牛乳のビタミン B₁ 及 C に及ぼす乳酸醗酵の影響

津 郷 友 吉・上 原 繁 光 (東京大學農學部)

On the effect of lactic acid fermentation upon vitamin B₁ and C of milk.

TOMOKICHI TSUGO and SHIGEMITSU UEHARA.

(Faculty of Agriculture, Tokyo University)

1. 緒 言

牛乳のビタミン B₁ 及 C に及ぼす加熱の影響についてはこれまでに数多くの研究が行われ、また各種乳製品の製造工程におけるビタミンの變化についても一通り研究が行はれている。しかるに乳酸醗酵とビタミンとの關係についての研究は極めて少なく、ビタミン B₁ について宮脇及前野兩氏¹⁾が乳酸醗酵により何等變化しないことを報告しているに過ぎない。ビタミン C と乳酸醗酵については未だ研究報告が見られない様である。これはビタミン B₁ 及 C が共に熱に對しては弱いけれども酸に對しては比較的強いことが明かであること、乳酸飲料が清涼飲料として用いられることが多く特にビタミンを要求されないためにこれまで研究が行われなかつたものと思われる。しかしながら米國における *Acidophilus milk* の如く特に乳酸醗酵を應用した加工乳が盛んに製造される様になりビタミンの給源として重要になれば輕視できない問題である。よつて本研究においては牛乳のビタミン B₁ 及 C に及ぼす乳酸醗酵の影響を明かにすることを目的として實驗した。その成績をここに報告する。

2. 實驗の方法

(1) 供試牛乳 試験に用いた牛乳は東京乳業株式會社目黒工場において市乳の原料とする生の牛乳である。試験には最初の豫備試験における1回を除き何れも脱脂したものをを用いた。

(2) 乳酸醗酵の條件 乳酸菌としては *Lactobacillus bulgaricus* のスターターを用いた。酸度及ビタミン測定に際しスターター添加により定温器内にて乳酸醗酵が起ればカゼインが凝固し、そのために均等な試料を採ることが困難になるので、豫め多數の 50~100 cc の三角フラスコを用意し脱脂乳を酸度及ビタミン C 測定用には 10 cc 宛、ビタミン B₁ 用には 50 cc 宛を入れ、これに一定量のスターターを添加して 37~38°C の定温器内に置き一定時間毎に1個宛測定に供した。

(3) 酸 度 酸度は牛乳 1 cc について苛性ソーダ、N/10 溶液の cc 数を以て表わす。

(4) ビタミン B₁ の定量 パラアミノアセトフェノンを用いる比色法を採用し、櫻井その他²⁾の方法に準じて遊離型及總ビタミン B₁ を定量した。比色には純ビタミン B₁ 鹽酸鹽結晶を標準としドボスク氏比色計を用いて行つた。

(5) ビタミン C の定量 還元型ビタミン C 即ちアスコルビン酸を 2-6-Dichlorophenolindophenol を用いる滴定法により除蛋白劑としてはメタ磷酸を用い常法に従つて行つた。

3. 實驗の成績

(1) 豫備試験 乳酸醗酵の経過におけるビタミン B₁ 及 C の變化を測定するに先立つて乳酸醗酵における酸度の時間的變化を測定した。即ち全乳或は脱脂乳を 10 cc 宛多數を採り *L. bulgaricus* のスターターを 5 滴 (約 3% に相當) 宛加え綿栓をして 38°C の定温器内に置き 2 時間毎に酸度を測定した。斯くの如くして 24~30 時間に亘つて醗酵せしめた場合の酸度の變化を第 1 表及第 1 圖に示す。

第 1 表 乳酸醗酵における酸度の時間的變化

時 間	全 乳		脱 脂 乳	
	酸 度 cc	酸度上昇率 %	酸 度 cc	酸度上昇率 %
0	1.6	0	2.1	0
2	2.0	25.0	2.6	23.8
4	2.8	27.2	3.3	26.9
6	5.1	82.1	5.2	57.5
8	8.2	60.7	8.3	59.6
10	10.7	30.4	10.6	27.7
12	13.1	22.4	13.0	22.6
14	14.3	16.4	14.4	10.7
16	15.7	9.8	15.7	9.0
18	17.1	8.9	17.0	8.2
20	18.3	7.0	18.2	7.0
22	19.0	3.8	19.2	5.5
24	19.7	3.6	20.0	4.1
26	20.3	3.0		
28	20.8	2.4		
30	20.9	0.5

第1図

その成績によれば酸度上昇率は醗酵開始後2~12時間が高く殊に6~8時間目が最も高い。即ち乳酸菌はこの間において最も繁殖が盛んであることが認められた。よつて醗酵中のビタミンの測定は12時間目までは2時間おきに行いそれ以後は測定の間隔を長くすることとした。但し第1表に示す酸度上昇率は上昇酸度(cc)をその前の酸度に對する%で表わす。

(2) 脱脂乳の乳酸醗酵におけるビタミン B₁ の變化 實驗の方法に記した様にして脱脂乳を採りスターターを3%加えて綿栓をなし乳酸醗酵を行わしめて試験した成績は第2表及第2圖の通りである。

第2表によれば牛乳のビタミン B₁ は最初やや著しくその後は徐々に減少しているが、この減少の経過は酸度の上昇割合とは嚴密には一致しない。酸度は6~8時間

第2表 脱脂乳の乳酸醗酵におけるビタミン B₁ の變化

醗酵時間	酸度 cc	遊離ビタミン B ₁ r%	残存率 %	結合ビタミン B ₁ r%	残存率 %	總ビタミン B ₁ r%	残存率 %
0	2.0	23.6	100	8.8	100	32.4	100
2	2.6	22.4	94.9	7.8	88.7	30.2	93.2
4	3.3	22.0	93.2	5.0	56.9	27.0	83.4
6	5.1	21.4	91.7	4.8	54.6	26.0	80.3
8	8.2	20.6	87.3	4.6	52.3	25.2	77.8
10	10.7	20.0	84.8	4.6	52.3	24.6	76.0
12	13.1	19.6	83.1	4.4	50.0	24.0	74.1
24	20.8	17.2	72.9	3.8	48.2	21.0	64.1
48	24.1	14.8	62.8	2.8	31.9	17.6	54.3

の所で急に上昇している。即ち乳酸醗酵の経過とビタミン B₁ の減少とは直接並行的の関係は認められないのである。

(3) 脱脂乳の乳酸醗酵におけるビタミン C の變化 實驗の方法に記した様にして脱脂乳を採りスターター3%を添加して綿栓をなし乳酸醗

第2圖

第3表 脱脂乳の乳酸醗酵におけるアスコルビン酸の變化

醗酵時間	スターターを添加した場合			スターターを添加しない場合		
	酸度 cc	アスコルビン酸 mg %	残存率 %	酸度 %	アスコルビン酸 mg %	残存率 %
0	2.0	1.47	100	1.60	1.42	100
2	2.8	1.12	76.1	1.60	1.22	85.9
4	3.7	0.81	55.1	1.60	0.80	56.3
6	5.3	0.63	42.8	1.60	0.64	45.0
8	8.8	0.40	27.2	1.60	0.46	32.4
10	10.8	0.34	23.1	1.70	0.41	28.8
12	13.2	0.30	20.4	1.85	0.38	26.7
24	20.4	0.25	17.1	4.30	0.32	22.5
48	22.0	0.15	10.2	4.80	0.19	13.3

上昇は遙かに緩かであるがアスコルビン酸の減少はスターターを加えた場合と殆んど同様である。よつて乳酸醗

酵におけるアスコルビン酸の減少は乳酸醗酵そのものと直接の関係はないことが明かに認められる。

次に比較のためにスターターを添加しないで冷蔵中におけるアスコルビン酸の變化を測定した。この場合冷蔵の條件は温度0~5°Cで、容器は綿栓したものと密栓したものと2種を用いた。その成績を第4表に示す。

第4表によれば0~5°Cの温度に冷蔵する場合はアスコルビン酸の減少が少なく、殊に密栓

第3圖

第4圖

した場合は極めて僅かであつて、むしろ空気の影響がかなり大きいものであることが認められる。

第4表 脱脂乳を冷蔵中のアスコルビン酸の變化

冷蔵時間	綿栓した場合			密栓した場合		
	酸度 cc	アスコルビン酸 mg %	残存率 %	酸度 cc	アスコルビン酸 mg %	残存率 %
0	1.55	1.53	100	1.55	1.53	100
24	1.55	1.28	83.6	1.55	1.49	97.3
48	1.60	1.00	65.3	1.60	1.42	22.8
72				1.60	1.40	91.5

(4) 低温殺菌乳の乳酸醗酵におけるビタミンCの變化 實用上牛乳の加工における乳酸醗酵は加熱殺菌してから行われるから加熱殺菌処理を施した場合のアスコルビン酸の變化を測定した。脱脂乳 250 cc を 500 cc の三角フラスコに採りこれを密栓して湯煎にて 63°C に 30 分間低温殺菌を行い、冷却後前と同様にして乳酸醗酵中の變化を測定した。スターターを添加した場合とスターターを添加しない自然醗酵の場合とを試験した。その成績は第5表及第4圖の通りである。

第5表 低温殺菌乳の乳酸醗酵におけるアスコルビン酸の變化

醗酵時間	スターターを添加した場合			スターターを添加しない場合		
	酸度 cc	アスコルビン酸 mg %	残存率 %	酸度 cc	アスコルビン酸 mg %	残存率 %
殺菌處理前	1.60	1.19	100	1.65	2.17	100
殺菌處理後	1.60	0.90	75.6	1.65	1.62	74.7
2時間	2.50	0.70	58.7	1.68	1.27	58.9
4	3.40	0.58	48.7	1.68	0.98	45.1
6	4.30	0.46	38.6	1.70	0.78	35.9
8	6.60	0.35	29.4	2.10	0.70	32.2
10	8.40	0.31	26.0	2.70	0.51	23.5
12	9.50	0.26	21.9	3.15	0.45	20.7
24	14.10	0.19	15.9	5.70	0.28	12.9
48	14.80	0.13	10.9	6.30	0.10	4.6

第5表によれば低温殺菌處理によつてアスコルビン酸は約 25% 失われるが、その後の減少割合は生乳におけるよりも少なく 12 時間以後に残存する割合は生乳の場合と殆んど同様になる。但しスターターを添加しない場合の方は 48 時間後の

第5圖

損失がやや大きい様である。

(5) 高温殺菌乳の乳酸醗酵におけるビタミンCの變化 比較的高温に殺菌した場合について前回と同様の試験を行つた。殺菌の條件は 85°C に 20 分間加熱した。その成績は第6表及第5圖の通りである。

第6表によれば 85°C に 20 分間の加熱の間にアスコルビン酸は約 20% 失われるが前と同様醗酵中の減少割合は生乳におけるよりも少なく 12 時間後にはやはり約 80% 失われ残存する割合は生乳の場合と殆んど同様になる。但しこの場合はスターターを添加しない場合の方がアスコルビン酸の残存率が大きい値を示した。

第6表 高温殺菌乳の乳酸醗酵におけるアスコルビン酸の變化

醗酵時間	スターターを添加した場合			スターターを添加しない場合		
	酸度 cc	アスコルビン酸 mg %	残存率 %	酸度 cc	アスコルビン酸 mg %	残存率 %
殺菌處理前	1.55	2.10	100	1.60	1.90	100
殺菌處理後	1.57	1.70	80.9	1.62	1.55	81.6
2時間	2.10	1.26	60.0	1.60	1.37	72.1
4	2.10	1.02	48.5	1.60	1.23	64.7
6	5.50	0.78	37.1	1.65	1.05	55.2
8	7.90	0.62	29.5	1.65	0.89	46.8
10	9.80	0.54	25.7	1.65	0.68	35.7
12	11.25	0.44	20.9	1.75	0.55	28.9
24	18.28	0.34	16.2	3.20	0.50	26.3
48	21.96	0.30	14.2	3.60	0.34	17.9

(6) 滅菌乳の乳酸醗酵におけるビタミンCの變化 加圧釜内にて脱脂乳を 120°C に 10 分間滅菌して前回同様の試験を行つた。その成績は第7表及第6圖の通りである。

第7表によれば 120°C に 10 分間滅菌處理の間にアスコルビン酸は 30~35% 失われるが、その後の乳酸醗酵における減少割合はこれまでの試験中最も少く結局 48 時間後に残存する割合は生乳或はその他の殺菌乳と殆んど同様になる。この場合もスターターを添加しない

第6圖

方が残存率がむしろ大きい様である。

第7表 滅菌乳の乳酸醗酵における
アスコルビン酸の變化

醗酵時間	スターターを 添加した場合			スターターを 添加しない場合		
	酸度 cc	アスコル ビン酸 mg %	残存率 %	酸度 cc	アスコル ビン酸 mg %	残存率 %
滅菌處 理前	2.00	1.54	100	1.90	1.20	100
滅菌處 理後	2.50	1.08	70.1	2.40	0.78	65.0
2時間	3.60	0.93	60.4	2.40	0.65	54.1
4	4.50	0.78	50.6	2.40	0.54	45.0
6	5.70	0.55	35.7	2.40	0.51	42.5
8	9.50	0.46	29.8	2.40	0.43	35.8
10	10.30	0.32	20.7	2.40	0.40	33.3
12	11.80	0.27	17.5	2.40	0.39	32.5
24	14.80	0.19	12.3	2.30	0.36	30.0
48	17.40	0.18	11.7	2.10	0.21	17.5

4. 結 論

牛乳の乳酸醗酵におけるビタミン B₁ 及 C の變化を
試験するため主として脱脂乳を試料として実験した成績
から次の如き結論が得られる。

牛乳のスターターを添加して 38°C において乳酸醗酵
せしめた場合酸度の上昇率は醗酵開始後 2~12 時間が大
きく、殊に 6~8 時間が最も著しい。

生の牛乳のビタミン B₁ 及 C は乳酸醗酵の初期にお
いて著しくその後は徐々に減少するが、その減少の割合
は酸度の上昇割合と一致しない。即ちビタミン B₁ 及 C
の減少は乳酸醗酵と直接の関係があるものとは認められ
ない。

牛乳に乳酸菌を接種して醗酵する場合も自然に乳酸醗
酵する場合もビタミン C 減少は主として温度と酸素の
影響によるものであつて乳酸醗酵そのものと直接の関係
は認められない。その他ビタミン C の破壊には光線の
影響も著しいのであるが本実験は何れも光線の影響のな
い条件において行つた。

牛乳を各種の方法で殺菌してから乳酸醗酵せしめた場
合、低温殺菌法 (65°C, 30 分間)、高温殺菌法 (85°C,
20 分間) 及滅菌法 (120°C, 10 分間) において夫々約
25, 20 及 30% ビタミン C は失われるが、その後の乳
酸醗酵における減少割合は生乳におけるよりも緩かで結
局 12~48 時間後に残存するビタミン C の割合は生乳
におけると殆んど同様であつた。これは生乳に 1 種のア
スコルビン酸酸化酵素が存在し加熱処理によつてこれが
破壊されるためであると考えられる。よつて牛乳加工に
乳酸醗酵を應用する場合にビタミン B₁ 及 C の損失は

加熱殺菌によるよりも醗酵中の他の原因による方が遙か
に多いことが知られる。本試験の範囲内では乳酸醗酵の
前処理として 85°C に 20 分間の加熱殺菌が比較的有利
であることが認められる。

5. 要 約

牛乳のビタミン B₁ 及 C に及ぼす乳酸醗酵の影響を
知るために主に脱脂乳を試料とし、これを生のまま或は
種々の温度に加熱してから *Lactobacillus bulgaricus*
を培養して実験した結果ビタミン B₁ 及 C の減少と乳
酸醗酵とは直接の関係が認められなかつた。即ちビタミ
ン減少の原因は他にあり恐らくは主に酸化によるものと
考えられる。

終りに御懇篤な御指導を頂いた佐々木林治郎先生に厚
く御禮申上げる。(昭 23. 7. 23. 受付)

文 献

- 1) 宮脇富, 前野正久 (昭 15): 日畜會報, 13: 220.
- 2) 櫻井芳人 外 (昭 15): 農化, 16: 331, 751; 櫻
井芳人 (昭 19): ビタミン研究, 第 8 號: 4.

Résumé

Using skim milk as the material, changes of
vitamin B₁ and C of milk during lactic acid fer-
mentation were experimented, and the following
results were obtained: (1) Vitamin B₁ and C of
raw milk decreased rapidly at the first stage of the
fermentation, and then decreased slowly. But the
rate of the decrease did not agree with the rate
of the increase of the acidity; (2) The decrease
of vitamin C during lactic acid fermentation of
milk was not attributed to the influence of the
fermentation itself, but to the effect of tempera-
ture and oxygen in air for the most part; (3)
When the samples of milk were heated at a tem-
perature of 63°C for 30 minutes, 85°C for 20
minutes and 120°C for 10 minutes before the fer-
mentation, the loss of vitamin C of each sample
was about 25, 20 and 30% respectively. However,
the rate of the decrease of vitamin C during the
fermentation after the heating was slower than that
of the raw milk, and thus the percentage of remain-
ing vitamin C finally after 12~48 hours was almost
the same as the raw milk. It was found that
when pasteurization was applied in the lactic acid
fermentation of milk, the method of heating at a
temperature of 85°C for 20 minutes was compara-
tively profitable in the limit of this experiment.