

明 細 書

発明の名称：発酵乳の製造方法、及び発酵乳

技術分野

[0001] 本発明は、バクテリオシンを産生する乳酸菌を添加した後に死滅させることで、輸送中または保存中に発酵乳の酸度が高まる事態を効果的に防止でき、しかも風味のよい発酵乳を製造できる発酵乳の製造方法に関する。

背景技術

[0002] 発酵乳を輸送する際や、発酵乳を保存する際に、スターターが酸を産生し続けることがある。この場合、発酵乳の酸度が高まり、発酵乳の酸味が増すという問題があった。一方、抗菌性物質としてバクテリオシンが知られている。たとえば、ナisin（Nisin）やラクトコシン（Lactococcin）は、乳酸菌が産生するバクテリオシンである（齋藤忠夫ら「抗菌性ペプチド：乳酸菌の産生するバクテリオシンの特徴とその利用」乳業技術 vol 47, 1997, p 90-p 100, (財)日本乳業技術協会発行）。バクテリオシンを添加した場合、スターターが酸を産生する能力が弱まる。このため、輸送や保存の際に、発酵乳の酸度が高まることを緩和できる。しかしながら、日本では、バクテリオシンを食品に添加することは許されていない。

[0003] そこで、特開平4-211360号公報（下記特許文献1）には、バクテリオシンを産生するサーモフィラス菌の生菌を、ヨーグルトミックスに混合し、発酵させ、バクテリオシンを産生させる発酵乳の製造方法が開示されている。この製造方法では、ヨーグルトがバクテリオシンを含むので、ヨーグルトの貯蔵や輸送中に酸度が上昇する事態を抑制できる。

[0004] また、特開平4-287636号公報（下記特許文献2）には、バクテリオシンを産生するラクティス菌の生菌を、ヨーグルトミックスに混合して発酵させ、バクテリオシンを産生させる発酵乳の製造方法が開示されている。この製造方法では、ヨーグルトがバクテリオシンを含むので、ヨーグルトの

貯蔵や輸送中に酸度が上昇する事態を抑制できる。

- [0005] しかしながら、バクテリオシンを産生する乳酸菌は、チーズを製造する際に用いられる乳酸菌である。このため、バクテリオシンを産生する乳酸菌を用いて発酵乳を製造した場合、ヨーグルトの風味が損なわれ、チーズ風味の発酵乳となるという問題があった。また、バクテリオシンを産生する乳酸菌がスターターの乳酸菌を兼用すると、ヨーグルトの風味や物性を調整する自由度が小さくなる。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：特開平4-211360号公報
特許文献2：特開平4-287636号公報

非特許文献

- [0007] 非特許文献1：齋藤忠夫ら「抗菌性ペプチド：乳酸菌の産生するバクテリオシンの特徴とその利用」乳業技術 vol 47, 1997, p 90-p 100, (財)日本乳業技術協会発行

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0008] 本発明は、輸送中または保存中に発酵乳の酸度が高まる事態を効果的に防止でき、しかも風味のよい発酵乳を製造できる、発酵乳の製造方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

- [0009] 本発明は、ヨーグルトミックスに、バクテリオシンを産生する乳酸菌及び／又は乳酸菌の培養物若しくは発酵物を添加する。その上で、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅させる。その上で、スターターとして、バクテリオシンを産生する乳酸菌とは異なる乳酸菌を添加する。このようにして、本発明は、バクテリオシンを直接添加せずに、バクテリオシンをヨーグルトに含ませることができる。また、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅させ

るので、チーズのような風味が強まる事態を防止でき、これにより風味のよい発酵乳を製造することができる。

[0010] すなわち、本発明の発酵乳の製造方法は、基本的には、以下のようにして発酵乳を製造する方法に関する。ヨーグルトミックスに、乳酸菌及び／又は乳酸菌の培養物若しくは発酵物を添加する。この乳酸菌は、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌である。その後、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅する処理を行う。このようにして、バクテリオシンを産生する乳酸菌に由来するチーズ風味が増長する事態を防止する。一方、乳酸菌が死滅した状態では、発酵が促進しない。そこで、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅させたヨーグルトミックスに、スターターを添加する。その上で、スターターを添加したヨーグルトミックスを発酵する。このようにすると、ヨーグルトミックスには、バクテリオシンが含まれており、しかも発酵乳用のスターターがヨーグルトミックスの発酵を促進するので、風味のよい発酵乳を得ることができる。

[0011] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅する工程と、ヨーグルトミックスを発酵する工程との間に、ヨーグルトミックスを脱酸素処理する工程を含む発酵乳の製造方法に関する。実施例において実証されたとおり、脱酸素処理を行うことにより、スターターの活性を高めることができ、さらに発酵時間を短縮することができる。

[0012] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、バクテリオシンを産生する乳酸菌を添加するヨーグルトミックスの酸性度（pH）が、6.5以上7.5以下である発酵乳の製造方法に関する。本発明者らが実験したところによると、ヨーグルトミックスの発酵が進行し、酸性度が酸性の状態になってから、ヨーグルトミックスへバクテリオシンを添加しても、発酵乳の酸度が高まる事態を防止できなかった。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。

[0013] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、バクテリオシンを産生

する乳酸菌が、ラクトコッカス (*Lactococcus*) 属の乳酸菌である。このラクトコッカス属の乳酸菌の例は、ラクティス菌又はクレモリス菌である。具体的な、バクテリオシンを産生する乳酸菌は、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに寄託番号「FERM BP-10966」又は寄託番号「FERM BP-10967」として寄託されている乳酸菌株である。実施例において実証されたとおり、これらの菌は、発酵乳の酸性度の上昇を抑制し、かつ発酵乳の風味を損なわないバクテリオシンを産生する。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。

[0014] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、バクテリオシンとして、ナisin (*Nisin*) 又はラクトコッシン (*Lactococcin*) を用いる発酵乳の製造方法である。ナisinを産生する乳酸菌 (例えば、ラクティス菌) は公知である。また、ラクトコッシン (*Lactococcin*) を産生する乳酸菌 (例えば、クレモリス菌) も公知である。よって、本発明は、ナisin又はラクトコッシンを産生する公知の乳酸菌を用いることができる。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。

[0015] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、スターターとして、ブルガリア菌 (ラクトバチルス デルブリュッキー 亜種 ブルガリクス: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)、ヘルベティカス菌 (ラクトバチルス ヘルベティカス: *Lactobacillus helveticus*)、またはアシドフィルス菌 (ラクトバチルス アシドフィルス: *Lactobacillus acidophilus*) を主な種菌として含むものである。ブルガリア菌、ヘルベティカス菌、アシドフィルス菌をスターターとして接種させると、輸送又は保存中に発酵乳の酸度が高まる。よって、本発明の発酵乳の製造方法は、特にスターターとしてブルガリア菌、ヘルベティカス菌、アシドフィルス菌を用いる場合に効果的に用いることができる。なお、スターターと

してラクティス菌（ラクトバチルス デルブリュッキー 亜種 ラクティス
: *Lactobacillus delbrueckii subsp.*
lactis）を主な種菌として含んでもよい。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。また、本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、スターターとして、ブルガリア菌及びサーモフィラス菌（ストレプトコッカス サーモフィラス: *Streptococcus thermophilus*）を主な種菌として含む発酵乳の製造方法に関する。すなわち、ブルガリア菌とサーモフィラス菌を含むスターターを用いて、ヨーグルトミックスを発酵させた場合は、輸送又は保存中に発酵乳の酸度が高まる。本発明の発酵乳の製造方法を用いることで、発酵乳の酸度が高まる事態を効果的に防止できるので、風味のよい発酵乳を提供できる。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。

[0016] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、発酵乳が、プレーンタイプのヨーグルトである発酵乳の製造方法に関する。発酵乳の形態として、セット（ハード）タイプ、ソフトタイプ及びドリンク（飲む）タイプの何れでもよいが、糖液などの甘味成分、果肉や香料（フレーバー）などの風味成分を含まないプレーンタイプのヨーグルトに適している。一般的に、プレーンタイプのヨーグルトには、セット（ハード）タイプが多いため、本発明はソフトタイプ（糊状）やドリンク（液状）タイプのヨーグルトではなく、セットタイプ（固形状）の発酵乳に好ましく用いることができる。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。

[0017] 本発明の第2の側面は、上記いずれかに記載の発酵乳の製造方法により製造された発酵乳に関する。この発酵乳は、成分としてバクテリオシンを含む。このため、輸送や保存中に発酵乳の酸性度が高まる事態を効果的に防止できる。しかも、スターターとして、ブルガリア菌などの良好な乳酸菌を用いることができるため、本発明の発酵乳は、風味に優れた発酵乳である。

発明の効果

[0018] 本発明によれば、輸送中または保存中に発酵乳の酸度が高まる事態を効果的に防止でき、しかも風味のよい発酵乳を製造できる発酵乳の製造方法を提供できる。

図面の簡単な説明

[0019] [図1] 図1は、本発明の発酵乳の製造方法の処理フローを示した、フローチャート図である。

[図2] 図2は、従来の発酵乳製造方法の処理フローを示した、フローチャート図である。

[図3] 図3は、本発明の発酵乳の製造方法の処理フローを示した、フローチャート図である。

発明を実施するための形態

[0020] 以下、本発明を実施するための最良の形態について説明する。図1は、本発明の発酵乳の製造方法を説明するためのフローチャートである。図1に示されるように、本発明の発酵乳の製造方法は、基本的には、以下のようにして発酵乳を製造する。図中のSはステップを示す。ヨーグルトミックスに、乳酸菌及び／又は乳酸菌の培養物若しくは発酵物を添加する（ステップ101）（図1中、「バクテリオシン産生乳酸菌等添加」と表記）。この乳酸菌は、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌である。なお、培養物や発酵物は液状であってもよいし、固形状であってもよい。その後、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅する処理を行う（ステップ102）。このようにして、バクテリオシンを産生する乳酸菌に由来するチーズ風味が増長する事態を防止する。一方、乳酸菌が死滅した状態では、発酵が促進しない。そこで、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅させたヨーグルトミックスに、スターターを添加する（ステップ103）。その上で、スターターを添加したヨーグルトミックスを発酵する（ステップ104）。このようにすると、ヨーグルトミックスには、バクテリオシンが含まれており、しかも発酵乳用のスターターがヨーグルトミックスの発酵を促進するので、風味のよい発酵乳を

得ることができる。なお、バクテリオシンを産生する乳酸菌を培養し、バクテリオシンを産生させた後、この乳酸菌培養物を殺菌して乳酸菌を死滅させ、この乳酸菌培養物をヨーグルトミックスに添加してもよい。その後の工程は、スターターをヨーグルトミックスに添加して、ヨーグルトミックスを発酵すればよい。

[0021] 本明細書において「発酵乳」とは、ヨーグルト、乳等省令で定義される「発酵乳」、「乳製品乳酸菌飲料」、「乳酸菌飲料」の何れであってもよい。本明細書における「発酵乳」として、セット（ハード）タイプヨーグルト（固形状発酵乳）、ソフトタイプヨーグルト（糊状発酵乳）又はドリンクタイプヨーグルト（液状発酵乳）などの発酵乳があげられる。本発明の製造方法により得られる発酵乳は、ある程度の硬度を有することが期待される。このため、本発明における好ましい発酵乳は、プレーンヨーグルトなどのセットタイプヨーグルトである。一般に、プレーンヨーグルトは、容器に原料を充填させ、その後に発酵させること（後発酵）により製造される。一方、ソフトヨーグルトやドリンクヨーグルトは、発酵させた発酵乳を微粒化処理や均質化処理した後に、糖液や果肉などを混合してから、容器に充填させること（前発酵）により製造される。本発明の発酵乳の製造方法は、上記のいずれの製造方法にも用いることができるが、好ましくは後発酵により発酵乳を製造する場合に用いることができる。

[0022] なお、発酵乳を製造するための原料、装置、製造条件などは、例えば、特開2004-180526号公報、特開2005-176603号公報、特開2006-288309号公報、米国特許第6025008号明細書、米国特許第5482723号明細書、米国特許第5096731号明細書、米国特許第4938973号明細書（これらの文献は、参照することにより本明細書に取り入れられる。）などに開示されており、適宜採用することができる。

[0023] 一方、図2は、特開平4-287636号公報（特許文献2）に開示された発酵乳の製造方法を説明するためのフローチャートである。図2に示され

るように、この公報に開示された発酵乳の製造方法では、以下のようにして発酵乳を製造する。ヨーグルトミックスに、乳酸菌を添加する（ステップ201）。この乳酸菌は、発酵乳を製造する際に通常用いられる乳酸菌と、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌である。この公報では、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌としてラクティス菌が用いられている。その後、ヨーグルトミックスを発酵する（ステップ202）。すなわち、この公報に開示された方法は、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌を通常の乳酸菌とあわせて用いている。このため、発酵乳がバクテリオシンを含むこととなる。一方、この公報に開示された方法では、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌が生きたまま発酵乳に含まれている。このため、発酵乳の風味がチーズ風味になるという問題がある。また、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌自体が、生菌であるから、輸送や保存中に酸生成が進行するので、発酵乳の酸度が高まるという問題がある。

[0024] 本発明は、特許文献2に開示された方法に比べて、発酵乳を製造する工程が複雑になるものの、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌を死滅させるので、このような問題は生じない。すなわち、本発明は、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌の死菌を用いる発酵乳の製造方法に関する。

[0025] 以下、各工程について説明する。以下、ヨーグルトミックスに、乳酸菌を添加する工程（ステップ101）を説明する。

[0026] 「ヨーグルトミックス」は、ヨーグルトなどの発酵乳の原料となるもので、原料乳や発酵乳ミックスなどともよばれる。本発明では、公知のヨーグルトミックスを適宜用いることができる。ヨーグルトミックスには、殺菌前のものも、殺菌後のものも含まれる。ヨーグルトミックスの具体的な原料として、水、生乳、殺菌処理した乳、脱脂乳、全脂粉乳、脱脂粉乳、バターミルク、バター、クリーム、ホエータンパク質濃縮物（WPC）、ホエータンパク質単離物（WPI）、 α （アルファ）-L a（ラクトアルブミン）、 β （ベータ）-L g（ラクトグロブリン）などがあげられる。あらかじめ温めたゼラチンなどを適宜添加してもよい。ヨーグルトミックスは、公知であり、

公知の方法に従って調整すればよい。

[0027] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、バクテリオシンを産生する乳酸菌を添加するヨーグルトミックスの酸性度（pH）が、6.5以上7.5以下である発酵乳の製造方法に関する。本発明者らが実験したところによると、ヨーグルトミックスの発酵が進行し、酸性度が酸性の状態になってから、ヨーグルトミックスへバクテリオシンを添加しても、発酵乳の酸度が高まる事態を防止できなかった。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。

[0028] この工程で用いられる乳酸菌は、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌である。

[0029] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、バクテリオシンを産生する乳酸菌が、ラクトコッカス（*Lactococcus*）属の乳酸菌である。このラクトコッカス属の乳酸菌の例は、ラクティス菌及びクレモリス菌である。具体的な、バクテリオシンを産生する乳酸菌は、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに寄託番号「FERM BP-10966（*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* OLS3311）」又は寄託番号「FERM BP-10967（*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* OLS3312）」として寄託されている乳酸菌株である。実施例において実証されたとおり、これらの菌は、発酵乳の酸性度の上昇を抑制し、かつ発酵乳の風味を損なわないバクテリオシンを産生する。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。

[0030] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、バクテリオシンとして、ナイシンを用いる発酵乳の製造方法である。ナイシンを産生する乳酸菌は公知である。よって、本発明は、ナイシンを産生する公知の乳酸菌を用いることができる。一方、本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、バクテリオシンとして、ラクトコッシンを用いる発酵乳の製造方法である。ラ

クトコッシンを産生する乳酸菌では、クレモリス菌が一般的である。よって、本発明は、ラクトコッシンを産生する公知の乳酸菌を用いることができる。ただし、クレモリス菌の中には、ディプロコクシン、ラクトストレプシンを産生するものもある。

[0031] 本発明において用いられるバクテリオシンを産生する乳酸菌の例は、ラクトコッカス属菌 (*Lactococcus*)、ペディオコッカス (*Pediococcus*) 属菌、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属菌、ロイコノストック (*Leuconostoc*) 属菌、プロピオニバクテリウム (*Propionibacterium*) 属菌、ビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) 属菌またはエンテロコッカス (*Enterococcus*) 属菌をあげられる。これらのバクテリオシンを産生する乳酸菌を単独で用いてもよいし、2種類以上を併用してもよい。

[0032] 乳酸菌ラクトコッカス・ラクチス (*Lactococcus lactis*) によって産生されるバクテリオシンの例は、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* によって産生されるナイシン、ラクチシン481、ラクチシンA、ラクチシンB、*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* によって産生されるラクトコッシンA、ラクトコッシンG、ラクトストレプシン、ディプロコシン、または *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* によって産生されるバクテリオシン S50 である。

[0033] 乳酸菌の一種であるペディオコッカス (*Pediococcus*) 属菌によって産生されるバクテリオシンの例は、*Pediococcus acidilactici* H によって産生されるペディオシンA cH、*Pediococcus acidilactici* PAC1.0 によって産生されるペディオシンPA1、及び *Pediococcus pentosaceus* FBB61 によって産生されるペディオシンA である。

[0034] 乳酸菌ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属菌によって産生されるバクテリオシンの例は、*Lactobacillus helvet*

icus LP27によって産生されるラクトシン27, *Lactobacillus acidophilus* TK8912によって産生されるアシドシン8912, *Lactobacillus plantarum* C-11によって産生されるプランタリシンA, *Lactobacillus piscicola* LV17によって産生されるバクテリオシン, *Lactobacillus reuteri*によって産生されるロイテリン, *Lactobacillus gasseri* LA-39によって産生されるガゼリシンA, *Lactobacillus gasseri* SBT 2055によって産生されるガゼリシンTまたは*Lactobacillus salivarius* AC21によって産生されるサリバリシンK21である。

[0035] 乳酸菌ロイコノストック (*Leuconostoc*) 属菌によって産生されるバクテリオシンの例は, *Leuconostoc paramesenteroides*によって産生されるロイコノシンS, *Leuconostoc gelidum* UAL187によって産生されるロイコシンA-U LA187または*Leuconostoc mesenteroides*によって産生されるメセンテロシン5である。

[0036] 乳酸菌プロピオニバクテリウム (*Propionibacterium*) 属菌によって産生されるバクテリオシンの例は, *Propionibacterium jensenii* P126によって産生されるジェンセニンG, *Propionibacterium thoenii* P127によって産生されるプロピオニンPLG-1または*Propionibacterium freudenreichii* subsp *shermanii*によって産生されるミクロガードである。

[0037] ビフィドバクテリウム属菌によって産生されるバクテリオシンの例は, ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*), ビフィドバクテリウム・ブレーベ (*Bifidobacterium breve*), ビフィドバクテリウム・ビフィダム (*Bifidob*

a c t e r i u m b i f i d u m), ビフィドバクテリウム・インファンテイス (B i f i d o b a c t e r i u m i n f a n t i s), ビフィドバクテリウム・アドレッセンテイス (B i f i d o b a c t e r i u m a d o l e s c e n t i s), ビフィドバクテリウム・シュードカテニユレイタム (B i f i d o b a c t e r i u m p s e u d o c a t e n u l a t u m) またはビフィドバクテリウム・カテニユレイタム (B i f i d o b a c t e r i u m c a t e n u l a t u m) である。

[0038] エンテロコッカス (E n t e r o c o c c u s) 属菌によって産生されるバクテリオシンの例は, E n t e r o c o c c u s s p. G M 0 0 5 によって産生されるバクテリオシンである。

[0039] 本発明におけるバクテリオシンを産生する乳酸菌は, 公知の方法に基づいて培養すればよい。培地として, 乳酸菌の培養に通常用いられる M R S 培地あるいは G Y P 培地を用いてもよい。脱脂粉乳やビール酵母エキスを含む培地を用いてもよい。培養温度として, 2 0 ° C 以上 4 5 ° C 以下, 好ましくは 2 5 ° C 以上 3 5 ° C 以下があげられる。また, 培養時間として, 約 8 ~ 2 4 時間があげられる。乳酸菌の増殖の度合いは培養物 (培養液) の 6 6 0 n m における吸光度を測定することにより管理することができる。最終的な培養物の酸度として, 0 . 5 % 以上 2 . 0 % 以下があげられる。

[0040] 培養を終えた培養物を, そのままヨーグルトミックスに添加してもよい。また, 培養物を加熱殺菌したものをヨーグルトミックスに添加してもよい。さらに, 培養物を加熱殺菌した後, 遠心分離し, 菌体を除去したもの (菌体外バクテリオシン) をヨーグルトミックスに添加してもよいし, 乳酸菌そのもの (菌体内バクテリオシン) をヨーグルトミックスに添加してもよい。また, 乳酸菌の培養物をヨーグルトミックスに添加してもよい。ヨーグルトミックスに乳酸菌を添加した後, ヨーグルトミックスを攪拌して乳酸菌がヨーグルトミックス中に均一に分散されるようにしてもよい。ヨーグルトミックスに, 乳酸菌を添加した後, バクテリオシンを産生させるため, ヨーグルトミックスを静置してもよい。また, 適宜攪拌しつつ, バクテリオシンの産生

を促進してもよい。乳酸菌培養物にバクテリオシンが含まれる場合は、直ちに加熱殺菌を行ってもよい。

[0041] 次に、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅する処理を行う工程（ステップ102）について説明する。

[0042] 加熱殺菌した培養物をヨーグルトミックスに添加する場合は、このステップは既に行われているので適宜省略できる。加熱殺菌条件の殺菌温度として、80℃以上100℃以下では、殺菌時間として、1分間以上1時間以内があげられる。一方、加熱殺菌条件の殺菌温度として、100℃以上140℃以下では、殺菌時間として、1秒間以上1分間以内があげられる。本発明の好ましい加熱殺菌条件の殺菌温度として、85℃以上97℃以下、又は90℃以上96℃以下があげられる。そして、殺菌時間として、2分間以上10分間以内があげられる。一方、本発明の好ましい加熱殺菌条件の殺菌温度として、110℃以上130℃以下、又は120℃以上130℃以下があげられる。そして、殺菌時間として、1秒間以上30秒間以内があげられる。このような加熱殺菌処理を行っても、バクテリオシンの抗菌能を損なうことなく、乳酸菌を死滅させることができる。バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅することで、バクテリオシンを産生する乳酸菌に由来する、チーズ風味などのヨーグルトとは相容れない風味が増長する事態を防止する。加熱殺菌工程は、通常の加熱殺菌装置で行えばよい。また、加熱殺菌工程は、1気圧程度の雰囲気で行ってもよい。一方、加熱殺菌工程は、2気圧以上10気圧以下の加圧下で行ってもよい。このような気圧下で加熱殺菌を行った場合は、発酵乳の食感がまろやかになる。

[0043] 次に、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅させたヨーグルトミックスに、スターターを添加する（ステップ103）工程について説明する。

[0044] 「スターター」として、公知のスターターを適宜用いることができる。好ましいスターターとして乳酸菌スターターがあげられ、乳酸菌スターターとして、ラクトバチルス・ブルガリカス（*L. bulgaricus*）、ストレプトコッカス・サーモフィラス（*S. thermophilus*）、ラク

トバチルス・ラクティス (*L. lactis*)、ラクトバチルス・ガッセリ (*L. gasserii*) 又はビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) の他、発酵乳の製造に一般的に用いられる乳酸菌や酵母の中から1種又は2種以上を用いることができる。これらの中では、コーデックス規格でヨーグルトスターターとして規格化されているラクトバチルス・ブルガリカス (*L. bulgaricus*) とストレプトコッカス・サーモフィラス (*S. thermophilus*) の混合スターターをベースとするスターターが好ましい。このヨーグルトスターターをベースとして、更に得ようとする発酵乳に応じて、ラクトバチルス・ガッセリ (*L. gasserii*) やビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) などの他の乳酸菌を加えてもよい。スターターの添加量は、公知の発酵乳の製造方法において採用されている量などを適宜採用すればよい。スターターの接種は、発酵乳を製造する際に用いられる公知の方法に従って行えばよい。

- [0045] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、スターターとして、ブルガリア菌 (ラクトバチルス デルブリュッキー 亜種 ブルガリクス: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) を主な種菌として含むものである。ブルガリア菌をスターターとして接種させると、輸送又は保存中に発酵乳の酸度が高まる。よって、本発明の発酵乳の製造方法は、特にスターターとしてブルガリア菌を用いる場合に効果的に用いることができる。このパターンの製造方法には、先に説明した、あらゆるパターンの製造方法を組み合わせることができる。一方、本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、スターターとしてヘルベティカス菌やアシドフィルス菌を主な種菌として含むものである。また、本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、スターターとして、ブルガリア菌及びサーモフィラス菌 (ストレプトコッカス・サーモフィラス: *Streptococcus thermophilus*) を主な種菌として含む発酵乳の製造方法に関する。すなわち、ブルガリア菌とサーモフィラス菌を含むスターターを用いて、ヨーグルトミックスを発酵させた場合は、輸

送又は保存中に発酵乳の酸度が高まる。本発明の発酵乳の製造方法を用いることで、発酵乳の酸度が高まる事態を効果的に防止できるので、風味のよい発酵乳を提供できる。

[0046] 次に、スターターを添加したヨーグルトミックスを発酵する工程（ステップ104）について説明する。

[0047] 発酵温度などの発酵条件は、ヨーグルトミックスに添加された乳酸菌の種類や、求める発酵乳の風味などを考慮して適宜調整すればよい。具体的な例として、発酵室内の温度（発酵温度）を30℃以上50℃以下に維持するものがあげられる。この温度であれば、一般的に乳酸菌が活動しやすいので、効果的に発酵を進めることができる。このときの発酵温度として、より好ましくは40℃以上45℃以下、更に好ましくは41℃以上44℃以下があげられる。また、スターターの活性をあえて抑えるため、比較的低温で発酵を行ってもよい。具体的な例として、40℃以上43℃以下で発酵を行ってもよい。

[0048] 発酵時間は、スターターや発酵温度などに応じて適宜調整すればよく、具体的には1時間以上6時間以下があげられ、2時間以上4時間以下であってもよい。

[0049] 例えば、後発酵の場合、ヨーグルトミックスとスターターとの混合物を容器に充填する。そして、その容器を所定温度の発酵室に入れ、所定時間で維持して、ヨーグルトミックスを発酵させる。これにより発酵乳を得ることができる。

[0050] 本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンは、発酵乳が、プレーンタイプのヨーグルトである発酵乳の製造方法に関する。本発明は糖液や果肉などを含むタイプのヨーグルトではなく、プレーンタイプの発酵乳に好ましく用いることができ、例えばセットタイプの発酵乳に好ましく用いることができる。一般的に、プレーンタイプのヨーグルトには、セット（ハード）タイプが多いため、本発明はソフトタイプ（糊状）やドリンク（液状）タイプのヨーグルトではなく、セットタイプ（固形状）の発酵乳に好ましく用いるこ

とができる。

[0051] 図3は、本発明の発酵乳の製造方法の好ましいパターンを示す図である。この製造方法は、基本的には、図1に示される発酵乳の製造方法において、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅する工程（ステップ102）と、ヨーグルトミックスを発酵する工程（ステップ104）との間に、ヨーグルトミックスを脱酸素処理する工程を含む発酵乳の製造方法に関する。実施例において実証されたとおり、脱酸素処理を行うことにより、スターターの活性を高めることができ、さらに発酵時間を短縮することができる。具体的には、以下のようにして発酵乳を製造する。ヨーグルトミックスに、乳酸菌及び／又は乳酸菌の培養物若しくは発酵物を添加する（ステップ301）（図3中、「バクテリオシン産生乳酸菌等添加」と表記）。この乳酸菌は、バクテリオシン産生能を有する乳酸菌である。その後、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅する処理を行う（ステップ302）。このようにして、バクテリオシンを産生する乳酸菌に由来するチーズ風味などが増長する事態を防止する。一方、乳酸菌が死滅した状態では、発酵が促進しない。そこで、バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅させたヨーグルトミックスに、スターターを添加する（ステップ303）。スターターを添加したヨーグルトミックスを脱酸素処理する（ステップ304）。その上で、スターターを添加したヨーグルトミックスを発酵する（ステップ305）。各ステップは、先に説明した各工程を採用することができる。

[0052] そこで、以下では、スターターを添加したヨーグルトミックスを脱酸素処理する工程（ステップ304）について説明する。

[0053] 脱酸素工程では、例えば、溶存酸素を不活性ガスにより置換するための公知の装置などを適宜用いることができる。具体的には、例えば、特開2001-78665号公報、特開2001-9206号公報、又は特開2005-110527号公報（これらの文献は、参照することにより本明細書に取り入れられる。）に開示される装置を適宜用いて不活性ガスにより溶解している酸素を追い出すなどすればよい。

- [0054] 特開 2001-78665 号公報には、以下の装置が開示されている。すなわち、同公報には、「牛乳等の溶存酸素を窒素ガスと置換する装置において、原料タンクと送液パイプで連結された窒素ガス置換タンクを設けると共に、前記送液パイプには、原料タンク側に窒素ガス供給手段を連結すると共に、前記窒素ガス置換タンク側に窒素ガス混合分散機を介装して、送液パイプの窒素ガス供給手段より上流側に接続した分岐送液パイプの他端を窒素ガス置換タンク内に導き、該部に噴霧ノズルを接続し、前記各送液パイプ、窒素ガス供給手段及び接続分岐パイプに流量制御装置を備えたことを特徴とした牛乳等の窒素ガス置換装置」が開示されている。
- [0055] 特開 2001-9206 号公報には、以下の装置が開示されている。すなわち、同公報には、「真空チャンバー内に分散盤が垂直軸を中心にして回転可能に支持され、高速回転中の前記分散盤上に供給された処理液を遠心力の作用により分散させて、液中の気泡類を脱泡・脱気する構成の装置において、前記分散盤を多段に配設して、各分散盤に処理液を分配供給することを特徴とする多段式脱泡・脱気装置」が開示されている。
- [0056] 特開 2005-110527 号公報には、以下の装置が開示されている。すなわち、同公報には、「脱気手段と、気泡の破泡手段とを具備する飲料製造装置」が開示されている。
- [0057] 「不活性ガス」は、ヘリウム、ネオン、アルゴン、キセノンなどの希ガスの他、窒素などのガスであっても良い。
- [0058] 本発明の第 2 の側面は、上記の何れかに記載の発酵乳の製造方法により製造された発酵乳に関する。この発酵乳は、成分としてバクテリオシンを含む。このため、輸送や保存中に発酵乳の酸性度が高まる事態を効果的に防止できる。しかも、スターターとして、ブルガリア菌などの良好な乳酸菌を用いることができるため、本発明の発酵乳は、風味に優れた発酵乳である。
- [0059] 以下、実施例を用いて本発明を具体的に説明する。しかしながら、本発明は、以下の実施例に限定されるものではない。
- [0060] 本発明では、ヨーグルトミックス（脂肪（FAT）：3.0 重量％、無脂

肪固形分（SNF）：9.5重量％）は、乳や乳製品を混合・溶解して調合した。ヨーグルトミックスは常法に従って、均質化及び殺菌した後、所定の温度に冷却し、乳酸菌スターター（ヨーグルトスターター）を接種し、ヨーグルトを製造した。本発明では、ラクトコッカス属の乳酸菌培養物（マゼースターター）を使用して、種々の製造条件を設定し、所定温度（5℃、10℃、15℃）で保存した。発酵工程中の酸度の測定、及び保存中のヨーグルトの酸度の測定を行い、酸度の上昇を比較することで、発酵時間及び風味の変化を比較・検討した。酸度の測定は、公知の機器を用いて行った。発酵工程中の酸度の測定は、酸度が0.60～0.75％程度になるまで行い、発酵時間を比較した。

実施例 1

[0061] ラクティス菌（OLS3311）の添加量の影響

マゼースターターとしてラクティス菌（OLS3311）を用いて検討を行った。マゼースターターの調製条件は、表1に示した。10重量％脱脂粉乳、及び0.1重量％ビール酵母エキスを含む培養液に、ラクティス菌（OLS3311）を1重量％で接種した。接種後、30℃、16時間で発酵させ、マゼースターターを得た。発酵終了時の酸度は0.90％であった。

[表1]

表1 マゼースターターの調製条件

スツクカルチャー	ラクティス菌(OLS3311)
培養液	脱脂粉乳 10% & ビール酵母エキス 0.1%
接種量	1.00%
発酵温度	30℃
発酵時間	16hr
終了酸度	0.90%

[0062] 実施例1では、下記の表2に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、牛乳（87％）と溶解水（13％）を混合し、加温後、脱脂粉乳（最終濃度2％）を溶解した。その後、マゼースターター（ラクティス菌（OLS3311））を1重量％で添加し、95℃、2分間で殺菌してから、43℃に冷却した。スターター（明治ブルガリアフルーツヨーグルトス

ターター)を2重量%で添加し、43℃で発酵させた。発酵工程中、一定時間ごとに酸度を測定し、その結果を下記の表3に示した。また、ここで製造したヨーグルトは、5℃、10℃、15℃でそれぞれ保存し、保存期間中の風味の変化(酸度の上昇)を比較した。その結果を下記の表4～6に示した。

[0063] (比較例1)

比較対照として、比較例1では、下記の表2に示したように、マザースターターを用いない製造条件下で、ヨーグルトを製造した。マザースターターを用いない以外は、実施例1と同様である。

[0064] (比較例2)

比較例2では、下記の表2に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。スターターの添加後、マザースターターを1重量%で添加し、発酵させること以外は、比較例1と同様である。

実施例 2

[0065] 実施例2では、表2に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、マザースターターの添加量を3重量%とする以外は、実施例1と同様である。

実施例 3

[0066] 実施例3では、表2に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、マザースターターの添加量を5重量%とする以外は、実施例1と同様である。

[0067] 比較例1、2、及び実施例1～3の製造工程を表2にまとめた。

[表2]

表2 製造工程

工程	比較例1	実施例1	比較例2	実施例2	実施例3
ヨーグルトミックス 調製工程	牛乳87% + 溶解水13% 加温 脱脂粉乳 2% 溶解				
マザースターター 添加工程	—	OLS3311 1% 添加	—	OLS3311 3% 添加	OLS3311 5% 添加
殺菌工程	殺菌95℃, 2分				
冷却工程	冷却 43℃				
スターター添加工程	フルーツヨーグルトスターター 2% 添加				
マザースターター 添加工程	—	—	OLS3311 1% 添加	—	—
発酵工程	発酵 43℃				

[0068] 比較例1, 2, 及び実施例1～3の製造工程で製造したヨーグルトの発酵中における酸度の変化を測定した結果を表3に示した。その結果, 比較例1と実施例1～3の比較により, OLS3311を添加することで, 発酵(酸度の上昇)が遅くなることが分かった。また, 実施例1と比較例2の比較により, OLS3311を添加して殺菌すること(実施例1)で, 発酵(酸度の上昇)が遅くなることが分かった。

[表3]

表3 発酵による酸度上昇

分	比較例1	実施例1	比較例2	実施例2	実施例3
150	0.56	—	—	—	—
180	0.67	0.51	0.46	0.42	—
210		0.57	0.52	—	—
240		0.62	0.58	—	—
270		0.64	0.62	0.60	0.62
300			0.65	0.63	0.63

[0069] 比較例1, 2, 及び実施例1～3の製造工程で製造したヨーグルトを, 所定温度(5℃, 10℃, 15℃)で保存した際に, 酸度の変化を測定した結果を表4～6に示した。その結果, 比較例1と実施例1～3の比較より, OLS3311を添加することで, それぞれの保存温度で風味の変化(酸度の上昇)が遅くなることが分かった。また, 実施例1と比較例2の比較により, OLS3311を添加して殺菌すること(実施例1)で, それぞれの保存温度で風味の変化(酸度の上昇)が遅くなることが分かった。

[表4]

表4 5℃ 保存後の酸度

日数	比較例1	実施例1	比較例2	実施例2	実施例3
4日	0.78	0.65	0.69	0.66	0.65
7日	0.79	0.65	0.67	0.65	0.67
13日	0.82	0.67	0.70	0.67	0.68
21日	0.89	0.70	0.73	0.70	0.71

[表5]

表5 10℃ 保存後の酸度

日数	比較例1	実施例1	比較例2	実施例2	実施例3
4日	0.83	0.65	0.69	0.66	0.67
7日	0.89	0.67	0.69	0.67	0.68
13日	0.91	0.70	0.73	0.69	0.69
21日	0.99	0.75	0.81	0.74	0.75

[表6]

表6 15℃ 保存後の酸度

日数	比較例1	実施例1	比較例2	実施例2	実施例3
4日	0.87	0.67	0.71	0.67	0.70
7日	1.02	0.73	0.74	0.70	0.70
13日	1.11	0.77	0.84	0.72	0.72
21日	1.19	0.96	0.98	0.83	0.84

実施例 4

[0070] スターターの添加量の影響

[0071] 実施例 4 では、下記の表 7 に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、牛乳（87%）と溶解水（13%）を混合し、加温後、脱脂粉乳（最終濃度 2%）を溶解した。その後、マザースターター（ラクティス菌（OLS3311））を 3 重量%で添加した。マザースターターには、実施例 1 と同じものを用いた。マザースターターを添加したヨーグルトミックスは、95℃、2 分間で殺菌してから、43℃に冷却した。スターター（明治ブルガリアフルーツヨーグルトスターター）を 2 重量%で添加し、43℃で発酵させた。発酵工程中、一定時間ごとに酸度を測定し、その結果を下記の表 8 に示した。また、ここで製造したヨーグルトは、5℃、10℃、15℃でそれぞれ保存し、保存期間中の風味の変化（酸度の上昇）を比較した。その結果を下記の表 9～11 に示した。

[0072] （比較例）

比較対照として、上記した比較例 1 で製造したヨーグルトを用いた。比較例 1 は、脱脂粉乳を溶解した後、すぐに殺菌すること以外は、実施例 4 と同様である。

実施例 5

[0073] 実施例 5 では、下記の表 7 に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、スターターを 3 重量%で添加すること以外は、実施例 4 と同様である。

実施例 6

[0074] 実施例 6 では、下記の表 7 に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、スターターを 4 重量%で添加すること以外は、実施例 4 と同様である。

実施例 7

[0075] 実施例 7 では、下記の表 7 に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、スターターを 5 重量%で添加すること以外は、実施例 4 と同様である。

[0076] 比較例 1、及び実施例 4～7 の製造工程を表 7 にまとめた。

[表7]

表7 製造工程

工程	比較例1	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7
ヨーグルトミックス調製工程	牛乳87% + 溶解水13% 加温 脱脂粉乳 2% 溶解				
マザースターター添加工程	—	OLS3311 3% 添加	OLS3311 3% 添加	OLS3311 3% 添加	OLS3311 3% 添加
殺菌工程	殺菌95℃、2分				
冷却工程	冷却 43℃				
スターター添加工程	2%	2%	3%	4%	5%
発酵工程	発酵 43℃				

[0077] 比較例 1、及び実施例 4～7 の製造工程で製造したヨーグルトの発酵中における酸度の変化を測定した結果を表 8 に示した。その結果、スターターの添加量を増やすと、発酵（酸度の上昇）が早くなることが分かった。

[表8]

表8 発酵による酸度上昇

分	比較例1	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7
150	0.56	—	—	—	0.53
180	0.67	0.45	0.51	0.55	0.59
210		0.50	0.56	0.61	0.65
240		—	0.62	0.64	
270		0.61	0.66		
300		0.64			

[0078] 比較例1, 及び実施例4～7の製造工程で製造したヨーグルトを, 所定温度(5℃, 10℃, 15℃)で保存した際に, 酸度の変化を測定した結果を表9～11に示した。その結果, スターターの添加量を増やすと, 風味の変化(酸度の上昇)が早くなることが分かった。

[表9]

表9 5℃保存後の酸度

日数	比較例1	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7
3日	0.77	0.66	0.67	0.66	0.67
11日	0.80	0.69	0.70	0.69	0.70
13日	0.82	0.69	0.70	0.70	0.71
21日	0.90	0.71	0.75	0.76	0.75

[0079] [表10]

表10 10℃保存後の酸度

日数	比較例1	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7
3日	0.82	0.66	0.67	0.67	0.68
11日	0.90	0.70	0.72	0.71	0.72
13日	0.91	0.71	0.72	0.72	0.74
21日	1.00	0.77	0.80	0.80	0.81

[0080] [表11]

表11 15℃保存後の酸度

日数	比較例1	実施例4	実施例5	実施例6	実施例7
3日	0.86	0.68	0.68	0.68	0.68
11日	1.03	0.74	0.76	0.76	0.77
13日	1.11	0.76	0.79	0.78	0.80
21日	1.20	0.95	1.00	1.01	1.04

実施例 8

[0081] 殺菌工程の影響

実施例8では, 下記の表12に示した製造工程によってヨーグルトを製造

した。すなわち、牛乳（８７％）と溶解水（１３％）を混合し、加温後、脱脂粉乳（最終濃度２％）を溶解した。その後、マザースターター（ラクティス菌（OLS3311））を３重量％で添加した。マザースターターには、実施例１と同じものを用いた。マザースターターを添加したヨーグルトミックスは、９５℃、２分間で湯煎により殺菌してから、４３℃に冷却した。スターター（明治ブルガリアフルーツヨーグルトスターター）を２重量％で添加し、４３℃で発酵させた。発酵工程中、一定時間ごとに酸度を測定し、その結果を下記の表１３に示した。また、ここで製造したヨーグルトは、５℃、１０℃、１５℃でそれぞれ保存し、保存期間中の風味の変化（酸度の上昇）を比較した。その結果を下記の表１４～１６に示した。

実施例 9

[0082] 実施例９では、下記の表１２に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、殺菌時間を１０分間とする以外は、実施例８と同様である。

実施例 10

[0083] 実施例１０では、下記の表１２に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、殺菌時間を３０分間とする以外は、実施例８と同様である。

実施例 11

[0084] 実施例１１では、下記の表１２に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、殺菌時間を６０分間とする以外は、実施例８と同様である。

実施例 12

[0085] 実施例１２では、下記の表１２に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、殺菌工程で殺菌方法をオートクレーブとし、殺菌温度を１１０℃、殺菌時間を１分間とする以外は、実施例８と同様である。

[0086] 実施例８～１２の製造工程を表７にまとめた。

[表12]

表12 製造工程

工程	実施例8	実施例9	実施例10	実施例11	実施例12
ヨーグルトミックス 調製工程	牛乳87% + 溶解水13% 加温				
	脱脂粉乳 2% 溶解				
マザースターター 添加工程	OLS3311 3% 添加				
殺菌工程	95℃, 2分 湯煎	95℃, 10分 湯煎	95℃, 30分 湯煎	95℃, 60分 湯煎	110℃, 1分 オートクレーブ
冷却工程	冷却 43℃				
スターター添加工程	フルーツヨーグルトスターター 2% 添加				
発酵工程	発酵 43℃				

[0087] 実施例8～12の製造工程で製造したヨーグルトの発酵中における酸度の変化を測定した結果を表12に示した。その結果、殺菌時間を長くすると、発酵（酸度の上昇）が早くなることが分かった。また、短時間でも殺菌温度を高くすると、発酵（酸度の上昇）が早くなることが分かった。

[表13]

表13 発酵による酸度上昇

分	実施例8	実施例9	実施例10	実施例11	実施例12
180	0.45	0.46	0.50	0.66	0.49
210	—	—	0.55		0.54
270	0.61	0.60	0.65		0.64
300	0.63	0.64			
330	0.65				

[0088] 実施例8～12の製造工程で製造したヨーグルトを、所定温度（5℃, 10℃, 15℃）で保存した際に、酸度の変化を測定した結果を表14～16に示した。その結果、実施例8～10、及び実施例12では、風味の変化（酸度の上昇）に差がないことが分かった。しかし、実施例11では、実施例8～10、及び実施例12よりも風味の変化（酸度の上昇）が早かった。この結果は、OLS3311を無添加の場合の結果と類似しており、実施例11の殺菌条件（95℃, 60分, 湯煎）では、OLS3311が産生した抗菌物質（バクテリオシン）が失活した可能性が考えられる。

[表14]

表14 5℃保存後の酸度

日数	実験例8	実施例9	実施例10	実施例11	実施例12
3日	0.67	0.66	0.66	0.70	0.65
6日	0.67	0.68	0.66	0.71	0.66
14日	0.72	0.69	0.68	0.74	0.67
21日	0.73	0.73	0.73	0.78	0.72

[表15]

表15 10℃保存後の酸度

日数	実験例8	実施例9	実施例10	実施例11	実施例12
3日	0.67	0.68	0.68	0.70	0.66
6日	0.69	0.69	0.68	0.73	0.68
14日	0.73	0.73	0.74	0.82	0.72
21日	0.76	0.77	0.76	0.88	0.76

[表16]

表16 15℃保存後の酸度

日数	実験例8	実施例9	実施例10	実施例11	実施例12
3日	0.67	0.68	0.68	0.74	0.68
6日	0.71	0.70	0.70	0.81	0.70
14日	0.78	0.79	0.79	1.05	0.79
21日	0.92	0.91	0.90	1.17	0.90

実施例 13

[0089] クレモリス菌（O L S 3 3 1 2）の添加量及び冷却方法による影響

マザースターターとしてクレモリス菌（O L S 3 3 1 2）を用いて検討を行った。マザースターターの調製条件は、表17に示した。10重量%脱脂粉乳、及び0.1重量%ビール酵母エキスを含む培養液に、クレモリス菌（O L S 3 3 1 2）を0.5重量%で接種した。接種後、30℃、20時間で発酵させ、マザースターターを得た。発酵終了時の酸度は0.75%、pHは4.58であった。

[表17]

表17 マザースターター調整条件

ストックカルチャー	クレモリス菌(OLS3312)
培養液	脱脂粉乳 10% & ビール酵母エキス 0.1%
接種量	0.50%
発酵温度	30℃
発酵時間	20hr
終了酸度	0.75%
終了pH	4.58

[0090] 実施例13では、下記の表18に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、溶解水を加温後、脱脂粉乳（最終濃度10%）を溶解した。その後、マザースターター（クレモリス菌（OLS3312））を1.2重量%で添加し、95℃、2分間で殺菌してから、43℃に冷却した。スターター（明治ブルガリア（プレーン）ヨーグルトスターター）を2重量%で添加し、43℃で発酵させた。発酵工程中、一定時間ごとに酸度を測定し、その結果を下記の表19に示した。また、ここで製造したヨーグルトは、5℃、10℃、15℃でそれぞれ保存し、保存期間中の風味の変化（酸度の上昇）を比較した。その10℃で保存したときの結果を下記の表20に示した。

[0091] （比較例3）

比較対照として、比較例3では、下記の表18に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。脱脂粉乳を溶解後、マザースターターを添加せず、すぐに殺菌を行う以外は、実施例13と同様である。

実施例 14

[0092] 実施例14では、下記の表18に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、43℃に冷却した後、脱酸素（窒素）処理を行って発酵させること以外は、実施例13と同様である。

実施例 15

[0093] 実施例15では、下記の表18に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、スターターを1.5重量%で添加する以外は、実施例1

3と同様である。

実施例 16

[0094] 実施例 16では、下記の表 18に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、スターターを 1.5 重量%で添加し、43℃に冷却した後、脱酸素（窒素）処理を行って発酵させる以外は、実施例 15と同様である。

[0095] 比較例 3、及び実施例 13～16の製造工程を表 18にまとめた。

[表18]

表18 製造工程

工程	比較例3	実施例13	実施例14	実施例15	実施例16
ヨーグルトミックス調製工程	溶解水 加温				
	脱脂粉乳 10%溶解				
マザースターター添加工程	—	OLS3312 1.2%添加	OLS3312 1.2%添加	OLS3312 1.5%添加	OLS3312 1.5%添加
殺菌工程	殺菌95℃				
冷却工程	冷却 43℃	冷却 43℃	冷却 43℃	冷却 43℃	冷却 43℃
スターター添加工程	ブルガリアヨーグルトスターター 2%添加				
脱酸素(窒素)工程	—	—	窒素処理	—	窒素処理
発酵工程	発酵 43℃				

[0096] 比較例 3、及び実施例 13～16の製造工程で製造したヨーグルトの発酵中における酸度の変化を測定した結果を表 19に示した。その結果、比較例 3と実施例 13～16の比較により、OLS3312を添加することで、発酵（酸度の上昇）が遅くなることが分かった。そして、実施例 13と実施例 15の比較により、OLS3312の添加量を増やすと、発酵（酸度の上昇）が遅くなることが分かった。また、実施例 13と実施例 14の比較、及び実施例 15と実施例 16の比較により、製造工程で脱酸素（窒素）処理を行い、脱酸素条件下で発酵することで、発酵（酸度の上昇）が早くなることが分かった。このことから、マザースターターの添加量及び脱酸素（窒素）処理を調整することで、クレモリス菌の産生物質の活性を高めたり、発酵時間を短縮したりできることが分かった。

[表19]

表19 発酵による酸度上昇

時間	比較例3	実施例13	比較例14	実施例15	実施例16
0.0	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
1.5	0.21	0.20	0.23	0.18	0.20
2.5	0.50	0.45	0.55	0.33	0.42
3.0	0.66	0.60	0.68	0.49	0.57
3.5	0.75	0.68	0.74	0.61	0.67
4.0		0.75		0.69	0.74
4.5				0.74	

[0097] 比較例3，及び実施例13～16の製造工程で製造したヨーグルトを，所定温度（10℃）で保存した際に，酸度の変化を測定した結果を表20に示した。その結果，比較例3と比較して，実施例13～16では，風味の変化（酸度の上昇）が遅くなることが分かった。そして，実施例13と実施例15の比較により，OLS3312の添加量を増やすと，風味の変化（酸度の上昇）が遅くなることが分かった。また，実施例13と実施例14の比較，及び実施例15と実施例16の比較により，脱酸素条件下で発酵を行っても，風味の変化（酸度の上昇）には影響がないことが分かった。

[表20]

表20 発酵による酸度上昇

日数	比較例3	実施例13	比較例14	実施例15	実施例16
10日	1.05	1.02	1.02	0.96	0.96
17日	1.10	1.06	1.06	1.00	1.01

実施例 17

[0098] スターターの培養液の影響

マザースターターとしてクレモリス菌（OLS3312）を，2種類の培養液を用いて調製した。具体的には，10重量%脱脂粉乳，及び0.1重量%ビール酵母エキスを含む培養液（脱脂粉乳培地）と，M17（Difco社製）及び0.5重量%乳糖を含む培養液（M17培地）を用いた。マザースターターの調製条件は，表21に示した。脱脂粉乳培地を用いた調製では，クレモリス菌（OLS3312）を0.5重量%で接種し，30℃，20時間で発酵させた。発酵終了時の酸度は0.73%であった。M17培地を用いた調製では，クレモリス菌（OLS3312）を0.25%で接種し，

30℃, 16時間で発酵させた。発酵後の吸光度(OD660)は1.71であった。

[表21]

表21 マザースターター調整条件

ストックカルチャー	クレモリス菌(OLS3312)	
培養液	脱脂粉乳 10% & ビール酵母エキス 0.1%	Difco M17 & 乳糖 0.5%
接種量	0.50%	0.25%
発酵温度	30℃	
発酵時間	20hr	16hr
終了酸度	0.73%	—
終了pH	—	1.71

[0099] 実施例17では、下記の表22に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。まず、溶解水を加温後、脱脂粉乳(最終濃度10%)を溶解した。その後、M17培地で調製したマザースターター(クレモリス菌(OLS3312))を2重量%で添加し、95℃, 2分間で殺菌してから、43℃に冷却した。スターター(明治ブルガリア(プレーン)ヨーグルトスターター)を2重量%で添加し、43℃で発酵させた。発酵工程中、一定時間ごとに酸度を測定し、その結果を下記の表23に示した。

[0100] (比較例4)

比較例4では、下記の表22に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、マザースターターを添加しないこと以外は、実施例17と同様である。

[0101] (比較例5)

比較例5では、下記の表22に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、スターターを添加した後に、M17培地で調製したマザースターター(OLS3312の上澄液の2重量%)を添加すること以外は、比較例4と同様である。

実施例 18

[0102] 実施例18では、下記の表22に示した製造工程によってヨーグルトを製造した。すなわち、脱脂粉乳培地で調製したマザースターター(OLS33

12) を添加すること以外は、実施例17と同様である。

[0103] 比較例4, 5, 及び実施例17, 18の製造工程を表22にまとめた。

[表22]

表22 製造工程

工程	比較例4	実施例17	比較例5	実施例18
ヨーグルトミックス 調製工程	溶解水 加温			
	脱脂粉乳 10% 溶解			
マザースターター 添加工程 (使用培養液)	—	OLS3312 2% 添加 (M17培地)	—	OLS3312 2% 添加 (脱脂粉乳)
殺菌工程	殺菌 95℃			
冷却工程	冷却 43℃			
スターター添加工程	ブルガリアヨーグルトスターター 2% 添加			
マザースターター 添加工程 (使用培養液)	—	—	OLS3312上澄 2% 添加 (M17培地)	—
発酵工程	発酵 43℃			

[0104] 比較例4, 5, 及び実施例17, 18の製造工程で製造したヨーグルトの発酵中における酸度の変化を測定した結果を表23に示した。その結果, OLS3312を添加することで, 発酵(酸度の上昇)が遅くなることが分かった。OLS3312を添加した後に, 殺菌する工程(実施例17)と, 殺菌した後に, OLS3312を添加する工程(比較例5)の比較により, OLS3312を添加した後に, 殺菌する方(実施例17)が若干, 発酵(酸度の上昇)が早くなることが分かった。マザースターターを調製するための培養液を比較すると(実施例17と18), 脱脂粉乳培地よりもM17培地を用いた方が若干, 発酵(酸度の上昇)が早くなることが分かった。このように, マザースターターの調製方法を調整することで, ラクティス菌の産生物質の活性を高めたり, 発酵時間を短縮したりできることが分かった。

[表23]

表23 発酵による酸度上昇

分	比較例4	実施例17	比較例5	実施例18
90	0.23	0.14	0.15	0.16
150	0.55	0.20	0.17	0.23
180	0.65	—	—	—
210	0.75	0.42	0.35	0.36
285	—	0.56	0.52	0.52
360	—	0.65	0.61	0.61

実施例 19

[0105] バクテリオシン産生菌による酸度上昇抑制に関する検討

発酵乳の製造で使用実績のある乳酸桿菌（ラクトバチルス ヘルベティカス： *L. helveticus*，ラクトバチルス デルブリュッキー 亜種 ラクティス： *L. delbrueckii subsp. lactis*，ラクトバチルス アシドフィルス： *L. acidophilus*）に，バクテリオシン産生菌であるクレモリス菌（OLS3312）を接種して，生育阻害の有無を検討した。

[0106] 10%脱脂粉乳培地の80mlに，各種スターター（乳酸桿菌）を1重量%，及びOLS3312を0.4重量%で接種した。43℃，16時間で培養した後に，5℃に冷却し，酸度を測定した。乳酸桿菌の単独培養（OLS3312無）と，OLS3312との複合培養（OLS3312有）とで，発酵の進行（酸生成の程度）を比較した。その結果を表24に示した。

[0107] 表24に示した結果から，菌株の種類で阻害率に差異はあるものの，何れの菌株でも酸生成は阻害されていることが分かった。このことから，ブルガリア菌以外の乳酸桿菌に対しても，バクテリオシンの有効性が示唆された。

[表24]

表24 発酵の比較

菌株種類	菌株No.	OLS3312有 酸度(%)	OLS3312無 酸度(%)	阻害率(%)
<i>L.helveticus</i>	A	0.88	1.91	46.1
	B	1.45	2.00	72.5
<i>L.acidophilus</i>	C	0.76	1.01	75.2
	D	0.54	1.30	41.5
<i>L.delbrueckii subsp. lactis</i>	E	0.65	0.92	70.7

産業上の利用可能性

[0108] 本発明は，発酵乳の製造方法に関するもので，食品産業の分野で利用される。

請求の範囲

[請求項1] ヨーグルトミックスに、バクテリオシンを産生する乳酸菌及び／又は乳酸菌の培養物若しくは発酵物を添加する工程と、

前記バクテリオシンを産生する乳酸菌及び／又は乳酸菌の培養物若しくは発酵物を添加した後に、前記バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅する工程と、

前記バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅させたヨーグルトミックスに、スターターを添加する工程と、

前記スターターを添加したヨーグルトミックスを発酵する工程と、
を含む、発酵乳の製造方法。

[請求項2] 前記バクテリオシンを産生する乳酸菌を死滅する工程と、前記ヨーグルトミックスを発酵する工程との間に、

さらに、ヨーグルトミックスを脱酸素処理する工程を含む、
請求項1に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項3] 前記バクテリオシンを産生する乳酸菌を添加するヨーグルトミックスの酸性度は、6.5以上7.5以下である、請求項1に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項4] 前記バクテリオシンを産生する乳酸菌は、

ラクトコッカス属の乳酸菌である、請求項1に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項5] 前記バクテリオシンを産生する乳酸菌は、

ラクティス菌、またはクレモリス菌である、請求項1に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項6] 前記バクテリオシンを産生する乳酸菌は、

独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに寄託番号「FERM BP-10966」として寄託されている乳酸菌株、または

独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターに寄託番号「FERM BP-10967」として寄託されている乳酸菌株である

請求項 1 に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項7] 前記バクテリオシンは、ナイシン、またはラクトコッシンである、請求項 1 に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項8] 前記スターターは、ブルガリア菌、またはヘルベティカス菌を主な種菌として含む、請求項 1 に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項9] 前記スターターは、ブルガリア菌及びサーモフィラス菌を主な種菌として含む、請求項 1 に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項10] 前記発酵乳は、プレーンタイプのヨーグルトである、請求項 1 に記載の発酵乳の製造方法。

[請求項11] 請求項 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の発酵乳の製造方法により製造された発酵乳。