

海洋由来乳酸菌を用いた静岡チーズの開発

食品科 褐田雅俊*、淺沼俊倫**、松野正幸、堀池隼雄
東海大学海洋学部 久保田かおり***
うしづまチーズ工場株式会社 松下正明

Development of Shizuoka Cheese fermented with marine-derived lactic acid bacteria

HAKAMATA Masatoshi, ASANUMA Toshimichi, MATSUNO Masayuki, HORIIKE Hayao,
KUBOTA Kaori and MATSUSHITA Masaaki

In recent years, food development using local microorganisms has been actively carried out. In this study, we selected strains suitable for cheese production from lactic acid bacteria isolated from Suruga Bay, Shizuoka Prefecture, and worked on the development of Shizuoka cheese using prefectural milk and lactic acid bacteria derived from the prefecture's ocean.

43 non-gas-producing strains were selected from 70 strains of lactic acid bacteria derived from Suruga Bay. From there, 13 strains with high lactose degradability were selected, and a further 4 strains with good milk coagulability were selected from those. Using these 4 strains, an acid-coagulation-type cheese was experimentally produced at the Ushizuma Cheese Factory (in Shizuoka City), and *Lactococcus lactis* In17 derived from whitebait was determined as a strain suitable for cheese production. It was found that the cheese produced as a trial using the selected lactic acid bacterium contains a large amount of diacetyl, which is known as a metabolic component of lactic acid bacteria and constitutes the aroma of butter. A joint research company carried out repeated trial production and commercialized the cheese as Shizuoka Cheese.

keywords : Lactic acid bacteria, cheese and Suruga bay

近年、地域の微生物を利用した食品開発が盛んに行われている。本研究では静岡県で単離した駿河湾由来の乳酸菌からチーズ製造に向く菌株を選抜し、県産牛乳と県由来の乳酸菌による静岡チーズの開発に取り組んだ。

駿河湾由来の乳酸菌70株からガス非産生の43株を選抜した。そこから、乳糖高分解性の13株を選抜し、さらに牛乳凝固性の良い4株を選抜した。この4株を用いて、うしづまチーズ工場(静岡市内)で酸凝固タイプのチーズを試作し、シラス由来の乳酸菌 *Lactococcus lactis* In17株をチーズ製造用乳酸菌として決定した。この乳酸菌で試作したチーズは乳酸菌の代謝成分として知られ、バターの香りであるジアセチルが多いことがわかった。共同研究企業で試作を重ね、静岡チーズとして商品化した。

キーワード：乳酸菌、チーズ、駿河湾

1 はじめに

国内のチーズ消費量は堅調に増加しており、円安の背景も重なることで、国産ナチュラルチーズ

に注目が集まっている。日本におけるチーズ工房数も増加しており、国産チーズの種類が豊富になり、消費者の選択肢が増えている。一方、生産者

*現 沼津工業技術支援センター バイオ科 **現 工業技術研究所 企画調整部

***現 東海大学海洋学部 卒業

には独自性の高いチーズが求められており、一般的に使用されている海外産の乳酸菌スターの代わりに地域微生物をチーズ製造に活用することで差別化を目指す取組みがなされている。例えば、(国研) 農業・食品産業技術総合研究機構と北海道、栃木県の企業や研究機関のコンソーシアムによる取組みや、北海道や長野県等で独自の乳酸菌によるチーズ製造の取組みが行われてきた¹⁻³⁾。しかし地域の乳酸菌でチーズ製造を検討している事例はまだ少ない。

静岡県では、地域の微生物を産業に使いやすくするため、平成27年度から29年度に自然界から微生物を収集し、しづおか有用微生物ライブラリーを構築した*。さらに地域微生物資源の拡充を目指して、令和2年度から4年度には駿河湾由来の微生物を収集してきた。

そこで静岡県が保有する乳酸菌からチーズ製造に利用できる株を選抜し、静岡市内のチーズ工房で「静岡チーズ」を生産することを目的に研究を行った。

2 方法

選抜には、駿河湾から収集した乳酸菌70株を用いた。乳酸菌の選抜は、①ガスを産生せず、②乳糖をよく分解し、③牛乳凝固性の高い株を順次選抜した。

2.1 ガス非產生（ホモ型）乳酸菌の選抜

試験管にダーラム管と5 mLのYGP培地を入れて、オートクレーブで121°C、15分間加熱した。YGP培地の組成を表1に示す。冷却後、一晩MRS液体培地（OXOID社製）で培養した乳酸菌培養液100 μLを添加した。30°Cで72時間培養し、ダーラム管の中のガスの有無を目視で確認した。

成分	培地1 Lあたり の添加量(g)
酵母エキス	20.0
グルコース	10.0
ペプトン	10.0
酢酸ナトリウム三水和物	5.0
硫酸マグネシウム七水和物	0.2
硫酸マンガン四水和物	0.01
硫酸鉄七水和物	0.01
塩化ナトリウム	0.01
Tween80	10.0

2.2 乳糖高分解株の選抜

方法2.1で使用したYGP培地のグルコースをラクトースに置き換えた乳糖培地を調製し、試験管に2 mL入れオートクレーブで121°C、15分間加熱した。一晩MRS液体培地で培養後、滅菌生理食塩水で10倍希釀した乳酸菌培養液100 μLを、室温まで冷却した乳糖培地に添加した。30°Cで72時間培養後、1 mol/Lの水酸化ナトリウム水溶液で中和滴定を行った。中和滴定の指示薬にはニュートラルレッドとプロモチモールブルーを溶解した混合指示薬を用い、赤色がなくなったところを終点とした。

2.3 牛乳凝固性株の選抜

200 mLのMRS液体培地で乳酸菌を24時間培養後、8,000 rpmで5分間遠心分離を行い、上清を捨てた。ペレットを滅菌生理食塩水10 mLで懸濁し、再度同条件で遠心分離を行った。この操作を2回繰り返すことで乳酸菌を洗浄した。洗浄後、乳酸菌を滅菌生理食塩水20 mLで懸濁し、市販の牛乳30 mLに300 μL添加し、30°Cで24時間保温した。発酵後に目視とpH測定により牛乳の凝固を評価した。

2.4 チーズ試作による株の選抜

静岡市内のうしづまチーズ工場^株にて、選抜し

* 静岡県：公式ホームページ「しづおか有用微生物ライブラリーを公開します。

<https://www.pref.shizuoka.jp/sangyoshigoto/kenkyukaihatsu/fujinokunikenkyujo/1025649.html> (2023.5.23アクセス)

た乳酸菌を使用して酸凝固チーズを試作した。酸凝固チーズは牛乳を低温殺菌後、乳酸菌とごく微量のレンネットを添加し、30°Cで24時間保温した。成型後、天地を定期的に返しながらホエイを抜いた。チーズの固まりと味を評価することでチーズに使用する乳酸菌株を絞り込んだ。

2.5 チーズ中の香気成分分析

試料0.5 gをバイアルに秤量し、GC-MSを用いて、動的ヘッドスペース法によりテナックス管に香気成分を捕集した。その後、テナックス管を250°Cで加熱し、GC-MS本体へ香気成分を導入した。GC-MSの分析条件を表2に示す。

表2 GC-MS分析条件

区分	内容
本体	(GC) 7890A-(MS) 5975C (アジレント・テクノロジー株製)
カラム	DB-WAX UI (アジレント・テクノロジー株製) (長さ 60 m、内径 0.2 mm、膜厚 0.2 μm)
カラムオーブン昇温条件	40°C (2分) → 8°C/min で昇温 → 250°C (2分) 合計 30 分

3 結果および考察

3.1 ホモ型乳酸菌の選抜

供試乳酸菌70株のガス產生試験結果を表3に示す。ガスが発生しなかった43株をホモ型乳酸菌として選抜した。

表3 供試乳酸菌の分離源とガス発生試験の結果

微生物分離源	菌株番号	ガス	微生物分離源	菌株番号	ガス	微生物分離源	菌株番号	ガス
1 用宗海水	Is1	—	26 マクサ	Is59	+	51 ピラミル	Is108	—
2 用宗海水	Is2	—	27 マクサ	Is60	+	52 カジミ	Is109	—
3 用宗海水	Is3	—	28 マクサ	Is61	+	53 カジミ	Is110	—
4 用宗海水	Is4	—	29 マクサ	Is62	+	54 カジミ	Is111	—
5 用宗海水	Is5	—	30 マクサ	Is63	+	55 ワカミ	Is112	—
6 烧津海水淡海水	Is8	+	31 マクサ	Is64	+	56 ワカミ	Is113	—
7 烧津海水淡海水	Is9	+	32 マクサ	Is65	+	57 ワカミ	Is114	—
8 烧津海水淡海水	Is10	+	33 海水 泉脂水	Is72	—	58 ワカミ	Is115	—
9 烧津海水淡海水	Is11	+	34 海水 泉脂水	Is73	—	59 ワカミ	Is116	—
10 烧津海水淡海水	Is12	+	35 海水 泉脂水	Is74	—	60 タンパクリ	Is117	—
11 烧津海水淡海水	Is13	+	36 海水 泉脂水	Is75	—	61 タンパクリ	Is118	—
12 アズノリ	Is30	—	37 魚糞水	Is76	—	62 タンパクリ	Is119	—
13 カジミ	Is45	—	38 海水	Is77	—	63 タンパクリ	Is120	—
14 カジミ	Is46	—	39 海水	Is78	—	64 シラヌ	Is121	—
15 カジミ	Is47	+	40 海水	Is79	—	65 シラヌ	Is115	—
16 カジミ	Is48	+	41 アオメソ	Is91	—	66 シラヌ	Is117	—
17 カジミ	Is49	+	42 アオメソ	Is92	—	67 クローバー	TIG2	+
18 カジミ	Is50	—	43 アオメソ	Is93	—	68 トングリーレ銀管	SUG58	—
19 カジミ	Is51	+	44 アオメソ	Is94	+	69 ヒメ銀管	SUG139	+
20 マクサ	Is52	+	45 生シラヌ	Is98	—	70 カツオ銀管	SUG215	—
21 マクサ	Is53	+	46 生シラヌ	Is99	—			
22 マクサ	Is54	+	47 エンドウモク	Is104	—			
23 マクサ	Is55	+	48 ピラミル	Is105	—			
24 マクサ	Is57	+	49 ピラミル	Is106	—			
25 マクサ	Is58	+	50 ヒミル	Is107	—			

3.2 乳糖高分解株の選抜

ホモ型乳酸菌43株について乳糖分解試験を行った。培地中の乳糖のうち、50%以上を乳酸に代謝する株として13株を選抜した（図1）。

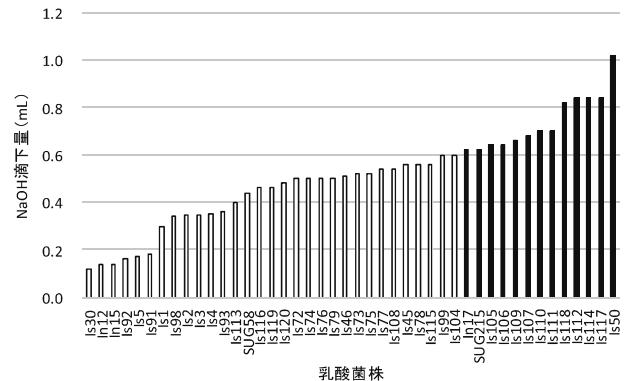


図1 乳糖分解試験でのNaOH水溶液滴下量

3.3 24時間で牛乳を凝固できる株の選抜

牛乳中の雑菌増殖の抑制、レンネットを働くための補助、ホエイの排出促進などの理由から、チーズ製造用乳酸菌には、素早く牛乳のpHを下げる能力が求められる。また本研究にて開発する酸凝固タイプのチーズはレンネットに頼らずに乳酸菌の力でタンパク質を固めて作られる。そのため、今回は、乳酸菌を添加して24時間以内に牛乳のpHを下げてタンパク質を固めることができる乳酸菌を選抜することとした。選抜した乳糖分解能力の高い13株について、それぞれを牛乳に添加し、30°Cで24時間静置した結果を表4に示す。In17株、Is50株、Is117株、およびIs118株の4株で良好なpHの低下およびタンパク質の凝固が確認できた。

表4 牛乳のタンパク質凝固とpH

菌株番号	牛乳凝固	pH
Is50	○	4.5
Is105	△	5.3
Is106	△	5.5
Is107	△	5.6
Is109	△	5.5
Is110	△	5.6
Is111	△	5.6
Is112	×	5.7
Is114	×	5.7
Is117	○	4.7
Is118	○	4.5
In17	○	4.8
SUG215	×	5.7

3.4 チーズ試作による株の選抜

結果および考察3.3で選抜したIn17株、Is50株、Is117株、およびIs118株の4株について、外部に依頼して16SrDNA解析により属種を同定した結果、In17株が*Lactococcus lactis*、Is50株が*Leuconostoc mesenteroides*、Is117株とIs118株が*Lactiplantibacillus plantarum*であった。これらはいずれも食経験のある乳酸菌であった。なお、*Leuconostoc mesenteroides*はヘテロ型乳酸菌として知られている。そこで、Is50株について再度ガス産生を調べたところ、ガスの産生が認められた。結果および考察3.1では、ガスの産生が弱く、選抜を通過したと考えられた。しかし、市販乳酸菌スターには*Leuconostoc mesenteroides*が使われることがある⁴⁾ことや、Is50株の乳糖分解能力が高いことを考慮して、Is50株を含めた4株の乳酸菌を用いて酸凝固チーズを試作した。

いずれの乳酸菌でも酸凝固チーズを製造することが可能であった。Is117株、Is118株で製造したチーズは酸味が強く、味のバランスが悪かった。Is50株で製造したチーズは、風味は良好だが、製造中のpH低下速度が遅い傾向であった(図2)。In17株で試作したチーズは、風味が良く、製造中のpH低下も良好であり、酸凝固チーズ製造用乳酸菌として使用できると考えられた。

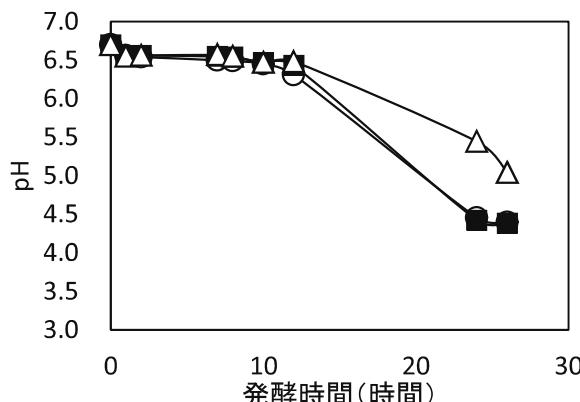


図2 選抜乳酸菌を使用したチーズ試作時のpH変化
○In17株、△Is50株、■Is117株

3.5 *Lactococcus lactis* In17株で試作したチーズの香気成分分析

共同研究企業にて商品化している、市販乳酸菌

スターで作った酸凝固チーズと、今回選抜した*Lactococcus lactis* In17株で試作した酸凝固チーズについて香気成分を分析した。その結果*Lactococcus lactis* In17株で試作したチーズにジアセチルが多く含まれていることがわかった(図3)。ジアセチルは乳酸菌が作り出す香気成分で、バターやチーズ様の香り成分である⁵⁾。今回選抜した乳酸菌で作ったチーズは、市販のチーズと異なる香味を有する可能性が示された。

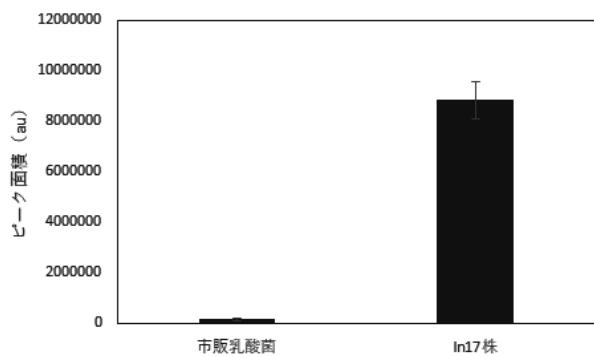


図3 市販チーズと試作チーズ中のジアセチル含量の比較

現在、シラス由来の乳酸菌*Lactococcus lactis* In17株で製造した酸凝固チーズは「静岡チーズ」として販売されている。市販乳酸菌を使用した従来品よりもバター様の香りを感じられ、クリーミーな味わいとなっている。

4 まとめ

駿河湾由来の乳酸菌70株からガス非産生の43株を選抜した。そこから、乳糖高分解性の13株を選抜した。さらに牛乳凝固性のよい4株を選抜した。この4株を用いて共同研究企業にて酸凝固チーズを試作し、シラス由来の乳酸菌*Lactococcus lactis* In17株をチーズ製造用乳酸菌として決定した。*Lactococcus lactis* In17株で製造したチーズにはジアセチルが多い傾向が見られた。共同研究を実施した静岡市内のうしづまチーズ工場㈱では静岡チーズとして販売を開始した。

謝辞

本研究の一部は静岡市地域課題に係る产学共同研

究委託事業で取組んだ。

参考文献

- 1) 八十川大輔 他：北海道の食品から分離した乳酸菌を用いたチーズ用補助スターの開発. 北海道立総合研究機構 食品加工研究センター研究報告, 15, 1-9 (2020)
- 2) 濱岡直裕 他：北海道内で分離した乳酸菌 *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* を利用したモツアレラチーズ製造技術. 日本食品科学工学会誌, 64 (3), 132-138
- 3) 萩原一晃：漬物から分離した植物性乳酸菌を使用したチーズの開発. 長野県工業技術総合センター研究報告, 13, 216-218 (2018)
- 4) 三浦 孝之 他：乳酸菌がチーズの製造と品質に及ぼす影響. 日本乳酸菌学会誌, 22(2), 93-99 (2011)
- 5) 濱岡 直裕 他：北海道の食素材から分離したジアセチル高酸性乳酸菌による発酵乳製品製造の試み. Milk Science, 70(1), 22-26 (2021)

(2017)