工學碩士 學位論文

Cottage cheese의 收率과 貯藏中 乳淸蛋白質 遺失에 미치는 Carboxymethyl Chitosan의 添加效果

2002年 8月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 炅 泰

工學碩士 學位論文

Cottage cheese의 收率과 貯藏中 乳淸蛋白質 遺失에 미치는 Carboxymethyl Chitosan의 添加效果

指導敎授 李 根 泰

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함

2002年 8月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

金 炅 泰

金炅泰의 工學碩士 學位論文을 認准함

2002年 8月 日

主 審 農 學 博 士 安 東 賢 ㊞

委 員 工 學 博 士 李 根 泰 ㊞

委 員 工 學 博 士 全 炳 秀 ㊞

목 차

The Effects of Carboxymethyl Chitosan on Yield and Loss of Whey Protein in Cottage Cheese.

Kyung-Tae KIM

Department of Food Science and Technology,
Graduate School, Pukyung National University

Abstract

To present the elementary data of carboxymethyl chitosan (CM-chitosan) obtained from squid pen(*Todarodes pacificus*) for utilization in the cheese industry, the manufacturing condition and structure characteristics of chitin and chitosan were studied. The flow property and protein binding ability of CM-chitosan were also studied. Application of CM-chitosan to cottage cheese reduced by reconstituted skim milk to increase the yield, protein contents and improvement of texture property

were studied.

1. The deprotein optimum condition of chitin was studied at 1N NaOH, room temperature for 3 hours and then the yield and protein contents were 33.4±2% and 33.19% respectively.

2. The most suitable deacetylation time of chitosan was 90mins and degree of deacetylation and molecular weight were 90% and 180,000dalton with condition, 40% NaOH at temperature range from 110℃ to 115℃

3. The critical concentration of CM-chitosan solution was 0.8% and in the analysis of I. R spectra, unlike CM-chitin, it showed high peak at 1440cm-1 with using the CH_2-C=O of the hydroxyl of No 6 carbon.

4. The setting time of cottage cheese and the manufacture period by added CM-chitosan was unchanged.

5. The rate of increase on cheese yield was 21 28% in added 0.5 3% CM-chitosan solution(1% w/v). But the yield just increased 5% with 0.8% CM-chitosan solution.

6. The moisture and protein played and important role to improve the cheese yield and solid. The correlation coefficient of the moisture and protein were 0.7427 and 0.6876.

For increasing of the moisture content, the most efficient amount of CM-chitosan solution was added to 1.54% in the cheese making process. In the case of protein, CM-chitosan solution was added to 1.57% in the

cheese construction process. They were calculated with the statistic formula.

Moisture :

$$F = 73.011394 - 1.050804x_1 + 80461877x_2 + 0.204086x_1^2 - 0.228813x_1x_2 - 2.444310x_2^2$$

Protein :

$$F = 13.78445 + 1.16606x_1 + 1.426884x_2 - 0.291071x_1^2 + 0.605325x_1x_2 - 1.171795x_2^2$$

7. CM-chitosan solution reduced the amount of protein in whey. Especially, the whey protein content was decreased 50% when the amount of CM-chitosan solution was 2% and 3%.

8. CM-chitosan solution protected the change of cheese color for 4weeks storage.

9. The cheese rheology was preserved or improved. The most efficient amount of CM-chitosan solution for cohesiveness and elasticity were respectively 1.24% and 1.54% calculated with the statistic formula.

Cohesiveness :

$$F = 1.024295 + 0.412312x_1 - 2.162170x_2 + 0.293830x_1^2 - 1.759089x_1x_2 + 2.259426x_2^2$$

Elasticity :

$$F = 4.185774 - 0.8162170x_1 + 0.603382x_2 - 0.588419x_1^2 - 0.1.759089x_1x_2 + 2.259426x_2^2$$

서 론

치즈는 전유, 탈지유, 부분 탈지유, 크림 및 버터밀크 등의 원료에 유산균과 응유효소인 rennet을 첨가하여 casein을 응고시키고 유청을 제거하여 만든 발효유제품이다. 서양에서 치즈의 역사는 매우 오래되었고 제품의 종류도 500여 종에 이른다.

이러한 치즈는 원산지, 원료유의 종류, 제조방법, 외관, 화학적 조성 및 미생물학적 조성 등에 따라 구분되며, 치즈의 물리적 특성, 숙성방법, 수분, 숙성요인 등에 따라서도 다양한 제품이 제조된다. 일반적으로 치즈는 연질, 반연질, 경질, 초경질치즈, 플라스틱커드치즈, 탈지유 또는 저지방 치즈, 유청치즈 그리고 가공치즈로 분류되어 있다(Table 1).

연질 치즈는 숙성과 비숙성의 2종류로 나뉘어지며 수분 함량이 80 55%정도이다. 반연질 치즈는 수분함량이 55 45%로 bacteria에 의해 숙성되어지는 것, 표면 미생물에 의해 숙성되는 것과 푸른곰팡이에 의해 숙성되는 것으로 나뉘어진다. 경질 치즈는 수분함량 45 34%로써 치즈제조시 기공이 발생하지 않는 bacteria에 의해 숙성된 것과 기공이 발생하는 bacteria에 의한 숙성된 것으로 나뉘어진다. 초경질치즈는 수분함량이 34 13%로 가장 낮고 딱딱하기 때문에 분말로써 사용된다(김영교.1981). 이렇게 다양한 치즈는 우유의 부피를 최소화하고 균형있는 영양분을 유지하며 보존성이 다른 유제품보다 좋으므로 부가가치가 매우 향상된 제품으로 낙농선진국에서는 오래전부터 이용해오고

Table. 1 Classification of cheese

Soft cheese	Unripened	: Cottage, Baker, etc
	Ripened	: Romadur, Bel Paese, Camembert, etc
Semi-soft cheese	Ripened principally by bacteria	: Brick, Tilsiter, etc
	Ripened by bacteria and surface micororganisms	: Limburger, Port du Salut etc
	Ripened principally by blue mold in the interior	: Blue, Roquefort etc
Hard cheese	Ripened by bacteria, without eyes	: Cheddar, Cheshire etc
	Ripened by bateria, with eyes	: Swiss, Emmental etc
Very hard cheese	Ripened by bacteria	: Provolone, Mozzarella etc

있으며 최근에는 우리나라에서도 치즈의 소비가 증가하고 있다(곽해수.1992).

그러나 국내 치즈산업은 선진 낙농국과 비교하여 종류의 다양화와 개발이 미흡한 실정이다. 곽(1992, 1993)은 치즈의 다양화와 더불어 우리입맛에 맞는 치즈를 선택하는 것이 중요함을 강조하였으며, 우리의 식생활 습관을 고려하여 향후 신제품으로 기대되는 치즈를 Gouda, Cream, Edam, Emmental, Cottage, String 치즈라고 하였다. 이러한 자연치즈(Natural cheese)는 신선한 원유에 유산균을 접종하고 응유효소인 rennet을 첨가하여 응고시킨 후 유청(whey)을 제거한 것으로 비숙성과 숙성한 것으로 분류된다. 자연치즈는 가공치즈의 원료가 되며, 미생물 오염에 의한 품질저하로 수입시 품질 유지가 어려운 단점이 있다. 자연치즈의 개발은 치즈종류의 다양화와 원료가격의 절감, 국내 낙농산업 발전이라는 측면에서 중요하며, 치즈산업의 국제 경쟁력과 아울러 부가가치를 향상시키게 될 것이다.

특히 cottage cheese는 네덜란드가 원산지이나 이후 1915년 미국에서 현대적인 제조 공정이 개발되어 전세계에 널리 퍼져 있으며, 케익이나 빵에 넣어 조리하거나 샐러드에 얇게 썬 멜론, 귤 등과 같은 과일이나 야채를 섞어 사용하는 등의 그 활용범위가 대단히 넓다. Cottage cheese의 조직은 수분이 많은 크고 작은 커드로 구성되어 있고 눈과 같은 흰색을 띄며, 맛은 약한 신맛이 난다. 그러나 수분함량이 높아 미생물에 의한 오염되기 쉽고, 파라핀과 같은 치즈 외피가 없어 유통기간이 짧아 국내에서는 잘 알려져 있지 않다. 치즈 제조시 발생되는 유청은 부산물로써 전체의 90%를 차지하는 것으로 총 고형분이 6.0 6.5%인 엷은 녹황색의 불투명한 액체로써 생물산소요구량(BOD)이

32,000 또는 그 이상으로 하수처리에도 어려움이 많아 오래전부터 치즈산업의 문제로 대두되어 왔다. 그러나 유청은 유청단백질인 락토알부민, 락토글로블린 등이 다량 함유되어 있고 필수아미노산과 미량성분등의 영양분이 풍부하여 사료, 비료, 제빵, 캔디, 음료, 조제유, 이유식 및 건강식품 등의 제조에 재료가 되며, 유청을 이용한 영양음료, 모조유제품 등의 개발이 추진중이다. 미국 등에서는 아직까지 유청생산물 중 44%가 하수처리 되고 있으며(Kwak, 1993), 우리나라에서도 그 이용 수준은 미미한 실정으로 선진낙농국과 비교하여 유청의 재활용방법에 대한 연구는 초보적 단계에 머무르고 있다.

이처럼 원유의 가격이 높고 적당한 유청 이용방법이 개발되어 있지 않은 우리나라의 경우 치즈의 수율을 증가시키는 방법의 개발은 매우 의미있는 과제라 생각된다.

치즈의 제품 수율에 영향을 미치는 요인은 원유의 조성, 균질화도, 젖산함량, 원유의 체세포수, starter의 종류, 제조시간, 열처리조건, pH, Ca^{+}의 함량, 염함량 등으로 매우 다양하나 일반적으로 수율은 원유량의 약 10%이며, 치즈의 주요성분인 단백질(casein)과 지방이 whey 배출시 각각 25 27%, 10 20%정도의 손실이 발생하며, 이후 저장기간이나 숙성기간 중에도 지방의 경우 6.5%, casein의 경우 4 5%가 계속적으로 손실되는 것으로 밝혀져 있다(Timothy etc, 2000). 이와 같은 손실율은 수분함량이 적은 경질치즈에 비하여 수분함량이 많은 연질치즈에서 손실이 2배 이상 더 큰 것으로 알려져 있다(Kwon, 1989; Lee, 1973).

특히 손실되는 단백질의 경우 수용성 단백질이 주류를 이루는데 이러한 수

용성 단백질에는 면역성분 단백질 등의 고기능성 단백질이 다수 포함되어 있다(Park, 1992). 현재까지는 이러한 단백질 및 지방 손실분은 생산된 자연치즈에 유화제와 기타 정미성분을 첨가하는 가공단계에서 버터와 같은 유지방이나 유단백질을 첨가함으로써 보충하고 있다.

이상과 같은 문제점의 해결방법으로 소실되는 수용성 유용단백질의 재활용 방안을 연구하는 것도 효과적일 수 있으나 제조공정에서 수용성 단백질의 소실을 감소시키는 것이 수율이나 치즈 품질의 향상과 더불어 폐수의 생물학적 산소요구량(BOD)을 감소시킬 수 있다는 측면에서 보다 효과적일 것이라 생각된다. 그러나 단순히 고형분의 함량만을 높인다고 해서 품질의 향상을 기대할 수는 없다. 고형분 특히 단백질 함량이 많을 경우 치즈 자체의 강도가 증가하면서 조직의 부스러짐이 발생하게 된다. 결과적으로 식감의 감소와 더불어 부스러짐으로 인한 손실을 고려한다면 단순한 수율의 향상으로 치즈의 품질이나 경제성 향상은 기대하기 어렵게 될 것이다. 그러므로 수율을 높임과 동시에 높고 안정적인 탄력성(Elasicity)을 가진 치즈의 제조가 요구되어 지는 것이다.

따라서 유청으로의 수용성 단백질 손실을 줄이고, 고형분의 증가에 따른 강도, 탄력성 약화 등의 물리적 단점을 보완하기 위하여 본 실험에서는 지금까지 연구되어진 물질 중 많은 기능성을 가진 chitosan의 이용방안에 대해서 살펴보았으며, 치즈는 cottage cheese를 선택하였다.

갑각류 외피에서 주로 얻어지는 chitin, chitosan 및 그 유도체들은 생물학, 생물공학, 의약학 및 식품학 등에서 다양한 기능성이 확인되면서 고부가가치의 생물 신소재로서 주목을 받고 있다. chitin, chitosan의 이용 가능 분야로는

흡수능이 cellulose보다 높은 점과 microcrystalline chitin의 유화능을 이용하여 식품첨가물로 이용될 수 있으며(Knorr, 1982 ; 1984), chitosan 및 그 분해물이 식물병원성 곰팡이에 대해 생육저지 효과가 있어 항곰팡이제로도 이용가능 하다고 보고되고 있고(Kendra 등, 1984), 또한 chitin, chitosan은 사람의 소화효소로는 분해되지 않아 dietary fiber의 기능을 가지며(井爪正人, 1987), 여러 종류의 식품제조 폐수 중에 들어있는 부유물을 응집하기 위한 응집제로서도 사용 가능하다. 또한 Ikeda 등(1993)은 chitosan 가수분해물을 쥐에게 투여했을 때 간 내의 cholesterol을 감소시키는 효과가 컸다고 보고하였으며, Seon 등(1992)은 chitosan 함유 섬유를 통해 항균성이 발견되었다고 보고하였고, Brode 등(1990)은 화장품에 chitosan을 첨가하였을 때 보습효과가 컸다고 보고한 바 있으며, Moon 등(2000)은 단백질 흡착에 chitosan이 뛰어난 효과를 나타낸다고 보고한 바 있고 Jeon 등(1997)은 chitosan이 Ca^{2+} 이온의 흡수를 촉진한다고 하였다.

그리고 chitin, chitosan의 이용에 가장 큰 장애가 되는 용해성에 대해서도 많은 연구가 이루어져 있는데 그중 가장 대표적인 것이 carboxymethyl chitin, carboxymethyl chitosan(이하 CM-chitosan)이다(Fig.1). CM-chitosan은 수용성이라는 큰 장점을 지니고 있으며 이화학적 특성에 관한 연구결과도 많이 발표되어 있다. Byun 등(1992)은 CM-chitin이 포말성과 포말안정성, 유화능이 뛰어나다고 보고하였으며, Park 등(1995)은 CM-chitin의 레올로지 특성과 더불어 농도와 사슬간의 상호작용에 대하여 규명한 바 있다. 안전성에 대하여

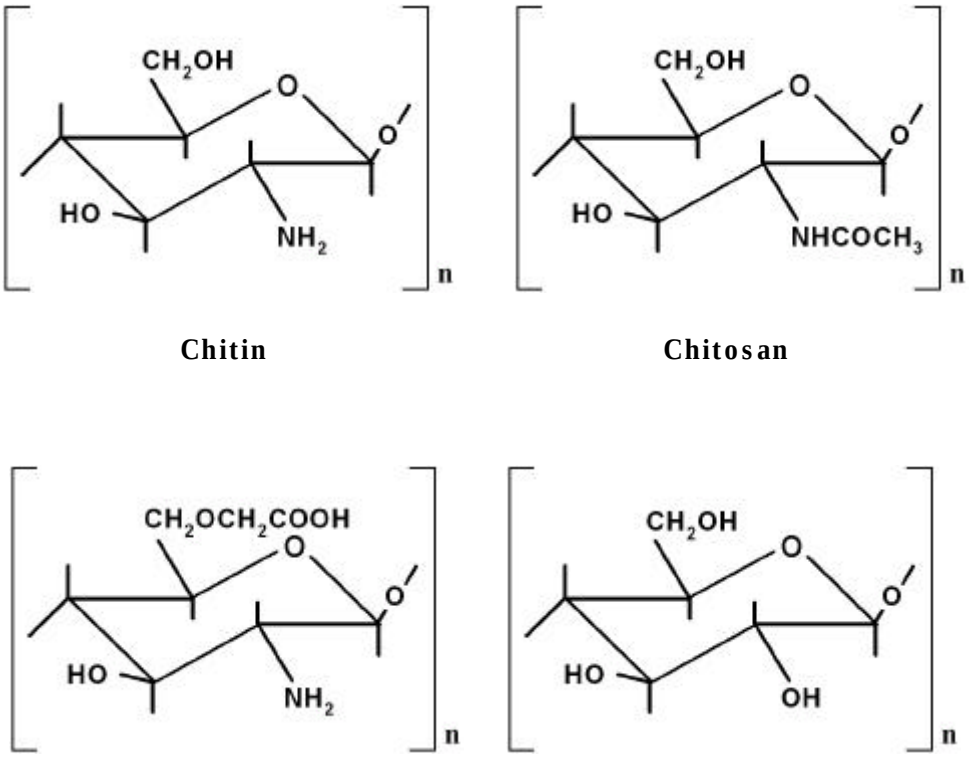


Fig. 1. Structure of chitin, chitosan, carboxymethyl chitosan and cellulose.

系井(1987)은 chitin, chitosan이 함유된 갑각류를 예로부터 많은 사람들이 섭취하여 왔으나 별 문제가 없었으며, 또 이들로부터 추출, 정제한 chitosan은 1983년 일본 후생성의 천연 첨가물 목록에 등재되었다고 하였다. Arai 등(1968)은 생쥐를 대상으로 19일간 급성독성시험을 행한 결과 하루에 18g/kg(체중)정도 섭취하여도 무해하다고 보고하였다. 이상과 같이 chitin, chitosan 및 CM-chitin, CM-chitosan의 산업적 이용을 위한 연구는 많이 행하여졌으나 유가공품에 적용한 연구사례는 매우 적다.

따라서 본 연구에서는 CM-chitosan을 치즈제조 공정에 사용하여 이것이 가지고 있는 보수력, 흡착력, 탄력 증대 기능 등을 이용하여 치즈의 수율증가와 물성 개선제로의 이용가능성을 검토 조사하였다.

재료 및 방법

1. 오징어 연골

부산 감천의 수산가공 공장에서 폐기되는 오징어(*Todarodes pacificus*) 연골을 수집하여 이물질과 육부분을 제거하고 수세한 후 50℃에서 14시간 열풍 건조시켜 50mesh정도로 분쇄한 다음 chitin제조용 시료로 사용하였다.

2. Chitin

오징어 연골을 Choi(2000)의 방법을 이용하여 NaOH 농도와 반응온도를 달리하여 chitin을 제조하였으며 탈단백율을 측정하여 chitin 제조의 최적조건을 설정하였다.

3. Chitosan

제조된 chitin을 이용하여 높은 탈아세틸화도와 더불어 분자량의 감소를 억제하기 위하여 Kurita 등(2000)의 방법을 변형한 Choi(2000)의 방법에 따라 40% NaOH 용액을 이용하여 110 115℃에서 탈아세틸화 반응시간을 달리하여 chitosan을 제조하였으며, 반응시간에 따른 탈아세틸화도와 분자량 변화를 측정하여 chitosan제조 최적 조건을 설정하였다(Fig. 2).

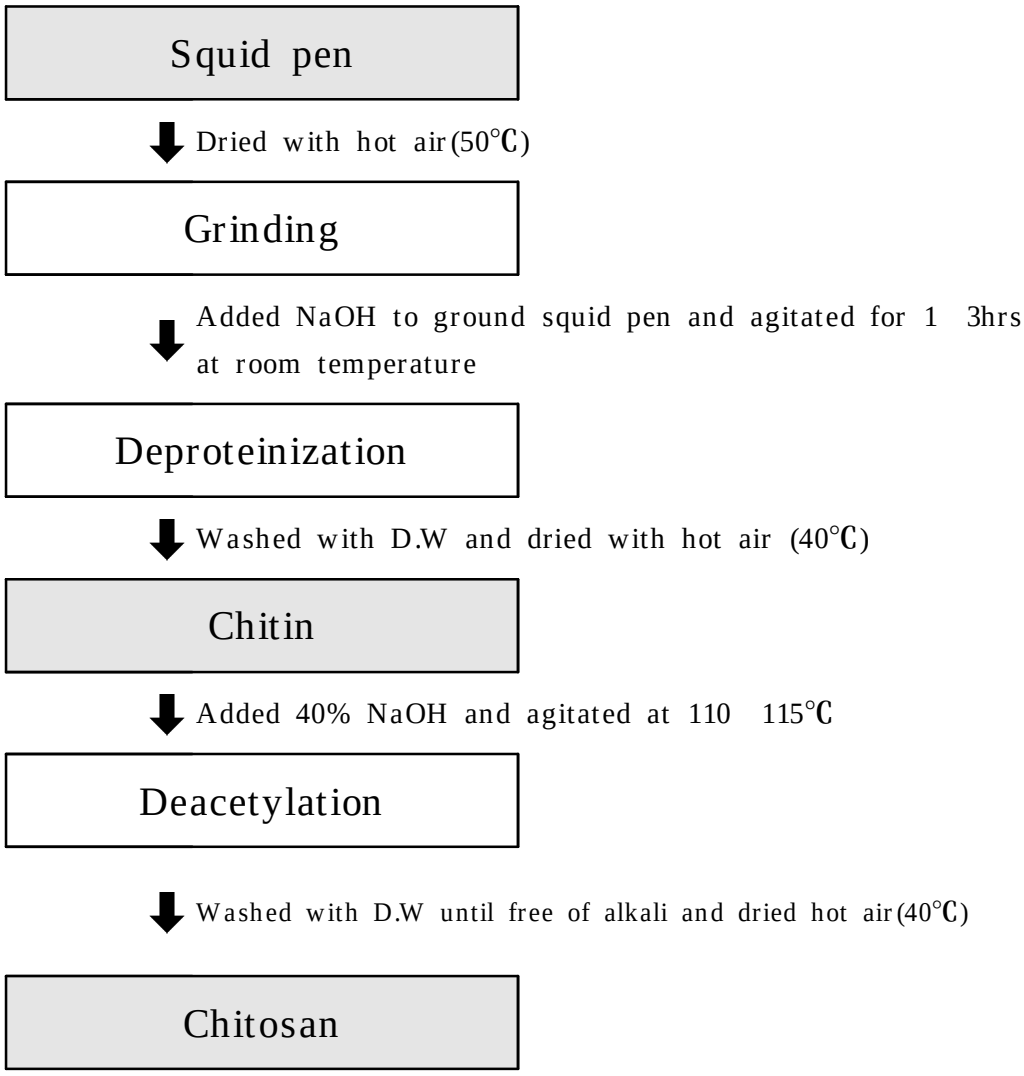


Fig. 2. Preparation procedure of chitin and chitosan.

4. CM-chitosan의 제조

제조된 chitosan을 이용하여 Park등(1995)의 CM-chitin 제조방법을 변형하여 CM-chitosan을 제조하였다(Fig. 3).

5. Chitin · Chitosan 및 CM-chitosan 의 특성

5-1. 탈회분 · 탈단백율 측정

AOAC법(1988년)에 따라 단백질은 Micro-kjeldahl법, 회분은 직접회화법으로 측정하였다.

5-2. 물리적 특성

최적조건으로 제조된 chitosan으로 CM-chitosan을 제조하였으며, 그 탈아세틸화도의 확인방법은 아래의 I. R. spectrum 분석법을 이용하였다.

1) I. R. spectrum 측정 및 탈아세틸화도 측정

제조된 chitosan을 200mesh로 마쇄한 후 KBr 분말(200mesh) 100mg을 정평하여 standard pellet으로 만들고 이 KBr 분말 100mg에 각각의 시료분말 2mg을 취하여 vibration mill에서 10분간 완전히 혼합한 후 시료 pellet을 만들어 FT-IR(PerkinElmer, USA, Spectrum GX)로 4,000cm^{-1} 370cm^{-1} 영역에서 측정하였다.

Chitosan의 탈아세틸화도는 Sannan(1978)법을 이용하여 I.R. spectrum의 흡광도 비(A1550/A2878)를 구하고 이것을 검량선(Fig. 4)에 대입하여 탈아세틸

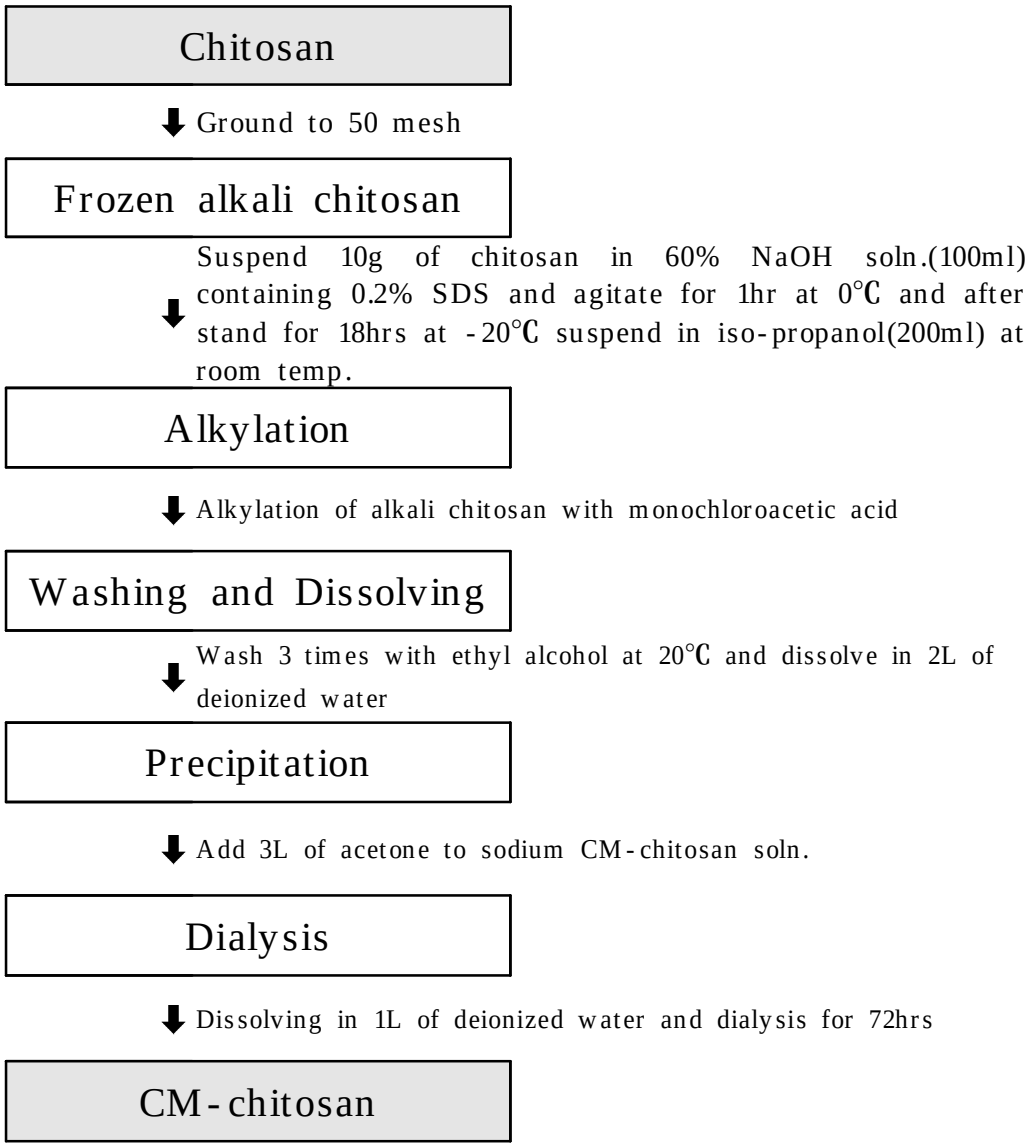


Fig. 3. Preparation procedure of CM-chitosan from chitosan.

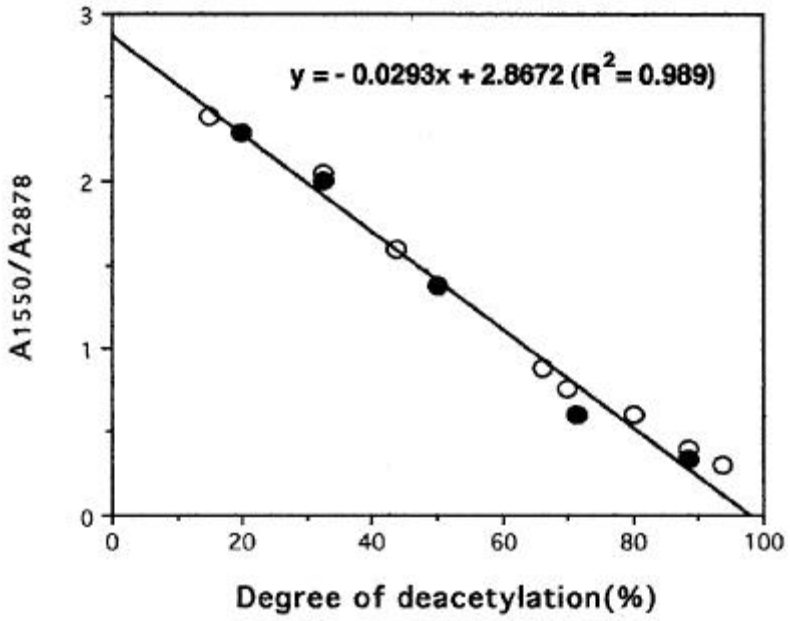


Fig. 4. Calibration line obtained by plotting the ratio of the absorbance of the bend at 1550cm^{-1} to that of the bend at 2878nm^{-1} against the degree of deacetylation(from Sannan et al., 1978).

● : IR data of the samples made by the homogenous hydrolysis

○ : IR data of the samples obtained by the heterogenous hydrolysis

화도를 구하였다. 또한 Choi 등(2000)이 주장한 바와 같이 높은 탈아세틸화도(90%이상)에서의 amide II bend가 불분명하게 되는 경향이 있으므로 Miya 등(1980)의 방법도 병행하여 I.R. spectrum의 흡광도 비 (A1655/A2867)를 검량선(Fig. 5)에 대입하여 탈아세틸화도를 계산하였으며, I.R. 분석 결과와 NIR-spectrum을 결과를 비교 분석하였다.

2) 고유점도와 분자량 측정

Ubbelohde점도계(Fig. 6)를 이용하여 25℃에서 상대점도를 측정한 후 아래의 식으로 비점도와 환원점도를 구한 다음 고유점도를 구하였다.

Relative viscosity ; $\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_s}$

Specific viscosity ; $\eta_{sp} = \frac{(\eta - \eta_s)}{\eta_s} = \eta_{rel} - 1$

Reduced viscosity ; $\eta_{red} = \frac{\eta - \eta_s}{C \cdot \eta_s} = \frac{\eta_{sp}}{C}$

Intrinsic viscosity ; $[\eta] = \lim_{c \to 0}\left(\frac{\eta_{sp}}{C}\right) = (\eta_{red})_{c \to 0}$

η_s : 용매의 점도, η: 용액의 점도, C : 용액의 농도

분자량은 고유점도와 분자량의 관계를 나타낸 Mark-Houwink 식을 이용하여 구하였다. 이때 상수인 K와 a는 Wei Wang 등(1991)이 0.33M Acetic acid-0.3M NaCl 용액에 chitosan을 녹여서 구한 값을 이용하였다.

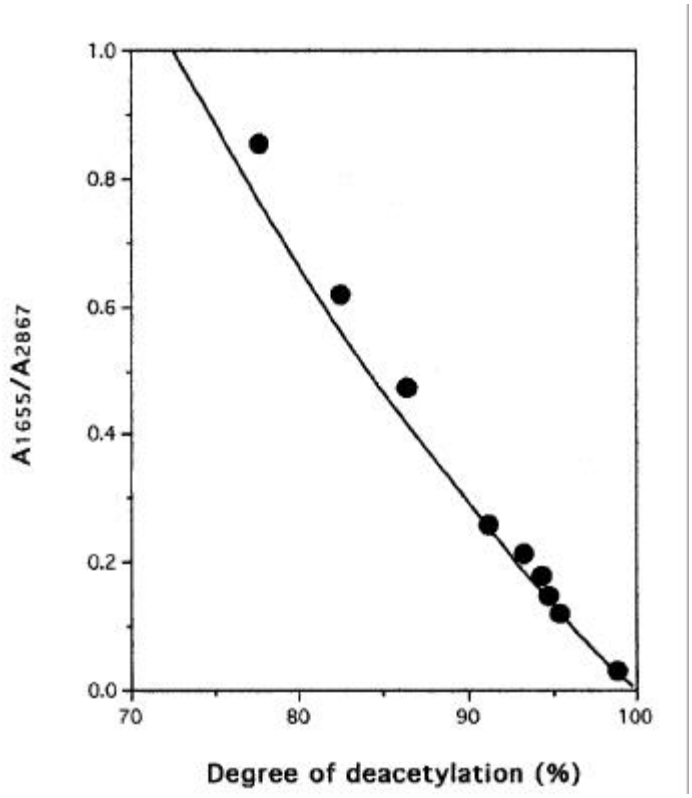


Fig. 5. The relation of the ratio of the absorbance of the bend at 1655cm-1 to that of the bend at 2867cm^{-1} (A1655/A2867) against the degree of deacetylation (from Miya et al., 1980).

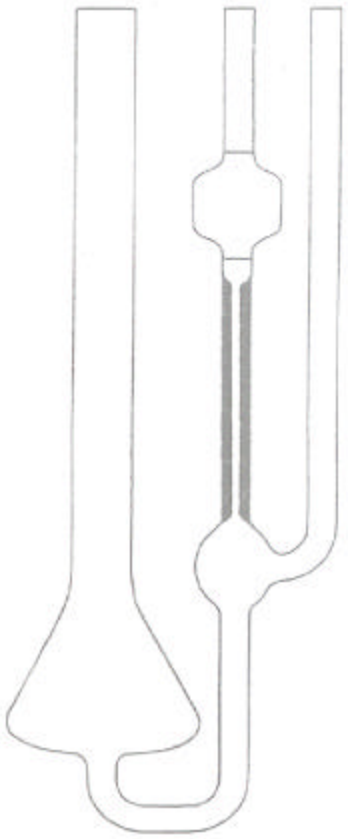


Fig. 6. The Ubbelohde type viscometer used for measuring intrinsic viscosity.

$$[\eta] = K \times Mw^{a}$$

여기서 $[\eta]$는 고유점도, K는 3.41×10^{-5}, Mw는 분자량, a는 1.02이다.

5-3. CM-chitosan의 수용성단백질 흡착능 측정

수용성 단백질 흡착능 실험은 대표적인 수용성 단백질인 albumin을 대상으로 하였다. 1mg/ml albumin용액 100ml를 제조한 후 1% CM-chitosan수용액을 0% 1%까지 0.1%씩 증가시켜 첨가하고 1시간동안 교반하여 침전시킨 후 상층액을 여과하였다. 여액의 단백질 농도는 Lowry법에 따라 500nm에서 흡광도를 측정하고 검량선(Fig. 7)을 이용하여 단백질 농도를 계산하여 나타내었다.

수용성 단백질의 흡착능의 차이로부터 치즈 제조시 첨가할 CM-chitosan의 첨가량을 결정하였다.

6. Cheese의 제조

6-1. 원유

Cottage cheese 제조에 사용되는 원유는 지방함량이 1%이하인 탈지분유([주] 서울우유)를 증류수에 240g/L의 비율로 녹여 사용하였다. 일반적으로 우유의 고형분은 12 14%이므로 실험에서는 cheese-vat의 크기를 고려하여 고형분 양을 증가시키기 위하여 일반 원유 중 고형분 함량 12%의 2배인 고형분

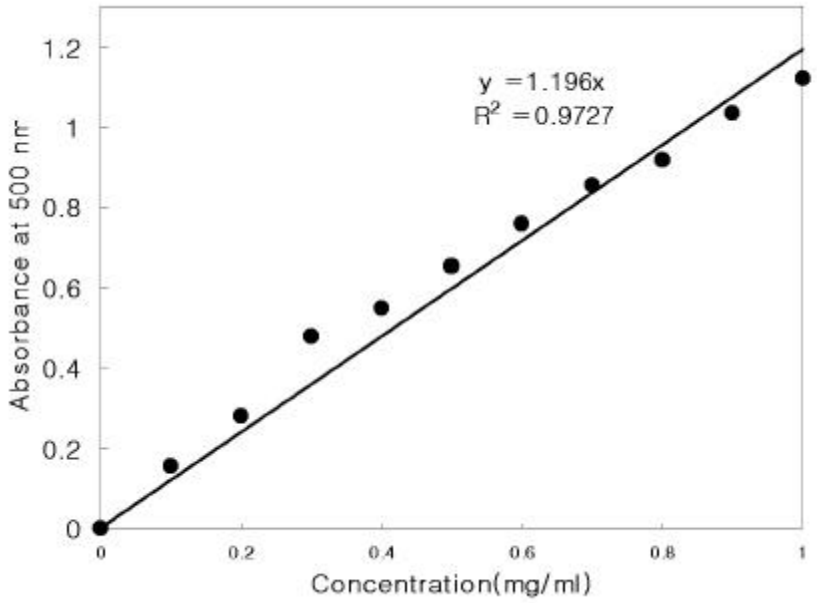


Fig. 7. Standard curve for the determination of protein concentration by Lowry's method.

함량 24%의 환원유를 제조하여 사용하였다.

6-2. 균주

사용 starter는 (주)Hansen사의 R-703 균주(*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)를 구입 사용하였으며, rennet과 염화칼슘($CaCl_2$)도 동일회사 제품을 구입하여 starter는 냉동보관하고 rennet과 염화칼슘($CaCl_2$)은 냉장보관하면서 사용하였다.

6-3. Cottage cheese의 제조

Cottage cheese는 Yoon 등(1993)과 Chun등(1998)의 방법을 이용하여 short-set cottage cheese방법으로 제조하였다. 즉 균주는 5%, $CaCl_2$는 0.02% 첨가하였으며, rennet은 원유 1L당 rennet 1ml를 20배 희석한 액 1ml를 첨가하였다.

CM-chitosan 용액이 첨가되지 않은 것을 무첨가 치즈(Control)로 하였다.

CM-chitosan 첨가 치즈는 starter 첨가 15분 경과 후 0.5%, 0.8%, 1%, 2%, 3%, 4%의 비율로 1% CM-chitosan 수용액을 첨가하여 교반하고 15분 후 rennet을 첨가하여 제조하였다(Fig. 8). 제조한 cheese는 4℃에서 냉장보관하며 실험에 사용하였다.

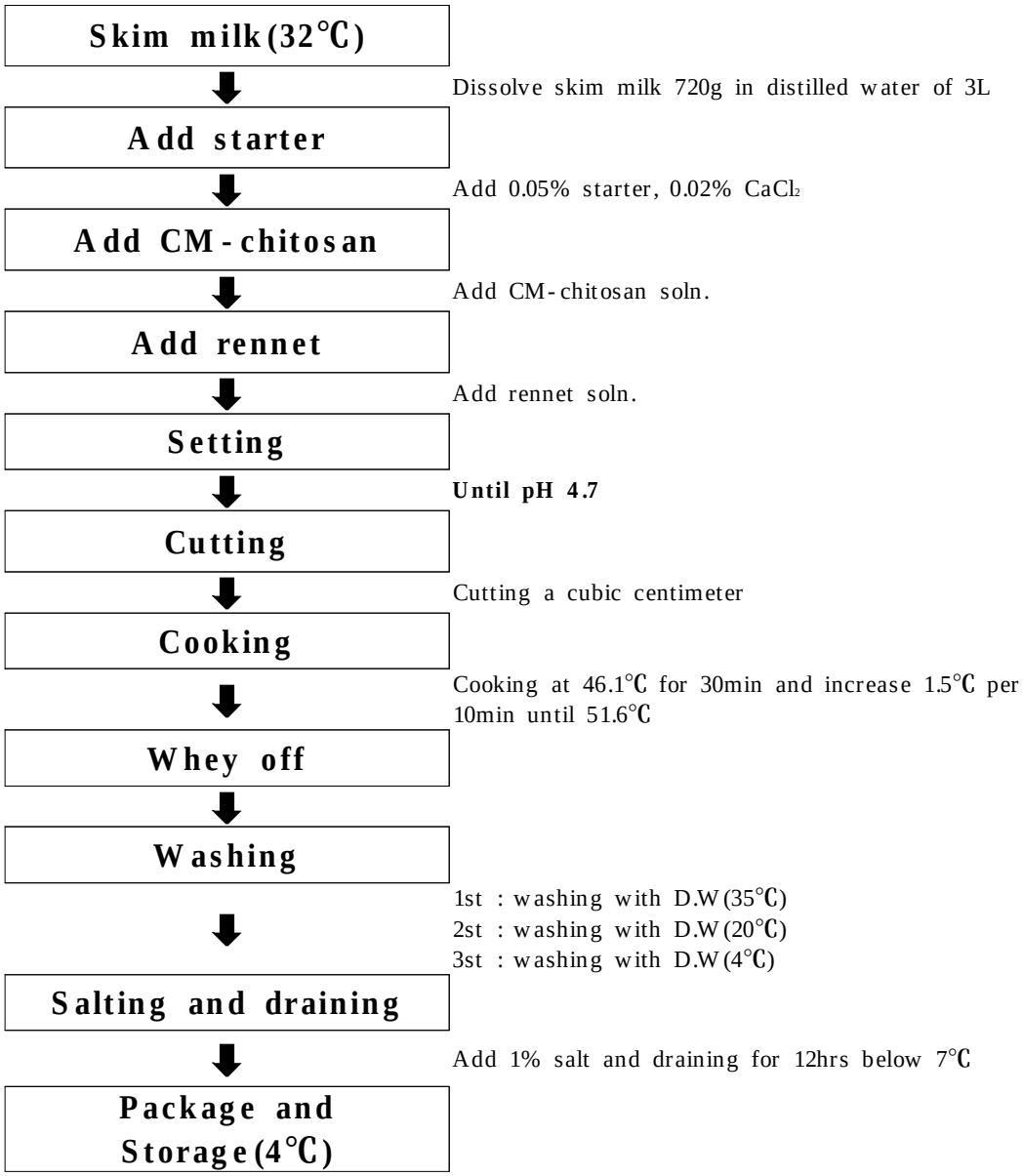


Fig. 8. Procedure of short-set cottage cheese.

7. Cheese의 이화학적 특성

7-1. Cottage cheese의 성분 분석

저장 및 숙성기간동안 치즈의 단백질 유출량을 측정하기 위하여 제조 후 48시간 이내의 것을 0일로 하고 4℃에서 저장하면서 7일마다 수분, 단백질, 지방,회분 등의 일반성분을 측정하였다.

1) 수분 함량 측정

치즈의 수분량은 국제표준방법(FIF 4A:1982)의 치즈 및 가공치즈의 총고형분 측정방법으로 측정하였다.

2) 단백질 함량 측정

AOAC법(1988년)중 Micro-kjeldahl법으로 단백질 함량을 측정하였다.

7-2. 수율 측정

제조된 치즈의 수율은 각 농도별 CM-chitosan 첨가군과 무첨가군으로 나누어 측정하였으며, CM-chitosan 무첨가 치즈와 첨가치즈와의 수율비도 함께 측정하였다.

7-3. 유청단백질 함량 측정

CM-chitosan 첨가시 유청에 함유된 수용성 단백질 함량의 변화를 확인하기 위하여

Lowry법으로 500nm에서 측정하였다.

유청단백질 함량은 7일 간격으로 유청 1ml당 단백질 함량을 측정하여 평균값을 구하고, 유출된 전체 유청량을 곱하여 나타내었다.

[유청으로 소실된 단백질함량(g)=유청 단백질함량(g)/ 1ml×전체 유청량(ml)]

7-4. Cheese 제조시간의 변화

CM-chitosan첨가량에 의한 cheese 제조시간의 변화를 확인하기 위해 cheese curd형성 완료시점인 pH 4.7을 기준으로 도달시간(setting time)을 측정하였다.

7-5. 색도 측정

저장기간동안의 색도 변화를 알아보기 위해서 색도 측정기(colorimeter JC801)를 이용하여 L값(lightness), a값(redness), b값(yellowness)을 측정하였다.

7-6. Texture 측정

제조된 치즈를 3bar의 압력하에서 24시간 압착한 후 직경 13mm, 높이 13mm의 원기둥으로 절단하여 texture용 시료로 사용하였다.

Texture 측정 장치는 universal testing machine(Instron, USA, 1011)을 사용하였다(Table 2, Fig. 9).

Table 2. Condition for determination of rheology of cheese using the Universal Testing Instrument

Head	Condition
Testing instrument machine	Instron model 1011
Weight of load cell	5kg
Load range	1kg
Cross head speed	10mm/min
Chart speed	mm/min
Cross Head diameter	13mm
Rate of breaking test	20% of height
Sample height	13mm
Sample cross section diameter	Ø 13mm

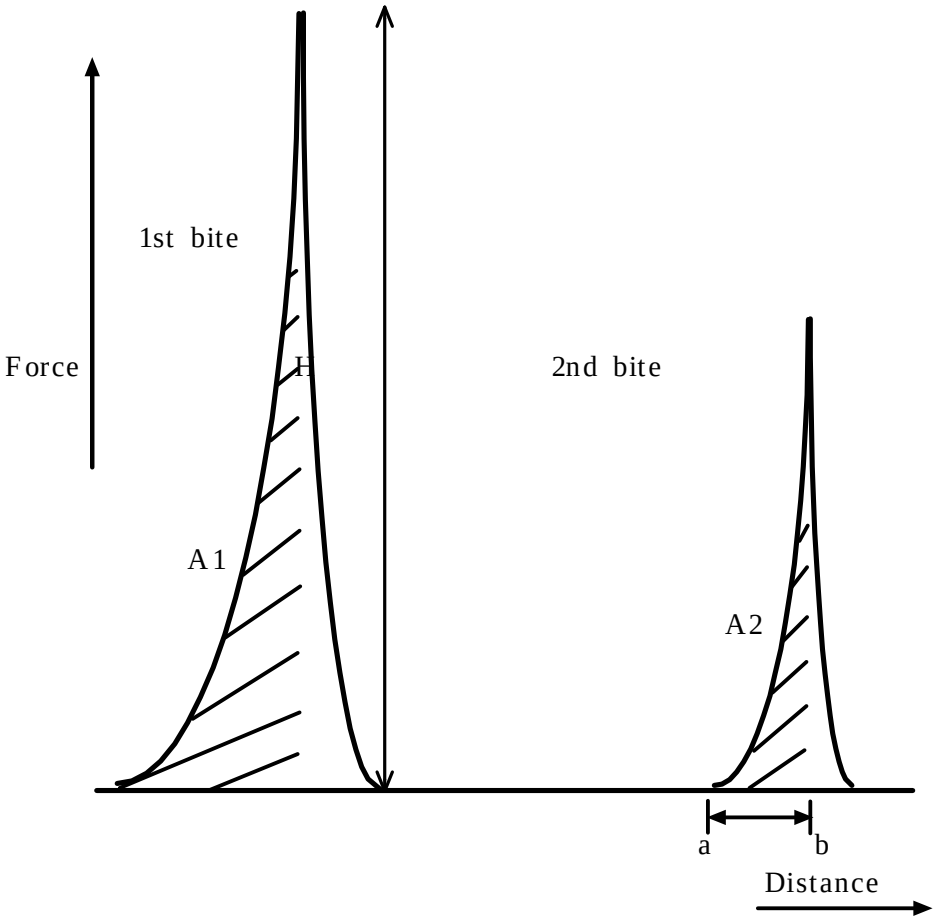


Fig. 9. Instron texturometer texture profile of cube of cheese.

- Cohesiveness : A2 / A1
- Elasticity : a-b

결과 및 고찰

Ⅰ. Chitin, Chitosan, CM-chitosan의 제조와 특성

1. Chitin 제조 최적 조건

Chitin의 품질은 chitin 제조과정 중 탈회분율과 탈단백율에 따라 좌우된다 (Muzzarelli, 1977). 이러한 관점에서 품질이 우수한 chitin의 조제 조건을 설정하기 위하여 먼저 오징어 연골의 단백질 함량과 회분함량을 측정하였다.

원료인 오징어 연골의 단백질 함량은 76.8%, 회분함량은 0.5%로써 게껍질, 새우껍질을 이용하여 chitin을 제조할 때와는 달리 원료의 회분함량이 적으므로 탈회공정을 생략하였다. 그러나 단백질의 함량이 게껍질이나 새우껍질(12.3 45.5%)보다 높게 나타났으므로 탈단백 처리시간과 온도, 농도에 따른 단백질 함량의 변화를 살펴보았다.

Choi 등(2000)은 1N NaOH를 이용하여 실온에서 4시간 탈단백하여 chitin을 제조하였다. 본 실험에서 예비실험결과 3시간 이후에서는 유의차가 나타나지 않아 탈단백시간을 3시간으로 고정한 후 용매의 농도를 1N, 2N, 2.5N로 변화시켜 탈단백 시킨 결과 chitin에 함유된 단백질 함량은 33.19%, 37%, 39%로 실온에서 1N 이상의 농도에서는 탈단백율이 감소되는 것을 알 수 있었다 (Fig.10). 이러한 결과는 과도한 알칼리 처리에 의해서 원료인 오징어 연

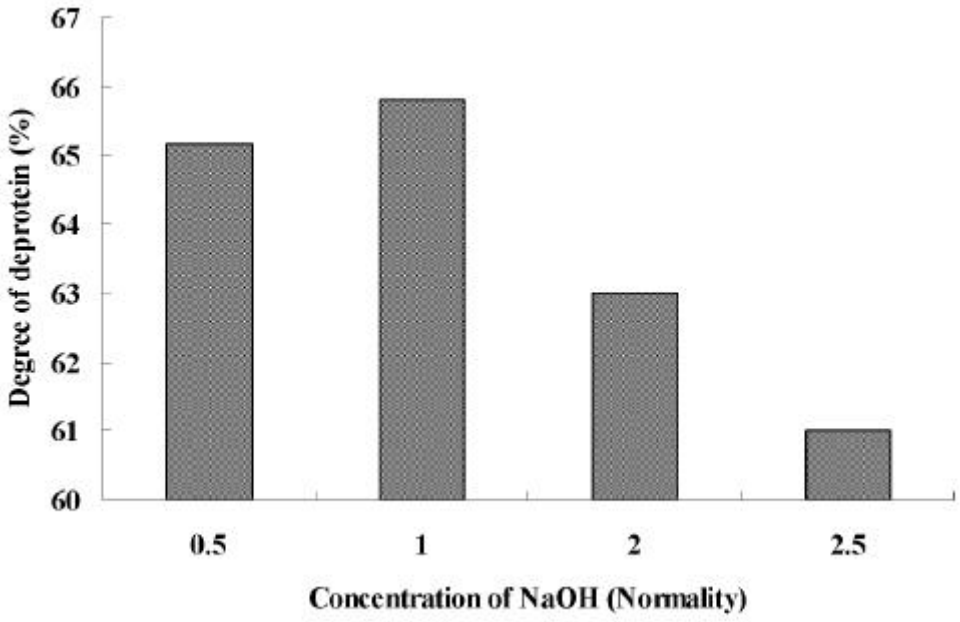


Fig. 10. Changes of removed protein contents from squid pen according to the concent of NaOH (25℃, 3hrs).

골의 조직이 붕괴되어 많은 잔기가 외부로 노출됨으로 인하여 오징어 뼈에서 분리되어져 나온 단백질이 재결합한 결과로 판단된다. 위의 3가지 농도 중 1N NaOH가 탈단백에 효과적인 것으로 판단되어진다. NaOH의 농도가 1N이하에서 탈단백 효과를 확인한 결과는 Table 3과 같다.

1N 이하의 값은 0.5N을 대표값으로 하여 실험하였다. 온도는 100℃보다 실온에서 잔류 단백질 함량이 높게 나타났으며, 농도는 0.5N보다 1N에서 높게 나타났다. 탈단백 반응시간은 3시간일 때 높은 탈단백율을 나타내었다. 이상의 결과로 오징어 연골의 탈단백 조건은 Kurita 등(2000)이 주장한 바와 같이 1N NaOH를 이용하여 실온에서 3시간 탈단백하는 것이 바람직한 것으로 판단되며, 본 실험조건에서 chitin의 수율은 33.4%였다.

2. Chitosan 제조 최적 조건

우수한 특성을 지닌 CM-chitosan을 제조하기 위하여 원료인 chitosan의 최적조건을 살펴보았다. Chitosan의 품질 및 기능적 특성은 탈아세틸화도와 분자량에 따라 달라지며 일반적으로 탈아세틸화도를 높이기 위해서는 오랜시간 동안 강알칼리 처리를 하게 되는데 반응시간이 길어질수록 분자량은 감소하게 된다. 탈아세틸화 반응으로 분자량이 감소하게 되면 양성자 amine group 과 C_6 hydroxyl group(-OH)간에 형성된 수소 결합이 많이 끊어지며, amide group의 질소원자는 양성자화(protonation)되어 수소결합이 불가능해진다(Bae, 1996). 그러므로 chitosan은 분자량이 크고 탈아세틸화도가 높을수록 항균성 및 흡착능 등의 많은 기능성을 가지게 되는데, 좋은 품질의 chitosan을 제조하

Table 3. Changes of crude protein contents in chitin according to the deprotein conditions

Temperature	Concentrate of NaOH	Time	Protein(%)
25℃	0.5N	1hr	36.99
		3hrs	34.82
	1N	1hr	34.33
		3hrs	33.19
100℃	0.5N	1hr	35.59
		3hrs	34.66
	1N	1hr	34.77
		3hrs	34.39

기 위해서는 두 가지 조건을 모두 만족할만한 조건의 반응시간을 찾는 것이 중요하다. 또한 chitosan의 품질에 따라 이후 제조될 carboxymethyl chitosan의 특성에 영향을 주게 되므로 반응시간에 따른 탈아세틸화도와 분자량을 측정하여 고분자의 높은 탈아세틸화도를 갖는 최적조건의 chitosan제조 반응시간에 대해 살펴보았다.

Fig. 11에서 분자량은 반응시간이 60분에서는 분자량 239,300 dalton으로 초기 분자량과 비교하여 분자량이 급격히 감소하였고, 80분간 반응시 189,200 dalton, 90분 반응시 180,000으로 분자량의 감소변화가 없었으며, 90분 이상에서 시간에서는 분자량이 다시 감소함을 알 수 있다. 90분 이상의 반응시간에서 분자량이 다시 감소하는 것은 과도한 반응조건에 의한 것으로 제조된 chitosan의 색도는 90분 이상 탈아세틸화 반응시 암갈색을 나타내며 반응시간이 증가할수록 암갈색화가 진행되어 180분 이상 반응시 검은 빛을 나타낸다.

반응시간 60분, 80분, 90분, 180분으로 증가함에 따라 탈아세틸화도는 75%, 81%, 87%, 90%로 변화하였다. 반응시간 90분일 때 탈아세틸화도가 높고 분자량 변화가 적은 chitosan을 얻을 수 있었으며, 반응시간을 90분이상 증가시킬 경우 반응시간에 따른 탈아세틸화도와 분자량의 변화가 적어 비효율적임을 확인하였다. 그러므로 40% NaOH를 이용하여 반응온도 110 115℃에서 반응시간, 탈아세틸화도, 분자량과의 상관관계를 고려하였을 때 가장 효율적인 탈아세틸화 반응시간은 90분이었다.

그러므로 본 실험에서는 90분간 반응시켜 탈아세틸화도 87%, 분자량 180,000 dalton인 chitosan을 제조하여 carboxymethyl chitosan을 제조하였다.

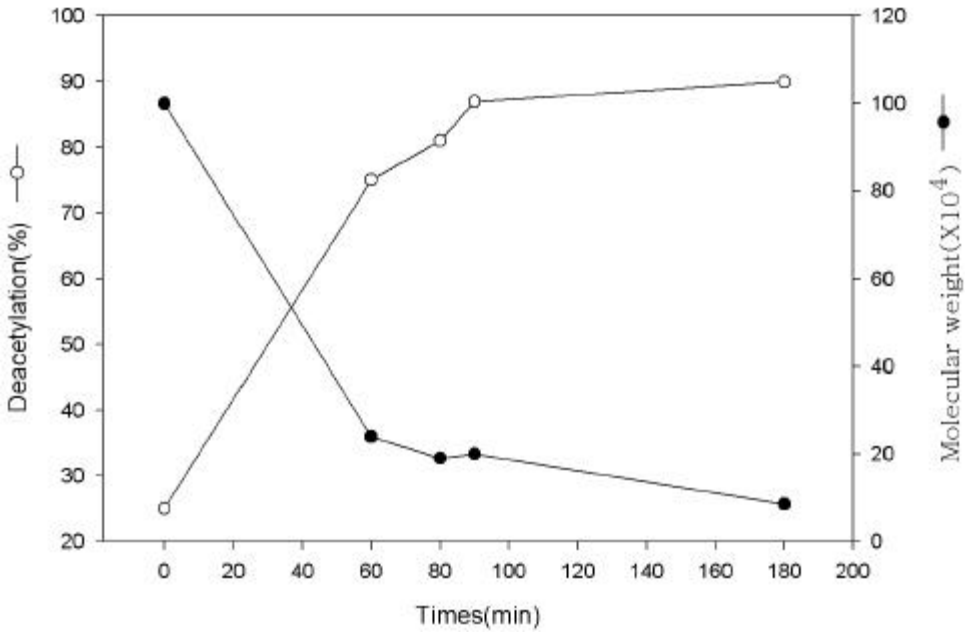


Fig. 11. Changes in molecular weight and deacetylation degree during the deacetylation of chitin for different times(40% NaOH, 110 115℃).

3. CM-chitosan의 물리화학적 특성

치즈의 수율과 탄력성 개선 목적으로 chitosan을 첨가하여 치즈를 제조한 결과 본 실험에서 사용한 탈아세틸화도 87%, 분자량 180,000dalton인 chitosan은 용해도가 낮아 suspension현상을 일으켜 첨가한 chitosan의 대부분이 우유의 표면에 위치하게 되어 균일한 치즈를 얻을 수가 없었다. 따라서 chitosan을 수용성 유도체인 CM-chitosan으로 제조하여 그 물리화학적 특성을 조사하였다.

3-1. 비점도, 분자량 및 용해도

제조한 CM-chitosan 0.01g, 0.05g, 0.1g, 0.5g, 1g을 각각 100ml 증류수에 녹여 25℃에서 고유점도와 분자량을 측정한 결과 3.6719ml/g, 46,300dalton이었다(Table 4).

또한 CM-chitosan의 농도가 1g/100ml이상에서는 gel화되어 jelly와 같은 특성을 나타내었으며 이는 육안으로 확인할 수 있었다. CM-Chitosan은 첨가와 동시에 흡착능이 작용하며 gel화는 치즈 첨가시 CM-chitosan 수용액의 분산을 저해하므로 최대농도를 1g CM-chitosan/100ml 로 설정하여 치즈 첨가용 CM-chitosan 용액을 제조하였다.

3-2. 각 농도별 단백질 흡착특성

CM-chitosan 수용액의 농도에 따른 단백질 흡착능을 측정하여 치즈 제조시 CM-chitosan 수용액 첨가비율을 결정하였고, 치즈내의 단백질 증가비율을 예

Table 4. The physicochemical properties of carboxymethyl chitosan

Molecular weight	46,362 dalton
Yield	73% (from chitosan)
Intrinsic viscosity	3.67
degree of deacetylation	92%

측하는 기초자료로 사용하였다. CM-chitosan 수용액 첨가시 BSA수용액의 단백질 함량이 25%로 감소하였고, 0.5% 1%의 첨가비율에서는 일정한 단백질 흡착능을 나타내었다(Fig. 12).

CM-chitosan 수용액 0.8% 첨가시 단백질 흡착능이 감소하였으므로 이를 확인하기 위하여 상대점도를 측정한 결과 CM-chitosan 수용액 0.8%에서 농도에 따른 상대점도의 기울기가 변화하였고, 이를 통하여 CM-chitosan 수용액의 임계농도가 0.8%임을 확인하였다(Fig. 13).

3-3. 치즈제조 온도에서의 CM-chitosan 수용액의 유동특성

치즈 제조시 CM-chitosan 수용액의 유동특성은 분산력과 제품의 품질에 중요한 인자로 작용하므로 치즈 제조 온도인 setting, cooking 1단계, cooking 2단계, 저장온도인 32℃, 46℃, 51.6℃, 4℃의 4가지 온도에서의 겉보기 점도를 측정하였으며, 1% CM-chitosan 수용액 첨가비율은 단백질 흡착결과를 기초로 하여 0.5%, 0.8%, 1%, 2%, 3%로 설정하였다.

겉보기점도를 측정한 결과 0.5%, 1%, 2%, 3% 첨가시 각 온도에서 유사한 겉보기 점도를 나타내었고, 임계농도인 0.8% 첨가시 높은 겉보기 점도를 나타내었다(Fig. 14).

이는 임계농도에서는 분자간의 결합력이 강하여 겉보기 점도가 높게 나타난 것으로 겉보기 점도 측정결과를 통하여 CM-chitosan 수용액 첨가비율 0.8% 첨가시 분산성 감소가 나타났다. 0.8%의 점도결과는 치즈 제조시 분산성 감소로 인한 단백질 흡착능 감소가 나타났으며, 측정결과는 단백질 흡착실험결과

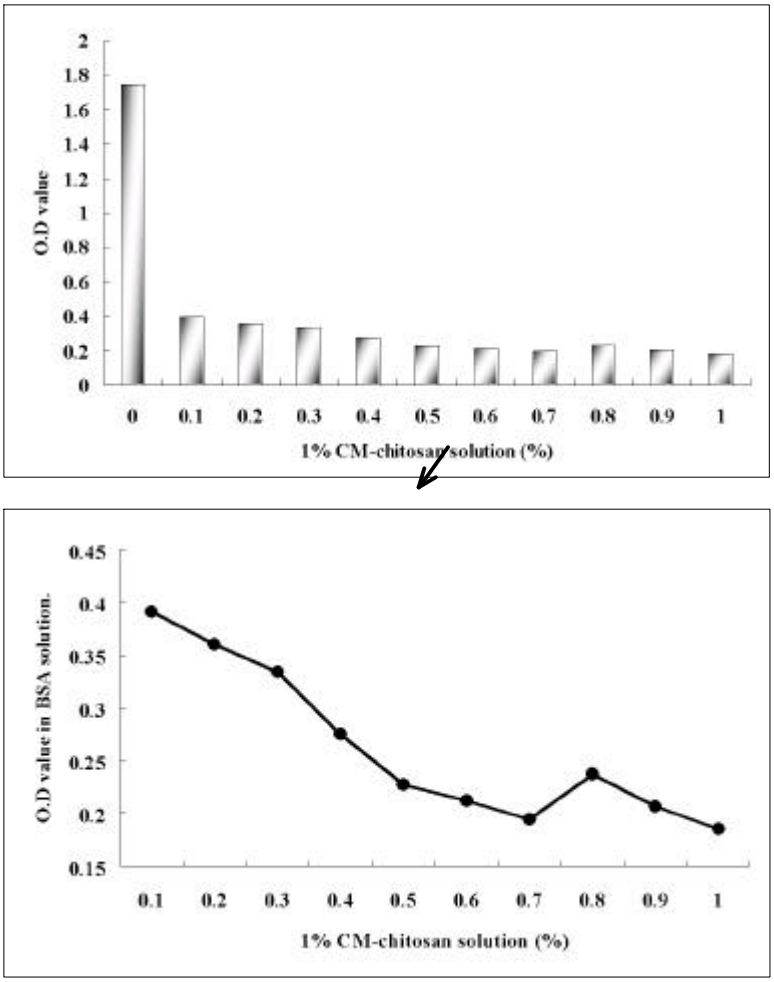


Fig. 12. The binding ability of BSA according to the additive percentage 1% CM-chitosan solution.

- BSA content : 1%
- Reaction time : 60min

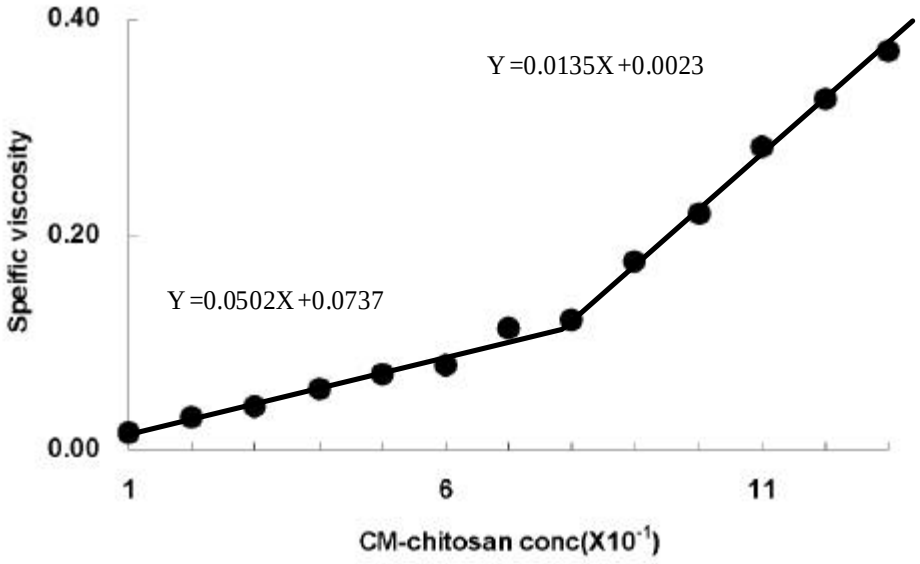


Fig. 13. Changes of specific viscosity according to the additive percentage 1% CM-chitosan solution.

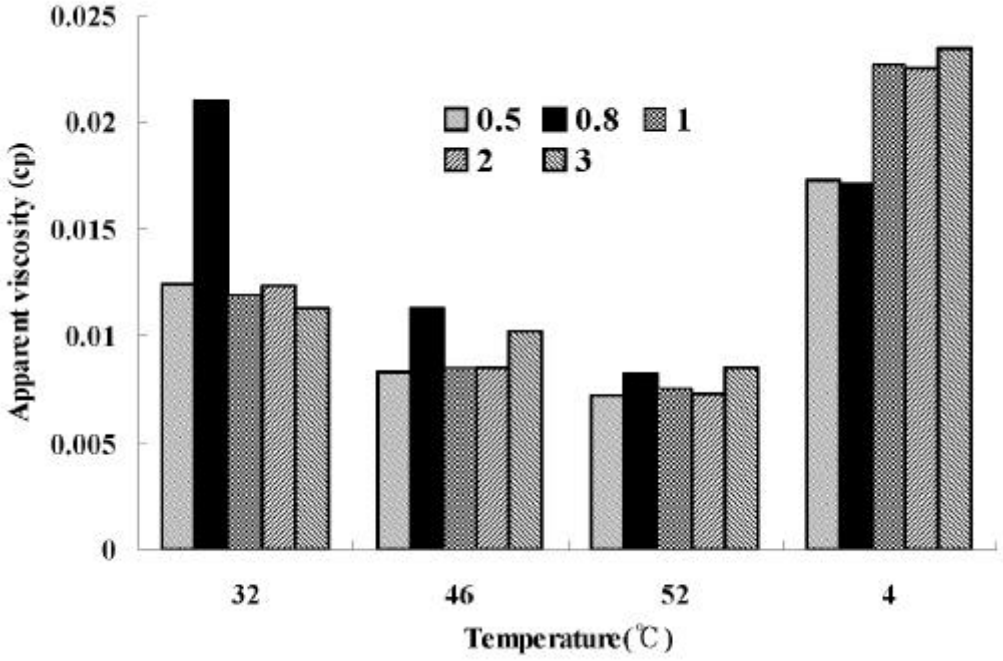


Fig. 14. Changes of apparent viscosity at different temperature conditions of cheese making.

에 나타내었다.

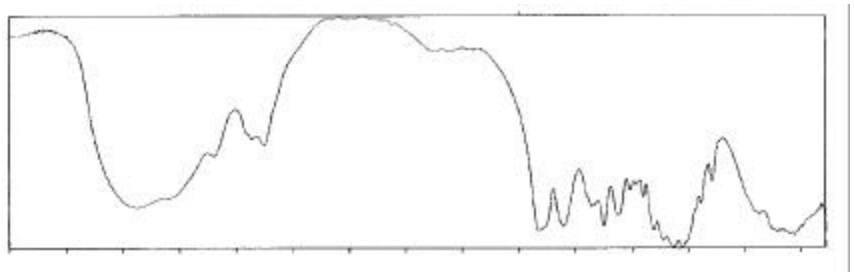
3-4. 적외선 분광 분석

조제한 chitin, chitosan 및 CM-chitosan의 화학구조를 비교해 보기 위하여 chitin의 IR spectrum과 chitosan 및 CM-chitosan의 IR spectrum을 Fig. 15에 나타내었다. Chitin의 경우 3447cm^{-1}(OH stretching), 2878 2890cm^{-1}(CH stretching), 1652cm^{-1}(amide I), 1550cm^{-1}(amide II), 1310cm^{-1}(amide III) 및 1020 1070cm^{-1}(CO stretching)에서 강한 흡수대가 나타났으며, chitosan은 chitin과 비교시 1652cm^{-1}(amide I), 1550cm^{-1}(amide II) 및 1020 1070cm^{-1}(CO stretching)에서의 흡수 peak 가 매우 약하였다. CM-chitosan의 경우에는 6번 탄소의 1차 hydroxyl기에 CH_2-C=O의 도입으로 인해 1440cm^{-1}에서 매우 높은 흡광도를 나타내었으며, 이와 함께 1020 1070cm^{-1}(CO stretching)에서도 높은 peak를 나타내어 CM-chitin과의 구조적 차이를 나타내었다.

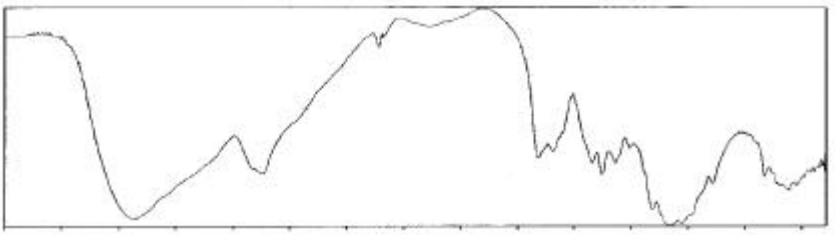
Ⅱ. CM-chitosan 첨가 Cottage cheese

1. 첨가조건에 따른 cheese 제조시간의 변화

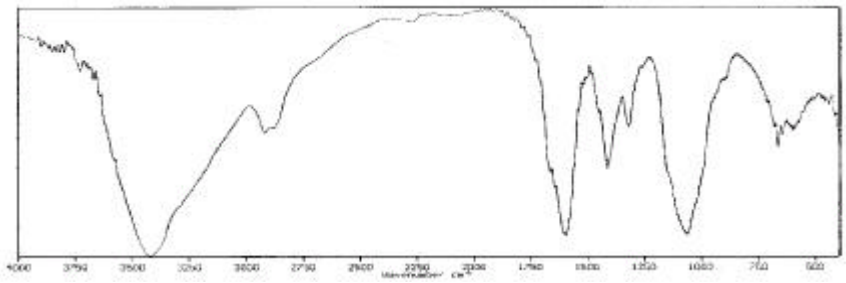
치즈는 숙성중 산도의 변화가 나타나게 되며 이러한 변화는 물성이나 구성성분의 변화를 나타내므로 산도는 중요한 특성인자중의 하나라 할 수 있다. Lee 등(1988)은 숙성 2주가 지나면 대부분의 치즈에서 pH의 감소가 일어난다고 하였는데, 이러한 원인은 젖산 생성작용에 의한 것이라고 보고하였다.



(A)



(B)



(C)

Fig. 15. Infra-red absorption spectra of β-chitin(A), chitosan(B) and CM-chitosan(C).

또한 CM-chitosan을 첨가함으로써 제빵 제조시 CM-chitosan이 가지는 기능적 특성인 노화억제와 항균성이 발현된다고 하였는데(Lee, 1997), 특히 치즈 제조에서 고려되어야 할 부분이 항균성이다. CM-chitosan은 항균성을 지니고 있는 것으로 알려져 있는데(Park, 1995), 이는 치즈제조에 있어 치즈 starter의 활성저하 및 불활성화로 인한 제조시간의 연장, 수율의 감소 등의 부정적 효과가 발생할 수 있으며, 치즈가 만들어지지 않을 수도 있기 때문에 고려해야 할 중요한 요인이다.

Cottage cheese 제조시 사용되어지는 starter(*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, Hansen社 R-703)는 젖산발효균으로 starter에 의해 pH가 저하되고 이러한 pH를 이용하여 cutting 시점을 결정짓는다. 이러한 cutting pH에 대한 의견은 다양한데, Yoon등(1993)은 환원유를 이용한 cottage cheese제조시 cutting pH를 4.6을 기준으로 하여 제조하였으며, 백 (2000)은 cottage cheese 제조시의 최적조건으로 고형함량 9.7% 원유, cutting pH 4.7이 되었을 때 가장 좋은 수율을 나타낸다고 하였고, Frank (1977)는 cutting pH를 4.7 이라고 하였다. Cutting pH 도달시간은 치즈제조공정시간 중 가장 많은 시간이 소요되며, CM-chitosan의 항균성이 작용한다면 cutting 시점이 늦어질 것이다. 그러므로 pH를 starter 첨가시부터 측정하여 무첨가 치즈(Control)와 CM-chitosan 수용액(1g/100ml)첨가군의 차이와 첨가비율에 따른 cutting pH 도달시간을 측정함으로써 치즈 제조시간과 연관성을 살펴보았다.

CM-chitosan 수용액을 원유량의 0.5%, 0.8% 1%, 2%, 3%, 4%의 비율로 첨

가한 결과 4% 첨가시 치즈 curd가 형성되지 않았으므로 최대 첨가량을 3%로 하였다(Table 5).

치즈의 setting 완료 시점인 pH 4.7까지의 제조시간을 측정한 결과 1% CM-chitosan 수용액 0.5% 첨가시 제조시간의 차이가 없었으며, 첨가비율 2%, 3% 보다 0.8%, 1% 첨가시 반응시간이 더 소요되었는데(Fig. 16) 이것은 항균성보다는 점도특성에 기인하는 것으로 판단된다. CM-chitosan의 온도별 점도변화(Fig. 14)에서 알 수 있듯이 32℃에서 0.8%와 1%가 높게 나타났다. 우유의 점도가 높게 되면 starter의 확산이 늦어지고 이로 인하여 pH 저하시간이 증가되어 치즈제조시간의 증가를 가져오는 것으로 생각된다. 그러나 pH 4.7까지 소요되는 시간이 무첨가 치즈의 경우 약 10시간 소요되고 CM-chitosan 첨가시 최대 1시간 증가되므로 CM-chitosan 첨가에 따른 제조시간의 차이는 미미하다.

2. 치즈의 수율

수율의 향상은 치즈산업에서 해결해야할 큰 과제중의 하나로써 수율향상을 위해서 첨가물 등에 대한 연구가 이루어지고 있다. 이미 앞서 CM-chitosan의 BSA(Bovin serum albumin)에 대한 흡착능을 통해서 수율을 예상하였으나 실제 치즈에서는 단백질 이외에도 지방, 칼슘 등의 무기물 등에 의해서도 영향을 받는다. 따라서 BSA를 이용한 CM-chitosan의 단백질 흡착능과 실제 치즈 제조시의 수율을 비교하여 그 경향을 살펴보았으며 실제 CM-chitosan 수용액을 첨가하였을 때 수율의 향상 여부 및 최대 수율 농도를 조사하였다.

Table 5. Cheese curd formation according to the additive percentages of 1% CM-chitosan solution

CM-chitosan concentration	Curd formation
0%	+
0.5%	+
0.8%	+
1%	+
2%	+
3%	+
>3%	-

※+ : form into curd, - : unform into curd

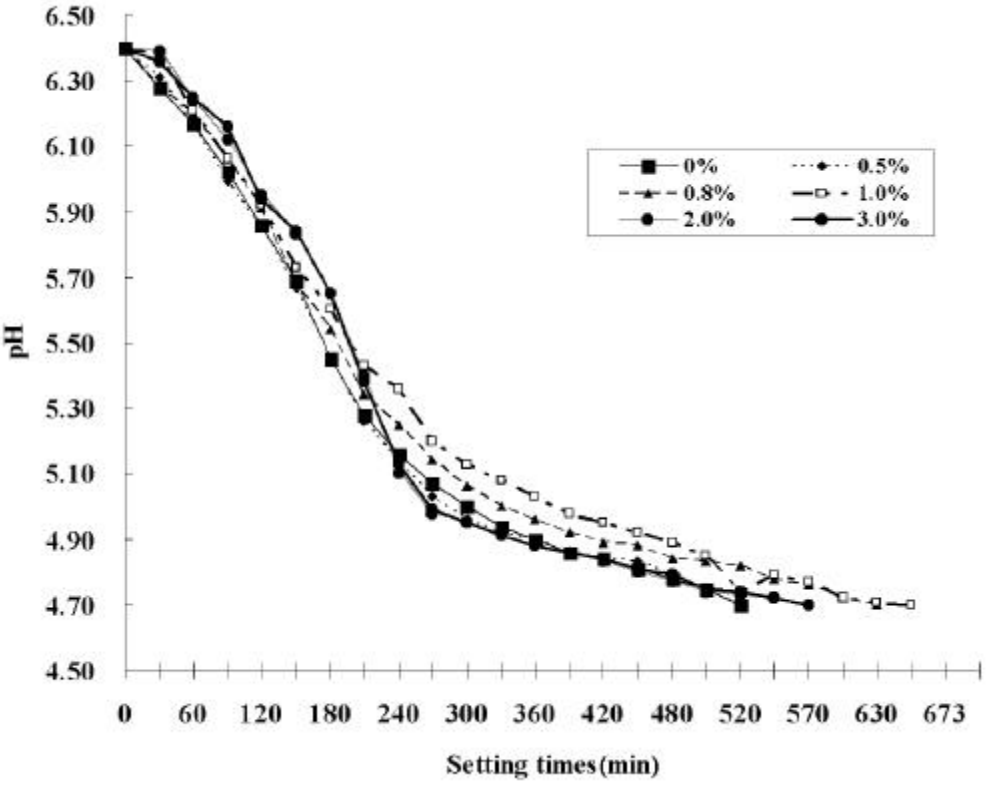


Fig. 16. Influence of setting times according to the additive percentages 1% CM-chitosan solution.

CM-chitosan 수용액 첨가 비율에 따라 21 28%의 수율 증가를 나타냈으나, 0.8%첨가조건에서는 수율 향상은 8%로 가장 낮은 값을 나타냈다. 이것은 CM-chitosan의 BSA 흡착실험에서 첨가농도 0.8%에서 단백질 흡착율이 낮았던 것(Fig.13)과 동일한 결과이다. 치즈 제조 4주 후의 수율을 비교한 결과 21% 41%의 수율 증가가 나타났다(Fig.17). CM-chitosan 첨가시 치즈 수율이 향상되었으며, CM-chitosan 용액의 유동특성과 단백질 흡착능이 수율향상 요인임을 확인하였다.

3. 저장기간에 따른 uncreamed cottage cheese의 이화학적 변화

식품에서의 저장성은 중요한 의미를 갖는다. Cottage cheese의 유통기간(shelf-life)은 약 14일이다. 본 실험에서는 CM-chitosan 첨가시 저장중의 이화학적 변화를 살펴보기 위하여 4주간 저장하면서 수분과 단백질 함량을 측정하였다.

3-1. 수분

수분은 치즈의 품질과 수율에 영향을 미치는 요인이다. 그러나 치즈에 있어서는 고형분 함량 13%이상(식품공전[고시 제 2000-18호, 유가공품])을 유지시켜야 하므로 물리적 특성을 유지하면서 수분함량을 높일 수 있는 조건에 대하여 조사하였다. CM-chitosan 첨가 치즈는 모두 18%이상의 고형분을 유지하여 식품규격을 만족하였다. 저장기간에 따른 수분함량의 변화를 살펴 본 결과 무첨가 치즈는 저장 2주를 기준으로 급격한 증감을 보였으나, CM-chitosan

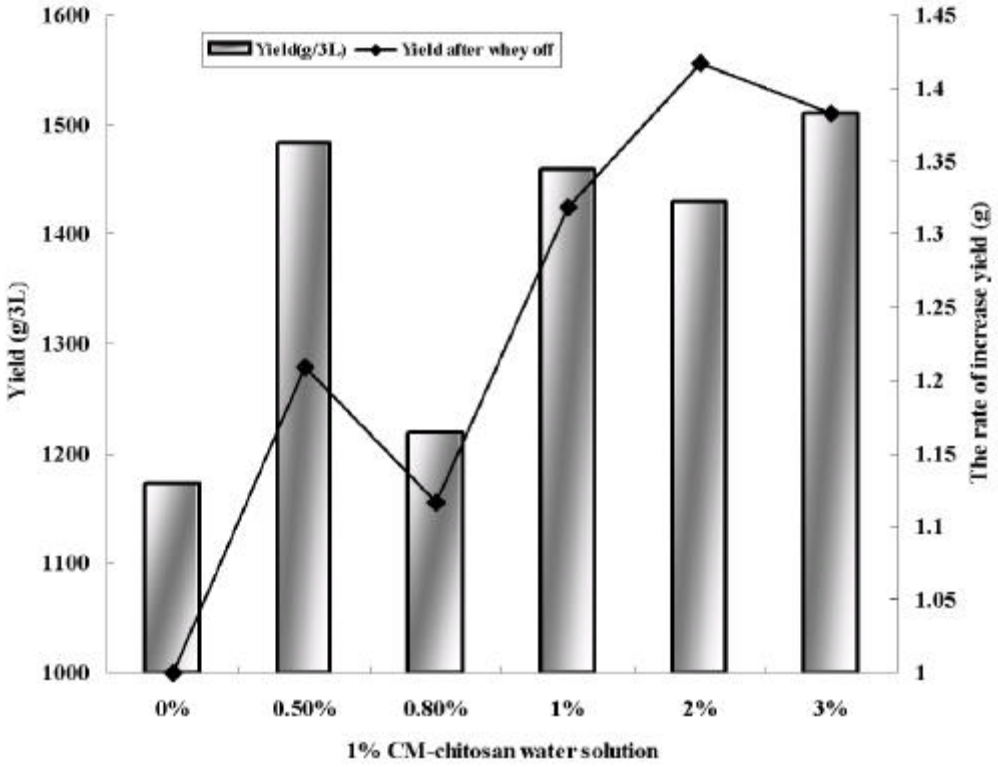


Fig. 17. Changes in yield according to addition of CM-chitosan (1% CM-chitosan water solution).

: cheese yield of 0weeks(g)

: ratio of increase CM-chitosan cheese / control cheese

첨가 치즈는 저장기간동안 수분함량이 완만하게 감소하였으며 무첨가 치즈와 비교하여 수분 함량이 높았다(Table 6).

이러한 결과들을 바탕으로 하여 CM-chitosan 수용액 첨가농도와 저장기간에 따른 수분함량을 이용하여 반응표면 분석법에 의한 통계적 접근을 통하여 CM-chitosan 수용액의 첨가비율 알아보았다(Fig. 18).

CM-chitosan의 함량과 저장기간, 수분함량의 상관계수(R^2)는 0.7427이었고 아래의 식에 의해 최적화되었으며, 저장기간($p>0.18$)보다 CM-chitosan ($p>0.00$) 첨가량이 큰 요인으로 작용하였다. 통계처리에 의한 CM- chitosan 수용액의 안장점은 1.57%로 계산되었다.

$$F = 73.011394 - 1.050804x_1 + 8.461877x_2 + 0.204086x_1^2 - 0.228813x_1x_2 - 2.444310x_2^2$$

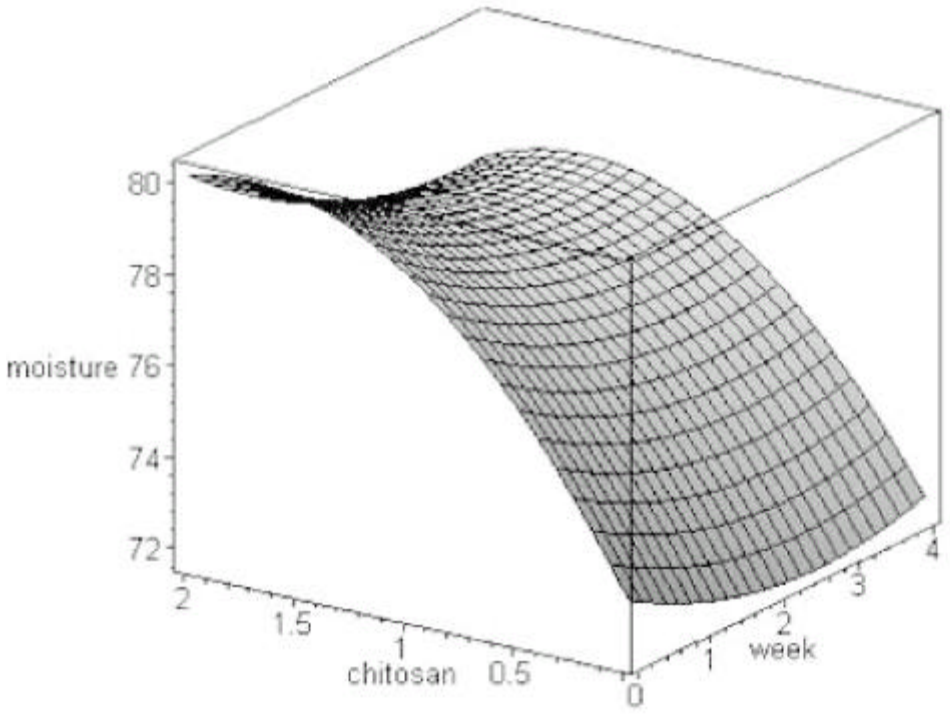
3-2. 치즈와 유청에서의 단백질 변화

Cottage cheese에 있어서 단백질은 고형분 중 높은 비율을 차지하며, 고형분 함량과 수율 변화에 큰 요인으로 작용하므로 CM-chitosan 수용액 첨가에 따른 단백질 함량의 변화를 살펴보았다. 또한 서론에서 언급한 바와 같이 CM-chitosan 수용액 첨가에 따른 유청으로 소실되는 단백질 변화를 조사하였다.

CM-chitosan 수용액 무첨가 치즈와 첨가 치즈 비교시 CM-chitosan 첨가 치즈의 단백질 함량이 높게 나타났으며 첨가비율과 단백질 함량은 비교적 비례하는 경향을 나타내었다. 그러나 임계농도인 0.8%와 최대 첨가농도인 3%에서는 첨가비율에 따른 상관성을 나타내지 않았다(Fig. 19).

Table 6. Change of moisture contents in cottage cheese with amount of 1% CM-chitosan solution for 4 weeks storage at 4℃

	CM-chitosan(1% solution)					
	0%	0.5%	0.8%	1%	2%	3%
0 week	73.0	78.1	79.3	76.8	80.7	78.9
1 week	71.1	77.4	78.3	75.5	79.1	78.1
2 week	70.0	76.9	78.2	75.7	78.2	77.1
3 week	71.7	76.6	78.0	75.3	77.3	77.8
4 week	71.5	75.9	77.8	74.7	77.9	76.7



$$F = 73.011394 - 1.050804x_1 + 8.461877x_2 + 0.204086x_1^2 - 0.228813x_2x_1 - 2.444310x_2^2$$

Fig. 18. Change of moisture contents in cottage cheese with amount of 1% CM-chitosan solution for 4 weeks storage at 4℃.

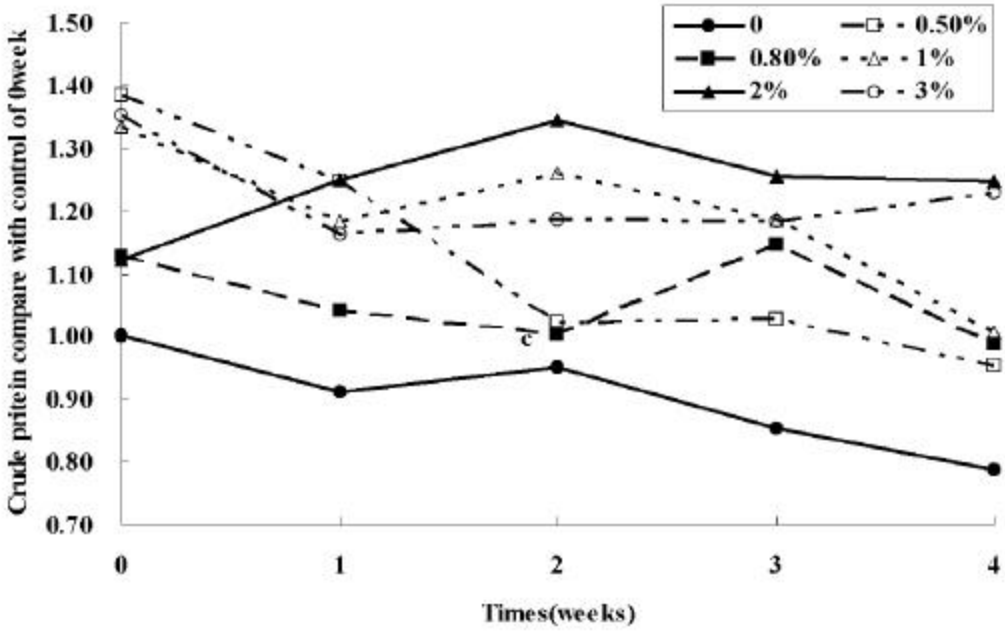


Fig. 19. Change of crude protein contents in cottage cheese with amount of 1% CM-chitosan solution for 4 weeks storage at 4℃.

CM-chitosan 수용액 최대 첨가비율인 3% 에서 단백질 함량이 낮게 나타난 것은 CM-chitosan이 저해 작용에 의한 것이다. 본 실험조건에서는 CM-chitosan 수용액 2% 첨가시 단백질 함량이 높고 일정하게 유지되었다. 이러한 작용은 CM- chitosan의 단백질 흡착능의 작용으로 유청에 의한 단백질 손실이 억제된 결과임을 확인하였다. 또한 저장 4주 후 유청에 의한 손실을 측정한 결과 CM-chitosan 수용액 2% 첨가시 수분과 단백질의 손실율을 각각 11%, 50% 감소시킬 수 있었다(Table 7, Fig. 20).

이러한 결과를 통하여 CM-chitosan이 첨가시 치즈내의 단백질 함량의 증가되며, 저장 중 무첨가 치즈와 비교하여 높은 함량을 유지함을 확인하였으며, 본 실험조건에서는 유청에 의한 수분감소를 억제하고 단백질 함량을 증가시킬 수 있는 최적조건은 CM-chitosan 수용액 2%였다.

4. 색도의 변화

Cottage cheese의 고유색상은 밝은 흰색이며, 저장기간에 따라 색도는 변화한다. 저장기간이 경과함에 따라 무첨가 치즈는 점차 노란빛을 나타내었고 무첨가 치즈에서는 고유의 색택을 유지하였다. 이를 색도 측정기(colorimeter JC801)를 이용하여 측정한 결과를 Table 8에 나타내었다. CM-chitosan 무첨가 치즈와 첨가치즈의 변화는 저장 2주부터 나타났으며, CM-chitosan 첨가시 치즈 고유의 백색을 유지할 수 있었다.

Table 7. The rate of whey off of cheese after 4 weeks storage at 4℃ according to amount of 1% CM-chitosan solution

CM-chitosan concentration	Whey off(w/w)
0%	32%
0.5%	35%
0.8%	27%
1%	28%
2%	21%
3%	27%

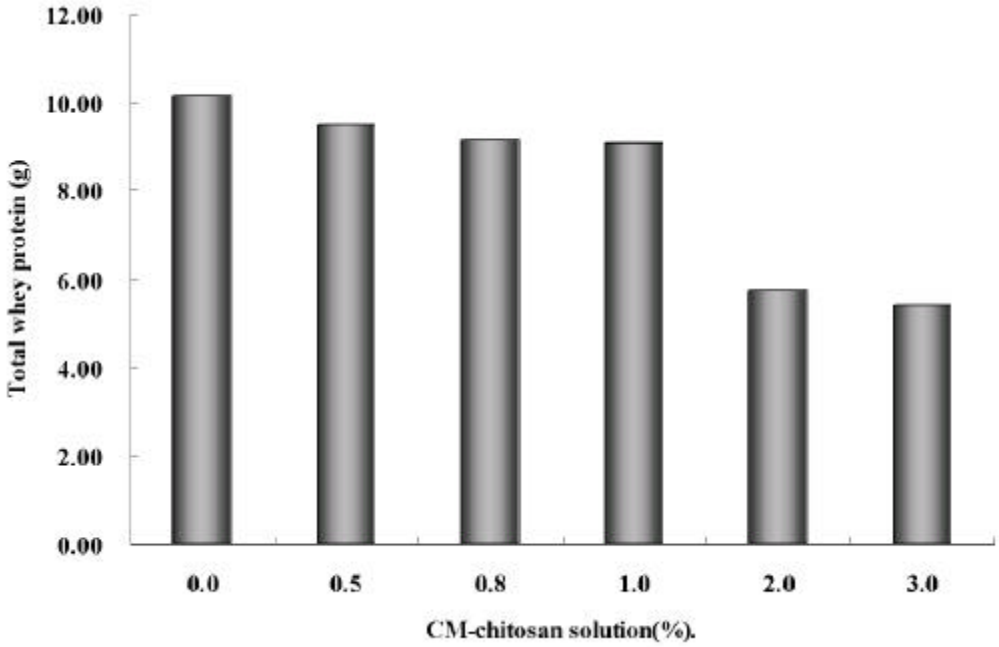


Fig. 20. The amount of total whey protein loss in 0 3% CM-chitosan cheese for 4weeks storage at 4℃.

Table 8. Changes of cottage cheese color with amount of 1% CM-chitosan solution for 4 weeks storage at 4℃

	Color	CM-chitosan solution					
		0%	0.5%	0.8%	1%	2%	3%
0 week	L*	94.72	94.02	94.56	94.79	93.89	93.87
	a**	-2.58	-1.98	-1.88	-1.56	-1.02	-1.76
	b***	8.56	8.45	8.36	8.25	8.55	8.62
1 week	L	93.42	94.02	93.86	94.32	93.54	94.01
	a	-2.42	-1.50	-1.84	-1.04	-0.80	-1.46
	b	9.85	9.23	8.91	9.01	8.99	8.83
2 weeks	L	92.91	92.44	94.47	94.24	93.19	93.77
	a	-2.20	-1.37	-1.51	-0.91	-0.72	-1.34
	b	11.09	9.70	9.45	9.51	9.62	9.16
3 weeks	L	94.27	93.23	93.84	90.02	91.28	90.31
	a	-1.20	-0.95	-1.01	-0.89	-0.78	-0.89
	b	11.57	9.49	9.22	8.84	9.14	9.22
4 weeks	L	95.05	93.89	92.75	92.96	93.19	83.20
	a	-2.02	-1.76	-0.31	-1.32	-0.75	-1.02
	b	11.86	9.59	8.84	9.49	9.26	9.44

* L ; lightness,
** a ; redness(+) or greenness(-)
*** b ; yellowness(+) or greyness(-)

5. 물성변화

이상의 결과를 통하여 CM-chitosan 첨가시 수율과 단백질 함량이 증가됨을 확인하였다. 그러나 수율과 고형분 함량의 증가가 좋은 품질의 치즈를 의미하는 것은 아니며, Path 등(1989)은 고형분 증가가 치즈 레올로지를 악화시키는 요인으로 작용한다고 하였다. 그러므로 CM-chitosan 첨가시 단백질 증가와 함께 치즈 레올로지의 변화를 살펴보기 위해 치즈 레올로지의 중요 항목인 비틀림(cohesiveness)과 탄력성(elasticity)을 측정하였다.

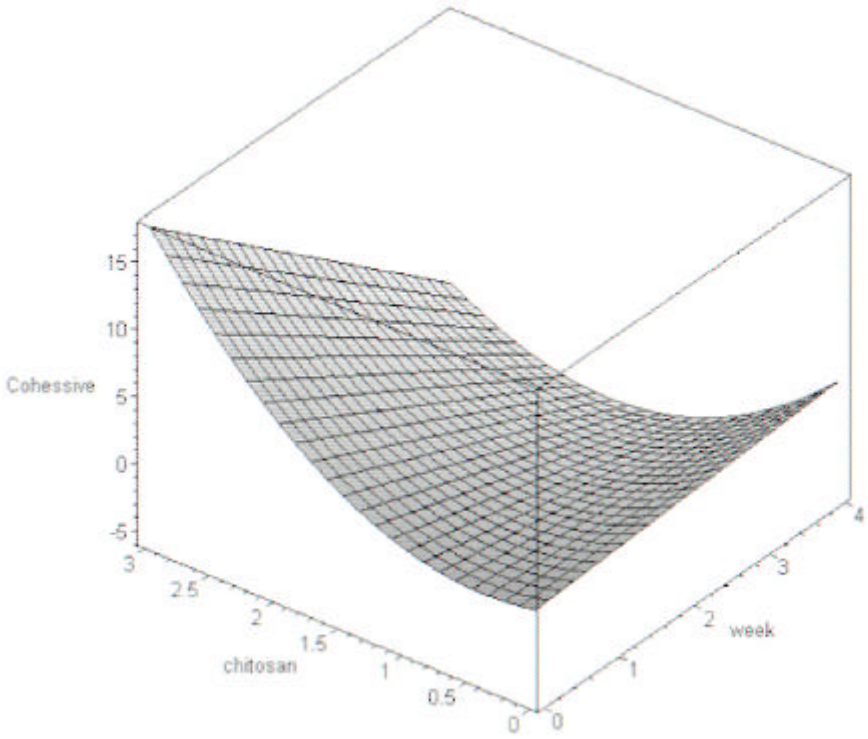
5-1. Cohesiveness

Cohesiveness는 점착성을 나타내는 것으로 치즈는 주로 빵 등에 발라서 이용하므로 spread property, 즉 얼마나 잘 부드럽게 도포되어지는가로 해석해야 할 것이다. Cohesiveness가 낮을수록 넓고 부드럽게 도포된다고 할 수 있다. CM-chitosan 수용액 첨가치즈와 무첨가 치즈의 cohesiveness 측정 결과 CM-chitosan 수용액 0.8%와 1%첨가시 점착성이 낮고 균일한 값을 나타내었다(Table 9).

또한 측정 결과를 이용하여 통계적 처리한 결과 상관계수(R^2) 0.7576으로 저장기간보다 CM-chitosan 조건이 주요요인으로 작용함을 확인하였고, 표면반응분석시 $F=1.024295+0.412312x_1-2.162170x_2+0.293830x_1^2-1.759089x_1x_2+2.259426x_2^2$ 식에 의하여 CM-chitosan 수용액 첨가조건을 계산한 결과 안장점이 1.24%임을 확인하였다(Fig. 21).

Table 9. Changes of cohesiveness of cottage cheese with amount of 1% CM-chitosan solution for 4 weeks storage at 4℃

	CM-chitosan solution					
	0%	0.5%	0.8%	1%	2%	3%
0 week	0.9	0.51	0.63	0.7	0.92	18.86
1 week	0.81	1.48	0.78	0.7	0.94	13.33
2 weeks	0.79	1.04	0.94	0.7	0.96	1.14
3 weeks	0.72	0.94	0.50	0.56	0.67	0.99
4 weeks	0.69	0.86	0.46	0.79	0.97	0.81



$$F = 1.024295 + 0.412312x_1 - 2.162170x_2 + 0.293830x_1^2 - 1.759089x_1x_2 + 2.259426x_2^2$$

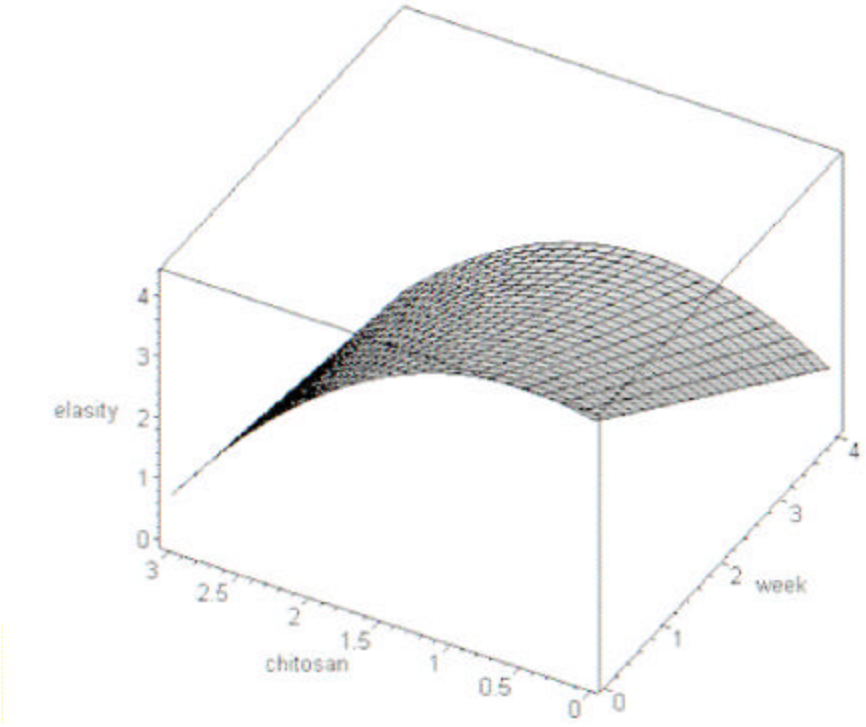
Fig. 21. Changes of cohesiveness of cottage cheese with amount of 1% CM-chitosan solution for 4 weeks storage at 4℃.

5-2. Elasticity

탄성은 치즈의 texture와 가공 특성에서 중요인자로 작용한다. CM-chitosan 무첨가 치즈와 비교시 첨가비율에 따라 동일하거나 높은 값을 나타내어 CM-chitosan 첨가시 탄력성이 유지·개선됨을 확인할 수 있었다. 본 실험조건에서는 CM-chitosan 수용액 2% 첨가시 탄성값이 높고 안정적인 값을 나타내었다(Table 10). 측정결과를 이용하여 $F=4.185774-0.816753x_1+0.603382x_2-0.588419x_1^2+0.207703x_1x_2$식에 의한 통계처리 결과 CM-chitosan 수용액 첨가조건 1.535877%에서 안장점을 얻을 수 있었다(Fig. 22).

Table 10. Changes of elasticity of cottage cheese with amount of 1% CM-chitosan solution for 4 weeks storage at 4℃

	CM-chitosan solution					
	0.0%	0.5%	0.8%	1.0%	2.0%	3.0%
0 week	3.0	3.0	4.0	4.0	5.0	3.0
1 week	4.0	8.0	6.5	4.0	5.0	2.0
2 weeks	5.0	5.0	6.0	4.0	6.0	5.0
3 weeks	5.7	5.5	4.0	7.0	5.0	5.5
4 weeks	4.5	5.5	3.0	5.0	5.8	5.0



$$F = 4.185774 - 0.816753x_1 + 0.603382x_2 - 0.588419x_1^2 + 0.207703x_1x_2$$

Fig. 22. Changes of elasticity of cottage cheese with amount of 1% CM-chitosan solution for 4 weeks storage at 4℃.

결론 및 요약

수용성 Chitosan의 유도체인 CM-chitosan의 식품분야에서의 이용 특히 치즈 산업에서의 이용을 위한 기초자료를 제시하기 위하여 전구체인 chitin, chitosan의 제조조건과 구조적 특성 및 수용액 상태에서의 CM-chitosan의 유동특성과 흡착능을 조사하여 환원유를 이용한 cottage cheese 제조시 수율향상과 단백질 함량의 증가 및 레올로지 개선을 위한 첨가제로써 CM-chitosan 용액의 이용에 대하여 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 제조 최적조건은 chitin은 1N NaOH, 25℃, 3시간이며, 수율은 33.4±2%로 조단백질 함량은 33.19%였다.

2. 오징어 연골을 이용한 chitosan 제조조건은 40% NaOH를 사용하여 110 115℃에서 90분 반응시 탈아세틸화도 90%, 분자량 18만을 갖는 최적조건의 chitosan을 얻을 수 있었다.

3. CM-chitosan은 임계농도는 0.8%이었으며, I.R spectra 분석시 6번 탄소의 hydroxyl기의 CH_2-C=0의 도입으로 인해 CM-chitin과 달리 1440cm-1에서 높은 peak를 나타내었다.

4. CM-chitosan 첨가시 치즈 setting 시간을 측정한 결과 CM-chitosan 첨가에 따른 제조시간의 변화는 없었다.

5. CM-chitosan 수용액 첨가시 치즈 수율이 첨가비율 0.5% 3%로 증가함에 따라 수율은 21 28%의 증가하였고, 임계농도인 0.8%에서는 5%의 수율 향상을 보였다.

6. 치즈 첨가시 일반성분 중 가장 크게 영향을 받는 것은 수분과 단백질로 상관계수(R2)는 0.7427, 0.6876로써 수분함량은 $F=73.011394-1.050804x_1+8.461877x_2+0.204086x_1^2-0.228813x_1x_2-2.444310x_2^2$ 식에 의해서, 단백질은 $F=13.784425+1.166061x_1+1.426884x_2-0.291071x_1^2+0.605325x_1x_2-1.171795x_2^2$ 식에 의해서 통계 처리되었으며, 안장점은 1.57%, 1.54%이었고, 저장기간보다 CM-chitosan 첨가비율에 의한 영향이 높게 나타났다.

7. CM-chitosan 수용액 첨가시 유청에 의한 단백질 손실 억제되었으며, 2%, 3% 첨가시 유청으로의 단백질 손실이 50% 감소되었다.

8. CM-chitosan 수용액 첨가시 색도 중 b값을 낮추어 저장기간동안 치즈 고유의 색이 유지되었다.

9. CM-chitosan을 첨가함으로써 치즈의 레올로지가 유지되었으며, 일부 개

선되는 효과를 나타내었다. cohesiveness는 $F=1.024295+0.412312x_1-2.162170x_2+0.293830x_1^2-1.759089x_1x_2+2.259426x_2^2$, elasticity는 $F=4.185774-0.816753x_1+0.603382x_2-0.588419x_1^2+0.207703x_1x_2$ 식에 의해 각각 1.24%, 1.54%의 안장점을 얻었다.

감사의 글

본 연구가 이루어지기까지 학문의 길로 인도하여 주시고 변함없는 사랑과 인내로 지도하여 주신 이근태 교수님께 깊은 존경과 감사를 표합니다.

아울러 부족한 논문을 정성껏 다듬어 주시고 깊이를 더해주신 전병수 교수님, 안동현 교수님께도 깊은 감사의 뜻을 전합니다.

그리고 평소 따뜻한 격려로 용기를 주신 본 학과의 장동석 교수님, 조영제 교수님, 김선봉 교수님, 양지영 교수님, 이양봉 교수님께 감사드립니다.

본 연구가 결실을 맺을 수 있도록 많은 관심과 조언을 해주신 공동실험실습관 박성민 박사님께 고개 숙여 깊은 감사의 마음을 전합니다.

아울러 화학공학 실험실에서 동고동락하며 땀과 수고를 아끼지 않았던 졸업생 송호수 석사님, 황선영 석사님, 류하나님, 학부생 김태우, 장재희, 최호현, 오승진, 이정미, 김선미, 임근식, 백성윤, 정해림, 강혜지 후배님들께 고마운 마음을 전하며 그 외 많은 도움을 주신 졸업한 선후배님들께도 감사드립니다.

바쁘신 와중에도 불구하고 조언과 격려를 해주신 경남대학교 강옥주 교수님, 공동실험실습관의 강순배 선생님, 정용실 선생님, 지성희 선생님, 이인회 선생님, 남양유업 박상훈 주임님, 박종훈 주임님, 보성냉장 지병준 과장님께 심심한 감사의 뜻을 표합니다.

힘겨운 시간 따뜻한 격려를 해준 임영선 박사님, 식품공학실의 이승진 석사님, 대학원생 박선영님에게도 감사의 마음을 전합니다.

항상 저를 믿어준 형님들에게도 감사의 마음을 전합니다.

끝으로 오직 자식 잘되기만을 바라시고 말없이 지켜보아 주신 아버지와 끊임없는 사랑으로 오랜시간 뒷바라지 해 주신 어머니께 이 논문을 바치고자 합니다.

참고문헌

Bae, H.S. 1996. A study on the proparation and characterization of highly deacetylated chitosan. J. Korean Society of Clothing and Textiles, 20(4), 682 689.

Byun, H.G. 1992. Syntheses of the derivatives of chitin and chitosan, and their physicochemical properties. National Fisheries University of Pusan.

Cho, H.R.. 1989. Antimicrobial activity and food preservative function of a low molecular weight chitosan. National Fisheries University of Pusan.

Choi, H.M. 2000. Chitosan and acetylchitosan from squid pen and their characteristics as functional materials. Pukyong National University.

Chun, J.H., H.J. Kang, and H.U. Kim. 1998. Studies on the improvement of the korean soft-type cheese. Korean J. Anim. Sci., 40(1), 79 88.

Elsevier Applied Science. 1992. Advances in chitin and chitosan. 188 194.

Frank Kosikowski. 1977. Cheese and fermented milk foods-second edition. Edwards Brothers Inc., 109 143.

Hong, Y.H. 1989. Influences of ingredients and melting temperatures on the physicochemical properties of process cheese. Korean J. Food Sci.

Technol., 12(5), 710 713.

Hong, Y. H. 1990. Physicochemical and textural characteristics of process cheese manufactured with different kinds and quantities of ingredients. Korean J. Anim. Sci., 32(7), 406 412.

Hong, Y. H. 1991. Physical and chemical properties of the process cheese on the domestic market. Korean J. Anim. Sci., 33(5), 287 391.

Hong, Y. H. 1995. Influenced of homogenization on physicochemical nutritional and processing properties of dairy products : A review. Korean J. Dairy Sci., 17(1), 59 72.

Jeon, Y.J., E.H. Lee and S.K. Kim. 1996. Bioactivities of chitin and chitosan(1). J. Chitin and Chitosan, 1(1), 413.

Jeong, E.J. and B.O. Lee. 1992. A physicochemical changes of mozzarella cheese during ripening. Korean J. Dairy Sci., 14(3), 220 226.

Keum, J.S., H.S. Jin and J.W. Kim. 1997. Studies on the ripening of low-fat cheddar cheese : Ⅱ. Proteolysis and free amino acid composition. Korean J. Food Sci. Anim. Resour., 17(2), 190 200.

Kim, D.H., C. Lee. K.O. Kim and Y.C. Lee. 1999. Physicochemical and sensory properties of water soluble chitosan. Korean J. Food Sci. Technol., 31(1), 83 90.

Kim, H.S. 1996. A study on the properties and utilization of chitosan film. Pukyong National University.

Kim, J.S., J.I. Chang and Y.K. Kim. 1976. Studies on cheese ripening-4. Degradation of nitrogenous compounds during the ripening of cheddar cheese. Korean J. Anim. Sci., 18(2), 182 188.

Kurita, K., Y. Kaji, T. Mori and Y. Nishiyama. 2000. Enzymatic degradation of β-chitin : susceptibility and the influence of deacetylation. Carbohydrate Poly., 42, 19 21.

Kurita, K., K. Tomita, T. Tada, S. Ishii, S. Nishimura and K. Shimoda. 1993. Squid chitin as a potential alternative chitin source : deacetylation behavior and characteristic properties. J. Polymer Sci., 31, 485 491.

Kurita, K., S. Ishii, K. Tomita, S. Nishimura and K. Shimoda. Reactivity characteristics of squid β-chitin as compared with those of shrimp chtin : High potentials of squid chitin as a starting material for facile chemical modifications. J. Polymer Sci.,(Part A: Polymer Chemistry) 32, 1027 1032.

Kwon, H.Y., B.O. Lee and Y.J. Kwon. 1989. Factor to increase the yields of cheese. Korean J. Dairy Sci., 11(4), 232 242.

Lee, B.O. and H.I. Ahn, 1984. Microstructure of cheese made from skim milk powder. Korean J. Food Sci. Technol., 16(3), 279 284.

Lee, C.W., H.J. Lee and K. Kim. 1998. A study on deacetylation of chitin for preparation of chitosan. J. Korean Institute of Chemical Engineers,

36(4), 496 501.

Lee, J.T. and J.W. Lim. 1988. Studies on the ripening of cheese made with lactic acid bacteria and yeasts - I. Changes of physico-chemical composition. J. Inst. Develop. of Livestock Prod., 15, 49 59.

Lee, J.W. and Y.C. Lee. 2000. The physico-chemical and sensory properties of milk with water soluble chitosan. Korean J. Food Sci. Technol., 32(4), 806 813.

Lim, S.D., H.S. Kim, K.S. Kim, I.W. Choi and H.U. Kim. 1996. A study on optimization of processing condition for cottage cheese manufactured by *Lactobacillus pentosus* LSDM. Korean J. Dairy Sci., 18(2), 129 138.

Moon, B.I. 2000. Adsorption property of shrimp shell chitosan to water soluble proteins. Pukyong National University.

Moon, C.S., B.S. Kim, K.S. Park and J.W. Hur. 1997. Preservative effects of chitosan on acorn starch gels. Food Engineering Progress, 1(2), 9 1 97.

Park, C.K. 1998. Improvement of rheological properties of fish protein by enzymatic partial hydrolysis. Pukyong National University.

Park, G.S. and J.W. Lim. 1998. Comparative studies on the manufacture of cheddar-type cheese with reduced fat content : 1. Changes in physicochemical properties of low fat cheese. J. Inst. Develop. of

Livestock Prod., 25, 9 22.

Park, G.S. and J.W. Lim. 1998. Comparative studies on the manufacture of cheddar-type cheese with reduced fat content : 2. Proteolysis and ripening degree of low fat cheese. J. Inst. Develop. of Livestock Prod., 25, 23 32.

Park, I.D. and Y.H. Hong. 1992. Development of Fresh cheese and whey drinks using milk components. Korean J. Food Sci. Technol., 24(3), 209 214.

Park, J.Y. and J.R. Rosenau. 1984. Melting characteristics of cheese. Korean J. Food Sci. Technol., 16(2), 153 158.

Park, S.M. 1995. Rheological properties of the carboxymethyl chitin and it's application to food. National Fisheries University of Pusan.

Park, S.Y., J.K. Ahn, J.S. Goh and H.U. Kim. 1990. Properties of commercial processed cheese in Korea. Korean J. Dairy Sci., 12(4), 371 383.

Patrick, F.F., P. Timothy, M. Timothy and L.H. Paul. 2000. Fundamentals of cheese sicence. Aspen Public., 153 340.

Sannan, T., K. Kurita, K. Ogura and Y. Iwakura. 1978. Studies on chitin(7. I.R. spectroscopic determination of degree of deacetylation). Polymer, 19, 458 459.

Tolaimate, A., J. Desbrieres, M. Rhazi, A. Alagui, M. Vincendon and P.

Vottero. 2000. On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin. Polymer, 21, 2463 2469.

Yoon, Y.C, S.S. Kim and H.C. Kwon. 1998. Studies on the cottage cheese manufacture with reconstituted milk. Korean J. Dairy Sci., 15(1), 66 71.

Youn, S.K. 2001. Effect on storage property and quality in sausage by added chitosan. Pukyong National University.

Yu, J.H. and J.H. Hwang. 1981. Studies on the viscosity variation of milk and milk products. Korean J. Anim. Sci., 23(1), 54 61.

곽해수. 1992. **발효유제품 산업의 기술개발 현황과 미래**. **생물산업학회**, 5(2), 77 83

김영교, **김영주**. 1981. **우유와 유제품의 과학**. **선진문화사**, pp298 329.

김현욱외 13명 공저. 1999. **유가공학**. **선진문화사**, pp373 414.

김형기, **양종범**, **윤원호**. 1999. **최신농산식품가공학**. **세진사**, pp161 183.

백승천. 1991. Cottage cheese **제조의 최적조건 탐색에 관한 연구**. **한국유가공기술과학회**, 9(1), 1 9.

식품공전. **고시 제** 2000-18**호**.

이부웅, **권호영**. 1988. **치즈의 수율에 미치는 요인과 수율 증가방법**. **한국유가공기술과학회**, 6(1), 14 22.

이부웅. 1984. Cheese **변성도를 결정하는 생화학적 방법**. **한국유가공기술과학회**, 3(2), 124 133.

이재영. 1973. **유가공학**. **선진문화사**, pp122 141.

이재구. 1982 **우유 및 유제품 검사법**, pp170 218.

장희진. 1998. **식품공업의 물질관리와 신제품개발**. **세진사**, pp141 171.

한국유가공기술과학회. 1997. **우유 유제품 시험법**. **선진문화사**, pp513 560.