

## 十勝産水牛乳等を用いた乳製品の開発に関する検討（平成 26 年度）

研究開発課 葛西大介

共同研究：株式会社 大樹農社

### 1. 目的と概要

北海道十勝管内では初となる稀少な水牛乳を用いた乳製品の開発を検討した。水牛乳と例えば、イタリアのモッツァレラチーズ「モッツァレラ・ブッフアラ」が有名であるが、その製造方法は未殺菌乳や未殺菌ホエイを使用することが多く、国内での製造には適していないため、食品衛生法に沿った国内製造における技術的知見が皆無に等しい。このため、水牛乳の性質を把握し、国産水牛乳モッツァレラチーズの製造方法の確立に向けた試験を実施した。

### 2. 試験方法

#### (1) 乳の成分分析

水分は常圧加熱、乾燥助剤法（100℃、3H）を用いた。灰分は直接灰化法（550℃）を用いた。タンパク質はケルダール分解法を用いた。脂質はレーゼゴットリーブ法を用いた。炭水化物、乳固形分（TS）、無脂乳固形分（SNF）は計算で求めた。乳糖は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法を用いた。HPLC 条件はカラム Asahipak NH<sub>2</sub>P-50 4E（4.6mmID×250mmL）、移動相に CH<sub>3</sub>CN：水：リン酸＝75：24.6：0.4 を使用し、オープン温度 50℃、流速 1.0ml/min にて示差屈折計（RI）にて分析した。Na、Ca は希酸抽出-原子吸光光度法を用いた。P はバナドモリブデン酸吸光光度法を用いた。乳酸発酵中の乳酸は HPLC 法を用いた。HPLC 条件は Shodex RSpak KC-811（8.0mmID×300mmL）×2 本、移動相に 50mM HClO<sub>4</sub> を使用し、オープン温度 50℃、流速 1.0ml/min にて示差屈折計（RI）にて分析した。

#### (2) 乳の脂肪球の大きさ、乳の味質、乳酸発酵中の pH、乳酸酸度（LA）

脂肪球の粒度測定は粒度分布測定装置（Shimadzu SALD-2200）を用いた。水牛乳の味質については味認識装置（インテリジェントセンサーテクノロジー TS-5000Z）を用いて測定した。pH は pH メーター（MettlerToledo SG2）を用いた。乳酸酸度（LA）は滴定法により求めた。

#### (3) 発酵乳の乳酸菌数

乳酸菌数は BCP 寒天培地を使用し、混釈培養法にて 35℃、24 時間後に計測した。

#### (4) モッツァレラチーズの試作

一般的なモッツァレラチーズの製造方法に従い、65℃、30min 殺菌の後、40℃まで冷却して乳酸菌スターターを添加し、一定時間経過後にレンネットを添加して凝乳させ、カッティング工程を経て pH5.2 近辺のカード延伸状態まで発酵した。この時、カード内部とホエイの pH 差を少なくするため、pH5.4 付近でホエイを排除し、温水置換を行った。その後、熱湯で延伸テストを行い、カードを 70℃のウォーターバス内で延伸して成形した。

### (5) モッツァレラチーズの硬さ

試作品を半分に切断し、切断面を下にして上から1cm押圧した時の負荷荷重(g)をテクスチャーアナライザー(Stable Micro Systems社、TA-XT2、Probe:円筒形φ20mm、Test Speed:5.0mm/s)にて測定した。

## 3. 結果と考察

### (1) 水牛乳の特長

水牛乳の成分分析を行い、チーズ製造に向くとされているブラウンスイス牛及び5訂食品成分表に記載された牛乳の値を比較した結果、水牛乳はタンパク質が約1.6倍、脂質が約1.9倍、炭水化物が約1.2倍と多く(図1)、乳固形分も約1.5倍、無脂乳固形分も約1.4倍であった(図2)。また、チーズ製造に必要なCaやPも約2.0倍あった(図3)。さらに乳糖においても約1.1倍あった(図4)。脂肪球の粒度測定結果では、粒径が約1.5倍の大きさがあり、脂肪球も牛の乳に比べて大きいことが確認された(図5)。

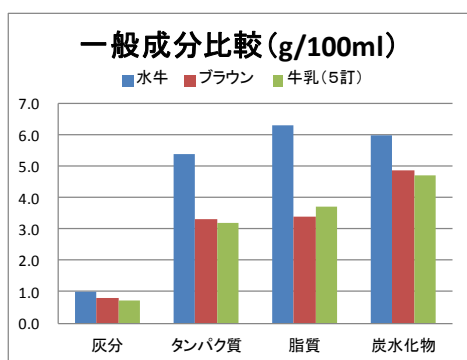


図1) 一般成分の比較

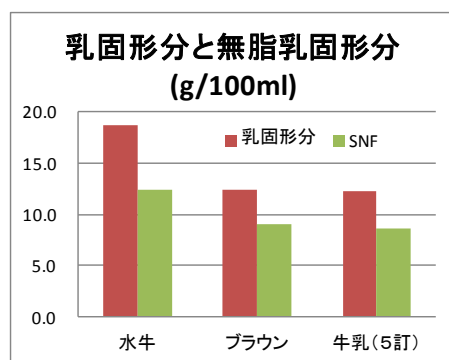


図2) 乳固形分、無脂乳固形分の比較

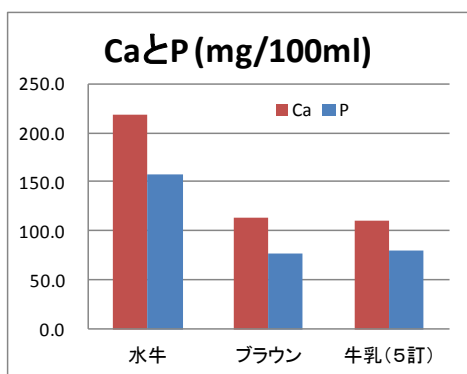


図3) Ca、Pの含有量比較

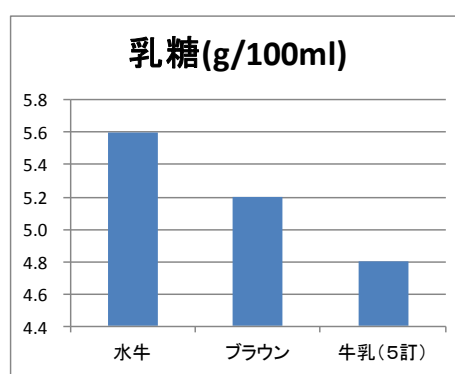


図4) 乳糖の比較

これらの結果から、水牛乳は乳固形分、無脂乳固形分が牛の乳に比べて多く、「味が濃い」と推察され、脂肪量や脂肪球が大きいことから脂肪に由来する「コク」があることが推察された。

しかし、水牛乳の味認識装置による味覚センサー評価では、水牛乳と市販UHT牛乳、畜大生乳の間に旨味やコクについて有意な差は認められなかった(図6、図7)。これは味認

識装置の旨味センサーAAE がグルタミン酸を主とするアミノ酸や核酸に反応するものであるため、乳脂肪のコクを表現できなかったことによると考えている。

また、乳固形分が多いことから実製造においては歩留りが良いことが推測され、製造されたモッツァレラチーズも一般的な製造方法では硬くなることが示唆された。

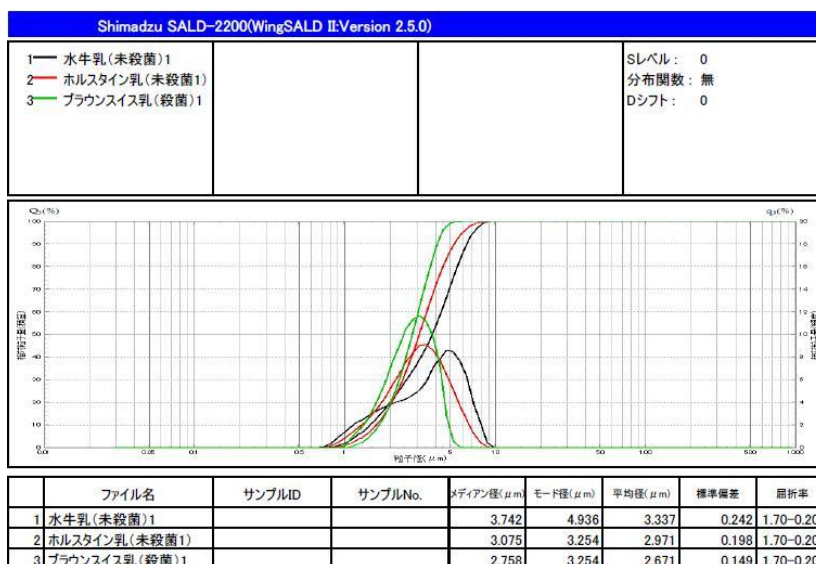


図5) 脂肪球の大きさ比較

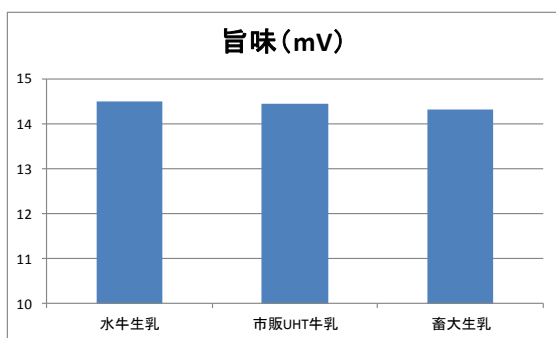


図6) 味覚センサーにおける旨味比較

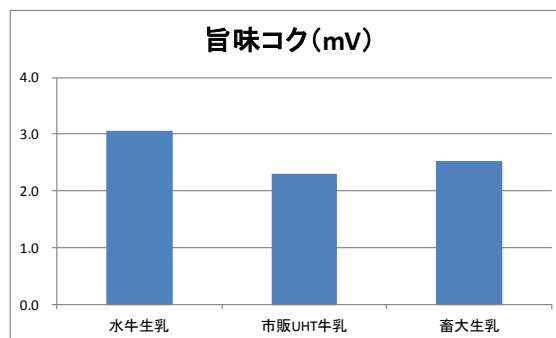


図7) 味覚センサーにおける旨味コク比較

(2) 水牛乳の乳酸菌による発酵

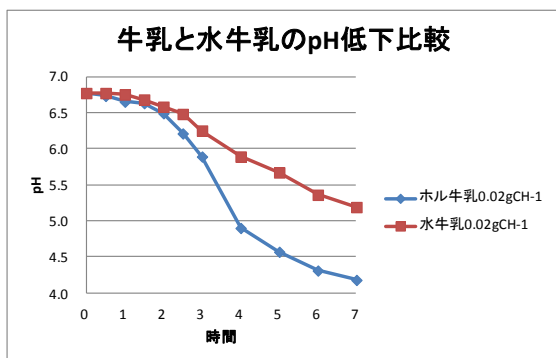


図8) 乳酸菌による発酵試験

殺菌した水牛乳と牛乳に乳酸菌スターター(CH-1)を0.2g/L添加し、40°Cのウォーターバス中で発酵中のpH低下推移を調べた。その結果、水牛乳は牛乳に比べてpH低下が著しく遅いことが明らかとなった(図8)。

この理由を調べるため、発酵7時間後の発酵乳について、乳酸菌数、乳酸酸度(LA)、乳酸量(%)を調べた結果、乳酸酸度(LA)

はpH同様違いが見られたが、乳酸菌数や乳酸量(%)に大きな差はなかった(表1)。つまり、乳酸菌の生育が悪かったり、乳酸菌の乳酸

生成能が低いわけではなかった。このことは水牛乳自体の pH 緩衝能力が高いことを示唆した。

表 1) 発酵 7 時間後の pH、乳酸菌数、乳酸酸度 (LA)、乳酸量

発酵終了時 (7hours)				
	pH	乳酸菌数*10 <sup>8</sup>	乳酸酸度 (LA)	乳酸量 (%)
ホル牛乳	4.23	2.9	0.95	0.942
水牛乳	4.73	3.1	0.70	1.260

そこで、乳酸菌添加前のスターターにレンネットを添加して凝集したカードを除去し、水牛乳ホエイを調製して、水牛乳、水牛乳ホエイ、市販 UHT 牛乳の pH 緩衝能を測定した。すなわち、各検体 10ml を準備し、3000rpm で攪拌しながら 2%乳酸を 100  $\mu$  l ずつ添加し、pH を測定した。

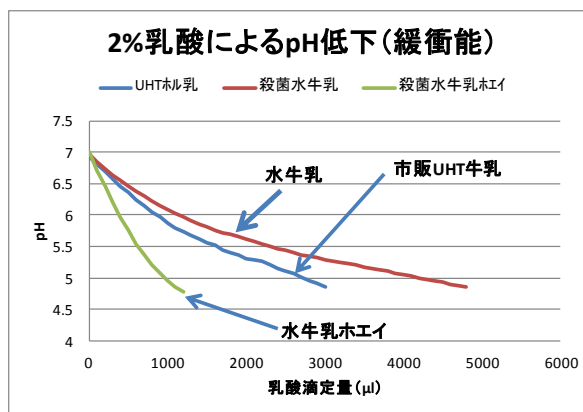


図 9) 乳酸を用いた pH 緩衝能測定

この結果、水牛乳では市販 UHT 牛乳に比べて pH が低下せず、水牛乳の pH 緩衝能力が高いことが確認された。また、水牛乳ホエイでは市販 UHT 牛乳よりも少ない量で pH が急激に低下することが確認され、水牛乳の pH 緩衝能力はホエイ画分ではなく、カード画分に由来することが明らかとなった (図 9)。

水牛乳の pH 緩衝能力の高さは水牛乳の固形分が牛の乳に比べて約 1.5 倍多いことに起因する可能性があったため、加水希釈して水牛乳の固形分濃度を調整し、固形分量の影響かどうか確認を行った。

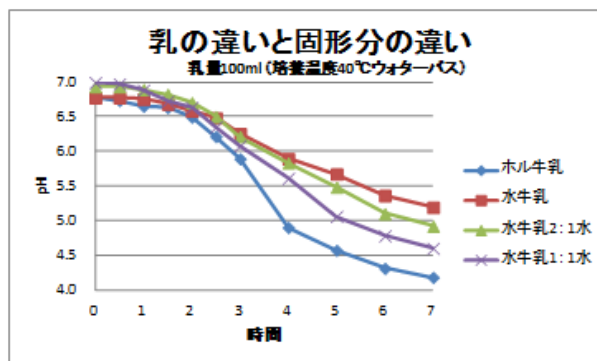


図 10) 固形分濃度の違いによる pH 低下

その結果、牛の乳固形分相当となる 1.5 倍希釈した水牛乳では pH 低下速度はやや早くなったが、牛の乳ほどの pH が低下しなかった (図 10)。さらに 2 倍希釈した水牛乳でも牛の乳ほどの pH が低下しなかった。このことから、水牛乳の固形分量だけでなく、成分自体の pH 緩衝能力が高いことが示唆された。

そこで、水牛乳にカゼインを分解する酵素、プロテアーゼ (Alcarase 2.4L、100  $\mu$  l/100ml、40°C、10min) を反応させ、予めカゼイン分解して沸騰失活させた水牛乳に乳酸菌 (CH-1) を添加し、pH 低下の推移を調べた結果、カゼイン分解乳では牛乳と同様の pH 低下曲線を描き、pH 緩衝能が低くなった (図 11)。従って、緩衝能力が高い成分が何かは明らかでないが、カゼイン自体には pH 緩衝能がないことから、リン酸カルシウムと結合したカゼインの存在形態が牛乳とは違う可能性が示唆された。

これらの結果から、水牛乳の乳酸発酵は乳酸菌自体には影響がないが、pH緩衝能力が高いため、モッツァレラチーズの延伸工程である pH5.2 付近に至るのが遅く、牛乳によるモッツァレラチーズ製造よりも時間がかかることが示唆された。

しかも、水牛乳の場合、延伸工程に入る目安は pH4.9 付近とも言われており、さらに時間がかかることが推測された。

### (3) 水牛乳モッツァレラチーズの試作

これらの知見に基づき、水牛乳を用いて試作を行った。実際の製造でも乳酸菌スターター添加から延伸開始まで約 5 時間もかかり、牛乳のモッツァレラチーズが約 3 時間であるのに比べて大幅に時間がかかった。また、通常モッツァレラチーズ製造方法では予想どおり、しっかりと締まった重たいチーズとなり、伸びの少ない硬いチーズが出来上がった。

モッツァレラチーズの物性は発酵した乳酸量と pH が重要なポイントと言われており、乳中のカゼインタンパク質がジ-カルシウムパラカゼイネイトとして凝固してチーズカードとなる。さらに乳酸発酵が進むことによって、乳酸菌が生成した乳酸によりカルシウムの一部が離脱してモノ-カルシウムパラカゼイネイトと乳酸カルシウムを生じさせ、この状態のときに初めて加熱して繊維状となる柔軟性を有する。

試作したチーズが硬い理由は、水牛乳のタンパク質が多いことや pH 緩衝能の高さによりカード中のジ-カルシウムパラカゼイネイトからモノ-カルシウムパラカゼイネイトへの変化が不足しているためと推察された。そこで、モノ-カルシウムパラカゼイネイトへの変化を促進するために製造工程を一部改め、柔軟性を有する組織となるよう工夫を行った。

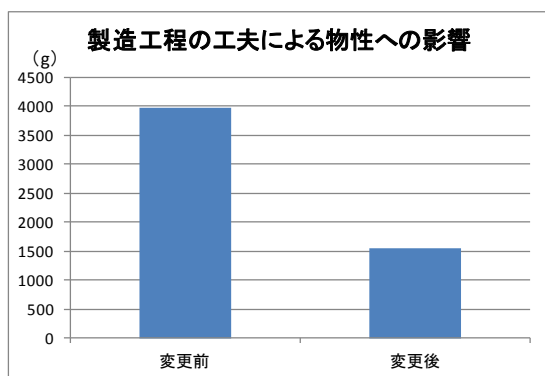


図 12) 試作チーズの硬さ比較

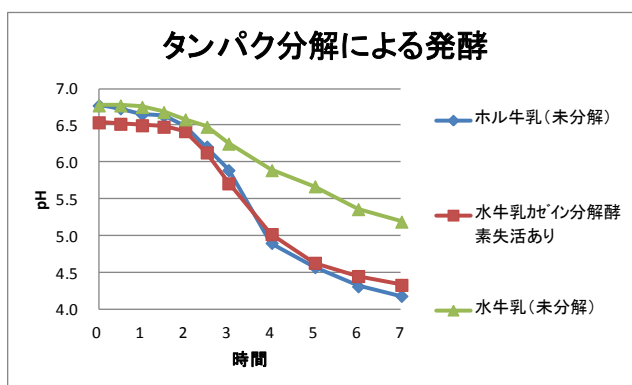


図 11) カゼイン分解水牛乳の pH 低下曲線

製造工程を改める前後で試作を行い、2 種類の試作品についてテクスチャーアナライザーで硬さを比較した結果、変更後の製造工程で製造したものは変更前の約 1/3 にまで硬さが低下した (図 12)。このことから、水牛乳を用いたモッツァレラチーズ製造においては、通常製造工程を工夫することでチーズを柔らかくできることが示唆され、且つ、本工夫により硬さの調整も可能であると考えられた。

#### 4. まとめ

水牛乳はタンパク質、脂質、炭水化物などの乳固形分が多く、脂肪球が大きいことが確認された。また、水牛乳のカゼインタンパク質は牛乳よりも pH 緩衝能力が高く、乳酸発酵が遅いことが確認された。これらの影響により、一般的な製造方法で製造すると製造時間も長くなり、歩留りは良いが硬い物性のモッツアレラチーズができた。

水牛乳モッツアレラチーズの硬さを改善するため、通常の製造工程を一部改め、工夫を行うことにより柔らかいモッツアレラチーズが製造でき、本工夫により硬さの調整も可能であることが示唆された。

これらの成果は共同研究企業に技術移転され、試験販売されている水牛乳モッツアレラチーズの物性改善が図られた。物性が改善された商品「湖水地方の真珠」は販売者が第 22 回北海道加工食品コンクール（平成 26 年度）に出品し、奨励賞を受賞した（写真 1）。



写真 1) 水牛乳モッツアレラチーズ「湖水地方の真珠」

#### 5. 今後の課題

水牛乳モッツアレラチーズの製造方法はまだ十分には確立されていない。理論的な知見では、水牛乳の緩衝能力が製造に与える影響について、カゼインの存在形態の確認がなされていない。実製造においては、製造時間の短縮や製造後の流通における保存方法の検討がなされていない。特に保存方法は保存液が不適切だと、表皮の溶解やはがれが生じたり、保存液への成分流出により風味が落ちることがあるため、製造した水牛乳モッツアレラチーズに適した塩分、pH、有機酸濃度、固形分の調整が必要だと考えられる。また、これらの適正化により賞味期限の延長も可能と考えている。

これらの課題を解決するため、共同研究企業は北海道中小企業総合支援センターの北海道中小企業応援ファンド事業「地域資源活用型事業化実現事業」に応募し、採択された。この支援により、平成 27 年度も共同研究を継続し、国産水牛乳モッツアレラチーズの製造方法確立を目指し、商品開発に取り組むこととなっている。