

치즈 풍미성분의 형성과 EMC 제조기술

전우민* · 한경식

*삼육대학교 응용동물학과 · 고려대학교 식품과학부

Formation of Cheese Flavor and EMC Technology

W. M. Jeon* · K. S. Han

*Department of Applied Animal Science, Sahmyook University
Division of Food Science, Korea University

ABSTRACT

Cheese flavor is derived from three main pathways, that are proteolysis, lipolysis and glycolysis, the extent of which varies according to the cheese variety. Proteolysis is the most complex of the three primary events during cheese ripening. The basis of EMC technology is the use of specific enzymes acting at optimum conditions to produce required cheese flavors from suitable substrates. These enzymes consist of proteinases, peptidases, lipases, esterases. The key factors in EMC production are the type of cheese flavor required, the type and specificity of enzyme or cultures used, their concentration and some processing parameters, such as pH, temperature, agitation, aeration, and incubation time. The emulsifiers, bacteriocins, flavor compounds, and precursors also effect to it importantly. The dosage of enzyme or starter culture used is dependent on the intensity of flavor required, processing time and temperature and the quality of the initial substrate. To produce a consistent EMC product it is necessary to have a highly controlled process, and a detailed knowledge of the enzymatic reactions under the conditions used must be fully understood.

(**Keyword** : Cheese flavor, EMC, Enzyme modified cheese)

I. 서론

치즈의 맛과 영양학적인 장점은 오래 전부터 인류의 식생활에 중요한 한 부분이 되어 왔으며, 최근 식품 제조기술이 발전함으로서 치즈의 이용방법도 매우 다양하게 변화하고 있다.

이러한 추세로 인하여 속성치즈(accelerated ripened cheese)의 제조기술이 발전하게 되었고 2000년 이후

Corresponding author : W. M. Jeon, Department of Applied Animal Science, Sahmyook University, 26-21, Gongnung-2 dong, Nowon-gu, Seoul, Korea

엔 한 걸음 더 나아가 EMC(enzyme modified cheese)의 개발이 활기를 띠게 되었으며, 한국의 유가공 시장의 현실과 미래를 돌아볼 때 EMC의 개발은 관심을 가져야 하는 분야라 여겨진다.

EMC와 같은 고농도의 치즈 풍미제품은 가공식품의 조직이나 맛의 개선 및 강화를 위하여 이용되고 있으며, 사용되는 EMC의 양도 다양하고 최종제품의 질과 풍미는 사용된 EMC의 형태와 농도에 따라 달라진다.

이러한 EMC의 사용은 치즈를 사용했을 때 생기는 풍미부족 현상, 유당 및 유지방 함량의 과다, 고 생산

가격 등의 문제를 해결할 수 있다.

치즈는 풍미를 강화하기 위하여 효소로 처리되는데 효소는 치즈제조 중에도 처리되고 커드압착 후에도 처리되며, 심지어 숙성 후에도 첨가되어진다.

치즈 숙성 중에 일어나는 효소적 반응이나 비효소적 반응들이 완전히 잘 알려져 있지는 않았지만 지금까지의 연구에서 수백 종의 성분이 중요한 치즈 풍미성분으로 작용하는 것으로 밝혀졌으며, 이들 중의 몇 성분은 특별한 치즈에 있어서 독특한 풍미특성에 관여하는 것으로 알려지고 있다.

효소는 치즈제조과정 중에 첨가되거나 용해된 치즈나 치즈 커드에 첨가되어지며, EMC의 상태는 효소의 종류, 배양조건, 효소가 첨가되는 시기 등에 영향을 받게된다

치즈의 풍미성분은 화학적으로 매우 복잡하며, 체다 치즈의 경우 180 종 이상의 풍미성분이 규명되었고 스위스 치즈의 경우 125 종 이상의 풍미성분이 보고되었다.

이들 성분의 대부분은 두 종류 이상 중복되고 그 외 다른 치즈 풍미성분 중에도 대부분 함유되어 있다. 그러므로 화학적으로 치즈 풍미의 특성을 구별하기는 매우 힘들지만 특정치즈에는 그 독특한 풍미에 관여하는 성분들이 있다. 숙성 중에 생성되는 많은 풍미성분들은 치즈의 종류에 따라 농도와 상대적 비율이 다르게 숙성 중에 생성된다. 수많은 이런 반응들은 효소를 이용함으로써 가속화될 수 있다. EMC는 이러한 풍미성분의 대부분을 함유하고 있지만 그들의 상대적인 농도는 다양하며, EMC제조 조건에 따라 달라진다.

최근 EMC의 응용은 조직개선과 풍미의 반응에 관심이 모여지고 있으며, 다른 풍미성분과의 조화, 좋지 않은 풍미성분의 제거 등에 관심이 집중되고 있다. 특히 EMC는 자연치즈의 단백질이 응고되어 거친 조직을 만들기 쉬운 냉동치즈 제품에 응용되면 아주 이상적인데 EMC의 단백질은 대부분 가수분해되어 수용성의 펩타이드나 아미노산으로 되기 때문이다.

II. 본 론

1. 치즈 풍미 성분의 형성

치즈 풍미성분은 단백질 분해, 지방분해, 당 분해의

세 가지 주요경로로 만들어지며, 그 정도는 치즈의 종류에 따라 달라진다. 단백질 분해작용은 치즈 숙성 중 가장 복잡한 반응이며, 최소한 다음의 네 가지 이상의 방법으로 숙성이 이루어지는데, 1) 아미노산과 펩타이드로의 전환 2) 아미노산의 분해 3) 암모니아의 생성으로 인한 pH의 변화 4) 단백질 그물구조의 파과로 인한 조직의 변화이다.

치즈에서 주요 단백질 분해 기작은 플라스민과 같은 원유 내의 단백질 분해효소와 렌벳이나 이들 유사물질, 그리고 스타터 미생물에서 추출된 단백질 분해효소나 펩타이드 분해효소이며, 특정 치즈의 경우 이차적으로 첨가된 미생물에 의한 단백질 분해효소나 펩타이드 분해효소이다(Fox, 1993).

치즈의 수용성 물질은 유리아미노산이 많으며, 이들은 치즈 풍미의 기초가 되고 각종 풍미생성 반응의 기질이 되는 비휘발성물질이다(Fox와 Wallace, 1997).

지방분해 효소는 triglyceride나 diglyceride, monoglyceride의 분해이며, 이들은 효소작용에 의한 유리지방산이나 풍미물질의 전구물질이다(Birschbach, 1994). 치즈 풍미에 미치는 지방분해작용의 정도나 영향은 치즈 종류에 따라 다르며, 블루치즈의 경우 지방의 약 20% 이상이 가수분해되어 C₈-C₁₄의 중간 및 고급지방산이 생성되고 이들이 산화되어 metylketone이 되고 최종적으로 이차 알코홀로 환원되어 블루치즈의 중요한 풍미성분이 된다(Gripon, 1993). 그러나 체다치즈의 경우 이러한 지방분해 작용에 대한 문헌이 별로 없으며, Moskowicz와 Noelck(1987)은 EMC의 풍미성분 조성이나 강도가 로마노나 프로볼론 EMC의 경우 지방분해 정도나 저급 유리지방산의 생성정도에 따라 비례한다고 보고했다. 체다 및 스위스 EMC의 경우도 유리지방산의 상대적 양이 비슷하지만 이들의 맛이 서로 다르게 나타난다. 그러므로 로마노나 프로볼론 EMC에서는 지방분해 작용이 중요하지만 체다나 스위스 EMC에서는 그렇지 않고 오히려 단백질 분해작용이 중요하다.

지방 및 단백질 분해작용으로 인하여 생기는 숙성된 치즈의 휘발성 물질은 치즈 방향의 주요 성분이 되며, 이들은 고유한 아미노산이나 저급 유리지방산이 전환되어 풍미성분의 전구물질이 되기 때문이다(Bruinenberg 등,

1997).

당 분해 작용은 스타터 미생물에 의하여 유당이 젖산으로 전환되는 것이며, 젖산은 산 응고 치즈의 주요 풍미성분이 된다. 신선한 체다 치즈 커드는 0.8% - 1.5% 유당을 함유하고 있으며, 이들은 스타터의 작용에 의하여 L-젖산으로 신속하게 전환된다. 그러나 다른 스타터 미생물에 의하여 D-젖산으로 되기도 하며, 산화되어 초산이나 다른 대사물질로 되어 풍미에 변화를 주며 어떤 경우는 불쾌취로 작용할 수도 있다. 그러므로 잔류 유당이나 단당류들의 신속하고 완전한 대사작용은 양질의 치즈생산에 필수적이다(Fox 등, 1993).

수많은 종류의 풍미성분 중 diacetyl, acetic acid, propionic acid 등은 탄수화물의 분해로 인하여 생기는 것으로 추정된다(Moskowitz와 LaBelle, 1981).

EMC 기술의 기초는 적당한 기질로부터 원하는 치즈 풍미를 생산하기 위하여 적당한 조건하에서 특정 효소를 사용하는 것이다. 이들 효소는 단백질 분해효소, 펩티데이스, 지방분해효소, 에스테레이스 등이다.

Peptidase는 exopeptidase와 endopeptidase로 구분할 수 있으며, endopeptidase는 proteinase로 불리어 왔다. Peptidase는 그들의 출처에 따라 동물성, 식물성, 미생물로 분류되고 분해작용에 따라 endopeptidase와 exopeptidase로 분류되며, 분해위치에 따라 serine proteinase 등으로 구분된다.

Endopeptidase는 polypeptide 사슬 내의 peptide 결합을 절단하고 exopeptidase는 N-말단(aminopeptidase)이나 C-말단(carboxypeptidase)으로부터 1-2개의 아미노산을 분리한다(Adler-Nissen, 1993).

Lipase와 esterase의 차이는 내면에서 그들의 작용에 따라 구별되는데, esterase는 가용성기질에 대하여 상대적으로 높은 활성을 보이며, lipase는 유화된 기질에 높은 활성은 나타낸다. 하지만 엄밀한 구별은 사실상 어렵다(Wigley, 1996). West 등(1996)에 의하면 esterase는 C₂-C₄의 저급지방산의 ester결합에 활성이 강하며, lipase는 C₆이상의 지방산의 ester결합에 활성이 강하다고 보고했다.

단백질 분해효소는 상업적으로 가능한 것이 많으며, Bacillus나 식물성 단백질 분해효소가 가격이 싸고 경제적이지만 고미성분이 많이 생성되는 결점이 있다.

그러므로 일반적으로 고미성분의 생성율이 비교적 낮은 중성단백질 분해효소가 알칼리단백질 분해효소보다 많이 이용된다(West, 1996). 그러나 세균에 의한 중성단백질 분해효소인 Neutrased(Novo Nordisk, A/C Bagsvaerd Denmark)는 치즈 내 고미성분이 비교적 많이 생기며, 방향성분은 적게 생성되는 편이다(Cliffe와 Law, 1990).

곰팡이에 의한 효소는 고미성분을 많이 생성하지 않기 때문에 많이 이용되며, carboxy-나 amino-peptidase가 많은 경우는 고미성분을 감소시키는 작용도 일어난다. Exopeptidase는 고미를 방지하는데 필수적이며, 시판되어 많이 이용되는 것으로는 Aspergillus oryzae와 젖산균에서 추출한 효소가 있다. 하지만 Aspergillus oryzae는 endopeptidase가 적게 함유되어 있으며(Pawlett와 Bruce, 1996), EMC제조를 위해서는 특이성의 범위가 넓은 endopeptidase와 exopeptidase가 골고루 혼합된 것이 좋다.

Godfrey와 Hawkins(1991)는 lipase를 이용함으로 단백질의 분해를 줄일 수 있었다고 보고하였는데 지방분해효소에 의한 강력한 풍미의 생성은 proteinase나 peptidase의 작용을 감소시킬 수 있으며, 지나친 단백질 분해작용으로 인한 불쾌취의 생성도 줄일 수 있다고 했다.

Fox와 Wallace(1997)는 고미성분 중의 일부는 소수성을 가지고 있어 지방층에 존재하며, 고미로서 인식되지 않을 수도 있다고 했으며, Revah와 Lebeault(1989)는 지방층은 숙성 중에 생긴 지용성물질의 용매구실을 하며 EMC에서 이런 현상이 발생한다고 했다. Moskowitz와 Noelck(1987)은 EMC제조 시 효소분해 후 지방층은 풍미성분이 용해되기 쉬운 상태로 되며, 이로 인해 풍미가 향상된다고 했다. 이러한 치즈 풍미향상에 대한 lipase의 효과는 많은 연구자에 의하여 보고되었으며, de Felice 등(1991)은 여러 가지 lipase가 최종제품에 원하는 강도의 풍미를 얻기 위해서 선택되어야 한다고 했다. Lipase의 많은 종류가 시판되고 있으며 주로 동물이나 미생물에서 얻어진 것이다. 유리지방산과 풍미성분의 조성이 사용된 lipase에 따라 달라지므로 lipase의 선택은 EMC의 제조에 대단히 중요하며, 동물성 lipase는 소와 돼지의 체장조직과 송아지나 새끼 양이나 염소의

십이지장 조직에서 주로 얻어진다(Birschbach, 1994). 이탤리안 치즈에서 전통적으로 이용되는 렌네페이스트는 이유 후에 도살된 송아지나 양, 염소새끼의 위에서 만들어지며, 이때 렌네페이스트 내의 lipase는 십이지장에서 분비된 esterase(pregastric esterase; PGE)인데 이는 butanoic acid와 같은 저급지방산에 대하여 특이성을 갖고 있다. 대부분의 PGE는 32 - 40 °C, pH 4.8 - 5.5에서 최적활성을 나타내며(Fox와 Stepniak, 1993), PGE도 종류에 따라 다른 풍미를 생산하는 특성이 있으며, 송아지 PGE는 버터향 및 약한 후추향의 풍미를 생성하고 새끼염소의 PGE는 강한 후추향의 풍미를, 새끼양은 peccorino라는 더러운 양말냄새 같은 불쾌취를 약간 생성한다.

Huang과 Dooley(1976)도 lipase의 종류에 따라 풍미 성분이 달라지며, 어린 염소의 PGE와 렌네페이스트가 butanoic acid를 많이 생성하며, 이탤리안 치즈제조 시 풍미가 우수한 것으로 보고했다. PGE가 EMC의 제조에 이용되고 있지만 채식주의자의 식성에 맞지 않으며, 가격도 비교적 비싼 편이다. 돼지의 췌장 lipase는 EMC의 제조에 흔히 이용되지만 이것은 serine proteinase인 trypsin을 함유하고 있으며, 그래서 고미가 생길 수 있다. 미생물 lipase나 esterase는 거의 모든 제품에 이용되고 있으며, 가격도 동물성보다 다소 싼 편이다(West, 1996).

표 1에 나타난 것처럼 치즈 풍미 중에 젖산이나 구연산 펩타이드 및 몇몇 아미노산 등의 비휘발성 성분들은 특정 미생물에 의하여 생성되며, 고유한 치즈의 풍미성분으로 작용하고 있다.

카드 슬러리 기술은 EMC생산 중에 이용되는 것과 유사한 환경 하에서 우수한 치즈풍미를 생산하기 위하여 고유한 효소나 스타터 배양액의 효능을 평가하

는데 매우 유용한 기술이며, 실제 EMC 기술에서 이런 모델시스템을 이용하고 있다. 최초로 카드 슬러리는 Kristoffersen 등(1967)에 의하여 숙성치즈의 숙성을 위하여 개발되었으며, 이 공정은 신선한 카드를 멸균된 5.2% 식염수(45 °C)와 동량 혼합하고 3-4분간의 브랜드로 섞어주며, 효소와 첨가제가 첨가된 후 5분간 공기흡입장치에 연결시켰다. 그 후 30°C에서 4-5일 동안 매일 교반하면서 배양한다. 이 슬러리는 수분함량이 60% 이상 되며, Cheddar, Brick, Romano의 특성을 가진 액체치즈가 신선한 카드로부터 4-5일 내 제조된다.

곽 등(1989)은 카드 슬러리를 이용하여 lipase를 평가하였으며, 이들을 지방산 방출 특성에 따라 4 그룹으로 구분했는데, 그룹 1은 반추가축의 lipase, 그룹 2는 돼지췌장과 *Pseudomonas fluorescens*의 세균 lipase, 그룹 3은 곰팡이 lipase이고(*Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus delemia*, *Mucor miehei*, *A. oryzae*), 그룹 4는 *Mucor spp*와 밀 배아의 lipase이다.

*A. oryzae*와 *A. niger*의 lipase는 1-4 그룹의 특성을 모두 가지고 있었으며, Huang과 Dooley(1976)는 *A. niger*의 lipase 특성이 PGE와 유사하지만, PGE와는 달리 C₁₀ - C₁₈의 고급지방산을 가진 triglyceride에 대하여는 거의 반응하지 않았다. 이들은 또 *M. miehei*의 lipase는 PGE로 생산된 이탤리안 치즈의 풍미와 매우 흡사한 풍미를 생성한다고 보고했다. 그러나 이와는 반대로 Lee와 Rickansrud(1979)는 *M. miehei* lipase가 송아지 PGE보다 훨씬 높은 지방분해력을 가진 것으로 보고했으며, 또 송아지 PGE는 저급지방산의 분해에 특이성이 있는데 *M. miehei* lipase는 C₁₄의 myristic acid보다 더 큰 고급지방산을 가진 ester 결합에 특이적으로 작용을 한다고 했다. 결론적으로 *M. meihei* lipase는 췌장 lipase와 유사하며 이탤리안 치즈보다 블루치

Table 1. Non-volatile compounds involved in flavour of cheese.

Compounds	Substrate	Producing microorganims
Lactic acid	All cheese	<i>Lactococcus</i> and <i>Lactobacillus</i>
Acid-soluble nucleotides	White mold cheese	<i>Penicillium caseicolium</i>
Citric acid	Limberg cheese	<i>Brevibacterium linens</i>
Peptides	Casein	<i>Lactococcus</i> and <i>Lactobacillus</i>
Amino acids	skimmilk	<i>Lactococcus</i> and <i>Lactobacillus</i>
Proline, hydroxyproline	Swiss cheese	<i>Propionibacterium shemanii</i>

즈에 더 가까운 풍미를 생성하였다(de Felice 등, 1991).

Lipase는 자연치즈에서보다 EMC에서 풍미의 생성에 더 큰 역할을 하며, 이들은 EMC기질의 유화상태에 따라 큰 영향을 받는다. Harper 등(1978)은 유화제는 체다나 로마노 치즈슬러리의 숙성에서 유리지방산의 생성에 뛰어난 효과를 나타내며, 이는 균질 우유가 지방구 크기의 감소로 표면적이 늘어나 lipase작용을 더 많이 받는 것과 흡사하다(Desmazeaud 등, 1989). 유화제의 사용은 EMC생산에서 칼슘의 킬레이트에 의한 단백질의 용해도를 높이기 위하여 일반적으로 사용되며, 수용성의 단백질은 지방에 더 효과적으로 유화가 된다(Kilara, 1985). 일반적으로 사용되는 유화제는 칼슘 결합력이 약한 것이 이용되며, 부드럽고 잘 녹는 치즈나 치즈 소스의 생산 시 유화능력을 촉진한다(Shimp, 1985).

젖산균 스타터는 유당을 젖산으로 전환시키고, 치즈 풍미생성의 훌륭한 효소자원으로 이용되지만 아직 EMC 풍미생성에 대한 특정한 스타터의 사용에 대한 보고가 많지 않은 실정이다. 그러나 EMC의 생산에 스타터 배양액의 이용은 우수한 풍미생성의 효소자원으로 이용될 수 있으며, 숙성 자연치즈의 풍미생성 시 단순히 첨가하는 희석된 스타터 배양액과 유사하다.

2. EMC의 종류 및 제조조건

자연치즈의 숙성 시 생성되는 성분은 치즈의 종류에 따라 그 농도와 비율이 다르다. EMC는 이러한 성분들을 거의 모두 함유하고 있으나 EMC의 종류 및 제조조건에 따라 매우 다양하다(Moskowitz와 Noelck, 1987). 체다치즈의 생산은 다른 것보다 조금 더 어려운데, 블루치즈 EMC의 methyl ketone이나 캄뎀버트 치즈 EMC의 octenol처럼 뚜렷한 특징이 없기 때문이다(Eaton, 1994).

체다치즈 EMC 제조 시에는 렌벳이나 스타터 배양액에 의한 케이신의 분해가 초기에 시작되어 최종 풍미에 영향을 주기 때문에 가염된 체다 커드를 이용하는 것이 바람직하다(West, 1996).

Arbige 등(1986)은 *A. oryzae*로부터 lipase가 체다치즈 풍미를 생산하는 것으로 보고했으며, GSH(glutathione)도 황화수소나 methane thiol의 생성을 촉진시키며 체

다치즈 풍미와 연관된 carbonyl sulphide나 dimethyl sulphide를 생산한다고 보고했다. GSH는 peptide를 분해하여 단백질분해가 더 잘 일어나도록 하며, 숙성 중에 esterase의 활성도 더 높았다고 했다(Thakar와 Upadhyay, 1992). GSH는 스타터 배양액에서 esterase의 활성을 증가시키며(Harper 등, 1980), 체다치즈 슬러리에 cysteine의 첨가도 GSH와 비슷하게 황화수소나 methane thiol의 생성을 강화하는데 이러한 성분은 체다 풍미 특성에 중요한 역할을 한다. 하지만 methane thiol 단독으로는 체다풍미가 충분치 않다. Diacetyl의 존재도 체다풍미에 도움이 되는데(Singh와 Kristoffersen, 1971), diacetyl을 생성하는 균주가 체다 풍미 생성에도 유리하다고 한다. 체다치즈 슬러리와 EMC의 생산에 있어서 proteinase의 중요성은 단백질의 분해능력에 달려있으며, 가장 큰 문제점은 고미성분의 생산이다. 소수성 peptide인 고미성분은 debittering peptidase에 의해서 제거될 수 있다.

초기에 시판되는 proteinase인 Neutrane(*B. subtilis*에서 추출된 것)를 가염된 체다슬러리에 첨가하고 5 시간 동안 30℃에서 배양했을 때 고미생성을 확인했으며, *L. lactis* subsp. *cremoris*에서 추출한 Accelase를 첨가하고 21시간 더 배양하였을 때 고미성분이 완전히 사라지고 체다치즈의 풍미가 생성되었다고 했다.

체다나 고다치즈의 풍미와 비교할 때, 스위스치즈 풍미의 생산은 독특하며, 중요한 성분인 propionic acid나 유리 proline을 초산과 함께 생산하는 균주의 배양액을 이용하였는데 proline은 단맛에 관여하지만 대표적인 고미성분이므로 EMC 생산 시 이러한 proline의 과도한 생산을 피해야 한다. Plasmin도 스위스치즈 풍미성분의 생성에 중요한 역할을 하지만(Fox와 Stepaniak, 1993), Farkye와 Fox(1990)에 의하며 plasmin은 Emmental 치즈에서 그 활성이 매우 높다고 했다.

Horwood 등(1994)은 head-space의 산소량이 많을수록 치즈 슬러리에서 산생성 및 치즈 풍미생성에 더 유리하며, 이탈리아 치즈에서 중요한 풍미성분인 초산, butanoic 및 caproic acid의 생성이 유리했다고 보고했다.

모짜렐라 치즈에서 단백질 분해작용은 뜨거운 물에서 스트레칭을 하기 때문에 proteinase가 거의 불활성

화되어 그 작용이 매우 낮으므로 잔류 chymosin의 활성이 숙성 시 단백질 분해작용의 대부분을 차지한다. 모잘레나 치즈는 풍미가 강하지 않기 때문에 적당한 온도에서 배양해주면 chymosin 때문에 풍미생성이 효과적으로 될 수 있다.

프로볼론 치즈에서는 지방분해효소가 매우 중요하며, C₄ : C₆의 유리지방산 비율이 2.5 : 4.0이라고 했으며(Battistotti와 Corradini, 1993) PGE도 provolone 치즈의 풍미생성에 필수적이라고 보고했다.

표 2에 나타난 것처럼 이탈리아 치즈의 유리지방산 조성을 비교해 보면 각 치즈의 고유한 풍미의 특징이 유리지방산의 조성에 상당한 영향을 받는 것을 알 수 있다.

로마노 치즈는 양유에 렌넷 페이스트를 넣어 응유시켜 만드는 경질치즈이며, 풍미조성은 렌넷 페이스트 내의 PGE의 영향을 주로 받는다. 숙성된 치즈에는 butanoic acid가 매우 풍부하며, 로마노 치즈 EMC는 로마노 커드에 고유의 proteinase와 lipase를 이용하여 제

조하는데 Kristoffersen 등(1967)은 돼지의 췌장 lipase가 섞인 GSH가 로마노 치즈의 풍미생성에 기여한다고 했다.

팔메산 치즈는 초경질치즈이며, 유리아미노산 함량이 매우 많은데 그 중에서도 glutamate는 팔메산 치즈의 풍미생성에 크게 관여한다. 팔메산 EMC에서도 유리지방산의 함량이 매우 중요하기 때문에 lipase의 첨가가 필요하다.

*P. roqueforti*에서 생산되는 lipase는 blue 치즈 풍미생성에 크게 기여하며, 2-heptanone, 2-nonanone, 2-pentanone 같은 methyl ketone은 blue 치즈 풍미의 고유한 성분이다(Moskowitz와 La Belle, 1981). 블루치즈가 소량 함유된 식품에 2-heptanone를 첨가하면 풍미를 강하게 할 수 있다.

표 3에 나타난 것처럼 체다 및 스위스 EMC의 유리지방산 조성은 각각의 풍미 특징을 반영하고 있으며, 체다의 경우 특히 palmitic acid, oleic acid, linoleic acid 등의 함량이 많은데 비하여 스위스의 경우는 acetic

Table 2. Free fatty acid compositions and flavors of Italian cheese varieties.

Cheese variety	Concentration of FFA(ppm)							
	C _{4:0}	C _{6:0}	C _{8:0}	C _{10:0}	C _{12:0}	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0} Congeners
Provolone	376	162	45	259	83	104	245	258
Parmesan	140	106	84	158	181	684	1750	1890
Romano	1756	843	328	942	428	448	785	1224
Mozzarella	48	0	6	10	26	72	147	156

Table 3. Fatty acid ratios of enzyme modified cheese(EMC).

Fatty acid	Butyric acid relative ratio	
	EMC Cheddar	EMC Swiss
Acetic acid	0.37	1.11
Butyric acid	1.00	1.00
Caproic acid	0.20	0.17
Caprylic acid	0.12	0.16
Capric acid	0.31	0.31
Lauric acid	0.30	0.27
Myristic acid	0.81	0.65
Palmitic acid	1.69	1.79
Stearic acid	0.51	0.70
Oleic acid	1.24	1.47
Linoleic acid	1.10	0.08
Linolenic acid	0.12	0.10

acid, palmitic acid, oleic acid 등의 함량이 많은 것으로 나타났다.

Tomasini 등(1995)은 연유와 유당과 대두단백 혼합물을 사용하여 블루치즈 풍미를 생산하는 lipase를 추출했는데, 연유는 chymosin 첨가 전에 젖산균으로 배양했고 응고 후 절단하여 *P. roqueforti*로 27 °C에서 배양했다고 보고했다. 블루치즈 풍미는 6일 만에 제조되었으며, 유당과 대두단백 혼합물 곤죽도 젖산균으로 접종되고 *P. roqueforti*로 27°C에서 배양하여 5일만에 제조한 후 *P. roqueforti* 효소로 지방분해시킨 크림을 첨가하여 얻었다고 했다.

Camembert 치즈에서도 풍미의 방향성분의 대부분이 젖산균과 *P. camemberti* 같은 이차 곰팡이에 의하여 생성되며, 단백질 분해정도는 비교적 높아 총질소량의 35%까지 pH 4.6에서 가용성으로 전환된다(Gripou, 1993).

3. EMC제조 기술

EMC는 숙성된 치즈나 혹은 숙성 안된 치즈를 고유의 세포 외 효소나 미생물과 함께 배양되고 살균되며, 표준화를 거쳐 바람직한 풍미의 강도나 조성으로 조절된다. 대부분의 EMC는 숙성되지 않은 치즈의 곤죽을 이용하여 제조하며, 여기에 버터나 크림이 특별한 풍미생성을 위하여 첨가된다. 그 외 풍미강화제로 MSG, 효모 추출액, diacetyl 등 치즈 풍미성분과 관련된 것을 첨가하며, 최종 제품에 표기한다. 처음에 이용되는 치즈 슬러리의 조직과 품질이 마지막 제품에 크게 영향을 미치며, 각 치즈마다 여러 가지 공정을 거치게 된다.

EMC제조 중에 세균에 의한 부패를 특히 조심해야 하며, 장비 등은 철저히 살균되어야 한다. Dulley(1976)는

효모나 대장균의 오염을 막기 위하여 potassium sorbate의 첨가가 효과적이었다고 했으며, nitrate, sorbic acid, nisin도 이용될 수 있다고 했다(Mann, 1981).

높은 농도의 저급지방산이 정균작용을 하기 때문에 lipase가 이용되지 않는 경우에 세균에 의한 부패는 더욱 심해질 수 있다(West, 1996).

EMC제조에의 일반적인 제조공정을 요약하면 표 4와 같다.

EMC의 제조에는 변수가 많아 균일한 제품의 생산이 쉽지 않은데, 특히 배양시간과 온도의 조절이 중요하다. 살균을 위한 열처리도 풍미성분을 부분적으로 파괴하기 때문에 주의 해야하며, 잔류효소는 off-flavor 생성을 일으키므로 완전히 제거해야한다. 그러므로 EMC 발효기 내의 proteinase 활성을 모니터링 하는 것이 바람직하며, 췌장 lipase 첨가 시 혼입된 amylase 활성도 EMC의 풍미를 방해하기 때문에 모니터링 하는 것이 바람직하다.

현재 제조되고 있는 EMC의 제조방법을 살펴보면, 미국 위스콘신의 Racine 사의 경우 EMC 기질을 82 °C에서 30분간 열처리하여 세균을 사멸하고 불필요한 효소를 불활성화 시킨 다음, 48,000 Kpa(7,000 psi)의 압력으로 효소처리를 한다. 천천히 회전하는 scraper로 원하는 유리지방산이 생길 때까지 교반한 다음, 85 °C에서 30분간 열처리한 다음 반응을 종료한다. 그 다음 처리된 곤죽을 20 °C로 냉각하고 maltodextrin이나 유청분말을 혼합한다. 그 슬러리는 살균하고 균질한 후 분무건조하며, 분무건조 중 o/w 유화액은 maltodextrin과 유청에 의하여 캡슐화되어 100-150 μm 크기의 입자로 되며, 수용성의 다른 물질과 쉽게 혼합된다. 최종 분말을 신속히 냉각시킴으로 지방 및 당의 결정화를 유

Table 4. Major steps in the manufacture of lipolyzed products.

1. Prepare the substrate
2. Mix the enzyme into an aqueous solution and standardize its activity
3. Add enzyme to substrate
4. Homogenize the mixture to promote the formation of an emulsion, which is needed to increase enzyme activity
5. Incubation the emulsified substrate to develop desired flavor in endproducts
6. Inactivate the enzyme
7. Standardize the final product
8. Package

도했고 실온에서 일년이상 보관하며 풍미변화를 최소화했다.

또 다른 EMC 제조 전문회사인 Biotechnology Group의 Marshall 제품의 제조는 다음과 같다. EMC는 각각의 원료치즈를 이용하여 곤죽을 만들고 거기에 특히 등록된 Marshall 효소나 Marshall culture를 첨가했다. 이때 pH 및 교반의 조건을 엄중히 조절하였고 풍미조성을 모니터링하여 함량이 적당해지면 즉시 열처리하여 반응을 종료했다. 이렇게 제조된 Cheddar EMC(40%)와 고농도 Cheddar EMC(55%)는 6개월 숙성된 Cheddar 치즈 풍미의 각각 5 배와 20 배에 해당하였다. 가용성 질소와 유리지방산 풍미가 강할수록 점차 농도가 증가했으며, glutamic acid, leucine, lysine 등의 아미노산의 높은 수준이 풍미에 관여하는 것으로 여겨진다.

III. 결론

치즈 풍미성분은 세 가지 주요 경로로 만들어지는데, 단백질 분해, 지방분해, 당분해이며, 그 정도는 치즈의 종류에 따라 달라진다. 단백질 분해작용은 치즈 숙성 중 세 주요 반응 가운데 가장 복잡한 반응이다.

EMC 기술의 기초는 적당한 기질로부터 원하는 치즈 풍미를 생산하기 위하여 최적의 조건하에서 특정 효소를 사용하는 것이다. 이들 효소는 단백질 분해효소, 펩티데이스, 지방분해효소, 에스테레이스 등이다.

EMC 제조 시 중요한 핵심은 원하는 치즈 풍미의 형태와 이용하는 효소 및 유산균 배양액의 종류와 특이성이며, 이들의 농도 외에도 pH, 온도, 교반, 폭기, 배양 시간과 같은 가공 조건들이 중요하게 영향을 미친다. 또한 유화제, 박테리오신, 풍미성분 및 전구물질 등도 중요하게 작용한다. 효소 투입량이나 사용되는 스타터 배양액의 첨가량은 원하는 풍미의 강도에 따라 다르며, 가공시간과 온도 및 최초 기질의 품질에 영향을 받는다. 일정한 EMC제품을 얻기 위하여 완벽하게 통제되는 공정이 필요하며, 그 조건하에서 효소의 반응에 대한 충분한 이해가 필요하다.

IV. 참고문헌

1. Adler-Nissen, J. (1993). Proteases. In *Enzymes in Food Processing*. 2nd edn., T. Nagodawitha and G. Reed. Academic Press, London, pp. 159-203.
2. Arbige, M. V., Freund, P. R., Silver, S. C. and Zelko, J. T. (1986). Novel lipase for Cheddar cheese flavour development. *Food Technology* 40: 91-98.
3. Battistotti, B. and Corradini, C. (1993). Italian cheese. In *cheese Chemistry, Physics and Microbiology*, 2nd edn., Vol. 2, ed. P. F. Fox. Chapman & Hall, London, pp. 221-244.
4. Birschbach, P. (1994). Origins of lipases and their action characteristics. *Bulletin* 294. International Dairy Federation, Brussels, pp. 7-10.
5. Bruinenberg, P. G., de Roo, G. and Limsowitn, G. K. Y. (1997). Purification and characterization of cystathionine γ -lyase from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SK 11: Possible role in flavour compound formation during cheese maturation. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 561-566.
6. Cliffe, A. J. and Law, B. A. (1990). Peptide composition of enzyme-treated Cheddar cheese slurries, determined by reverse-phase HPLC. *Food Chemistry* 36: 73-80.
7. de Felice, M., Gomes, T. and de Leonardis, T. (1991). Addition of animal and microbial lipase to curd: effects on free fatty acid composition during ripening. *Lait* 71: 637-643.
8. Desmazeaud, M., Cerning, J. and Gripon, J. C. (1989). The use of enzymes in the dairy industry. In *Proceedings of Food Ingredients Europe Conference*. pp. 96-103.
9. Dulle, J. R. (1976). The utilization of cheese slurries to accelerate the ripening of Cheddar cheese. *Australian J. of Dairy Technology* 31: 143-148.
10. Eaton, D. C. (1994). Dairy flavors. In *Bioprocess Production of Flavors, Fragrance and Color Ingredients*, ed. A. Gableman, Wiley, New York, pp. 169-302.
11. Farkye, N. Y. and Fox, P. F. (1990). Observations on plasmin activity in cheese, *J. of Dairy Research* 57: 413-418.
12. Fox, P. F. (1993). Cheese; an overview. In *Cheese; Chemistry Physics and Microbiology*, 2nd edn., vol. 1.

- Chapman & Hall, London, pp. 1-37.
13. Fox, P. F., Law, L., McSweeney, P. L. H. and Wallace, J. (1993). Biochemistry of cheese ripening. In *Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology*, 2nd edn., vol. 1. Chapman & Hall, London, pp.389-438.
 14. Fox, P. F. and Stepaniak, L. (1993). Enzymes in cheese technology. *International Dairy J.* 3: 509-530.
 15. Fox, P. F. and Wallace, J. (1997). Formation of flavour compounds in cheese. *Advances in Applied Microbiology* 45: 17-85.
 16. Godfrey, T. and Hawkins, D. (1991). Enzymatic modification of fats for flavour. *European Food and Drink Review*, Autumn, 103-107.
 17. Gripon, J. C. (1993). Mould-ripened cheeses. In *Cheese. Chemistry, Physics and Microbiology*, 2nd edn., vol. 1. Chapman & Hall, London, pp.111-136.
 18. Harper, W. J., Carmona de Catrail, A. and Chem, J. L. (1980). Esterases of lactic streptococci and their stability in cheese systems. *Milchwissenschaft* 35: 129-132.
 19. Harper, W. J., Kristoffersen, T. and Wang, J. Y. (1978). Formation of free fatty acids during the ripening of fat modified cheese slurries. *Milchwissenschaft* 33: 604-608.
 20. Horwood, J. F., Shamley, R. M. and Sutherland, B. J. (1994). Chemistry of cheese curd slurries: effect of oxygen on flavour and fatty acid production. *Australian J. of Dairy Technology* 49: 63-69.
 21. Huang, H. and Dooley, J. G. (1976). Enhancement of cheese flavours with microbial esterases. *Biotechnology and Bioengineering* 18: 909-919.
 22. Kilara, A. (1985). Enzyme modified lipid food ingredients. *Process Biochemistry* 20: 35-45.
 23. Kristoffersen, T., Mikolajeik, E. M. and Gould J. A. (1967). Cheddar cheese flavour. 4. directed and accelerated ripening process. *J. of Dairy science* 50: 292-297.
 24. Kwak, H. S., Jeon, I. J. and Perng, S. K. (1989). Statistical patterns of lipase activities on the release of short chain fatty acids cheddar cheese slurries. *J. of Food Science* 54: 1559-1564.
 25. Lee, Y. B. and Rickansrud, D. A. (1979). Enhancement of Italian cheese flavour with microbial and calf pregastric esterases. *Korean J. of animal science* 21: 371-376.
 26. Mann, J. E. (1981). Processed cheese. *Dairy Industries International* 58: 13-14.
 27. Moskowitz, G. J. and La Belle, G. G. (1981). Enzymatic flavour development in foods. In *The Quality of foods and Beverages, Chemistry and Technology*, vol. 2 ed. G. Charalambous. Academic Press, London, pp. 21-35.
 28. Moskowitz, G. J. and Noelck, S. S. (1987). Enzyme modified cheese technology. *J. of Dairy Science* 70: 1761-1769.
 29. Pawlett, D. and Brucen, G. (1996). Debittering of protein hydrolysates. In *Industrial Enzymology*, 2nd edn., T. Gidfrey and S. West. Macmillan, London, pp. 177-186.
 30. Revah, S. and Lebeault, J. M. (1989). Accelerated production of blue cheese flavours by fermentatuon on granular curds with lipase addition. *Lait* 69: 281-289.
 31. Shimp, L. A. (1985). Process cheese principles. *Food Technology* 39: 63-69.
 32. Singh, S. and Kristoffersen, T. (1971). Influence of lactic cultures and curd milling acidity on flavour of cheddar cheese slurries. *J. of Dairy Science* 54: 1589-1594.
 33. Thakar, P. N. and Upadhtay, K. G. (1992). Cheese curd slurry - a review. *Cultured Dairy Products J.* 27: 9-12.
 34. Tomasini, A.m Bustillom G. and Lebeault, J. (1995). Production of blue cheese flavour concentrates from different substrates supplemented with lipolyzed cream. *International Dairy J.* 5: 247-257.
 35. West, S. (1996). flavour production with enzymes. In *Industrial Enzymology*, 2nd edn., T. Godfrey and S. West. Macmillan, London. pp. 211-214.
 36. Wigley, R. C. (1996). Cheese and whey. In *Industrial Enzymology*, 2nd edn., T. Godfrey and S. West. Macmillan, London. pp. 135-154.