

明 細 書

発明の名称： 乳酸菌の培養方法および飲食品

技術分野

[0001] 本発明は、乳酸菌の培養方法およびその方法により得られた乳酸菌培養物を含有する飲食品に関する。

背景技術

[0002] 乳酸菌は、チーズ、発酵乳、乳酸菌飲料等の乳製品やキムチ、漬物等の各種発酵食品の製造に利用されていることは良く知られている。そして、近年では、乳酸菌の有する整腸効果等の様々な生理機能が明らかとされ、乳酸菌の菌体そのものや各種乳酸菌培養物を健康食品や医薬品などの素材として利用するようになり、その利用範囲は多岐に渡っている。

[0003] 乳酸菌の培養は、様々な態様で行われているが、乳酸菌製剤の製造や発酵乳、乳酸菌飲料、チーズ等、各種発酵乳食品の製造のために、獣乳等の乳成分を培地として行われる場合が最も多い。しかしながら、乳酸菌の多くは、一般に栄養要求性が厳格であるため、乳成分のみを培地とする場合には、あまり増殖しない菌が多い。また、比較的増殖性の良い菌であっても、乳酸菌飲料等の製造に当って、十分な酸度（酸生成量）を有する培養物を得るためには、長時間の培養を行わなければならない。

[0004] しかしながら、長時間の培養は、生菌数の低下を招くため、生菌数を重要視する乳酸菌飲料等の製造の際には問題があった。そこで、乳酸菌の培養においては、培養時間を短縮する目的で、菌の増殖性を活性化し得る様々な増殖促進物質を培地に添加することが一般的に行われている。このような増殖促進物質又は増殖性の活性化に有効なことが確認されている物質としては、クロレラエキス、鉄塩、ビタミン類、アミノ酸やペプチドを含むタンパク分解物、酵母エキス等が知られている。

[0005] また、酒粕の水抽出物及び／又はタンパク分解酵素処理した酒粕の水抽出物を用いる方法（特許文献１）、コーヒーノキ属植物の葉から抽出された抽

出液を用いる方法（特許文献２）、脂質と蛋白質の複合体を用いる方法（特許文献３）等が提案されており、本出願人等も乳酸菌の増殖促進剤として、酸を用いて抽出することにより得られる茶類、ネギ及びショウガの抽出物（エキス）が有効であることを見出し、既に報告している（特許文献４）。

[0006] 一方で、乳酸菌の持つ様々な生理機能の向上には、生きた状態で腸内まで到達させることが重要であることから、培養物やそれを含む製品中での乳酸菌の生残性を高く維持するために、４０～５５重量％がリン脂質である脂質を全固形中２０～９０重量％含む組成物を利用する方法（特許文献５）や乳酸菌の死菌体を用いる方法（特許文献６）が提案されている。

先行技術文献

特許文献

- [0007] 特許文献１：特開平５－１５３６６号公報
特許文献２：特開平６－１２５７７１号公報
特許文献３：特開２００６－２３０２５９号公報
特許文献４：特許第３６４８１１５号明細書
特許文献５：特開２００７－９７４４７号公報
特許文献６：特開２００８－５８１１号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] ところが、天然物である乳成分は季節や産地、加工方法等により品質が一定でない。そのため、これを原料とする培地で乳酸菌を培養した場合には、たとえ、増殖性の活性化や生残性改善に有効なことが確認されている既知の材料を用いても、得られる培養物は、安定して乳酸菌数を維持することができないことがあり、これを飲食品等の製造に用いた場合には、保存後に生菌数の急激な低下を招くことがあった。

従って、本発明は、乳酸菌数を安定して維持することができる乳酸菌培養物を得るための乳酸菌の培養方法を提供することをその目的とするものである。

る。

そして更に、本発明は、品質安定性に優れた乳酸菌培養物を含む飲食品を得ることを目的とするものである。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者等は、上記課題を解決すべく鋭意検討を行った結果、培地に用いる乳成分の品質が、乳酸菌発酵物における乳酸菌数の安定化に影響を与えるという技術的知見を得、特に、遊離リン酸濃度が0.25質量%未満である乳成分を原料とする培地では、乳酸菌数を安定して維持できる乳酸菌培養物が得られないことを確認した。そして、このような乳成分を培地として用いる場合にはリン酸塩を添加することにより、得られる乳酸菌発酵物における乳酸菌数の安定化が向上することを見出し、本発明を完成した。

また、この培養物を利用することにより、優れた品質安定性を有する発酵乳製品などの飲食品が製造できることを見出した。

[0010] すなわち、本発明は、遊離リン酸濃度が0.25質量%未満である乳成分とリン酸塩とを含有する培地に、乳酸菌を接種する乳酸菌の培養方法を提供するものである。

[0011] また、本発明は、遊離リン酸濃度が0.25質量%未満であり、且つ無脂乳固形分（SNF）あたりのタンパク質含有量が35質量%未満である乳成分と、水溶性のリン酸塩とを含有する培地に乳酸菌を接種する乳酸菌の培養方法を提供するものである。また、乳成分として、脱脂粉乳を用いることが好ましい。

[0012] 更に、本発明は、遊離リン酸濃度が0.25質量%未満である乳成分、または遊離リン酸濃度が0.25質量%未満であり、且つ無脂乳固形分（SNF）あたりのタンパク質含有量が35質量%未満である乳成分と、水溶性のリン酸塩とを含有する培地に乳酸菌を接種・培養して得られる培養物を含む飲食品を提供するものである。

発明の効果

[0013] 本発明の方法によれば、天然物であるために季節や産地、加工方法等によ

り品質が一定でない乳成分を培地として利用する場合であっても、乳酸菌数を安定して維持することができる乳酸菌培養物を得ることができ、各種の健康食品や医薬品に広く利用することができる。

また、本発明の方法は、増殖促進や生残性改善に有用な既知の物質を組み合わせることで、活性の高い乳酸菌を安定して多く含む培養物を得ることができるので、生菌数が重要視される乳酸菌飲料等の発酵乳食品の製造に特に好適である。

更に言えば、本発明の方法により、天然物である乳製品を、季節や産地、加工方法等に関係なく、乳酸菌を培養する培地の原料に供することができる。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明において、乳酸菌を培養する培地に用いる乳成分としては、遊離リン酸濃度が0.25質量%未満の乳成分を使用する。このような乳成分の遊離リン酸濃度は、モリブデン酸を用いた方法（モリブデンプルー法）等、既知の方法に従って、遊離リン酸濃度を測定することにより確認することができる。ここで、乳成分とは、乳蛋白質を含有するものを意味し、具体的には、牛乳、山羊乳などの獣乳、脱脂粉乳、全脂粉乳、生クリーム等が挙げられる。

以下、脱脂粉乳を例に挙げて、乳成分中の遊離リン酸濃度の測定方法を説明する。なお、本願明細書中においては、以下に示す方法により測定した値を乳成分中の遊離リン酸濃度と定義する。

[0015] 《遊離リン酸濃度の測定法》

（１）試薬

（a）アスコルビン酸溶液(72g/L)

L(+)-アスコルビン酸(和光純薬工業（株）、特級)7.2gを水に溶解して100mLとし、0～10℃の暗所に保存する。

（b）モリブデン酸アンモニウム溶液

七モリブデン酸六アンモニウム4水和物(和光純薬工業（株）、特級)6.0g

とビス[(+)-タルトラト]ニアンチモン(I I I)酸カリウム3水和物(和光純薬工業(株)、特級)0.24gを水約300mLになるように溶解し、これに硫酸(2+1)120mLを加えて500mLとする。

(c) モリブデン酸アンモニウム-アスコルビン酸混合溶液(発色液)

モリブデン酸アンモニウム溶液とアスコルビン酸溶液(72g/L)とを体積比で5:1になるように混合する(用時調製)。

(d) リン酸イオン標準原液($50 \mu\text{g PO}_4^{3-}$ - P/mL)

リン酸二水素カリウム(pH標準液用)を $105 \pm 2^\circ\text{C}$ で約2時間加熱し、デシケーター中で放冷する。その0.2197gを取り、1000mLとする。0~ 10°C の暗所にて保存する。

(e) リン酸イオン標準溶液($1 \mu\text{g PO}_4^{3-}$ - P/mL)

リン酸イオン標準原液($50 \mu\text{g PO}_4^{3-}$ - P/mL)1mLを50mL容メスフラスコで定容する。

(2) 検量線

(i) 水を試験管に5.0mL、4.75mL、4.5mL、4.0mL、3.0mL、0.0mLずつ入れる。

(i i) (i)の各試験管にリン酸イオン標準溶液($1 \mu\text{g PO}_4^{3-}$ - P/mL)を0.0mL、0.25mL、0.5mL、1.0mL、2.0mL、5.0mLそれぞれ加え、全量5.0mLとする。

(i i i) 発色液を400 μL 加えて、約15分間放置する。

(i v) 30分以内に、分光光度計にてUV880nmの吸光度を測定する。

(3) 測定手順

(i) 試料(脱脂粉乳2.0g)を量り、水(または温水)で溶解後、100mL容メスフラスコで定容し、1時間以上放置する。

(i i) (i)の約6mLをビバスピナー6(5,000MWC0)に量り取り、遠心分離機で限外ろ過する(7,500G、30分、 25°C)。

(i i i) (i i)の通過液を1mLホールピペットで正確に100mL容メスフラスコに量り取り、水で定容する。

(i v) (i i i)の溶液を5mLホールピペットで試験管に量り取る。

(v) 発色液を400 μ L加えて、約15分間放置する。

(v i) 30分以内に分光光度計にてUV880nmの吸光度を測定する。

(v i i) (2)で求めた検量線から遊離リン酸量(μ g/Vial)を求める。求めた遊離リン酸量を用いて下記の式から脱脂粉乳中に含まれる遊離リン酸の割合を求める。

脱脂粉乳中の遊離リン酸%

=遊離リン酸量(μ g/Vial) $\times$ 10,000mL/5mL $\times$ 100g/2g $\times$ 1g/1,000,000 μ g

※分析方法は、食品成分試験法およびJIS K0102(工場排水試験法、1998)のリン酸イオンの分析法(モリブデン青(アスコルビン酸還元)吸光光度法)を参考に行った。

[0016] また、本発明においては、乳酸菌を培養する培地に用いる乳成分として、前記した方法により測定した遊離リン酸濃度が0.25質量%未満であって、且つ無脂乳固形分(SNF)あたりのタンパク質含有量が35質量%未満である乳成分を好ましいものとして挙げることができる。

ここで、無脂乳固形分(SNF)あたりのタンパク質含有量は、下記式1により算出することができる。

[0017] [数1]

$$\frac{\text{脱脂粉乳中のタンパク質含有量}}{(\text{脱脂粉乳量}(100) - \text{水分含有量} - \text{脂質含有量})} \times 100$$

[0018] なお、タンパク質含有量、脂質含有量および水分含有量は、五訂日本食品標準成分表に記載されている測定法に従って算出すればよい。具体的には、タンパク質含有量はケルダール法、脂質含有量はレーゼゴットリーブ法、水分含有量は直接法もしくは乾燥助剤添加法の常圧または減圧加熱乾燥法による減量法により算出される。

一方で、本発明において、前記した乳成分と共に乳酸菌を培養する培地に用いるリン酸塩としては、水溶性のリン酸塩、具体的には、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸二水素アンモニウム、リン酸水

素ニアンモニウム、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸三カリウム等を好ましいものとして挙げることができる。これらのリン酸塩は、２種以上を組み合わせ、培地のpHが中性領域（pH 6～8）となるように添加することが好ましい。

[0019] 本発明において、リン酸塩の添加量は、遊離リン酸濃度が0.25質量%以上、好ましくは0.25質量%乃至0.50質量%である乳成分を基本原料として培地を調製した場合における当該培地中の理論上の遊離リン酸濃度から、乳成分中に含まれる遊離リン酸濃度を減じた値を用いて求めたリン酸塩量と同程度となるように設定される。

なお、培地における乳成分の濃度は、特に制限されるわけではなく、一般的な濃度とすればよく、例えば、5質量%～30質量%、好ましくは、10質量%～20質量%程度である。

すなわち、本発明において、リン酸塩の使用量は、下記式2により算出して設定することができる。なお、このとき、リン酸塩の使用量は、リン酸塩中のリン酸が全て遊離リン酸とした場合の濃度として設定することができる。

[0020] [数2]

$$\frac{\left(\begin{array}{c} \text{基本原料における} \\ \text{遊離リン酸濃度} \end{array} - \begin{array}{c} \text{乳成分における} \\ \text{遊離リン酸濃度} \end{array} \right) \times \text{培地濃度}}{100} \times \frac{\text{リン酸塩の分子量}^*}{\text{リンの分子量}}$$

※ ２種以上のリン酸塩を使用する場合は、平均分子量とする。

[0021] 例えば、遊離リン酸濃度がそれぞれ0.20質量%または0.24質量%である乳成分を用いて、乳成分含量が20質量%の培地を調製する場合のリン酸塩（リン酸水素カリウム（50%）とリン酸二水素カリウム（50%）の混合物、平均分子量：155）の使用量は、以下のように算出して設定される。

（１）遊離リン酸濃度が0.20質量%の乳成分を用いる場合

・ 下限値

$$(0.25 - 0.20) \times 20 / 100 \times 155 / 31 = 0.05\%$$

・上限値

$$(0.50 - 0.20) \times 20 / 100 \times 155 / 31 = 0.30\%$$

すなわち、遊離リン酸濃度が0.20質量%の乳成分を用いて、20質量%の培地を調製する場合には、リン酸塩を0.05質量%以上、好ましくは0.05質量%～0.30質量%の範囲で添加すればよい。つまり、乳成分を20質量%含む培地100gに関して、上記リン酸塩を0.05g以上、好ましくは0.05g～0.30g添加すればよい。

(2) 遊離リン酸濃度が0.24質量%の乳成分を用いる場合

・下限値

$$(0.25 - 0.24) \times 20 / 100 \times 155 / 31 = 0.01\%$$

・上限値

$$(0.50 - 0.24) \times 20 / 100 \times 155 / 31 = 0.26\%$$

すなわち、遊離リン酸濃度が0.24質量%の乳成分を用いて、20質量%の培地を調製する場合には、リン酸塩0.01質量%以上、好ましくは0.01質量%～0.26質量%の範囲で添加すればよい。つまり、乳成分を20質量%含む培地100gに関して、上記リン酸塩を0.01g以上、好ましくは0.01g～0.26g添加すればよい。

[0022] 本発明において、乳酸菌を培養する培地を調製する際、遊離リン酸濃度が0.25質量%である乳成分を基本原料として培地を調製した場合における当該培地中の理論上の遊離リン酸濃度よりも低くなると、得られる乳酸菌培養物において、乳酸菌数を安定して維持することができず、これを含む飲食品において、保存による菌数の低下を招くことがある。

一方で、遊離リン酸濃度が0.50質量%である乳成分を基本原料として培地を調製した場合における当該培地中の理論上の遊離リン酸濃度よりも高くなると、得られる乳酸菌発酵物における乳酸菌数の安定化は向上するが、これを含む飲食品において、保存による凝集や沈殿など、品質の劣化を生じることがある。

[0023] また、本発明において、乳酸菌の培養に用いる培地には、前記した遊離リ

ン酸濃度が0.25質量%未満である乳成分と水溶性のリン酸塩の他に通常の乳酸菌培地に使用される成分を添加してもよい。このような成分としては、例えば、ビタミンA、ビタミンB類、ビタミンC、ビタミンE類等のビタミン類や、各種のペプチド、アミノ酸類、カルシウム、マグネシウム等の塩類等が挙げられる。これらの使用量は特に制限されない。

[0024] 本発明においては、上記のようにして調製した培地を用いて乳酸菌を培養する。培養に用いる乳酸菌としては、通常、食品製造に使用されるものであれば特に限定されず、例えば、ラクトバチルス・カゼイ (*Lactobacillus casei*)、ラクトバチルス・アシドフィルス (*Lactobacillus acidophilus*)、ラクトバチルス・クレモリス (*Lactobacillus cremoris*)、ラクトバチルス・ヘルベティカス (*Lactobacillus helveticus*)、ラクトバチルス・サリバリウス (*Lactobacillus salivarius*)、ラクトバチルス・ガセリ (*Lactobacillus gasseri*)、ラクトバチルス・ファーメントム (*Lactobacillus fermentum*)、ラクトバチルス・ユーグルティ (*Lactobacillus yoghurtii*)、ラクトバチルス・デルブルッキィー サブスピーシーズ、ブルガリカス (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)、ラクトバチルス・デルブルッキィー サブスピーシーズ、デルブルッキィー (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*)、ラクトバチルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*) 等のラクトバチルス属細菌、ストレプトコッカス・サーモフィルス (*Streptococcus thermophilus*) 等のストレプトコッカス属細菌、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ、ラクチス (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*)、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ、クレモリス (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*)、ラクトコッカス・プランタラム (*Lactococcus plantarum*)、ラクトコッカス・ラフィノラクチス (*Lactococcus raffinolactis*) 等のラクトコッカス属細菌、エンテロコッカス・フェカーリス (*Enterococcus faecalis*)、エンテロコッカス・フェシウム (*Enterococcus faecium*) 等のエンテロコッカス属細菌を挙げることができる。

[0025] これら乳酸菌の培養条件は、一般的に乳酸菌培養の最適な条件に従って行

えばよく、特に限定されない。例えば、30～40℃程度の温度で、1～7日間程度でよい。また、このときの培養条件としては、静置、攪拌、振盪、通気等から用いる乳酸菌の培養に適した方法を適宜選択して行えばよい。

[0026] 本発明の培養方法により得られる培養物は、これをそのまま或いは殺菌して飲食品、化粧品、医薬品等の用途に使用することが可能である。その際、培養物を単独で用いてもよいが、適宜の成分と混合してもよく、また、培養物から遠心分離等の手段を用い、菌体を回収・洗浄して用いてもよい。更に、本発明の培養方法は、乳酸菌が産生する菌体酵素を製造する際にも適用することができる。

[0027] 本発明の培養方法により得られる培養物を飲食品等として用いる場合、その形態としては、プレーンタイプ、フレーバードタイプ、フルーツタイプ、甘味タイプ、ソフトタイプ、ドリンクタイプ、固形（ハード）タイプ、フローゼンタイプ等の発酵乳、乳酸菌飲料、ケフィア、チーズ等とすることができる。

[0028] また、飲食品として使用する際に、培養物に混合する成分としては、シロップなどの甘味料の他、それ以外の各種食品素材、例えば、各種糖質、増粘剤、乳化剤、各種ビタミン剤等の任意成分を配合することができる。これらの食品素材として具体的なものは、ショ糖、グルコース、フルクトース、パラチノース、トレハロース、ラクトース、キシロース、麦芽糖等の糖質、ソルビトール、キシリトール、エリスリトール、ラクチトール、パラチニット、還元水飴、還元麦芽糖水飴等の糖アルコール、アスパルテーム、ソーマチン、スクラロース、アセスルファムK、ステビア等の高甘味度甘味料、寒天、ゼラチン、カラギーナン、グァーガム、キサンタンガム、ペクチン、ローカストビーンガム、ジェランガム、カルボキシメチルセルロース、大豆多糖類、アルギン酸プロピレングリコール等の各種増粘（安定）剤、ショ糖脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、レシチン等の乳化剤、クリーム、バター、サワークリーム等の乳脂肪、クエン酸、乳酸、酢酸、リンゴ酸、酒石酸、グルコン酸

等の酸味剤、ビタミンA、ビタミンB類、ビタミンC、ビタミンE類等の各種ビタミン類、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、鉄、マンガン等のミネラル分、ヨーグルト系、ベリー系、オレンジ系、花梨系、紫蘇系、シトラス系、アップル系、ミント系、グレープ系、アプリコット系、ペア、カスタードクリーム、ピーチ、メロン、バナナ、トロピカル、ハーブ系、紅茶、コーヒー系等のフレーバー類を挙げることができる。

[0029] 本発明の培養方法を用いた飲食品の製造は、常法により行えば良く、特に制限されるものではない。例えば、予め測定した遊離リン酸濃度が0.25質量%未満である脱脂粉乳に、所定の条件を満足するようにリン酸塩を添加して培地を調製して殺菌処理し、これに乳酸菌を接種培養して均質化処理して発酵乳を得る。次いで、別途調製したシロップ溶液を添加混合し、更にフレーバーを添加して最終製品に仕上げればよい。

[0030] 以下、実施例および試験例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例等に何ら制約されるものではない。なお、パーセント（%）とあるのは特に断らない限りすべて質量基準である。

実施例

[0031] （試験例1）

（乳成分の成分分析）

オーストラリアを原産国とするMurray Goulburn社製の脱脂粉乳（以下、単に「試料」という。）について、以下により遊離リン酸濃度とタンパク質含有量を測定した。

[0032] （1）遊離リン酸濃度の測定

本願明細書中、段落[0015]に記載の方法に従って測定を行った。

その結果、遊離リン酸濃度は、0.23%であった。

[0033] （2）タンパク質含有量の測定

以下の分析値を用いて本願明細書中、段落[0017]に記載の式1により算出した。

脱脂粉乳中のタンパク質含有量：32.8%

水分含有量：3.8%、脂質含有量：0.6%

その結果、無脂乳固形分当たりのタンパク質含有量は、34.3%／SNFであった。

[0034] (実施例1)

(乳酸菌培養物の調製)

試験例1の試料を用いて、表1に示すと通りの組成で脱脂粉乳、リン酸塩、ぶどう糖を水に溶解し培地を調製した。なお、リン酸塩の使用量は、リン酸塩中のリン酸が全て遊離リン酸とした場合の濃度とした。(以下、同様とする。)この培地を100℃で90分間殺菌し、次いで、ラクトバチルス・カゼイを0.5%接種し、pH3.6程度になるまで培養して得た乳酸菌培養物の培養終了時のpHと乳酸菌数を測定した。また、この培養物600mLにぶどう糖果糖液糖400mL及び滅菌水1.5Lを加えて均質化し、乳酸菌飲料(実施品、比較品)を製造した。製造直後と10℃で14日間保存後のpH、乳酸菌数を測定した。その結果を下表1に示す。

[0035] [表1]

		実施品	比較品
培地組成	脱脂粉乳(試料)	16%	16%
	リン酸塩※	0.016%	—
	ぶどう糖	3%	3%
培養終了後のpH		3.57	3.57
生菌数	培養終了後	1.0×10^9	4.1×10^8
	製品化直後	2.2×10^8	9.0×10^7
	10℃14日保存後	1.1×10^8	3.2×10^7

※ リン酸水素二カリウム(50%)とリン酸二水素カリウム(50%)の混合物

[0036] 表1の結果から明らかな通り、遊離リン酸濃度が0.25%未満の乳成分(試料)のみを原料とする培地で乳酸菌を培養して得られる培養物を用いて製造した乳酸菌飲料においては、保存により乳酸菌数が大幅に低下することが確認された。これに対し、この乳成分を原料とする培地に、リン酸塩を添加することにより、培養物における乳酸菌数の増加が認められ、また、この

培養物を用いて製造した乳酸菌飲料においても乳酸菌数の安定化効果が認められた。

[0037] (実施例 2)

(乳酸菌飲料の製造)

試験例 1 の試料を用いて、表 2 に示すと通りの組成で脱脂粉乳、リン酸塩、ぶどう糖を水に溶解し培地を調製した。これらの培地を 100℃で 90 分間殺菌し、ラクトバチルス・カゼイを 0.5%接種し、pH 3.6 程度になるまで培養して得た乳酸菌培養物 (A~C) の培養終了時の pH と乳酸菌数を測定した。その結果を表 2 に示す。次に、この培養物 600 mL にぶどう糖果糖液糖 400 mL 及び滅菌水 1.5 L を加えて均質化し、65 mL 容器に充填して乳酸菌飲料 (実施品 1~3) を製造した。製造直後と 10℃で 14 日間保存後の pH、乳酸菌数を測定した。また、保存後の乳酸菌飲料については、沈殿量を目視により確認するとともに、沈殿量とホエーオフ (離水量) を測定した。その結果を表 3 に示す。

なお、目視による沈殿量の評価は、下記の指標に基づいて判定した。

[0038] 判定基準

1. 沈殿

- ++ : 非常に有り
- +: 有り
- ± : 僅かに有り (製品として問題無い程度)
- : 無し

[0039] [表2]

		A	B	C
培地組成	脱脂粉乳 (試料)	16%	16%	16%
	リン酸塩*	0.016%	0.116%	0.216%
	ぶどう糖	3%	3%	3%
培地中の遊離リン酸濃度 (理論値)		0.25%	0.375%	0.50%
培養終了後の pH		3.58	3.59	3.60
培養終了時の生菌数		1.0×10^9	1.3×10^9	1.2×10^9

※ リン酸水素二カリウム(50%)とリン酸二水素カリウム(50%)の混合物

[0040] [表3]

		実施品 1	実施品 2	実施品 3
乳酸菌培養物		A	B	C
製造直後	pH	3.78	3.78	3.79
	生菌数	2.0×10^8	2.4×10^8	2.5×10^8
10℃ 14日 保存後	pH	3.56	3.57	3.58
	生菌数	1.2×10^8	1.3×10^8	1.2×10^8
	沈殿(目視)	±	±	±
	沈殿量 ^{注)}	0.94%	0.95%	1.03%
ホエーオフ		6mm	6mm	6mm

[0041] 注) 沈殿量は、充填液に対する割合を次式により算出した。

$$D - C / A - C$$

D ; 容器＋沈殿物の重さ

(製品保存後の内容物を静かに捨て、1分間倒置後の沈殿物が付着した容器の重さ)

C ; 容器の重さ

A ; 容器＋充填液の重さ

[0042] 表3に示すとおり、遊離リン酸濃度が0.25%未満の乳成分を原料として用いた場合であっても、リン酸塩を添加することにより、得られる乳酸菌を含む乳酸菌飲料において、乳酸菌数を安定して維持することができる。

また、得られた乳酸菌飲料は、風味も良好で、保存後においても沈殿や分離なども生じることはなく、品質安定性にも優れていた。

請求の範囲

- [請求項1] 遊離リン酸濃度が0.25質量%未満である乳成分とリン酸塩とを含有する培地に、乳酸菌を接種することを特徴とする乳酸菌の培養方法。
- [請求項2] 前記乳成分の無脂乳固形分（SNF）あたりのタンパク質含有量が35質量%未満である、請求項1に記載の乳酸菌の培養方法。
- [請求項3] 前記リン酸塩が水溶性である、請求項1又は2に記載の乳酸菌の培養方法。
- [請求項4] 前記乳成分が脱脂粉乳である、請求項1乃至3のいずれか一項に記載の乳酸菌の培養方法。
- [請求項5] 請求項1乃至4のいずれか一項に記載の方法により得られた乳酸菌培養物を含有することを特徴とする飲食品。
- [請求項6] 発酵乳製品である請求項5に記載の飲食品。