

## カマンベールチーズの遊離有機酸に関する研究

誌名	日本大學農獸醫學部學術研究報告
ISSN	00780839
著者	露木, 英男 阿部, 輝雄
巻/号	39号
掲載ページ	p. 82-87
発行年月	1982年3月

# カマンベールチーズの遊離有機酸に関する研究\*

露木英男\*\*・阿部輝雄\*\*\*

(食品理化学研究室\*\*・秋田県男鹿保健所\*\*\*)

昭和56年9月30日受理

## 緒 言

カマンベールチーズ, Camembert cheese は190年前(1791年)ナポレオン一世がフランス国内を進軍中、このチーズを発見し、大いに賞讃して命名したと伝えられている。現在、世界各国で製造され、主としてチーズ表面に生育した白カビ, *Penicillium camemberti* により熟成させている。チーズの熟成過程では、タンパク質の化学的变化が最も重要であるが、それと並行して、有機酸もチーズの味、香、品質の良否に大きく関係している。チーズの風味成分としての揮発性脂肪酸、カルボニル化合物、アミノ酸、有機酸に関する研究については、松岡ら<sup>1)</sup>、Longら<sup>2)</sup>、Langlerら<sup>3)</sup>によってなされ、その他のチーズの風味成分<sup>4-6)</sup>についても欧米において数多くの研究がなされ、その熟成機構や旨味および芳香の形成作用と、それらの key compound とみなされている物質についてはかなり明らかにされている。しかしカマンベールチーズの熟成中における各種遊離有機酸の生成機構およびその消長については、未だ研究がなされていないようである。

本研究では北海道岩内郡共和町産カマンベールチーズの熟成中における各種遊離有機酸の消長を明らかにする目的で、シリカゲルクロマトグラフィーにより、有機酸の分離同定を行い、遊離有機酸の経日的変化を調べたので報告する。

## 実験の部

### 1. 実験材料

昭和55年10月、北海道岩内郡共和町老古美、西村公祐氏製造のカマンベールチーズ100g(長さ3~3.5cm、直径10~11cm、重量250~300g)を原料とした。

供試カマンベールチーズの調製は次のとおりである。まず良質の新鮮牛乳を脂肪含量3.5%になるよう調整したのち、15秒間72~75°Cで殺菌し、29~31°Cに冷却後、これにスターターとして乳酸球菌、*Streptococcus cre-*

*moris* と白カビ, *Penicillium camemberti* を加え、レンネットを添加してカードをつくった。60分経過したのち、カードを1.5~2.0cm立方に切断した。その後、カード粒がこわれないよう、静かに攪拌しつづけ、所定の硬さになったところで、ホエーを除去し、カード粒を型に詰めた。型に入れたまま、1時間ごとに上下を反転させながら、自然圧搾し、一夜放置したのち翌朝、チーズ中の食塩含量が2.6%前後になるよう加塩、さらにチーズを簀の子の上に並べ、室温20°C、相対湿度85%以上で3~5日間再度静置した。先に植え付けた白カビがチーズの表面に発生してくる時点で、室温8~13°C、相対湿度85%以上の熟成室に運び入れ、約3週間熟成させた。この時点ではチーズの表面はカビで白くおおわれ、内部は黄色がかかったクリーム状であった。アルミニウムをラミネートしたセルローズで包装し、試料とした。なお、供試カマンベールチーズの一般分析は定法により行った。

### 2. 遊離有機酸の抽出

供試カマンベールチーズを3°Cで貯蔵熟成させ、貯蔵開始日および9, 17, 24, 39, 59, 79, 99, 114日間熟成させたチーズ(100g)を採取し、寺島の方法<sup>9)</sup>により、遊離有機酸を抽出した。すなわち、粗砕したチーズに99%メタノール500mlを加え、5N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>液でpH2.0に調整し、ミキサーで10min攪拌・混和した。8~13°Cで2hr静置後、木綿布、次いで東洋紙濾No.2でろ過した。残分は再度99%メタノール500mlで抽出し、ろ液を合一したのち、5N-NaOH液でpH9.0に調整した。生成した沈殿を除去後、50°C以下で約40mlまで減圧濃縮した。濃縮液は5N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>液でpH1.5に調整し、ソックスレー抽出器を用い、エーテルで120hr粗脂肪の連続抽出を行ったのち、エーテルを完全に留去し残分をpH1.5に調整後、試料とした。遊離有機酸の定量はMallin krodts製シリカゲルカラムの上層に試料を層積させ、上田らの方法<sup>10)</sup>の分配クロマトグラフィーによった。

### 3. 遊離有機酸の確認と分別定量

前記カラムでは乳酸とコハク酸が互いに分離しないの

Bull. Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ., No. 39, p. 82~87 (1982).

\* Studies on the Free Organic Acids in Camembert Cheese.

\*\* Hideo TSUKUKI, Lab. Food Science & Chemistry, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ.

\*\*\* Teruo ABE, Akita Pref. Inst. of Public Health, Oga Section.

で、BULEN らの方法<sup>11)</sup>にしたがって別個のクロマトグラフィー(直径1.8cm)により再度測定を行った。各種遊離有機酸の分別定量は既報<sup>12~13)</sup>に準じ、有機酸の同定は上田らの方法<sup>10)</sup>により、既知有機酸のクロマトグラムのピーク位置と比較して各フラクションの有機酸を確認した。遊離有機酸の確認は既報<sup>14)</sup>に準じた。

総遊離有機酸量はクロマトグラフによって流出した遊離有機酸の和をもって表わし、遊離有機酸量は試料 100 g 当たりの mg 数で、また各遊離有機酸に対する比率は重量%で示した。

4. 供試品の熟成率の測定

試料の外皮を削り落とし、チーズトライヤーを用いて、中心部、周辺部、その中間部の3か所から採取し、これらを合わせて粉碎・混合して 100 g を広口びんに入れ、水500ml加え、5分間煮沸後、遠心分離(3000 rpm, 5分間)し、残液を再び浸出する。ケルダール法で全Nを定量し、水溶性Nはさらに希釈倍数をかける。熟成率 =  $\frac{\text{水溶性窒素}}{\text{全窒素}} \times 100$  の数式を用い、熟成期間を追いながら熟成率を求めた。

結 果

常法により測定したカマンベールチーズ(熟成開始時)の一般分析値はTable 1 に示すとおりである。

次に熟成工程中におけるカマンベールチーズの遊離有機酸組成の経日的変化をTable 2 に示す。

なお、熟成開始日および熟成 59日、114日後の試料中の遊離有機酸量をFig. 1 に、また熟成中における試料中の主要遊離有機酸量をFig. 2 に示す。

さらに供試カマンベールチーズの熟成率をTable 3 に示した。

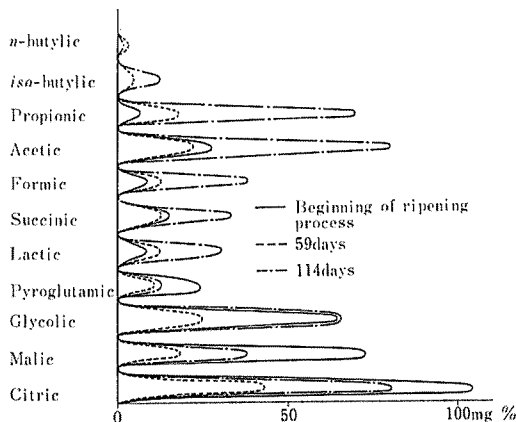


Fig. 1 Changes of each free organic acid amount in camembert cheese during ripening process.

Table 1 Chemical composition of camembert cheese at the beginning of ripening process

Moisture (%)	54.3
Protein (%)	21.3
Fat (%)	23.4
Carbohydrate	{ Glucide (%) 0.6 Cellulose (%) 0
Ash (%)	1.4

Table 3 Ripeness degree of camembert cheese in ripening process

Ripening days	Total-N (%)	Water-soluble-N (%)	Ripeness degree(%)
0	25.94	2.33	8.98
9	30.26	5.00	16.52
17	30.41	6.13	20.15
24	30.62	8.02	26.19
39	30.69	11.92	38.84

Table 2 から明らかなように、熟成中の試料には11種の遊離有機酸(n酪酸、イソ酪酸、プロピオン酸、酢酸、ギ酸、コハク酸、乳酸、ピログルタミン酸、グリコール酸、リンゴ酸、クエン酸)の存在が認められた。

熟成9, 17, 24, 39日の主要遊離有機酸はクエン酸、グリコール酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸の5種であり、これらの酸は総遊離有機酸重の約73~87%を占めていた。

総遊離有機酸量は熟成17日で最高(822 mg%)に達し、59日に著しく減少(176mg%)した。その後さらに熟成79日で、359mg%, 99日で385mg%と再び漸増していく傾向が観察された。

主要遊離有機酸の変動は次のようである。すなわち、熟成前半期の39日まで(17日を除く)は、主な有機酸はクエン酸(熟成9日で124mg%), グリコール酸(9日で112 mg%)およびリンゴ酸(9日で70mg%)の不揮発性有機酸で占められている。そのあと熟成59日までにはグリコール酸、酢酸、リンゴ酸がクエン酸に次いで多く生成され、さらに熟成後半期の79, 99, 114日ではプロピオン酸がクエン酸につづいて多い傾向にあった。熟成期間の初期においては、総遊離有機酸量とクエン酸、グリコール酸が多かった。

グリコール酸、リンゴ酸およびクエン酸は熟成前半期の9, 17, 24, 39, 59日までは漸減(クエン酸は熟成59日で約1/3の42mg%に減少)し、その後79, 99日にかけて再び増加を示している。

乳酸と酢酸の量的割合は、熟成17, 24日でそれぞれ8 : 1および2 : 1を示していたが、熟成後期(99日)においては、これとは逆に1 : 3というように、乳酸は後期において激減している。酢酸は熟成9日の57mg%から59日には21mg%と減少したが、さらに熟成日数の経過に伴って、逆に増加の傾向を示し、114日では3主要酸のひとつを占めていた。

熟成中の後期に増加した有機酸の大部分はプロピオン酸、ギ酸、イソ酪酸などの揮発性有機酸で占められ、イソ酪酸は熟成9日の2mg%から、99日では約8倍の16mg%に激増し、ギ酸は熟成99日で17日(5mg%)の3.6倍(18mg%)に増加していることが認められた。熟成99日においてはイソ酪酸およびプロピオン酸の揮発性有機酸と、乳酸およびピログルタミン酸の不揮発性有機酸とは、対照的な変化を示した。プロピオン酸は熟成39日、ギ酸は17日に減少する傾向がみられたが、それ以降、99日で逆にプロピオン酸は約3.6倍(55mg%)に増加し、プロピオン酸とギ酸もほぼ同様のパターンを示した。なお、含水率は熟成中の蒸発によって、徐々に減少していく傾向を示した。

考 察

チーズの熟成には微生物の働きが必要不可欠であり、熟成に使用される微生物の種類として、カマンベールチーズでは乳酸球菌、*Streptococcus cremoris* および白カビ、*Penicillium camemberti* のもつ強力なタンパク分解酵素によって、特有の風味の生成が行われる。そのほか、熟成初期の乳酸菌による乳酸生成、後期のプロピオン酸菌によるプロピオン酸生成なども注目される。

Table 2 に示すとおり、熟成24日ではクエン酸(104mg%)、グリコール酸(75mg%)、リンゴ酸(59mg%)、コハク酸(38mg%)、乳酸(38mg%)の5種が量的にも多く、それらの混合割合がカマンベールチーズ独特の風味や酸味の構成上重要な寄与をしていると考えられる。熟成開始日から40日までの熟成率を測定したところ、1日から10日までは熟成率はまだ十分とはいえず、20日すぎから30日、40日にかけて、熟成率が適正段階といえる現象を呈し、著者らの有機酸生成割合からみた酸味構成と著者らのタンパク分解からみた熟成率はほぼ一致しているように思われる。

総遊離有機酸量から熟成機構を考えてみると、熟成24日と99日にはほぼ同じ量(387mg%, 385mg%)を示したが、乳酸とピログルタミン酸量には大きな変化がみられた(乳酸は38→9mg%, ピログルタミン酸は23→13mg%)このような乳酸とピログルタミン酸量の減少、ならびにプロピオン酸量の増加(22~55mg%)が、熟成24

Table 2 Changes of free organic acid compositions in camembert cheese during ripening process

Days	0		9		17		24		39		59		79		99		114	
	mg%	%	mg%	%	mg%	%	mg%	%	mg%	%	mg%	%	mg%	%	mg%	%	mg%	%
<i>n</i> -butyric	—	—	0.48	0.1	1.12	0.1	1.64	0.4	2.72	0.9	1.80	1.0	1.58	0.4	1.36	0.3	1.00	0.2
<i>iso</i> -butyric	—	—	2.18	0.4	6.64	0.8	2.04	0.5	2.08	0.7	3.00	1.7	4.12	1.1	15.98	4.1	11.00	2.4
Propionic	6.35	1.9	15.12	3.0	15.40	1.9	21.96	5.7	16.96	5.6	17.96	10.2	53.21	14.8	54.84	14.2	69.12	15.2
Acetic	27.92	8.5	57.44	11.1	47.76	5.8	16.72	4.4	29.72	9.9	21.40	12.2	49.12	13.7	28.96	7.5	79.72	17.5
Formic	9.46	2.9	23.64	4.6	4.64	0.5	6.96	1.8	7.64	2.5	12.36	7.0	15.00	4.2	17.84	4.9	36.40	8.0
Succinic	12.11	3.7	53.60	10.3	50.21	6.2	38.40	9.9	18.94	6.3	12.77	7.3	26.07	7.3	30.38	7.9	32.40	7.1
Lactic	8.18	2.5	21.74	4.2	405.23	49.2	37.92	9.8	18.34	6.1	11.39	6.4	8.73	2.4	8.50	2.2	29.84	6.5
Pyroglutamic	23.31	7.1	37.24	7.1	28.52	3.5	22.88	5.9	15.68	5.2	10.68	6.1	11.08	3.1	12.52	3.2	12.88	2.8
Glycolic	63.51	19.4	112.20	21.6	88.60	10.8	75.00	19.4	66.76	22.1	24.12	13.7	34.80	9.7	53.24	13.8	64.48	14.2
Malic	72.24	22.0	70.80	13.6	65.56	8.0	59.40	15.4	40.48	13.4	18.28	10.4	49.88	14.0	51.32	13.3	38.69	8.5
Citric	104.87	32.0	124.40	24.0	108.68	13.2	103.60	26.8	82.36	27.3	42.32	24.0	105.04	29.3	110.48	28.6	80.40	17.6
Total	327.95	100.0	518.84	100.0	822.36	100.0	386.52	100.0	301.68	100.0	176.08	100.0	358.63	100.0	385.42	100.0	455.92	100.0
Moisture(%)	54.3		54.0		53.2		52.5		52.4		52.0		50.5		50.4		49.1	

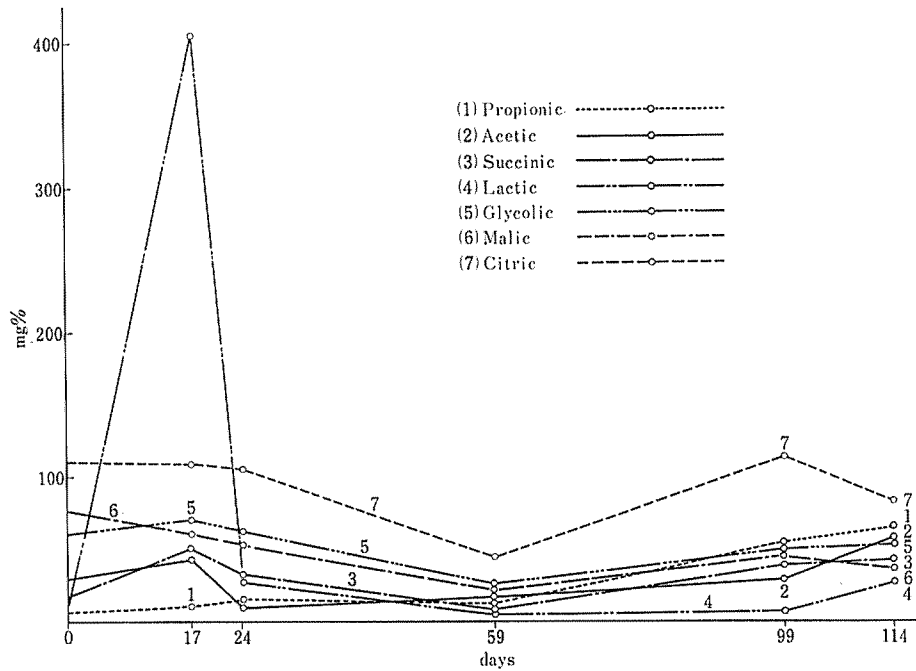


Fig. 2 Changes of main free organic acid amount in camembert cheese during ripening process.

と99日の風味の差違になるように思われる。実際、味や香りの点で熟成24日の方が一段風味がまさっていた。

カマンベールチーズにおいては、熟成17日までは乳酸とクエン酸、熟成24日と39日ではクエン酸、グリコール酸およびリンゴ酸、熟成59日以降、79日、99日では酢酸とプロピオン酸が主要酸として関与し、特徴あるフレーバーを作り出していると考えられる。熟成9日から17日にかけての乳酸の急速な増加現象(約19倍の増加)を経て、乳酸はさらに酢酸とプロピオン酸に変ずると考えられるが、プロピオン酸は乳酸の著しく減少し始める熟成79日ごろから飛躍的に増加し、99日には9日の約4倍(55mg%)に増加して3主要酸のひとつを占めるようになった。ギ酸は熟成99日で17日(5mg%)の約4倍(18mg%)に増加した。このようなプロピオン酸とギ酸の増加現象は、プロピオン酸菌とギ酸菌の増殖によると推定できる。熟成59日ごろから、プロピオン酸菌、ギ酸菌、酢酸菌が関与し、2次的風味成分としてプロピオン酸、ギ酸、酢酸などの揮発性有機酸が顕著に増加してくると考えられる。このような細菌叢については今後の研究にまたなければならないが、熟成17日に最高の総遊離有機酸量と乳酸量を示した試料が、59日にはそれぞれ約1/5と1/35に減少している。熟成79日と99日のカマンベールチーズは食味上、塩味と酸味がやや失われ、苦味を伴った一種独特のフレーバーを呈し、著者ら<sup>19)</sup>のアユザ

し、アユウるかに関する報告にも述べているように、乳酸、ピログルタミン酸の減少とプロピオン酸、ギ酸のあるレベルを越えた増加は、品質の劣化と不味の要因をなしていると考えられる。

著者ら<sup>18)</sup>のアミ塩辛、豊島ら<sup>17)</sup>の越中味噌および本研究のカマンベールチーズの遊離有機酸量を比較してみると、三者ともコハク酸、乳酸、クエン酸の量的関係(mg%)はほぼ類似した傾向を示していた。コハク酸はアミ塩辛42mg%、越中味噌34mg%、カマンベールチーズ38mg%、乳酸はアミ塩辛36mg%、越中味噌68mg%、カマンベールチーズ38mg%、クエン酸はアミ塩辛89mg%、越中味噌54mg%、カマンベールチーズ104mg%、酢酸はアミ塩辛35mg%、越中味噌45mg%、カマンベールチーズ17mg%、グリコール酸はアミ塩辛112mg%、越中味噌9mg%、カマンベールチーズ75mg%、リンゴ酸はアミ塩辛105mg%、越中味噌15mg%、カマンベールチーズ71mg%を示していた。なお、総遊離有機酸量は熟成24日の386mg%から59日に176mg%に減少しているが、熟成79日には359mg%、99日には385mg%、114日には456mg%というように、再び増加しているの、熟成79日以降は過熟成に入ったものと考えられる。

著者らのカマンベールチーズおよびLANGLERら<sup>20)</sup>のスィスチーズにふくまれる酪酸、プロピオン酸、酢酸、ギ酸を比較してみると、酪酸はそれぞれ1.6mg%と0.9

mg%, プロピオン酸は 22.0mg% と 21.8mg%, 酢酸は 16.7mg% と 35.7mg%, ギ酸は 6.9mg% と 3.1mg% というように、両者はほぼ類似している。

PATTON<sup>4)</sup> は、チエダーチーズの風味上、酢酸と酪酸が多く、カプロン酸とカプリル酸が不可欠であると述べ、さらにエメンタルチーズの特徴として、プロピオン酸が多く、次に酢酸が多いことを報告している。

### 摘 要

1) 熟成(114日)中におけるカマンベルチーズの遊離有機酸組成の変化がシリカゲルを用いるカラムクロマトグラフィーにより研究された。

2) カマンベルチーズには少なくとも11種の遊離有機酸(クエン酸, グライコール酸, リンゴ酸, 酢酸, プロピオン酸, ギ酸, コハク酸, 乳酸, ピログルタミン酸 *n* 酪酸, *iso*酪酸)が検出された。

3) カマンベルチーズ中の遊離有機酸の総量は熟成開始時には 328mg% であった。その総量は熟成 17 日後に最高値(822mg%)に達し、59 日後には最低値(176mg%), 114 日後には中位の値(456mg%)を示した。

4) カマンベルチーズ中の 3 種の主要遊離有機酸は熟成開始時にはクエン酸, リンゴ酸, グライコール酸(総酸に対する 3 種の酸の重量% : 73%, 試料中における 3 種の酸の含有量 : 241mg%) であった。しかしながら、これら 3 種の主要酸は熟成 17 日後にはクエン酸, グライコール酸, 乳酸(73%, 203mg%), 熟成 24 日後にはクエン酸, グライコール酸, リンゴ酸(61%, 238mg%), 熟成 79 日後にはクエン酸, リンゴ酸, プロピオン酸(58%, 208mg%), 熟成 114 日後にはクエン酸, 酢酸, プロピオン酸(51%, 229mg%) であった。

5) プロピオン酸, ギ酸, 酢酸のような揮発性有機酸は熟成工程中に増加した。熟成 114 日後にプロピオン酸は最高値(69mg%)に達し、酢酸もまた最高値(80mg%)に達した。不揮発性有機酸である乳酸の量は熟成開始時には 8mg% であったが、熟成 17 日後には最高値(405mg%)に達し、逆に熟成 114 日後には 30mg% に激減した。

6) 熟成 114 日後に、クエン酸, リンゴ酸, ピログルタミン酸はそれぞれ減少したが、その他の遊離有機酸はいずれも増加した。

### 文 献

- 1) 松岡博厚, 津郷友吉:(1963)*Penicillium caseicolum* による半硬質白カビチーズの熟成に関する研究(第1報), 農化, **37**, 332~336.
- 2) Long, J.E., W.J. Horper: (1956) Amino and fatty

acids in romano cheese. *J. Dairy Sci.*, **39**, 138~140.

- 3) Langler, J.E., and E.A. Day: (1966) Quantitative analysis of the major free fatty acids in swiss cheese. *J. Dairy Sci.*, **46**, 91~93.
- 4) Patton, S: (1963) Volatile acids and the aroma of cheddar cheese. *J. Dairy Sci.*, **46**, 856~858.
- 5) 長沢太郎:(1963)総説: チーズ風味上の最近の諸問題, 日畜会報, **34**, 303~310.
- 6) Harper, W. J: (1959) Our Industry today, chemistry of cheese flavors. *J. Dairy Sci.*, **42**, 207~213.
- 7) Mabitt, L.A: (1961) The flavor of cheddar cheese, Reviews of the progress of dairy science section B. Bacteriology. *J. Dairy Res.*, **28**, 303~318.
- 8) Ling, E.R: (1958) Dairy chemistry, Reviews of the progress of dairy science section C. *J. Dairy Res.*, **25**, 125~145.
- 9) 寺島広幸:(1993)ぬか漬における有機酸の変動について, 栄養と食糧, **16**, 249~253.
- 10) 上田隆蔵, 永井史郎, 森口繁弘:(1959)醤油有機酸に関する研究—1, 醤油有機酸の定量法について, 日本発酵工学誌, **37**, 94~99.
- 11) Bulen, W.A., J.E. Varner and R.C. Burrell: (1952) Separation of organic acids from plant tissues. *Anal. Chemistry*, **24**, 187~190.
- 12) 阿部輝雄, 露木英男:(1971)ハタハタすしにおける有機酸の変動, 日本食品工業学会誌, **18**, 24~27.
- 13) 露木英男, 阿部輝雄:(1976)梅干しの遊離有機酸について, 本誌, **33**, 410~419.
- 14) 露木英男, 阿部輝雄:(1978)ザウエルクラウトの遊離有機酸について, 本誌, **35**, 218~223.
- 15) 露木英男, 阿部輝雄:(1977)アユザしおよびアユウるかの遊離有機酸について, 本誌, **34**, 148~154.
- 16) 露木英男, 阿部輝雄:(1979)キムチの遊離有機酸について, 本誌, **36**, 163~170.
- 17) 豊島治男, 上田隆蔵:(1951)味噌の有機酸に関する研究(第1報), 発酵工学会誌, **37**, 431~435.

## Studies on the Free Organic Acids in Camembert Cheese

Hideo TSUYUKI\* and Teruo ABE\*\*

\* Lab. Food Science &amp; Chemistry, Coll. Agr. &amp; Vet. Med., Nihon Univ.

\*\* Akita Pref. Inst. of Public Health, Oga Section.

(Received September 30, 1981)

1. The changes of free organic acid composition in camembert cheese during ripening process (114 days) were studied by mean of a partition chromatography using silica gel.

2. There were found at least 11 kinds of free organic acids (citric, glycolic, malic, acetic, propionic, formic, succinic, lactic, pyroglutamic, *n*-butyric and *iso*-butyric acids) in camembert cheese.

3. The total amount of free organic acids in camembert cheese was 328 mg% at the beginning of ripening process. That reached maximum value (822 mg%) after 17 days, showed minimum value (176 mg%) after 59 days and medium value (456 mg%) after 114 days of ripening process.

4. Three main free organic acids in camembert cheese were citric, malic and glycolic acids (wt.% of three acids to total acids: 73%, three acid contents in sample: 241 mg%) at the beginning of ripening process. However, three main acids were citric, glycolic

and lactic acids (73%, 203 mg%) after 17 days, citric, glycolic and malic acids (61%, 238 mg%) after 24 days, and citric, malic and propionic acids (58%, 208 mg%) after 79 days, and citric, acetic and propionic acids (51%, 229 mg%) after 114 days of ripening process.

5. Volatile organic acids such as propionic, formic and acetic acids increased in ripening process. Propionic acid reached maximum value (69 mg%) and also acetic acid reached maximum value (80 mg%) after 114 days of ripening process. The amount of lactic acid which is non-volatile acid was 8 mg% at the beginning of ripening process, reached maximum value (405 mg%) after 17 days and on the contrary decreased remarkably to 30 mg% after 114 days of ripening process.

6. Citric, malic and pyroglutamic acids decreased and other free organic acids increased respectively after 114 days of ripening process.