

## Enzyme Modified Cheese 제조

서형주 · 손종연 · 김윤숙\*\*

고려대학교 병설보건전문대학 식품영양과, \*고려대학교 생물공학연구소, \*\*한국식품개발연구원

### Production of Enzyme Modified Cheese

Hyung-Joo Suh, Jong-Youn Son, Yoon-Sook Kim

Department of Food and Nutrition, Junior College of Allied Health Science, Korea Univ.,

\*Institute of Biotechnology, Korea Univ., \*\* Korea Food Research Institute

#### Abstract

For the production of EMC, various proteases and lipases were used to hydrolyse cheese milk. The optimal conditions of various proteases were as follows : pronase-30°C, pH 7.0, pancreatin-40°C, pH 8.0, pacific protease-30°C, pH 7.0 and protease from Asp. sp. -50°C, pH 8.0. The optimal conditions of various lipases were as follows : pancreatic lipase-50°C, pH 8.0, palatase ML-50°C, pH 7.0 and lipase from *Candida cylindracea*-40°C, pH 6.0. After hydrolysis under optimal conditions, the amounts of free amino acid and free fatty acid were increased with reaction time. Hydrolysates of pacific protease and pronase were showed high amount of free amino acid(0.67 mg / ml and 0.74 mg / ml). Especially EMC had high amount of glutamic acid and leucine. Lipase from *Candida cylindracea* produced high amount of free fatty acid(24.63 mg / ml). Butyric acid, palmitic acid, stearic acid and oleic acid among free fatty acids were showed high amounts. Sensory evaluation of various EMC were tasted with 8 panelist. EMC produced with pancreatic lipase was most bitterness and EMC produced with palatase ML was best acceptable cheese flavor.

Key words : EMC(enzyme modified cheese), pancreatin, palatase ML

### 서 론

식생활이 서구화되면서 치즈의 소비가 증가하고 있으며 각종 치즈제품이 세파, 스낵과 기타 가공식품의 원료로 사용되고 있다. 그러나 제과 등 가공식품에 자연 숙성시킨 치즈를 사용하기에 여러가지 제약이 따른다. 자연 숙성시킨 치즈는 숙성기간이 짧게는 60일에서 1년 이상이 필요하므로 노력과 경비가 소요되어 가공식품제조에 커다란 부담이 되고 있다.

이런 제약을 해소하기 위해 자연 숙성시킨 치즈와 동일한 품미를 가지며 제조기간을 단축하고자 효소를 첨가 사용하는 연구가 진행되어 왔다<sup>1)</sup>.

효소를 처리하여 치즈의 숙성을 단축하거나 향을 조절하고자 하는 최초의 시도에 대해 정확히 알 수 없으

Corresponding author : Hyung-Joo Suh

나, A.D. 100~300 세기경 Romano cheese에 강한 향을 부여하기 위해 단백분해 효소, 지방 분해 효소의 활성을 가진 rennet paste를 cheese milk에 첨가하여 사용하였다<sup>2)</sup>.

그러나 식물과 동물에서 효소를 추출하여 치즈 제조에 사용하기에는 효소의 단가가 높고, 효소의 역가가 일정치 않을 뿐만 아니라 cheese milk에 첨가하여 제조한 치즈의 경우 쓴맛이 생성되므로 미생물로 부터 효소를 얻고자 하는 연구가 진행되어 왔으며<sup>3)</sup>, 미생물에서 추출한 식품용 효소가 싼 가격으로 공급되기 시작하여 이 분야에 활력을 불어 넣었다. 1973년 cheddar cheese 향 개발에 대한 효소의 체계적인 연구가 진행되어 lipase와 protease 혼합사용시 cheddar cheese의 향이 증가하였고, protease 중에 neutral protease가 치즈 숙성에 적합하며, acid protease 사용시 쓴맛을 생성하므로 치즈 숙성에 부적합하다고 밝

혀졌다<sup>4, 5)</sup>. 또한 fungal protease와 lipase에 의해 치즈 숙성시 적당한 농도의 염의 첨가는 치즈향에 바람직한 영향을 미치며<sup>6, 7)</sup>, *Aspergillus oryzae*로 부터 얻은 lipase와 neutral protease 사용시 cheddar cheese에 뛰어난 향을 부여됨을 확인하였다<sup>8)</sup>.

이와 같이 protease와 lipase를 이용하여 치즈의 조직감과 풍미를 변형시키는 방법으로 enzyme modified cheese(EMC)<sup>9, 10)</sup>와 accelerated ripened cheese(ARC)<sup>11, 12)</sup>가 있다. ARC는 숙성기간 중 lipase를 첨가하여 치즈의 조직감을 개선시키는 방법으로 EMC에 비해 풍미가 좋고 조직감이 뛰어난 치즈를 만들 수 있는 반면에 숙성기간이 EMC에 비해 오래 걸린다. EMC는 lipase와 protease 등 여러 효소를 첨가하여 치즈를 제조하는 방법으로 일반적으로 fungal lipase와 neutral protease를 혼합 사용하며, ARC와는 달리 많은 양의 효소와 여러 종류의 효소가 사용된다. 또한 ARC에 비해 제조 기간이 짧아, 4~8일 정도의 기간이 필요하며, 자연 숙성시킨 치즈에 비해 풍미가 5~15배 강한 특징을 가지고 있다.

EMC는 주로 processed cheese, cheese spreads, cheese dips, cheese analogues와 cheese sauces 등으로 사용되고 있다<sup>13)</sup>.

본 연구에서는 pronase와 actinase 등 neutral protease와 pancreatic lipase 및 microbial lipase인 palatase ML 등을 사용하여 EMC를 제조하여 그 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에 사용한 전지분유와 무당연유는 서울식품(주) 제품을 구입하여 실험에 사용하였다. Cheese milk 가수분해에 사용한 protease는 pronase(Sigma Co., 720,000 U/g), pancreatin(Pacific Chem. Co., 200,000 U/g)과 *Aspergillus* sp. 기원 protease(Novo Co., 60,000 U/g)을 사용하였고, lipase는 palatase ML(Novo Co., 1,000 LU/g), *Candida cylindracea* 기원 lipase(Meito Co., 30,000 LU/g)을 사용하였다. 성분분석에 사용된 시약은 일급시약을 사용하였다.

## 2. 실험방법

### 1) Protease 활성 측정

Casein-Folin법<sup>14)</sup>을 변형하여 protease의 활성을 측정하였다. 기질(연유 85 g + 전지분유 15 g) 10 g 을 100 ml 삼각플라스크에 취하여, 기질 g당 200 unit에 해당하는 양을 가해, 10분 반응 후 95% ethanol 20 ml를 가한 다음 여과하여 상동액을 취해 275 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2) Lipase의 활성 측정

Lipase의 활성을 Herringtong에 의한 측정법<sup>15)</sup>을 사용하였다. 기질(연유 85 g + 전지분유 15 g) 10 g 을 100 ml 삼각플라스크에 취하여, 기질 g당 16 LU에 해당하는 lipase 량을 가한다. 20분간 반응 후, 유지용매(95% ethanol과 ether 동량 혼합액) 10 ml를 가해 반응 정지시킨 다음 여과하여, 상동액을 취해 phenolphthalein을 이용, 적정에 소비된 0.25 N NaOH 량에 의해 활성을 측정하였다.

### 3) 유리 지방산과 유리 아미노산의 양 측정

유리 지방산의 양은 A.O.A.C 법<sup>16)</sup>에 의해 측정하였다. 즉, 기질 10 g에 lipase(16 LU/g)를 첨가하여, 최적 조건에서 반응 후 상동액을 취해, phenolphthalein을 이용 0.25 N NaOH로 적정하여 반응 시간에 따른 유리 지방산의 양을 측정하였고, 유리 아미노산의 양은 Ninhydrin 법<sup>17)</sup>에 의해 측정하였다.

### 4) EMC의 제조

기질인 무당연유와 전지분유를 85 g과 15 g을 혼합 용해 후 70°C, 15분간 살균하여 1,500 psi에서 균질화 후 30°C로 냉각하였으며, 기질 g 당 200 unit에 해당되는 protease를 첨가하여 각 반응 조건에서 반응 후 80°C에서 불활성시키고 냉각하였다. 기질 g 당 16 LU에 해당되는 lipase를 첨가하여 각 반응 조건에서 4시간 반응시킨 다음 80°C에서 불활성시킨 후 5°C에서 3일간 숙성하여 EMC를 제조하였다. 제조 과정은 Fig. 1과 같다.

Cheese milk → Pasteurization → Cooling → Protease addition  
 (70°C, 15 min) (200 U/g sub.)  
 → Incubation → Heat inactivation → Cooling → Lipase addition  
 (for 1 hr) (80°C, 10 min) (16 LU/g sub.)  
 → Incubation → Heat inactivation → Cooling → Aging  
 (for 4 hr) (80°C, 10 min) (5°C, 3 days)

Fig. 1. Manufacture procedure of enzyme modified cheese.

## 결과 및 고찰

### 1. Protease의 최적 반응조건

Pancreatin 등 4가지 protease의 최적 반응조건을 검토하기 위해 반응 온도와 pH에 대한 영향을 검토하였다.

각 protease에 의한 최적 반응 온도를 검토한 결과 (Fig. 2), 세균성 효소인 protease와 pacific protease는 30°C에서 최대의 활성을 보였으며, pancreatin은 40°C, Asp. sp. protease는 45°C에서 최대활성을 보였다.

Mayda<sup>18)</sup>는 *Bacillus subtilis*가 생산하는 pro-

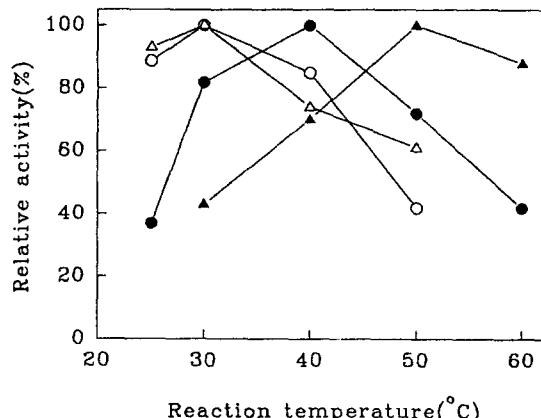


Fig. 2. Effect of temperature on the activity of protease.

○ - ○ : Pronase, ● - ● : Pancreatin  
 △ - △ : Pacific protease  
 ▲ - ▲ : Protease from *Asp. sp.*

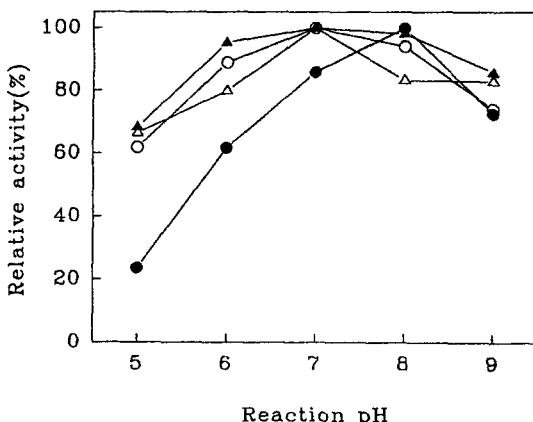


Fig. 3. Effect of pH on the activity of protease.

○ - ○ : Pronase, ● - ● : Pancreatin  
 △ - △ : Pacific protease,  
 ▲ - ▲ : Protease from *Asp. sp.*

tease를 이용하여 EMC를 35°C에서 제조한 결과와 유사하며, Kuehler<sup>19)</sup>는 whey protein 가수분해시 pronase를 위의 결과보다 다소 높은 50°C에서 가수분해를 하였다.

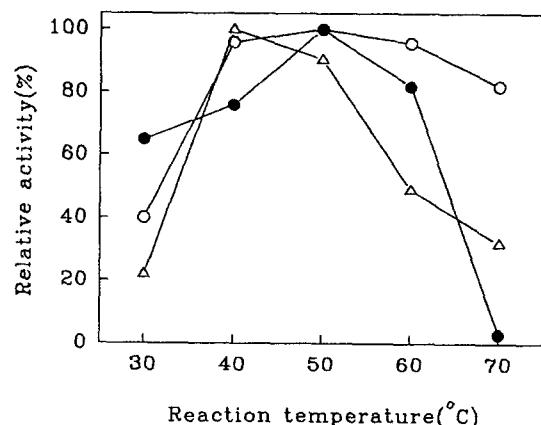


Fig. 4. Effect of temperature on the activity of lipase.

○ - ○ : Pronase ML  
 ● - ● : Pancreatin Lipase  
 △ - △ : Lipase from *Candida cylindracea*

Fig. 2의 결과에 의해 각 효소의 반응온도에서 pH를 달리하여 최적 반응 pH를 검토한 결과(Fig. 3), pronase, *Asp. sp.* protease는 pH 7.0에서 최대의 활성을 보였으며, pancreatin은 pH 8.0, pacific protease는 pH 6.5에서 각각 최대의 활성을 보였다. 비교적 중성 부근에서 최대의 활성을 보이고 있다. 이와 같은 neutral protease의 사용은 cheese의 향의 개선과 숙성을 촉진하여 비교적 쓴맛이 적은 EMC 제조에 바람직하다<sup>4,5)</sup>.

## 2. Lipase의 최적 반응조건

Palatase ML 등 lipase의 최적 반응 조건을 검토하기 위해 각각의 온도와 pH에서 최대활성을 검토하였다. 각각의 온도에서 lipase의 활성을 비교한 결과(Fig. 4), *Candida cylindracea*로부터 추출한 lipase는 40°C에서 최대의 활성을 보였으며, pancreatic lipase와 palatase ML은 50°C에서 최대의 활성을 보였다. 특히 *Asp. sp.* 생산하는 palatase ML은 비교적 넓은 온도범위(40~60°C)에서 95% 이상의 높은 활성을 보이는 반면 pancreatic lipase와 *Candida cylindracea*가 분비하는 lipase는 좁은 반응온도 범위를 보였다. Harper<sup>20)</sup>는 pancreatic lipase 사용시 위의 결과보다 다소 낮은 35°C에서, *Asp. sp.* lipase는 위의

결과와 유사한 35°C에서 EMC를 제조하였다.

pH에 따른 lipase의 활성을 검토한 결과(Fig. 5), palatase ML은 pH 7.0, pancreatic lipase는 pH 8.0, *Candida cylindracea*가 생산하는 lipase는 pH 6.0에서 최대의 활성을 보여, pH 6~8 사이에서 각 효소들이 가장 높은 활성을 보였다. Harper<sup>20)</sup> 역시 pH 6.6~8에서 각 lipase를 이용하여 EMC를 제조하였다.

## 3. EMC 제조시 유리 아미노산 생성량 검토

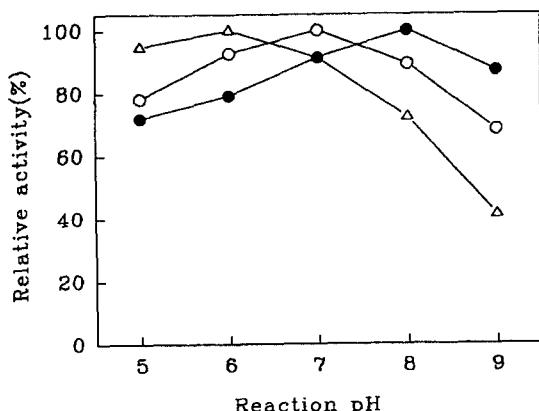
Cheese milk에 protease를 처리하여 반응시간당 유리 아미노산의 생성량을 검토한 결과(Table 1), pancreatin과 pronase에 의한 가수분해시 유리 아미노산의 생성량은 60분 가수분해시 0.67 mg/ml, 0.74 mg/ml로 비교적 높은 생성량을 보이는 반면, pacific protease와 *Asp. sp.* protease를 60분 처리시, 0.39 mg/ml로 낮은 유리 아미노산의 생성량을 보이고 있다. 유리 아미노산의 생성량을 살펴본 결과, 유리 아미노산의 생성량이 많은 pancreatin과 pancreatin에 의한 가수분해물이 쓴맛이 적을 것으로 추측이 되며, 이들 중 단가가싼 pancreatin을 사용하여 EMC를 제조하고자 한다.

**Table 1. The amount of free amino acid (mg/ml)**

Reaction time	Pacific protease	Pronase	Pancreatin	Protease from <i>Asp. sp.</i>
20min	0.42	0.33	0.23	0.21
40min	0.65	0.64	0.32	0.32
60min	0.67	0.74	0.39	0.36

**Table 2. The amount of free fattyacid (mg/ml)**

Reaction time	Pancreatic lipase	Palatase ML	Lipase from <i>Candida sp.</i>
30 min	5.59	4.26	6.84
1 hr	9.34	6.62	10.07
2 hr	12.94	9.49	17.21
3 hr	15.07	11.98	20.51
4 hr	16.10	13.31	24.63



**Fig. 5. Effect of pH on the activity of lipase.**

○ - ○ : Pronase ML

● - ● : Pancreatin Lipase

△ - △ : Lipase from *Candida cylindracea*

#### 4. EMC 제조시 유리 지방산 생성량 검토

Palatase ML, pancreatic lipase와 *Candida cylindracea* lipase를 처리하여 반응시간에 따른 유리 지방산의 생성량을 측정한 결과(Table 2), 4 시간 반응시 유리 지방산의 생성량은 *Candida cylindracea* lipase에 의해 24.63 mg /ml, pancreatic lipase에 의해 16.10 mg /ml, palatase ML에 의해 13.31 mg /ml의 유리 지방산 생성량을 보이고 있다. 위의 결과에 따라 유리 지방산의 생성량이 많은 *Candida cylindracea* lipase에 의한 EMC의 향이 강할 것으로 추측된다.

#### 5. EMC의 유리 아미노산의 조성

Cheese milk를 pancreatin을 포함한 protease로 각각 1시간 반응하여 얻은 EMC의 유리 아미노산의 조성을 검토한 결과(Table 3), glutamic acid와 leucine이 각각 10.25~14.29  $\mu\text{mol/g}$ , 9.58~13.42  $\mu\text{mol/g}$ 으로 높은 생성량을 보이고 있다. 특히 쓴맛에

관여하는 소수성 아미노산인 Ile, Leu, Tyr, Phe, 중 Ile, Lue와 Phe가 비교적 높은 함량을 보이고 있다. 정미성 아미노산(Glu, Asp, Ser, Gly, Thr)과 소수성 아미노산(Ile, Leu, Tyr, Phe, Ala)의 비가 pancreatin은 0.85, pronase와 *Asp. sp. protease*는 0.78, pacific protease는 0.75로 pancreatin에 의한 반응율이 가장 쓴맛이 적을 것으로 추측이 된다. 명태 단백 가수분해물 제조시<sup>21)</sup> 비교적 정미성 아미노산의 생성량이 높고 소수성 아미노산의 생성량이 적은 pronase는 우유 단백질 가수분해시 높은 정미성 아미노산의 생성량과 더불어 높은 소수성 아미노산의 생성을 보였다.

반면, cheedar cheese<sup>7)</sup> 제조의 경우 90일 숙성시 Glu, Leu가 10.2, 10.7  $\mu\text{mol/g}$ 으로 가장 많은 생성량과 적은 양의 소수성 아미노산의 생성량을 보인 반면, 본 결과에서는 다소 많은 양의 정미성 아미노산의 생성과 더불어 소수성 아미노산 생성량 역시 cheddar cheese 제조시 보다 다소 높은 결과를 보였다.

**Table 3. Free amino acid composition of enzyme modified cheese with different protease (mol/g)**

Amino acid	Protease from <i>Asp. sp.</i>	Pancreatin	Pacific protease	Pronase
Asp	0.99	1.00	1.00	0.85
Thr	2.72	2.56	2.08	3.09
Ser	2.80	2.47	2.43	3.59
Glu	12.32	14.29	10.25	13.90
Gln	2.59	2.06	1.52	1.98
Pro	4.20	4.62	4.57	5.56
Gly	4.40	3.44	1.91	3.49
Ala	4.20	3.90	3.41	4.96
Val	5.66	6.82	5.34	8.04
Met	2.76	2.50	2.13	3.45
Ile	3.15	2.50	2.38	3.15
Leu	12.49	13.42	9.58	12.52
Tyr	2.72	1.80	2.12	2.62
Phe	7.07	6.04	6.04	8.45
Trp	3.07	3.68	4.76	3.13
Lys	6.70	7.66	5.66	9.32
His	2.27	2.01	2.04	2.52
Arg	2.80	1.55	0.51	1.25

#### 6. EMC의 지방산 조성

Cheese milk를 pancreatin으로 1시간 처리 후 palatase ML 등 lipase를 4시간 처리하여 얻은 EMC의

**Table 4. Free fatty acid composition of enzyme modified cheese with different lipase (mol%)**

Fatty acid	Pancreatic lipase	Lipase from <i>Candida sp.</i>	Palatase ML
4:0	13.90	14.42	10.73
6:0	0.34	—	0.73
8:0	0.59	0.15	0.62
10:0	2.00	1.70	1.95
12:0	2.70	2.70	2.75
14:0	10.50	9.99	12.03
16:0	33.78	30.37	31.56
18:0	14.08	14.71	13.55
18:1	26.09	27.07	28.39
18:2	2.06	2.00	2.01

After cheese milk was hydrolysed by pancreatin for 1 hr, samples were hydrolysed by various lipases for 4 hr.

**Table 5. Taste of enzyme modified cheese**

	Palatase ML	Lipase from Pancreatic <i>Candida</i> sp. lipase
Cheese flavor	4.3	3.4
Bitterness	2.3	2.1

After 1 hr proteolysis with pancreatin, samples were hydrolysed with lipases and tasted by a panelist of 8 members.

5 : Very strong, 4 : Strong, 3 : Medium, 2 : Weak

1 : Very weak

지방산 조성을 검토한 결과(Table 4), 세 EMC 공히 palmitic acid를 30% 이상 함유하고 있고, oleic acid 역시 25% 이상 함유하고 있다. *Candida cylindracea* lipase에 의한 EMC는 다른 두 가지 EMC와는 달리 caproic acid를 함유하지 않고 있으나, 그외의 지방산 조성은 큰 차이가 없다.

Arnold<sup>22)</sup>, Kilara<sup>33)</sup> 등도 역시 pamitic acid와 oleic acid의 높은 함량을 보고하였다. 이와 같이 palmitic acid, stearic acid, oleic acid, butyric acid 가 cheese의 중요한 향기성분으로 작용함을 알 수 있으며, 각 EMC에서의 이들 유리 지방산의 함량은 pancreatic lipase가 87.85%, *Candida cylindracea*가 생산하는 lipase 사용시 86.55%, palatase ML 사용시 84.2%의 함량을 보이고 있다.

## 7. 관능검사

Pancreatin 처리 후 palatase ML 등 lipase를 처리하여 제조한 EMC를 숙련된 관능검사 요원 8명에 의해 관능검사를 실시한 결과(Table 5), pancreatin 처리시 중간 정도의 쓴맛을 보인 반면, *Candida cylindracea* lipase와 palatase ML 처리시 비교적 약한 쓴맛을 보이고 있다. 다른 효소 처리 군에 비해 pancreatin 처리시 lipase 작용외에 protease도 더불어 작용하여 많은 양의 소수성 아미노산을 생성하여 다른 EMC에 비해 쓴맛이 강한 것으로 추측된다.

치즈향에 대한 관능검사 결과 pancreatin과 palatase ML 처리시 강한 치즈 향을 보이고 있다. 이는 pancreatic lipase와 palatase ML에 의해 숙성시 생성된 caproic acid가 cheese의 향에 중요한 역할을

하는 것으로 여겨지며, 비교적 butyric acid의 양이 적은 EMC가 바람직한 향을 부여함을 알 수 있었다.

이상의 결과에 의해 pancreatin을 1시간 처리 후 palatase ML을 4시간 처리하여 얻은 EMC가 바람직 한 cheese 향을 가지며 쓴맛이 약한 cheese 제조에 적합하였다.

## 요약

Cheese milk를 기질로 하여 pronase 등 protease 와 palanatase ML 등 lipase를 이용하여 EMC를 제조하였다. Cheese milk 가수분해에 관여하는 각 protease의 반응 조건을 살펴본 결과, pronase-30°C, pH 7.0, pancreatin-40°C, pH 8.0, pacific protease -30°C, pH 7.0과 *Asp. sp.* 기원 protease-50°C, pH 8.0에서 최대의 활성을 보였으며, lipase의 반응 조건은 pancreatic lipase 50°C, pH 8.0, palatase ML -50°C, pH 7.0과 *Candida cylindracea* 기원 lipase-40°C, pH 6.0 이었다. 최적 반응조건에서 가수분해를 행한 결과 반응 시간이 증가할수록 유리아미노산의 양과 유리지방산의 양이 증가하는 경향을 보였다. Pacific protease와 pronase에 의해 가수분해시 0.67mg /ml과 0.74 mg /ml의 유리 아미노산을 생성하였으며, 유리 아미노산중 glutamic acid와 leucine이 가장 많은 함량을 보였다. *Candida cylindracea* 기원 lipase를 이용하여 가수분해시 가장 많은 유리 지방산 생성량(24.63 mg /ml)을 보였다. 각 EMC의 지방산 조성을 살펴본 결과 butyric acid, palmitic acid, stearic acid와 oleic acid의 함량이 보였다. Pancreatin에 의해 가수분해 후 각 lipase를 사용하여 제조한 EMC의 관능검사 결과, pancreatic lipase를 이용한 EMC가 가장 쓴맛이 강하였고, palatase에 의한 EMC는 가장 바람직한 cheese 향기를 가지고 있다.

## 참고문헌

1. Moskowitz, J. M. and Noelck, S. S. : Enzyme modified cheese technology, *J. Dairy Sci.*, 70, 1761(1987)
2. Kosikowitz, F. V. : Enzyme behavior and

- utilization in dairy technology, *J. Dairy Sci.*, **71**, 557(1988)
3. Kilara, A. : Enzyme modified lipid food ingredients, *Process Biochem.*, **20**, 35(1985)
  4. Iwaski, T. and Kosikowski, F. V. : Increasing flavor in cheese with commercial microbial enzyme preparations, *J. Dairy Sci.*, **56**, 623(1973)
  5. Kosikowski, F. V. : Flavor development by microbial lipases in pasteurized milk blue cheese, USP 3,973,042(1975)
  6. Kosikowski, F. V. : Flavor development by enzyme preparation in natural cheese and processed cheddar cheese, USP 3,975,042 (1979)
  7. Sood, V. K. and Kosikowski, F. V. : Accelerated cheddar cheese ripening by added microbial enzymes, *J. Dairy Sci.*, **62**, 1865(1979)
  8. Hagberg, E. C., Haislip, J. R. and Johson, B. R. : Method for producing a highly flavored cheese ingradient, USP, 4,752,483(1988)
  9. Jao, Y. C., Chen, A. H., Chaudhari, R. V. and Goldstein, W. E. : Rheology of enzyme modified cheese, *J. Food Sci.*, **46**, 254(1981)
  10. Arbige, M. V., Freud, P. R. and Zelko, J. T. : Novel lipase for cheddar cheese flavor development, *Food Technol.*, **51**, 91(1986)
  11. Tomar, V. and Deodhar, A. O. : Nutritional evaluation of accelerated ripened cheddar processed cheese, *J. Food Sci.*, **50**, 1633(1985)
  12. Law, B. A., and Wigmore, A. : Accerated cheese ripening with food grade proteinases, *J. Dairy Res.*, **49**, 137(1982)
  13. Mann, E. J. : Processed cheese, *Dairy Industries International*, **58**, 14(1993)
  14. Minami, Y., Doi, E. and Hata, T. : Fractionation, purification and some properties of proteolytic enzymes from stem bromelain, *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 149(1971)
  15. Herrington, B. L. : Lipase, *J. Dairy Sci.*, **37**, 775(1954)
  16. A. O. A. C. 13th ed. (1980)
  17. Yemm, E. W. and Cocjng, E. C. : Determination of amino acid with ninhydrin, *Analyst*, **80**, 209(1955)
  18. Mayda, E. E., Pâquet, D., Ranet, J. P. and Lindem, G. : Proteolytic activity of a *Bacillus subtilis* neutral protease preparation wpon caseins and whey proteins of cow's milk, *J. Dairy Sci.*, **69**, 305(1986)
  19. Kuehler, C. A. and Stine, C. M. : Effect of enzymatic hydrolysis on some functional properties of whey protein, *J. Food Sci.*, **39**, 379(1974)
  20. Harper, W. J. : Lipase systems used in the manufacture of italian cheese, *J. Dairy Sci.*, **40**, 556(1956)
  21. 서형주 : 명태육 pronase 가수분해물의 고미제거에 관한 연구, 고려대학교 박사학위 논문(1992)
  22. Arnold, R. G., Shahani, K. M. and Dwivedi, B. K. : Application of lipolytic enzymes to flavor development in dairy products, *J. Dairy Sci.*, **58**, 1127(1975)

---

(1995년 8월 5일 수리)