

Cheese 熟成度を 결정하는 생화학적 방법

전북대학교

李 富 雄

I. 緒 論

Cheese 숙성의 목적은 단순한風味形成뿐만 아니라 願하는 質感(Texture)과 전형적인 Cheese 外部 모양을 얻는데에도 있다. Cheese의 숙성은 식품성분의 생화학적인 관점에서 볼 때 아주 복잡한 과정을 거친다. 숙성중에 일어나는 중요한 반응은 산화-환원, 인산화반응(phosphorylation), 탈인산화반응(dephosphorylation), 탈아미노반응(deamination), 탈탄산반응(decarboxylation), 지방분해, 단백질분해, 당분해, 유산의 발효, 산-염기반응, 그리고 완충작용이 있고 이러한 반응들의 결과로 상승작용에 의하여 풍미물질이 출현한다(1). 물리화학의 상당한 발전에도 불구하고 아직도 숙성도를 정확하게 평가할 수 있는 절대적인 방법이 없다. 대부분의 공장에서 주로 경험자나 숙련된 검사요원들에 의하여 일차적으로 관능검사에 의하여 품질관리 및 평가를 하는 것으로 알려져 있다.

Cheese의 주요성분이 Caseins 이어서 숙성도 결정은 주로 단백질 분해도를 숙성과 연관 짓는 것이 대부분의 방법의 이론이다.

본격적인 Cheese 숙성도 결정방법을 논급하기 전에 Cheese 제조시 Caseins의 변화를 주시할 필요가 있다.

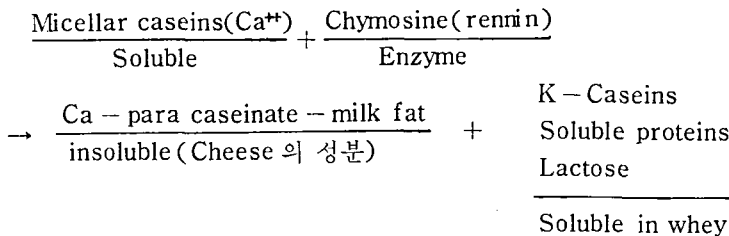
아래의 식에서 보는 바와같이 Cheese의 성분인 Ca-paracaseinate는 micell 상태의 全Caseins에서 K-Casein이 제거된 불용성 단백질과 유지방의 혼합체이다. 이 불용성 단백질-지방이 미생물 등에 의하여 분해되어 수용성 성분이 증가하는 과정을 숙성이라고 한다. 부분적으로 분해된 Caseins을 우리는 Residual caseins이라고 부른다. 이 Residual caseins의 성질을 이용하여 각종 생화학적 방법으로 분해도를 측정한다. 결국 숙성이란 불용성 Ca-paracaseinate의 可溶化(Solubilization)이라고 할 수 있다.

다음은 숙성도를 결정하는 각종 생화학적 방법을 구분하여 토론하고자 한다.

II. 討 論

A. 침전법(Precipitation)

숙성도 결정을 위하여 Cheese 용액을 제조해



야 하는데 용액의 종류는 水溶液과 錯鹽劑 용액 두 가지가 있다.

錯鹽劑 용액은 Cheese의 결합Ca를 錯鹽하여 Casein을 균일하게 분산시킨 용액이고 수용액은 불안정한 분산 용액을 만든다. 후자는 단순히 수용성 단백질이나 Ca, Mg, P의 상태를 연구할 때 필요로 하고 전자는 일반적으로 단백질 분석용 시료 용액 조제에 이용된다. 단순한 수용액은 Cheese내에 단백질-염류 평형에 변화를 가장 적게 주기 때문이다.

착염제로는 2~5%의 Na-Citrate, Na-Oxalate, EDTA 용액으로 5% Cheese 용액을 만드는 것이 보통이다.

균질기의 종류, 균질온도, 시간 및 Cheese내 용액의 비율 등이 실험되었다(2). 균질기중 초차형 Tissue 균질기는 부적당하고 그외의 균질기는 비슷한 것으로 나타났다(Waring Blender, Sorvall Omni mixer, Stomacher) 균질온도와 시간은 상온에서 5분간이면 적당한 것으로 나타났다.

1) 총질소(Total nitrogen, NT)

총질소 정량은 5% Cheese 용액을 5% Na-Citrate 으로 이용하는 것이 보통이다. 각종 질소는 Cheese 중 총질소의 백분율로 표시하는 것이 편리하다.

2) 수용성 질소(Water-soluble nitrogen, WSN)

5% Cheese 수용액을 여과하여 여액중 질소를 정량한 것이다. 숙성도가 진행된 시료에서는 NCN보다 높은 값을 나타낸다.

3) 非Caseins 태 질소(Non caseinic nitrogen, NCN)

이 질소의 정량법은 Caseins의 등전점이 pH 4.6인 것을 이용하여 Residual Caseins을 침전시키고 분해된 가용성 비 Caseins성 질소를 정량하는 것이다. 일정량의 Citrate 현탁액에 동량의 2M acetate 완충용액(pH 4.6)을 가하여 잘 섞은 후 여과하여 여액중에 질소를 정량하여 총 질소 중 NCN%를 구한다(3).

이 방법은 숙성도를 결정하는 간편한 방법으로 일반적으로 많이 쓰인다.

4) 비단백태 질소(Non proteinic nitrogen,

NPN)

NPN은 단백질 침전제 중 대표적인 것으로 3염화식초산(Trichloroacetic acid, TCA)을 이용하여 단백질을 침전시킨 후 NCN과 같은 처리를 한다(3, 4)

Citrate 용액 일정량에 동량의 24% TCA를 가한 후 2시간 방치한다. 여과하여 여액 중 질소정량을 한다. 일반적으로 숙성 Rennet cheese에서는 NPN/NCN의 비율이 숙성의 지표로 이용될 수 있고(5) Casein의 식초산 및 TCA에 대한 침전성에 관한 실험도 수행되었다(6)

B. 추출법(Extraction)

1) 溫水溶性 질소(Hot water soluble nitrogen, HWNS)

이 방법은 Caseinology가 발전되기 이전부터 사용되었던 것으로 불용성 Ca-paracaseinate가 숙성 분해되어 mortar에서 온수침출시 가용성 질소 추출물을 냉각 여과하여 여액중 질소를 정량한다(7).

등전점인 완충용액(8)으로의 추출은 media와 침전제의 균일 접촉을 이루지 못하므로 가용성 질소가 Casein과 같이 침전되어 Citrate 용액의 Acetate 완충용액 침전보다 낮은 수치를 나타낼 것으로 보인다.

2) Picric 산용성 질소(Picric acid soluble nitrogen, PSN)

숙성도가 다양한 종류의 Cheddar cheese를 선택하여 각종 가용성 fraction의 비율이 검토되었다(9) 그중 PSN은 1.5g의 Cheese를 40 ml의 0.85% picric산과 함께 mortar에서 같은 후 원심분리한 후 상등액에서 질소를 정량 질소%를 구한다. 이 방법은 숙성도가 진행된 Cheese에서 적합하다.

3) Ca 용성 질소(Soluble nitrogen in presence of Ca, SNCa)

Noomen(10)은 Cheese의 硬度는 불용성질소 때문이라고 생각하고 Cheese 중의 가용성 질소 정량방법을 여러각도로 연구하였다. 난점은 fraction의 투명화가 문제였는데 원심분리 및 각종 여과법을 시도하였으나 0.03M CaCl₂로 30°C에서 단백질을 추출한 다음 pH를 7.5로 조절후

30°C에서 10분간 45,000×G로 원심분리한 후 상등액중에 질소를 정량한 것이 가장 합리적이라고 하였다. 이 방법은 α -와 β -casein의 모든 분해물에도 잘 적용된다.

같은 Cheese내에서 NCN에 비하여 약간 높은 수치를 나타내고 조작성이 NCN만큼 간단하지 않으나 이 fraction은 gel chromatography시료로 쓰일 수 있다.

4) Alcohol 용성 질소(Alcohol soluble nitrogen, ASN)

Alcohol 용성 질소는 Alcohol이 단백질을 탈수 변성시키어 침전시키는 원리를 이용한 것으로 50% ethanol에 의한 법(9), 70% ethane(12~13) 혹은 80% ethanol + 75% acetone(14) 등이 있다. 70% ASN은 12% TCA의 NPN fraction과 유사하고 gel chromatography용 시료로 쓰일만 하다고 하였다.(9)

5) 염용성 질소(Salts soluble nitrogen, SSN)

5% NaCl 용액(9)으로 Cheese 단백질을 추출하는 경우 Ca-paracaseinate의 Ca이 Na으로 교환되어 용해도가 증가하므로 거의 생 cheese에 가까운 단백질도 용해시키므로 이 방법은 침전제에 의한 단백질의 용해도를 보는 방법이라기 보다 Cheese protein의 분산제로 더 적합할 것이다. 10주 이상의 숙성도를 가진 Cheese의 단백질을 거의 100% 분산시킨다.(9).

C. 여과 (Filtration)

1) 투석법(dialysis)

이 방법은 수용액을 이용하여 투석할때 투석되는 저분자 화합물의 질소나 유리상태의 Ca, Mg, P 등의 화합물을 추적할 수 있으나(15) 분석의 한 방법이라기 보다는 고분자 물질의 정제에 더 많이 이용된다.

2) 환의여과(Ultra filtration)

분자량별 여과막을 사용하여 Ultrafiltration-diafiltration을 이용하여 표적 물질을 분자량별 여과, 정량, 정제가 가능하다.

한편, 단백질 뿐만 아니라 Ca, Mg, P 등에도 이용할 수 있다(16).

D. 초원심 분리(Ultra-centrifuge)

1) 비침전성 질소(Non sedimentable nitrogen, NSN)

Micell상태의 Caseins은 75,000×G에서 침전되는 성질과 불용성 단백질의 침전성을 이용하는 방법인데 Cheese 수용액(3)을 300,000×G로 원심분리 하였을때 침전되지 않는 질소를 정량할 수 있으나 이것은 process cheese의 해교현상 연구에 보다 적합할 것으로 보인다.

실제로 숙성 Cheese의 NSN의 fraction에는 아직도 상당한 량의 응고성 Caseins(Coagulable caseins)이 있다.

원심분리 하기전에 수용액을 여과하여 수용성 질소라고도 하나 NCN이나 NPN 만큼의 재현성을 가지지 못한다.

E. 전기영동(Electrophoresis)

1) Gel electrophoresis

Cheese 숙성도에 관하여 많은 연구자들이 전기 영동을 실시하였다. Support의 형태에 따라 Disc electrophoresis, plate electrophoresis (vertical, horizontal), 2차 전기영동(Two dimensional electrophoresis,로 나누거나 Support 종류에 따라 polyacrylamide, Starch gel, polyacrylamideagarose, agarose cellulose, 혹은 특수 media를 이용하는 electrofocusing 등이 있다.

Cheese 숙성도 검사에 일반적으로 사용되는 것은 polyacrylamide를 많이 사용한다.

필자의 견해로는 disc보다 plate가 resolution이 우수한 것으로 보인다. 한편, Disc영동은 ⊖극을 위하여서는 또 다른 영동을 행하여야 하나 horizontal plate영동은 ⊖극의 para#를 관찰할 수 있다. acrylamide의 %함량을 시료에 따라 달리하고 agarose의 함량을 0.8%로 고정하였을 때 여러종류의 크기의 단백질을 다양하게 분리할 수 있다(17). 이 방법의 또 다른 장점의 하나는 gel의 보존성이 우수하고 이미 제조된 gel을 각종 완충용액에 다양하게 침윤 여러종류의 영동을 행할 수 있고 투명도가 starch gel보다 양호하고 조작상 변형이 일어나지 않을 만큼

질긴 특성이 있다. 이 방법을 Griponetal(18)이 Cheese 숙성도 결정에 적합하게 변형 적용하였다. 투명하기 때문에 Densitometer 통과도 용이하다. 한편 Starch gel 영동(19)은 우선적으로 gel이 불투명하고 조작하기에 불편하나 α 및 β Caseins의 분해산물을 관찰하는데는 Uriel법(17)이나 별차이가 없다. 비슷한 방법으로 Sodium paracaseinate를 standard로 이용하여 정량적인 전기영동이 수행되었다(20). 한편 Elshibiny(21)은 disc electrophoresis를 실시한 후 각 Casein(α , β) band를 절단 분리 침출한 후 발색시커어 650 μ m에서 흡광도를 측정하여 정량적으로 Caseins의 분해도를 계산하였다. 분해된 Casein이나 Casein 분해물이 단백질 염색소와의 결합능력이 균일하다고 볼 수 없으므로(22) 순분해물에 대한 Densitometry 수치는 정확한 의미에서의 정량적 분석이라고 할 수 없고 Semiquantitative라고 하는 것이 적합하다. 시료조제는 일반적으로 pH4.6에서 응고 침전된 fraction(NCN정량시)을 이용하는 것이 보통이다. 전Caseins의 주요 조성분의 등전점이 electrofocusing에 의하여 구해졌고 2차 전기영동에 의하여 Casein 분해물들이 분리되었다(23)

Camembert cheese의 pH4.6 불용성 fraction을 상기 방법을 이용하여 숙성에 관여하는 5개의 proteinases의 작용을 연구하였다(24).

이 방법은 단백질 분해의 mechanism을 규명하는데 상당하게 기여할 뿐만 아니라 Casein의 조성분을 이해하는데 중요한 것으로 보인다.

2) 고압 전기영동(High voltage electrophoresis, HVE와 finger printing, FP)

고압전기영동이나 Finger printing은(25)Whatman 3MM paper를 이용하여 500~5,000V에서 전기영동을 행하는 것으로 Casein과 같은 고분자 물질은 gel 전기영동을 행하고 주로 가용성분 NPN, NCN이나 Alcohol soluble fraction을 이용한다.

Finger printing은 일명 peptide mapping라고 하여 숙성중에 일어나는 분해된 peptide의 분리, 정제에 큰 도움을 준다. 5,000V 이상에서는 유리 Amino 산도 분리될 수 있다(26).

F. Chromatography

숙성중에 단백질 변화를 연구한 chromatography는 Ionic chromatography보다 gel chromatography가 주로 많이 이용되었다.

Gel chromatography는 주로 2종류로 나누어지는데 고분자(caseins)와 저분자(가용성 Protein)의 chromatography가 있다.

Sephadex G-25를 사용한(18) NCN fraction을 Chromatography하여 분자량 별로 7단계로 나누어 각 단계별 총질소의량을 전질소의 %비율을 구하였다(분자량 < 5,000). 그리고 pH4.6에서 침전된 불용성 부분을 Bio Gel A5m을 사용 Na dodecyl sulfate(SDS) 존재하에 역시 분자량 별(44,000~1750)로 9단계로 나누어 질소를 정량한 다음 각 단계별 N%를 구하였다(18)이 연구에서 이용한 숙성을 연구하기 위하여 특별히 고안된 무균적 cheese 제조기에서 cheese를 제조하여 Rennet에 의한 단백질 분해도를 측정하였다.

한편, Sephadex G-100을 사용(27) gel chromatography를 행한 후 각 fraction의 흡광도를 280과 350 μ m에서 측정 Rayleigh법을 이용하여 α 와 β Casein의 분해물을 정량적으로 분자량 별로 확인하였다. 고분자의 불용성 fraction의 Ionic chromatography는 분자량에 관한 정보를 주지 못하고 나타나는 peptide 수에 관한 정보만 있으므로 숙성 연구에는 덜 적합한 것으로 보인다.

G. 비색법(Spectrophotometry)

1) Tyrosine value(T·V)

NPN fraction을 275와 290 μ m의 흡광도를 측정하여 상대적인 숙성도를 구하였다(28). 이 방법을 개선하여 Blue cheese에서 TCA fraction에 phenol 등을 가하여 발색시커어 Tyrosine과 Tryptophane을 정량하였다(29).

2) O-phthalaldehyde(OPA)법

유제품에서 일차 amines과 β -mercapto ethanol과 OPA과의 반응에 근거를 두어 이 반응 생성물이 340 μ m에서 강한 흡광도를 나타낸다.

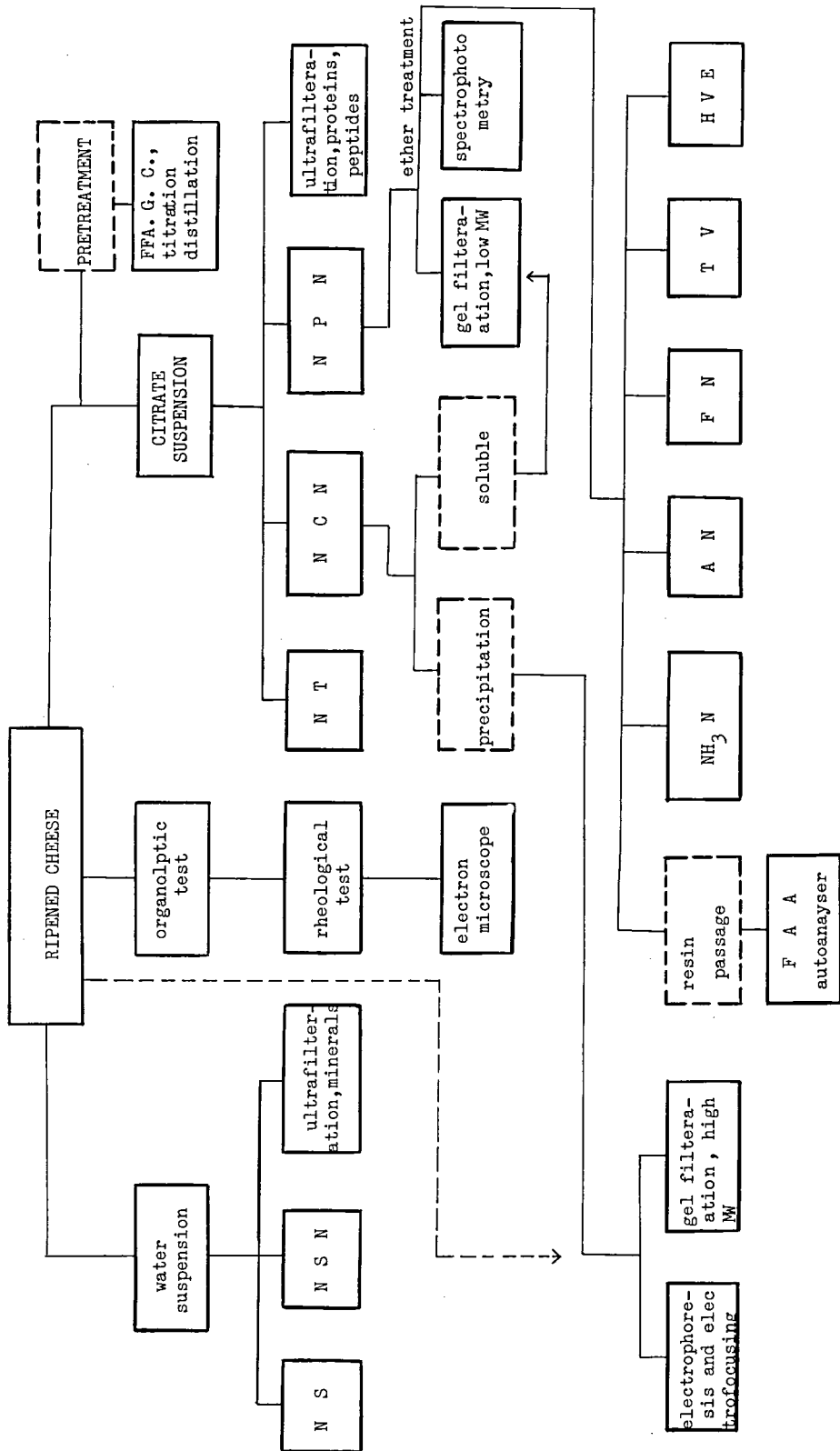


Fig. 1 Recommendation for the determination of ripening degree

peptide 결합과 side chain에는 영향이 없고 α -amines 종류간의 차이는 적다고 한다(30).

H. 단백질해 효소 정량(Determination of proteinase activity)

숙성도 결정의 목적으로 Cheese 중의 단백질해 효소의 정량은 그리 많이 행하여지지 않았다.

더우기 Cheese 종류에 따라 미생물에 의하여 생성되는 효소의 종류가 다양하므로 단백질해 활성도 측정이 간단하지 않다.

Emmental 에서 P-benzoquinone 의량은 pro-pion 발효와 단백질해의 정도를 측정하기 위하여 행하여 졌다(31).

Emmental cheese 의 2차 발효에 의한 비교 연구에서 미생물의 수와 효소의 활성화도 및 대사산물의 생성은 상관관계가 있다고 하였다(32).

I. 저분자 물질의 정량(Determination of low molecular weights substances)

1) 유리 Amino acid(Free amino acid; F AA)

Cheese 중에 유리 amino acid의량은 숙성중이나 용융중에 증가하는 것으로 알려져 있다.

숙성 기간중 amino acid의 정량은 상당히 근거가 있는 방법으로 이용할만하다. 생유와 저온 살균된 원유로 조제한 Cheddar cheese에서 alcohol 용성 fraction을 조제하여 paper chromatography를 행한 후 반점의 크기로 amino acid를 정량하였다(33).

숙성된 Camembert, Saint-paulin 및 Gruyere에서 ethanol fraction을 제조 amino acid 자동분석계에서 amino acid를 정량하였다.

같은 Cheese 내에서 총 amino acid의 형태는 Cheese 간에 차이가 적고 Cheese 종류 간에는 차이가 있다고 하였다(34).

유당을 가수분해 시킨 Cheddar에서 유리 Amino acid과 물성의 특성과의 관계를 연구하였다(35). 유당을 가수분해 시킨 원유로 제조된 cheese가 대조군 보다 물성적 특성이 3~4 개월에서 현저하게 양호하였는데 이것은 유당 분해도가 숙성을 촉진시킨 cheese에 조적 특성에 관계되는 것이다.

Amino acid fraction 제조 방법은 여러가지가 있으나 NPN fraction에 3배 가량의 ether 처리를 3~4회 반복 TCA를 제거한 다음 농축하여 자동 분석계를 통과할 수 있다(36). 이 방법은 NPN을 정량 후 계속하여 실시하기 때문에 따로 N정량을 하지 않아도 되는 장점이 있다.

Alcohol fraction은 amino acid 정량시 다른 수용액에 비하여 이 fraction은 증발농축이 용이하다. 한편, 2.5% Sulfosalicylic 산 용액으로 단백질을 제거하고 amino acid 정량을 할 수 있다. 시료중에 amino acid량이 극히 적으면 IR 120 Resin을 통과 농축시킬 수 있다.

Amino acid량의 표시 방법은 시료의 총량이나 전물량에 근거를 두는 것 보다 총질소 6.25 g(100g 단백질)에 대한 각 Amino acid의량(mg)이나 mole로 표시하는 것이 합리적이다.

2) 인 텅크스텐산 용성 질소(Phosphotungstic acid soluble nitrogen; PTN)

2N 황산용액과 2% phosphotungstic acid 용액에서 가용성으로 남아있는 저분자의 dipeptide나 중산성 amino acid태 질소를 정량한다(37). 한편 이 fraction을 Trinitrobenzene sulfonic acid법으로 발색시키어 340 μm 에서 PTA을 정량하였다(38). 17개 Amino acid의 회수율이 71%라고 하였다.

3) Formal 性 질소(Formal nitrogen; FN)

Sorenson 법에(39) 근거를 둔 것으로 중성시료용액에 중성 formalin을 가하여 Amino 기를 제거한 다음 유리되는 COOH기를 표준 alkali로 적정하는 Amino acid태 질소를 말한다. 숙성도가 높은 Cheese에서만 가능하다.

4) 암모니아성 질소(Ammoniacal nitrogen; AN)

단백질이 제거된 용액에서 Nessler 반응을 시킨 후 Ammonia성 질소를 정량하는 것으로 각종 Cheese에서 Lenoir(5)에 의하여 시도되었다. 한편 입상화학에서 많이 이용되는 Conway 법(39)도 상당히 이용할만하다.

Potentiometry(40)를 이용하는 방법도 간단하고 정밀도가 상당히 높다. 한편 원유의 NPN fraction중에서 Creatin, Creatinine, Peptide, 마노산, 유리 α -Amino acid, Orotic acid, Uric

acid, NH₃ 및 요소를 신속법으로 측정하는 법이 고안 되었다(41).

5) 유리 지방산(Free fatty acid; FFA)

지방 분해는 Cheese 풍미 형성에 중요한 역할을 하나 조직에는 큰 영향을 끼치지 못한다. 일반적으로 지방의 가수 분해는 경질형에서 0.76%로 극히 적은 편이고 연질이나 Blue cheese에서 6.4%의 높은 수치를 나타낸다. 지방산의 옥도가를 보면 유리 지방산은 총산보다 불포화도가 높는데 이것은 지방산이 penicillium glaucum 같은 미생물에 의하여 탈수소반응을 일으키기 때문이다(42).

지방 분해도 역시 Cheese 숙성의 지표가 될 수 있으나 탄소수가 6 이상인 직선상의 지방산은 지방으로 부터만 유래된다. 일부의 butyric acid를 제외한 측쇄나 2-5 탄소의 지방산들은 단백질 분해에서도 유래될 수 있다. 유리 지방산의 비율은 개략적으로 지방 분해도를 측정한다.

ether 추출물을 표준 알카리로 적정하여 NaOH 량으로 표시하거나(43) 휘발성 지방산을 증류법(44)에 의하여 행할 수 있다.

J. 기타(Miscellaneous)

1) Cheese caseins의 Ca 결합능력(Ca binding capacity of cheese casein)

α 와 β -Casein은 Ca와 결합하는 caseins이므로 Cheese가 숙성되는 과정에서 분해가 일어났다면 그 결합능력도 변할 것이라는 이론하에 Gouda와 Cheddar에서 caseins을 분리한 후 Ca 결합 능력을 측정한 결과 숙성이 진행됨에 따라 결합능력이 저하되고 주로 숙성초기에 현저히 감소한다고 하였다(45).

2) 회분/수분 비율(Ash/moisture quotient) Bola cheese에서 이 비율은 α 와 β -Caseins이 비슷한 방법으로 역상관 관계가 있다고 하였다(46). 이 비율의 변화는 Cheese의 type, 종류에 따라 다를 것으로 보인다.

3) 전자 현미경(Electron microscope)

숙성 Cheese의 SEM(Scanning electron microscope)는 역시 Cheese 숙성에 정량적인 정보는 주지 못하지만 정성적으로 Cheese 숙성

에 또 다른 하나의 방법으로 이용될 수 있다.

단백질 분해의 양상, fine granular zone에 변화를 가져오고 3차 골격 구조는 변화지 않으나 분해산물이나 결정들이 나타날 수 있다(47).

4) 物性的 特性(Rheological characteristics)

Meshanger cheese에서 단백질분해도와 質感에 관한 상호관계가 연구되었는데 cheese의 硬度는 α s-casein의 분해와 상호관계가 있다고 하였다(48).

11종의 Cheese에 대한 6종류의 물성적 특성(rheological properties)이 Instron Universal Testing Machine에 의하여 연구되었다(49). 객관적인 질감은 panel 측정에 의한 결과와 일치하고 이러한 성질들은 cheese 시료의 pH등의 화학적인 조성과의 밀접한 관계가 있다고 하였다.

III. 結 論

Cheese 숙성중에 일어나는 반응은 서론에서 밝혔듯이 각종 cheese의 성분이 각종 화학적 반응을 일으키므로 그 mechanism은 아주 복잡하다.

예를 들면 저온살균된 원유로 제조한 Cheddar에서 일어나는 모든 mechanism을 밝힌다는 것은 막대한 분량의 연구가 된다. 따라서 이러한 복잡한 과정으로 일어나는 변화를 보편성이 있는 화학적 방법으로 획일성이 있는 숙성도를 결정하는 것은 어려운 일일 것이다.

더욱이 풍미 및 관능적 특성이 있는 cheese의 숙성도를 화학적 방법으로 연관지어 정량적인 수치로 표시한다는 것은 어려운 일이다.

품질관리면에서의 숙성도 결정은 경험에 의한 관능검사의 결과와 몇가지 화학적 방법으로 수분, NCN, NPN등의 정량 수치와 함께 복합적으로 평가할 수 있을 것이다.

Cheese 숙성도 연구에서 지방은 주요성분이고 향미에 크게 관여함에도 불구하고 숙성도를 결정하는 표적 물질로는 중요치 않은 것으로 보인다.

지방 이외에 주요성분인 Ca-phosphocaseinate는 숙성도 결정에 두가지 방법으로 접근한다. 즉, 이 단백질의 분해상태(고분자)를 추적하거나 분해산물(저분자)를 추적하는 것으로 나누어 진다.

숙성도 연구에 가장 기본적인 단계는 우선적으로 NCN 및 NPN의 정량과 전기영동에 의한 결과이다.

특히 최근에 실시된 2차 전기 영동과 electro focusing은 숙성의 mechanism의 규명이나 숙성도 결정에 상당한 도움을 준다. 숙성도를 결정시 이용하는 fraction의 종류 및 각종 단계를 그림 1에 나타내었다. 각종 실험군을 단독적으로 실시하는 것 보다 다른 군의 실험과 병행 실시 함으로써 합리적이고 상호보완이 될 수 있다. 예를 들면 각종 화학적 방법은 관능검사, 물성적 특성이나 전자현미경과 복합하면 더욱 명확하게 숙성도를 결정하거나 숙성 과정을 구명할 수 있으리라고 보인다.

IV. 参 考 文 献

1. JAQUET J. : LENOIR J. (1969)
Mechanisme intimes de l'affinage des fromages.
Economie et Médecine Animales, 10e, n 1, 38-71.
2. KUCHROO C.N. : FOX.F. (1982)
Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedure.
Milchwissenschaft. 37(6), 331-335.
3. LEE B.O. : ALAIS C. (1979)
Etude biochimique de la fonte des fromages. I. Mesure de la peptisation.
Le lait. 589-590, 589-596.
4. ROWLAND S.J. (1939)
The precipitation of the proteins in milk. J. Dairy Res. 9, 30-38.
5. LENOIR J. (1963)
Note sur la dégradation des protides au cours de la maturation du Camembert.
Le lait, Mars-Avril, 1-11.
6. ALAIS C. : JOLLES P. (1964)
Action de l'acide acétique et de l'acide trichloroacétique sur la caséine.
Ann. Bio. Anim. Bioch. Biophys, 4(1), 79-90.
7. LING E.R. (1956)
A textbook of dairy chemistry. London, Chapman et Hall Ltd.
8. DAHLBERG A.G. : KOSIKOWSKI F.V. (1947)
The flavour, volatile acidity and soluble proteins of Cheddar and other cheese. J. Dairy Sci., 30, 165-174.
9. REVILLE W.J. : FOX P.P. (1978)
Soluble proteins in Cheddar cheese: A comparison of analytical method.
Irish J. Food Sci. Techn., 2, 67-76.
10. NOOMEN A. (1977)
A rapid method for the estimation of dissolved and undissolved nitrogen compound in cheese. Neth. Milk Dairy J., 31, 163-176.
11. LEE B.O. (1981)
Etude biochimique de la fonte des fromages. Thèse, Docteur d'état ès Science
Thèse, Docteur d'état ès Science, Université de Nancy-I, Nancy, France
12. KOSIKOWSKI, F.V. (1951)
Paper partition chromatography of free amino acid in American Cheddar cheese. J. Dairy Sci., 34, 228-234.
13. LINDQVIST B. : STORGRADS T. : GORANSSON M.B. (1953)
Electrophoresis in paper as a means of studying in ripening process in cheese. Proc. 13th Inter. Dairy Congr., 1261.
14. PRZANSKI S : HABAJ B. : RYMASZEWSKI J. : RAPEZYNSKI T. (1966)
Influence of different starter cultures on the proteins breakdown in Edam cheese.
Proc. 17th Inter. Dairy Congr., D2, 555.
15. Personal communication in english translation from the danish report calcium and phosphorus content in Samsoe during processing and storing by BIRKKJAER, H.E.
16. NAKAJIMA I. : KAWANISHI G. : FURUICHI E. (1975)
Reaction of melting salts upon caseins micelles and their effects of Ca, p and bound water. Agri. Biol. Chem., Chem, 39

- (5), 979-987.
17. URIEL J. (1966)
Methode d'électrophorèse dans des gels d'acrylamide-agarose.
Bull. Soc. Chem. Biol., 48, No. 8-9, 969-982.
 18. GRIPON J. C. : DESMAZEAU M. J. : BARS D. : BERGERE J. L. (1975)
Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. Influence de la fréquence commerciale. Le lait, No. 548, 502-516.
 19. WAKE R. G. : BALDWIN R. L. (1961)
Analysis of caseins fraction by zone electrophoresis in concentrated urea. Biochem. Biophys. Acta, 47, 225-239.
 20. DEJONG L. (1975)
A quantitative electrophoretic method of studying cheese ripening. Neth. Milk Dairy J., 29, 162-168.
 21. EL-SHIBINY S. : EL-SALAM M. H. ABD (1976)
A quantitative disc electrophoretic technique to follow protein breakdown in cheese. Michwissenscharft, 31(2), 80-82.
 22. LORIENT D. (1977)
Dégradation thermique des caséines. Aspect physicochimiques, structuraux et nutritionnels. Thèse, Docteur d'état ès Sciences, Université de Nancy-I, Nancy, France
 23. TRIEU-CUOT P. : GRIPON J. C. (1981)
Electrofocusing and two dimensional electrophoresis of bovine caseins. J. Dairy Res., 48, 303-310.
 24. TRIEU-CUOT P. : GRIPON J. C. (1982)
A study of proteolysis during Camembert cheese ripening using electrofocusing and two dimensional electrophoresis. J. Dairy Res., 49, 501-510.
 25. LORIENT D. : BRACQUART P. : ALAIS C. (1977)
Dégradation thermique des caséines de vach. IV. Substance peptidiques libérées. Propriétés activatrices de la croissance des bactéries lactiques. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 17(2), 1-21.
 26. BAILEY J. L. (1967)
Techniques in protein chemistry, Elsevier publ. Co., Amsterdam.
 27. FOSTER P. M. D. : GREEN M. L. (1974)
A quantitative gel filtration method for analysis of proteinaceous fraction of Cheddar cheese. J. Dairy Res., 41, 259-268.
 28. VAKALERIS D. G. : PRICE W. V. (1959)
A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. J. Dairy Sci., 42, 264.
 29. LIN Y. C. : WASHAM C. J. : VEDAMUTHU E. R. (1982)
Vakaleris-Price and Hull method for determining soluble tyrosine and tryptophane in Blue cheese. J. Dairy Sci., 65(5), 707-711.
 30. CHURCH F. C. : SWAISGOOD H. E. : PORTER D. H. : CATIGNANI G. L. (1983)
Spectrophotometric assay using O-phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. J. Dairy Sci., 66(6), 1219-1227.
 31. NGOC M. DO. : LENOIR J. : CHOISY C. (1971)
Les acides aminés libres des fromages affines de Camembert, Saint Paulin et Gruyère de Comte. Revue laitière française, 288, 447-462.
 32. STEFFEN C. : BUHLMANN C. : SCHAR H. : RENTSCH F. (1979)
Vergleichende Untersuchungen von Käsen und ohne Nachgarung. III. Bacteriologische und enzymatische Untersuchungen. Schweiz. Milch. Forsch., 8(2), 3-10.
 33. KOSIKOWSKI F. V. (1951)
The liberation of free amino acid in raw and pasteurized milk Cheddar cheese during ripening. J. Dairy Sci., 34, 235-241.
 34. WEAVER J. C. : KROGER M. (1978)
Free amino acid and rheological measurement on hydrolysed lactose Cheddar cheese during ripening. J. Food Sci., 43, 579-583.

35. LEE B.O. : ALAIS C.(1981)
Etude biochimique de la fonte des fromages. III. Evolution des acides aminés libres et de la digestibilité in vitro des proteines. Le lait,61,140-148.
36. MOGENSEN M.T.S.(1948)
Determination of the degree of proteolytic decomposition in cheese with special reference to the fromol titration. Meddlande Frau Staten Mejeriforsok,21,286-436.
37. JARRET W.D. : ASTON J.W. : DULLEY J.R.(1982)
A simple method for estimating free amino acid in Cheddar cheese. Australian J. Dairy Technology,37(2), 55-58.
38. OSER B.L.(1965)
Hawk's Physiological chemistry, McGraw-Hill Book Co., N.Y.
39. LAMPO S.M. : FPANCANI C. : EMALDI G.C.(1982)
Ammonia content in milk and some milk products. Tecnica Lattero-Casearia, 33(2),95-105.
40. WOLFSCHOON von A. : KLOSTERMEYER H. : WEISS G.(1982)
Die NPN-Fraktion der Kuhmilch. V. Analytik. Milchwissenschaft, 37(2), 80-85.
42. ALAIS C.(1975)
Science du lait, SEPAIC, ED. Paris
43. FIL, IDF(1959)
Détermination de l'acidité de matière grasse, Norme internationale 6.
44. KOWSIKOWSKI F.V. : DAHALBERG A.G.(1946)
A rapid direct distillation method for determining the volatile acid of cheese. J. Dairy Sci.,29,861.
45. 中島一郎, 巽 清, 大場省三, 川西悟生, 古市榮一(1972) チーズ熟成中にけるチーズカゼインのカルツウム結合力の變化. 農化第46巻, 第45號, 259~266.
46. MARCOS A. : FERNANDEZ-SALGUERO J. : ESTEBAN M.A. : Leon F.(1979)
Relation of ash/moisture quotient in some cheeses to hydrolysis of α s- and β -casein. J. Dairy Sci.,62,392-397.
47. RUEGG M. : MOORE U. : BLANC B.(1980)
Veränderungen der Feinstruktur von GreyerzerKäse in verlaut der Reinfung. Eine Studie mit dem Raster-Elektrone mikroskope. Milchwissenschaft,35(6),329-335.
48. NOOMEN A.(1978)
Activity of proteolytic enzymes in simulated soft cheese(Meshanger type). II. Activity of calf rennet. Milk Dairy J.32,49-68.
49. CHEN A.H. : LARKIN J.W. : IRWIN W.E.(1979)
Textural analysis of cheese. J.Dairy Sci.,62,901-907.