

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 9 月 26 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780271

研究課題名(和文)放牧牛乳の脂質特性を利用した機能性乳製品とその風味に関する研究

研究課題名(英文)The development of functional dairy food using cream derived from pasture-fed cow milk and study of flavor formation in the products

研究代表者

朝隈 貞樹 (Asakuma, Sadaki)

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・北海道農業研究センター・酪農研究領域・主任研究員

研究者番号：50374773

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、放牧牛乳由来脂質(放牧牛乳クリーム)を原料とし、均質化の有無および数種類の乳酸菌スターターによる培養により、共役リノール酸の強化および風味への影響を検討することを目的とした。ホモジナイズ処理をしない場合、培養6時間でチーズ用乳酸菌が有意に共役リノール酸を増加させた。また、ホモジナイズ処理をした場合、ラクトバチルス・ヘルベチカス菌を添加したものが有意に増加した。さらに両処理ともにプロバイオティクス菌を添加したものは、有意な低下が確認された。原料として放牧牛乳クリームを用いることで、共役リノール酸がホモジナイズ処理の有無やいくつかの乳酸菌との組み合わせにより強化される可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we performed to evaluate the production CLA in cream from pasture fed cow milk by several lactic acid bacteria starters and the effect on flavor formation of the product.

The CLA level in non-homogenized cream from pasture-fed cow milk, which had been cultured with Gouda cheese starter for 6 hr, was significantly higher than that in pre-cultured cream. The concentration of CLA in the homogenized cream, which had been cultured with Lactobacillus helveticus strain, was higher than that in the pre-cultured cream. However, these levels in both homogenized and non-homogenized cream, which were cultured with probiotic lactic acid bacterial strains, were lower than those in the pre-cultured cream. In conclusion, it is suggested that the CLA level in the cream from pasture-fed cow milk may increase by homogenizing or culturing with lactic acid bacterial strains.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 畜産学・草地学

キーワード：放牧 牛乳 乳製品 脂肪酸

1. 研究開始当初の背景

我が国の乳生産基地である北海道は、生乳生産シェア 48.9%、地域外への生乳移出量約 38 万トンを占めておりその多くは加工用として用いられている。草地資源が豊富な同地域では、66.0%の生産者が放牧を取り入れた乳生産を行っており、年々放牧依存度が増加しているとされてきた。このような飼料自給率向上への取り組みに伴う放牧飼養の増加は、乳・乳製品の機能性及び風味に大きな影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで、特に放牧飼養により得られる牛乳（放牧牛乳）において最も飼料の影響を受ける成分の一つである脂質に着目した。これまでも放牧草を摂取することで牛乳中の多価不飽和脂肪酸および機能性脂質が増加することが示唆されている。さらに乳製品製造に使用される乳酸菌には多価不飽和脂肪酸を機能性脂質に異性化する性質のものが報告されている。この放牧牛乳由来の脂質（放牧クリーム）を原料として数種類の乳酸菌スターターによる培養処理および均質化処理により機能性脂質の強化および風味への影響を検討することで、放牧牛乳の原料としての付加価値を科学的見地から支持する必要があった。

2. 研究の目的

本研究は、今後増加することが考えられる放牧牛乳について、特に脂質成分に着目し、その機能性、風味の特徴を最大限活かすため、乳酸菌等を利用した乳製品製造段階における脂質成分調節について基礎的知見を得ることを目的としている。放牧牛乳を原料とし、乳脂肪の加工及び種々の乳酸菌スターターの利用による機能性脂質（とくに c9t11 型共役リノール酸）を強化した保健機能に優れた乳製品製造の可能性を検討し、これにより変化する脂質組成が乳製品の風味に及ぼす影響を評価することを目的として研究を行う。

3. 研究の方法

放牧牛乳（昼夜放牧約 20 時間）10kg を 40 に湯煎しクリームセパレーター（エレクレム F1）を使用してクリームと脱脂乳に分離した。得られたクリームの乳脂率は、バブコック法により測定し平均 59.6%であり市販フレッシュクリーム（35-40%）と同等以上の濃度で抽出が可能であった。

クリームの乳脂率を市販クリームに一般的な 40%に設定するため、10%還元脱脂乳を用いて調整した。放牧牛乳抽出クリームを 40%に調整した後、90 以上 30 分殺菌処理を行い、4 12 時間以上エイジングしたものを発酵試験の培地とした。発酵条件（スターター添加量および培養温度）の検討には、10%還元脱脂乳で前培養した市販の乳酸菌バルクスターター A, B, C (表 1)を用いて、それぞれ 1-3%をクリームに加え 24 時間の発酵試験を行い、2%添加が最も安定して試験時間内での pH 低下が認められたことから、以後の試験にはバルクスターターは 2% 添加することとした。

表 1. 乳酸菌スターター構成

スターター名	構成
A	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>
B	<i>Lactobacillus helveticus</i>
C	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>

発酵試験は、A, B, C それぞれのバルクスターターを 2%添加した 40%クリームを作成し、これを培養試験管に 10ml ずつ分注した。培養温度は、スターター A 及び B については 37、C については 32 とし、24 時間培養を行った。培養開始前を 0 時間として、pH 測定を行いながら 1 時間毎にサンプリングを行い -50 で分析まで保存した。

本研究後半で放牧牛乳より抽出したクリ

ームへの均質化については、2 段式ホモジナイザー (LAB-1000, SMT 社) を用いて行われた。均質化するサンプルを 80 まで湯煎予熱を行い、一段目 10Mpa、二段目 30Mpa の計 40Mpa で均質化を行い、その後殺菌、エイジングの行程に移行した。

クリームからの脂質抽出については、当初 5 倍の蒸留水を加え直接 1g ずつ分取する方法を用いたが、クリーム濃度が高濃度で不均一であるため、反復精度が低く安定性に欠けることが分析後明らかとなった。このため得られた発酵クリームを約 40 で湯煎しながら 1g 採取し、蒸留水 1ml を加え攪拌後、ヘキサン 4ml を加えさらに攪拌する。この溶液を 3000rpm 5 分間遠心分離後、上澄みを 500 μ L ずつ分注し、脂質重量、脂肪酸分析を行うことで抽出脂質重量は安定した。

脂肪酸分析は、あらかじめ内部標準 Tritridecanoic acid 0.5mg を添加したクリームサンプルから、レーゼゴットリーブの変法により抽出された脂質を 1M ナトリウムメトキシドメタノール溶液と 14%三フッ化ホウ素メタノール溶液によってメチルエステル (FAME) 化し、高極性脂肪酸メチルエステル分析用キャピラリーカラム (Supelco 社 SP-2560、内径 0.25mm \times 100m) とガスクロマトグラフ-水素炎イオン検出器およびガスクロマトグラフ-質量分析を組み合わせて同定、定量を行った。

発酵クリームの風味に関連する物質として、低級脂肪酸だけではなく揮発性香気成分の構成も確認するため、ヘッドスペース固相マイクロ抽出法 (HS-SPME 法) により分析を行った。HS-SPME 法は、密閉された容器中に入れられたサンプルから、緩やかな加熱により揮発した成分をサンプル容器中のヘッドスペースに固定された固相 (DVB/CAR/PDMS, gray fiber, Supelco 社) に吸着する方法である。この固相をガスクロマトグラフの気化

室で 270 に加熱することで、吸着された揮発性成分を再び脱離させ、キャピラリーカラム (DB-5MS, Agilent) 及び質量分析計を用いて検討を行った。

4. 研究成果

全ての試験において、pH の持続的な低下が認められ、最終的には培養 6 時間後に pH5 以下、実験開始時 pH から 2 程度の低下を記録した。このことから試験期間中の乳酸発酵が問題なく行われた (図 1)。

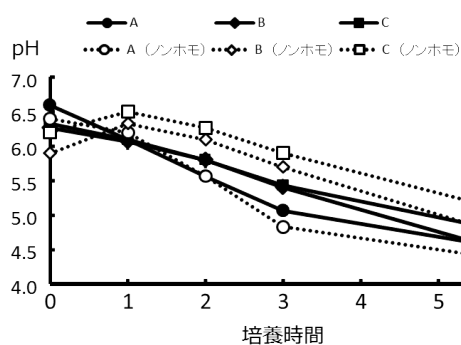


図 1. 発酵クリーム中 pH の変化

本研究は、放牧牛乳中に高濃度に含まれるとされる c9t11 型共役リノール酸 (c9t11 型 CLA) を乳酸菌や加工処理によりさらに高濃度の c9t11 型 CLA を含む発酵クリームの作成が一つの目的であった。これは乳酸菌が c9t11 型共役リノール酸を作成するために必要となる多価不飽和脂肪酸を放牧牛乳が高濃度であることを利用する試みであり、チーズの先行研究では、本研究でも用いたスターター A に含まれるようなプロバイオティクス菌がその効果を有することが示唆されてきた。

本研究において、ノンホモ放牧牛乳クリームを三種類のスターターにより培養させたサンプルの c9t11 型 CLA 生産について、培養前および培養後 6 時間後の濃度を示した (図 2 上部)。培養 6 時間後の発酵クリーム中 c9t11 型 CLA 濃度は、スターター A において、有意な減少が認められ、スターター C においては有意な増加が認められた。スターター C

については約 50%程度増加する可能性が示唆された。また、スターターB においても増加傾向が認められた。一方、ホモジナイズ処理を行って培養した結果（図 2 下部）は、スターターA が有意に減少しており、スターターB が有意に増加した。ホモジナイズ処理したものはいずれも低い増減に留まった。

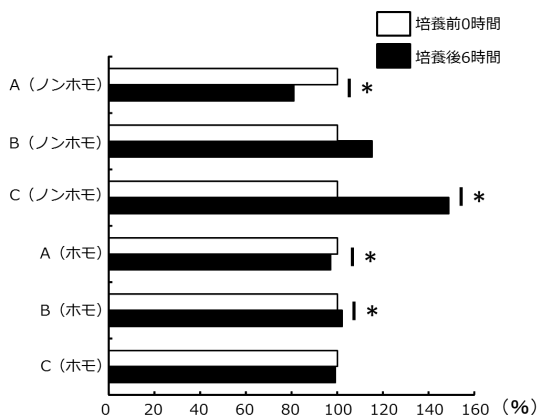


図 2.各種乳酸菌スターターによる培養 6 時間後のクリーム中共役リノール酸 (c9t11 型) 濃度

本研究結果より、これまでチーズで報告されたようなプロバイオティクス（スターター A）による c9t11 型 CLA は、放牧牛乳クリームにおける培養試験では、ホモジナイズの有無に関係なく強化されず、むしろ有意に低下しており、仮説とは異なる結果となった。一方で、チーズ用として使われるスターターB については、ノンホモ状態のクリームで培養することで c9t11 型 CLA を強化する可能性が示唆された。結論として、放牧牛乳クリームは均質化の有無によって乳酸菌スターターの種類を考える必要があるが、原料として、より c9t11 型 CLA を強化した乳製品を製造できる可能性が本研究より示唆された。

培養サンプルに関する風味関連物質は、17 ~ 28 種類確認されたが、低級脂肪酸については、いずれも有意な変化が認められず、揮発性香気成分も特徴的な変化が認められない結果となっている。

クリーム中の揮発性香気成分の分析には再現性および感度の向上など更なる改良が

必要と考えられ、本研究結果における脂肪酸からの風味生成メカニズム解明とともに今後の研究課題である。

5. 主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者
朝隈 貞樹 (ASAKUMA, Sadaki)
(独) 農業・食品産業技術総合研究機構・北海道農業研究センター・酪農研究領域・主任研究員
研究者番号：50374773

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：