



# 아미노산 이화작용에 의한 치즈 풍미 생성

이 원 재  
경상대학교 농생명학부

## Formation of Cheese Flavor Compounds by Amino Acid Catabolism

Won-Jae Lee  
Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University

### ABSTRACT

Catabolism of amino acids, including sulfur-containing amino acids, can be responsible for the development of cheese flavor during ripening. Since accelerating, intensifying, modulating cheese flavor development is of major economical interests, the identification of flavor compounds and enzymes contributing to cheese flavor development needs to be investigated. Generally, two different pathways, which are a transamination pathway catalyzed by aminotransferases and an elimination reaction catalyzed by lyases, potentially lead to conversion of amino acids into flavor compounds. In this review, enzymes and amino acid catabolic pathways responsible for cheese flavor formation will be discussed.

(Key words : cheese flavor, amino acid catabolism, lyase, aminotransferase)

### 서 론

치즈는 대표적인 발효 유제품으로 풍미(flavor)는 치즈 내에 존재하는 각종 휘발성 성분(volatile compound) 들의 조화에 영향을 받으며 치즈 풍미 성분은 대부분 치즈 숙성 기간 동안 생성된다. 숙성 기간 중의 치즈 풍미(flavor) 성분 생성은 아미노산 이화작용(catabolism)과 밀접한 관련이 있다. 특히 황(sulfur) 성분을 함유하는 아미노산(예를 들면, methionine) 이나 방향족(aromatic) 아미노산(예를 들면, tryptophan) 은 주요한 치즈 풍미 성분인 휘발성 황 화합물(volatile sulfur compound) 생성에 필요한 성분으로 알려져 있다(McSweeney와 Sousa, 2000; Smit 등, 2002).

치즈 풍미 성분 생성과 관련된 아미노산 이화작용은 크게 2가지로 나누어질 수 있다. 첫 번째는 아미노기 전이 반응(transamination reaction)으로 아미노산의 아미노기를 keto acid로 전환을 촉진하는 아미노기 전이 효소(aminotransferase)가 관여하는 반응 기작과 두 번째는 아미노산의 side chain 분해와 관련된 리아제(lyase) 기작이 있다(Yvon와 Rijnen, 2001). 이러한 아미노산 이화 작용 결과, Table 1에서 보이는

Table 1. Cheese volatile compounds related to amino acid catabolism(adapted from Urbach, 1995; Yvon and Rijnen, 2001).

Amino acid	Cheese flavor compound
Methionine	Methanethiol
Methionine	Dimethyl disulfide
Cysteine	H <sub>2</sub> S
Phenylalanine	Benzaldehyde
Tyrosine	OH-Phenylacetaldehyde
Tryptophan	Indol-3-acetaldehyde
Valine	2-methyl-propanal
Leucine	3-methyl-butanal

것과 같은 치즈 풍미 성분들이 생성되는데, 주요 화합물로는 methanethiol, dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide 등이 있다.

숙성 과정 중의 치즈 풍미 증진에는 시간과 비용이 많이 소요된다. 따라서 치즈 풍미 생성을 촉진하고 강화하는 것은 경제적 이점을 제공할 수 있다. 단백질 분해, 당 분해, 지방 분해 등의 여러 생화학적 작용들이 관여하는 치즈 풍미 생성 과정 중에서 특히 단백질 분해 작용(proteolysis)은 치즈 숙성의 rate limiting 요인으로 여겨지기 때문에 치즈 숙

\*Corresponding author : Won-Jae Lee, Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, 900 Gazwa-Dong, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea. E-mail : wjleewisc@gnu.ac.kr

성을 촉진시키기 위해 많은 연구가 행하여졌다. 그러나 유산균에 의한 peptidolysis를 강화하거나 유리 아미노산을 첨가하여 치즈 내에서 유리 아미노산 함량을 증가시키는 방법은 치즈 풍미 성분 형성에 크게 영향을 주지 않았다(Christensen 등, 1995; Wallace와 Fox, 1997; Yvon와 Rijnen, 2001). 이러한 연구 결과는 치즈 풍미를 향상시키기 위해서는 단순히 유리 아미노산 함량을 증가시키는 것이 아니라, 유산균이나 *Brevibacterium linens* 같은 치즈 미생물에 의한 아미노산 이화 작용을 연구함으로써 치즈 풍미 성분 생성을 촉진시키거나 강화할 필요성을 제시하였다(Yvon와 Rijnen, 2001). 따라서 본 총설에서는 아미노산의 치즈 풍미 성분으로의 전환과 관련된 치즈 미생물 내의 효소와 대사 작용 경로에 관해 논의하고자 한다.

## 본 론

### 1. 치즈 풍미 관련 리아제(Lyase) 기작

치즈 내에는 적은 양의 유리 아미노산이 존재한다. 황(sulfur) 성분을 함유하는 아미노산 중 하나인 methionine은 체다 치즈 풍미 성분 증진에 필요한 휘발성 황 화합물(volatile sulfur compound)의 전구체(precursor)이며, 치즈 내 존재하는 유리 methionine 함량은 0.02%에서 3% 정도이다(Christensen 등, 1995; Urbach, 1995). Methionine으로부터 치즈 풍미 성분인 methanethiol 생성은 리아제인 methionine- $\gamma$ -lyase에 의해 촉진되며, 또 다른 풍미 성분인 dimethyl disulfide, dimethyl trisulfide는 methanethiol의 산화 작용으로 생성된다(Bonnamme 등, 2000; Soda 등, 1983). Methionine- $\gamma$ -lyase는 pyridoxal-5'-phosphate(PLP) 존재 하에서 활성을 지닌 효소로서 methionine- $\gamma$ -lyase에 의한 methionine 분해 과정은 *Brevibacterium linens* 치즈 미생물에서 관찰되었다(Dias와 Weimer, 1998). 그러나 이 효소는 단백질 분해 작용에 영향을 받기 쉬울 뿐 아니라 치즈 숙성 과정과 유사한 물리 화학적 조건 하에서 효소 활성이 급격히 저하되기 때문에 치즈 풍미를 강화시키기 위해서는 유리 효소 자체를 첨가하는 것보다는 *Brevibacterium linens* 세포를 첨가하는 것이 좀 더 효율적 방법임을 알 수 있었다(Weimer 등, 1997; Yvon와 Rijnen, 2001).

Cystathionine  $\beta$ -lyase(EC 4.4.1.8)와 cystathionine  $\gamma$ -lyase(EC 4.4.1.1)는 아미노산 파생물인 cystathionine을 분해하여 각각 homocysteine와 cysteine 생성을 촉진하는 효소로서, 비록 직접적으로 아미노산 분해 작용에 관여하지 않으나, 치즈 풍미 성분 전구체로 이용되는 methionine 생합성과 관련이 있다(Smit 등, 2005; Yvon와 Rijnen, 2001). *Brevibacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* 치즈 미생물에서 cystathionine  $\beta$ -lyase와 cystathionine  $\gamma$ -lyase의 효소 활성이 관찰되었으며(Alting 등, 1995; Dias와 Weimer, 1998), 특히 cystathionine  $\beta$ -

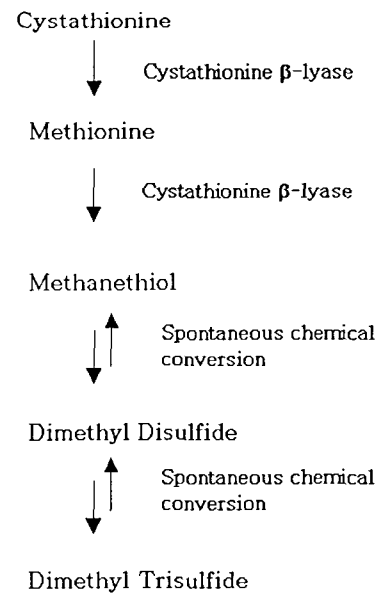


Fig. 1. Schematic diagram for formation of cheese flavor compounds from the catabolism of methionine and cystathionine by *Lactobacillus*(adapted from Lee et al., 2007).

lyase는 Fig. 1에서 보이는 바와 같이 치즈 미생물인 *Lactococcus lactis*와 *Lactobacillus helveticus*에서 methionine으로부터 methanethiol, dimethyl disulfide 같은 치즈 풍미 성분 생성에 관여하였다(Alting 등, 1995; Lee 등, 2007). Lee 등(2007)은 cystathionine  $\beta$ -lyase over-expression *Lb. helveticus*을 메티오닌을 기질로 이용하여 72시간 배양 후 대조군과 비교한 연구에서, cystathionine  $\beta$ -lyase 과발현(over-expression) *Lb. helveticus*은 거의 5배 많은 양의 치즈 풍미 성분(methanethiol, dimethyl disulfide)을 생성했음을 보고하였다. 이러한 결과는 치즈 풍미 강화 방법으로서 특정 아미노산 전환 효소의 over-expression 한 유산균을 이용하여 단시간 내 치즈 풍미 성분을 생성할 수 있음을 보여준다.

### 2. 치즈 풍미 관련 아미노기 전이 기작(Transamination Pathway)

아미노기 전이 효소(aminotransferase)는  $\alpha$ -아미노산에서  $\alpha$ -keto acid으로의 아미노기 전이 반응을 촉진하는 효소로서, pyridoxal-5-phosphate를 보조인자로 이용한다. 아미노기 전이 기작은 방향족(aromatic) 아미노산, methionine을 기질로 이용한 치즈 미생물에 의한 풍미 성분 생성의 주요 기작으로, 아미노기의 수용기로 이용되는  $\alpha$ -ketoacid 존재 하에서만 아미노산 분해가 진행된다(Hemme 등, 1982; McSweeney와 Sousa, 2000; Yvon와 Rijnen, 2001).

아미노기 전이 효소 활성은 *Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* 등

의 치즈 미생물에서 관찰되었다(Amarita 등, 2001; Tamman 등, 2000; Yvon 등, 1997). Rijnen 등(2003)은 방향족 아미노기 전이 효소가 결여된 *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* 변이체를 이용하여 아미노기 전이 효소가 방향족 아미노산으로부터 치즈 풍미 성분 생성에 필수적임을 보고하였다. 한편, Gao 등(1998)은 methionine을 기질로 이용하여 *Lactococcus lactis* 풍미성분인 methanethiol 생성에는 아미노기 전이 효소가 관여하며, 4-methylthio-2-oxobutyric acid이 중간화합물임을 보고했다(Fig. 2). 그러나 치즈 풍미 성분을 생성하는 methionine 같은 황(sulfur) 성분 함유 아미노산 이화 작용과 달리, 아미노기 전이 효소에 의한 방향족 아미노산(예를 들면, tryptophan, tyrosine) 이화 작용 결과, indole, skatole 등과 같은 이취(off-flavor) 성분들이 생성되었다(Gummalla와 Brodbent, 1999).

체다치즈 제조시 아미노기 전이 효소 수용기인  $\alpha$ -ketoglutarate 첨가는 아미노산 이화 작용을 촉진시켜 치즈 풍미 성분 생성을 증가시켰고, 관능 검사 결과  $\alpha$ -ketoglutarate 첨가는 치즈 creamy character와 fruity note 같은 풍미 증진에 기여하였다. 결과적으로  $\alpha$ -ketoglutarate가 첨가된 12주 숙성 치즈의 aroma intensity는  $\alpha$ -ketoglutarate 첨가되지 않은 24주 숙성 치즈의 aroma intensity와 거의 동일했음이 보고되었다(Banks 등, 2001). 또한  $\alpha$ -ketoglutarate 첨가시 반경질 치즈인 St Paulin 치즈 풍미 성분 향상이 보고되었으며, 결과적으로 아미노기 전이 효소 수용기인  $\alpha$ -ketoglutarate는 아미노산 이화 작용의 first limiting factor 임을 알 수 있었다(Yvon 등, 1997).

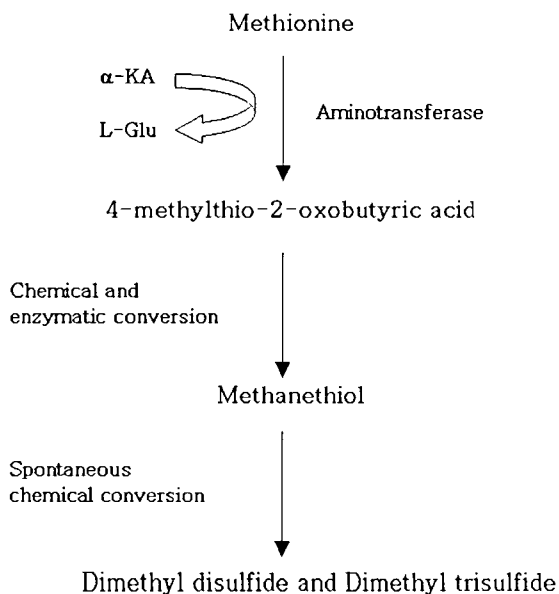


Fig. 2. Schematic diagram of catabolism of methionine by *Lactococcus*(adapted from Gao et al., 1998).

## 결론

체다와 여러 박테리아 숙성 관련 치즈들의 오랜 숙성 기간으로 인해 치즈 풍미 증진을 촉진하거나 강화시키려는 연구가 수행되어 왔다. 황(sulfur) 성분을 함유한 아미노산 이화작용은 치즈 풍미 형성과 밀접한 관련이 있으며, 아미노산으로부터 치즈 풍미 성분은 아미노기 전이 효소가 관련된 아미노기 전이 기작과 리아제가 관련된 기작을 통해 생성된다. 아미노산 이화작용 기작에서 특정 아미노산을 치즈 풍미 성분으로 전환시키는 작용에 관여하는 효소를 과발현 처리한 유산균을 이용하여 치즈 풍미 성분 생성을 촉진하거나 강화시킬 수 있으며, 아미노기 전이 기작에서 first limiting factor인  $\alpha$ -ketoglutarate을 첨가하여 아미노산 이화 작용을 촉진시켜 치즈 풍미 증진을 촉진할 수 있다. 이와 같이 아미노산의 치즈 풍미 성분으로의 전환 반응들을 조절함으로써 치즈 풍미 성분 생성을 촉진시키거나 강화시킬 수 있었다.

## 참고문헌

1. Alting, A. C., Engels, W. J. M., Van Schalkwijk, S. and Exterkate, F. A. 1995. Purification and characterization of cystathionine  $\beta$ -lyase from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* B78 and its possible role in flavor development in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:4037-4042.
2. Amarita, F., Fernandez-Espla, D., Requena, T. and Pelaez, C. 2001. Conversion of methionine to methional by *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiol. Letters.* 204:189-195.
3. Banks, J. M, Yvon, M., Gripon, J. C., de la Fuente, M. A. Brechany, E. Y., Williams, A. G. and Muir, D. D. 2001. Enhancement of amino acid catabolism in Cheddar cheese using  $\alpha$ -ketoglutarate: amino acid degradation in relation to volatile compounds and aroma character. *Int. Dairy J.* 11: 235-243.
4. Bonname, P., Psoni, L. and Spinnler, H. E. 2000. Diversity of L-methionine catabolism pathways in cheese-ripening bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:5514-5517.
5. Christensen, J. E., Johnson, M. E. and Steele, J. L. 1995. Production of Cheddar cheese using a *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* SK11 derivative with enhanced aminopeptidase activity. *Int. Dairy J.* 5:367-379.
6. Dias, B. and Weimer, B. 1998. Conversion of methionine to thiols by lactococci, lactobacilli, and brevibacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:3320-3326.
7. Gao, S., Mooberry, E. S. and Steele, J. L. 1998. Use of  $^{13}C$  nuclear magnetic resonance and gas chromatography to ex-

- amine methionine catabolism by Lactococci. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:4670-4675.
8. Gummalla, S. and Broadbent, J. 1999. Tryptophan catabolism by *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus helveticus* cheese flavor adjuncts. *J. Dairy Sci.* 82:2070-2077.
  9. Hemme, D., Bouilliance, C., Metro, F. and Desmazeaud, M. J. 1982. Microbial catabolism of amino acids during cheese ripening. *Sci. Aliment.* 2:113-123.
  10. Lee, W. J., Banavara, D. S., Hughes, J. E., Christianen, J. K., Steele, J. L. Broadbent, J. R. and Rankin, S. A. 2007. Role of cystathionine  $\beta$ -lyase in amino acid catabolism to sulfur volatiles by genetic variants of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:3034-3039.
  11. McSweeney, P. L. H. and Sousa, M. J. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait* 80:293-324.
  12. Rijnen, L., Yvon, M., van Kranenburg, R., Courtin, P., Verheul, A., Chambellon, E. and Smit, G. 2003. Lactococcal aminotransferases AraT and BcaT are key enzymes for the formation of aroma compounds from amino acids in cheese. *Int. Dairy J.* 13:805-812.
  13. Smit, G., Smit, B. A. and Engels, W. J. M. 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiol Review* 29: 591-610.
  14. Soda, K., Tanaka, H. and Esaki, N. 1983. Multifunctional biocatalysis: methionine  $\mu$  L-lyase. *Trends Biochem. Sci.* 8:214-217.
  15. Tamman, J. D., Williams, A. G., Noble, J. and Lloyd, D. 2000. Amino acid fermentation in non-starter *Lactobacillus* ssp. isolated from Cheddar cheese. *Lett. Appl. Microbiol.* 30:370-374.
  16. Urbach, G. 1995. Contribution of lactic acid bacteria to flavor compound formation in dairy products. *Int. Dairy J.* 5:877-903.
  17. Yvon, M. and Rijnen, L. 2001. Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *Int. Dairy J.* 11:185-201.
  18. Yvon, M., Thirouin, S., Rijnen, L., Fromentier, D. and Gripon, J. C. 1997. An aminotransferase from *Lactococcus lactis* initiates conversion of amino acids to cheese flavor compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:414-419.
  19. Wallace, J. M. and Fox, P. F. 1997. Effect of adding free amino acids to Cheddar cheese curd on proteolysis, flavour and texture development. *Int. Dairy J.* 7:157-167.
  20. Weimer, B., Dias, B., Ummadi, M., Broadbent, J., Brennan, C., Jaegi, J., Johnson, M., Miliani, F., Steele, J. and Sisson, D. V. 1997. Influence of NaCl and pH on intracellular enzymes that influence Cheddar cheese ripening. *Lait.* 77:383-398.