에멘탈치즈의 숙성 중 유기산과 유리지방산의 변화

신용국 · 오남수 · 남명수^{1*}

서울우유 중앙연구소, ¹충남대학교 농업생명과학대학 동물바이오시스템학과

Changes of Organic Acids and Free Fatty Acids During the Ripening of Emmental Cheese

Yong Kook Shin, Nam Su Oh, and Myoung Soo Nam^{1*}

Institute of Dairy Food Research, Seoul Dairy Cooperative, Ansan 425-838, Korea

¹Laboratory of Milk Food Biochemistry and Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

The objective of this study was to characterize the lactate metabolism and lipolysis in Emmental cheese made of Korean raw milk throughout the ripening periods; 14 d at 10°C, 42 d at 23°C, and 30 d at 4°C. Emmental cheese was made using a commercial starter culture with propionic acid bacteria (PAB) and without PAB as a control on the pilot plant scale. Changes in the contents of five organic acids (citric, lactic, formic, acetic, and propionic acid) and individual free fatty acids (FFAs) were measured using HPLC/PDA and GC/FID. As a result of propionic fermentation by PAB, the concentration of acetic acid and propionic acid increased up to 1.5 and 6.1 g/kg, respectively and the most dramatic increased occurred when incubated in the hot room (23°C). Lactic, citric, and formic acid contents were 2.6, 2.5 and 0.8 g/kg at the end of ripening, respectively. As a result of lipolysis, the amount of total FFAs was 6,628.2 mg/kg. Compared to the control, levels of individual FFAs from butyric (C6:0) to linoleic (C18:2) acids increased significantly ($p < 0.05$) during the ripening period. Especially, 65.1% of total FFAs was released in the 23°C room and the most abundant FFAs were palmitic (C16:0), stearic (C18:0) and oleic acid (C18:1). These results demonstrated that the lipolysis of Emmental cheese was strongly affected by bacterial lipase from PAB.

Key words: Emmental cheese, propionic acid bacteria, organic acids, free fatty acids

서 론

치즈의 숙성과정에서 미생물학, 생화학적인 변화는 다양하고 복잡하며 풍미 및 조직 특성을 결정짓는데 중요하게 작용한다. 스위스 치즈를 대표하는 에멘탈치즈는 내열성의 *Streptococcus* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus* 등을 사용하여 커드를 제조하며, propionic acid bacteria(PAB)를 사용하여 치즈 눈(cheese eye)을 형성시켜 특유한 풍미를 생성시킨다. 에멘탈치즈는 숙성 중 치즈 커드 내 *Propionibacterium freudenreichii*와 그람양성 균총의 성장과 사멸에 의한 복합적인 작용으

로 인하여 유당, 지방 및 단백질 등과 관련한 많은 화학 및 생물학적 대사를 발생 시킨다(Beuvier and Buchin, 2004; Fox *et al.*, 1993). 치즈의 숙성 중 발생하는 생화학적 변화는 제조 후 잔류하는 유당의 대사로서 시작되는 lactic acid 및 citric acid의 대사와 지방 및 단백질의 가수분해로 크게 구분된다. 숙성기간 중 lactic acid의 대사는 일정량의 *Pr. freudenreichii*를 첨가한 에멘탈치즈의 품질향상과 치즈 눈의 생성에 관여하며, *Pr. freudenreichii*의 첨가는 온숙성 기간(hot-room step of ripening) 중 lactic acid로부터 propionic acid, acetic acid, CO₂ 및 H₂O를 생성한다(Piveteau, 1999). Starter culture의 성장에 의하여 생성된 lactic acid는 에멘탈치즈의 숙성 기간 중 발생하는 주요 반응들에 있어서 기질로서 작용하며, starter lactobacilli와 non starter culture lactic acid bacteria(NSLAB) 또는 L-lactate의 racemization에 의해 유당으로부터 직접적으로 D-lactate를 생성한다. L-lactate의 racemization은 NSLAB

*Corresponding author: Myoung Soo Nam, Laboratory of Milk Food Biochemistry and Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea. Tel: 82-42-821-5782, Fax: 82-42-823-2766, E-mail: namsoo@cnu.ac.kr

flora에 많은 영향을 받게 되며, 이러한 대사(propionate와 other acids)과정을 통해 생성된 물질들은 치즈의 관능, 이취생성 등에 중요한 역할을 한다(Beresford and Williams, 2004; Chamba, 1982; Choi *et al.*, 1997). 지방분해는 에멘탈치즈의 숙성 중 발생하는 중요한 생화학적 현상이며 발생원으로는 원유 내 잠재적인 indigenous lipase, lipoprotein lipase(LPL), rennet paste 및 치즈 내 균총 등이 대표적이다(Beuvier and Buchin, 2004). 따라서 치즈의 숙성 중 지방분해는 지방분해효소의 존재에 의하여 triacylglyceride의 ester 결합으로부터 유리지방산(free fatty acids, FFAs)과 mono 및 diglyceride를 생성한다. 이러한 유리지방산은 치즈의 풍미를 형성하는 방향성 물질 생성에 직접적인 전구물질로서 매우 중요하며, 특히 단쇄 및 중쇄 지방산이 큰 영향을 주게 된다(Urbach, 1993). 숙성 중 지방분해는 모든 치즈에서 발생하지만 특히 이탈리아형의 경성 치즈 및 블루치즈 등에서 가장 강하게 발생하는 반면 에멘탈, 체다 및 고다 치즈 등에서는 약하게 발생하며 안정적인 숙성에 기여한다(Collins *et al.*, 2003; Palles *et al.*, 1998). 본 연구에서는 국내 목장에서 집유된 원유를 사용하여 제조된 에멘탈치즈의 각 숙성 단계별 유기산의 함량 변화를 분석하여 숙성 중 일어나는 lactic acid 발효 및 PAB에 의한 propionic acid 발효 특성 및 유기산 조성변화를 확인하였다. 또한 에멘탈치즈의 숙성기간 중 지방의 가수분해를 확인하였으며, 에멘탈치즈 숙성기간 중 유기산 및 유리지방산의 변화를 구멍코자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

에멘탈치즈의 제조에 사용한 원유는 서울우유 안산공장에서 공급받아 사용하였다. 치즈 제조에 사용된 starter culture(*Streptococcus* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* 및 propionic culture)와 rennet은 Chr. Hansens A/S(Denmark)에서 공급받았으며, starter culture는 동결건조된 단일 균주로 공급받아 사용하였다. 분석 대상 유기산인 propionic acid, lactic acid, acetic acid, formic acid, citric acid 및 유리지방산의 정량을 위한 지방산 표준품은 모두 순도 90% 이상의 분석용 표준품을 Sigma-Aldrich(USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외에 전처리 과정 및 분석에 사용된 시약은 모두 잔류분석용이나 특급시약을 사용하였다.

치즈 제조

치즈는 각각 원유 70 kg을 사용하여 파일렛 규모로 PAB 접종균과 PAB를 접종하지 않은 균으로 나누어 제조하였다. 분석에 사용된 치즈 시료는 분석 일정에 따라 절단한 후 개별 진공 포장하여 초저온 냉동고(-80°C)에 보관하여

사용하였다. 원유(70 kg)의 열처리는 68°C에서 15초간 살균하였고, 32°C 치즈베트에서 *Streptococcus* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, propionic culture를 각각 0.015 g/kg, 0.001 g/kg, 0.004 g/kg의 농도로 스타터를 접종하였으며, 0.005-0.01% 범위의 산도 증가를 기준으로 약 60분간 정치하였다. 멸균된 증류수에 10배의 농도로 희석된 렌넷은 0.25 mL/kg의 농도로 첨가하였으며, 45분간 약하게 교반하여 에멘탈치즈 커드를 제조하였다. 제조된 커드는 3-5 mm 큐브 크기로 절단하여 30분 동안 53°C까지 가온한 다음 30분간 교반하였다. 최종적으로 교반이 끝난 커드는 50°C에서 몰드하여 25°C에서 0.4 kPa의 압력으로 16시간 동안 압착하였다. 압착 후의 pH는 5.3이 되도록 조정하였다. 몰드에서 분리된 커드는 10°C에서 6시간 동안 염지하여 에멘탈치즈를 제조하였다. 제조된 에멘탈치즈는 12°C, 80% R.H. 조건의 항온항습기에서 14일간 저온 예비숙성(cold room storage)과정을 거친 후 치즈는 생성을 위해 23°C, 80% R.H. 조건의 항온항습기에서 42일간 온숙성(hot room storage)하였다. 이 후 4°C 항온항습기에서 32일간 저장하여 숙성기간은 총 90일로 하였다. 분석을 위한 시료의 채취는 치즈 압착 후(1일), 염지 후(2일), 저온 숙성 종료 후(16일), 온숙성 3주차(37일), 온숙성 종료 후(58일) 및 냉장저장 32일 후(90일)에 각각 실시하였다.

일반성분 분석

에멘탈치즈의 수분, 조지방 및 조단백질 함량 분석은 시료별 3회 반복 실험하였으며, 식품공전(2010)의 일반성분 시험법에 따라 수행하였다.

유기산 분석

Propionic acid는 GC-FID(Agilent, USA) 및 FFAP column (50 mm×0.25 mm, 0.25 µm, Agilent, USA)을 이용하여 분석하였다. 주입구와 검출기의 온도는 각각 240°C와 250°C이며, carrier gas는 질소를 사용하였고 유속은 1.0 mL/min으로 하고, 시료는 1.0 µL를 주입한 다음 split ratio를 1:20으로 하였다. 오븐온도는 초기온도 60°C에서 2분간 유지한 후 40°C/min로 250°C까지 승온시켜 8분 동안 유지하여 분석하였다. 분석을 위한 전처리는 치즈 시료 30 g을 증류용 수기에 정확히 칭량하고 NaCl 80 g, D.W. 200 mL, 15% tartaric acid 5 mL 첨가하여 유액을 1.0% NaOH 수용액에 포집하여 250 mL 증류하였다. 증류한 유액 100 mL을 취하여 NaCl 10 g, 인산 1.0 mL 및 내부표준용액(crotonic acid) 1.0 mL를 가하여 에테르 50 mL로 2회 추출하였다. 추출액은 sodium sulfate anhydrate로 탈수여과하고 40°C 이하에서 감압농축 후 아세톤을 가하여 최종부피가 10 mL이 되도록 하였다. 이를 0.45 µm 필터로 여과한 것을 시험용액으로 하였다. 그 외 4종의 유기산(lactic, acetic, formic 및 citric acid)은 HPLC-PDA(Waters Alliance,

USA) 및 Aminex HPX-87H column(300 × 7.8 mm, Bio-Rad, USA)을 이용하여 분석하였다. 이동상으로써 0.009 N H₂SO₄를 0.6 mL/min 유속 및 UV 210 nm에서 분리 분석하였다. 분석된 성분은 표준물질의 분석 데이터와 spectrum 등을 비교하여 확인하였다. 분석을 위한 시료의 전처리는 치즈 시료 5 g을 conical tube에 정확히 칭량하고 3% 메타인산 25 mL로 추출하였다. 추출액은 원심분리(3,000 g, 10 min) 후 0.45 µm 필터로 여과한 것을 시험용액으로 사용하였다. 모든 분석은 정확성을 높이기 위하여 매회차 실험 시료에 Quality Control(QC)시료를 포함한 그룹을 만들어 함께 분석하였다.

유리지방산 분석

에멘탈치즈의 숙성 중 지방분해를 확인하기 위한 유리지방산(free fatty acids, FFAs) 분석은 Agilent model 6890 GC-FID에 FFAP column(50 mm×0.25 mm, 0.25 µm, Agilent, USA)을 장착하여 분석하였다. Carrier nitrogen gas의 유속은 2 mL/min이었으며, 오븐온도는 최초 65°C에서 분당 10°C의 속도로 240°C까지 승온시켜 분석하였다. 검출기의 온도는 250°C이었으며, 주입구의 온도는 260°C로 조정하여 사용하였다. 유리지방산 분석을 위한 전처리는 균질화된 치즈시료 1 g을 칭량한 후 3 g anhydrous Na₂SO₄와 0.3 mL H₂SO₄(2.5 mol/L) 및 1.0 mL 내부표준물질 용액을 첨가하였다. 내부표준물질은 enanthic acid(C_{7:0})와 margaric acid(C_{17:0})를 사용하였다. 혼합액은 3 mL의 ether/heptanes(1:1, v/v) solution으로 추출하여 2,500 g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 추출은 3회 반복하여 합한 다음 유리지방산을 분리하였다. 유리지방산의 분리는 Anion-Exchange method를 사용하였다. Aminopropyl columns(500 mg 6 mL⁻¹, Waters, USA)은 10 mL의 heptane으로 활성화시켜 사용하였다. 추출액의 중성지질을 제거하기 위하여 10 mL의 chloroform/2-propanol(2:1, v/v)으로 용출시켰으며, 2% formic acid가 포함된 diethyl ether로 2.5 mL로 용출한 것을 최종 시험용액으로 하였다. 최종 시험용액은 1 µL 주입하여 유리지방산을 정량하였다.

통계처리

본 연구에서 실시한 모든 분석은 3회 반복하였고 결과값은 평균± 표준편차로서 표기하였다. 분석 결과간의 차이는 SAS Statistical Software를 사용하였다. 유의적 차이는 Duncan's multiple range tests에 의해 검증하였다($p < 0.05$).

결과 및 고찰

일반성분

에멘탈치즈의 숙성기간 중 일반성분 함량 변화는 Table

1과 Table 2에 나타내었다. 총 고형분은 제조 직후 59.23%이었으며 숙성 90일에 61.8%로 약간 증가하였다. 유지방 및 조단백질 함량 분석 결과 숙성기간 중 유의적인 변화는 없는 것으로 나타났다. 대조군으로 PAB를 첨가하지 않은 시료의 경우에도 숙성기간 중 에멘탈치즈와 동일한 경향의 일반성분 함량 변화를 나타내었다.

유기산 함량

본 연구에서는 에멘탈치즈를 제조하여 각 숙성 단계별 propionic acid를 포함한 유기산의 함량 변화를 분석하여 숙성 중 일어나는 유산 발효 및 PAB에 의한 propionic acid 발효를 확인하고 천연 유래 propionic acid 함량을 조사하였다. 숙성 단계별 치즈시료 내 유기산의 분석결과는 Fig. 1에 나타내었다. 에멘탈치즈의 유기산분석은 제조과정 중 커드 압착(16 h) 이후 실시하였다. 1차 분석결과 propionic acid는 0.01 g/kg이 생성되었으며, 대조군에서는 propionic acid가 생성되지 않았다. Propionic acid는 유산 발효가 종료된 후 14일간의 저온예비숙성(12°C, 80% R.H.) 기간 중 0.07 g/kg이 생성되었다. 이후 온숙성(23°C, 80% R.H.)이 시작되는 제조 후 14일째로부터 propionic acid는 급격한 생성의 증가를 보였으며, 온숙성(23°C, 80% R.H.)이 종료되는 58일에 그 함량이 6.11 g/kg으로서 170배 이상 증가한 것을 확인하였다. Frohlich-Wyder 등(2002)과 Rychlik 등(1997)은 에멘탈치즈의 6개월 숙성 후 각각 4.45 g/kg 및 6.56 g/kg의 propionic acid가 생성되었다고 보고하였으며, 이는 본 연구와 유사한 결과를 보여주었다. PAB를 첨가하지 않은 대조군은 온숙성(23°C, 80% R.H.)이 종료되는 시점에 0.08 g/kg의 propionic acid가 생성되었으며,

Table 1. Compositional concentrations during ripening of Emmental cheese

Composition (%)	1 d	16 d	58 d	90 d
Total solid	59.2 ^a ±0.10	62.0 ^b ±0.37	62.7 ^b ±0.14	61.8 ^c ±0.03
Fat	34.9 ^a ±0.06	35.1 ^b ±0.08	34.7 ^c ±0.19	34.7 ^c ±0.04
Protein	22.6 ^a ±0.05	22.4 ^b ±0.14	23.1 ^c ±0.06	22.6 ^a ±0.05

^{a-c}Mean in the same row with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Value are mean± SD (n = 3).

Table 2. Compositional concentrations during ripening of Emmental cheese made without PAB

Composition (%)	1 d	16 d	58 d	90 d
Total solid	56.9 ^a ±0.28	60.4 ^b ±0.37	61.6 ^c ±0.15	62.0 ^c ±0.07
Fat	33.1 ^a ±0.40	32.5 ^b ±0.40	33.6 ^c ±0.05	33.8 ^c ±0.14
Protein	21.8 ^a ±0.22	21.9 ^a ±0.39	22.7 ^b ±0.03	22.7 ^b ±0.05

^{a-c}Mean in the same row with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

Value are mean± SD (n = 3).

Fig. 1. Changes of five organic acids during ripening time of Emmental cheese.

PAB에 의한 propionic acid 발효가 진행된 에멘탈치즈와는 확연한 유의적 함량 차이를 보여주었다. 커드 압착 후 에멘탈치즈는 9.2 g/kg의 유산을 생성하였으며, 대조군으로 사용된 시료에서는 9.7 g/kg의 유산이 생성되었다. 에멘탈치즈에서 lactic acid는 propionic acid 발효 시점인 온숙성(23°C, 80% R.H.)과정에서 유의적인 감소가 나타났으며, 특히 온숙성 3주에서 온숙성 종료 시점(58일)까지 급격한 함량의 감소를 보여주었다. 분석 종료시점에 에멘탈치즈의 lactic acid 함량은 2.56 g/kg으로서 최초 생성된 lactic acid 함량과 비교하여 약 4배 가량 감소한 것을 확인하였다. 에멘탈치즈의 숙성에서 특히 온숙성(23°C, 80% R.H.) 기간 중 lactic acid의 함량은 급격히 감소한 반면 acetic acid의 함량은 유의적으로 증가하여, 최종 1.48 g/kg

의 acetic acid가 생성되었다. 이와는 다르게 PAB를 첨가하지 않은 대조군의 경우 숙성종료일(90일)에 lactic acid는 15.97 g/kg으로서 숙성기간 중 지속적인 함량의 증가를 나타내었으며, 숙성종료(90일) 후 아세트산의 함량은 0.25 g/kg으로서 에멘탈치즈와 비교하여 확연히 낮은 함량을 보여주었다. 따라서 에멘탈치즈에서 초기 생성된 lactic acid는 PAB에 의한 propionic acid 발효 기질로 사용되었으며, 이로부터 propionic acid 및 acetic acid가 생성된 것을 확인하였다. 에멘탈치즈의 formic acid 함량은 최초 0.91 g/kg이었으며, 숙성 종료시점(90일)에 그 함량이 0.75 g/kg으로 소량 감소한 것으로 나타났다. 대조군의 경우 최초 0.83 g/kg에서 숙성 종료시점(90일)에 0.86 g/kg으로서 유의적 함량 차이가 없는 것으로 나타났다. Califano와 Bevilacqua

(1999)는 에멘탈치즈의 숙성 중 *S. ssp. thermophilus*가 유산을 개미산으로 대사하고 이후 acetyl-CoA의 가역반응에 의해 함량이 감소한다고 보고하였다. 에멘탈치즈의 숙성 기간 중 citric acid는 최초 분석결과 3.96 g/kg이 생성되었다. Citric acid의 함량 변화는 온숙성(23°C, 80% R.H.) 기간 중 유의적인 감소를 보였으며, 온숙성(23°C, 80% R.H.) 3주차에 2.36 g/kg까지 감소하였다. 이후의 온숙성(23°C, 80% R.H.)기간 중에는 유의적인 함량 변화가 없었으며 숙성 종료시점(90일)에 2.53 g/kg으로서 미량 증가된 것을 확인하였다. 대조군의 경우 최초 분석결과 4.17 g/kg의 citric acid가 생성되었다. 이후 온숙성(23°C, 80% R.H.) 시작 40일경에 2.34 g/kg까지 감소하였으며 분석 종료시점(90일)의 함량은 2.59 g/kg으로서 에멘탈치즈와 동일한 형태의 변화를 나타내었다. Palles 등(1998)은 치즈의 숙성 기간 중 생성된 lactic acid는 스타터에 의해 대사되지 않으며, non starter culture bacteria(NSLAB) 중 citrate positive (Cit+)인 *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* 또는 *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* 등에 의하여 대사된다고 보고하였다. 따라서 본 연구결과에서 숙성 중 citric acid의 함량 변화는 치즈 내 자연적으로 존재하는 비 스타터 유산균의 대사에 영향을 받은 것으로 사료된다. 또한 숙성 중 formic acid 및 citric acid의 함량변화는 에멘탈 치즈와 대조군 모두 유사한 경향을 보였으며, lactic acid, acetic acid 및 propionic acid를 제외한 기타 유기산의 변화에는 PAB의 영향이 크지 않은 것으로 나타났다.

유리지방산 함량

숙성 단계별 치즈시료 내 개별 유리지방산의 함량은 Table 3과 Table 4에 나타내었으며, 유리된 개별 지방산의

특성을 확인하기 위하여 단쇄(C6:0-C8:0, SCFFA), 중쇄(C10:0-C12:0, MCFFA) 및 장쇄 유리지방산(C14:0-C18:2, LCFFA)으로 구분하여 나타내었다. 본 연구결과 에멘탈치즈의 숙성기간 중 유지방 함량에는 유의적 차이가 없었으나 숙성 과정 중 발생하는 지방분해에 의한 지방산의 조성은 변화하였다. 최초 커드 압착(16 h) 후 총 유리지방산(C6:0-C18:2)의 함량은 1,161.3 mg/kg이었다. 이후 에멘탈치즈의 총 유리지방산 함량은 저온숙성(12°C, 80% R.H.) 기간 동안 1,227.2 mg/kg으로 미량 증가하였다. 위 기간 중 SCFFA 및 MCFFA는 유의적인 함량 변화가 없었으며, LCFFA만이 증가한 것으로 나타났다. 반면에 온숙성(23°C, 80% R.H.)과정을 거치면서 급격한 유리지방산의 생성이 진행되었으며, 온숙성(23°C, 80% R.H.) 3주차에 총 유리지방산의 함량은 2,312.2 mg/kg으로 약 2배 이상 증가하였고, 온숙성(23°C, 80% R.H.)이 종료되는 57일에 5,542.0 mg/kg으로서 약 6배까지 증가한 것으로 나타났다. 숙성 종료 후 32일간의 저장기간 후 총 유리지방산의 함량은 6,628.2 mg/kg으로서 냉장 저장기간에도 지속적으로 지방의 가수분해가 진행된 것을 확인하였다. 개별 유리지방산의 변화 특성을 확인한 결과 저온숙성(12°C, 80% R.H.) 이후 온숙성(23°C, 80% R.H.) 기간 중 SCFFA는 16.3 mg/kg에서 116.1 mg/kg으로 MCFFA는 72.7 mg/kg에서 312.5 mg/kg으로 증가하였으며, LCFFA는 1,138.3 mg/kg에서 5,113.4mg/kg으로 증가한 것을 확인하였다. 에멘탈치즈가 숙성 중에 LCFFA가 가장 높은 비율을 차지하였으며, 이 중 palmitate(C16:0), stearate(C18:0) 및 oleate(C18:1)가 주요 지방산임을 보여주었다. Lopez 등(2006)은 에멘탈치즈가 숙성 중에 LCFFA의 증가율이 높았으며 특히, palmitate(C16:0), stearate(C18:0) 및 oleate(C18:1)의 함량이 높았다

Table 3. Concentrations of FFA in Emmental cheese

Fatty acid (mg/kg cheese)	1 d	2 d	16 d	37 d	58 d	90 d
C6:0	8.3 ^a ±0.2	9.2 ^a ±0.4	9.4 ^a ±0.6	23.3 ^b ±0.8	75.4 ^c ±3.4	78.4 ^c ±3.2
C8:0	6.8 ^a ±0.3	6.8 ^a ±0.5	6.8 ^a ±0.2	15.7 ^b ±0.3	40.7 ^c ±2.3	43.4 ^d ±2.0
C10:0	25.1 ^a ±0.5	25.6 ^a ±1.8	25.8 ^a ±0.7	41.9 ^b ±2.1	104.2 ^c ±5.5	117.6 ^d ±6.9
C12:0	42.5 ^a ±1.0	47.2 ^a ±6.3	46.8 ^a ±1.1	82.9 ^b ±5.1	208.3 ^c ±11.0	246.9 ^d ±14.0
C14:0	74.1 ^a ±3.9	70.0 ^a ±4.0	83.1 ^b ±1.0	184.9 ^c ±15.6	532.3 ^d ±26.2	653.2 ^e ±45.7
C16:0	509.5 ^a ±19.1	466.7 ^a ±36.1	562.2 ^a ±2.7	1019.1 ^b ±21.8	2628.8 ^c ±147.3	3094.4 ^d ±228.0
C18:0	215.9 ^a ±15.3	180.9 ^a ±15.3	205.0 ^a ±6.2	314.7 ^b ±6.5	674.8 ^c ±35.9	778.1 ^d ±11.1
C18:1	235.6 ^a ±29.6	203.0 ^a ±29.6	248.6 ^a ±3.5	567.2 ^b ±24.7	1177.4 ^c ±56.0	1485.7 ^d ±23.3
C18:2	43.5 ^a ±2.2	35.9 ^a ±2.2	39.5 ^a ±1.0	62.4 ^b ±0.8	100.1 ^c ±6.7	130.3 ^d ±3.6
SCFFA	15.2 ^a ±4.3	16.0 ^a ±4.9	16.3 ^a ±4.7	39.1 ^b ±12.1	116.1 ^c ±38.4	121.8 ^d ±39.6
MCFFA	67.6 ^a ±1.5	72.8 ^a ±8.0	72.7 ^a ±1.2	124.8 ^b ±7.2	312.5 ^c ±16.4	364.6 ^d ±20.9
LCFFA	1078.5 ^a ±48.2	956.5 ^a ±86.7	1138.3 ^a ±3.8	2148.3 ^b ±63.5	5113.4 ^c ±263.0	6141.8 ^d ±299.5
Total FFA	1161.3 ^a ±49.7	1045.3 ^a ±78.7	1227.2 ^a ±5.5	2634.2 ^b ±71.2	5542.0 ^c ±280.4	6628.2 ^d ±320.2

^{a-e}Mean in the same row with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

Value are mean±SD (n = 3).

SCFFA = Short-chain FFA(sum of C6:0 to C8:0); MCFFA = medium-chain FFA(sum of C10:0 to C12:0); LCFFA = long-chain FFA(sum of C14:0 to C18:2); Total FFA (sum of C4:0 to C18:2)

Table 4. Concentrations of FFA in Emmental cheese made without PAB

Fatty acid (mg/kg cheese)	1 d	2 d	16 d	37 d	58 d	90 d
C6:0	8.7 ^a ±0.8	8.2 ^a ±0.5	8.9 ^a ±0.1	10.8 ^b ±0.5	13.6 ^c ±0.4	13.8 ^c ±0.1
C8:0	6.9 ^a ±0.8	6.9 ^a ±0.1	7.3 ^{ab} ±0.3	8.0 ^b ±0.4	8.8 ^c ±0.2	9.1 ^c ±0.1
C10:0	30.8 ^a ±0.9	27.1 ^a ±0.7	28.0 ^a ±0.7	29.4 ^a ±0.9	30.9 ^a ±0.4	31.5 ^a ±0.5
C12:0	40.9 ^a ±0.9	43.2 ^b ±2.3	45.0 ^b ±0.2	49.5 ^c ±1.5	53.0 ^d ±1.0	54.8 ^d ±0.1
C14:0	68.6 ^a ±0.5	77.6 ^b ±3.8	85.6 ^c ±2.2	100.1 ^d ±6.3	114.6 ^e ±2.0	117.9 ^e ±2.0
C16:0	470.2 ^a ±2.2	522.2 ^b ±7.1	572.4 ^c ±10.8	631.7 ^d ±17.0	683.1 ^e ±6.0	688.9 ^e ±5.7
C18:0	195.2 ^a ±3.0	203.8 ^b ±2.9	222.0 ^c ±2.3	247.6 ^d ±9.4	265.2 ^e ±3.8	271.0 ^e ±10.9
C18:1	244.7 ^a ±1.8	253.2 ^b ±1.4	275.4 ^c ±5.6	305.8 ^d ±13.3	344.5 ^e ±10.6	352.7 ^e ±8.4
C18:2	41.3 ^a ±0.8	43.7 ^b ±0.1	45.4 ^b ±0.4	52.2 ^c ±2.0	60.8 ^d ±2.5	65.5 ^e ±4.1
SCFFA	15.5 ^a ±1.4	15.2 ^a ±0.5	16.2 ^a ±0.4	18.8 ^b ±0.8	22.4 ^c ±0.3	22.9 ^c ±0.03
MCFFA	71.7 ^a ±10.4	70.2 ^b ±2.6	72.9 ^c ±0.5	78.9 ^d ±2.4	83.9 ^e ±0.7	86.3 ^e ±0.4
LCFFA	1019.9 ^a ±1.6	1100.5 ^b ±5.8	1200.7 ^c ±18.3	1337.4 ^d ±42.9	1468.3 ^e ±23.2	1496.1 ^d ±14.8
Total FFA	1107.2 ^a ±10.1	1185.9 ^b ±8.2	1289.9 ^c ±17.8	1435.1 ^d ±45.5	1574.6 ^d ±23.1	1605.4 ^e ±14.4

^{a-c}Mean in the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$).

Value are mean±SD (n=3).

SCFFA = Short-chain FFA(sum of C6:0 to C8:0); MCFFA = medium-chain FFA(sum of C10:0 to C12:0); LCFFA = long-chain FFA(sum of C14:0 to C18:2); Total FFA(sum of C4:0 to C18:2)

고 보고하였는데, 이는 본 연구결과와 유사한 경향을 보였다. 에멘탈치즈의 제조에 첨가되는 PAB는 LAB에 비하여 약 10배 이상 지방분해 활성이 높은 것으로 알려져 있다(Dupuis, 1994; Piveteau, 1999). 따라서 숙성기간 중 PAB가 지방분해에 미치는 영향을 확인하기 위하여 PAB를 첨가하지 않은 대조군의 유리지방산 함량을 분석하여 비교하였다. 대조군은 커드 압착(16 h) 후 총 유리지방산의 함량이 1,107.2 mg/kg로서 PAB를 접종한 에멘탈치즈의 1,161.3 mg/kg과 유사한 함량을 나타내었다. 에멘탈치즈가 숙성기간의 경과 중 특히 온숙성(23°C, 80% R.H.) 기간 중 유리지방산함량이 급격하게 증가한 반면 대조군의 경우 매우 완만한 증가추이를 보여주었다. 숙성 종료시점인 90일에 대조군의 총 유리지방산 함량은 1,605.4 mg/kg으로서 숙성 1일째에 비해서 1.4배 증가한 것으로 나타났다. 이는 종료시점(90일)에 에멘탈치즈의 총 유리지방산 함량인 6,628.2 mg/kg과 비교하여 5.7배의 차이를 보여주었다. 따라서 본 연구에서 제조된 에멘탈치즈는 PAB가 에멘탈치즈의 숙성 중 지방의 분해에 중요한 영향을 미치는 것을 확인하였다. 또한 냉장저장 중 대조군의 총 유리지방산 함량은 에멘탈치즈와 마찬가지로 1,605.4 mg/kg까지 미량 증가한 것을 확인하였다. 적절한 지방분해로 인한 유리지방산의 생성은 에멘탈치즈의 숙성 중 ketone, lactone, ester, aldehyde 등과 같은 방향성 물질생성의 전구물질로서 풍미 등에 많은 기여를 하게 되지만 지나친 지방분해는 이상취의 생성으로 치즈품질에 부정적인 영향을 주게 된다(Collins *et al.*, 2003; McSweeney and Sousa, 2000). Lopez 등(2006)은 에멘탈치즈의 숙성기간 동안 13,356 mg/kg의 총 유리지방산 함량을 보고하였으며, Chamba와

Perreard(2002)는 숙성된 에멘탈치즈에서 2-7 g/kg 범위의 유리지방산 함량을 보고하였다. 따라서 본 연구결과는 비교적 적은 지방분해를 보여주었으며, 향후 본 연구를 토대로 숙성 단계별 지방의 분해에 따른 방향물질의 생성과 조성이 관능에 미치는 영향에 관련한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 파일럿 스케일의 에멘탈치즈를 제조하였으며, 치즈제조 과정에서 PAB를 첨가하지 않은 치즈를 대조군으로 사용하여 숙성 중 lactic acid의 대사와 지방의 가수분해에 의한 화학적 변화를 연구하였다. 실험결과 에멘탈치즈의 숙성 중 lactic acid는 최초 9.39 g/kg에서 숙성종료(90일)까지 2.56 g/kg으로 감소하였으며, 1.48 g/kg의 acetic acid와 6.11 g/kg의 propionic acid를 생성하였다. 반면 대조군은 숙성 종료일(90일)에 lactic acid의 함량이 15.96 g/kg까지 증가하였으며, acetic acid와 propionic acid는 각각 0.25 g/kg과 0.09 g/kg이 생성됨에 따라 에멘탈치즈가 숙성 중 PAB에 의한 propionic acid 발효특성을 확인하였다. 숙성 중 유리지방산 분석 결과 숙성 종료일(90일)에 에멘탈치즈의 총 유리지방산 함량은 6,628.2 mg/kg이었으며, 대조군의 총 유리지방산 함량은 1,605.4 mg/kg으로서 에멘탈치즈에 사용된 PAB가 높은 지방분해력을 보였다. 또한 에멘탈치즈에서 유리된 지방산의 조성은 숙성 중 LCFFA(C14:0-C18:2)가 높은 비율을 차지 하였으며, 이 중 palmitate(C16:0), stearate(C18:0) 및 oleate(C18:1)가 주요 지방산이었다.

참고문헌

1. Beresford, T. and Williams, A. (2004) The microbiology of cheese ripening. In: Cheese: Chemistry, physics and microbiology. 3rd ed, General Aspects. Vol. 1. Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., and Guinee, T. P. (eds) Elsevier, Academic Press, London, UK, pp. 287-318.
2. Beuvier, E. and Buchin, S. (2004) Raw milk cheese. In: Cheese: Chemistry, physics and microbiology. 3rd ed, General Aspects. Vol. 1. Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., and Guinee, T. P. (eds) Elsevier, Academic Press, London, UK, pp. 319-345.
3. Califano, A. N. and Bevilacqua, A. E. (1999) Freezing low moisture Mozzarella cheese: changes in organic acid. *Food Chem.* **64**, 193-198.
4. Chamba, J. F. (1982) Le salage de l'Emmental. PhD thesis, Université de Lorraine, France, p. 211.
5. Chamba, J. F. and Perreard, E. (2002) Contribution of propionic acid bacteria to lipolysis of Emmental cheese. *Lait* **82**, 33-44.
6. Choi, J. Y., Lee, T. S., Park, S. O., and Noh, B. S. (1997) Changes of volatile flavour compounds in traditional kochujang during fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 745-751.
7. Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., and Wilkinson, M. G. (2003) Evidence for a relationship between autolysis of starter bacteria and lipolysis in Cheddar cheese. *J. Dairy Res.* **70**, 105-113.
8. Dupuis, C. (1994) Activités protéolytiques et lipolytiques des bactéries propioniques laitières. Thèse de doctorat n° 9420, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes.
9. Frohlich-Wyder, M. T., Bachmann, H. P., and Casey, M. G. (2002) Interaction between propionic bacteria and starter / non-starter lactic acid bacteria in Swiss-type cheeses. *Lait* **82**, 1-15.
10. Fox, P. F., Law, J., McSweeney, P. L. H., and Wallace, J. (1993) Biochemistry of cheese ripening. In: Cheese: Chemistry, physics and microbiology. 2nd ed, General Aspects, Vol 1. Fox, P. F. (ed) Chapman & Hall, London, UK, pp. 389-438.
11. Lopez, C., Maillard, M. B., and Bion, V. B. (2006) Lipolysis during ripening of Emmental cheese considering. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 5855-5867.
12. McSweeney, P. L. H. and Sousa, M. J. (2000) Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening. *Lait* **80**, 293-324.
13. Palles, T., Beresford, T., Condon, S., and Cogan, T. M. (1998) Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.* **85**, 147-154.
14. Piveteau, P. (1999) Metabolism of lactate and sugars by dairy propionic bacteria; a review. *Lait* **79**, 23-27.
15. Rychlik, M., Warmke, R., and Grosch, W. (1997) Ripening of Emmental cheese wrapped in foil with and without addition of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. III. Analysis of character impact flavor compounds, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **30**, 471-478.
16. Urbach, G. (1993) Relations between cheese flavor and chemical composition. *Int. Dairy J.* **3**, 389-422.
17. 식품공전 (2010) 제10. 일반시험법 1. 식품성분시험법. 1.1 일반성분시험법.

(Received 2011.10.7/Revised 2011.11.10/Accepted 2011.11.16)