

## 「日本酪農発祥の地・千葉」を背景とした乳製品の開発 ～ チーズ用スターターに適する乳酸菌の探索 その2 ～

食品・化学技術室 反町 公子, 堀中 洸太, 松田 皓生  
技術支援室 蓮見 薫

Dairy Products Development in Chiba; the Birthplace of Dairy Farming in Japan  
～ Exploration of Lactic Acid Bacteria Suitable for Cheese Starter, Vol. 2 ～

Kimiko SORIMACHI, Kota HORINAKA, Kosei MATSUDA and Kaoru HASUMI

市販のワイン, 日本酒, 醤油用乳酸菌のチーズ製造への利用可能性を検討した。3種の乳酸菌は25 °Cの乳中で生存し, 乳酸や酢酸等を生成していた。また, 各々を市販チーズスターターとともに牛乳に添加してフレッシュチーズを試作したところ, 15–25 °Cにおいては市販チーズスターターの発酵経過に影響はない一方, チーズの風味はわずかながら変化する可能性が示唆された。

### 1. はじめに

千葉県内には10以上ものチーズ工房があり, 国内外で活躍している工房もある。その中の工房から, 地域性のあるチーズスターターを使用して特徴あるチーズ作りをしたいとの要望が寄せられた。そこで当所では, 日本酪農発祥の地・千葉としての独自のチーズ作りを目指し, その第一歩としてチーズスターターに適する乳酸菌の探索に取り組むこととした。特に, チーズ等の乳製品以外の発酵食品に用いられる市販の乳酸菌(以下, 非乳業用乳酸菌と略す)に着目し, これをメインの市販チーズスターターと組合せて使用することで, 風味等を付与する補助的なスターターとしての働きに期待した。前報<sup>1)</sup>にて市販のワイン, 日本酒, 醤油用乳酸菌を選定し, 市販チーズスターターとともに添加してフレッシュチーズを試作した結果, 発酵経過に影響はなく, チーズの味質は変化する可能性が示唆されたことを報告した。

この3種の乳酸菌のチーズ製造への利用可能性についてさらに知見を得るため, 本報ではこれらの乳中での生存の有無や酸生成能を調査するとともに, 前報と条件を変化させてフレッシュチーズ様の物を試作し, 発酵経過やチーズの味質等について調査したので報告する。

## 2. 実験方法

### 2.1 非乳業用乳酸菌と市販チーズスターター

非乳業用乳酸菌には, 前報<sup>1)</sup>と同じ市販の3菌種(ワイン用 *Oenococcus oeni* (以下, Oo と略す), 日本酒用 *Lactobacillus sakei* (以下, Ls と略す), 醤油用 *Tetragenococcus halophilus* (以下, Th と略す))を使用した。市販チーズスターターは中温菌のR-700系 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, クリスチャンハンセン製)を使用した。

### 2.2 乳中での培養試験

加熱処理した10%(w/v)スキムミルク液に各々の市販乳酸菌液を1%(v/v)接種し, 恒温器にて25 °Cで3日間静置・培養した。培養前後の生菌数を計測するため, Oo 添加液はNBRC No.820 培地に, Ls 添加液はBCP 加プレートカウント培地(栄研化学(株)製)に, Th 添加液はDifco™ *Lactobacilli* MRS 培地(DB 製)に塩化ナトリウムを10%(w/w)となるよう添加した培地に植菌した。Oo と Th はアネロパック(三菱ガス化学(株)製)を入れた嫌気下・35 °Cにて, Ls は30 °Cにて各々植菌したプレートを72時間培養した後, 発現したコロニーを計測した。また, 各コロニーについて(株)テクノスルガラボにて菌種の同定をした。培養液のpHをpHメータ(F-73, (株)堀場製作所製)にて計測した。

### 2.3 培養液の有機酸の分析

2.2で培養したスキムミルク液中の有機酸の定性分析を行った。大垣ら<sup>2)</sup>の遊離アミノ酸分析の前処理方法を参考に除タンパク処理を行い, 上清をシリンジフィルターでろ過して分析試料とした。

分析条件を以下に示した。

ポンプ：L-6000 ((株)日立製作所製)  
 カラム：Shodex KC-G (8.0 mmI.D.×50 mm)  
 + KC-811 (8.0 mmI.D.×300 mm) ×2  
 溶離液：3 mM HClO<sub>4</sub>, 1 mL min<sup>-1</sup>  
 反応液：0.2 mM BTB 含有 15 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,  
 1.2 mL min<sup>-1</sup>  
 カラム温度：40 °C  
 測定波長：430 nm  
 注入量：30 μL

### 2.3 フレッシュチーズ様試作試験

前報<sup>1)</sup>とほぼ同様の方法でフレッシュチーズ様の試作試験を実施した。すなわち、温度一定にした千葉県産八千代牛乳(75 °C・15秒殺菌、千葉県北部酪農農業協同組合製)に市販チーズスターターを規定量と、10<sup>8</sup>~10<sup>10</sup> 個 mL<sup>-1</sup>の各非乳業用乳酸菌を牛乳に対し0.1 % (v/v)となるよう添加して発酵させ、pH 4.5付近まで下がったところで終点とした。その後、4 °C・10000×g・15分の条件で遠心分離し、ホエイを除いて得られたものをフレッシュチーズとした。フレッシュチーズの味質を(公財)日本食品分析センターの味覚センサーにて分析した。また、Obi<sup>3)</sup>の方法を参考にフレッシュチーズをメタノールで抽出し、(地独)東京都立産業技術研究センターのにおい嗅ぎ付きガスクロマトグラフ質量分析計(以下、GC-O/MS)にて分析し、検出されたピークの成分を推定した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 乳中での非乳業用乳酸菌の生存力

図1にスキムミルク液にて非乳業用乳酸菌を培養した際の生菌数及びpHを示した。培養後の生菌数は培養前より減少したものの、乳中でも生存していたことを確認できた。また、Oo接種のスキムミルク液のpHは乳酸菌未接種液(ブランク)と同程度であったのに対し、Ls及びTh接種液は若干低下した。

各培養液の有機酸のピークエリア比を表1に示した。3菌種ともに乳中で乳酸等を生成し、図1のpHの低下を裏付ける結果となった。また、ブランクで検出されたクエン酸がThでは不検出となり、Thによるクエン酸代謝が推測された。

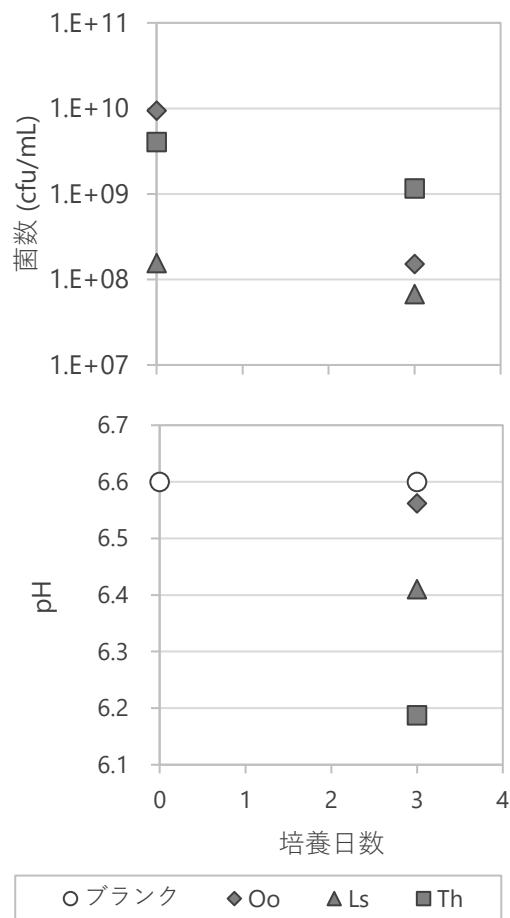


図1 スキムミルク液培養前後の生菌数と pH

表1 培養後のスキムミルク液中の有機酸のピークエリア比(基準:ブランク)

菌種	クエン酸	コハク酸	乳酸	酢酸
ブランク	1	1	nd <sup>1)</sup>	1
Oo	1	2	3 <sup>2)</sup>	2
Ls	1	nd	22 <sup>2)</sup>	19
Th	nd	70	1 <sup>2)</sup>	62

1)不検出  
 2)ブランク溶液中の乳酸が不検出だったため、Th接種液のピークエリア値を1とした

### 3.2 フレッシュチーズの発酵経過

図2, 3に3菌種を各々添加したフレッシュチーズの発酵経過を示した。市販チーズスターターのみ(Ctrl)と比較して、Oo添加ではpHの低下が若干早まる傾向があった(図2)。しかし3菌種とも、市販チーズスターターの発酵に影響を及ぼさないことを確認した。

この結果は、異なる市販チーズスターターを用いた前報<sup>1)</sup>の結果と一致した。

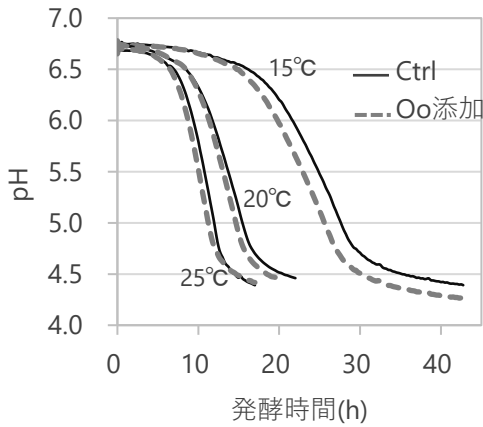


図2 Oo 添加時の牛乳の発酵経過

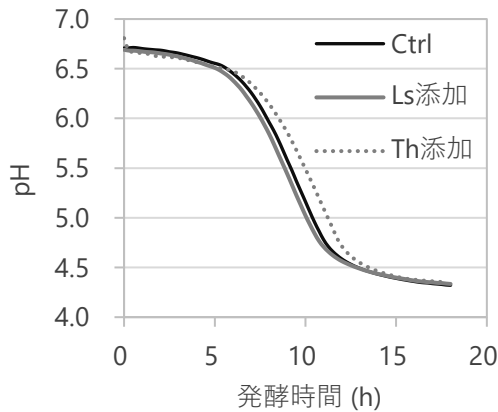


図3 Ls または Th 添加時の 25 °C での牛乳の発酵経過



図4 25 °C 発酵のフレッシュチーズの味質

味覚センサーによるフレッシュチーズの分析結果を図4に示した。Ctrlの味覚項目換算値を0とし、この値と1.0の差が、人が味を感じられる数値と設定されている。前報と同様、3菌種を各々添加した条件で1.0の差は得られなかったが、添加する菌種によって-0.4~0.2変化し、味わいがわずかに変化する可能性が示唆された。

Oo添加フレッシュチーズの香りはCtrlと若干異なるように感じられたため、CtrlとOo添加の抽出液をGC-O/MSにて分析した結果、各々推定された17のピークは同一成分であった(結果未掲載)。

一方、17成分のピーク高さの合計に対する各成分のピーク高さ比を比較すると、CtrlとOo添加では異なる成分があった。におい嗅ぎでは、今回の条件ではOo添加で検出されなかったにおいもあった。

以上のことから、CtrlとOo添加フレッシュチーズの若干の香りの差は、香りを構成する成分の組成比が異なる可能性に由来すると考えられた。

#### 4. まとめ

本研究では独自のチーズ作りを目指し、ワイン、日本酒、醤油用乳酸菌のチーズ製造への利用可能性を検討した。その結果、3菌種について以下のことを確認した。

- ・乳中で生存可能であり、酸を生成する。
- ・市販チーズスターターの働きを阻害しない。
- ・添加したフレッシュチーズの味質は、菌種によってわずかに異なる可能性がある。
- ・添加したフレッシュチーズの香りはわずかに異なる可能性がある。

以上のことから、3種の乳酸菌を市販チーズスターターに加えて使用することで、わずかながら風味を変化できる可能性が示唆された。

最後に、チーズ抽出液の匂い嗅ぎ及び同定分析に御協力頂いた、(地独)東京都立産業技術研究センター 佐々木 直里 様に厚く御礼申し上げます。

#### 参考文献

- 1) 反町ら：千葉県産業支援技術研究所研究報告 No.19, p.7-8 (2021)
- 2) 大垣ら：千葉県産業支援技術研究所研究報告 No.17, p.12-16 (2019)
- 3) Obi *et al.* : *J. Oleo Sci.*, **67**(8), p.941-948 (2018)