

융합주에 의한 치즈 숙성시 성분변화와 조직 특성

송재철[†] · 김정순 · 박현정 · 신완철

울산대학교 식품영양학과

Changes of Cheese Components and Texture Characteristics in Cheese Ripening by Fusant Developed by Lactic Acid Bacteria

Jae-Chul Song[†], Jeong-Soon Kim, Hyun-Jeong Park and Wan-Chul Shin

Dept. of Food Science and Nutrition, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea

Abstract

This study was carried out to elucidate the utilization of the fusant for shortening the ripening time by making an observation of the microstructure and the profile of component change. In ripening cheese, moisture content of the sample treated with tested strain is not a remarkable difference among the test samples. With an increase of the ripening time, *L. helveticus* showed the highest increase in protein content, followed by fusant, and then *L. bulgaricus*. The fat content of all starters was gradually decreased while it was rapidly decreased after 7 days. The pH of all starters was gradually increased when the ripening time increased. The titratable acidity was greatly increased between a 9th day and a 15th day ripening. In investigating the light microscopic microstructure of ripened cheese samples, the sample treated with fusant indicated little difference from the other starters in decomposition of protein and fat components by microbial enzymes. In SEM observation, the structure of all cheese samples was uniform and the rough texture was converted into smooth texture by the interaction of cheese components and the abscission of single bond in casein matrix when the ripening time is increased. The fusant showed similar results in the examination of component change and its microstructure compared with the other starters. Therefore, it was revealed that the fusant can be partially used as a cheese starter instead of conventional starters by replacing them or combining them together with the other starters for shortening the ripening time.

Key words: fusant, cheese ripening, texture

서 론

유산균은 요구르트, 버터, 치즈와 같은 발효 유제품에 중요한 starter 역할을 담당하는 주요 균종으로 이용되어 왔다(1). 유제품 중 치즈는 고도의 숙성기술을 요하는 발효제품으로 넓은 숙성장소, 적당한 숙성조건, 장기적인 숙성기간이 요구되어 생산 현장에서는 치즈 숙성기간을 단축하기 위한 각종 방법을 강구하여 왔다(2). 일반적으로 치즈의 숙성기간을 단축시키는 방법에는 숙성온도를 높이는 방법, 효소를 첨가하는 방법, 분해력이 강한 미생물을 혼용하는 방법들이 있는데 이러한 방법들은 조건이 적절히 조절되지 않을 경우 오히려 우유성분의 과다 분해로 치즈 조직의 열화는 물론 향미 자체도 나빠지게 된다. 상기 방법 중

현재까지 많이 응용되는 것으로는 인위적으로 효소를 첨가하는 방법과 유전적 방법에 의한 새로운 유산균종의 개발 방법 등이 있으나 모두 만족할 만한 것은 아니었다(2). 이러한 관점에서 숙성을 돕는 특정효소를 생산하는 균종의 개발은 치즈의 숙성기간을 단축하는데 중요한 일이다. 치즈는 숙성기간 중 주성분인 단백질과 지방이 물리적, 화학적, 미생물학적인 복잡한 변화를 거쳐서 치즈 특유의 향미와 조직을 형성하게 된다(3-5). 일반적으로 치즈의 숙성과정에서의 독특한 향미물질들은 주로 숙성효소인 lactase와 protease(6) 그리고 lipase에 의해서 생성되는데 lactase는 유당을 분해하여 포도당을 생성하고 포도당은 각종 효소에 의해 pyruvic acid를 거쳐 lactic acid를 비롯한 각종 알데히드와 케톤 물질을 생성한다(7). Protease 역시 peptide와

[†]To whom all correspondence should be addressed

ammo acid, 기타 단백질분해 중간물, 황화수소, methanethiol, dimethyl sulfide 등 저분자 유황화합물, 그리고 diacetyl 등의 flavor 성분들을 생성하여 특징적인 숙성 향미를 제공하게 된다(8-10).

그러나 유산균은 전체적으로 단백질 분해효소인 protease와 지방분해효소인 lipase의 활성이 낮아 제조 및 후숙과정에서 많은 시간이 요구되므로 생산업체에서는 다소 protease 활성이 높은 것으로 알려져 있는 *Lactobacillus bulgaricus*를 *Streptococcus*속과 혼합하여 사용하고 있는 실정이다(11-13). 특히 지방분해 효소인 lipase에 의한 유지지방의 분해는 치즈 풍미는 물론 조직에도 많은 영향을 미친다(14). 실제 유산균의 작용으로 치즈는 숙성 중에 비휘발성 물질인 젖산, 아미노산, 케톤산, 비휘발성산류, 비휘발성 아민류, 염류 등이 생성되며 휘발성 성분으로는 케톤, 알코올, 아민, 에스테르, 황화수소, 황화물 등이 생성한다. 이러한 물질들의 생성 정도는 사용되는 유산균종에 의해서 좌우된다. 본 연구에서는 단백질과 지방의 분해력이 각기 다른 *L. bulgaricus*와 *L. helveticus*, 이들의 융합주를 사용하여(11) imitation processed cheese를 제조하여 숙성과정에 일어나는 주요 성분변화와 미세 구조 및 조직 관찰을 통하여 융합주가 다른 두 균주 대신 숙성기간 단축을 위해 사용할 수 있는지 여부를 검토하였다.

재료 및 방법

균주와 시약

본 연구에 사용된 균주인 *Lactobacillus bulgaricus* IFO 13953는 종균협회에서 분양받고 *Lactobacillus* IAM 12090은 일본 동경대학에서, *Lactobacillus bulgaricus*와 *Lactobacillus helveticus*의 융합주(fusant)는 부산대학교 미생물학과에서 분양받았다. 이 균주들은 냉동 보존시켰으며 균을 MRS 천자배지에 접종하여(15) 37°C에서 24~48시간 배양한 후 40°C에 보관하면서 2주마다 계대 배양하였다. 본 연구에 사용된 시약은 특급을 사용하고 sodium caseinate는 Denmark산(Matheson Coleman & Bell Inc.)으로 수분 6.0%(w/w), 단백질 91.5%, 지방 0.86%로 구성되어있으며 크립은 수분 50.0%(w/w), 단백질 1.7%, 지방 43.5%, 유당 2.7%의 조성을 가진 비락우유(김해소재)에서 제공받은 것이다.

배양방법

새로 계대 배양한 공시 균주를 10ml의 MRS broth 천자배지에서 1백금니 접종하여 37°C에서 10시간 전

배양한 다음 전배양액 0.1ml를 새로운 MRS broth에 제점중간 후 37°C에서 9~12시간 정지 배양하였다. 또한 생육도는 MRS broth에 전배양액 0.1%(v/v)를 접종하고 37°C에서 정지 배양하면서 3시간 간격으로 604 nm에서 흡광도(UV-120-02, Shimadzu)를 측정하여 생육곡선을 작성하였다.

조효소액 조제 및 역가 측정

각 균주를 MRS broth에 12시간 정지 배양한 후 배양액을 10,000×g에서 30분간(4°C) 초원심분리(SCPH 70H, Hitachi koki Co., Ltd)하여 사용하였다. 단백질의 역가 측정은 Lan 등(16)과 Argyle 등(6)의 방법을 변형하였으며 기질은 따로 제조하지 않고 직접 N,N-dimethyl casein을 기질로 하여 standard assay 방법으로 측정하였다. 황산화 효소없이 시료와 같은 성분으로 반응시킨 것을 대조구로 하여 비교하였으며 역가는 1분간 1 nmol의 peptide bond를 분해할 때까지의 초기 반응 속도로 나타내었다. 지방의 역가 측정은 Stead(17)의 방법을 변형하여 측정하였으며 1분 동안 4-MU(4-methylumbelliferone) 1 nmol을 유리시키는데 필요한 효소량을 1 unit 효소 역가로 표시하였다. 본 실험에서 사용한 치즈 숙성 관련 균주들이 분비하는 주요 효소액에 함유된 각 효소의 역가는 *L. bulgaricus*는 lactase와 protease 역가가, *L. helveticus*는 lipase의 역가가, 융합주는 lactase, protease 역가가 높은 것으로 나타났다(Table 1).

치즈의 제조

치즈 숙성기간 동안의 성분 변화를 검토하기 위해 Song(18)의 방법으로 치즈를 제조하였다(Fig. 1). 치즈

Table 1. Enzyme activities of test strains

Strain	Activity		
	Lactose ¹⁾	Protease ²⁾	Lipase ³⁾
<i>L. bulgaricus</i>	1,102	6.42	1,050
<i>L. helveticus</i>	953	6.03	1,890
Fusant	1,047	6.16	780

¹⁾ Specific activity was expressed as nanomoles of *o*-nitrophenol liberated from ONPG or ONPG-6-P per milligram of enzyme protein per minute

²⁾ One unit of protease is defined as the activity showing an initial reaction rate of 1nmol peptide bonds cleaved per minute

³⁾ One unit of enzyme activity was defined as the amount required to liberate 1nmol 4-MU(methyl umbelliferone) 1nmol per minute

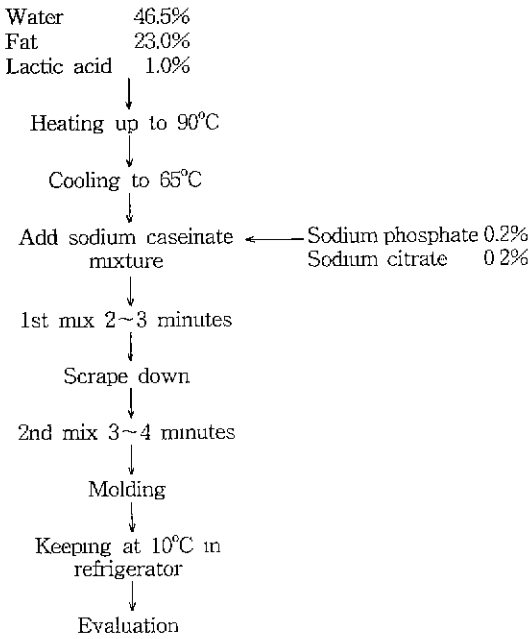


Fig. 1. Manufacture process of the imitation process-cheese analogs preparation.

의 제조과정을 단축시키기 위해 원유에서 얻은 커드 대신에 sodium caseinate를 사용하여 치즈의 일반성분을 첨가한 모방치즈를 제조하여 각 균주의 조효소액에 3분간 침지한 후 알루미늄호일에 싸서 10°C(RH. 75%) 숙성실에서 숙성시켰다.

성분 분석

치즈성분 중 일반성분은 A.O.A.C 방법에 의해서, 수분은 toluene 증류법, 단백질은 microkjeldahl법, 지방은 Soxhlet 추출법으로 분석하였다. pH는 숙성치즈 5g을 증류수 95ml에 넣어 5분간 교반한 후 pH meter(pH Meter F-8L, Horiba)로 측정하였다. 적정산도(titratable acidity)는 10g의 치즈에 0.5N sodium citrate 40ml와 증류수를 가해 105ml되게 하여 5분간 교반한 다음 Whatman No. 1로 여과하였다. 2.5g에 해당하는 여과액을 0.1N NaOH(1% 페놀프탈레인 용액 3~4 방울 적하된)로 적정하여 흰색에서 분홍색으로 정확하게 30초 동안 색깔 변화가 일어날 때를 종말점으로 하였다. 산도는 적정된 적산의 증량으로 나타내었다(0.1N NaOH 1ml는 적산 0.009에 해당).

$$\text{Acidity}(\%) = \frac{(\text{ml of } 0.1\text{N NaOH} \times f(\text{NaOH}) \times 0.009)}{\text{weight of sample}} \times 100$$

Table 2. Ingredient of fixative solution and stain preparation

Fixative solution	37~40% Formalin	100ml
	Distilled water	900ml
	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	4g
	Na ₂ HPO ₄ anhydrous	6.5g
Stain preparation	Methyl blue	0.5g
	Ethanol	30ml
	0.1N KOH	2ml
	Distilled water	70ml
Sudan IV	Sudan	1g
	70% Ethanol	50ml
	Aceton	50ml

조직 관찰

치즈의 미세구조를 관찰하는 방법으로 광학현미경이나 주사전자현미경(scanning electron microscope, SEM)을 사용하였는데 광학현미경으로는 치즈조직의 주성분인 단백질과 지방을 특수염색 처리함으로써 개괄적 미세 조직의 특징을 관찰하고 전자현미경으로는 치즈 표면의 초미세조직을 보다 확실하게 관찰하였다. 광학현미경 관찰은 치즈 샘플을 10% buffer neutral formalin 용액에 2°C에서 24시간 고정시킨 후 10~20 μm로 샘플을 절단한 다음 Sudan IV 염색액으로 염색하고 여분의 염색액을 수세한 후 methylene blue 염색액으로 다시 염색한 후 수세하였다(Table 2). 염색 후 샘플은 slide glass위에 도말, 고정한 후 광학현미경(Nikon, Microflex HFX-11)으로 조직을 관찰하였다. 주사전자현미경 관찰은 치즈 샘플을 동결건조(Eyela Freeze Dryer FD-1)한 후 얇게 절단하고 절단된 샘플을 그리드(grid)위에 놓고 진공하에서 gold coating(BIO-Rad Coating System, Serial No. 89114, Microscience Division)하여 주사전자현미경(Jeol JSM-820 SEM)으로 6.0kv에서 관찰하였다.

결과 및 고찰

숙성 중의 치즈 수분함량과 고형성분의 변화

치즈숙성 중에 일어나는 변화는 수분의 감소, pH 저하, 유당의 분해, 카제인의 부분적 가용화, 지방의 제한 분해, 조직의 변화 등으로 알려져 있다(19). 따라서 본 실험에서는 융합주의 이용 가능성을 검토하기 위하여 균종별로 제조한 치즈를 숙성실에서 숙성시켜 그때 일어나는 성분변화 중 중요하다고 인정되는 수분함량과 고형성분의 변화를 주로 관찰 대상으로 하였다. 일반적으로 숙성 중 수분의 변화는 그리 심하게 나타나지는

않지만 다른 치즈 성분의 변화상태와 저장기간을 예측하는데 참고가 되는 성분이므로 우선 검토하였다. 그 결과(Fig. 2) 숙성 중 모든 치즈의 수분함량은 감소하였는데 그것은 치즈 숙성 1일째 수분함량이 *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, 융합주로 만든 치즈의 경우 각각 46.58%, 46.67%, 46.70%이고 숙성 30일째는 45.59%, 45.53%, 45.60%로 나타났다. 따라서 숙성 30일 동안 수분감소량은 *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, 융합주로 만든 치즈의 경우 각각 2.1%, 2.4%, 2.4%로 나타났다. 즉 수분감소량은 *L. helveticus*와 융합주의 경우가 *L. bulgaricus*의 경우보다 다소 많지만 큰 차이를 나타내지는 않았다. 일반적으로 치즈 숙성기간에는 단백질, 지방 등의 분해가 일어나 전체적인 성분의 변화가 일어나며 특히 수분의 감소는 다른 성분의 상대적 함량변화를 가져오므로 숙성과정에도 큰 영향을 미치게 된다. 일반적으로 치즈숙성 정도를 변화시키는 요소는 다양하지만 수분함량에 따라 숙성 정도가 달라진다(20). 김(20)은 습도 75~80% 조건에서 체다치즈를 1개월 숙성시킨 결과 치즈 중량이 0.76% 감소하였음을 보고하였고 유(21)도 4°C 냉장실에서 저장한 치즈 중량이 1개월 후 1.19% 정도 감소함을 지적하였다. 상기의 결과를 검토할 때 융합주로 제조한 치즈의 수분감소량이 타 치즈와 큰 차이를 보이지 않은 것으로 나타났다. 이 결과는 융합주를 치즈제조에 사용할 수 있을 것으로 잠정 예측할 수 있으며 이를 더 확인하기 위하여 다른 성분의 변화를 아울러 검토하였다.

융합주의 사용 가능성을 더 검토하기 위하여 수분의 고형분 즉 단백질, 지방, 회분의 함량 변화를 30일 동안 10°C에서 숙성시키면서 관찰하였다. 그 결과 단백질 함량(제조 직후의 단백질 함량은 27.30%)은 전체적으로 숙성기간에 따라 조금씩 증가하였는데(Fig. 3)

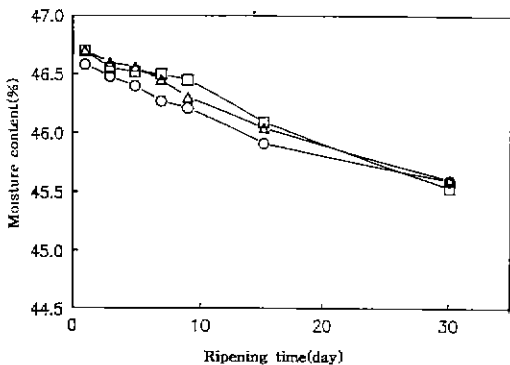


Fig. 2. Changes in moisture content of imitation processed cheese during ripening time.
○: *L. bulgaricus*, □: *L. helveticus*, △: Fusant

숙성 1개월째는 *L. bulgaricus*를 작용시켜 만든 치즈의 경우는 0.5%, *L. helveticus*를 작용시킨 치즈는 0.74%, 그리고 융합주를 작용시킨 치즈는 0.60%로 각각 증가하였다. 일반적으로 치즈숙성 중의 단백질 변화는 매우 적은 양 일어나지만 그 변화는 치즈의 관능성에 큰 영향을 미치는데 Hwang 등(22)이 발표한 체다치즈의 1개월 숙성 동안 일어나는 단백질 함량의 변화는 약 0.13% 정도 증가하였으며 그 증가량이 치즈의 관능성에 큰 영향을 미친다고 보고한 바 있다. 또 숙성기간 동안 수용성 질소함량은 20~50%까지 증가한다고 보고하였는데(22) 이와 같은 단백질 함량의 변화는 수분감소로 인한 고형성분의 상대적 증가에 기인하지만 숙성 중의 수용성 질소함량의 증가는 고분자 단백질이 저분자로 분해되어 유리아미노산의 생성 또는 아미노산으로의 전환 등으로 해석할 수 있다. 이러한 변화는 균주가 생산하는 단백질분해 효소인 protease 때문이다(19).

숙성기간 중 지방의 감소량은 숙성 7일까지는 비교적 서서히 감소하다가 7일 이후는 급격한 감소량을 보여 숙성 30일에는 *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, 융합주 등을 작용시킨 치즈의 지방 감소량이 각각 0.13%, 0.16%, 0.14%로 나타났다 융합주를 작용시킨 치즈는 숙성 후 서서히 지방의 분해가 시작되어 7일과 9일 사이에 급격한 감소를 나타내어 이 기간에 지방분해가 주로

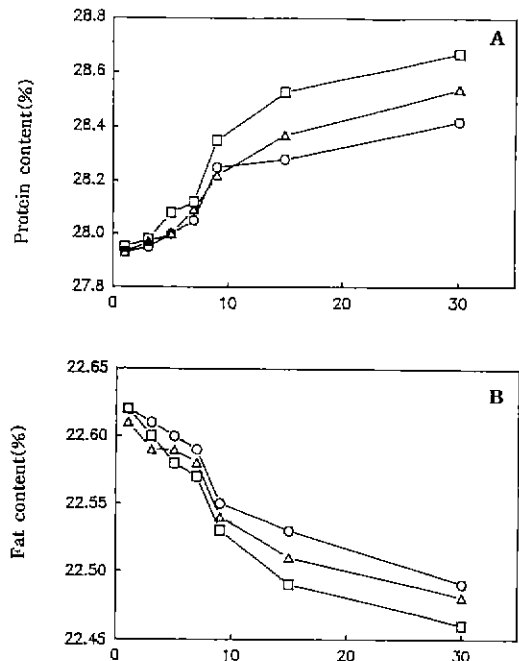


Fig. 3. Changes in components of imitation processed cheese during ripening time.
○: *L. bulgaricus*, □: *L. helveticus*, △: Fusant

일어난 것으로 추측된다. *L. bulgaricus*를 작용시킨 치즈는 대체로 일정한 비율로 지방분해가 일어났고 *L. helveticus* 작용 치즈는 타 균주에 비해 지방분해가 더 일어난 것으로 나타났다. 이것은 효소역가의 비교 결과와 일치하고 있다. 지방은 조직보다 향미에 영향을 주는 성분으로 지방분해율이 크면 지방산을 비롯한 저분자 물질의 생성으로 휘발성과 용해성이 증가하는데 상기 결과로 볼 때 융합주는 타 균주와 유사한 지방분해 정도를 보이므로 기존 유산균주와 대체 또는 부분적으로 사용 가능할 것으로 사료된다.

치즈의 pH와 적정산도의 변화

치즈는 제조 직후부터 발효에 의한 분해산물의 생성으로 수소이온농도가 변화하는데 이는 발효과정 중 효소 및 미생물의 분비력 등에 크게 좌우되고 이는 곧 치즈의 풍미와 조직에 직접적인 영향을 끼치게 된다. 세 균주를 각각 작용시켜 제조한 치즈를 숙성시키면서 수소이온농도를 측정한 결과는 Fig 4에 표시된 바와 같이 대조구와 세 균주인 처리구 모두 숙성경과에 따라 서서히 감소하였다. 대조구는 pH 5.8에서 거의 비례적으로 떨어졌으나 숙성 15일 이후에는 변화가 없었고 (23) 30일 후에는 pH 5.80을 나타내었다. *L. bulgaricus* 작용 치즈의 수소이온농도는 점차적으로 감소하여 숙성 30일 후에는 pH 5.73을 나타내었고 *L. helveticus* 작용 치즈는 숙성 1일째 급격히 감소하여 5.80, 숙성 3일에는 다시 증가하였다가 점차적으로 감소하여 pH 5.71까지 내려 갔고 융합주는 숙성 1일째 내려 가다가 다시 증가한 후 계속 내려가서 숙성 30일 후는 5.72를 나타내었다. 이상과 같이 치즈의 숙성이 진행됨에 따라 pH는 감소하였는데 이는 젖산과 유리지방산, 그리고 유리아미노산의 함량 증가 때문인 것으로 해석된다. 숙성 중에 나타나는 적정산도의 변화는 대조구의 경우 조금씩 증가하여 숙성 9일 후 0.5에 이르렀다가 계속 증가하여 30일 후에는 0.59를 나타내었다. *L. bulgaricus* 작용 치즈는 대조구에 비해 적정산도의 증가가 더 현저하여 7일 후 0.69, 15일 후는 0.79를 나타내었다. *L. helveticus* 작용 치즈는 *L. bulgaricus* 작용 치즈에 비해 적정산도의 증가는 적지만 7일 후에는 0.6, 30일 후에는 0.76을 나타내었다. 융합주는 *L. bulgaricus* 작용 치즈와 *L. helveticus* 작용 치즈의 중간 정도의 산도를 나타내어 30일 후에는 0.77을 나타내었다. 일반적으로 pH와 적정산도의 변화는 유단백, 유지방, 유당의 분해로 일어나는데 지방분해는 치즈 풍미형성에 중요한 역할을 하나 조직에는 큰 영향을 미치지 못하는 것으

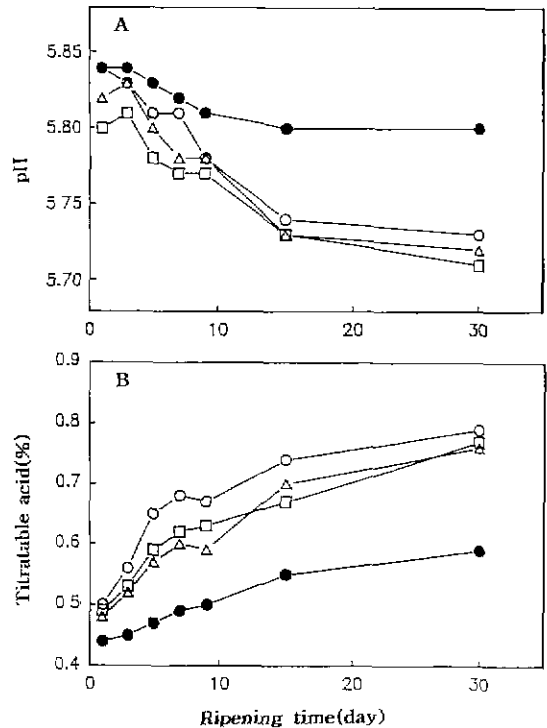
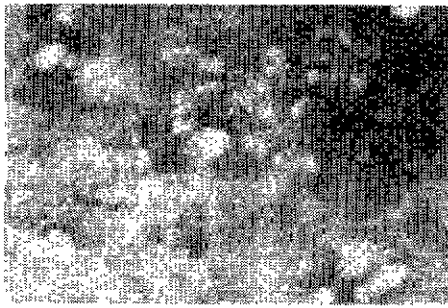


Fig. 4. Change in pH and titratable acid of imitation processed cheese during ripening time. ●: Control, ○: *L. bulgaricus*, □: *L. helveticus*, △: *Fusant*

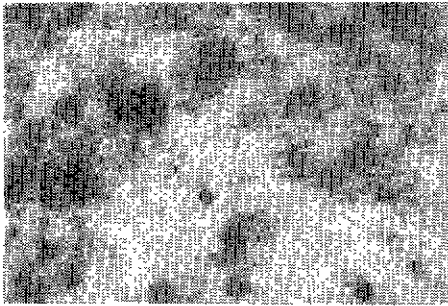
로 알려져 있다(19). 그러나 유단백은 풍미보다 조직에, 유당은 풍미와 조직 모두에 약간의 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(19). 따라서 융합주는 효소역가의 결과와 같이 pH와 적정산도에서 타 균주와 유사한 변화 양상을 나타내고 있다.

조직특성의 변화

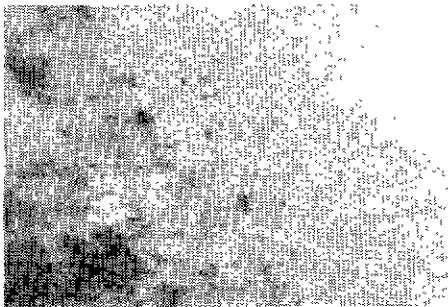
치즈의 숙성 중 단백질 및 지방성분이 분해되어 특유의 풍미와 조직을 형성하게 되는데 숙성기간에 따라 그 정도는 달라진다. 따라서 본 실험에서는 각 균주로 처리한 치즈시료를 30일 동안 숙성시킬 때 일어나는 치즈조직의 변화를 광학현미경과 전자현미경으로 관찰하였다. 광학현미경으로 관찰할 경우에는 치즈성분을 특수 염색액으로 처리하여 카제인 단백질은 청색, 지방은 적색으로 염색되게 한 후 관찰하는 방법을 채택하였다. 이와 같은 염색법은 숙성 중에 일어나는 단백질과 지방의 분해정도, 분해로 일어나는 구조의 변화를 관찰할 수 있으며 이 방법으로 융합주와 기존 다른 균주를 사용할 때의 조직을 서로 비교할 수 있으므로 융합주의 이용 가능성을 짐작할 수 있다.



(A)



(B)

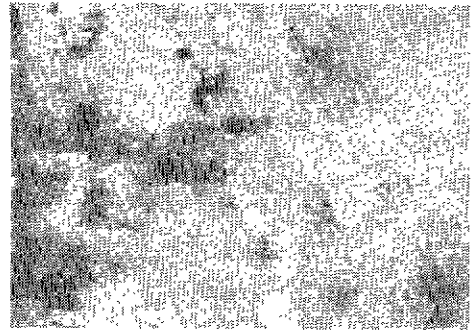


(C)

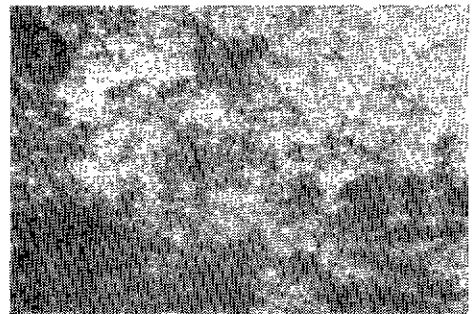
Fig. 5. Microstructure of imitation processed cheese (IPC) treated with *L. bulgaricus* ($\times 100$).

(A) Light microscopy photograph of IPC ripened for 1 day, (B) Light microscopy photograph of IPC ripened for 15 days, (C) Light microscopy photograph of IPC ripened for 30 days.

치즈의 광학현미경적 관찰에서 Fig. 5는 *L. bulgaricus* 효소액으로 제조한 치즈를 1일, 15일, 30일 숙성시킬 때 나타나는 변화를 나타낸 것이다. 그림에서 숙성기간이 경과됨에 따라 조직은 보다 규칙적으로 변하고 있는데 이것은 지방과 단백질이 숙성에 따라 서서히 분해되고 있음을 의미하고 있다. 1일째 되는 치즈의 경우는 짙은 적색과 청색이 조직 전반에 걸쳐 혼재되어 있



(A)



(B)

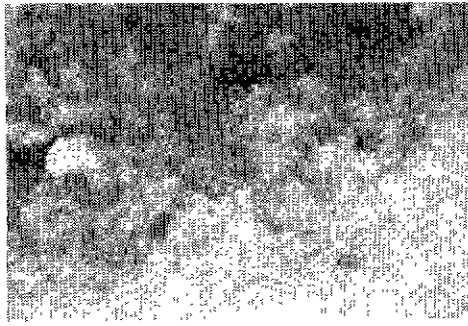


(C)

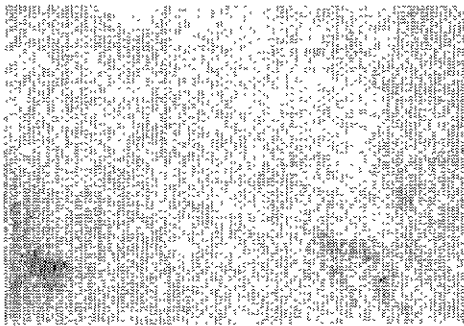
Fig. 6. Microstructure of imitation processed cheese (IPC) treated with *L. helveticus* ($\times 100$).

(A) Light microscopy photograph of IPC ripened for 1 day, (B) Light microscopy photograph of IPC ripened for 15 days, (C) Light microscopy photograph of IPC ripened for 30 days

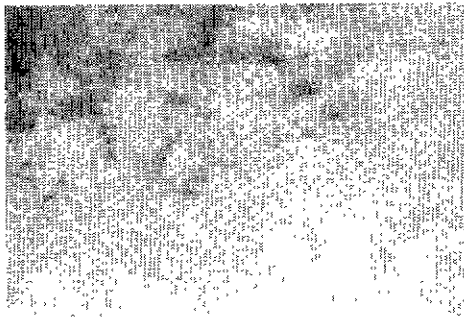
어 단백질이 지방과 함께 불규칙적 상호결합을 하여 무질서한, 불균일 구조를 이루고 있다. 그러나 숙성이 행해지면서 효소작용에 의한 단백질과 지방 등의 분해로 치즈 조직은 점차 미세한 망상구조를 나타내고 있다. 숙성 30일째는 적색과 청색의 분포가 전 조직에 균일하게 이루어져 있다. Fig. 6은 *L. helveticus* 효소액으로



(A)



(B)



(C)

Fig. 7. Microstructure of imitation processed cheese (IPC) treated with fusant($\times 100$). (A) Light microscopy photograph of IPC ripened for 1 day, (B) Light microscopy photograph of IPC ripened for 15 days, (C) Light microscopy photograph of IPC ripened for 30 days.

제조한 치즈의 경우인데 숙성 1일째의 구조는 이미 지방분해효소에 의해 지방의 분해가 다소 진행된 상태로 전체적인 적색의 분포가 많지는 않다. 그러나 숙성함에 따라 지방과 단백질의 분해가 서서히 진행되고 있다. Fig. 7은 두 균주를 융합한 융합주로 제조한 치즈의 경우인데 단백질과 지방의 색깔이 균일하게 점점 퇴색

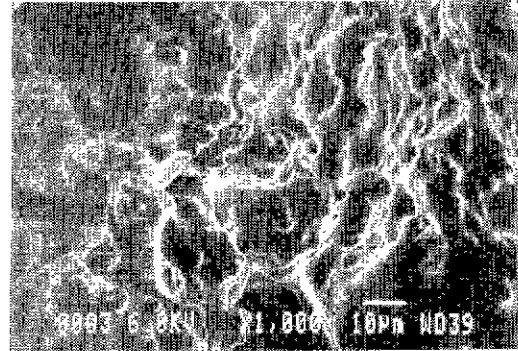
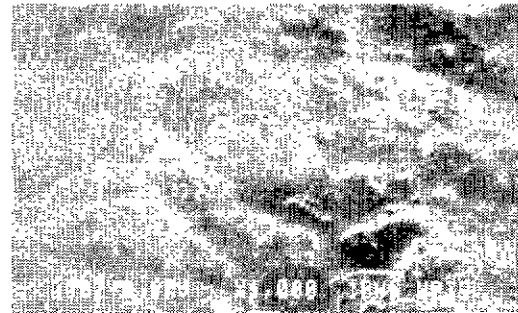


Fig. 8. Microstructure of imitation processed cheese photomicrograph by SEM of control.



(A)

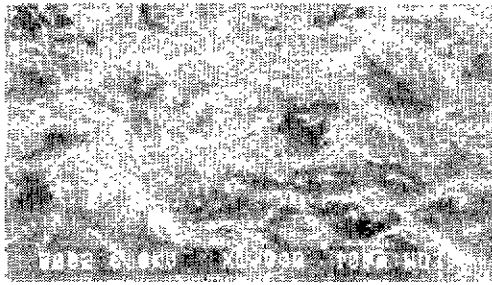


(B)

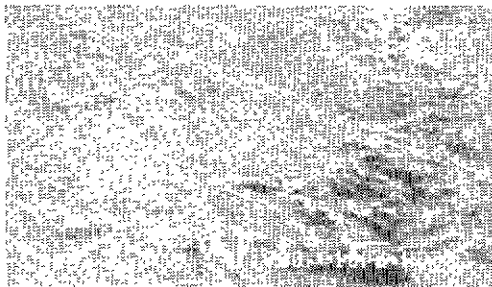


(C)

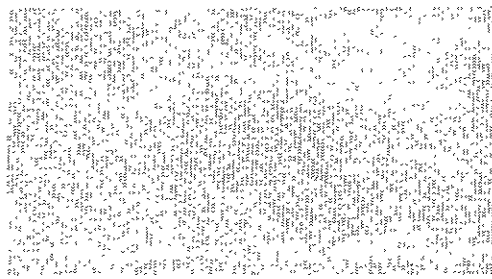
Fig. 9. Microstructure of imitation processed cheese treated(IPC) with *L. bulgaricus* ripened for 1 day(A), 15 days(B), 30 days(C) photomicrograph by SEM.



(A)



(B)

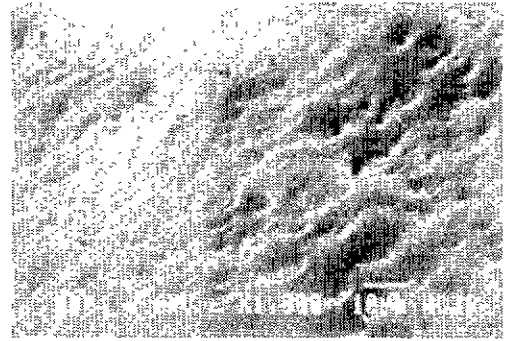


(C)

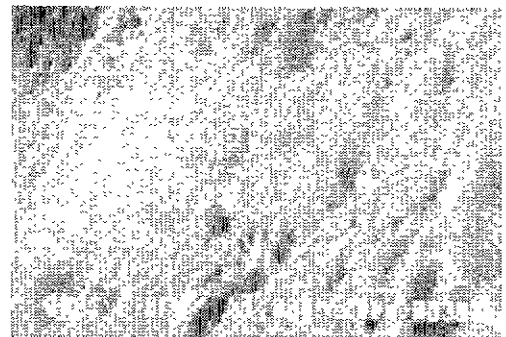
Fig. 10. Microstructure of imitation processed cheese treated(IPC) with *L. helveticus* ripened for 1 day(A), 15 days(B), 30 days(C) photomicrograph by SEM.

되어 조직이 규칙적인 배열로 진행되고 있다. 특히 불규칙적인 적색의 부분이 숙성에 따라 균일하게 재 배열되고 있다. 이상의 결과는 치즈의 조직과 성분이 경시적으로 변하고 있음을 의미하며 특히 융합주로 만든 치즈의 조직감도 다른 시료와 같이 숙성기간에 따라 규칙적이고 부드러운, 균일한 조직을 갖는 방향으로 진행하고 있다. 이러한 결과로 미루어 융합주를 starter로 이용해도 타 치즈와 조직적인 측면에서 큰 차이를 나타내지 않으므로 융합주의 부분 사용 또는 대체 사용이 가능할 것으로 사료된다.

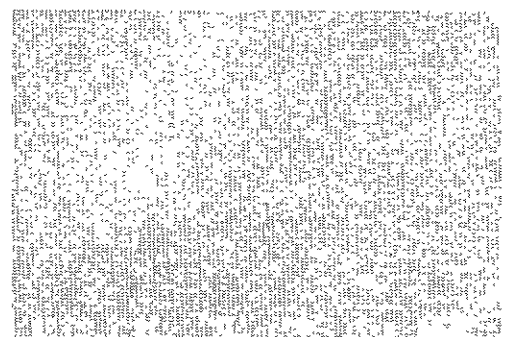
보다 자세한 치즈의 조직특성을 이해하기 위하여



(A)



(B)



(C)

Fig. 11. Microstructure of imitation processed cheese treated(IPC) with fusant ripened for 1 day(A), 15 days(B), 30 days (C) photomicrograph by SEM.

시료의 전자현미경적 관찰을 시도하였다. 미세적 조직 관찰은 치즈의 성분 상호간에 형성된 구조상태를 파악하는데 도움이 되는데 대조구의 생치즈(Fig. 8)는 미세조직이 거칠고 망상이 단단하여 지방과 단백질의 불균일한 결합상태를 보이고 있다 그러나 Fig. 9와 같이 숙성이 진행됨에 따라 *L. bulgaricus*로 제조한 치즈는 매우 부드러운 조직으로 변하고 있다. 이러한 경향은 *L. helveticus*로 처리한 시료에서도 비슷하게 나타

나고 있으며(Fig. 10) 특히 융합주로 만든 치즈의 경우(Fig. 11)에도 숙성이 지방과 단백질의 점자적인 분해로 인한 새로운 상호결합이 조직 전체를 균일하게 만들어 주고 있다. 이러한 치즈조직의 경시적 숙성변화는 치즈의 미세구조를 형성하는 망상조직 중 단백질 단일결합(single bond)이 효소에 의해 끊어져 조직이 변하는 경우와 지방의 분해로 인한 단백질-지방의 상호결합이 해리되는 경우 등으로 생각된다(19). 이상과 같이 숙성 중 일어나는 조직의 변화를 고려할 때 융합주를 치즈의 제조, 숙성에 대체, 또는 부분 사용해도 좋을 것으로 사료된다.

요 약

치즈 숙성과정에 일어나는 성분변화와 미세조직을 관찰하여 숙성기간 단축을 위한 융합주의 이용 가능성을 검토하였다. 치즈숙성 중의 수분감소는 균종에 따라 큰 차이를 나타내지 않았다. 단백질의 경우에는 숙성이 경과됨에 따라 *L. helveticus*, *fusant*, *L. bulgaricus*를 처리 치즈 순으로 함량의 증가를 나타내었다. 모든 균주는 숙성기간 중 지방의 감소량을 보였으나 특히 7일 이후에는 심하게 나타났다. pH는 모든 균주 숙성경과에 따라 서서히 감소하였으며 적정산도는 9일과 15일 사이에 가장 많이 증가하였다. 광학현미경에 의한 미세조직 관찰에서는 숙성기간에 따라 융합주는 타 균주들과 비슷한 변화를 나타내었으며 단백질과 지방이 분해됨을 확인하였다. 전자현미경적 관찰에서 모든 시료는 숙성기간에 따라 카제인 망상조직의 single bond의 절단으로 치즈표면은 부드럽고 smooth하며 성분 상호간의 반응으로 조직은 균일하게 변하였다. 연구 결과를 종합하면 융합주는 성분변화와 조직의 검사에 다른 균주와 비슷한 결과를 나타내었으므로 치즈 숙성기간 단축을 위해 부분적으로 유산균과 대체 또는 혼용할 수 있을 것으로 사료된다.

문 헌

1. Sharpe, M. E. : Lactic acid bacteria in the dairy industry. *J. Soc. Dairy Technol.*, **32**, 9(1979)
2. 박현정 : 세포융합에 의한 유산균주 육종에 관한 연구. 부산대학교 박사학위논문(1990)
3. Forss, D. A. : Mechanisms of formation of aroma compounds in milk and milk products. *J. Dairy Res.*, **46**, 691(1979)
4. Aston, J. W. and Dulle, J. R. : Cheddar cheese flavor. *Aust. J. Dairy Tech.*, **37**, 59(1982)

5. 허정원, 황주환, 유주현 : 국산 Cheddar cheese의 숙성 중 casein의 변화에 콩미 분화에 관한 연구 *한국낙농학회지*, **8**, 178(1986)
6. Argyle, P. J., Mathison, G. E. and Chandan, R. C. : Production of cell-bound protease by *Lactobacillus bulgaricus* and its location on in the bacterial cell. *J. Appl. Bacteriol.*, **41**, 175(1976)
7. Moskowitz, G. J. and Noelck, S. S. : Enzyme-modified cheese technology. *J. Dairy Sci.*, **70**, 1761(1987)
8. Harper, W. J. and Kristofferson, T. : Biochemical aspects of flavor development in Cheddar cheese slurries. *J. Agr. Chem.*, **18**, 563(1970)
9. Fryer, T. F. : Microflora of Cheddar cheese and its influence on cheese flavor *Abstr. J. Dairy Sci.*, **31**, 471 (1969)
10. McGuagan, W. A., Emmons, D. B. and Larmond, E. : Influence of volatile and nonvolatile fractions on intensity of Cheddar cheese flavor *J. Dairy Sci.*, **62**, 398(1979)
11. 이백주, 김종우, 김창한, 김우호, 김중협, 강국희, 한문희, 정기철 : 낙농미생물학. 선진문화사, p. 276. 329(1990)
12. 강국희 : 식품가공에 있어 유산균의 이용. *식품공업*, **31**, 87(1986)
13. Michell, L. and Sandinc, W. E. : Associative growth and differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* A Review. *J. Food Protection*, **47**, 245(1984)
14. 中西武雄 : 우유와 유제품의 미생물학. 지구사, p.333 (1983)
15. De Man, J. C., Rogosa, M. and Sharpe, M. E. : A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J. Appl. Bacteriol.*, **23**, 130(1960)
16. Lin, J. C., Jeon, I. J., Roberts, H. A. and Milliken, G. A. : Effects of commercial food grade enzymes on proteolysis and textural changes in granular Cheddar cheese. *J. Food Sci.*, **2**, 620(1987)
17. Stead, D. : A fluorometric method for the determination of *Pseudomonas fluorescens* AR II lipase in milk *J. Dairy Res.*, **50**, 491(1983)
18. Song, J. C. : Solvent extraction of lactose from skim milk powder and the application of the protein as a replacement for caseinate. The Ohio State Univ, Ph. D. Thesis(1984)
19. 한국낙농공학연구소 : 낙농식품가공학. 선진문화사, p.532(1993)
20. 박해수 : 리파제 특성이 체다치즈의 풍미의 향상에 미치는 영향. *식품과학과 산업*, **22**, 70(1989)
21. 유주현 : *Lactobacillus casei*의 균체내외 lipase에 관한 연구, 1. 유지방에 lipase를 반응시 유지지방산의 생성 패턴. *한국낙농학회지*, **8**, 167(1986)
22. Hwang, J. H., Huh, J. W. and Yu, J. H. : Studies on the flavor during ripening in domestic Cheddar cheese, II. The changes of volatile free fatty acids and volatile carbonyl compounds. *Kor. J. Dairy Sci.*, **9**, 110(1987)
23. Fox, P. E. : Cheese chemistry, physics, and microbiology : major cheese groups. Elsevier Applied Science, London and New York, Vol. 2, p.340(1987)