Lactococcus lactis subsp. *cremoris* を用いる ヨーグルトの発酵時間短縮

古川 徳・飯山禮文・松岡昭善
高橋 強・山中良忠

東京農業大学, 東京都世田谷区 156

(1991. 6. 4 受付)

Key words : yogurt, bulk starter, *L. lactis* subsp. *cremoris*, fermentation time

FAO/WHO 乳製品国際規格⁵⁾によればヨーグルトには, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* と *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* とを必須の乳酸菌とすべきことが定められている。しかし, わが国の食品衛生法では“発酵乳とは乳またはこれと同等以上の無脂乳固形分を含む乳等を乳酸菌または酵母で発酵させ, 糊状または液状としたものをいう”と定義されているのみで, ヨーグルトには, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* と *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* とを使用すべき必須の乳酸菌と定めているわけではない³⁾。

このようなことから, 著者らは, チーズ用乳酸菌をヨーグルト用スターターとして利用することにより, これまでのヨーグルトとは異なる独特の組織と風味を有するヨーグルトが生産され, ヨーグルトの多様化と消費の拡大に寄与するものと考えた。しかし, このヨーグルトは高温性乳酸菌をスターターとして用いるヨーグルトに比べて, 長時間の発酵時間を必要とすることから, 発酵時間の短縮法について検討した。

材料および方法

(1) 使用菌株

東京農業大学農学部畜産物利用学研究室に保存中のチーズ用乳酸菌 *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NRIC 1782 を用いた。

(2) 各種培地中における乳酸菌の増殖

供試乳酸菌は, MRS 培地¹⁾に3回継代培養して賦活化した。バルクスターへの栄養成分添加がヨーグルトの発酵時間短縮に及ぼす効果は, 賦活化した乳酸菌液 0.2 ml を MRS 培地, M-17 培地⁷⁾, Brigg's broth⁴⁾, Brigg's liver broth⁴⁾ のそれぞれ 10 ml に添加し, 25℃, 30℃, 37℃ で培養し, 培地の混濁度を 660 nm で比色して推定した。

(3) 緩衝液添加バルクスターによるヨーグルトの発酵

バルクスターへの緩衝液添加がヨーグルトの発酵時間短縮に及ぼす効果を知る目的で, 0.3% 酵母エキスを含む 10% 還元脱脂乳 100 ml に 1 M-リン酸緩衝液 (pH 6.8), あるいは 1 M-クエン酸緩衝液 (pH 6.8) を種々の割合で添加し, 95℃ で 15 分間加熱した。30℃ に冷却後, 賦活化した乳酸菌液 5 ml を添加し, 30℃ で培養してバルクスターとした。このバルクスター調製の際の培養時間と pH との関係を調べるとともに, 緩衝液添加がヨーグルト発酵時間に及ぼす影響を調べた。さらに, これらバルクスターを 4℃ で 15 時間冷蔵したときのヨーグルト発酵時間への影響を調べた。

(4) ヨーグルトミックスならびにヨーグルトの調製

市販殺菌乳 (脂肪 3.5%, タンパク質 3.0%, 乳糖 4.5%, 灰分 0.7%) 500 ml を約 50℃ に加温し, これに脱

Reduction of Fermentation Time of Yoghurt Using *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*: Noboru FURUKAWA, Raymond IRYAMA, Akiyoshi MATUOKA, Tsuyoshi TAKAHASHI and Yoshitada YAMANAKA (Tokyo University of Agriculture, Setagaya-ku, Tokyo 156)

脂粉乳（水分 4.0%，脂肪 0.9%，タンパク質 33.2%，乳糖 53.2%，灰分 8.3%）17.5 g を加えて溶解し，さらにショ糖 20 g を加え，沸騰水浴中で約 15 分間加熱したのち 30℃ に冷却しヨーグルトミックスとした．このヨーグルトミックスに上記バルクスターター 12.5 ml を添加し，100 ml 容量の清浄なガラス容器（底面 19.6 cm²，高さ 6 cm）に 100 ml 宛分注し，アルミ箔で覆い，直ちに 30℃ で静置培養しヨーグルトを調製した．

結果および考察

バルクスターターへの栄養成分などの添加物がヨーグルトの発酵時間短縮に及ぼす効果を検討するため，各種乳酸菌用培地中での供試乳酸菌の増殖度を，培地の混濁度より推定した．

M-17 培地は，培養時間が長時間となったときの供試乳酸菌の増殖が最も良好であった．M-17 培地の特徴は多量の β -グリセロリン酸 2 ナトリウムを含むことであり，TERZAGHI と SANDINE⁷⁾ が述べているように β -グリセロリン酸 2 ナトリウムにより，培地の緩衝能が高められ，培養時間が長時間にわたったときの乳酸菌の増殖活性が高く保持されたと考えられる．Brigg's broth ならびに Brigg's liver broth ではとくにすぐれた増殖を示さなかったことから *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NRIC 1782 の増殖促進には，バルクスターターへのトマトジュース浸出液や肝臓抽出液などの栄養成分の添加のみでは不十分で，培地の緩衝能を高く維持することが必要であると考えられた．

M-17 培地中での供試乳酸菌の増殖が良好なのは，培地の緩衝能が大きいことによるものと考えられたので，酵母エキスを含む 10% 還元脱脂乳に 1 M-リン酸緩衝

液（pH 6.8）あるいは 1 M-クエン酸緩衝液（pH 6.8）を添加したバルクスターター用の培地を準備した．これに賦活化した乳酸菌を接種した後に 30℃ で 9 時間培養したバルクスターターおよび培養後 4℃ で 15 時間冷蔵したバルクスターターを使用したときのヨーグルトの発酵時間とバルクスターター中の乳酸菌数を調べた結果を表 1 に示した．

リン酸緩衝液の添加による発酵時間の短縮効果は小さかったが，クエン酸緩衝液添加では添加量の増加とともに発酵時間が明瞭に短縮された．この時のヨーグルトの品質には緩衝液添加の影響は認められず，従来の *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* と *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* をスターターとしたヨーグルトに比べて刺激臭が少なかった．また，ヨーグルトの発酵所要時間は，バルクスターターの冷蔵によって延長したが，ヨーグルトの品質には冷蔵の影響が認められなかった．さらに，乳酸菌数を BCP 加プレートカウント寒天培地法⁹⁾で測定した結果，乳酸菌数は緩衝液の添加によって増加し，その効果はクエン酸緩衝液で大であった．しかし，冷蔵保存したものでは，ヨーグルトの発酵時間は 1～1.5 時間延長した．これらのことからバルクスターターへの緩衝液の添加は，ヨーグルトの発酵時間短縮に有効であり，リン酸緩衝液に比べてクエン酸緩衝液の方が効果が大きかった．これは，多量のリン酸塩の存在が乳酸菌の生酸活性に影響を与えたものと推察された．ヨーグルトの発酵時間短縮のためには，KANeko ら²⁾ や山中ら⁸⁾ が認めているように，バルクスターターの菌数を上昇せしめるだけでは有効でなく，その生酸活性を高く保持することが重要であると考えられた．

Table 1. Effects of buffer solution added to bulk starter and refrigeration on fermentation time of yoghurt and viable cell counts in bulk starter

	Volume of buffer solution added to 100 ml of starter	Fresh bulk starter		Refrigerated bulk starter ¹⁾	
		Fermentation time required to yoghurt	Viable cell counts	Fermentation time required to yoghurt	Viable cell counts
1M- citrate buffer (pH 6.8)	0 ml	8.0～8.5 hours	7.3×10 ⁸ /ml	9.5～10.0 hours	8.7×10 ⁹ /ml
	5	7.0～7.5	8.4	9.0～ 9.5	12.4
	10	6.5～7.0	17.7	8.5～ 9.0	24.1
1M-phosphate buffer (pH 6.8)	0	8.0～8.5	7.3	9.5～10.0	8.7
	5	8.0～8.5	7.6	9.0～ 9.5	9.6
	10	7.5～8.0	9.0	8.5～ 9.0	15.0

¹⁾ Bulk starter was refrigerated at 4℃ for 15 hours and then added to yoghurt mixture.

謝 辞

本研究の実施に当たり、乳酸菌種の同定に御協力いただいた東京農業大学総合研究所菌株保存室岡田早苗氏、ならびに本実験の遂行に御盡力いただいたエバラ食品株式会社臼木美弥子嬢に感謝の意を表する。

文 献

- 1) DeMAN, J.C., ROGOSA, M. and SHARPE, M.E., A medium for the cultivation of lactobacilli. J. Appl. Bact., **23**: 130-135. 1960.
- 2) KANEKO, T., SUZUKI, H. and TAKAHASHI, T., Influences of cellular components and redox potential of liquid concentrated culture of *Lactobacillus bulgaricus* on acid-producing activity and viability. J. Dairy Sci., **70**: 1128-1133. 1987.
- 3) 厚生省令第52号, 乳および乳製品の成分規格等に関する省令 9. 1951.
- 4) 光岡知足, 乳製品の細菌学, 臨床検査, **18** (11): 7-10. 1974.
- 5) 日本国際酪農連盟, FAO/WHO 乳製品国際規格 57, 東京. 1985.
- 6) 日本薬学会編, 乳製品試験法注解, p. 123, 金原出版, 東京. 1984.
- 7) TERZAGHI, B.E. and SANDINE, W.E., Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophage. Appl. Microbiol., **29**: 807-813. 1975.
- 8) 山中良忠・高橋 強・古川 徳・松岡昭善, 新規発酵乳ならびにその製造法, 特許出願平成2年8月27日. 1990.