サツマイモヨーグルトの色調及びアントシアニン含量に 及ぼす乳酸菌の影響

工藤康文*・松田茂樹**

Effect of Lactic Acid Bacteria on Color Tone and Anthocyanin Content of Sweet Potato Yoghurt

Yasufumi KUDOH* and Shigeki MATSUDA**

*Kumamoto Food Processing Research Institute 3-11-38, Higashi-Machi, Kumamoto City,
Kumamoto 862-0901

**Kumamoto Industrial Research Institute 3-11-38, Higashi-Machi, Kumamoto City,
Kumamoto 862-0901

Sweet potato yoghurt (SPY) was produced from colored sweet potato (*Ipomoea batatas*), skim milk powder and water. The cultivars of sweet potato tested were; purple sweet potato "Yamagawamurasaki (YM)" which contains a large quantity of anthocyanin (AN), orange sweet potato "Benihayato (BH)" which contains a large quantity of β -carotene and normal sweet potato "Kokei No. 14 (K14)". Eleven species of lactic acid bacteria were tested to make a SPY of better color tone. There was no influence of the bacteria species upon the color tone of the SPY made from BH and K14. However, there was a difference in the resolving activity of AN among the bacteria, the amount of AN remaining in the SPY made from YM changed from 97% to 27%. The color tone of the SPY was most favorable in the products containing the high ratio of AN made by IFO13953 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) and IFO13957 (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) which hardly resolved AN during the fermentation. These results indicated that IFO13953 and IFO13957 were the most suitable species as a starter for making SPY.

(Received Feb. 17, 2000 ; Accepted May 11, 2000)

近年、従来のサツマイモとは異なり、紫色や橙色の色素を多量に含有したサツマイモが多数育成され¹⁾²⁾、このような有色サツマイモの新規用途開発が求められている。このような有色サツマイモには、アントシアニンや β -カロテン等生理効果をもつと言われる色素や食物繊維が多量に含まれているので、色彩豊かで健康的な食品素材として利用価値が高い。南九州では、これらの有色サツマイモを原料に、その色調を活かしたアイスクリーム、麺類、菓子類等の食品が多数開発され³⁾、地域振興に貢献している。このような状況の中で、筆者らは有色サツマイモの新規用途開発の一環として、サツマイモを原

料にしたヨーグルトの開発を行った⁴⁾。サツマイモを利用したヨーグルトに関する研究としては、COLLINS らの研究がある。COLLINS らは、サツマイモピューレを混ぜてヨーグルトを製造し、その添加量と製品の栄養成分量やカロリーとの関係⁵⁾について、また添加量と官能評価の関係⁶⁾について研究を行った。彼らが使用したサツマイモ品種は、 β -カロテンを含有した橙色の品種であると思われるが、製品の色調や色調に対する乳酸菌の影響については言及していない。

そこで、本研究では、このような有色サツマイモ、特にアントシアニンを多量に含む紫サツマイモを原料にし

* 熊本県食品加工研究所 (〒862-0901 熊本県熊本市東町 3-11-38)

** 熊本県工業技術センター (〒862-0901 熊本県熊本市東町 3-11-38)

てヨーグルトを製造する場合、ヨーグルトの色調とアントシアニン含量におよぼす乳酸菌の影響について検討し、色調が良好なサツマイモヨーグルト用のスターターの選抜を行った。

実験方法

1. 供試サツマイモ

市販のサツマイモペーストを購入して、実験に用いた。品種は、アントシアニンを多量に含み肉色が紫色の山川紫、 β -カロテンを多量に含み肉色が橙色のベニハヤト、そして普通の食用品種で肉色が黄白色の高系 14 号の 3 品種である。

2. 供試乳酸菌

表 1 に示すとおり、(財)発酵研究所 (IFO) から入手した *Lactobacillus* 属 6 株、*Pediococcus* 属 2 株、*Lactococcus* 属 2 株、*Streptococcus* 属 1 株、合計 11 株を実験に用いた。これらの 11 株の乳酸菌を、IFO の 803 培地⁷⁾ から寒天を除いた液体培地 (Polypepton-5g, Yeast extract-5g, Glucose-5g, Lactose-2g, Tween 80-0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ -1g, H_2O -1000 ml) を用いて、37℃ で一夜培養した乳酸菌培養液をスターターとした。

3. サツマイモヨーグルトの製造法

サツマイモペースト 10g、脱脂粉乳 5g 及び純水 50g の割合で、ヨーグルト・ミックスを調製し、ミキサーを用いて 2 分間均質化した後、100 ml 三角フラスコに 65g ずつ分注した。95℃ で 20 分間殺菌し、室温に放冷後、スターターを 1 ml 接種した。接種後、37℃ に設定したインキュベーターを用いて培養し、サツマイモヨーグルトを製造した。

4. pH、色調の測定法とサンプルの処理

培養終了後、直ちにサツマイモヨーグルトの pH を測定した。その後、ホモジナイザーで 2 分間均質化した後、測色計用のセルに約 5 g 詰め、色彩色差計 (ミノルタ CR-300) を使用し、CIE1976 表色系により a^* 値を測定した。色調測定後、その他の分析に供するまで、-80℃ で冷凍した。

5. 試料液の調製法

解凍した試料 10 g にエタノール 10 ml を加え、2 分間ホモジナイズ後、5℃ で 3000 rpm、10 分間遠心分離し、その上澄みを 100 ml メスフラスコに採取した。残渣に 50% エタノール 10 ml を加え、20 分間振盪後、同様に遠心分離し、上澄みを 100 ml メスフラスコに集めた。この操作を 3 回繰り返して、抽出液を 50% エタノールで 100 ml に定容して、乳酸含量、アントシアニン含量測定用の試料液とした。

6. 乳酸含量の測定法

上記試料液を細孔径 0.45 μm のフィルターを通過させた後、その 20 μl を HPLC (Waters LC モジュール 1) に供して乳酸含量を分析した。分析条件は、カラム: Shodex IonpakKC-811 (6 mm $\times$ 250 mm) + Rspak KC-LG、検出波長: 210 nm、カラム温度: 60℃、移動相: 0.01 N H_2SO_4 (流速 1 ml/min) とした。

7. アントシアニン含量の測定法

上記試料液を 0.45 μm のフィルターを通過させた後、その 20 μl を HPLC (ポンプ: Waters 600, 検出器: Waters 996PDA) に供してアントシアニン含量を分析した。分析条件は、ODAKE ら⁸⁾ に準じて、カラム: Wakosil-II 5C18 HG 4.6 $\times$ 250 mm + ガードカラム (μ Bondapak C18)、検出波長: 525 nm、カラム温度: 40℃、流速: 1 ml/min、移動相: A 液-1.5% リン酸水溶液、B 液-25% アセトニトリル 1.5% リン酸 20% 酢酸水溶液、グラジェント条件: 0~40 分 (75% A 液→15% A 液) とした。アントシアニン含量は、得られたクロマトグラム上の主要な 7 つのピーク (保持時間がそれぞれ、P1 = 26.8 分, P2 = 27.7 分, P3 = 29.2 分, P4 = 30.1 分, P5 = 30.5 分, P6 = 31.0 分及び P7 = 32.6 分の 7 ピーク) の面積

表 1 供試した乳酸菌

乳 酸 菌 種 名	IFO 番号*
<i>Lactobacillus casei</i>	15883
subsp. <i>casei</i>	
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	13953
subsp. <i>bulgaricus</i>	
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	3202
subsp. <i>delbrueckii</i>	
<i>Lactobacillus paracasei</i>	3533
subsp. <i>paracasei</i>	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	3070
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	3425
<i>Lactococcus lactis</i>	3427
subsp. <i>cremoris</i>	
<i>Lactococcus lactis</i>	12007
subsp. <i>lactis</i>	
<i>Pediococcus acidilactici</i>	3076
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	3182
<i>Streptococcus salivarius</i>	13957
subsp. <i>thermophilus</i>	

*; (財)発酵研究所の微生物番号。

($\mu\text{V}\times\text{s}$) の合計で表した。

実験結果および考察

1. 乳酸菌による発酵性の差異

ヨーグルトやチーズ等の乳酸発酵食品は、動物の乳に乳酸菌を接種して乳酸を生成させ、それに伴って pH が低下し乳中のタンパク質が凝固してカードが生成する現象を利用した食品であるので、植物性の原料であるサツマイモを混入した場合、乳酸発酵が正常に行われカードができるかどうか確認する必要がある。そこで、IFO から入手した 11 乳酸菌を用いて、3 種類のサツマイモを原料にサツマイモヨーグルトを製造し、その発酵 6 日後の性状を表 2 に示した。

P. acidilactici IFO3076 及び *L. lactis* subsp. *lactis* IFO12007 の 2 乳酸菌は、サツマイモの種類にかかわらず乳酸の生成量が少なく、pH が 4.6 以下に低下しなかった。他の乳酸菌では、pH が 4.6 以下になりカードが生成した。*P. pentosaceus* IFO3182 では、山川紫やベニハヤトより高系 14 号において発酵性が優れ乳酸生成量も 2 倍になったが、他の乳酸菌では原料であるサツマイモの種類による発酵性の差異は認められなかった。以上のように、IFO3076 及び IFO12007 の 2 乳酸菌を除いた 9 乳酸菌は、カードの生成の有無という点では、サツマイモヨーグルトのスターターとして使用可能である。特に、11 乳酸菌中では、*L. rhamnosus* IFO3425 がいずれのサツマイモにおいても

乳酸生成量が多く発酵性が優れ、次いで *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IFO13953 の発酵性が優れていた。

2. サツマイモヨーグルトの色調に対する乳酸菌の影響

図 1 に、乳酸菌及びサツマイモの種類を変えて製造したサツマイモヨーグルトの色調を示した。ベニハヤト及び高系 14 号を用いて製造したサツマイモヨーグルトの色調は、図のとおり発酵前後及び乳酸菌間で大きな変化は無く、ベニハヤトを用いたものは橙色、高系 14 号を用いたものは白色を示し、原料であるサツマイモの色調と同じであった。したがって、 β -カロテンを含むサツマイモや普通のサツマイモでヨーグルトを製造する場合は、製品の色調に対する乳酸菌の影響は無いものと思われる。このことが、COLLINS ら⁵⁾⁶⁾ が特に製品の色調について言及していない理由であると思われる。

一方、山川紫を用いて製造したサツマイモヨーグルトの色調は、発酵前は紫色であったが、発酵後では IFO 13953 のように濃赤色のものから IFO3425 のように淡桃色のものまで、乳酸菌によって著しく異なった。一般に、アントシアニンは pH によって色調が変化し、アルカリ側では青色、中性では紫色、酸性側では赤色に発色することが知られている⁹⁾。しかし、山川紫を原料とするサツマイモヨーグルトの pH は、表 2 に示したように、3.51 から 5.64 の間であるので、上述の色調の差異が pH の差異に起因するとは思われない。

3. アントシアニン含量に対する乳酸菌の影響

表 2 発酵 6 日後のサツマイモヨーグルトの性状

品 種	山 川 紫			ベニハヤト			高系 14 号		
	カードの生成*	pH	乳酸含量 (%)	カードの生成*	pH	乳酸含量 (%)	カードの生成*	pH	乳酸含量 (%)
発酵前	—	6.45	0.00	—	6.45	0.00	—	6.47	0.00
IFO3070	+	3.79	1.05	+	3.86	1.12	+	3.85	1.22
IFO3076	—	5.64	0.12	—	5.75	0.17	—	5.55	0.25
IFO3182	+	4.59	0.46	+	4.58	0.50	+	4.15	1.09
IFO3202	+	3.80	0.96	+	3.85	1.14	+	3.76	1.30
IFO3425	+	3.51	1.58	+	3.58	1.76	+	3.55	1.68
IFO3427	+	4.47	0.50	+	4.43	0.62	+	4.34	0.77
IFO3533	+	3.73	1.18	+	3.83	1.31	+	3.81	1.27
IFO12007	—	5.23	0.22	—	5.66	0.22	—	5.40	0.34
IFO13953	+	3.60	1.37	+	3.59	1.67	+	3.66	1.48
IFO13957	+	3.98	0.79	+	4.00	0.85	+	3.94	0.86
IFO15883	+	3.66	1.26	+	3.91	1.08	+	3.87	1.05

*; カード生成 (+), カード未生成 (—)。

図 1 高系 14 号 (上段), ベニハット (中段) 及び山川紫 (下段) を用いて製造したサツマイモヨーグルトの発酵 6 日後 (37°C) の色調

1. 各段の左端は、発酵前の色調。
2. 各番号は、IFO の乳酸菌番号。

HPLC によりアントシアニンを分析し、そのクロマトグラムを図 2 に示した。サツマイモヨーグルトのアントシアニンのクロマトグラムには、10 以上のピークが認められた。そして、最も濃い赤色を示した IFO13953 や中程度の *L. casei* subsp. *casei* IFO15883、最も淡い IFO3425 も同じクロマトパターンを示した。しかしながら、P1～P7 のピーク面積の合計であるアントシアニン含量は、IFO13953 では 5.00×10^6 ($\mu V \times s$)、IFO15883 では 3.20×10^6 ($\mu V \times s$)、IFO3425 では 1.38×10^6 ($\mu V \times s$) で、色調が淡いものは少なかった。

次に、乳酸菌が異なるサツマイモヨーグルトのアントシアニン残存率を図 3 に示した。IFO13953 及び *S. salivarius* subsp. *thermophilus* IFO13957 の残存率は、それぞれ 96.9%、94.0% であり、ほとんど発酵前のアントシアニン量を保持していた。一方、IFO3425 及び *L. paracasei* subsp. *paracasei* IFO3533 の残存率は、それぞれ 26.7%、38.2% と少なかった。その他の乳酸菌は、

両者の中間程度の残存率であった。このように、乳酸菌によっては発酵中にアントシアニンを分解する乳酸菌があり、その分解能は乳酸菌によって異なった。アントシアニンは、酸性下では安定であるが、中性付近では不安定である¹⁰⁾ ので、発酵中の pH の低下が遅ければ、長時間中性付近の pH にさらされ、その間にアントシアニンが分解する懸念がある。そこで、残存率が高い IFO13953 及び IFO13957、中程度の IFO3070 及び IFO15883、低い IFO3425 及び IFO3533 で発酵させたサツマイモヨーグルトのアントシアニンの残存率と pH の推移を図 4 に示した。図 4 に示したように、IFO15883 で pH の低下がやや遅れたが、6 乳酸菌とも発酵後半日から 1 日で pH5 を下回っているのに、サツマイモヨーグルト中のアントシアニンが中性付近の pH にさらされる時間は、半日から 1 日程度の短期間である。さらに、pH 5 以下の酸性域に入っても、IFO3425、IFO3533、IFO15883 ではアントシアニン残存率が低下している。小竹ら¹¹⁾

図 2 乳酸菌が異なるサツマイモヨーグルト（山川紫）のアントシアニンの HPLC パターン

は、本実験で使用した山川紫のアントシアニンがシソ等のアントシアニンに比べて熱や光に対して極めて安定であり、50℃で7日間保存後においても85%程度のアントシアニン残存率があったことを認めている。また、津久井ら¹²⁾も山川紫アントシアニンが熱や紫外線に対し安定性が高いことを報告している。したがって、本実験で観察された乳酸菌によるアントシアニン分解能の差異は、発酵期間とその間の温度や乳酸生成能の差異という間接的作用に起因するものではなく、発酵中の乳酸菌の代謝作用に由来するものと思われる。MATSUDA ら¹³⁾は、大豆煮汁を利用した乳酸発酵食品の試作を行った。そし

図 3 乳酸菌が異なるサツマイモヨーグルト（山川紫）のアントシアニン残存率

$$\text{残存率} = \frac{\text{発酵後のアントシアニン含量}}{\text{発酵前のアントシアニン含量}} \times 100\%$$

て、大豆煮汁に含まれるイソフラボン配糖体が乳酸菌のβ-グルコシダーゼにより加水分解されてアグリコンになること、供試した乳酸菌のうちIFO3425のβ-グルコシダーゼ活性が特異的に高いことを報告している。本実験でも、供試した乳酸菌の中では、IFO3425はアントシアニン分解能が最も高かったが、この活性がβ-グルコシダーゼによるものかどうか、また分解されたアントシアニンがどのような経路で代謝されるのかは不明であり、今後の研究が望まれる。

次に、サツマイモヨーグルトの測色値a*値とアントシアニン残存量の関係を図5に示した。図に示したとおり、サツマイモヨーグルト中のアントシアニン残存量が多いほどその色調はa*値が大きいく、すなわち赤味が強いことが明らかである。

これらのことから、山川紫を用いたサツマイモヨーグルトの色調の差異は、製品中のアントシアニン残存量に由来し、その残存量は乳酸菌のアントシアニン分解能に起因することがわかった。したがって、山川紫を用いて色調が良好なサツマイモヨーグルトを製造する場合は、アントシアニンの分解能が無い乳酸菌を選択する必要がある。

以上のことから、サツマイモヨーグルトの色調は、β-カロテン含有品種であるベニハヤト及び普通の食用品種である高系14号を用いたサツマイモヨーグルトでは乳酸菌による色調の差異はなく、山川紫を用いたサツマイモヨーグルトのみが乳酸菌によってその色調が著しく異なるので、山川紫を用いたサツマイモヨーグルトの色調を主体に乳酸菌を選抜すれば良いことがわかった。この

図 4 サツマイモヨーグルト（山川紫）のアントシアニン残存率と pH の推移

図 5 サツマイモヨーグルト（山川紫）の測色値とアントシアニン残存率との関係

- ▲ IFO3070 ○ IFO3533 △ IFO3182
 ● IFO13953 × IFO3202 ■ IFO13957
 □ IFO3425 + IFO15883 ◆ IFO3427

観点でスターター用乳酸菌を選抜すると、アントシアニンを分解しない *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IFO 13953 及び *S. salivarius* subsp. *thermophilus* IFO13957 の 2 乳酸菌がスターターとして最適であると思われた。

要 約

(1) サツマイモペースト、脱脂粉乳、水を混合して乳酸発酵させたサツマイモヨーグルトを開発した。そして、色調が良好なサツマイモヨーグルトを製造するため、IFO から乳酸菌 11 株を入手して、スターター用乳酸菌の選抜を行った。

(2) 肉色が橙色のベニハヤト及び黄白色の高系 14 号を用いたサツマイモヨーグルトでは、製品の色調に対する乳酸菌の影響はなかった。

(3) 肉色が紫色の山川紫を用いたサツマイモヨーグルトの色調は、アントシアニンの残存量に応じて濃くなり、アントシアニンを分解しない IFO13953 及び IFO 13957 を用いたヨーグルトは、鮮やかな濃赤色の色調を示した。一方、アントシアニンの分解能が高い IFO3425

及び IFO3533 を用いたヨーグルトは、淡桃色の色調を示した。

(4) 以上のことから、アントシアニンを分解しない IFO13953 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) 及び IFO13957 (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) の 2 乳酸菌をスターターとして使用すれば、サツマイモの種類にかかわらず色調が良好なサツマイモヨーグルトが製造できる。

本研究を実施するにあたり、懇切なる御助言をいただいた九州大学上田誠之助名誉教授、崇城大学大庭理一郎教授、九州大学飯尾雅嘉教授、農林水産省九州農業試験場須田郁夫流通利用研究室長に深く感謝いたします。また、本研究の一部は、農林水産省食品流通局のフードシステム高度化対策事業の補助金で行われた。

文 献

- 1) 山川 理・小巻克巳・日高 操・熊谷 亨・吉永 優・梅村芳樹・佃 和民：九州農業研究, **54**, 45 (1992).
- 2) 山川 理・熊谷 亨・石黒浩二：九州農業の新技术, **10**, 22 (1997).
- 3) 山川 理・吉元 誠：月刊フードケミカル, **1**, 33 (1999).
- 4) 工藤康文：九州農業の新技术, **8**, 203 (1995).
- 5) COLLINS, J.L., EBAH, C.B., MOUNT, J.R., DRAUGHON, F.A. and DEMOTT, B.J. : *J. Food Sci.*, **56**, 682 (1991).
- 6) COLLINS, J.L., EBAH, C.B., MOUNT, J.R., DEMOTT, B.J. and DRAUGHON, F.A. : *J. Food Sci.*, **56**, 685 (1991).
- 7) LIST OF CULTURES 1996 MICROORGANISMS, TENTH EDITION (Institute for Fermentation, OSAKA), p. 516 (1996).
- 8) ODAKE, K., TERAHARA, N., SAITO, N., TOKI, K. and HONDA, T. : *Phytochemistry*, **31**, 2127 (1992).
- 9) 安田 齊：花色の生理・生化学, 増補版 (内田老鶴圃, 東京), p. 142 (1993).
- 10) 林 孝三：増訂植物色素 (株式会社養賢堂, 東京), p. 15 (1988).
- 11) 小竹欣之輔・畑中顕和・梶原忠彦・室井てる予・西山浩司・山川 理・寺原典彦・山口雅篤：日食工誌, **41**, 287 (1994).
- 12) 津久井亜紀夫・鈴木敦子・小巻克巳・寺原典彦・山川 理・林 一也：食科工, **46**, 148 (1999).
- 13) MATSUDA, S., MIYAZAKI, T., MATSUMOTO, Y., OHBA, R., TERAMOTO, Y., OHTA, N. and UEDA, S. : *J. Ferment. Bioeng.*, **74**, 301 (1992).

(平成 12 年 2 月 17 日受付, 平成 12 年 5 月 11 日受理)