

치이즈 製造에 使用되는 疑乳酵素 (I)

柳 洲 鉉* · 有 馬 啓**

FAO의 調査에 依한 1966年度의 世界牛乳 總生産量은 349,614×10³ %이다. 그리고 덴마크를 비롯한 16 個國에서 製造되는 치이즈의 總量은 4,228×10³ %이다

(Table 1, Table 2). 우리나라에서 가장 가까운 日本의 치이즈 消費량을 年度別로 比較하여 본다면 1940年度에 26.2ton이었으나 1964년에 13,293ton이다. 이와 같

Table 1. Production of milk in the world

(1000%)

Years	1962	1963	1964	1965	1966
Cow	323,045	320,719	327,084	342,163	349,614
Buff	15,519	15,720	15,976	16,250	16,543
Sheep	5,341	5,358	5,443	5,611	5,880
Goat	6,102	6,076	6,021	5,927	6,010
Total	35,0007	347,923	354,524	369,891	378,047

자료 : FAO, 1967

Table 2. Production of cheese

(1000%)

Denmark	125	U.S.S.R	510
England	106	Canada	101
France	651	U.S.A.	1,125
West Germany	392	Argentina	170
Italy	437	Brazil	46
Netherland	233	Newzealand	107
Sweden	59	Australia	60
Switzerland	79	Japan	27
		Total	4,228

자료 : FAO, 1967

이 1964年度에는 1940年度의 約 50.7倍의 치이즈 消費가 있었고, 이 消費량의 約 50% 以上이 輸入 치이즈에 依存하고 있고 消費량이 每年 急增되고 있음을 알 수 있다(Table 3). 우리나라의 牛乳生産량도 每年 增加率 이 높고, 1968年度에 13,760%이 生産되었으나 치이즈 製造는 現在에 이르기까지 生産치 않고있다. FAO의 統計에 依하면 國民所得이 높은 나라일수록 主食으로서 肉食을 많이 하고 낮은 나라일수록 穀類食을 많이

먹는다고 한다. 牛乳의 生産, 치이즈의 消費량과 國民所得을 日本國의 例를 들어 比較하여 본다면(Table 3) 日本國은 第二次大戰後, 韓國의 6·25 動亂으로 인해서 産業이 急進의으로 發展하여 비약적인 成長을 하였다. 그와 同時에 國民所得도 增加되었었다. 勿論 人口도 增加하였으나 치이즈의 消費량은 놀랄 程度로 增加하고 있음을 Table 3에서 알 수 있다. 이것을 본다면 치이즈 消費량과 國民所得과는 相互間에 關係가 있는 듯하다. 그러므로 우리나라도 産業이 活潑히 運營되어 産業의 發達과 더불어 國民所得이 높아지고 따라서 主

*理學博士, 延世大學校 理工大學 食品工學科

**東京大學 農學部 農藝化學科

Table 3. 日本國의 치즈 消費量과 輸入量(%)

年 度	消費量	1940年度를 100으로 하 였을 때	輸入量
1940	262	100	—
1950	250	90	—
1955	1,210	465	1,103
1960	5,212	1,990	1,432
1963	11,936	4,555	6,513
1964	13,293	5,073	8,238
1965	*15,500		
1967	*26,568		
1968	*30,858		

* 치즈 生産量(日本 農業年鑑, 1969)
자료: “日本乳業年鑑”(1964)

Table 4. 韓國의 牛乳生産 및 치즈生産

年 度	1963	1964	1965	1966	1967	1968
牛乳生産量	3,539	5,199	6,612	8,471	10,350	13,760
치즈生産量	—	—	—	—	—	—

자료: 농림부 축산국, “낙농현황” (1969)

로오마인은 B.C.750~55 年頃부터 치즈를 먹었다고 한다. 치즈의 種類는 400種 以上이다. FAO 專門委員會의 치즈에 대한 一般規格은, “乳·크림·脫脂乳·部分脫脂乳·버터·밀크, 또는 이들 製品の 一部나 全部를 혼합해서 凝固시킨 다음, whey를 排除하여 얻은 新鮮物 또는 熟成品을 치즈라고 함”이라고 적혀 있다.

牛乳에 의한 치즈의 製造工程에는 rennet, 즉, 凝乳酵素가 必要하다. 지금까지 使用되었던 rennet는, 哺乳動物中の 鬍鬚자의 第4胃에서 生産된다. 이 rennet는 강한 凝乳作用을 갖고, 옛날부터 치즈의 製造에 使用되어오고 있다. 치즈 生産량은 每年 急激히 增加하여, 世界的으로 송아지 rennet는 不足한 實情에 있으므로 大量, 또는 값싸게 生産할 수 있는 우수한 代用酵素의 出現이 要望되고 있다. 蛋白質分解酵素中에는, 凝乳作用을 갖는 것이 있고, 또 이미 그것에 對해서는 많은 研究가 되어 있었으나(1-35) 報文中에서 볼 수 있는 바와 같이 송아지 rennet 외의 각종 酵素가 있으나 凝乳力에 比하여 蛋白質分解力이 強하여 송아지 rennet와는 아주 다르다. 또 製造工程에 있어서, 엄중히 管理하지 않으면 curd가 溶解하여 치즈의 收率이 減少하기도 하고, 쓴맛을 나타내게 될 우려도 있다. 凝乳酵素에는, 動物·植物·微生物 등의 凝乳酵素가 알려져 있다. 植物凝乳酵素(Vegetable rennet)中에는 *Ficus carica*의 乳汁中에 있는 Ficin(18-29),

食으로서 肉食을 많이 하게 되는 것은 勿論이러니와 치즈가 生産되어 그의 消費量도 每年 增加되고 同時에 食品工業이 發達되리라고 생각된다. 실제로 牛乳生産량은 每年 增加率이 높아지고 있다(Table 4). 그러므로 치즈 製造에 關해서 研究 開拓할 必要가 있다고 본다.

치즈를 製造하게 된 유래를 본다면 아라비아 商人이 羊의 鬍鬚가죽으로 만든 자루에 乳를 넣어 砂漠을 旅行하였을 때, 太陽熱과 羊의 鬍鬚 가죽에 포함된 消化液이 乳를 凝固시킨 것이 치즈의 始初라고 생각하고 있다. Wells에 依하면 B.C.15,000~20,000年에 人類가 수렵방랑 生活에서 農耕, 또는 遊牧生活로 들어 갔을 때부터 乳汁의 利用을 생각하였을 것이다. 文獻에 依하면, 그리이스사람들은 B.C.1,000~450 年頃부터,

(%)

*Withania coagulans*의 열매의 抽出液(30,31), *Carica papaya*의 papain(32-35), *Cynara cardunculus*의 꽃(31), *Strebulus Asper*(31) 등의 여러가지 植物 rennet가 알려져 있지만, 실제로 工業化되어 있지는 않다. 動物凝乳酵素(animal rennet) 中에는 pepsin(30,31,36-40)이 가장 有名하다. Chymotrypsin(17), trypsin(11) 등이 있으나 송아지 rennet 外의 다른 酵素로는 좋은 結果를 얻지 못했다. 微生物의 凝乳酵素(microbial rennet)(1-17)는 *Aspergillus oryzae*가 生産하는 酵素, 즉, 타카 rennin이 研究되어 있으나, 이 研究는 電氣泳動의 結果에서, 송아지 rennet와는 다르다는 것이 알려졌다. *mucor roupii*에서 凝乳酵素를 얻은 方法에 對한 特許가 있다. Bacteria에 대하여는 *Serratia marcescens*에 依한 生産條件이 Wahlin에 依하여 檢出되고 20°C보다 30°C가 蓄積이 좋고 이 酵素는 耐熱性이고, 加熱乳와 加壓殺菌乳에까지 作用한다고 한다.

*Bacillus*에서는, *Bacillus subtilis*의 生産結晶酵素를 使用하고 있으나, 송아지 rennet의 性質과 전혀 다를 뿐만 아니라, 치즈에 쓴 맛을 나타낸다.

Bacillus(B) mesentricus, *B. brevis*, *B. fusiformis* 등에서 얻은 酵素에 依하여 數種의 치즈를 만들어 좋은 結果를 얻었다 하나 生産된 치즈의 質에 關하여 記載된 것은 없다. *Aspergillus flavus*, *Aspergillus candidus*酵素에 대하여 치즈의 製造가 實驗的으로 檢討되었으나 쓴 맛을 나타낸다(Table 5).

Table 5. List of microorganisms of milk clotting enzyme produced by microorganisms

Microorganisms	References	Microorganisms	References
<i>Aspergillus candidus</i>	1	<i>Pseudomonas mysogenes</i>	2
<i>Aspergillus oryzae</i>	2	<i>Rhizopus achlamydosporus</i>	5
<i>Aspergillus parasticus</i>	3	<i>Rhizopus batetae strain</i>	5
<i>Aspergillus terricola</i>	1, 4	<i>Rhizopus candidus</i>	5
<i>Aspergillus</i>	3	<i>Rhizopus chinensis</i>	5
<i>Absidia lichtheimi</i>	5	<i>Rhizopus chinensis var liquefaciens</i>	5
<i>Ascochyta viciae</i>	7	<i>Rhizopus chinniry</i>	5
<i>Bacillus brevis</i>	7	<i>Rhizopus chungkuoensis</i>	5
<i>Bacillus cereus</i>	6, 5	<i>Rhizopus chungkuoensis isofermentarius</i>	5
<i>Bacillus firms</i>	5	<i>Rhizopus delemar</i>	5
<i>Bacillus fusiformis</i>	7	<i>Rhizopus delemar var. minimus</i>	5
<i>Bacillus mesentericus</i>	8, 9, 10	<i>Rhizopus japonicus</i>	5
<i>Bacillus polymyza</i>	11	<i>Rhizopus nigricans</i>	5
<i>Bacillus sphericus</i>	5	<i>Rhizopus niveus</i>	5
<i>Bacillus subtilis</i>	6, 2, 9, 12, 5	<i>Rhizopus nodosus</i>	5
<i>Bacillus prodigiouus: (Serratia marcescens)</i>	1, 3, 4	<i>Rhizopus oryzae</i>	5
<i>Bacillus thermoproteolyticus</i>	14	<i>Rhizopus peka II</i>	5
<i>Byssochlamys fulva</i>	17	<i>Rhizopus pseudokiensis</i>	5
<i>Celletoichum lindenruthiarum</i>	5	<i>Rhizopus salebrosus</i>	5
<i>Colletorichum atramentarium</i>	15	<i>Rhizopus thermosus</i>	5
<i>Corynebacterium hoagi</i>	5	<i>Rhizopus sp.</i>	5
<i>Chaetomium brasillieuse</i>	5	<i>Serratia marcescens</i>	5
<i>Endothia parasitica</i>	16	<i>Schlerotium oryzae sativa</i>	5
<i>Monascus anka</i>	5	<i>Streptomyces albus</i>	5
<i>Mucor</i>	17	<i>Streptomyces ehimensis</i>	5
<i>Mucor mandshuricus</i>	5	<i>Streptomyces faecalis var liquefaciens</i>	15
<i>Mucor pusillus</i>	5	<i>Streptomyces griseus</i>	2
<i>Mucor spinecenes</i>	5	<i>Streptomyces griseochromogenus</i>	5
<i>Mucor rouzii</i>	1	<i>Streptomyces hachijoensis</i>	5
<i>Penicillium</i>	17	<i>Streptomyces rimosus</i>	5
<i>Pseudomonas schuylkiliensis</i>	5	<i>Streptomyces rubescens</i>	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14		

著者와 岩崎⁽⁴¹⁻⁴⁷⁾는 東京大學 醱酵化學教室에서, 微生物 800株의 檢索中, 土壤에서 分離한 *Mucor pusillus* Lindt가 強力한 凝乳酵素를 菌體外에 生産하는 方法을 發見하였고, 이 酵素는, 凝乳力이 強하고, 蛋白質分解力이 弱한 송아지 rennet의 代用酵素로서 生産하고 있다. 그뿐만 아니라 이 酵素를 精製, 結晶化하여 그의 物理化學의 性質, 作用機構에 對하여 밝혔다.

Casein의 組成 및 性質

白色의 牛乳中에는 約 3%의 蛋白質을 含有한다. 또 그 蛋白質中에는 casein이 80% 以上이고 그외에 lacto albumin (β -lactoalbumin, γ -lactoalbumin, Serum albumin), lactoglobulin (euglobulin, pseudoglobulin) 등이 含有되어 있다.

Table 6. The percentage composition of casein

Type of casein	% in whole casein	Molecular weight
α -	59~73, 77	23, 800~28, 600
$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_1 \\ \alpha_{1,2} \\ \alpha_{2,2} \text{ fractions} \end{array} \right.$	55	
	35	
	10	
κ -	15	22, 000~29, 000
λ -	3~4	16, 000~20, 800
β -	25~33, 23, 30	
γ -	4~8	

자료: B. Lindqvist, Dairy Science Abstracts, 25, 257(1963)

Casein의 組成 및 分子量은 Table 6에 表示한 바와 같다.

重要한 部分을 갖고있는 α_1 -, β -, κ -casein의 大部分은 直徑 30~300 μ 에 相當한 球狀의 colloid 粒子로서, 牛乳中에 存在한다. 이와같은 分子狀 casein의 集合體인 粒子를 casein micelle이라고 부른다. 牛乳로부터 Ca를 제거하면 可溶性 casein이 增加된다. 즉,

casein micelle에는 約 90%의 蛋白質이 包含되어 있지만, 그 외에도 Ca^{++} , 무기인산, Mg^{++} , 구연산 등이 있다. Calcium-caseinate-phosphate complex狀의 脫脂乳에 酸을 加하여 pH 4.6으로 調節하면 casein이 等電沈澱한다. 이것을 酸 casein이라고 한다. 酸 casein을 alkali性으로 調節하면 透明한 不溶性의 alkali의 溶液을 얻을 수 있다. 여기에 Ca^{++} 을 加할 때 casein은 Ca^{++} 과 結合하여 白色의 calcium caseinate의 micelle이 形成된다. 이때 磷 ion이 共存하면, calcium caseinate-phosphate complex의 micelle을 얻을 수 있다. casein micelle은 牛乳中에서 安全하나 여러가지 要件에 依하여 이 安全性은 무너지고 凝固한다. Casein micelle · 乳酸酸酵 또는 凝乳酵素(송아지 rennet) 反應으로 凝固하는 作用을 利用하여, yoghurt · 치즈 · 칼 피스의 乳製品을 만들 수 있다. 粉乳와 같이 casein micelle의 安全性을 保護할 必要가 있는 牛乳는 普通의 加熱·殺菌條件으로는 凝固하지 않으나 熱에 弱한 것도 있다. 그러나 濃縮乳를 凍結貯藏, 高溫短時間 殺菌法 혹은 放射線을 쬐어 貯藏할 때는 casein micelle의 gel化를 피할 수 없다(Fig. 1).

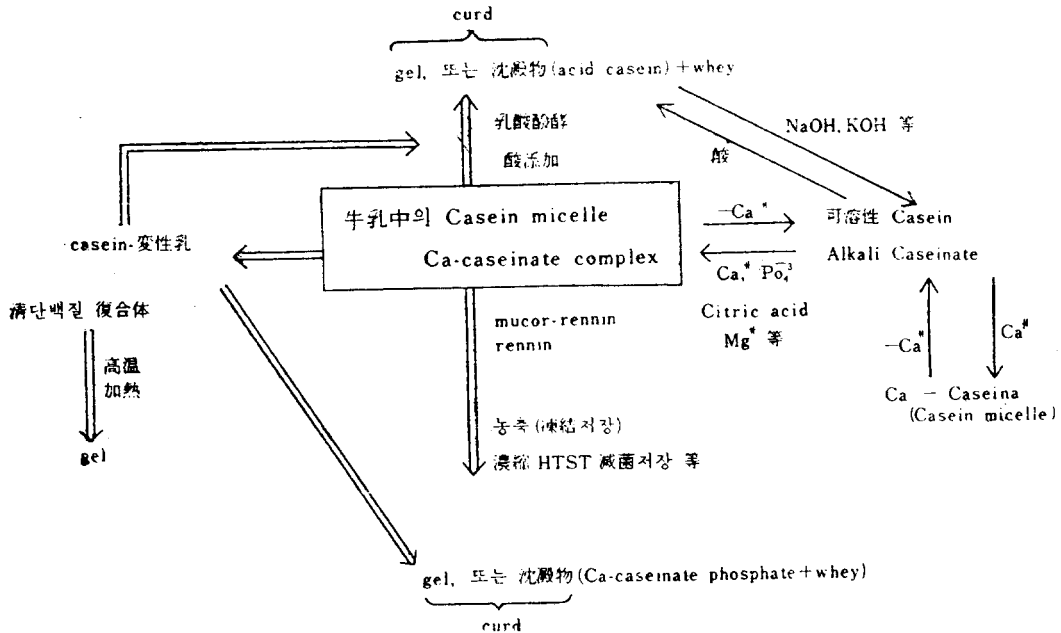


Fig. 1. 牛乳의 凝固

송아지 Rennet의 製造法

Rennet는 出生後 3~5週까지의 송아지의 第三胃의 末端 1~2cm와 十二指腸의 上 部分을 끊어 모인 第四胃를 原料로 하여 生産한다. 酵素는 第四胃의 胃衣膜

帶에 가장 많고 幽門腺帶에는 30~50% 가량 包含되어 있다. 原料는 運搬 및 貯藏하기 위하여 소금에 졸여서 乾燥한다. 이것을 "vell"이라고 부른다. Vell을 食鹽水나 $CaCl_2$ 溶液으로 抽出한 凝乳酵素液을 송아지 rennet 液이라고 한다. 이것을 直接 치즈 製造에 利用하는 곳이 많아 保存輸送의 편리상 食鹽으로 鹽析하여 乾燥

할 때가 있다(Fig2).

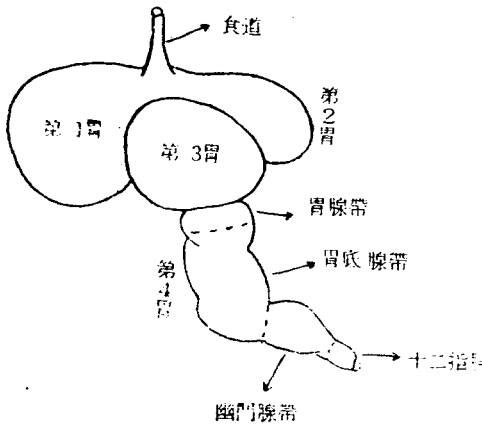


Fig. 2. 송아지의 위(生後數週日)

凝乳力價의 測定法

Rennet은 protease의 一種이고, 乳를 凝固시키는 것이 目的이므로 一定量의 牛乳를 凝固할 때 要하는 時間으로 凝乳力價를 測定한다.

工場에서 測定하는 方法은 省略하기로 하고, 實驗室의인 方法을 記載하고자 한다. 脫脂乳의 質에 따라 凝固程度가 다르기 때문에 實驗室에서는 언제나 一定한 品質을 使用해야 한다. 따라서 脫脂粉乳를 한꺼번에 多量 貯藏하고, 一定한 濃度의 것을 使用한다.

粉乳를 加熱처리할 때 注意할 점은 凝固가 늦어지므로 酸度를 調節하고 또 Ca⁺⁺를 첨가하여 凝固時間을 빨리 한다.

基質의 調製法은 사람에 따라 다르나, 著者는 脫脂粉乳를 1×10⁻²M CaCl₂ 溶液에 현탁시켜 10% 脫脂乳液을 만들어 使用한다. 基質에 酵素를 作用하여, 凝固反應의 終點을 관찰하는 方法은 주로 形成되는 白色의 微粒을 肉眼으로 觀察하는 方法, 粒度의 變化를 測定하는 方法 등이 있다.

Berridge는 反應液을 넣어 容器를 30°의 角度로 하고 恒溫水槽中에 保持하여 回轉시켜, 前面의 유리벽에서 牛乳의 film中에 微粒을 볼 수 있을 때까지의 時間을 測定하였다.

酵素液 0.5ml를 넣은 25ml의 試驗管, 1% 脫脂粉乳液을 넣은 100ml flask 및 赤色 잉크를 封入한 유리棒을 35°C의 恒溫水槽에 約 10分間 各各 放置한 다음 酵素를 넣어 試驗管에 10% 脫脂粉乳液 5ml를 pipette로 加하고 混合한다. 赤色잉크棒을 삽입하고 試驗管內面

(赤色잉크棒壁과 試驗管壁 사이)에 film을 만들고, 白線이 생길 때까지의 時間을 測定한다.

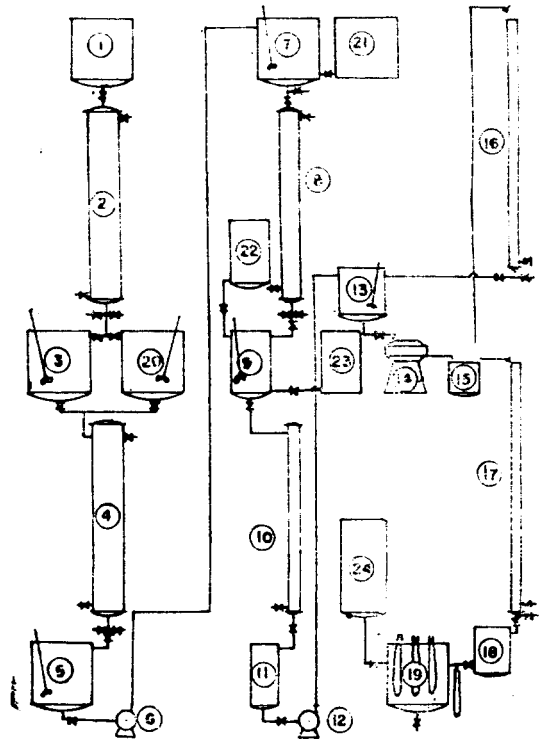
이때 酵素의 基質을 混合하였을 때부터 白線이 생길 때까지의 時間을 stop watch로 測定하여 凝乳時間을 定하고 凝乳力價는 Soxhelt式으로 算出한다.

$$\text{Units (Soxhelt)} = \frac{\text{volume of substrate (ml)}}{\text{volume of enzyme (gr or ml)}} \times \frac{35^{\circ}\text{C}}{\text{temperature}} \times \frac{2400(\text{sec})}{\text{milk clotting time(sec)}}$$

Mucor pusillus var. Lindt가 生産하는 凝乳酵素

Mucor pusill var. Lindt가 生産하는 粗凝乳酵素로부터 結晶酵素 Mucor rennin의 製造 工程圖는 Fig. 3, Table 7에 表示하였다(47,49). 粗酵素 溶液을 IN-HCl로

Arima et al.



Storage tank ①③④⑤⑦⑨⑪⑬⑮⑰ Column of DEAE-Sephadex A50 ⑧⑩, Column of Amberlite CG50 ②④, Column of Sephadex G100 ⑬⑯, Centrifugal separator ⑭, Storage tank of ammonium sulfate ⑳, Storage tank of buffer ㉑㉒㉓, Crystallized tank ⑲, Pump ⑥②

Fig. 3. Purification and crystallization process of Mucor rennin.

Table 7. Purification process of Mucor rennin crystal

Determination	OD280nm		Clotting activity		Specific activity	
	OD280nm	Yield(%)	×10 ³ Units	Yield(%)	OD280nm	Yield(%)
Crude enzyme	113,400	100	52,900	100	450	1.0
Amberlite CG-50	24,000	21.5	51,000	99.3	2,140	4.7
Amberlite CG-50	14,000	12.4	49,240	77.3	2,870	6.2
DEAE Sephadex A-50	6,660	5.9	29,657	57.2	4,450	9.1
DEAE Sephadex A-50	4,220	3.7	25,480	49.0	6,040	13.2
(NH ₄) ₂ SO ₄ , saturated 0.7						
Sephadex G-100	3,850	3.4	23,320	44.8	6,050	13.3
Sephadex G-100	3,050	3.0	20,310	38.7	6,650	14.4
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,910	2.6	19,300	37.1	6,670	14.4
Mucor rennin crystal, 2.35g	2,580	2.6	17,200	33.1	6,670	14.5

pH 3.5로 調節한 다음, Amberlite CG-50 column에 吸着시킨다. 不純蛋白質을 pH 3.5의 酢酸buffer로 溶出하고, 그後 活性부분을 pH 5.0의 酢酸buffer로 溶出하여, 貯藏 tank에 모인다. 위와같은 方法으로 rechromatography를 行하여 酵素液을 回收한다. 이 酵素液을 直接 DEAE Sephadex A-50 column에 吸着시켜 KCl 0.0~0.5mole의 gradient로 chromatography를 한다. 이때 活性부분은 貯藏 tank에 모여 溶出液中の KCl 濃度를 0.2M 以下까지 調節한다. 그後 새로운 DEAE Sephadex A-50 column에 流通시켜 活性부분을 吸着시킨다. 이 column을 위와 같은 方法으로 rechromatography해서 貯藏 tank에 모인後, 硫酸을 加하여 70% 飽和硫酸으로써 鹽析分離하여, Sephadex G100 column의 gel filtration을 두번 行한다. 여기서 活性부분을 硫酸鹽析하여, 沈澱酵素를 遠心分離機로 모인다. 이 酵素의 蛋白質 濃度를 酢酸 buffer (pH 5.0)를 가지고 2~3%로 調節한 다음, 硫酸을 使用하여 自然蒸發結晶化法 또는 透析結晶化法으로 結晶化시킨다. 이와같은 工程으로 單離된 結晶酵素 Mucor rennin(MRC)을 遠心分離機로 分離 生産하는 것이다. 酵素의 結晶 形態는 Fig.3과 같이 여러가지 형태이나 結晶時의 硫酸濃度の 增加速度, 蛋白質의 濃度 等の 條件에 따라 六角·橢圓·正四角形·圓板狀 等の 結晶이 된다. 그러나 酵素 形態에 關係없이 比凝乳活性은 서프 같다. 本結晶酵素를 超遠心的으로, 또 電氣泳動



Fig. 4.

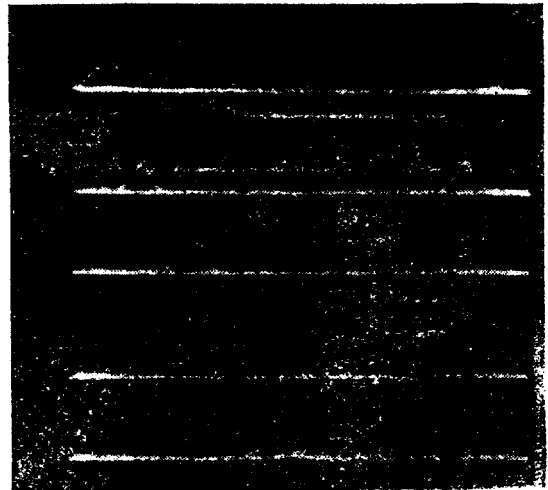


Fig. 5.



Fig. 6.

的으로 보나 單一한 pattern을 表示하고 있었다(Fig. 4, 5, 6). 이 酵素의 一般의 物理化學的 作用機構(47-48)에 對하여 研究되어 있으나 紙面 關係로 一般性質에 關하여 記載하고 그外 것은 다음 機會로 미루고자 한다.

蛋白質을 分解함에 있어 最適pH는 基質의 種類에 따라 다르고 hemoglobin은 4.0 K-casein은 4.5이다.

凝乳溫度는 30°C보다 60°C에서 빨리 凝乳한다. Alkali側의 牛乳보다는 酸性側液이, 또 Ca ion을 牛乳液에 添加함으로써 쉽게 凝固한다. 各 pH의 酵素를 60°C에서 10分間 處理하였을 때 pH 4~6에서 安全性이 있고 그중에서도 pH 5.0의 溶液이 가장 耐熱性이 強하고 30°C에서 15日間 放置하여도 失活치 않는 酸性 protease 이다. 그리고 이 酵素는 송아지 rennin과 같이 whole-casein 및 β -casein보다 K-casein의 蛋白質을 쉽게 分解시킨다(Fig.7). 그 뿐만 아니라 치즈

Influence of proteolytic activity on (α + β)- and

k-casein by MFC concentration.

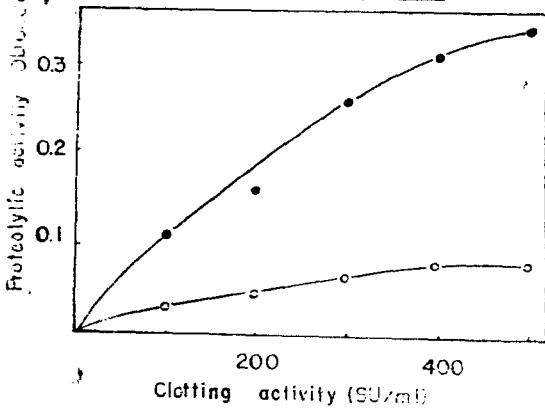
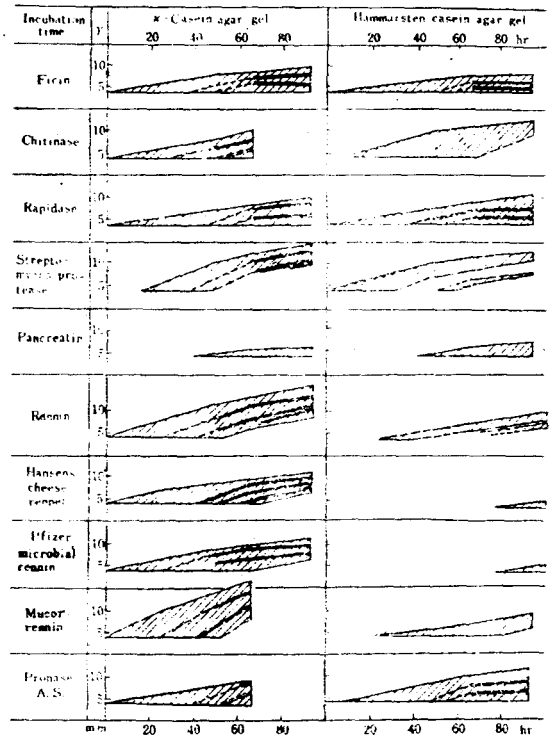


Fig. 7.

製造에 適當한 송아지 rennin 結晶, Hansen's cheese rennet 및 mucor rennin 등의 rennin과 흡사한 酵素와 또 그것과 다른 protease를 Hammarsten casein, K-casein α_1 -Casein+ β -casein 등의 各 casein gel平板에 作用시켰을 때 gel 平板上에 白濁集 zone을 形成하고 反應溫度가 갈어질수록 zone의 面積도 增加한다. 一定量의 같은 種類의 酵素를 各 casein gel에 作用할 때 송아지 rennin과 비슷한 酵素는 Hammarsten casein gel 平板上보다, K-casein gel 平板上에서 zone이 빨리 形成되고 zone 面積이 넓어진다. 다른 protease (pronase A.S. papain, trypsin, pancreatin, pepsin, ficin chitinase S-4, 라피타아제, streptomyces protease, molsin)의 反應으로 形成되는 zone面積은 兩 casein의 gel 平板上에 있어서 相互間에 多少 差를 表示하고, K-casein gel 보다 Hammarsten casein gel 上에 形成되는 zone이 넓은 protease도 있다. 이 結果에

서도 mucor-rennin은 송아지 rennin과 비슷하다(Fig. 8, 9). 그러나 치즈를 製造함에 있어 무엇보다도 重要的



The Different Patterns of the White Turbid Zones by Proteases when Protease were incubated on α_1 - and Hammarsten-casein Agar Gel Plate at 30°C for 20~80 hr. White turbid zone was shown by . Radius of white turbid zone.

Fig. 8.

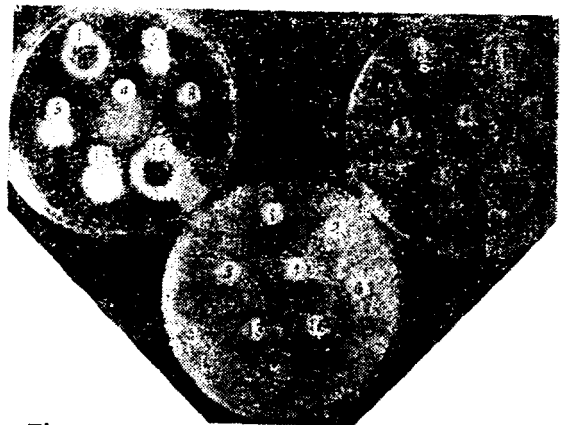


Fig. 9.

것은 protease 活性에 對한 凝乳活性의 比이다. 다시 말하면 蛋白質分解力에 比하여 凝乳力이 強하여야만 하는 것이다. Rennin, mucor-rennin, Pfizer microbial rennet, papain, trypsin, molsin, ficin, biodiastase 등의 protease의 凝乳活性과 蛋白質分解活性을 各 測

定하여, 그 비 (凝乳活性/蛋白質分解活性)를 比較하여 볼 때, 송아지 rennin은 7,350, mucor-rennin은 4,650, pfizer microbial rennin은 2,590이고, 다른 protease는 367 以下이다. 다시달하면 mucor-rennin은 송아지 rennin의 凝乳力보다 40% 弱하나, 다른 protease보다 훨씬 强하다는 것을 알 수 있다(Table 8). 이와같이 *Mucor pusillus var. Lindt*가 生産하는 凝乳酵素는 치즈 製造에 使用되는 송아지 酵素의 代用酵素로서, 오늘날 世界에 알려져 있는 酵素中에서 가장 適合한 酵素라 하겠고 불란서·독일·美國·Australia·Newzealand·日本 等, 그의 여러 研究所에서 製造 實驗을 하고 송아지 rennet의 代用 酵素로서 評價가 높다. 따라서 世界的으로 rennet이 不足한 오늘날, 産業界에 크게 寄與하리라고 믿는다.

Table 8. Ratio of clotting activity to proteolytic activity of various proteases

Protease	Clotting activity (units/ml)	Proteolytic activity (OD66nm)	Ratio (units/OD 660nm)
Rennin	293	0.04	7,350
Mucor rennin crystal	511	0.11	4,650
Pfizer microbial rennin	750	0.29	2,590
Papain	216	0.59	337
Trypsin	1.6	0.44	4
Molsin	1.3	0.18	7
Ficin	267	0.68	393
Biodiastase	115	0.83	138

Table 9. Bibliography on cheese making experiments with mucor-rennet

Reporter	Ref. No.	Year	Type of cheese
T. Tsugo <i>et al.</i>	45	1964	Gouda, Camembert,
M. Grimberg	58	1965	Cottage
Jaarverslag	59	1966	Gouda
38th Annual Rep.(N.Z.)	60	1965	Cheddar
P.S. Robertson <i>et al.</i>	61	1966	Cheddar
Annual Report (Australia)	62	1966	Cheddar
G.H. Richardson <i>et al.</i>	63	1967	Brick, Cheddar, Pezza, Parmesan
M.E. Schluz <i>et al.</i>	64	1967	Butter, Edam, Tilsit.
J. Blaauw	65	1967	Gouda(?)
39th Annual Rep.(N.Z.)	66	1967	Cheddar
T. Kikuchi <i>et al.</i>	67	1968	Gouda, Cheddar

世界에서 치즈를 만드는 송아지 rennet를 製造하기 위하여 生後 2~3週日된 송아지 3,000萬 마리를 도살하여 第四胃에서 分離 生産한다고 한다. 今後 mucor-rennin보다 좋고, 송아지 rennin의 性質과 꼭 같은 酵素를 우리나라에서 새로운 微生物로부터 分離 生産하여 解決된다면 每年 3,000萬 마리의 송아지를 죽이지 않게 될 것이다. 그와 더불어 宗教的인 面에 있어서나 酪農事業·食品工業·酵素工業 및 微生物利用工業의 發展에 寄與함이 클 것이다.

그의 製造原料가 豊富하고, 價格이 싼뿐만 아니라, 人件費가 싼 우리나라는 이 酵素生産에 適地라 할 것이다. 이 酵素는 값이 비싸고 特別 歐美地方에서 多量 使用되는 것이므로 外貨를 획득함에 있어서도 좋은 研究問題라 할 수 있다.

引 用 文 獻

1. Velselov, I.Y., P.Y, Tipograf, T.A. *Pentia: Prik. Bichim. Microbiol.* 1, 52 (1965)
2. Tsugo, T., Yamauchi K : *XVth Intern. Dairy Congr. Proc.*, 2, 636, 634(1959)
3. Paleva, N.S., Povova, N.Y : *Ferment. Spirt. Prom.*, 31, 6 (1965)
4. Dyachenck, P.F., V.V. Slavayanova : *XVI, Int. Dairy Congr., Sect., IV-1*, 349 (1962)
5. Arima, K., S. Iwasaki, G. Tamura : *Agr. Biol. Chem.*, 31, 540 (1967)
6. Srinivasan R.A. *et al.* : *XVIIth Intern. Dairy Proc.* B 401, 506 (1962)
7. Shimwell, J.L., J.E. Evans : *Brit. Pat.*, 565, 783

- (1944)
8. Emanuilof I. : *XIVth Intern. Dairy Congr. Proc.*, **2**, 200 (1956)
 9. Tipograf. D.Ya., et al. : *Prik. Biokhim. Miokrobiol.* : **2**, 45 (1966)
 10. Yulius, A.A. O.Kh. Tinyakova. *Prik. Biokhim. Microbial.*, **2**, 670 (1966)
 11. Ilie et al.
 12. Puhan, Z. : *Itn. Dairy Congr.*, *XVII*, D199(1966)
 13. Wahlin J.G. : *J. Bact.*, **16**, 355(1928)
 14. Morihara, K : *Agr. Chem. Soc. Japan*, **30**, 514 (1965)
 15. Somukuti, G.A., Babel F.J. : *J. Dairy Sci.*, **49**, 700(1966)
 16. Sardinas. J.L., G. Fery : *U.S. Pat.* 3275453(1966)
 17. Knight, S.G. : *Can. J. Mic.*, **12**, 420(1966)
 18. Krishnaswamy, M.A.. et al. : *Food. Tech.*, **15**, 482 (1961)
 19. Tsugo, T. and Yamauchi K. : *XVth Intern. Dairy Congr. Proc.*, **2**, 634, 635 (1959)
 20. 佐佐木林治郎・津郷友吉・山内邦男 : “日本農化” **30**, 209 (1958)
 21. 津郷友吉羊 : “日蓄會報” **26**, 173, 177 (1955)
 22. Whitaker, J. R. : *Food Tech.*, **13**, 86 (1959)
 24. Robbins B.H., Lamson, P.D. : *J. Biol., Chem.*, **106**, 725 (1934)
 25. Whitaker, J.R. : *Food Res.*, **23**, 364, 371 (1958)
 26. Kramer, D.E., Whitaker J.R. : *J. Biol. Chem.*, **239**, 2170 (1964)
 27. Sgarbieri. V.C., et al. : *J. Biol. Chem.*, **239**, 2170 (1964)
 28. Walti, A. : *J. Amer. Chem. Soc.*, **60**, 493 (1938)
 29. Zucherman-Stark, S., Leibowitz. J. : *Enzymologia*, **25**, 252 (1963)
 30. Dewane, R.A. : *Rennet substitute (A review of literature)*, Paul Lewis Laboratories Inc., (1960)
 31. Veringa, H.A. : *Dairy Sci. Abstr.*, **23**, 197(1961)
 32. Krishnamurthy, C.V., et al. : *J. Sci. Food Agr.*, **11**, 433 (1960)
 33. Bahadur, K., Sinha, R.C. : *Enzymologia*, **21**, 114, 115 (1969)
 34. Bahadur, K., Sinha, R.C. : *Z. Lebensmitt. Untersuch.*, **105**, 319 (1957)
 35. Windan, H., Kasikowsky, F.V. : *J. Dairy Sci.*, **39**, 917 (1956)
 36. Sherwood, I.R. : *J. Dairy Res.*, **6**, 407(1935)
 37. Sardinas, J.L. and Ferry, J. : U.S.P. 3275453(1966)
 38. Melachouris, N.P., Tucey, S.L. : *J. Dairy Sci.*, **47**, 1 (1964)
 39. Maragoudakis, M.E., et al. : *J. Dairy Sci.*, **44**, 2339 (1961)
 40. Tsugo, T., Yamauchi, K. : *Bullo. Agr. Chem. Soc. Japan*, **24**, 96 (1960)
 41. Iwasaki, S., J. Yu, G. Tamura and K. Arima : *7 th Intern. Congr. of Biochem.*, Tokyo, Japan, August 19-25, **IV**, 758(1967)
 42. Iwasaki, S., J. Yu, G. Tamura and K. Arima : *The 3rd Intern. Fermentation Symposium*, at U.S.A. September 2-6(1968)
 43. Iwasaki, S., G. Tamura and K. Arima : *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 546(1967)
 44. Iwasaki, S., T. Yasui, G. Tamura, and K. Arima : *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 1421 (1967)
 45. Tsugo, T., U. Yoshino, K. Taniguchi, A. Ozawa, Y. Miki, S. Iwasaki, and K. Arima : *Japan J. of Zootech. Sci.*, **35**, 221 (1964)
 46. Tsugo, T., K. Taniguchi, U. Yoshino, A. Ozawa, K. Arima : *J. Zootech. Sci.*, **45**, 229 (1964)
 47. Yu, J., S. Iwasaki, G. Tamura, K. Arima : *Agr. Biol. Chem.*, **32**, 1051 (1968)
 48. Yu, J., S. Iwasaki, G. Tamura, K. Arima : *Annual Meeting of Agr. Chem. Soc., of Japan*, Abstract, p.203 (1968)
 49. K. Arima, J. Yu, S. Iwasaki, G. Tamura, : *Appl. Microbiology*, **16**, 1727 (1968)
 50. K. Arima, J. Yu : 3rd Meeting of Corporation of Japan Appl. Enzyme at Osaka, December (1967)
 51. Yu, J., G. Tamura, K. Arima : *Agr. Biol. Chem.*, **32**, 1048(1968)
 52. Yu, J., G. Tamura, K. Arima : *Biochem. Biophys. Acta*, **171**, 138 (1969)
 53. Yu, J., G. Tamura, K. Arima : *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **43**, 60 (1969)
 54. Yu, J., W. Liu, G. Tamura, K. Arima : *Agr. Biol. Chem.*, **32**, 1482 (1968)
 55. Yu, J., G. Tamura, Y. Hong and K. Arima : *J. Korean Agr. Chem. Soc.*, in press (1969)
 56. Iwasaki, S., G. Tamura and K. Arima : *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 546 (1967)
 57. Iwasaki S., T. Yasui, G. Tamura and K. Arima :

Agr. Biol. Chem., **31**, 1427 (1969)

58. Grimberg, M. : *Fette Seifen Anstrichmittel*, **67**, 271 (1956)

59. Jaarverslag, Rijkszuivelstation-Melle(Belgium) Jaarverslag, p. 29 (1966)

60. 38th annual Report of the Dairy Research Institute (New Zealand) p. 16 (1966)

61. Roberston P.S. *et al.* : *N.Z. J. Dairy Tech.*, **1**, 91 (1966)

62. Annual Report of Division of Dairy Research, C.S.I.R.O. Australia 7, (1965)

63. Richardson, G.H. *et al.* : *J. Dairy Sci.*, **50**, 1066 (1957)

64. Schulz, M.E. *et al.* : *Milchwissenschaft*, **22**, 139, (1967)

65. Blaauw, J. : *Stremsel en stremselvervangers, Officieel Orgaan*, **59**, 300 (1967)

66. 39th Annual Report of the Dairy Research Institute (New Zealand) p. 24 (1967)

67. Kikuchi T. *et al.* : Orally Presented at the 15th Annual Meet of the Japanese Food. Eng. Assoc. on April 18, 1968 at Tokyo.

(64面에서 계속)

amino acids의 높은 함유량(표 1)은 다량으로 저렴한 가격으로 구득할 수 있으나, biological value가 낮은 식물성 단백질에 소량의 물고기 단백질을 배합함으로써 높은 biological value의 식품으로 만들 수 있다는 가능성이 영양학자의 관심사가 되어 있다.

물고기 가공상의 난점과 전망

물고기는 가장 부패성이 강한 식품의 하나이다. 대부분의 경우 어획은 계절적이어서 단시일내에 다량의 어획물을 신속히 처리 가공하여야 하며 정상적인 조건 하에선 신선도 유지기간이 짧아 물고기 소비는 효율적인 加工處理와 순환기구에 의하지 않는 한 부패로 인한 막중한 단백질 식품의 손실이 생기며 부패한 물고기를 먹음으로써 생기는 공공위생 문제가 적지 않다. 어획의 풍흉은 인간이 제압 조절할 수 없는 해양조건 의변화, 기타 요소에 따라 결정되므로 예측할 수 없는 어획물의 가공시설은 미비한 점이 있기 마련이다. 흔히 어장은 가공업무에 필요한 노동력을 충분히 구득할 수 없는 곳에 있으며 따라서 輸送難 등이 뒤따르고 부패로 인한 손실없이 가공 할 수 있는 기간이 짧음에 비하여 이에 소요되는 막대한 가공시설 등은 어획물의 효과적인 이용의 장애가 되어 있다. 강한 부패성에도 불구하고 물고기의 신선한 식품으로서의 소비는 큰 면으로 들어간다. 우리나라에선 약 60%의 총 어획물

이 생선으로 소비되고 있다. 물고기를 되도록이면 부패변질 없이 신선한 상태로 소비자에게 제공하려는 노력은 수산학도들에 의하여 끊임없이 추구하고 있다. 물고기 腐敗變質의 생화학적·세균학적 과정이 기본적인 이해가 있어야 부패방지를 위한 조치를 마련하게 되는데, 아직도 많은 부분을 미지로 남긴 채 이 부분의 연구는 계속되고 있다. 식품공업이 발달함에 따라 소비대중의 가공식품에의 依存度는 높아지게 되며 식품공업이 짝어질 책임도 무거워져 간다. 가정에서 만드는 음식보다 싸고 영양가 높고 안전하고 맛있는 음식을 계절의 제약없이 여러가지를 먹을 수 있도록 한다는 것은 쉬운 일이 아니다. 이런 기적의 일부가 우리나라 사회에도 깃들기 시작했다. 물고기도 원형과 신선도 유지가 필수조건이 아닌 產品으로 이용 개발됨으로써 용도가 넓어질 수 있다고 보며 각종 가공식품의 배합제 또는 첨가제로서 많이 쓰여져야 할 것이다. 우리나라의 경제발전의 추세에 의하면 1980년대엔 현재 일본의 경우와 같이 우리나라도 수산물물 수입해야만 국민의 단백질 수요를 채울 수 있게 된 것이라고 한다. 현재도 단백질 需要가 적은 것은 아니나 국민의 호주머니가 덜 차 있어 우리가 식품의 질을 가릴 수 있기까지는 10여년을 기다려야 한다는 뜻이고, 이런 날이어서 오길 바라며, 이를 위해 각자 할일에 충실해야 할 것이다.