

### 3. チーズのブランド化を目的とした 北海道産乳酸菌スターターの開発

食産業技術支援グループ	○大坪雅史、清水健志、鳥海 滋
(地独) 北海道立総合研究機構食品加工研究センター	八十川大輔
(公財) とから財団	高谷政宏、葛西大介
(公財) オホーツク地域振興機構	住佐 太、武内純子、小林秀彰
(大) 帯広畜産大学	中村 正
雪印種苗 (株)	北村 亨
ノースプレインファーム (株)	吉田年成
(国研) 農業・食品産業技術総合研究機構	小林美穂、鈴木チセ、守谷直子、木元広実

#### 1. はじめに

近年、日本ではチーズの消費量が大きく伸びており、その多くはプロセスチーズだが次第にナチュラルチーズの需要も高まっている。北海道にはナチュラルチーズを製造する工房が数多くあり、各地域において個性豊かなチーズを製造している。一方、日欧経済連携協定が発効され該当の輸入品目の中にチーズが含まれている。今後、関税引き下げとなることから、国内のチーズ製造者には今までも増して特徴ある製品づくりが求められている。地域の工房がチーズを製造する場合には、輸入の乳酸菌スターターを用いており、乳酸菌の特徴による差別化は難しい現状にある。我々は、地域のナチュラルチーズの高付加価値化にあたり、地域の伝統的な発酵食品等から分離した乳酸菌をチーズスターターとして用いることで、物語性があり、ブランド力の高い国産チーズの開発に繋がること、また、その乳酸菌がチーズの熟成を促進し旨味と芳香を醸すことで、チーズの風味をより豊かとし、かつ、熟成期間の短縮化と製造コストを低下させることが可能と考えた。そこで、北海道産の発酵食品から乳酸菌を分離・選抜し、これを用いてチーズを試作したので報告する。

#### 2. 実験方法

**2.1 新規乳酸菌株の分離・同定**：道内地域発酵食品（漬け物、塩辛、熟成チーズ等）を試料とし炭酸Ca 添加 MRS 寒天培地に接種して 30℃で培養後ハロー形成コロニーを分離した。分離菌株について、カタラーゼ試験、グラム反応、細胞形態観察を実施し乳酸菌を分離した。分離乳酸菌の 16SrDNA の塩基配列を決定し GenBank 等での同源性検索結果から分離株を同定した。分離乳酸菌をスキムミルク寒天培地に塗抹培養しハロー形成を指標に、乳酸菌のプロテアーゼ活性株を 1 次選抜した。1 次選抜株についてプロテアーゼ活性定量（アゾカゼイン法）、生育温度（10℃、40℃）、耐塩性（2%、5%）、ガス発生、クエン酸からジアセチル生成を試験し、これら結果から北海道産乳酸菌を選抜した。

**2.2 ゴーダチーズの試作**：低温殺菌牛乳を 32℃に保温した。乳酸菌のスターターについては、メインスターターとして市販品（クリスチャンハンセン社製、CHN-11）を通常使用量で添加した。北海道産乳酸菌を使用の際は、補助スターターとして、さらに添加した（最終菌数  $1.0 \times 10^5$  CFU/ml）。次いで、最終濃度 0.01% の塩化 Ca、最終濃度 0.03% のレンネットを添加し、以後、カッティング、ホエイ除去、圧搾、冷却、塩漬の行程を経て、チーズの真空包装後 12℃で 2 ヶ月熟成させた。

**2.3 試作チーズの香気成分分析**：チーズ 2g をバイアル瓶に採集して密栓し、60℃、15 分間加温した後、ヘッドスペースの気層（5ml）をフラッシュ GC ノーズ（アルファモスジャパン社）に供し分析した。

**2.4 試作チーズの遊離アミノ酸分析**：チーズ 6g に 4 倍量の蒸留水を添加し、ホモジナイザーを用いてチーズを破碎、攪拌した。得られた懸濁液を 5℃、18000rpm、20 分間遠心分離し、清澄液をろ過してチーズ抽出液を得た。このチーズ抽出液を検体として PTC アミノ酸分析法により行った。

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 北海道産乳酸菌の分離

北海道の地域発酵食品から約 250 株の乳酸菌を分離同定した。これらから 1 次選抜としてプロテアーゼ高活性乳酸菌を約 50 株選抜した。次に、1 次選抜乳酸菌株を集め一斉にプロテアーゼ活性を測定した。プロテアーゼ高活性（熟成促進効果、呈味増強効果）、クエン酸からのジアセチル（チーズの代表的香り成分）生成を重視して、北海道産乳酸菌として、次の 3 株を決定した。*Lactobacillus paracasei* OUT0010、*Lactobacillus rhamnosus* P-17、*Lactobacillus curvatus* 33-5

#### 3.2 北海道産乳酸菌を用いたゴーダチーズ試作

北海道産乳酸菌 3 株それぞれのスターターを用いてゴーダチーズを試作し、熟成 1 ヶ月目と 2 ヶ月目のチーズについて遊離アミノ酸含量と香り成分を分析した。尚、メインスターターのみを用いて試作したゴーダチーズを従来品として比較対照とした。

遊離アミノ酸については、従来品と比較して、北海道産乳酸菌を補助スターターとして添加することにより、熟成 1 ヶ月から旨味を呈するアミノ酸であるグルタミン酸含量に、増加傾向または有意な増加が認められた。また、熟成 2 ヶ月の 33-5 添加区では、苦味を呈するアミノ酸であるチロシンやアルギニンが有意に少ないことが確認された。これら結果より北海道産乳酸菌スターターは熟成を促進するとともに呈味に影響することが明らかとなり、熟成期間の短縮の可能性があると考えられる。

香り成分については、試作ゴーダチーズの熟成中の香り成分の変化を表 1 に示す。北海道産乳酸菌を使用することにより、従来品と比較して、熟成 1 ヶ月後から香り成分アセトアルデヒド、ブタン-2-オンが高い値を示し、熟成 2 ヶ月後にテトラメチルピラジンが高い値を示す傾向が見られ、従来品とは異なる香り成分を有するチーズが製造できることが明らかとなった。

表 1 試作ゴーダチーズの熟成中の香り成分の変化 (n=3)

	熟成期間 (月)	フラッシュGCノーズ計測ピーク面積					
		アセトアルデヒド	ジアセチル	ブタン-2-オン	アセトイン	ブチル酢酸	テトラメチルピラジン
従来品	1	3358±190	8073±3756	6118±2358	1456±1304	296±91	12752±2429
P-17添加区	1	3930±1245	7110±5581	6298±639	1043±1123	229±82	10927±1016
33-5 添加区	1	4350±321	6924±7266	7519±1147	1173±1416	208±156	12248±887
OUT0010添加区	1	3923±473	8350±4383	7125±1719	787±573	244±78	12850±2201
従来品	2	6196±1544	8689±5154	3739±802	3344±2979	671±213	7828±1265
P-17添加区	2	7104±915	9093±5001	5445±534	3180±2888	458±136	10351±1419
33-5 添加区	2	6838±1610	8406±3281	6514±1526	2989±2434	310±75	11238±2664
OUT0010添加区	2	6753±1117	10530±4409	5513±1457	3028±2414	535±98	10635±2260

#### 3.3 北海道産乳酸菌スターターの普及

本研究成果は、令和元年に特許出願した。また、同年、東京都と札幌市で開催されたアグリビジネス創出フェアに出展し広報した（図 1）。現在、北海道産乳酸菌スターターのパンフレット等を配布公開している。今後も北海道ブランドチーズの創出を目指し北海道産乳酸菌の普及を行う。



図 1 北海道産乳酸菌を用いたゴーダチーズ

### 4. まとめ

チーズスターターとして北海道産乳酸菌を開発した。本スターターを用いることで製造したゴーダチーズは、従来よりも呈味と芳香に優れ、熟成期間の短縮が期待できる。今後も開発スターターを普及させ北海道ブランドチーズの創出を目指す。

本研究は農研機構生研支援センター「革新的技術開発・緊急展開事業（経営体強化プロジェクト）平成 29 - 31 年度」の資金を受け実施した。