 치즈베이스의 일반성분은 수분 38.5%, 지방 31.6%, 단백질 24.0%, 그리고 소금 1.36%이었으며 pH는 5.2이었다. 또한 대조구로서 체다치즈는 수분 39.0%, 지방 31.0%, 단백질 23.7% 그리고 소금 1.38%이었으며 pH는 5.3이었다. 이 두 시료를 각각 1 kg 취하여 dice로 자른 후 유화제(Solva 120D, Giuliani, Germany) 5g과 탈이온 증류수 200 ml를 넣어 혼합한 후 72°C에서 8분간 살균하였다. 그리고 40~50°C로 냉각하였으며 *Aspergillus oryzae*에서 기원한 식품등급 단백질가수분해 효소로서 Marshal사(Neutrase)의 것을 3g, Novo (PRD 5030)사의 것을 0.45 AU 첨가하였으며, 돼지 췌장에서 추출한 식품등급 지방 분해 효소로서 Novo사의 것을 30 ml(lipase 3000LU) 혼합하여 진공포장한 후 37±2°C에서 4일간 숙성 시키면서 매일 시료를 채취하였다.

#### 일반성분 분석과 pH 측정

일반성분 중 수분, 회분은 AOAC 방법<sup>(6)</sup>에 따라 분석하였고 지방은 Gerber test로 측정하였으며, 단백질은 micro-Kjeldahl을 이용하여 AOAC 방법<sup>(6)</sup>으로 분석하였다. pH의 측정은 치즈 slurries 10g을 pH meter(HI8418, Microprocessor pH meter, Nr, 02/09/82, Italy)로 측정하였다.

#### TCA 가용성 질소화합물의 정량

TCA(trichloroacetic acid) 가용성 질소화합물의 정량은 Dulle의 방법<sup>(7)</sup>에 따라 실시하였다. 치즈베이스 slurries 20g에 2% sodium citrate 용액 100 ml를 가하고 균질 후 0°C에서 20분간 11,200×g으로 원심분리하여 지방층을 제거한 상정액을 치즈베이스 slurry 균질액으로 하였다. 치즈베이스 slurry 균질액 5 ml에 24% TCA 용액 5 ml를 첨가한 후 0°C에서 15분간 방치하였고 이를 1,800×g으로 15분간 원심분리하고 상정액 0.8 ml를 수집하여 Lowry 등의 방법<sup>(8)</sup>으로 정량하였다. Blank는 24% TCA 용액 5 ml에 2% sodium citrate 용액 5 ml를 첨가한 후

0°C로 만들어 15분간 방치하고 0.8 ml를 취하여 사용하였으며 TCA 가용성 질소화합물의 농도는 tyrosine 표준곡선으로 추정하였다.

#### PTA 가용성 아미노태 질소화합물의 정량

PTA(phosphotungstic acid) 가용성 아미노태 질소화합물의 정량은 Jarret 등의 방법<sup>(9)</sup>에 따라 실시하였다. TCA 가용성 질소화합물 정량에서 사용한 균질액 5 ml에 3.95 M sulphuric acid 3.5 ml와 33.3% phosphotungstic acid 1.5 ml를 첨가하고 혼합하여 4°C에서 24시간 정치하여 단백질을 완전히 침전시키고 이 추출물을 여과(Whatman No.542)하여 여액 1.5 ml를 0.6 M NaOH로 중화하여 10 ml로 만들었다. 이 중화액 0.2 ml를 취하여 이를 탈이온 증류수를 첨가하여 1 ml로 만들고 여기에 4% sodium bicarbonate 용액(pH 8.5) 1 ml와 0.1% 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid(TNBS) 용액 1 ml를 첨가한 후 37°C에서 2시간 방치하고 0.33 M HCl 1.5 ml를 첨가한 후 340 nm에서 spectrophotometer(Shimadzu, UV-265FS, Japan)로 흡광도를 측정하였다. 이 때 아미노태 질소화합물의 농도는 tyrosine 표준곡선으로 추정하였다.

#### 전기영동

시료 치즈베이스 slurries 중 casein의 전기영동은 다음과 같이 실시하였다. 치즈베이스 slurries 10g을 2% sodium citrate(pH 8.2) 50 ml에 녹인 후 다시 1 N-HCl로 pH 4.6으로 조절한 후 4°C에서 4시간 방치하였으며 이를 1,800×g으로 20분간 원심분리하여 pellet을 수집하고, 여기에 증류수 50 ml를 첨가한 후 다시 pH 4.6으로 조절한 후 4°C에서 4시간 방치하였다. 이를 1,800×g으로 20분간 다시 원심분리하여 pellet을 수집한 후 동결건조하였다. 동결건조된 casein Thompson 등<sup>(10)</sup>의 방법으로 9% Cyanogum 41의 전기영동을 실시하였다. 시료 치즈베이스 slurries 중 유청단백질의 전기영동은 다음과 같이 실시하였다. 치즈베이스 slurries 10g을 2% sodium citrate(pH 8.2) 50 ml에 녹인 후 1 N-HCl로 pH 4.6으로 조절하고 4°C에서 4시간 방치하였으며, 이를 1,800×g으로 20분간 원심분리하여 상정액을 수집한 후 Whatman filter paper No.542로 여과한 후 여액을 동결건조하여 유청단백질로 회수하였다. 동결건조된 유청단백질은 Laemmli<sup>(11)</sup>의 방법으로 15% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis를 실시하였으며 이 때 분자량 표준물질로 lysozyme(14,300), β-lactoglobulin(18,400), trypsinogen(24,000), pepsin(34,700), egg albumin(45,000), bovine plasma albumin(66,000)를 사용하였다.

#### 유리아미노산 분석

치즈베이스 slurries 또는 체다치즈 slurries 5g을 증류수 10 ml에 녹인 후 internal standard로 2-aminobutyric acid를 2 μmol/ml 첨가하고 여기에 sulfosalicylic acid 2g을 첨가하여 4°C에서 12시간 방치하였다. 이를 1,800

×으로 20분간 원심분리하여 상정액을 취하고 0.45  $\mu\text{m}$  filter로 여과하여 시료로 사용하였다.

유리아미노산의 전처리는 Lindroth와 Mopper<sup>(12)</sup>의 방법으로 실시하였으며 그 방법은 다음과 같다. *o*-Phthalaldehyde 용액은 270 mg의 *o*-Phthalaldehyde를 ethanol 5 ml에 녹여 사용하였으며 borate buffer로는 0.4 M boric acid를 1 M NaOH로 pH 9.5로 조절하였다. Buffered reagent 용액은 2-mercaptoethanol 200  $\mu\text{l}$ 와 *o*-Phthalaldehyde 용액 5 ml를 borate buffer로 50 ml가 되게 하였으며 사용 24시간 전에 만들어 숙성시켜 사용하였다. 시료의 반응은 시료 20  $\mu\text{l}$ 와 40  $\mu\text{l}$  buffered reagent 용액을 혼합시킨 후 실온에서 30초간 강하게 흔든 후 10  $\mu\text{l}$ 를 주입하여 반응 2분이 지난 때 HPLC를 가동시켰다.

HPLC의 분석조건은 Hodgkin 등의 방법<sup>(13)</sup>을 수정하여 사용하였는데 그 내용은 다음과 같다. 이동상의 A 용액으로는 0.05 M sodium acetate(glacial acetic acid로 pH 6.3)와 B 용액으로는 methanol을 사용하였으며 gradient 조건은 다음과 같이하였다. B 용액을 최초에 17%에서 5분에 20%, 12분에 30%, 15분에 50%가 되게 증가시킨 후 20분에 60%, 23분에 70%가 되게 증가시키고 계속 유지시켰다. Flow rate는 1.2 ml/min, column으로는 Novapak C<sub>18</sub>(3.9 mm×15 cm)를 사용하였고 detector는 fluorescence detector(Shimadzu, FLD-6A, Japan)를 사용하였으며, standard amino acid로는 Pierce H-type(2.5  $\mu\text{mole/ml}$ )을 사용하였다.

#### 유리지방산의 분석

시료 중의 유리지방산의 분석은 Deeth 등의 방법<sup>(14)</sup>에 따라 실시하였으며 분석내용은 다음과 같다. 각 시료 치즈베이스 slurry 1g에 diethyl ether(C<sub>50</sub> internal standard)와 4N 황산 0.1 ml, 무수황산나트륨 3.0g을 가하여 철저히 혼합시킨 후 1~2시간 정지시키고 hexane 5 ml를 가하여 1,000×g에서 10분간 원심분리를 하였다. 상정액을 neutral alumina 1g을 넣은 glass column(i.d. 10 mm)에 통과시켜 hexane-diethylether(v/v 1 : 1)를 분당 3 ml씩 용출시킨 후 alumina를 건조시키고 diisopropyl ether(6% formic acid 1.5 ml 첨가)를 첨가하고 1,800×g에서 5분간 원심분리하고 0.45  $\mu\text{m}$  filter로 여과하여 시료로 사용하였다. 이 시료 1  $\mu\text{l}$ 를 기체 크로마토그래피(GC)에 주입하여 지방산의 정량분석을 하였는데 GC는 Hewlett-Packard 5790A로 flame ionization detector를 사용하였으며 GC Terminal(four level) integrator로 각 유리지방산을 분석하였다. 유리지방산의 분리는 SE-3D(Supelco, Bellefonte, PA)로 충전되어 있는 유리 capillary column(10m×0.75 mm i.d.)으로 하였다. GC의 운반기체로서 질소를 분당 40 ml의 속도로, 수소는 분당 30 ml, 공기를 분당 400 ml로 용출시켰다. 사용한 column oven은 temperature programming하였는데 40°C에서 매분 10°C 승온하여 180°C에 이르러 하였으며, Injec-

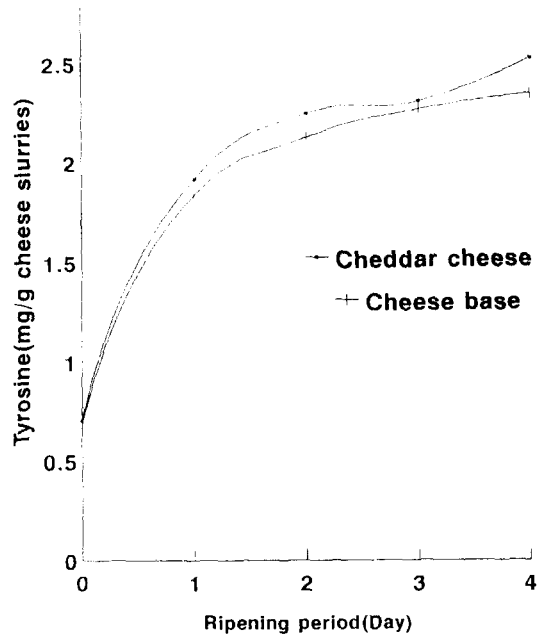


Fig. 1. Production of TCA soluble nitrogen compounds from enzyme-added cheese base and Cheddar cheese slurries during 4 days at 37°C

tor와 detector의 온도는 모두 230°C를 유지하였다. 모든 유리지방산은 표준지방산(Supelco사)의 retention time을 비교하여 확인 정량하였다.

## 결과 및 고찰

#### 일반 성분

실험에 사용된 치즈베이스 slurries의 성분은 단백질 16.4%, 지방 23.5%, 소금 1.1%, 수분 64.1%이었고 pH는 6.45이었으며, 대조군으로 사용된 체다치즈 slurries의 성분은 단백질 17.4%, 지방 23.0%, 소금 1.1%, 수분 64.3%이었으며 pH는 6.50이었다.

#### TCA 가용성 질소화합물

효소처리하여 37°C에서 4일간 숙성시킨 치즈베이스 slurries에서 TCA 가용성 질소화합물의 생성은 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 치즈베이스 slurries는 체다치즈 slurries와 마찬가지로 숙성 첫날에 TCA 가용성 질소화합물의 생성이 매우 급격하게 증가하였으며(1.85 mg Tyrosine/g cheese), 그 후에는 증가 추세가 완만하였다. 이런 현상은 숙성 1일 후에 효소와 기질(치즈)의 작용이 감소하여 일어났으며 치즈가 숙성됨에 따라서 casein이 peptide로 분해되어 TCA 가용성 질소화합물이 증가되는 것으로 추정되었다<sup>(15)</sup>. 숙성 중 두 slurries시료의 TCA 가용성 질소화합물의 함량은 치즈베이스 slurries가 체다치즈 slurries보다 낮은데(평균 0.13 mg/g Tyrosine

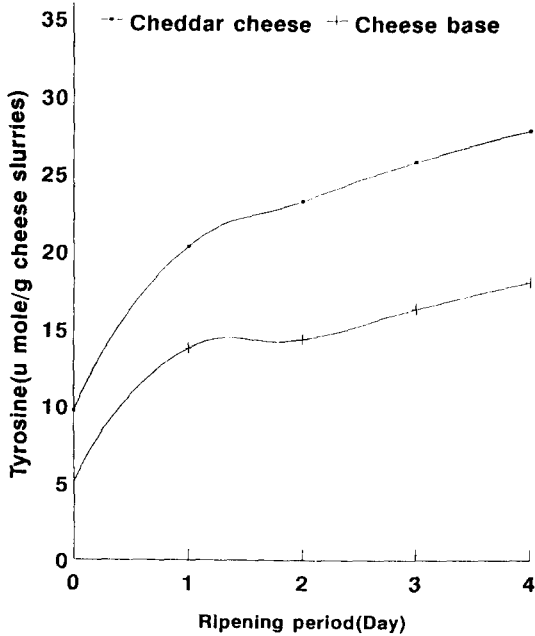


Fig. 2. Production of PTA soluble nitrogen compounds from enzyme-added cheese base and Cheddar cheese slurries during 4 days at 37°C

cheese), 이런 현상은 치즈베이스의 제조시 커드형성 방법이 산 응고인데 반해 체다치즈의 경우는 rennet에 의한 casein micelle의 분해작용으로 rennet이 치즈의 숙성에 더 효과가 있기 때문인 것으로 사료된다<sup>(16)</sup>.

PTA 가용성 아미노태 질소화합물

치즈가 숙성 중 분해되는 과정에서 생성된 peptide가 amino acid로 분해되는 것을 보기 위하여 치즈베이스 slurries와 대조구로서 체다치즈 slurries를 효소처리하여 37°C에서 4일 동안 숙성 중 PTA 가용성 아미노태 질소화합물의 생성결과는 Fig.2에서 나타난 바와 같다. 치즈베이스 slurries는 체다치즈 slurries에서와 같이 PTA 가용성 아미노태 질소화합물은 숙성 첫 날 증가율이 좀 높았으며(14 µmol tyrosine/g cheese) 그 후에는 완만한 추세의 증가율을 보였다. 그러나 PTA 아미노태 질소화합물의 생성량은 TCA 가용성 질소화합물보다 매우 소량 생산되었는데 이와같은 현상은 사용한 protease가 exo-와 endo-type의 protease에 의해 작용하거나 치즈제조시 첨가한 유산균과 치즈자체의 효소, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* 등의 내생성미생물에서 exopeptidase의 효소작용으로 peptide가 유리아미노산의 생성보다 높기때문인 것으로 사료된다. 숙성기간 동안 치즈베이스 slurries와 대조구인 체다치즈 slurries에서 PTA 가용성 아미노태 화합물의 함량차이에서 치즈베이스 slurries가 약간 적었지만(8.3 µmol tyrosine

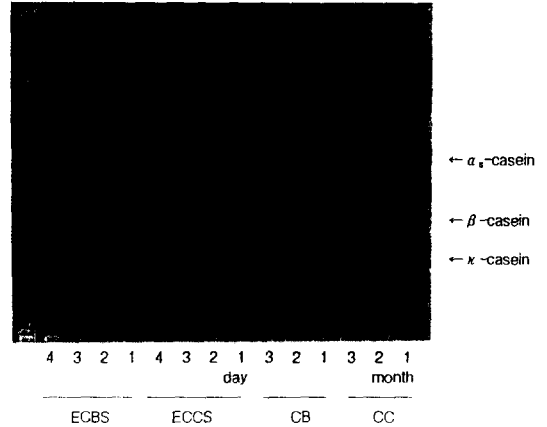


Fig. 3. PAGE patterns of casein in enzyme-treated cheese base slurries (ECBS) and enzyme-added Cheddar cheese slurries (ECCS) during ripening at 37°C for 4 days, and in cheese base (CB) and Cheddar cheese (CC) during ripening at 10°C for 3 months

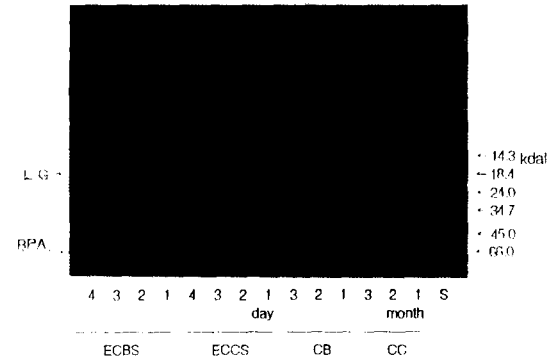


Fig. 4. PAGE patterns of whey proteins in enzyme-treated cheese base slurries (ECBS) and enzyme-added Cheddar cheese slurries (ECCS) during ripening at 37°C for 4 days, and in cheese base (CB) and Cheddar cheese (CC) during ripening at 10°C for 3 months. Abbreviation used: S, Standard; LG, β-lactoglobulin; BPA, Bovine plasma albumin

/g cheese)이 화합물의 함량율에서는 체다치즈 slurries가 치즈베이스 slurries 보다 평균 60% 정도 더 높게 나타났다. 이런 현상은 구상의 단백질인 casein이 rennet에 의해 polypeptide의 3차원적 구조가 unfolding 되므로서 polypeptide의 사슬이 무작위로 풀린 체다치즈가 치즈내의 효소나 미생물의 작용이 산 응고에 의해 제조된 치즈베이스에 비해 용이하기 때문인 것으로 사료된다<sup>(14)</sup>.

전기영동

Polyacrylamide gel 전기영동으로 효소처리한 치즈베이스 slurries와 대조구로서 체다치즈 slurries의 숙성기

**Table 1. Productions of free amino acids in enzyme-treated cheese base slurries and cheddar cheese slurries during 4 day at 37°C**

Amino acids	ECBS*(2 days) (n mole/g cheese)	ECCS**(2 days)
HIS	23.4	48.0
THR	15.7	15.2
TYR	33.2	36.0
MET	36.4	48.9
VAL	18.7	53.9
PHE	25.5	86.8
ALE	20.8	30.9
LEU	40.2	89.4
LYS	75.4	131.5
Total	337.8	624.8
Essential a.a.***	289.3	540.7
Total: Essential	0.856	0.865

\*Enzyme-added cheese base slurries  
 \*\*Enzyme-added Cheddar cheese slurries  
 \*\*\*HIS, THR, TYR, MET, VAL, PHE, ILE, IEU, LYS

간 중 casein과 whey protein의 변화를 보면 Fig. 3과 4에서와 같다. 치즈베이스 slurries와 체다치즈 slurries의 casein변화(Fig. 3)는 숙성 1일만에 두 시료의 casein이 완전히 분해되어  $\alpha$ -casein,  $\beta$ -casein,  $\kappa$ -casein을 뚜렷이 구분할 수 없었으며 이는 Fig. 1과 2에서 관찰한 각종 질소화합물의 변화양상과 일치하는 결과를 나타내었다. 또한 두 시료의 숙성기간에 따른 유청단백질의 변화(Fig. 4)에서는 거의 분해가 진행되지 않음을 나타내었는데, 체다치즈 slurries에서 숙성 1일 후에  $\beta$ -lactoglobulin이 분해 되어 bands를 관찰할 수 없었으며,  $\alpha$ -lactalbumin도 거의 분해하여 bands의 흔적이 약간 관찰 될 뿐이었다. 그러나 치즈베이스 slurries에서는 숙성 중  $\beta$ -lactoglobulin이 거의 분해되지 않았으며,  $\alpha$ -lactalbumin도 숙성 중 일부만 분해되어 bands가 관찰 되었다. 전기영동 실험의 결과로 볼때(Fig. 3) 치즈제조시 starter 균주와 rennet을 이용한 체다치즈 slurries와 starter균주와 산 응고한 치즈베이스 slurries의 숙성 중 카제인의 분해 정도에서는 치즈베이스가  $\kappa$ -casein의 분해를 보인 것 외에는 차이가 거의 없었다. 이런 현상에서 볼때 카제인이 치즈제조시 curd 형성의 방법에서 보다는 숙성 촉진을 위하여 사용한 protease에 의하여 카제인 분해가 더 분명한 것으로 관찰되었다. 체다치즈 slurries와 치즈베이스 slurries의 숙성 중 유청단백질의 분해(Fig. 4) 정도에서는 치즈베이스 slurries는  $\beta$ -lactoglobulin 과  $\alpha$ -lactalbumin이 숙성 3개월 동안에 전혀 분해되지 않은 반면, 체다치즈 slurries의 경우는 치즈제조시에 대부분의 유청단백질이 whey로 유출되고 치즈에 일부 남아있는 유청단백질이 치즈 숙성 중 잔존해 있는 것이 관찰되었다. 그래서 사용한 rennet이 유청단백질을 분해하는 능력이 없는 것으로 사료되며 숙성 촉진을 위하여 사용한 protease는

**Table 2. Concentrations of short-chain free fatty acids from enzyme-treated Cheddar cheese slurries and cheese base slurries during 4 days at 37°C**

cheese type	Time (day)	FFA concentration(ppm)				
		C <sub>4</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>10</sub>	Total
ECCS* (Control)	0	2.9	0.8	0.7	2.8	7.2
	1	10.0	3.2	2.9	10.3	26.4
	2	11.1	3.2	3.0	10.6	27.9
		12.6	3.6	3.3	11.9	31.4
	4	12.7	3.6	3.3	12.0	31.6
ECBS**	0	2.2	0.6	0.5	2.8	6.1
	1	5.8	1.7	1.5	10.3	19.3
	2	6.1	1.9	1.6	10.6	20.2
	3	8.7	2.6	2.2	11.9	25.4
	4	10.9	3.3	2.8	12.0	29.0

\*Enzyme-added Cheddar cheese slurries  
 \*\*Enzyme-added cheese base slurries

**Table 3. Concentrations of short-chain free fatty acids from enzyme-treated Cheddar cheese slurries and cheese base slurries during 4 days at 37°C**

cheese type	Time (day)	Specificity of FFA by ratio(%)			
		C <sub>4</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>10</sub>
ECCS* (Control)	0	40.3	11.1	7.8	38.9
	1	37.9	12.1	11.0	39.0
	2	39.8	11.5	10.8	38.0
	3	40.1	11.5	10.5	37.9
	4	40.2	11.4	10.4	36.0
	mean		39.7	11.5	10.5
S.D.		1.00	0.36	0.50	1.21
ECBS**	0	36.0	9.8	8.2	45.9
	1	30.1	8.8	7.8	53.4
	2	30.2	9.4	7.9	52.3
	3	34.3	10.2	8.7	46.9
	4	37.6	11.4	9.7	41.4
	mean		33.6	9.9	8.5
S.D.		3.39	0.98	0.78	4.92

\*Enzyme-added Cheddar cheese slurries  
 \*\*Enzyme-added cheese base slurries

$\beta$ -lactoglobulin을 모두 분해시켜 bands를 관찰할 수 없었다. 이런 결과와 상이한 현상이 호상요구르트의 발효 중 관찰 되었는데 카제인은 거의 분해가 되지않는 반면, 유청단백질의 분해는 뚜렷하였다<sup>17)</sup>. 이런 현상은 호상 요구르트 제조시 사용한 유산균주의 종류에 따른 결과로 사료된다.

**아미노산**

효소처리한 치즈베이스 slurries와 체다치즈 slurries의 아미노산 생성은 Table 1에서와 같다. 생성된 전체아미노산 함량이 치즈베이스 slurries에서는 337.8로 낮았으며, 체다치즈 slurries에서는 624.8 n mol/g cheese로 매우 높았다. 필수 아미노산의 함량에서도 치즈베이스

slurries에서는 289.3으로 낮았으며 체다치즈 slurries에서는 540.7 n mol/g cheese로 매우 높았다. 전체아미노산과 필수아미노산의 비율에서 치즈베이스 slurries는 0.856이었고 체다치즈 slurries는 0.865로 치즈베이스 slurries보다 약간 높았다. 일반적으로 유청단백질이 필수아미노산 함량이 높지만<sup>(18)</sup>, 이 실험의 결과에서는 반대 현상이 관찰되었는데 그 이유는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 치즈베이스 slurries에서는 유청단백질이 거의 분해되지 않았기 때문인 것으로 사료된다. 아미노산 각각의 생성에 관하여는 치즈베이스 slurries에서 glu, his, ala, val, leu 그리고 lys이 체다치즈 slurries에 비하여 거의 반정도 생산되었다.

### 유리지방산

치즈의 풍미에 중요한 성분은 유리지방산이며 특히 단쇄유리지방산( $C_4-C_{10}$ )이 중요한 역할을 한다<sup>(19)</sup>. 이 실험에서는 상업용 lipase와 protease를 치즈에 처리하여 37°C에서 4일간 숙성 중 치즈베이스 slurries와 대조구인 체다치즈 slurries에서 단쇄유리지방산의 생성함량과 특이성(specificity)을 Table 2과 Table 3에서 각각 알아보았다. Table 2에서 대조구인 체다치즈 slurries의 총단쇄유리지방산은 숙성 첫 날에 급격한 증가를 했으며 그 후에는 증가 추세가 매우 완만하였다. 또한 치즈베이스 slurries의 경우에서도 위와 같은 경향을 보였지만 총단쇄유리지방산의 함량이 체다치즈 slurries에서보다 적었다. 이러한 경향은 단백질 분해물의 생성에서와 유사하였으며 치즈베이스의 제조시 casein이 산에 의해 응고되는데 비하여 체다치즈 제조시 casein이 rennet에 의해 casein micelle의 분해작용이 용이하여 casein과 밀착해있는 유지방이 casein으로부터 떨어지는 비율이 비교적 높아 지방 분해효소의 작용을 용이하게 하기 때문인 것으로 사료된다. 효소를 처리한 시료에서 단쇄유리지방산이 생성되는 특이성을 관찰한 결과(Table 3), 두 시료의 특이성은 효소처리하지 않고 자연 숙성한 체다치즈에식와 유사하였다<sup>(20)</sup>. 체다치즈 slurries의 단쇄유리지방산의 평균 비율은 butyric acid가 39.7%, caproic acid 11.5%, caprylic acid 10.5% 그리고 capric acid 38.0%이었으며, 치즈베이스 slurries의 경우는 butyric acid가 33.6%로 작았고 capric acid는 48.0%로 높았다. 그렇지만 이 두 시료에서의 차이로 보아 같은 group의 범위에 있는 것으로 사료된다<sup>(21)</sup>. 또한 사용한 lipase는 돼지췌장에서 추출한 것이며 그 특이성이 nonspecific이므로 체다치즈의 숙성 촉진 효소로 적합하다고 사료된다. Lipase의 특이성은 일반적으로 반추동물에서 추출한 것은 특이성(specific)이 있어서 butyric acid의 생성이 많으며<sup>(20,22)</sup>, 우유, 췌장, 박테리아에서 추출한 lipase는 유리지방산의 생성에서 특이성이 없다(nonspecific). 일반적으로 lipase의 특이성이 체다치즈에서는 nonspecific한 것이 사용되며, 이탈리아계 치즈의 경우는 specific한 것이 선호된다.

### 요 약

이 실험에서 U.F.를 이용하여 제조한 치즈베이스의 숙성을 촉진시키기 위하여 시판되는 단백질 및 지방가수분해효소를 치즈베이스 slurries에 첨가하여 이화학적 특성을 조사하였다. 치즈베이스 slurries에서 TCA 가용성 질소화합물의 생성은 숙성 첫날에 급격한 증가를 보였고 그 후에는 완만했으며 체다치즈 slurries에서 보다 낮았다. PTA 가용성 아미노태 질소화합물의 생성도 TCA 가용성 질소화합물의 경향과 유사했지만 소량 생성되었다. 전기영동에서 치즈베이스 slurries와 체다치즈 slurries의 카제인이 모두 분해되었으나, 치즈베이스 slurries에서는 유청단백질이 거의 분해되지 않았다. 아미노산 생성에서 치즈베이스 slurries는 체다치즈 slurries에서 보다 매우 적은 함량을 보였다. 단쇄 유리지방산의 생성에서 치즈베이스 slurries는 체다치즈 slurries에서와 유사한 증가를 보였으며, 체다치즈의 자연숙성에서와 유사한 특이성을 나타내었다. 이 실험의 결과, 치즈베이스의 숙성 촉진을 위하여 효소첨가는 효과가 있는 것으로 나타났다.

### 문 헌

1. 장은경, 이경옥, 신용국, 지균홍, 광해수: 체다치즈와 U.F. 치즈베이스를 이용한 슬라이스형 가공치즈의 특성. II. 관능적 특성. 한국낙농학회지, 13, 273(1991)
2. Kosikowski, F.V. and Iwasaki, T.: Changes in Cheddar cheese by commercial enzyme preparations. *J. Dairy Sci.*, 58, 963(1975)
3. Lin, J.C.C. and Jeon, I.J.: Effects of commercial food grade enzyme on free fatty acid profiles in granular cheese. *J. Food Sci.*, 52, 78(1987)
4. Trepanier, G., El Abboudi, M., Lee, B.H. and Simard, R.E.: Accelerated maturation of Cheddar cheese: Influence of added lactobacilli and commercial protease on composition and texture. *J. Food Sci.*, 57, 898(1992)
5. Kwak, H.S., Jeon, I.J. and Park, J.N.: Effects of food grade porcine pancreatic lipase on the production of short-chain fatty acids and its contribution. *Korean J. Food Sci.*, 22, 248(1990)
6. AOAC. 1984. "Official Method of Analysis", 14th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC.
7. Dulle, J.R.: *Aust. J. Dairy Technol.*, 31, 143(1976) (Cited from Aston et al., 1983)
8. Lowry, A.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.T.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265(1951)
9. Jarrett, W.D., Aston, J.W. and Dulle, J.R.: A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.*, 37, 55(1982)
10. Thompson, M.P., Kiddy, P.C., Johnston, J.U. and Weinberg, R.M.: Genetic polymorphism in caseins of cow's milk., II. Confirmation of the genetic control of  $\beta$ -casein variation. *J. Dairy Sci.*, 47, 378(1964)
11. Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during

- the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.*, 227, 680(1970)
12. Lindroth, P. and Mopper, K.: High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amount of amino acids by precolumn fluorescens derivatization with *o*-phthaldialdehyde. *Anal. Chem.*, 51, 1667(1979)
  13. Hodgins, J.C., Howard, P.Y. and Ball, D.M.: An automated device for in situ pre-column derivatization and injection of amino acids for HPLC analysis. *J. Chromatographic Sci.*, 21, 503(1983)
  14. Deeth, H.C., Fitz-Gerald, C.H. and Snow, A.J.: A gas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk and milk products. *New Zealand J. Dairy Sci. and Technol.*, 53, 233(1981)
  15. Aston, J.W., Durward, I.G. and Dulley, J.R.: Proteolysis and flavor development in Cheddar cheese. *Aust. J. Dairy Technol.* 38, 55(1983)
  16. Fox, P.F.: Proteinases in dairy technology. *Neth. Milk Dairy J.*, 35, 233(1981)
  17. 이경옥, 서동순, 김은아, 광해수: 발효시간에 따른 호상요구르트의 이화학적 및 관능적 특성. 서울우유협동조합, 기술연구지, 4, 57(1992)
  18. Hong, Y.H.: Nutritional properties and utilization of bovine whey. *Korean J. Nutr.*, 16, 187(1983)
  19. Patton, S.: Volatile acids and the aroma of Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, 46, 856(1963)
  20. Kwak, H.S., Jeon, I.J. and Perng, S.K.: Statistical patterns of lipase activities on the released of short-chain fatty acids in Cheddar cheese slurries. *J. Food Sci.*, 54, 1559(1989)
  21. Kwak, H.S.: Implication of lipase specificity on aged Cheddar flavor development. *Korean J. Dairy Sci.*, 12, 68(1990)
  22. Harper, W.J.: Lipase systems used in the manufacture of Italian cheese. II. Selective hydrolysis. *J. Dairy Sci.*, 40, 556(1957)

---

(1993년 7월 26일 접수)