〔農化 第 37 卷, 第 4 号, p. 214~219, 1963〕

マーガリンの品質に及ぼす微生物添加の影響 (第 1 報)*

カビ接種の影響

中沢君敏, 新谷 勲, 高木嘉寿子 (財団法人全日本マーガリン協会)

昭和 37 年 10 月 10 日 受 理

緒 言

マーガリン品質改良の手段として細菌を応用することは 1877 年 H. A. Mott⁽¹⁾ がマーガリンに sour milk を利用して風味を高めることに成功して以来, 乳酸発酵させた発酵乳などの形で広く用いられている。しかしカビについては従来むしろ極力これの発生防止に重点が置かれてきたが, マーガリンの変質または品質改良の研究のための応用に関してはなんら報告されていない。バターの場合について T. R. Vernon⁽²⁾ はバター中に存在するカビや酵母の中にはバターの品質改良に役立つものがあり, その効果 (脂肪分解, 蛋白分解など) についてはより正確に評価せらるべきであると述べている。

著者は油化学会誌報告⁽³⁾において, カビ発生時のマーガリンの受ける影響について多く述べた。この場合, カビの加水分解酵素の作用により酸価 (A. V.) の著しい上昇をきたし, さらに乳糖, グリセリンより生成したエチルアルコールとエステルをつくり, エステル臭生成の原因になると思われた。しかし, この現象はラウリン油を含む場合に限り, その他の場合は分解もごく僅かで, エステル臭発生もないことが示された。

今回ラウリン油**およびソフト油***をそれぞれ含む配合油を脱脂乳と乳化して無菌的にマーガリンを調製し, これにカビ 10 種をそれぞれ加え, 前回自然発生の場合と比較してその変化の状態を経時的に観察し, その影響を検討した。

試料および実験方法

使用した原料油脂とマーガリン配合は次のとおり。

原 料 油 脂	m. p.	A (ラウリン油配合)	B (ソフト油配合)
鯨 硬 化 油	34.0°	40%	40%
精 製 牛 脂	38.3°	30%	30%
ヤシ硬化油	27.4°	30%	—
棉実白絞油	—	—	30%

A, B 両配合油の特数測定値は次のとおり。

	酸 価 (A. V.)	鹼化価 (S. V.)	ヨウ素価 (I. V.)	ロダン価 (Th. V.)	過 酸 化 物 価 (P. O. V., meq./kg)	融点 (m. p.)
A	0.23	212.0	44.4	39.1	0.0	33.7
B	0.17	196.5	75.6	56.0	1.2	33.2

マーガリン配合

配合油 : 81.0%

乳化剤 : 0.5% Myverol 18-00*** 0.3%, レシチン 0.2%

食 塩 : 2.5%

脱脂乳 : 16.0% 市販脱脂粉乳 2.4 部を水 13.6 部にとかした 15% 溶液

着色剤 : 2/10⁵ イエロー AB : イエロー OB = 1 : 1

* The Influence of Added Microorganism on the Quality of Margarine. Part I. The Influence of Mold Inoculation.

By Kimitoshi NAKAZAWA, Isao NIYA, Kazuko TAKAGI (Japan Margarine & Shortening Makers Association, Foundation)

** ラウリン酸を主体とするヤシ油, パーム核油, パバス油のような植物油を称す。

*** オレイン, リノール, リノレン酸などを主体とする普通一般の植物, すなわち綿実, 大豆, 落花生, コーン, ナタネ油などを称す。

**** Distillation Products Industries (Rochester 3, N. Y.) の製品で硬化ラードを原料とし, 純度 90% 以上を含むモノグリセライド。

第1表 試料および使用菌種

配合油	試料		No.	菌種	
	A	B		カ	ビ
マーガリン試料	対照	対照	—	—	—
	A-0	B-0	—	—	—
	A-1	B-1	1	<i>Penicillium roqueforti</i>	Thom IAMV 17-7
	A-2	B-2	2	"	<i>caseicolum</i> Bainier IAM-H 5691
	A-3	B-3	3	"	<i>citrinum</i> IAM 7008
	A-4	B-4	4	<i>Aspergillus oryzae</i>	IAM J-17
	A-5	B-5	5	"	<i>oryzae</i> KB (0-8-1)
	A-6	B-6	6	"	<i>usamii</i> IAM 2185
	A-7	B-7	7	"	<i>niger</i> NRRL 330
	A-8	B-8	8	"	<i>saitoi</i> IAM 2242
	A-9	B-9	9	"	<i>awamori</i> IAM 2300
	A-10	B-10	10	<i>Rhizopus javanicus</i>	Takeda

通常マーガリン製造において脱脂粉乳は 10% 水溶液を用いるが、今回は乳固形分を増加してカビ発生を容易にするため、特に 15% 溶液を用いた。

分析試料は次の第1表に示すように、A, B両配合に10種のカビを接種したもので、配合油、対照を含めて24試料をつくった。試料マーガリン製造はミクサーを使用し、毎回内容物 600 g

を55°前後で処理した。その際毎回容器はまず次亜塩素酸ソーダの約2%溶液で、ついで殺菌水道水でよく洗滌して使用した。最初30秒低速撹拌後、別に調製した「カビ接種脱脂乳」10 mlを加え、高速で1分撹拌し、ついで氷水中に浮かべたペトリ皿11枚に流し込み、固めて試料とした。

カビの接種 上記10種のカビを麴寒天による斜面培地にそれぞれ接種し、25°で2日間培養した。別に上記脱脂乳を滅菌試験管に10 mlずつ分注し、間歇滅菌し、これに前記培養したカビをそれぞれ接種し、25°に2日間培養した。これをカビ接種脱脂乳とし、マーガリン製造に使用した。

以上のように調製したマーガリン試料は全部25°保持の定温器中に貯え、3日目毎に10回にわたり(昭37.4.30~昭37.5.27)その外観、風味の変化、A. V., P. O. V. の変化につき試験した。試料採取は同一試料たる11皿中1は外観検査のため保留、他を5皿ずつ2組にわけ、毎回各皿より2~3 gずつとり、5皿分をよくまぜ合せて2組の試料をつくり、上記項目につき測定した。

試料の分析方法 A. V., P. O. V. (Wheeler 改良法), S. V., I. V., Th. V., m. p. (上昇融点) はすべて油脂分析試験法⁽⁴⁾によった。カルボニル価 (CO. V.) は Kaufmann method⁽⁵⁾ によったが、数値は試料 g 中の CO の mg 数を以て示した。

10回の試験終了後、残試料を合し湯煎上にとかして大体水分を分離除去した後、分液漏斗中で芒硝と振り、次

第2表 外観の経時的観察

	1~9回			10回			ヨードホルム反応
	カビ	エステル	異臭	カビ	エステル	チーゾ臭	
A-0	—	—	—	—	—	—	—
1	4回土	—	3回土	+	+	+	—
2	5回土	5回+	3回土	++	+	—	—
3	4回++	—	—	++++	—	—	—
4	3回土	3回+	—	+	++	—	++
5	3回土	3回+	—	++	++	—	++
6	4回+	3回+	2回土	+++	++	—	+
7	4回土	4回+	—	+	++	—	++
8	4回++	3回+, 4回++, 5回消滅	2回土	+++	—	+	—
9	5回土	3回+	—	++	++	—	++
10	4回土	4回++	—	+	+++	—	+++
B-0	—	—	—	—	—	—	—
1	5回土	—	—	+	—	—	—
2	4回土	—	—	++	—	—	+
3	4回++	—	—	+++	—	—	+
4	4回+	—	—	++++	—	—	+
5	—	—	—	+	—	—	+
6	4回土	—	—	++	—	—	+
7	4回土	—	—	+	+	—	++
8	5回土	—	—	+	—	—	—
9	4回土	—	—	+	—	—	—
10	4回土	—	—	+	—	—	—

備考: 発生状態の強弱は土, +, ++ の順に、また1~9回では発生の時期を示した。

に50°恒温器中でろ過して、原料配合油を回収した。

回収油の色相測定は試料約5 gをクロロホルムに溶して25 mlとし、厚さ1 cmのセルで430 mμのフィルターを用いて吸光係数 (E) を測定し、試料 g 当りに換算した (コタキ製作所光電比色計使用)。

エステル臭の元であるエステル生成を確かめるため、次の方法により遊離させたエチルアルコール溶液をヨードホルム反応⁽⁶⁾により定性的に確認した。すなわち、回収油50 gをフラスコにとり30% NaOH水溶液40 mlを加え、逆流冷却器をつけ、小火加熱でケン化、硫酸分解 (逆流冷却器下に) 後、静かに蒸溜し初溜10 mlをとり、アルコール検出用試料とした。この液2~3 mlを試験管にとり、ヨードホルム反応によりエチルアルコールの確認およびその量の比較を行った。この場合特有の刺激臭と黄色沈澱生成の程度により判定した。

実験結果および考察

各試料について測定の結果, 各 5 皿よりなる 2 つの数値は大差なく, 試料は正しく分布されていることを知ったので, その平均値をとった. 10 回にわたる外観検査の結果は主としてカビ発生, エステル臭発生, その他(異臭, チーズ臭など)の 3 項に大別できるので, これを 1~9 回, 10 回の 2 つの場合にまとめて第 2 表に記載した.

この場合, 一般に A 配合は B 配合よりも作用がはげしい. 全般に 4 回目よりカビ発生を見た. エステル臭発生は A 配合の特徴と思われる現象で, 3 回より No. 4, 5, 6, 8, 9 が, そして最後 (10 回) には No. 3 を除き全部発生した. 特にはげしかったのは No. 4, 5, 7, 10 であった. また No. 1, 8 は 10 回にチーズ臭を発した.

第 1 図-1 A 配合 A.V.

第 1 図-2 A 配合 A.V.

第 2 図-1 B 配合 A.V.

第 2 図-2 B 配合 A.V.

B配合では全般に匂の変化はほとんどなく、ただ10回にNo. 4, 5, 7にわずかにチーズ臭を發したと、No. 7にエステル臭を發生したことが珍しい現象と思われた。

次に、外観とA.V.上昇の状況をカビの各種属別に見ると、*Penicillium* 属 No. 1, 2, 3 はみなエステル発臭が少ないと同時にA.V.上昇も少ない。特にA-3はカビ生育は最高(+6)であるが、エステル臭は全くない。*Aspergillus* 属のNo. 4~9ではNo. 4, 5はA配合ではエステル臭がはげしく、B配合ではチーズ臭を發した(前回⁽⁹⁾のカビ自然發生の場合でもB配合にチーズ臭を發生した)。A.V.上昇も両者共非常に高かった。No. 6はA, B両者共にカビ發生もA.V.上昇もはげしかった。これに反してNo. 7は両者ともカビもA.V.も少ないが、B-7にエステル臭を發したことは特異である。A-8では3回にエステル臭を發したが、5回には消滅し、10回にはチーズ臭に変わり、はげしい変化を示した。No. 9は両者ともカビ、A.V.少なく、またエステル臭も初めから終りまであまり変らなかった。*Rhizopus* 属 No. 10は両者ともカビは少ないが、A.V.は高く、特にAのエステル臭は最高であった。

エステル臭は第2表に併記したヨードホルム反応により定性的に確認され、その強弱も比較的明確に示されたので、これによりエステル生成量を比較推定することができた。B配合でエステル臭を發したNo. 7はこのテストで卅の強い反応を示したが、その他No. 2, 3, 4, 5, 6はいずれも+の反応で、試料中に少量のエチルアルコールの存在を示した。

著者らは前報告⁽⁹⁾(金属添加の影響)においてカビの自然發生の状態を16週にわたってしらべたが、A配合ではA.V.は漸次誘導期間を経て上昇し、またエステル臭を發したが、今回は直接カビを好適条件の下に接種したため反応は極めて迅速で、A, B両配合ともほとんど直線的に、特にB配合ははげしくA.V.の上昇をきたした。B配合はA配合のように低級酸を含みぬため、油脂分解の低いことは当然予想されるところであるし、また前回試験では鉄添加のため全般に酸化傾向強く、特にB配合では不飽和脂肪酸を多く含むためこの傾向がことさらに強く、そのためカビ發生も少なく、A.V.の上昇は押えられ、著しく低い結果を示した。今回もこの状態を予想したところ、結果は全くこれに反し第2図のようにB配合の急激な上昇が示された。すなわち、A.V.上昇の最高値はA 9.5に対してB 22.2であった。この場合、B配合では分解脂肪酸が大体そのまま存在するのに対し、A配合では生成脂肪酸がエステル、ケトンなどに変ることが多いためA.V.上昇が低いのではないかと考えられる。またエステル臭は従来の例では一般にB配合には見られなかったが、No. 7にのみ見られたのはこの菌種の特異性(低級酸をつくるなどの)によるのではないと思われる。さらにまたA配合のA.V.上昇(第1図)は大体エステル生成に比例するよう思われた。すなわち、A-4, 5, 6, 10はエステル臭はげしく、しかもA.V.上昇も高い。しかしB配合ではこの点詳かでない。以上のようにB配合におけるA.V.の上昇、エステル臭發生、エステル臭とA.V.の関係などの問題

第3図-1 A 配合 P.O.V.

第3図-2 A 配合 P.O.V.

第4図-1 B 配合 P.O.V.

第4図-2 B 配合 P.O.V.

第3表 回収配合油分析

	P.O.V.	A.V.	CO.V.	S.V.	I.V.	Th.V.	差	m.p.	色相 (E/g× 1,000)
A-oil	1.6	0.4	4.4	211.6	44.6	39.6	5.0	34.2	33
0	2.2	1.0	4.8	211.7	44.9	40.0	4.9	34.0	29
1	2.1	4.2	4.8	211.8	45.0	40.4	4.6	34.1	33
2	2.0	5.7	6.9	211.6	44.9	39.5	5.4	34.0	31
3	2.0	4.2	5.5	211.7	44.8	38.9	5.9	33.6	32
4	2.0	8.5	5.4	211.7	45.2	39.5	5.7	34.0	30
5	2.6	11.0	5.3	211.5	46.4	40.6	5.8	34.0	28
6	3.5	10.0	5.3	211.7	44.7	38.5	6.2	33.6	51
7	2.6	8.7	5.2	212.0	45.1	38.9	6.2	33.5	33
8	2.5	7.8	4.8	212.0	45.9	38.3	7.6	33.0	20
9	3.0	6.3	6.5	212.0	45.2	39.5	5.7	34.1	31
10	2.2	9.6	6.8	211.9	45.0	39.5	5.5	32.0	26
B-oil	7.0	0.4	3.5	193.5	76.7	58.5	18.2	33.1	30
0	8.7	1.7	4.7	193.7	77.1	57.8	19.3	31.5	27
1	5.9	21.2	7.8	193.9	77.0	57.3	19.7	31.0	18
2	6.7	14.3	5.6	193.8	76.8	57.3	19.5	31.6	23
3	4.5	6.6	5.9	193.8	77.8	57.1	20.7	31.6	30
4	5.1	21.5	7.6	193.5	78.0	58.7	19.3	32.1	13
5	5.6	19.8	5.4	193.8	75.7	58.5	17.2	31.9	16
6	6.8	24.2	6.4	193.9	76.8	56.3	20.5	30.7	24
7	7.2	7.9	6.2	193.7	76.6	58.4	18.2	31.8	29
8	5.3	8.8	6.0	193.6	77.4	58.7	18.7	31.9	23
9	6.4	16.1	6.8	193.9	77.5	58.4	19.1	32.1	18
10	7.3	19.3	7.5	193.8	77.1	57.4	19.7	30.5	17

については今後さらに研究を重ねる予定である。

P.O.V. の変化については第3, 4 図に掲載した。

試料は乳成分を含み, また前回のよう鉄を含む特別な酸化の悪条件もなかったため, A, B いずれも P.O.V. 上昇は非常に少なかった。A は特に P.O.V. が低く, 6~7 回までは 0, 10 回目の最高値が 1.0~3.2, B でも 3.2~5.3 であった。しかし, この場合対照試料も同様であって, 特にカビの作用による P.O.V. の変化は見受けられなかった。B-7 は最高値 5.3 を示したが, これとて酸敗臭など全然感じられなかった。

回収油の分析 (第3表) において A.V., P.O.V. 以外の点では全般に大きな変化は認め

られなかった。CO.V. は変化少ないが, 大体 A.V. に比例して上昇するように見られた (たとえば B-1, 4)。なお本試料は回収油であるため低級ケトンなどの一部揮散も予想されるところである。S.V. は全般に変化が認められない。I.V.-Th.V., m.p. および色相 (退色および着色) の点において多少の変化が見られた。A-8 は退色はげしく, A-6 は着色はげしい場合で, またともにカビの生育がはげしかった。また, B-4 もカビ量最大の下に退色はげしく, A.V., CO.V. も高かった。

マーガリン品質保持の立場において, エステル臭発生は極力避けねばならないので, ラウリン油の存在においてカビの接種または発生は思わしくない。しかし B 配合でチーズ臭を発した *Aspergillus* 属の No. 4, 5, 7 などではラウリン油を含まない配合においてその適用の如何によっては興味ある結果を示すのではないと思われる。

総 括

ラウリン油およびソフト油をそれぞれ含む A, B 両配合油よりマーガリン調製に当り, カビ 10 種を接種し, 各試料についてカビ生育, エステル臭発生の状況, A.V., P.O.V. の測定などを行い検討したところ, およそ次の結果を得た。

(1) エステル臭は A 配合では No. 3 を除き全部発生したが, 予期しなかった B 配合で No. 7 のみ僅かに発生した。また, これはヨードホルムテストにより確認され, その反応の強弱により生成量の多少を推定することができた。

(2) チーズ臭は A-1, 8; B-4, 5, 7 に発生した。

(3) A.V. は A, B 両配合とも直線的に上昇している。しかも予想に反して B の上昇が特にはげしかった。なお A 配合では A.V. の上昇は大体エステル臭の程度に比例すると思われた。

(4) P.O.V. は一般に非常に低く, カビの作用による影響は見受けられなかった。

(5) カビ, 臭気などの点で一般に A 配合は B 配合よりはげしい影響をうけた。また, 全般にカビ生育のはげしかったのは No. 3, 6, 8 であった。

(6) *Penicillium* 属 (No. 1, 2, 3) は全般に作用緩やかで, 特に No. 3 はカビ生育は最高であるが, エステル臭は皆無であった。*Aspergillus* 属 (No. 4~9) は一般に作用がはげしい。特に A-4, 5 はエステル臭強く, B-4, 5 はチーズ臭を発した。*Rhizopus* 属 A-10 はエステル臭最高であった。

(7) 回収油は A. V., P. O. V. の他は全般に変化が少ないが, 一部にカビ生育のはげしい場合退色, 着色の変化をうけた。

終りに, 本研究に終始多大の御指導, 御協力を賜った東大農学部津郷研究室松岡博厚氏に深甚の謝意を表します。

-
(1) K. Snodgrass : "Margarine as a Butter Substitute", Stanford University Press, Calif., 1930, p. 150.	(5) V. C. Mehlenbacher : "The Analysis of Fats and Oils", The Garrad Press, Champaign, Ill., U. S. A., 1960, p. 216.
(2) T. R. Vernon : <i>Dairy Inds.</i> , 2, 255-6 (1937); <i>C. A.</i> , 31, 8048 (1937).	(6) S. P. Muliken : "A method for the Identification of Pure Organic Compounds", Vol. I, 1914, p. 166.
(3) 中沢君敏, 新谷 助, 井室素子 : 油化学, 10, 573 (1961).	
(4) 日本油化学協会 : 油脂分析, 試験法, 理化書院 (1956).	
-