



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Sour cream製造について
Author(s)	三河, 勝彦; 高橋, 伸昌; 有馬, 俊六郎 他
Citation	北海道大学農学部附属農場報告, 12, 146-150
Issue Date	1964-02-28
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/13276">https://hdl.handle.net/2115/13276</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	12_p146-150.pdf



# Sour cream 製造 について

三河勝彦・高橋伸昌  
有馬俊六郎・橋本吉雄

バターやチーズなど醗酵乳製品の芳香成分の主体をなすものが Diacetyl である事は良く知られている<sup>2,6,8)</sup>。

Sour cream (Cultured sour cream) は脂肪率 17~18% のクリームをバタースターターを用いて醗酵させたもので、野菜、果物、肉類や魚類料理のドレッシングやタッピングに使用され、芳香成分として Diacetyl を含むため欧米ではかなり広く消費されているけれども、わが国ではあまり利用されていない現状である。

われわれはこの Sour cream の製造試作を行ない、その製造条件に検討を加えるため、今回は特に添加物に関して実験を行なった。

## I. 実験材料および方法

1. **Sour cream の製造** 米国マサチューセッツ州立大学 Dairy Technology Dept. のテキスト<sup>18)</sup> に準ずる方法で、本学第二農場生産のクリームを脂肪率 17~18% に調節し(これに安定剤としてゼラチンを加える事もある)、82~85°C に加熱した後 2,000 lbs の圧力で Single stage の Homogenizer に 2 回かけ、その温度で 20~30 分間殺菌を行なう。殺菌の終わったクリームは培養温度(24°C)迄冷却し、これに Diacetyl を生産するヘテロ醗酵菌を含む Lactic starter を 3% 加え、三角フラスコまたは大型試験管に分注し綿栓またはアルミ箔でその口を覆う。これを滴定酸度が約 0.6% になる迄 24°C で醗酵させ、その後インキュベーターからとり出した Sour cream はこれを冷蔵庫(2~3°C)に入れ、エージングを行なって製品とする。

2. **Lactic culture および Starter** 使用菌種は本学農学部応用菌学教室より分与された *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Leucon-*

*ostoc citrovorum*, *Leuconostoc dextranicum* の 4 種類である。各々の Culture はリトマス入り滅菌脱脂乳に 1 日おきに 3 回以上、24°C で 1% の Inoculum を用い植え継がれたものである。

Starter は還元脱脂乳(脱脂粉乳 10 g+水 90 ml)または生脱脂乳を 100°C 50 分間殺菌したものに、植継いで来た Culture を 1% 接種し、24°C で 20~22 時間培養して使用した。

### 3. 酸度の測定及び Starter の活性度測定

Sour cream の酸度は 10 g を秤量し、これに等量の水を加え、フェノールフタレンを指示薬として N/10-NaOH で滴定し乳酸 % で示した。Starter culture の活性度測定は HERRALL & ELLIKER<sup>11)</sup> の方法に準じて行なった。すなわち、先ず還元脱脂乳 10 ml づつを綿栓試験管に分注し 15 lbs の圧力で 10 分間滅菌したものを培地とする。試験を行なう際にはこの培地を前もって 24°C に加温し、被験 Culture より 0.3 ml を移植する。次にこれを 24°C で 6 時間培養後、試験管の内容物を三角フラスコに移し 5 ml の水で試験管を洗い、それも三角フラスコに入れ、フェノールフタレンを指示薬として N/10-NaOH で滴定し、乳酸酸度で示すものである。

4. **pH** 10 g の試料に等量の水を加えガラス電極 pH メーター(柳本製)により測定した。

5. **蛋白分解度の測定** 試料 1 ml に水 4 ml 及び 0.4 M-TCA(トリクロール酢酸) 5 ml を加えよく攪拌して 30 分間放置する。その後これを濾過し、その濾液を 5 倍に希釈した液の 280 m $\mu$  における吸光度を Beckman 型分光光度計(日立製)で測定した(OD<sub>280</sub>)。

6. **Diacetyl の定量** HETZEL<sup>10)</sup> によるもので反応の原理は次のようである。

Diacetyl + *o*-Phenylenediamine →

2,3-Dimethylchinoxaline + 2 H<sub>2</sub>O

方法は先ず試料 20 g を水蒸気蒸溜し、その溜分を 10 ml ずつ 2 回とする。次にこれを発色させるために 1% *o*-Phenylenediamine 液 (Bé 6.7 の HCl を 3 倍に希釈したものに *o*-Phenylenediamine を 1% 濃度に溶解する……使用のつと調製) 0.5 ml を加えて攪拌後、直射光を当てぬようにしながら 30 分間放置し、更に Bé 6.7 の HCl を 3 倍に希釈したものの 2 ml を加えて 335 m $\mu$  における吸光度を測定する (比色計は 280 m $\mu$  の吸光度測定に使用のものと同じ)。同時に、水を用いて蒸溜の段階から全く同じ操作を行なったものをコントロールとする。一方、純 Diacetyl を希釈し発色させて検量線を作成する。

各溜分はそれぞれ単独に発色させ吸光度を測定し検量線により Diacetyl を算出した後、これを加え合わせて試料の Diacetyl 量とした。

7. 一般分析 灰分および水分は試料約 5 g を精秤し常法により行なった。蛋白質 (Total N) は試料約 0.2 g を精秤しマイクロキエルダール法により測定した。風味は乳製品教室のスタッフ (学生を含む) 5~10 名の判定を総合した。

## II. 実験結果および考察

Starter として使用する細菌を選択するため、乳酸を主に生成するホモ乳酸菌 2 種と、Diacetyl を生産するヘテロ乳酸菌 2 種とから 4 個の組合せを作り、殺菌した還元脱脂乳を培地として合計 3% になるように各 Culture を植え、その酸生成を HERRALL & ELLIKER 法に準じて測定した結果 (第 1 図)、ホモ乳酸菌 9:ヘテロ乳酸菌 1 の割合のものが 5:5 の割合の組合せよりも高い酸生成を示し、一方接種する 1 代前に各割合で混合した Culture は接種する際に混合したものより酸度が高かった。菌種については *Str. lactis* を用いた 2 個の組合せ (図の C および D) が高い酸生成を示した。

NURMIKO<sup>16)</sup> は *Str. lactis* が *Leuconostoc* のある種の Strain の生育を促進する Folic acid ("Citrovorum factor") を葉酸から作り出す事を報告して

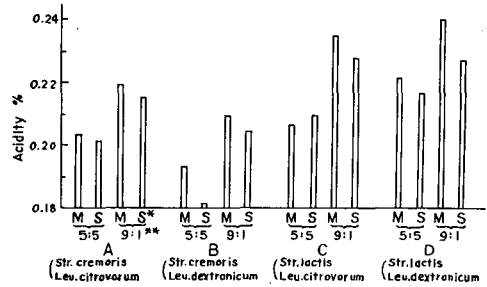


Fig. 1 Acidity of starter cultures with varied inoculum rate and combination of bacterial species.

\* M: formerly mixed culture, S: culture mixed at the inoculation.

\*\* These figures indicate the rate of each inoculum, i.e. *Streptococcus*: *Leuconostoc*.

Table 1. Diacetyl production by two selected starters.\*

	Diacetyl (r/20 g of sour cream)	
	24 hr	48 hr
( <i>Str. lactis</i> / <i>Leu. citrovorum</i> )	98	85
	93.5	86
	94.5	91
( <i>Str. lactis</i> / <i>Leu. dextranicum</i> )	97	90.5
	95.25	87
	96.5	89

\* formerly mixed 9:1

いるが、上の事実はこれを裏書きするものであろう。また、1 代前に混合した方が酸度の高いのは共棲に対する馴れを意味するものと考えられる。

上の実験から酸生成力の高い 2 個の組合せ、すなわち *Str. lactis* 9: *Leu. citrovorum* 1 および *Str. lactis* 9: *Leu. dextranicum* 1 をえらび、これを Starter として Cultured sour cream を製造し、その Diacetyl 生成量を第 2 図の検量線を使用して測定算出した結果 (第 1 表)、両 Starter 間には殆んど差がみられなかったので、以後は主に *Str. lactis*, *Leu. citrovorum* の組合せ Starter (9:1 の割合で 1 代前すなわち Bulk starter 製造の際両種を混合) を用いて製造を行なった。

なお、Starter の使用量を 2%, 4% と変化させて製造し、その酸度を測定したが (第 2 表) 大きな差はみられなかった。

ヘテロ乳酸菌による Diacetyl 生成の基質とし

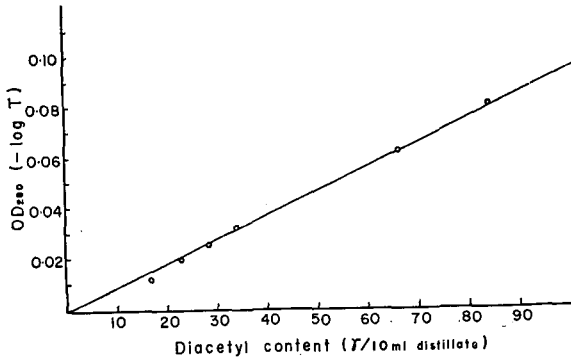


Fig. 2 Standard curve for diacetyl estimation with HETZEL's method.

Table 2. Acidity of sour cream compared with 2% and 4% starter.

	Acidity (%)			
	19 hr	24 hr	41 hr	48 hr
2 %	0.30	0.35	0.48	0.49
4 %	0.34	0.38	0.49	0.52

ては一般にクエン酸が知られているので<sup>2,6a,14,15)</sup>, 0.3%のクエン酸ソーダ (Starter を加える直前に殺菌して添加する<sup>6a)</sup>を加えて製造を試みた結果 (第3図), クエン酸ソーダ添加区が Diacetyl 量, 酸度共に高く, Diacetyl は添加区で最高 132 r/20g を示したのに対し無添加の場合は最高 124 r/20g であった。しかし培養開始後 10~20 時間の間に最高量に達した Diacetyl はその後急激に減少した。

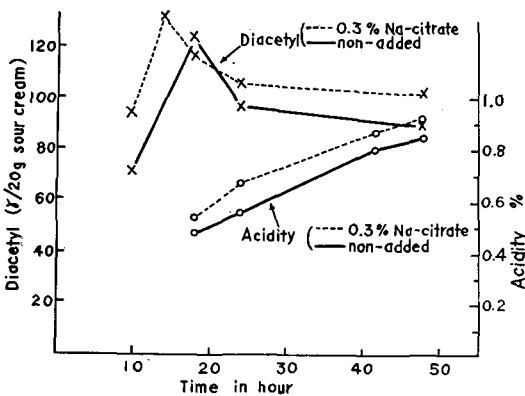


Fig. 3 Effect of added sodium citrate on acidity and diacetyl content of sour cream.

Diacetyl が減る現象は広く認められている<sup>6a,13)</sup>。LIGHTBODY<sup>12)</sup> は *Str. diacetylactis* を用いた実験

で, 13~18°C の温度範囲において Diacetyl は 16~24 時間で最高になり, 次いで減少の後 2 日目には再び少しずつ増加すると報告している。SEITZ ら<sup>17)</sup> は *Str. diacetylactis* を用いてこの原因を追求し, 菌体抽出液中に存在する DPN-dependent の Diacetyl reductase が Diacetyl を分解する事を明らかにした。酸度に関しては, 共棲させた方が高い値を示し (同時に *Str. lactis* 単独の Starter で製造した Sour cream (クエン酸ソーダ無添加) の酸度は 18, 24, 42, および 48 時間について各々 0.351%, 0.387%, 0.765%, および 0.801% であった), そのうちでもクエン酸ソーダ添加区において高かったが 0.5% に達するには 18~24 時間を要した。

なお, 共棲 Starter 使用の 2 種の製品の風味については両者の間に殆んど差がなかった。

次に *Str. lactis* の蛋白分解能を促進させてヘテロ乳酸菌の発育を高める<sup>6b)</sup> ために, クエン酸ソーダの他に 0.05% の炭酸カルシウムを加え, または酸生成を高めるため 0.5% グルコースを加えて (あるいは両方を添加) Sour cream の製造を行なった (第4図および第5図)。炭酸カルシウムは乾熱滅菌, グルコースは蒸気殺菌をして Starter 添加と同時に加えた。

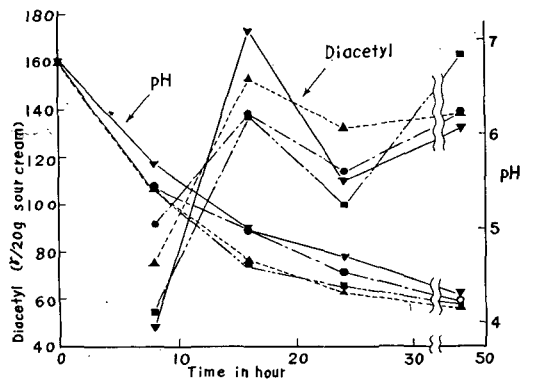


Fig. 4 Effect of added glucose and/or Ca-carbonate on pH and diacetyl content of sour cream.

	0.5% glucose	0.05% Ca-carbonate	0.26% Na-citrate
A ●—●	+	+	+
B ▲—▲	+	-	+
C ▼—▼	-	+	+
D ■—■	-	-	+

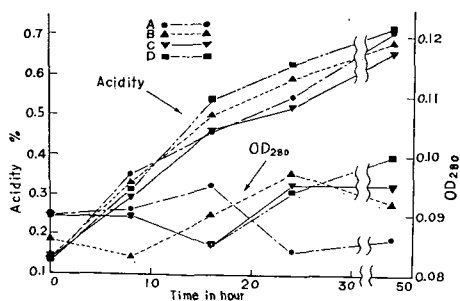


Fig. 5 Effect of added glucose and/or Ca-carbonate on acidity of sour cream and OD<sub>280</sub>\* of its TCA soluble portion.

\* Optical density at 280 m $\mu$ .

第4図においてAおよびCはクエン酸ソーダおよび炭酸カルシウムが共に入っている試料であって、この2種のミックスのpHはどの培養時間においても他の2種よりも高かったが一方、グルコースはpHを下げる効果をもたらした。なお、Diacetyl 最大量を示す16時間におけるpHは4.6~5.0であった。

Diacetyl 量は16時間で最大を示し、24時間で一旦低下した後再びゆるやかに増加したが、これはLIGHTBODY<sup>12)</sup>の*Str. diacetylactis*を用いて行なった実験とよく一致するものである。しかし、添加物による変化は、16時間において最大値を示すC試料が他の時間では別の試料よりも低い値を示すなど一定しておらず、特定の傾向として本実験から結論づける事はできなかった。

第5図にはトリクロール酢酸処理濾液の280 m $\mu$ における吸光度OD<sub>280</sub>を示したが、ここでは経時的な変化も添加物の差による変化もみられなかった。この事は*Str. lactis*のここに使用した Strainには蛋白分解能がないのか、それとも、ある程度分解されてもそれが*Leuconostoc*により消費された結果なのかは判然としない。HAMMERは炭酸カルシウムの添加により蛋白分解は促進されると述べており<sup>6b)</sup>、またDiacetyl生成量に特定の傾向がみられなかった事などから、この原因は前者すなわち、使用した*Str. lactis*が蛋白分解能のない Strainであったと考える事もできる。しかし一方炭酸カルシウムを加えない第3図に示した実験において*Str. lactis* 単独 Starter 使用の場合と、*Str.*

*lactis* および *Leu. citrovorum* を共棲させた Starter を使用した場合とでは(いずれもクエン酸ソーダ無添加)、酸度について両者の間に18, 24, 42 および 48 の各培養時間における差が0.126%, 0.162%, 0.036%, および 0.045% ある事は共棲による影響と考えられる。この場合、先に述べたようにもし蛋白分解能が全く無いと仮定すれば、分解産物のペプチド以外の酸生成促進物質を考えなければならぬ。

第5図の酸度については、炭酸カルシウム添加かつグルコース無添加のC試料が全体を通して低い値を示したが、他の試料の値は一定の傾向を示さなかった。

炭酸カルシウムは普通の乳酸菌保存培地にも用いられるが、GALESLOOT & HASSING<sup>9)</sup>によればリン酸塩またはシュウ酸アンモニウムを加えてカルシウムを結合型にした培地では*Str. diacetylactis*のクエン酸酐酵に影響はないが、*Leu. cremoris*のそれに対しては大きく阻害するという。一方HARGROVE<sup>7)</sup>は反対に*Leuconostoc*がよく発育すると報告している。またCa<sup>++</sup>は*Str. diacetylactis*や*Leu. citrovorum*が生成するCitritase (Citrate, Citridismolase, Citrase<sup>4)</sup>)のクエン酸分解を阻害する事が知られている<sup>3,9)</sup>。しかし、この実験に関しては炭酸カルシウムの添加はpHと酸度にやや影響を与えすぎなかった。

グルコースとクエン酸ソーダ添加についてはMIZUNO & JEZESKIの詳細な報告がある<sup>14)</sup>。彼らは*Str. cremoris* および *Leuconostoc* の混合 Culture を用いた実験で、透析した牛乳培地ではグルコースおよびクエン酸の両方を添加すればどんなpHでもアセトインを生成するが、クエン酸のみの場合pHを5.0に調節しなければアセトインをごくわずかしか生産しない事を明らかにしている。また、グルコース単独では殆んどアセトインを作らない事は明白であり、この2種類の基質は牛乳中に含まれる乳糖を含めてDiacetyl生成に重要な役割を果している事がわかる。

われわれのこの実験では添加量(HAMMER<sup>6a)</sup>による)が少なかったためか、あるいは実験例数が少なかったためか、添加による影響はグルコース

によって製品の pH が下がる傾向を示したのみであった。MIZUNO & JEZESKI は上にあげた報告の中で、透析しない還元脱脂乳では 0.3% クエン酸添加が、また透析した牛乳培地では 1% グルコースおよび 0.5% クエン酸添加が、与えられた条件では最も高いアセトインを生成した事を述べている(これは彼らの実験中添加量の最大の区であり、従ってこれ以上の量の添加実験は述べられない)。

牛乳中に含まれるクエン酸は 0.16~0.18%<sup>6a)</sup> であり、グルコースは 4.0~7.6 mg% である<sup>1)</sup> ので添加量を増す事が Diacetyl 増加に有効であるかも知れない。

次に風味では、24 時間培養における A 及び B 試料すなわちクエン酸ソーダの他にグルコース 0.5% 添加のものが最もよく、これに続くものは D 試料であった。16 時間ではやや酸味が不足であって、48 時間では全体に酸味が強過ぎたが、クエン酸ソーダのみ添加の D 試料は 48 時間でも比較的やわらかな風味を示した。

Cultured sour cream の一般分析の結果は第 3 表に示した。

**Table 3.** Composition of cultured sour cream.

Fat	17—18%
Protein	2.0—2.5%
Ash	0.5—0.6%
Moisture	75—77%

### III. 要 約

ホモ乳酸菌、ヘテロ乳酸菌各 2 種を組合せ、酸度と Diacetyl 生成量の高い組合せをえらんだ。それは *Str. lactis* と *Leu. citrovorum* を 9:1 の割合で Bulk starter 製造の際に混合接種するものである。この Starter を用いて Sour cream を製造し、0.26~0.3% のクエン酸ソーダおよび 0.5% のグルコースの添加が製品によい影響を与え、一方 0.05% の炭酸カルシウムの添加はあまり影響しない結果をえた。

附 本報文の要旨は 1962 年 4 月 8 日、東京農業大学で行なわれた 1962 年度日本畜産学会大会において講演した。

### 文 献

- 1) ANANTAKRISHNAN, C. P. and B. L. HERRINGTON (1948): *Arch. Biochem.* **18**, 327.  
佐々木・津郷 (1957): 乳の化学, 地球出版社, 東京, p. 45 より
- 2) BABEL, F. J. and B. W. HAMMER (1944): *J. Dairy Sci.*, **27** (2), 79.
- 3) DAGLEY, S. and E. A. DAWES (1955): *Biochem. biophys. Acta*, **17**, 177. 文献 4) より
- 4) DARON, H. H. and I. C. GUNSALUS (1961): *Biochemist's Handbook* (edited by LONG, G.), Richard Clay & Co. Ltd., Suffolk, Great Britain, p. 471.
- 5) GALESLOOT, TH. E. and F. HASSING (1962): *Neth. Milk & Dairy J.*, **16** (2), 117.
- 6) HAMMER, B. W. and F. J. BABEL (1957): *Dairy Bacteriology* (4th ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York. 6a) p. 381 6b) p. 387 6c) p. 457
- 7) HARGROVE, R. E., F. E. MC DONOUGH and R. P. TITTLER (1961): *J. Dairy Sci.*, **44** (10), 1799.
- 8) HAROLD, E. C. and V. P. WALTER (1949): *XII Intern. Dairy Congr.*, Vol. II, p. 103.
- 9) HARVEY, R. J. and E. B. COLLINS (1961): *J. Bacteriol.*, **82** (6), 954.
- 10) HETZEL, H. F. (1959): *Milchwissenschaft*, **14** (9), 424.
- 11) HERRALL, B. E. and P. R. ELLIKER (1950): *J. Dairy Sci.*, **33** (5), 245.
- 12) LIGHTBODY, L. G. (1962): *Aust. J. Dairy Tech.*, **17** (1), 36.  
*Dairy Sci. Abstr.* (1962): **24** (8), [2312] より
- 13) MC DOWELL, F. H., J. A. SINGLETON and B. S. LE HERON (1960): *J. Dairy Research*, **27** (1), 165.
- 14) MIZUNO, W. G. and J. J. JEZESKI (1959): *J. Dairy Sci.*, **42** (2), 251.
- 15) NOVIKOVA, G. A., É. A. PETROVA, V. I. USHAKOVA and E. P. FEOFILOVA (1959): *Trud. Inst. Mikrobiol. Akad. Nauk SSSR Pt. 6, Fiziol. Biokhim. Mikroorg.*, p. 87.  
*Dairy Sci. Abstr.* (1962): **24** (3), [770] より
- 16) NURMIKO, V. (1955): *Suomen Kemistilehti* **28** B, 62.  
FOSTER, E. M. et al. (1957): *Dairy Microbiology*, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, p. 291 より
- 17) SEITZ, E. W., W. E. SANDINE, P. R. ELLIKER and E. A. DAY (1962): *Bact. Proc. (Proc. Soc. Amer. Microbiol.)*, p. 23.  
*Dairy Sci. Abstr.* (1962): **24** (7), [2025] より
- 18) University of Massachusetts: Dept. of Dairy Technology の Text による (有馬俊六郎提供)