

新・「郡高ヨーグルト」の開発を目指して

岐阜県立郡上高等学校 食品流通科3年 食品化学専攻 乳酸菌班

はじめに

ヨーグルトは発酵食品であるため、乳成分の僅かな変化でも組織が微妙に変化してくる。本校で生産されている「郡高ヨーグルト」は生乳と上白糖のみで生産されており、牛乳成分の調整を行っていないため、牛の個体差や飼育環境、季節などによって食味が微妙に変わってくる性質がある。

近年の「郡高ヨーグルト」は、年間を通して柔らかく、カード形成能力が低い傾向にある。そこで、しっかりとした固さを持つヨーグルトを作るために、3年前からカード形成能力の高い乳酸菌を自然界から選抜し、郡上産の乳酸菌をPRした新・「郡高ヨーグルト」を製造することを目的に研究に着手している。

昨年度は3種類の乳酸菌を単離することができたが、ヨーグルト製造には適さない種の乳酸菌であった。今年度は、植物だけではなく郡上の特産品まで範囲を広げて採取し、郡上市で採取した乳酸菌としてさらに付加価値を付け、カード形成能力を高めた新・「郡高ヨーグルト」を開発しようと試みた。

ヨーグルト開発に向けた地域乳酸菌とは

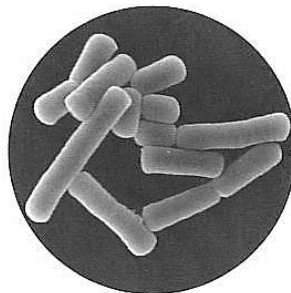
乳酸菌とは、糖類を発酵して消費糖に対して50%以上の乳酸を生成する通性嫌気性の桿菌または球菌の総称である。

それぞれの土地には、その土地の自然環境にあった微生物が生息している。私たちの住んでいる郡上市にもこの地域に特徴的な微生物資源がたくさん存在していることが予想される。私たちは、採取する際に以下に示す5つの条件をクリアした食用として利用できる乳酸菌を選抜することにした。

ヨーグルト製造に使用する乳酸菌の条件

1. カード形成能を持つこと
2. 発酵香が良いこと
3. 乳酸菌であること
4. 病原微生物でないこと
5. 食経験がある種であること

【ラクトバチルス属(微生物利用【実況出版】より)】



試料の採取・集積培養

①以下の3つの点に注意し、試料をピンセットで採取する。採取する際は、ゴム手袋を着用し、皮膚常在菌がコンタミしないように注意する。

注意・雨天時には試料の採取をしない

- ・印象の良い場所で採取する
- ・印象の良い植物を採取する

採取した試料(計96サンプル)
赤かぶら(実・汁) 郡上みそ
葉なんばん サクラ(花・樹皮)
タンポポ(花・茎・葉) 等

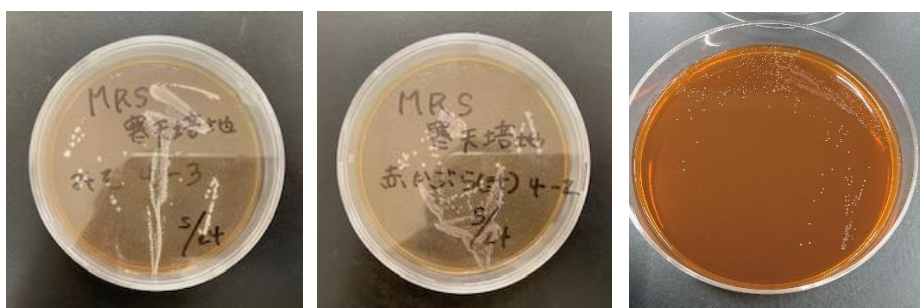


【採取の様子】

- ②液体培地〔スキムミルク10g、グルコース2g、水道水100ml〕の中に、試料を入れ、培養(37℃・12時間)する
- ③カード形成が見られ、香りが良好なサンプルを選抜する
- ④新しい液体培地に③の固まったサンプルを1ml植え継ぎ培養(37℃・12時間)する
- ⑤植継後カード形成が見られ、香りが良好なサンプルを選抜する
- ⑥④～⑤の過程を5、6回繰り返す

平板培養による新規乳酸菌のスクリーニング

- ①集積培養に成功したサンプルを、クリーンベンチ内でMRS寒天培地に塗抹する。
- ②①のシャーレを、倒置培養(37℃・72時間)する
- ③スクリーニングに成功した試料の一部(コロニー)を以下に示す



【郡上みそ】

【赤かぶら】

【コケ】

採取したもの

- ・郡上みそ
- ・赤かぶら(汁)
- ・阿弥陀ヶ滝のコケ

MRS寒天培地に含まれている炭酸カルシウム(CaCO₃)を中和し、クリアゾーンを形成しているコロニーを選抜した。その結果96種のサンプルから9株の乳酸菌と推測されるコロニーのスクリーニングに成功した。

スクリーニングした乳酸菌の同定

岐阜大学応用生物科学部 食品栄養学研究室 中川智行教授に依頼し、単離した乳酸菌株の同定を16S rRNA遺伝子の増幅により行う。

赤かぶら: *Lactobacillus brevis*

```
TTAGACGGCTGACTCCCGAAGGTTATCTCACCGGCTTTGGGTGTACAAACTCTCATGGTGTACGGGGGGTGTGTACAAGGCCGGGAAC
GTATTCACCGCGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAATTCTGTAGGCGAGTGCAGCCTACAATCCGAAGTGAACGGCTT
TAAGAGATTAGCTTAGCCTCAGCACTCCGCAACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCAGCGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATT
TGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCGAGTCTCACCAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTGATAATAAGGGTTGCGCT
CGTTGCGGGGACTTAACCAACATCTCAGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTCTGTCCCGAAGGGAAACGTTTATCT
CTAAGATTGGCAGAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTGAATTAACACCATGCTCCACCGCTGTGCGGGCCCCGT
CAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGGCGTCTACTCCCGAGGCGAGTGTAAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAA
CACTTAGCACTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGATCTAATCCTGTTGCTACCCATGCTTTGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGAC
TAGACAGCGCCTTCCCACTGGTGTCTTCCATATCTACGATTCCACCGCTACACATGGAGTCCACTGTCTTCTTGCCTCAAG
TCTCCAGTTTCCGATGCATCTCTCCGG
```

郡上みそ: *Lactobacillus paracasei*

```
GACGGCTCGCTCCCTAAAAGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTACAAACTCTCATGGTGTACGGGGGGTGTGTACAAGGCCGGGAAC
GTATTCACCGCGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTTGTAGGCGAGTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAATGGCTT
TAAGAGATTAGCTTAGCCTCAGCACTCCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCAGCGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATT
TGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCGAGTCTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTATAAGGGTTGCGCT
CGTTGCGGGGACTTAACCAACATCTCAGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTGCCCGGAAAGGGGAAACCTGATCT
CTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTGAATTAACACCATGCTCCACCGCTGTGCGGGCCCCGT
CAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGGCGTCTACTCCCGAGGCGAATGCTTAAATGCGTTAGCTGCAGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAA
CACCTAGCATTATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGATCTAATCCTGTTGCTACCCATGCTTTGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGAC
CAGACAGCGCCTTCCCACTGGTGTCTTCCATATCTACGATTTCACCGCTACACATGGAGTCCACTGTCTTCTTGCATCAAGT
TTTCCAGTTTCCGATGCGCC
```

コケ: *Lactococcus lactis*

```
AGTAACCGCTGGGAATCTGCCTTTGAGCGGGGACAACATTTGGAACGAATGCTAATACCGCATAAAACTTTAAACACAAGTTTAAAG
TTTGAAGATGCAATTGCATCACTCAAGATGATCCCGGTTGTATTAGCTAGTTGGTGAAGGTAAGGCTCACCAGGGCGATGATACATAG
CCGACTGAGAGGGTGTGCGCCACTTGGGACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCGAGTAGGGAATCTCGGCAATGGACG
AAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAAGAAAGGTTTTCGGATCGTAAACTCTGTTGGTAGAAGAAGCGTTGGTGAAGTGGAAAG
CTCATCAAGTGACGGTAACCTACCAGAAAGGGACGGCTAATCAGTCCAGCAGCGCGGTAATACGTAGTCCCGAGCGTTGTCGGGATT
TATTTGGCGTAAAGCGAGCGCAGTGGTTTAAAGTCTGGTGTAAAGGCGAGTGGCTCAACCATGATGATTGAAACTGGTAGACTT
GAGTGCAGGAGAGAGAGTGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATGAGGAAACACCGGTGGCGAAAGCGGCTCTCTGGCC
TGTAACCTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAA
```

同定した結果、2種類の乳酸菌を単離することに成功した。ラクトバチルス(*Lactobacillus*)属とラクトコッカス(*Lactococcus*)属の乳酸菌を用いてヨーグルトを作製し、大学関係者に検食をしていただいた結果、健康上異常がなかったため、これらを種菌として利用しようと考えた。

ヨーグルトの試作方法の確立

私たちが単離した乳酸菌を用いて、新・「郡高ヨーグルト」を製造するために、以下の方法で試作を行う。

<スターター>

- ①牛乳500mlを滅菌(115℃で20分)する
- ②牛乳を43℃まで冷ます
- ③乳酸菌を加えて混ぜる



<ヨーグルト>

- ①牛乳1lに上白糖を77.5g加え、加熱(79~83℃・30分間)し、43℃まで冷却する
- ②1lの牛乳に滅菌状態でスターターを20~25ml入れてよく混ぜ、10分間静置する
- ③ヨーグルトカップに70gずつ充填する
- ④インキュベーターで発酵(43℃、7時間)する
- ⑤4℃で冷却する



【牛乳の本殺菌から充填までの様子】

私たちは、「郡高ヨーグルト」とほぼ同じ条件で小スケールによる製造方法を確立することができた。

まとめ

今回単離した2種類の菌は乳酸菌であり、全ての条件を満たしているため、ヨーグルト製造に利用することができると考えている。また、乳酸菌の相互作用を検証し、しっかりとした硬さを持つヨーグルトの製造が可能か確かめるための試作方法を確立した。今後の研究では、実際に「郡高ヨーグルト」の製造で使われている乳酸菌と私たちが単離した乳酸菌を組み合わせる試作を行い、新・「郡高ヨーグルト」の完成に近づけていってほしい。

本研究を進めるにあたり、岐阜大学の中川教授、本校理科助手の小嶋先生より研究のご指導、ご助言をいただきました。この場を借りてお礼申し上げます。