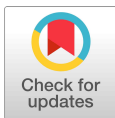


ARTICLE

가공용 체다 치즈의 보관 기간 변화가 최종 가공치즈의 조직학적 품질에 미치는 영향

김현진¹ · 김세현^{1,2*}¹고려대학교 대학원 융합생명공학과²고려대학교 생명자원연구소

Effects of Storage Duration Variation in Cheddar Cheese for Processing on the Textural Quality of Finished Processed Cheese

Hyun-Jin Kim¹, Sae-Hun Kim^{1,2*}¹Department of Biotechnology, Korea University Graduate School, Seoul, Korea²Institute of Life Sciences and Natural Resources, Korea University, Seoul, Korea

Received: April 21, 2025

Revised: April 23, 2025

Accepted: April 25, 2025

*Corresponding author :

Sae-Hun Kim

Department of Biotechnology, Korea University Graduate School, Seoul, Korea

Tel : +82-2-3290-3055

E-mail : saehkim@korea.ac.kr

Copyright © 2025 Korean Society of Dairy Science and Biotechnology.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Hyun Jin Kim

<https://orcid.org/0009-0004-8308-5501>

Sae-Hun Kim

<https://orcid.org/0000-0002-0990-2268>

Abstract

The degree of ripening during the storage of natural cheese used as a raw material significantly affects the biochemical properties of the cheese and, consequently, the microbiological and physical characteristics of the final product which is a processed cheese. This study aimed to contribute to the quality standardization of processed cheese by identifying and controlling key factors influencing textural stability, a major concern in the cheese manufacturing industry. To this end, microbiological and physicochemical changes were monitored in three types of Cheddar cheese over a storage period of 1 to 9 months. Among the various parameters examined, lactic acid bacteria (LAB) counts and intact casein (IC) levels were identified as the most influential factors affecting the texture of the processed cheese produced from the stored raw cheeses. Based on the results, it was concluded that natural cheese should be used within the period during which the LAB count remains above 10^2 CFU/g in order to ensure desirable texture and quality in the final processed product.

Keywords

processed cheese manufacturing, natural cheese ripening, *Lactococcus lactis*, proteolysis, casein

서론

자연치즈는 우유 단백질이 응고·수축되어 형성된 커드가 숙성 과정에서 미생물 및 효소 반응을 거치며 풍미, 질감, 기능성이 발달하는 대표적인 발효식품이다. 커드 형성의 핵심은 pH 4.6 부근의 등전점에서 카제인이 침전·응결하여 불용성 Ca-파라카제인 네트워크를 이루는 단계이며, 이후 잔류 락토스 및 시트르산의 발효, 단백질 및 지방 분해가 연속적으로 진행된다[1]. 치즈 커드 형성 이후의 산 생성과 단백질 분해 과정은 렌넷 커드의 구조적 특성에 영향을 미친다. 특히 인산 콜로이드가 pH 5.0에 가까워질수록 용해되고, 마이셀 구조는 소멸되며, 등전 조건(pH 4.5-5.0)에 도달한 카제인은 시너지 작용으로 수축되어 유청을 방출한다[2].

이러한 숙성과정에서는 물리화학적 변화가 동반되며, 그 주요 경로는 (1) 잔류 락토스, 락테이트, 시트르산의 대사, (2) 단백질 분해, (3) 지방 분해의 세 가지로 요약될 수 있다[3]. 젖산균(lactic acid

bacteria, LAB)은 락토스를 젖산으로 대사하며, 생성된 젖산은 비스타터 젖산균(non-starter LAB, NSLAB)에 의해 아세트산과 CO₂ 등으로 추가 전환된다[4]. 젖산은 경우에 따라 스위스 치즈에서처럼 *Propionibacterium* sp.에 의해 프로피온산, 아세트산, H₂O 및 CO₂로 대사되거나, *Penicillium* sp.에 의해 단순히 CO₂와 H₂O로 전환되기도 한다[5]. 숙성기간은 단백질 분해 정도에 영향을 미치며, 숙성이 진행 될수록 단백질 분해가 심화되어 치즈의 조직은 연성보다는 취성을 띠게 된다[6]. 또한 숙성 기간의 증가는 β -casein의 특정 부위(C 말단 부위의 84-89, 193-209)에서 유래된 펩타이드에 의해 쓴맛을 유발하기도 한다[7]. 치즈 종류에 따라 단백질 분해의 양상은 다르게 나타나는데, 모짜렐라 치즈는 제한된 단백질 분해, 체다 및 고다치즈는 중간 수준의 단백질 분해, 블루치즈는 광범위한 단백질 분해가 특징적이다[8].

이렇듯 치즈 숙성은 미생물 및 효소의 작용에 의해 다양한 물리화학적 변화가 일어나며, 이는 풍미 및 생리활성 성분뿐만 아니라 물성에도 영향을 미친다. 특히 단백질 분해로 인한 조직 변화는 점도, 탄성 등 물리적 특성과 직결되므로, 유산균 수, intact casein(IC), 지방, 수분, pH 등의 이화학적 지표들을 정기적으로 측정해 그 변화 추이를 파악하는 것이 중요하다[9].

국내 가공치즈 산업에서는 대게 체다나 모짜렐라와 같은 자연치즈를 블록 형태(10-25 kg)로 수입하여 주원료로 사용하고 있다. 그러나 입고 후 3-10개월간 창고 보관 중 진행되는 숙성 과정을 체계적으로 통제하지 못해 점도 및 탄성 불량, 층 분리, 색 및 풍미의 이상과 같은 품질 결함이 빈번하게 발생하고 있다. 숙성이 과도할 경우 IC 값이 급감하면서 유화제 투입량이 과잉되거나 불균형해지고, 반대로 숙성이 미흡할 경우 Ca-카제인 결합이 견고하게 유지되어 점도가 과도하게 상승하는 문제가 발생한다. 그럼에도 불구하고 기존 국내의 연구들은 주로 제조 공정 중 단기 숙성 변화에 국한되어 있으며, 장기 보관 중 자연치즈의 미생물 및 물리화학적 특성 변화와 가공치즈 품질 간의 상관성을 포괄적으로 다룬 사례는 드문 실정이다.

본 연구는 다음 세 가지를 목적으로 한다. 첫째, 일반적인 보관 기간(1-9개월) 동안 체다치즈의 미생물(plate count agar[PCA], lactic acid bacteria[LAB], yeasts and moulds [YM]) 및 이화학적 지표(IC, 지방, 수분, pH, proteolysis) 변화를 2주 간격으로 추적·분석한다. 둘째, 숙성 단계별 원료 치즈를 활용하여 제조한 가공치즈의 Texture 특성을 계측 및 관능 평가함으로써 핵심 품질 결정 인자를 규명한다. 셋째, IC 임계치를 도출하고 이에 따른 유화제 및 안정제의 적정 보정 범위를 제시함으로써, 가공치즈 제조 시 원료 치즈의 숙성도를 과학적으로 관리·표준화할 수 있는 실용적 근거를 마련하고자 한다. 이를 통해 본 연구는 국내 가공치즈 산업이 직면한 물성 불안정 문제를 해소하고, 일관된 품질 확보를 위한 최적 숙성 관리 지침 마련에 기여할 것으로 기대된다.

재료 및 방법

1. 시료 선택 기준 및 실험 항목

원료용 자연치즈의 보관 중 숙성기간에 따른 각 항목별 실험은 2주 단위로 총 9개월 동안 실시하였다. 시료는 국내 가공치즈 회사에서 가장 많이 원료로 사용하는 체다치즈로 선정하였고, 실험값의 유의성을 높이기 위해 미국산 2종과 뉴질랜드산 1종을 선택하여, 총 3종의 체다치즈를 대상으로 실험을 진행하였다. 3종의 체다치즈는 공히 23년 8월에 생산한 제품이며, 유통기한은 제조일로부터 미국산은 12개월, 뉴질랜드산은 18개월이다. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*를 스타터로 사용하였으며, NSLAB는 사용하지 않았다. 3종의 시료는 현장에서 원료용 치즈를 보관하는 동일한 기준으로, 현장 창고에서 냉장, 10℃ 이하의 기준으로 보관하며 시료로 사용하였다.

2. 균수 측정

1) 유산균수

유산균수 측정 방법은 BCP(bromocresol purple) 첨가 평판측정용배지(식품의 기준 및 규격의 '배지 11')를 사용하여 유산균의 집락을 계수했다.

2) 세균수

세균수 측정 방법은 '식품의 기준 및 규격, 식약처 고시' 4.5.1 일반세균수 가. 표준평판법을 사용했다.

3) 진균수(효모 및 곰팡이)

진균수의 측정 방법은 '식품의 기준 및 규격, 식약처 고시' 4.5.1 일반세균수 가. 표준평판법을 사용했다. 다만, 배지는 포테이토 텍스트로오즈 한천배지(배지 12)를 사용하여 25℃에서 5-7일간 배양한 후 발생한 집락수를 계산하고 그 평균집락수에 희석배수를 곱하여 진균수로 측정했다.

4) 대장균군

대장균군 측정 방법은 '식품의 기준 및 규격, 식약처 고시' 4.3의 데스옥시콜레이트 유당한천 배지법을 활용하여 실험했다.

3. SCA(starch casein agar) 배지 활용 가수분해 정도 측정(정성)

당분해성 박테리아와 방선균의 정성 분석을 위해 전분 카제인 한천(starch casein agar, SCA)을 사용하였다. SCA 63 g을 정제수/증류수 1,000 mL에 현탁시킨 후, 분말이 완전히 녹을 때까지 가열한다. 이후 유효한 주기에 따라 121℃(15 psi)에서 15분간 오토클레이브하여 멸균한다. 마지막으로 잘 섞은 후 멸균된 펠트리디쉬에 붓고 3-5일간 35℃ 조건에서 배양한다.

4. 이화학적 지표 분석

1) 지방, 수분

지방과 수분 측정은 각각 제2장 일반시험법 2.1 조지방(총지방) 측정법과 제2장 일반시험법 2.2 상압건조가열법을 활용하였다.

2) IC(intact casein) 값

NIR 측정 설비를 활용, 샘플은 30 μ m ID, 91 cm 길이의 폴리에틸렌이민(positive) 코팅된 모세관에 압력을 가하여 주입되었다. NanoSpray® III 소스가 장착된 질량 분석기(TripleTOF® 5600, GoldPeg. Internation., Denmark)를 활용하였다.

3) pH, 염도

상용화된 일반 분석장비, 디지털 염도계(PAL-03S, METTLER TOLEDO, USA)를 활용하여 측정하였다.

5. 관능평가 방법

원료용 자연치즈의 숙성 기간별 주요 인자 측정과 병행하여, 해당 숙성 기간(6, 26, 36주)의 원료용 자연치즈를 사용하여 제조한 가공치즈를 대상으로 관능평가를 총 3회 진행하였다. 관능평가는 평가전 지침과 안내를 받은 패널 30명을 대상으로 수행하였으며, Fig. 1과 같이 상업용 센서리 분석 기관에서 통용되는 방법을 참조하여 9점 척도법을 기반으로 물성과 풍미에 대한 기호도 및 강도 수준을 평가하였다[10].

관능분석은 가공치즈 제조 후 익일에 일괄적으로 진행하였으며, SENSOTOOL R(Sensometrics, Germany) 소프트웨어를 사용하여 평가 결과를 수집하였다. 기호도 및 강도 평가 결과는 least significant difference(LSD) 다중비교 검정을 통해 95% 신뢰수준에서 통계적으로 분석하였다. 각 패널의 설문 내용은 ideal profile method(IPM) 방법으로 전문 관능분석 기관을 통해 통합 분석되었다.

6. 물성 및 강도 테스트

제품 물성(점도)과 강도는 디지털점도계(vt06 VT-06, RI ON, Japan)과 texture analyzer(CTX Texture Analyzer, Brookfield, USA)를 각각 활용하여 측정하였다.

7. NGS(next generation sequencing) 분석

원료용 자연치즈의 숙성 초기부터 9개월까지 보관 기간 동안 미생물 군집의 변화 양상을 종합적으로 확인하기 위해 차세대 염기서열 분석(next generation sequencing, NGS)을 수행하였다.

Processed Cheddar Block Cheese (Tillamook, 6w)

1 Read each statement carefully before starting.

2 Consider your own experiences with the product, rate how much each statement applies to you and circle the appropriate

3 Consider each statement separately without making comparisons and choose 2 or more responses.

1 Rate if the product for eating after fasting if it's fasting it (Dislike very much, like product) 2 Like it (thout flet the product for eating occasionally) 3 Like the product so a soda? 4 Like the chewy it? 5 Overall liking for eating a soda emotent 6 Dairy liking intensity and level of saltiness level? 7 Cheesy flavor intensity? 8 Age adequacy criterion 9 Fat: adequacy 10 Goodness if no ranking eatingly or 12 Good for: adequacy 13 Taste liking criterion 14 Goodness for male children	15 Do you prefer this level of sourness or stronger/weaker? 16 How is the perceived sharpness? 17 Is the cheese at this level of firmness? 18 Is this level perceived level of freshness? 19 Is this level of sweetness or stronger / weaker? 19 How strongly or weakly is this emotion ex. logged? - 22 How strongly or weakly is this emotion ex. logged? - 24 How strongly or weakly is this emotion ex. logged? 24 How strongly or weakly is this emotion ex. logged? 26 Do you prefer this level of bitterness or strong/weaker?	Sourness Preference Perceived sharpness Firmness preference Perceived sweetness Perceived sweetness Perceived sweetness Strength on your rutt 'Feeling' Bitterness Preference Bitterness Preference
--	---	---

Fig. 1. Items from the sensory evaluation questionnaire - PC (6w), processed cheese produced with 6 weeks ripened natural cheese.

Illumina사의 차세대 염기서열 분석(NGS) 장비인 MiSeq를 사용하여 16S rRNA V3-V4 영역의 염기서열 데이터를 생성하였다. 특히 sequencing-by-synthesis(SBS) 방식을 사용하여 고품질의 paired-end read 데이터를 제공받았다. 또한 16S rRNA 시퀀싱 데이터의 처리, 분류 및 시각화에 매우 널리 사용되는 QIIME 2 플랫폼을 통해 데이터 전처리와 시각화, 분석을 진행하였다.

DNA는 QIAGEN(USA)사의 DNeasy blood & tissue kit의 제조사 매뉴얼에 따라 추출하였으며, amplicon library 구축 및 시퀀싱을 위해 Herculase II Fusion DNA Polymerase와 Nextera XT Index Kit V2(Illumina, USA)를 사용하여 16S rRNA 분석용 amplicon library를 제작하였다. 16S rRNA 유전자의 분석에는 V3-V4 region을 타겟으로 사용하였다.

결과 및 고찰

체다치즈 3종에 대한 미생물학적 및 이화학적 주요 인자를 분석한 결과(Table 1), 숙성 과정에서 발생하는 생화학적 변화 간의 상관관계를 확인할 수 있었다. 각 인자별 변화 양상을 기반으로 숙성 시점을 구분하여 해당 시점의 원료 치즈를 사용해 가공치즈를 제조하고, 관능평가, 오븐 테스트, 점도 및 조직 강도 측정을 통해 최종 제품의 품질 변화를 평가하였다.

1. 원료용 체다치즈의 미생물학적 및 이화학적 특성

1) 자연치즈 숙성 중 유산균과 IC(intact casein) 상관관계

유의차가 확인한 인자는 유산균과 IC라고 볼 수 있다. 국내 가공치즈 회사에서 가장 일반적으로 사용하는 원료용 자연치즈인 체다치즈 3종에 대한 각 실험항목별 결과, 유의차가 확인한 인자는 유산균 수와 IC이며, 이는 보관 중 숙성기간 동안 자연치즈의 품질변화에 큰 영향을 준다고 판단하였다.

유산균과 IC 값을 포함한 모든 실험은 총 9개월간 2주 단위 실험을 진행하였다. 유산균수는 20~24주 사이에 시료 3종 모두 급격히 감소한 후, 이후 10^2 CFU/g 이하로 유지되는 경향을 보였다(Fig. 2). 한편 IC 값은 킬라묵치즈와 힐마치즈는 24주차부터, 폰테라 치즈는 26주차부터 감소수치가 크지 않게 되는 경향을 보였다(Fig. 3). 이에 따라 유산균수와 IC 값의 급격한 감소 구간이 유의미하게 일치하는 것을 확인할 수 있고, 유산균수가 10^2 CFU/g 이하로 잔존율이 매우 낮을 때, IC 값 역시 감소폭이 대폭 줄어들음을 확인하였다. 이를 통해 유산균은 단백질분해효소를 이용하여 카제인을 올리고펩타이드로 분해하게 되고, 이후 더 작은 펩타이드로 분해하는 과정에서, 카제인 단백질의 활성도를 의미하는 IC 값이 감소하게 됨을 추론할 수 있게 되었다.

유산균의 가장 중요한 용도는 다양한 발효유제품 제조에서 starter로서의 사용이다. 특히 *Streptococcus thermophilus*, *L. lactis*, *Lactobacillus helveticus*, 그리고 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactobacillus bulgaricus*는 아주 광범위하게 starter로서 사용되며, 우유발효가공에 있어서, 유산균의 단백질가수분해 시스템(proteolytic system)은 중요한 역할을 담당하는데, 그 것은 유산균들이 우유 내에서 성장하기 위한 수단이며, 그로 인해 성공적인 발효가 되기 때문이다. 유산균은 영양요구성(auxotrophy)의 특징을 지니고 있어 우유 내 질소의 원료로 아미노산이나 peptide가 충분하지 않기 때문에 외부로부터 이들을 공급받아야만 한다. 그리고 이러한 아미노산이나 peptide는 우유 단백질 중 가장 큰 비중을 차지하는 casein의 가수분해에 의해 유산균에 제공되어진다고 볼 수 있다[11].

2) 일반세균과 대장균군 측정 결과

일반세균과 대장균군은 6개월이 지나며 약간의 상승을 보이나, 이는 매우 극미량이며, 식품의 유

Table 1. Changes in microbiological and physicochemical properties of three Cheddar cheese samples during storage ripening (0–9 months)

Time (month)	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
(week)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36
Lactic acid bacteria (CFU/g)																		
Tillamook	7×10^7	5×10^7	5×10^7	2×10^6	2×10^6	5×10^5	3×10^4	2×10^4	2×10^4	7×10^3	2×10^3	<100	<100	<100	<10	<10	<10	<10
Hillmar	3×10^6	2×10^6	2×10^6	5×10^5	4×10^5	4×10^4	2×10^4	2×10^4	8×10^3	2×10^3	<100	<100	<100	<10	<10	<10	<10	<10
Fonterra	4×10^6	3×10^6	3×10^6	2×10^6	2×10^6	6×10^5	3×10^5	1×10^5	4×10^4	3×10^4	2×10^3	1×10^3	<100	<100	<100	<10	<10	<10
Plate count agar (total aerobic bacteria; CFU/g)																		
Tillamook	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<100	<100	<100
Hillmar	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<100	<100	<100	<100	<10
Fonterra	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<100	<100
Yeast and mold (CFU/g)																		
Tillamook	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<100	<10	<10
Hillmar	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<100	<10	<10	<10	<10
Fonterra	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Coliform bacteria (CFU/g)																		
Tillamook	0	0	0	0	0	0	0	0	<10	0	0	0	0	<10	0	0	0	0
Hillmar	0	0	0	0	0	<10	0	0	0	0	<10	<10	0	<10	0	0	0	0
Fonterra	0	0	0	0	0	0	0	<10	0	0	<10	0	0	0	0	0	<10	0
Fat content (%)																		
Tillamook	34.2	36.1	35.0	35.2	32.5	34.0	33.9	31.5	32.4	33.9	33.6	32.8	33.6	34.2	34.8	35.5	35.6	33.4
Hillmar	34.5	34.0	33.9	34.5	33.2	34.4	34.6	34.8	33.9	34.0	34.1	34.5	33.8	33.7	34.1	33.6	34.8	34.2
Fonterra	35.0	34.8	35.1	35.0	36.6	35.4	34.8	35.7	36.9	33.8	34.2	34.3	34.0	33.9	34.8	34.5	33.7	33.6
pH																		
Tillamook	5.01	5.10	5.11	5.09	5.08	5.12	5.15	5.09	5.05	5.05	5.11	5.19	5.02	5.00	4.98	5.05	5.10	5.08
Hillmar	5.19	5.20	5.25	5.15	5.12	5.14	5.21	5.23	5.20	5.10	5.11	5.20	5.21	5.25	5.20	5.05	5.09	5.11
Fonterra	5.10	5.08	5.00	5.09	5.15	5.10	5.14	5.15	5.00	5.09	5.04	5.06	5.11	5.12	5.18	5.20	5.15	5.12
Moisture content (%)																		
Tillamook	32.79	33.15	32.85	32.15	32.42	33.18	34.10	32.55	32.15	32.99	33.18	33.17	33.85	31.95	32.38	33.65	33.02	33.10
Hillmar	34.67	35.19	35.14	35.55	36.10	33.98	34.45	34.10	33.96	35.10	35.28	35.33	36.25	36.45	33.99	34.55	36.10	35.29
Fonterra	30.09	32.50	31.67	31.74	32.55	30.98	30.95	31.78	32.77	33.45	32.19	30.28	32.35	33.36	32.11	32.85	33.14	32.19
Intact casein (%)																		
Tillamook	23.59	23.12	22.76	22.36	21.94	21.61	21.75	21.42	21.18	20.57	20.29	19.98	19.93	19.82	19.77	19.60	19.46	19.34
Hillmar	22.36	22.14	22.14	21.80	21.35	20.57	20.57	20.21	19.86	19.34	19.03	18.85	18.78	18.67	18.60	18.56	18.54	18.42
Fonterra	22.24	22.06	21.86	21.57	21.39	20.97	20.68	20.64	20.24	19.64	19.33	18.95	18.77	18.59	18.50	18.37	18.24	18.19

통기한을 설정하는 근거인 부패 기준(일반세균: 10^5 CFU/g, 대장균군: 10^2 CFU/g)에 현저히 못미치는 수치이다. 원료용 자연치즈가 보관 중 온전한 실링 팩킹 상태를 유지하며, Haccp 기준에 준한 냉장 시설에서 보관되므로, 보관 중 숙성에 오염의 여지는 현저히 떨어지는 것으로 확인되며, 동시에 보관중 숙성기간 동안 영향을 미치는 인자가 아님을 확인했다.

3) 지방, pH, 수분, 염도 측정 결과

지방과 pH, 수분, 염도는 보관 중 숙성기간 동안 유의차가 없으며, 9개월간 보관된 원료용 자연치즈를 사용한 가공치즈 완제품의 조성비에 영향을 미치지 않음을 확인했다. 금번 실험기간인 9개월까치는 내인성 효소나 효모에 의한 지방 분해가 유의적으로 발생하지 않음을 확인했다(염도는 상기 표에 제시할 필요가 없을 정도로 유의차가 없었음).

4) 효모와 곰팡이 측정 결과

효모와 곰팡이는 측정은 최초-‘단백질 분해 및 지방 분해 활성 및 젖산 스타터 배양물과 생체 적합

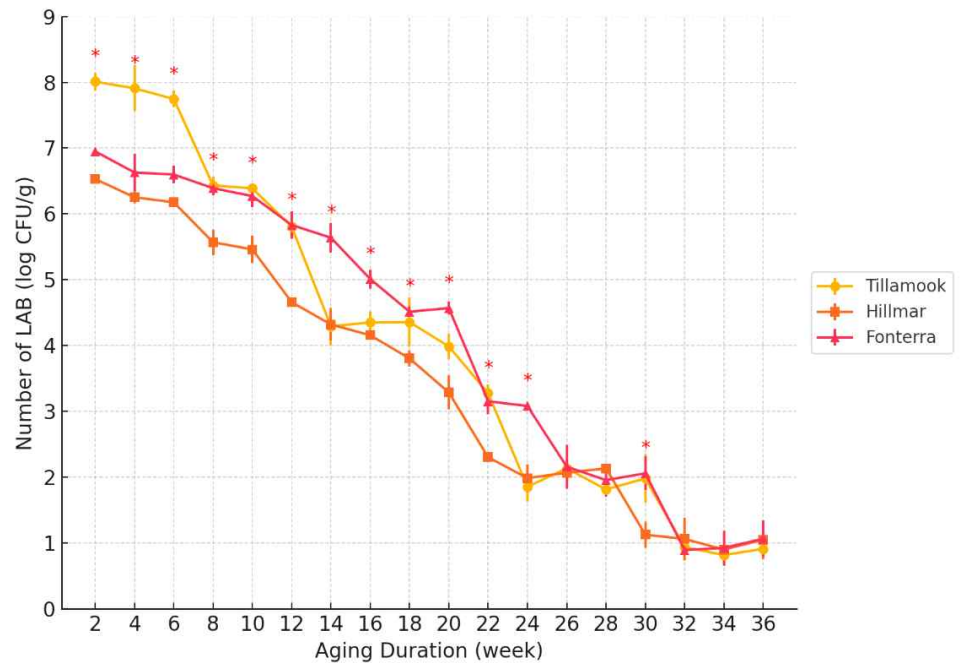


Fig. 2. Changes in LAB counts during aging. The number of LAB initially ranges from 10^6 to 10^7 levels, showing a decrease over time, and then drastically decreasing all samples to 10^2 levels at week 26. Data are shown as mean $\pm$ SD (n=3). * Asterisks indicate significant differences among groups at each time point based on one-way ANOVA ($p<0.05$). LAB, lactic acid bacteria; ANOVA, analysis of variance.

성에 기여한다'는 가설에 기초하여 측정을 하였다. 또한 체다와 같은 경성 치즈에는 최적의 풍미와 식감을 갖도록 긴 숙성을 포함하는 공정으로 고유의 단백질 분해 속도와 정도는 풍미 개발에 상당한 기여를 하고 있다. 그중 *Debaryomyces hansenii*와 *Yarrowia lipolytica*는 체다 치즈의 숙성 과정을 가속화하고 풍미 특성을 향상시킬 수 있다[12]. 하지만 관련 실험 결과를 인용하여 볼 때, *L. casei*와 *L. bulgaricus*를 시판된 유제품에서 분리배양하여 *D. hansenii*와 *S. fragilis*를 활용하여, 유산균과 효모에 대한 단독배양과 혼합배양 실시(BCP agar, YM agar 사용, 생균수와 산도변화 실험) 결과, 효모의 생육과 유산균의 관계가 영향이 없을 수도 있다고 확인됐다[13]. 금번 실험에서도 보관 중 숙성된 시료 효모와 곰팡이가 유의한 수준으로 측정되지 않아, 9개월차까지의 보관된 시료에는 숙성에 영향을 주는 요인이 없다고 판단한다. 상기 피력한 일반세균과 대장균군의 실험값과 같은 경향이며, 오염 수준에 있어서도 안전한 상태임을 간접적으로 확인할 수 있다.

5) SCA(starch casein agar) 배지 측정 결과

단백질 가수분해 정도를 정성분석 하기 위하여 사용한 SCA 배지 활용 실험은 Fig. 4와 같이 숙성 진행 동안 유의차를 확인하기에 매우 제한되어, 이번 실험에서 참조값으로 제외하였다. SCA 배지의 제원과 특성은 복합 탄수화물 공급원으로 전분을, 질소 공급원으로 카제인을 가지고 있으며, 단백질 가수분해 정도를 측정하는 배지로 생각하여 사용했다. 하지만 금번 실험에서는 숙성 정도에 따라 정성평가를 할 수 있는 유의차가 확인이 안되고, 육안으로 정성평가를 할 수 있는 객관적 근거가 매우 약하다고 추정하여, 금번 연구에서 참조할 만한 인자에서 제외시켰다.

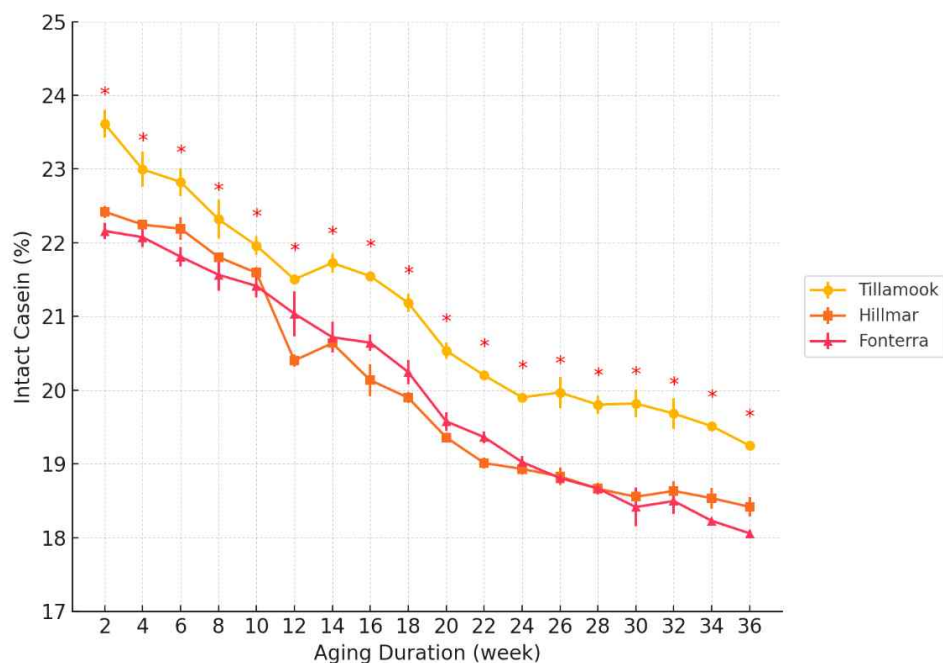


Fig. 3. Changes in value during aging. The IC value steadily decreases during the aging period during storage, and it can be seen that the decrease is gentle from the 24th to 26th weeks. The average of each sample, an average decrease of 15.26% compared to the initial IC value from the first to the 24th week, and an average decrease of 0.15% until the 36th week. After the 24th to 26th week, the decline becomes very gentle. Data are shown as mean±SD (n=3). * Asterisks indicate significant differences among groups at each time point based on one-way ANOVA ($p<0.05$). IC, intact casein; ANOVA, analysis of variance.

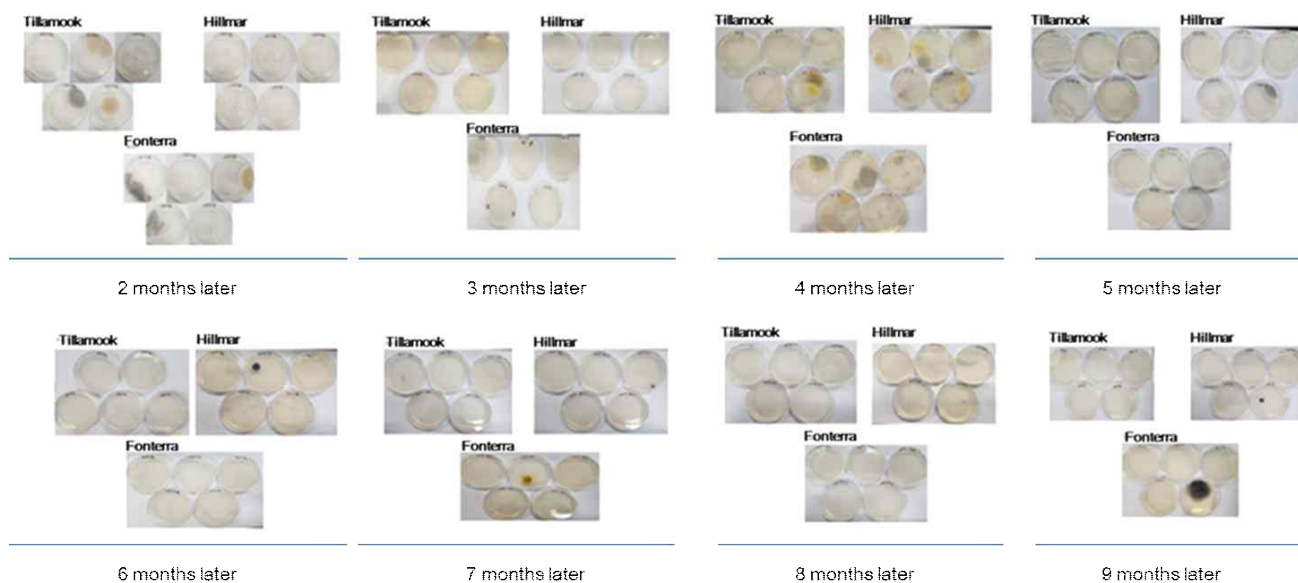


Fig. 4. Evaluation of the degree of proteolysis during cheese aging using SCA agar. It is difficult to confirm the significant difference according to the degree of proteolysis during aging through SCA medium, confirmation test results, and aging period, and the limitations of measurement through qualitative evaluation were also confirmed, so it was decided not to apply to the experimental results. SCA, starch casein agar.

6) NGS(next generation sequencing) 검사 결과

NGS를 활용한 미생물균총 변화(7.5개월 숙성 후의 치즈 내 미생물)를 참조할 때, 타 균총에 비해 LAB가 절대적 분포를 보임을 알 수 있다. Sequencing을 통해 얻은 raw data는 pre-processing 과정을 거치는데, Trim galore software를 사용하여 Q30 이하의 리드는 제거하였다. Greengenes DB를 사용한 16S의 taxonomy 분석 결과는 confidence cut off 70% 조건으로 실시하여, genus level에서 frequency Top20의 chart와 bar plot을 확인했다(Table 2, Fig. 5).

2. 완제품 가공치즈화 제조 테스트 결과

1) 보관 중 숙성기간에 따른 완제품 조직 및 기능 변화

보관 중 숙성기간중 주요 국면별 초, 중, 말 완제품(가공치즈) 테스트를 진행하였다. 이때, 3단계 phrase는 상기 주요인자별 실험값의 결과에 따라, '초'는 6주 경과시이며, young를 의미하며, '중'은 26주 경과 시이며, midium을 의미하고, '말'은 36주 경과시이며, mature로 구분되었다. 시료 중 국내외에서 가장 일반적인 원료치즈로 사용하는 폰테라 체다를 기준으로 완제품 가공 테스트를 진행하였다. 36주간 저장기간 동안 시료로 활용한 3개 치즈 브랜드는 모두 일정 수준의 유의차를 확인하여, 완제품 관능 테스트를 위한 시료는 가장 일반적으로 원료용 자연치즈로 사용하는 폰테라 체다치즈로 정하였다. 한편 해당 완제품은 폰테라 원료치즈를 사용한 체다블록치즈(체다 60% 투입, 가공치

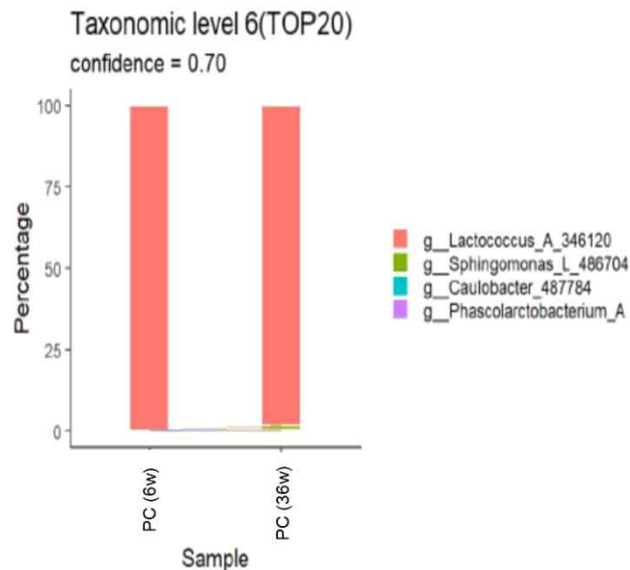


Fig. 5. Taxonomic level 6 bar plot.

Table 2. Taxonomic level 6 result

Variables	<i>Phascocarcto-bacterium</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Caulobacter</i>	<i>Sphingomonas</i>	Total
Frequency (%)					
PC (6w)	6	32,443.0	0.0	0.0	32,449
PC (36w)	0	14,677	57	210	14,944
Frequency (%)					
PC (6w)	0	100.0	0	0.0	100.0
PC (36w)	0	98.2	0.4	1.4	100.0

즈)이며, 앞서 확인한 주요 인자들의 보관 중 숙성도에 영향을 주는 지점으로 판단한 6주차와 26, 36주차의 원료들로 샘플링하여 완제품을 제조하였다. 6주차 샘플링 원료 사용 완제품은 *PC(6w)*-Processed Cheese produced with 6 weeks ripened natural cheese-로, 26주차와 36주차 샘플링 원료 사용 완제품은 각각 *PC(26w)*-Processed Cheese produced with 26 weeks ripened natural cheese-와 *PC(36w)*-Processed Cheese produced with 36 weeks ripened natural cheese-로 명명하였다.

Fig. 6과 같이 완제품의 단면이 숙성이 과한 치즈일수록, 조직이 무너지며 단면이 매끄럽지 못하고, 공정중 균질이나 진공투입 작업이 더 오랜 시간 요구됨을 확인할 수 있었다. 이후 해당 가공치즈 시료들에 대한 내열성 테스트를 진행하였고, Fig. 7과 같이 숙성된 원료치즈 사용시 완제품의 강도가 매우 약해지고, 동일한 시간 동안 열을 가했을 시, 급격히 형상이 무너짐을 확인할 수 있었다. 가장 품질이 안정적인 상태의 시료는 oil off가 덜하고, 블록의 성상이 크게 무너지지 않으며, 풍미 유지도 양호하다는 관능평가 결과(Fig. 8)를 얻게 되었다. Fig. 9과 같이 현미경으로 단면을 확인한 결과도, 26주차 시료에 비해 36주차 시료는 조직이 무너지고, 조직이 균일하지 않음을 확인할 수 있었다.

원료치즈의 IC 값이 낮아졌을 경우, 가공치즈 유화의 핵심인 유화제와 안정제의 균형있는 함량 조절을 계산하여 배합과 공정을 조정해야 한다. 가온테스트 결과에서 볼 수 있듯이, 과숙성된 원료치즈는 가공 블록치즈류보다 액상 스프레드류의 가공치즈 제조용으로 전환하는 게 바람직하다.

2) 강도 및 점도 테스트 결과

강도 및 점도 테스트는 숙성기간별 초, 중, 말로 구분한 시료 3종-*PC(6w)*, *PC(26w)*, *PC(36w)*으로 제조한 완제품 가공치즈를, 플라스틱 용기에 약 200 g씩 블록 형태로 담아 물성 및 강도를 테스트 하였다. 물성은 중력을 고려하지 않는 물성의 절대적인 수치를 비교하는 절대점도를 측정하였고, 유체의 점성도를 나타내는 centipoise(cP)로 기재하였다. 강도는 식품의 강도나 경도를 측정하는 레오미터 장비인 texture analyzer를 사용하였으며, 원하는 변형에 도달할 수 있는 정도를 g으로 표시하여 단위로 설정했다. 과숙성 구간의 샘플인 *PC(36w)*를 고려해봤을 때, 완제품 가공치즈의 강도와



Fig. 6. A cross-sectional photograph of processed cheese (finished product) using Fonterra cheddar as raw material. a: PC (6w), b: PC (26w), c: PC (36w).



Fig. 7. Oven test result of processed cheese (finished product) using Fonterra cheddar as raw material. 120℃, deck oven. a: PC (6w), b: PC (26w), c: PC (36w).

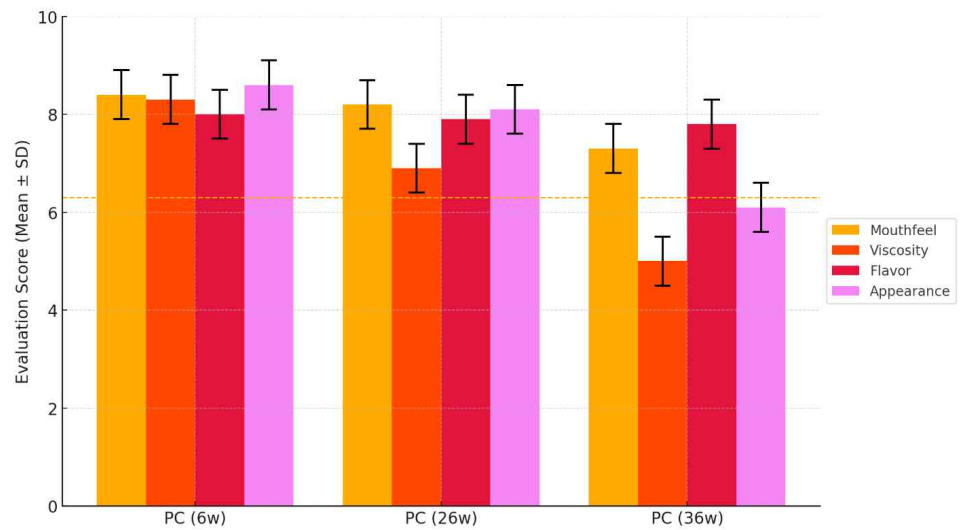


Fig. 8. The result of sensory evaluation of the finished processed cheese sample. It was found that the overall value except for the flavor fell, and it was confirmed that a significant difference in appearance and viscosity was recognized in particular. Data are expressed as mean±SD (n=30). A horizontal dashed line indicates the acceptability threshold (6.3 points). Statistical differences among samples were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's honestly significant difference (HSD) post-hoc test ($p<0.05$). ANOVA, analysis of variance.

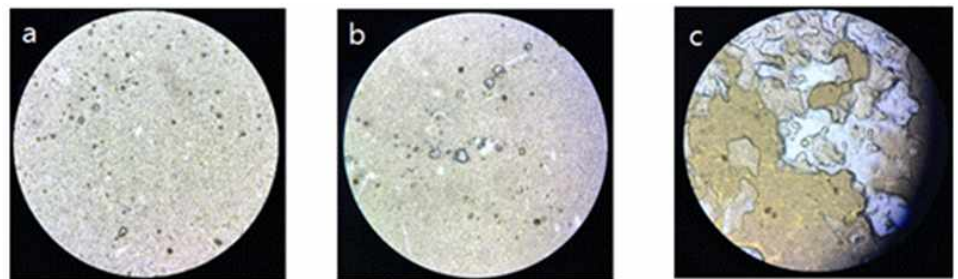


Fig. 9. Microscopic cross-sectional photograph of processed cheese (finished product) using Fonterra cheddar as raw material. a: PC (6w), b: PC (26w), c: PC (36w).

물성(점도)은 IC 1%당 감소 시, 각각 약 5.7%, 4.9% 감소하는 것으로 확인됐다(Tables 3 and 4, Figs. 10 and 11).

호주의 NIR 기반 치즈 이화학적 특성 측정 장비 전문 기업인 GoldPeg에서 수행한 실험 결과를 참고하여, IC와 점도 간의 상관관계 및 IC와 제품 강도 간의 상관관계를 분석한 결과를 참조하였다 [14](Figs. 12 and 13).

Table 3. Changes in hardness (experiment by aging period)

Variables	IC (%)	Hardness (g)	Reduction rate (%)
PC (6w)	21.86	1,225.30	
PC (26w)	18.77	1,127.28	8.00
PC (36w)	18.19	969.46	20.88
Remark		On the basis of IC	Compared to PC (6w)

IC, intact casein.

Table 4. Changes in viscosity (experiment by aging period)

Variables	IC (%)	Viscosity (cP)	Reduction rate (%)
PC (6w)	21.86	22,000.0	
PC (26w)	18.77	20,460.0	7.00
PC (36w)	18.19	18,004.8	18.16
Remark		On the basis of IC	Compared to PC (6w)

IC, intact casein; cP, centipoise.

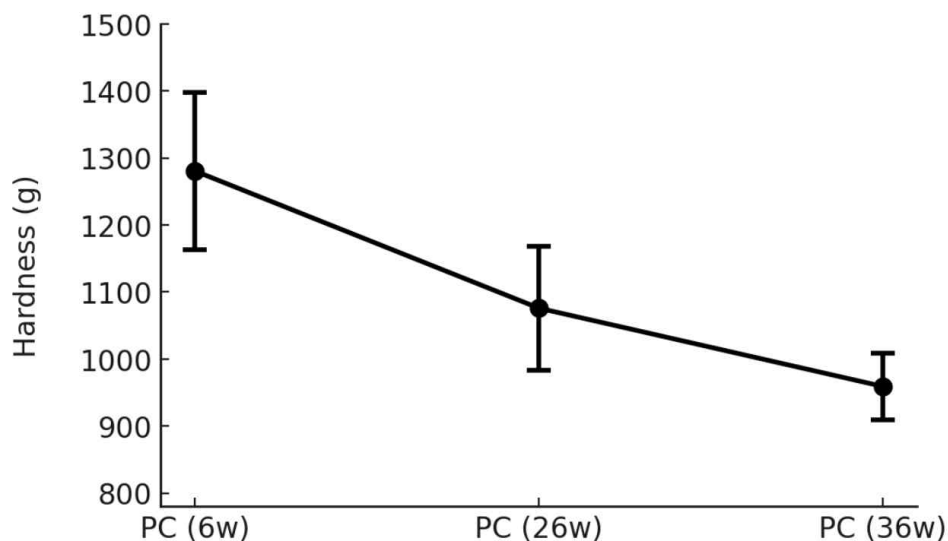


Fig. 10. Hardness variation among three main cheese samples during aging. PC (36w) has 20.88% reduction in product properties (hardness) compared to the PC (26w). Data are shown as mean $\pm$ SD, n=3. Significant differences were determined by one-way ANOVA; $F(2,6)=18.42$, $p<0.01$. ANOVA, analysis of variance.

3) 관능테스트 결과

관능평가는 냉장보관한 시료 3종-PC(6w), PC(26w), PC(36w)을 플라스틱 용기에 약 10 g씩 담아 동반 식품인 무염 비스킷과 함께 제공하였으며, 무염 비스킷에 발라 2/3 이상 섭취 후 관능평가를 실시했다. 기존 센서리 항목중 기호특성과 감각특성 평가를 구분하지 않고, 금번 실험 주제에 가장 부합하는 mouthfeel과 flavor, viscosity, appearance에 대한 관능 비교를 시행하였는데, 관능 결과는 9점 척도로 평가하였다(Fig. 8).

4) 관능테스트 결과에 따른 배합비 보정 결과

이어서 완제품 실험 결과를 통해, 배합과 공정을 조정하여, 완제품 품질을 유지하기 위해 핵심원료인 유화제(인산염 계열)와 안정제, 기타 원료를 보정하는 실험을 진행하였다. 각 시료별 3회 실시하였으며, 하단 Table 5에서 그 보정값을 평균값으로 제시하였다. PC(6w) 시료 대비, PC(26w) 시료는 유화제를 제외한 안정제와 유단백, 수분 조정의 필요성이 아주 크진 않았다. 반면 PC(36w) 시료는 유화제뿐만 아니라 안정제와 기타 고형분, 수분까지 모두 변경하고, 필요시는 스팀온도와 진공압력 등 공정 요소의 변경도 고려해야 한다[15](Table 5).

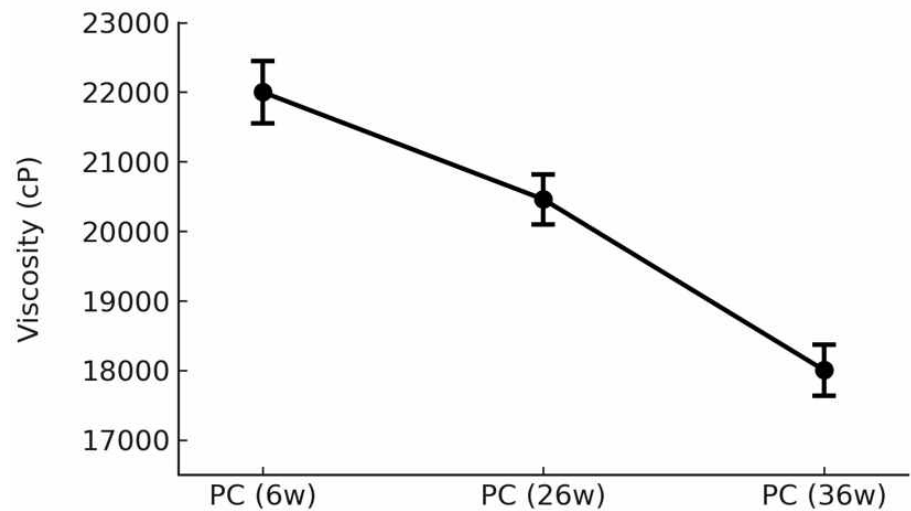


Fig. 11. Viscosity variation among three main cheese samples during aging. PC (36w) has 18.16% reduction in product properties (viscosity) compared to the PC (6w). Data are shown as mean $\pm$ SD (n=3). Significant differences were determined by one-way ANOVA; $F(2,6)=176.00$, $p<0.001$. ANOVA, analysis of variance.

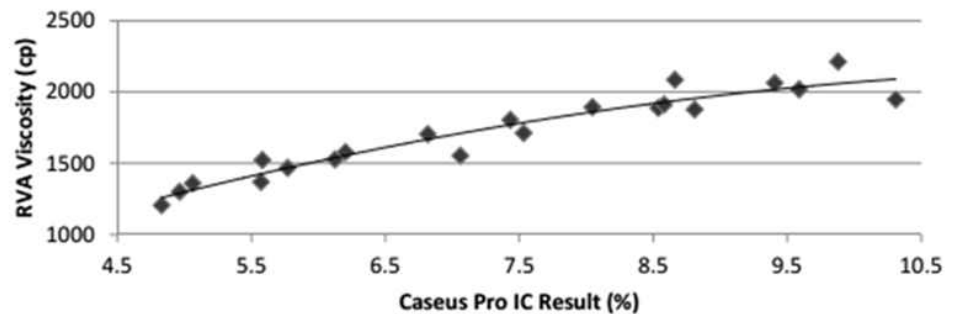


Fig. 12. Correlation between the physical properties (viscosity) and IC content of processed cheese (finished products). The influence of IC in processed cheese, Andrew Henderson, GoldPeg, international. inc. IC, intact casein.

3. 국내 치즈 제조업체의 자연치즈 숙성 단계 설정 방식의 한계

원료용으로 사용하는 자연치즈의 보관 중 숙성기간에 대한 적절한 시기를 설정하는 방법으로, 현재는 원료용 치즈의 유통기한을 기준으로 일률적으로 3단계 phase를 설정하여 구분하고 있다. 숙성 정도를 측정하는 방법은 REI, RDI, FAAI 등의 측정법이 있으나, 다양한 브랜드와 제조시점이 다른 원료를 빈번하게 사용하는 제조업체에서는 실제로 상용화하기 어려운 방식이다[16]. 또한 REI, RDI, FAAI 측정에는 부수적인 이화학설비와 제조업체에서 보유하고 있지 않은 분석기 등이 요구되므로, 상대적으로 영세한 사업장을 구축한 국내 치즈제조업체에선 쉽게 적용하기 어려운 현실이다. 때문에 제조 후 유통기한까지 1/3시점을 'young', 그 후 2/3시점을 'midium', 3/3시점을 'mature' 분류하여 숙성 정도를 일률적으로 적용하고 있는 게 현실이다. 자연히 이 일률적 적용은 자연치즈를 원료로 사용함에 있어서 표준화에 매우 제한되고, 그에 따라 완제품인 가공치즈의 물성과 조직을 일관되게 관리하기 어려운 게 현실이다(Table 6).

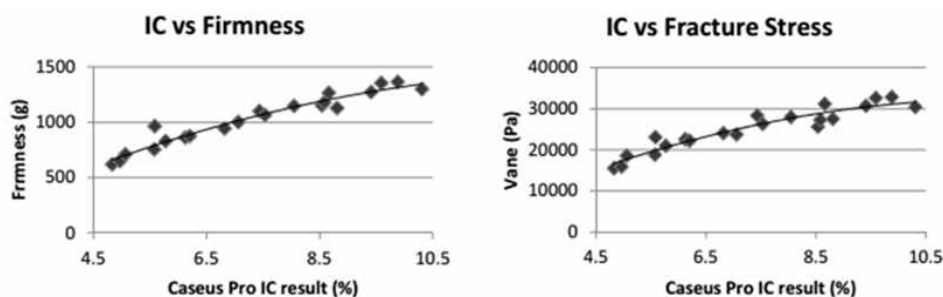


Fig. 13. Correlation between the physical properties (firmness, fracture stress) and IC content of processed cheese finished products. The influence of IC in processed cheese, Andrew Henderson, GoldPeg. international.inc. IC, intact casein.

Table 5. Correction ratio of major ingredients (experiment by mature poeriod, fonterra cheese as raw material)

Variables	E-salt (%)	Stabilizer (%)	Milk protein	Water
PC (6w)	-0.05—0.1	N/A	N/A	N/A
PC (26w)	-0.15—0.2	-0.02—0.03	Add below 1%	Reduce 0.7% or more
PC (36w)	-0.2—0.25	-0.03—0.04	Add below 1%	Reduce 1.2% or more
Remark	On the basis of IC		Option	Option

IC, intact casein.

Table 6. Proteolytic ripening indices

Variables	Formula
REI, ripening extension index	$REI = \frac{WSN}{TN} \times 100$
RDI, ripening depth index	$RDI = \frac{TCASN}{TN} \times 100$
FAAI, free amino acid index	$FAAI = \frac{PTASN}{TN} \times 100$

WSN, water soluble nitrogen; TN, nitrogen; TCASN, trichloroacetic acid soluble nitrogen; PTASN, phosphotungstic acid soluble nitrogen.

결론

가공치즈 제조 전 원료용 자연치즈의 숙성 단계를 판단하기 위해서는 일반적으로 IC 측정을 통한 숙성도 정량화 방법이 활용되고 있다. NIR 장비 등을 활용하면 IC값을 비교적 간편하게 산출할 수 있으나, 국내 대부분 가공치즈 제조업체는 고가의 분석 장비를 보유하고 있지 않아 숙성도 평가 및 완제품 품질 유지에 어려움을 겪고 있는 실정이다.

본 연구에서는 유산균 수와 IC값 간의 유의적인 상관관계를 확인하였으며, 이를 통해 각 제조업체에서 보유 장비나 인프라에 관계없이 유산균 수 측정을 기반으로 보관 중 숙성 기간을 합리적으로 설정할 수 있는 기준을 제시하였다. 특히, 유산균 수가 10^2 CFU/g 이하로 감소하기 전까지의 보관기간이 원료용 자연치즈의 적정 사용 시점임을 제안하며, 국내 가공치즈 제조업체에서는 이 기준을 바탕으로 원료 치즈의 보관 기간을 체계적으로 관리함으로써 제품 품질의 표준화가 가능할 것으로 판단된다.

향후 연구에서는 자연치즈의 숙성 기간 중 발생하는 미생물학적 특성 변화와 더불어, 제품 안전성

과 직결되는 위해 미생물(효모, 곰팡이, 장내세균 등)의 증식 경향에 대한 정밀 분석을 병행할 예정이 다. 이를 통해 ‘특정 유산균을 활용한 보존성 향상 치즈’, ‘기능성 항균소재 기반의 실온 보관 치즈’, ‘유산균 사균체를 활용한 기능성 유아 치즈’ 등의 제품 개발을 위한 과학적 근거가 되는 기초 자료를 확보하고자 한다. 국내 가공치즈는 대부분 자연치즈의 제형과 풍미를 유지하며 한국인의 기호에 맞춘 형태로 제조되므로, 숙성에 따른 미생물 변화는 최종 제품의 조직과 물성에 영향을 준다. 이에 따라, 본 연구는 숙성도에 따른 유화제, 산도조절제, 안정제 등의 배합 최적화와 함께, 산업 현장에서의 물성 표준화 및 품질 안정성 확보를 위한 실질적 근거를 제공함으로써, 국내 가공치즈 산업의 품질 고도화에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

Conflict of Interest

The authors declare no potential conflict of interest.

감사의 글

This work was supported by the Bio-Industry Technology Development Program (20019431, Development of postbiotics based on microbiome for treatment resistant depression and anxiety disorders) funded by the Korea Evaluation Institute of Industrial Technology (KEIT) and the Ministry of Trade Industry & Energy (MOTIE).

References

1. Park SY. The science of cheese making and fermentation. Gyeongsan, Korea: Yeungnam University; 2016. p. 9-12.
2. Morr CV. Chemistry of milk proteins in food processing. *J Dairy Sci.* 1975;58:977-984.
3. McSweeney PLH. Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview. Cork, Ireland: University College Cork; 2004.
4. Melchiorson CR, Jokumsen KV, Villadsen J, Israelsen H, Arnau J. The level of pyruvate-formate lyase controls the shift from homolactic to mixed-acid product formation in *Lactococcus lactis*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2002;58:338-344.
5. Hassan FA, El-Gawad MAM, Enab AK. Flavour compounds in cheese. *Res Prec Instrum Mach.* 2013;2:15-29.
6. Joyner Melito HS, Francis D, Luzzi B, Johnson JR. The effect of storage temperature on blue cheese mechanical properties. *J Texture Stud.* 2018;49:309-319.
7. Karametsi K, Kokkinidou S, Ronningen I, Peterson DG. Identification of bitter peptides in aged cheddar cheese. *J Agric Food Chem.* 2014;62:8034-8041.
8. Clark S, Costello M, Drake M, Bodyfelt F. The sensory evaluation of dairy products. New York, NY: Springer US; 2009. p. 576.
9. Hong YH. Importance of ripening during natural cheese making. *J Dairy Sci Biotechnol.* 2013;31:195-200.
10. R Core Team. SensoTool R: an R-based tool for sensory & consumer data analysis. Version 2.0.0 [Internet]. 2018 [cited 2024 Sep 6]. Available from: <http://www.sensortoolr.com/>.

sensometrics.co.kr

11. Chang OK, Seol KH, Kim MK, Han GS, Jeong SG, Oh MH, et al. Proteolytic systems of lactic acid bacteria in milk fermentation. *J Dairy Sci Biotechnol.* 2012;30:119-129.
12. Khattab AR, Guirguis HA, Tawfik SM, Farag MA. Cheese ripening: a review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends Food Sci Technol.* 2019;88:343-360.
13. Park KM, Kang KH, Choi YJ, Lee JY. Interaction of *Lactobacillus* and yeast in fermented dairy products. *J Microbiol Biotechnol.* 1979;9:50-57.
14. Henderson A. Correlation between the physical properties (firmness, fracture stress) and intact casein content of processed cheese finished products [Internet]. 2012 [cited 2024 Sep 6]. Available from: <https://www.dairyreporter.com>
15. Lee BH. Biochemical changes occurring during the manufacture of processed cheese. *Korean Dairy Technol.* 1982;2:17-22.
16. Yılmaz E, Kurban M, Erbay Z. Assessment and optimisation of ultrasound as a pretreatment in the production of enzyme-modified cheese. *Int Dairy J.* 2023;142:105639.