

Camembert Cheese 숙성 중 Casein의 변화에 관한 연구

이지환 · 이수원* · 정재홍 · 양 융**
해태유업연구소, *성균관대학교 낙농학과
**연세대학교 식품공학과

Changes in Caseins during the Ripening of Camembert Cheese

Jee-Whan Lee, Soo-Won Lee*, Jae-Hong Jeong and Ryung Yang**

Research Laboratory, Hai Tai Dairy Co., Ltd., Suwon

*Department of Dairy Science, Sungkyunkwan University, Suwon

**Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul

Abstract

The changes in cheese casein components and the resultant palatability of the cheese were studied. Camembert cheese was made with *P. caseicolum* and mixed lactic cultures and ripened for 45 days. The pH value increased rapidly during ripening. Water soluble, pH 4.6-soluble and non protein nitrogenous compounds were all increased during ripening. The electrophoretic patterns of pH 4.6-insoluble casein showed that the caseins were separated into 4 bands after 10 days, 12 bands after 45 days of ripening, α_{s1} -casein was completely degraded after 17 days of ripening and a large percentage of β -casein was broken down after 45 days of ripening. On gel filtration, pH 4.6-soluble casein fragments ripened for 10 days, 24 days and 31 days were fractionated into 3, 4 and 5 fractions respectively. The sensory evaluation of Camembert cheese showed that cheese ripened for 31 days had the best palatability.

Key words: changes in cheese caseins, Camembert cheese, ripening

서 론

치즈의 숙성은 주요 구성성분인 casein 및 유지방의 복잡한 이화학적 변화를 통하여 독특한 flavor가 형성되고 조직이 연화되는데, 특히 연질치즈는 조직이 부드럽고 탄력이 있으며 수율이 높고 숙성기간이 짧기 때문에 기호성과 경제성이 우수한 제품으로 평가되고 있다⁽¹⁻⁴⁾.

치즈의 숙성기간을 단축시키는데에는 숙성온도를 높이는 방법, 효소를 첨가하는 방법 및 분해력이 강한 미생물을 첨가하는 방법 등^(5,6)이 있다. Camembert cheese는 casein에 대해 분해력이 강한 *Penicillium camemberti*를 치즈표면에 도포시켜서 단기간에 숙성시키는 방법으로 제조되는 프랑스 노르망디 지역이 원산지⁽⁷⁾인 대표적인 연질치즈로서 다른 치즈와 비교하여 숙성기간이 짧아서 경제성은 높으나 그 제조방법이 까다롭기 때

문에 사용균주, 제조공정 및 숙성조건이 적절히 조절되지 않을 경우 casein의 이상분해에 의해 치즈의 조직 및 flavor가 나빠지는 것으로 알려지고 있다. 그동안 치즈 숙성 중 단백질 분해에 관한 연구가 폭넓게 수행되어 왔으나 국내에서는 대부분 Cheddar cheese 같은 경질의 장기숙성 치즈에 집중되어 있고⁽⁸⁻¹⁰⁾ 외국의 경우에서도 통상적으로 Camembert cheese의 숙성에 작용하는 효소계의 역할에 대해서 주로 연구되고 있다.

본 연구에서는 복합유산균과 mutant종의 *Penicillium caseicolum* V.B.를 사용하여 Camembert cheese를 제조한 후 숙성과정에 있어서 Cheese casein의 이화학적 변화상태와 그에 따른 物性 및 기호성의 변화를 조사하였으며, 한국인의 기호에 맞고 경제성이 있는 양질의 단기숙성 자연치즈를 개발하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

Corresponding author: Jee-Whan Lee, Research Laboratory, Hai Tai Dairy Co., Ltd., Imok-dong 380-2 Suwon, Kyunggi-do 440-310

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 Camembert cheese는 Chr. Hansen Lab.의 복합유산균 스타터(*St. cremoris*, *St. diacetylactis*, *St. lactis* and *Leu. cremoris*)와 Lacto-Labo사의 *P. caseicolum* spore를 사용하여 Scott 방법⁽¹¹⁾으로 제조한 후 95±3% R.H.에서 8일간 예비숙성 시켜서 치즈표면에 곰팡이 균사가 완전히 생육한 다음 15μ Al-foil로 밀봉 포장하여 12±1°C, 95±3% R.H.에서 6주간 숙성시키면서 실험에 사용하였다.

Casein의 조제

Acid casein은 Kato 등의 방법⁽¹²⁾에 따라 조제하였으며, Cheese casein은 O'keeffe 등⁽¹³⁾과 Nakajima 등⁽¹⁴⁾의 방법에 따라 조제하였다.

pH 측정

pH는 pH meter(Digital pH/Ion meter, Model DP-215)를 사용하여 측정하였다.

질소화합물의 정량

Nukada 등⁽¹⁵⁾의 방법에 따라 수용성 질소, 비카제인 태 질소 및 비단백태 질소화합물을 조제하여 Kjeldahl 방법으로 정량하였다.

Polyacrylamide gel 전기영동

O'Farrell의 Slab-polyacrylamide gel electrophoresis(Slab-PAGE) 방법⁽¹⁶⁾을 수정하여 실시하였으며, 7.5% polyacrylamide gel과 0.375 M Tris-HCl-Urea buffer(pH 8.8, 4.5 M urea)을 사용하여 4°C에서 upper gel은 200 V에서 20분, lower gel은 slot 당 5 mA에서 3~4시간 동안 영동시켰다. 영동이 끝난 gel은 0.1% Coomassie blue R-250으로 염색하고 10% acetic acid-30% methanol 용액으로 탈색하였다.

Sephadex G-25 column chromatography

Sephadex G-25(Pharmacia LKB Biotech. AB, Sweden)을 Cooper의 방법⁽¹⁷⁾에 따라 처리하여 충전한 column(φ2.8×60 cm)을 사용하였다. 시료 4 ml를 주입시킨 후 1 M acetic acid(pH 2.3)로 유출시켜(18 ml/hr) 유출액을 fraction collector(Vision 科學)로 5.2 ml씩 시험관에 채집한 후 280 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

기계적 조직특성⁽¹⁸⁾

치즈의 기계적 물성값은 Rheometer(Sun Sci., Model CR-10-K)를 사용하여 측정하였다. Compressing force는 최대 force 1 Kg, Table speed 70 mm/min, Chart speed 120 mm/min의 조건에서 두께 20 mm의 치즈표면에서 내부 10 mm까지 두 개의 연속적인 compression cycle을 실시하여 나타난 힘-거리-면적 곡선에서 기계적 물성값을 얻었다.

관능검사

관능검사 패널원은 해태乳業(株) 기술연구소 연구원 8명으로 구성되어 Camembert cheese와 조직감이 비슷한 시료에 대한 훈련을 여러번 반복 시행한 후 8cm²의 일정크기 시료로서 조직특성에 따라 느끼는 관능적 특성과 기호성을 5점 채점척도 시험방법⁽¹⁹⁾에 따라 실시하였다.

결과 및 고찰

pH의 변화

Fig. 1은 Camembert cheese를 제조한 후 숙성 45일 동안 숙성하면서 숙성과정 중 치즈표면과 중심부의 pH 변화를 나타낸 것으로 제조 직후 pH는 4.9이었으나 예비숙성 4일 후에는 표면이 4.76, 중심부가 4.65까지 떨어졌는데 이는 커드에 남아있는 소량의 유당이 젖산발효에 의해 분해되어 젖산을 생성하였기 때문인 것으로 해석되었다. 숙성과정 중 치즈표면의 pH는 숙성 5일부터 급속히 증가하기 시작하여 10일에 5.60을 나타내었고 숙성 45일에는 7.40까지 상승하였다. 반면 중심부는 숙

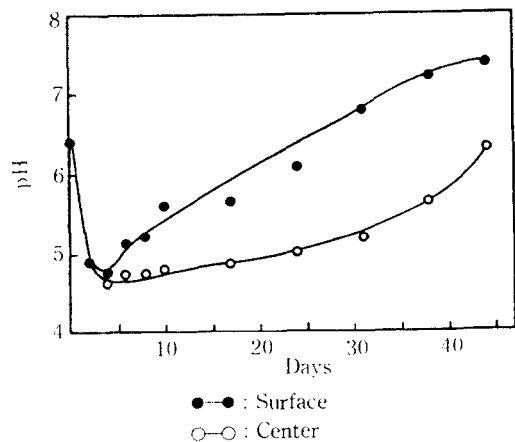


Fig. 1. Changes in pH during Camembert cheese ripening

성 30일까지 완만하게 증가하였으나 38일부터 급속하게 증가되어 숙성 45일에는 6.33을 나타내었다.

질소화합물의 변화

숙성기간에 따라 casein 의 분해로 인한 수용성 질소, 비카제인태 질소, 비단백태 질소 함량을 cheese 시료에 대한 무게비로서 표시하였는데, Fig. 2에서 보는 바와 같이 수용성 질소와 비카제인태 질소는 제조 직후 0.33%와 0.21%에서 숙성 10일에 0.57%와 0.48%까지 서서히 증가하였고 곰팡이 균사가 치즈표면에 완전히 생육한 10일 이후부터 급격히 상승하여 17일에는 각각 1.38%와 0.8%까지 증가하였다. 수용성 질소는 계속 증가되어 숙성 45일에 2.7%까지 상승하였고 비카제인태 질소는 숙성 17일부터 완만하게 증가되어 45일에는 1.25%를 나타내었다. 반면 비단백태 질소는 제조 직후 0.14%에서 숙성 45일에는 0.48%로 완만하게 증가하였다.

pH 4.6-insoluble casein 의 변화

Camembert cheese 의 숙성과정 중 pH 4.6-insoluble casein 의 변화를 Slab-PAGE 를 실시하여 Fig. 3에 나타내었다. 제조 직후부터 치즈 표면에 곰팡이균사 생육 전인 10일까지는 3~4개의 band 로 분리되었고 곰팡이균사 생육 후인 10일 이후부터는 현저한 casein 분해가 일어나 7~12개의 band 를 나타내었다. α_{s1} -Casein 은 숙성 2일만에 C-8의 band 가 나타나는 것을 볼 수 있으며 17일부터는 완전히 분해되었고 45일에는 C-6 ~C-12의 7개 band 를 확인할 수 있었다. β -Casein 은 숙성 10일까지는 약간 분해되었으나 10일 이후부터 C-1

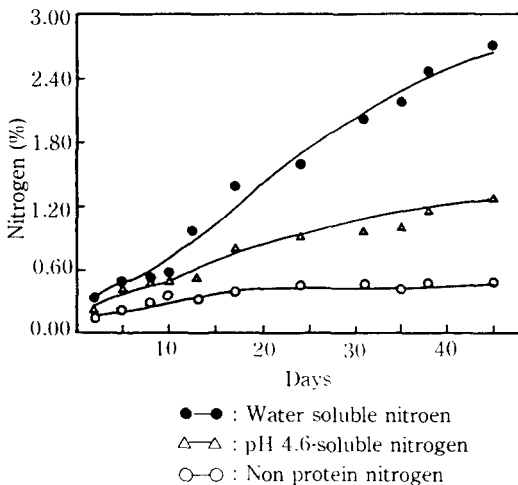


Fig. 2. Evolution of nitrogen compounds during Camembert cheese ripening

~C-4 band 가 선명하게 출현되는 것으로 보아 숙성 45일 동안 β -casein 도 거의 대부분 분해되었다는 것을 알 수 있었다.

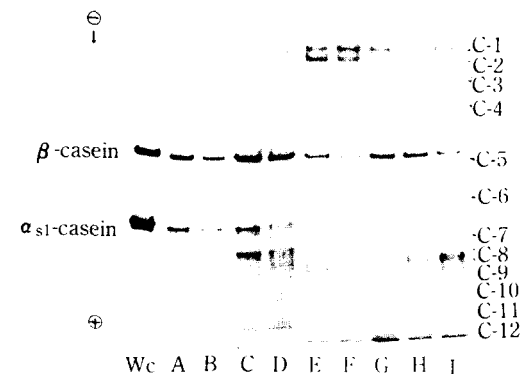
pH 4.6-soluble nitrogeous compounds 의 변화

Cheese 의 숙성 45일 동안에 pH 4.6-soluble casein fragments 를 Sephadex G-25 column chromatography 로 분리한 용출곡선을 비교분석한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 제조 직후부터 곰팡이균사가 완전히 생육한 다음 24일에는 peak 가 4개로 분리되었으며 31일부터는 5개의 peak 로 되어 *P. caseicolum* protease 의 강력한 casein 분해작용을 확인할 수 있었다. 이와 같이 숙성 45일 동안 분리된 각각의 fraction 의 면적비를 Table 1에 표시하였는데 숙성이 진행됨에 따라서

Table 1. Variations in fraction area of pH 4.6-soluble casein filtered from Sephadex G-25 column during Camembert cheese ripening

Ripening period (days)	Fraction % ^{a)}				
	I	II	III	IV	V
4	6.47	9.44	7.30	—	—
6	8.39	9.44	7.87	—	—
8	9.69	11.22	8.43	—	—
10	11.43	13.01	8.99	—	—
17	18.01	16.58	12.92	—	—
24	13.56	16.58	16.57	32.31	—
31	10.78	11.99	12.36	29.23	28.57
38	10.85	7.40	12.92	24.61	30.36
45	10.82	4.34	12.64	13.85	41.07

^{a)} Each fraction area/Total fraction area \times 100



WC: Acid casein A: 4 days B: 6 days C: 8 days D: 10 days E: 17 days F: 24 days G: 31 days H: 38 days I: 45 days

Fig. 3. Polyacrylamide gel electrophoretic patterns of pH 4.6-insoluble casein during Camembert cheese ripening

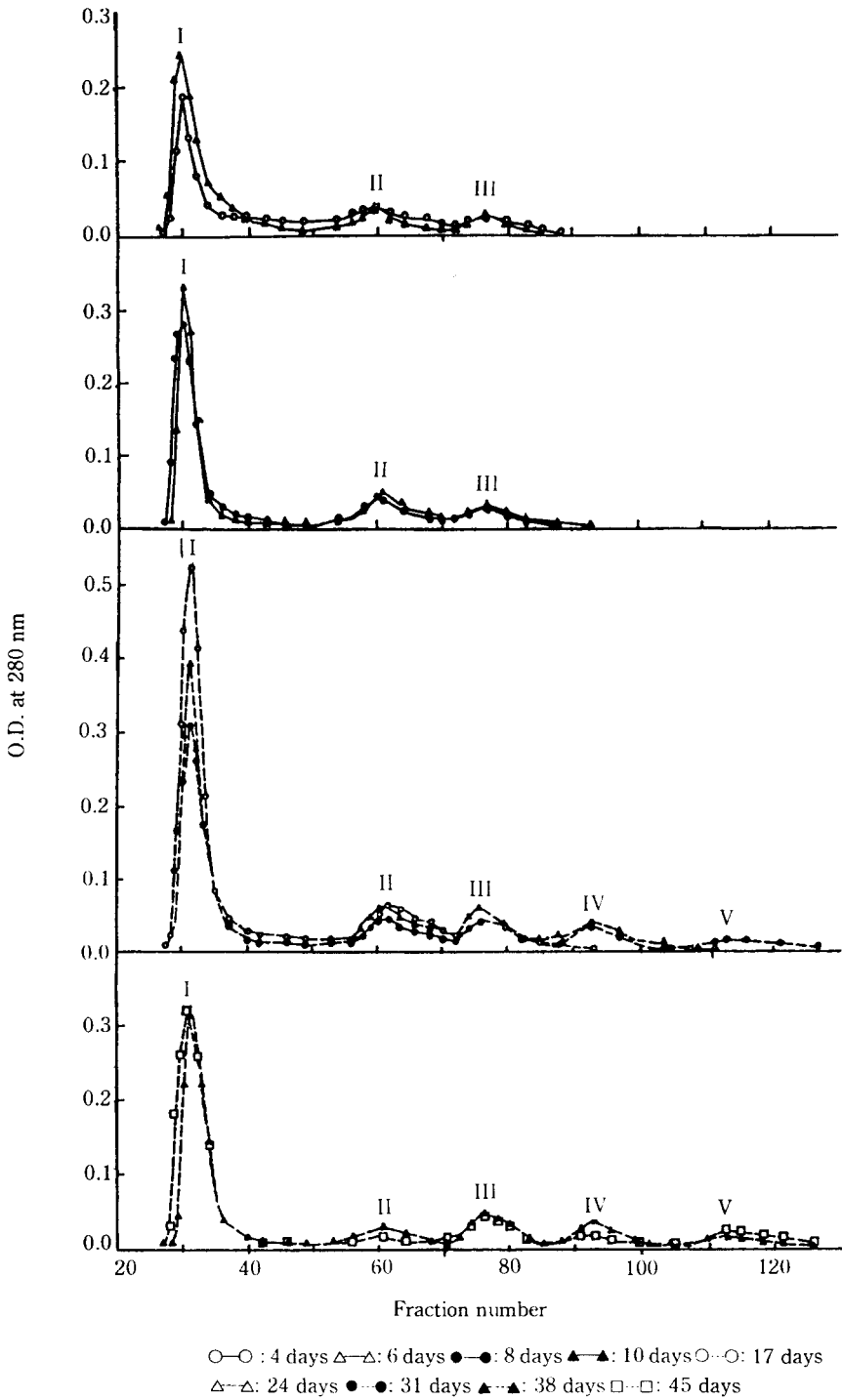


Fig. 4. Gel filtration patterns of pH 4.6-soluble nitrogenous compounds in Camembert cheese ripening on Sephadex G-25 using 1M acetic acid, pH 2.3

Table 2. Sensory characteristics^{a)} of Camembert cheese at various ripening periods

Ripening period(days)	Sensory Score (hedonic scale) ^{b)}		
	Appearance	Texture	Taste
10	2.13 ^a	2.13 ^a	2.25 ^a
17	3.63 ^b	2.38 ^a	2.63 ^a
24	3.75 ^b	4.25 ^b	4.38 ^b
31	3.75 ^b	4.50 ^b	4.63 ^b
38	3.88 ^b	2.63 ^a	2.38 ^a
45	3.63 ^b	1.38 ^c	1.00 ^c

a) 1-Very poor, 3-Normal, 5-Excellent

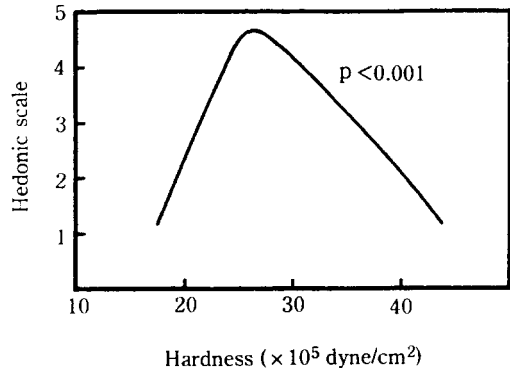
b) Values with different letters(a,b,c) differ significantly (P<0.005)

fraction I 은 17일까지 증가하였고 다시 감소하면서 31 일 이후에는 증감이 거의 없었다. Fraction II, III은 24 일까지 증가한 다음 II는 서서히 감소하였으나 III은 45 일까지 변화가 없었으며, 또한 IV는 숙성이 진행되면서 감소하였고 fraction V는 완만하게 증가하였다.

이는 멸균된 model 커드를 사용하여 rennet, *S. lactis*, *P. caseicolum* 의 복합 mix 를 첨가하여 제조한 cheese 를 40일 동안 숙성시키면서 pH 4.6-soluble casein fragments 의 변화를 추적한 Gripon 등⁽²⁰⁾의 결과와 일치된 경향을 나타내었는데 fraction I, II, III은 주로 렌넷작용에 의해 분해된 것으로 I 은 분자량 5,000 daltons 이상의 casein 이고, fraction IV와 V 는 fraction I, III이 *P. caseicolum* protease 와 젓산균 생산 aminopeptidase 에 의해 분해되어 전환된 분자량 2,000 daltons 이하의 peptides 와 아미노산들이 혼합되어 있는 것으로 추측되었다.

관능검사 결과

Camembert cheese 의 숙성 10일부터 45일까지 기계적 조직검사 때와 동일한 시료로 관능검성한 결과를 Table 2에 표시하였다. Cheese 단면의 색택과 모양, 표면의 곰팡이 생육상태 등을 나타낸 외관은 곰팡이균사 생육 초기인 10일에 가장 낮았고 그 외에는 차이가 없었다. 조직과 flavor 는 숙성 24, 31일의 cheese 가 기호성이 좋았고 특히 31일간 숙성된 cheese 의 기호성이 제일 높았으며 숙성 초기와 너무 과도하게 숙성된 38일 이후에는 기호성이 급격히 떨어졌다. 한편 숙성 중에 있어서 쓴맛 등의 결점은 나타나지 않았고 시료의 기계적 견고성과 조직 및 flavor 에 대한 관능적 기호성과는 Fig.5 에서와 같이 0.1% 유의수준으로 높은 상관관계 및 회귀식을 나타냈으며 응집성과 점착성은 기호성과 상관관계를 발견할 수 없었다.



Regression equation: $y = -0.27x^2 - 1.969x + 43.1496$,
Where y = Sensory score, x = Rheological hardness

Fig. 5. The relation between sensory overall score and hardness during Camembert cheese ripening

요 약

P. caseicolum V.B.와 복합유산균을 사용하여 제조한 Camembert cheese 를 45일간 숙성시키면서 카제인 변화와 그에 따른 기호성을 조사하였다. 숙성과정 중 수용성 질소, 비카제인태 질소, 비단백태 질소량은 증가하였다. pH 4.6-insoluble casein 의 전기영동 결과 숙성 10 일에는 4개의 band 에서 45일에 12개의 band 로 분리되었는데 α_{s1} -casein 은 숙성 17일에 완전히 분해되었으며, β -casein 도 숙성 45일 동안 거의 대부분이 분해되었다. 또한 pH 4.6-soluble casein fragments 의 gel filtration 에서 숙성 10일에는 3개의 fraction, 24일까지는 4개의 fraction 이 나타났고 31일부터는 5개의 fraction 으로 분별되었다. 관능검사 결과 숙성 31일된 Camembert cheese 의 기호성이 제일 높았으며, 숙성이 진행됨에 따라 hardness 는 감소하였고 관능적 기호성과는 0.1%의 유의수준으로 높은 상관관계를 나타냈다.

문 헌

1. Harper, W.J. and Kristofferson, T.: Biochemical aspects of cheese ripening. *J. Dairy Sci.*, **39**, 1733 (1956)
2. 양 용, 양한철: 축산식품가공학, 보성문화사, 139 (1984)
3. Grappin, R., Rank, T.C. and Olson, N. F.: Primary proteolysis of cheese proteins during ripening. *J. Dairy Sci.*, **68**(3), 531(1985)

4. Lee, S.W., Shimizu, M., Kaminogawa, S. and Yamachi, K. : Emulsifying properties of peptides obtained from the hydrolyates β -casein. *Agric. Biol. Chem.*, 51 (1), 161(1987)
5. Law, B.A., Hosking, Z.D. and Chapman, H.R. : The effect of some manufacturing conditions on the development of flavour in Cheddar cheese. *J. Soc. Dairy Technol.*, 32, 87(1979)
6. Sood, V.K. and Kosikowki, F.V. : Accelerated Cheddar cheese ripening by added microbial enzymes. *J. Dairy Sci.*, 62, 1865(1979)
7. Mocqot, G. : Soft cheese manufacture. *J. Soc. Dairy Tech.*, 8, 17(1955)
8. 김종식, 장주익, 김영교 : 치즈 숙성에 관한 연구, 4. 체다 치즈 숙성 중 질소화합물의 변화. *한국축산학회지*, 18(2), 182(1976)
9. 김영교, 김기성, 강통삼, 민병용 : 치즈 숙성에 관한 연구, 체다 치즈 숙성 중 casein의 변화. *농림논집*, 20, 91(1980)
10. 김기성 : Mucor rennet 으로 제조한 Cheddar cheese 의 숙성에 관한 연구, 고려대학교 박사학위논문(1984)
11. Scott, R. : In *Cheesemaking Parctice*, Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, 26(1985)
12. Kato, I., Mikawa, K. and Yasui, T. : Action of rennin on casein, III. Effect of α_s - and β -casein on the secondary phase. *J. Dairy Sci.*, 63(1), 25(1980)
13. O'keeffe, R.B., Fox, P.F. and Daly, C. : Contribution of rennet and starter proteases to proteolysis in Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, 43, 97(1976)
14. Nakajima, I., Tatsumi, K. and Ohba, S. : The variation of calcium binding ability of cheese casein during ripening. *J. Agr. Chem. Soc. Jap.*, 46(5), 259(1972)
15. Nukada, K., Miyake, R. and Nakae, T. : Studies on camembert cheese ripening. I. Changes in chemical composition during ripening of Camembert cheese. *Bulletin of the Okayama Prefectural Dairy Experiment Station*, 21, 36(1984)
16. O'Farrell, P.H. : High resolution two-dimensional electrophoresis protein. *J. Biol. Chem.*, 250, 4007(1975)
17. Cooper, T.G. : *The Tools of Biochemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 169(1977)
18. Deman, J.M., Voisey, P.W., Rasper, V.F. and Stanley, D.W. : In *Rheology and Texture in Food Quality*, The AVI Pub. Co., Inc., Westport, Conn., 244(1976)
19. 이철호, 채수규, 이신근, 박봉상 : 식품공업품질관리론, 유림문화사, 98(1982)
20. Gripon, J-C., Desmazeaud, M.J., Le Bars, D. and Bergre, J-L. : Role of proteolytic enzymes of *Streptococcus lactis*, *Penicillium roqueforti*, and *Penicillium caseicolum* during cheese ripening. *J. Dairy Sci.*, 60 (10), 1532(1977)

(1990년 4월 3일 접수)