

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6509737号
(P6509737)

(45) 発行日 令和1年5月8日(2019.5.8)

(24) 登録日 平成31年4月12日(2019.4.12)

(51) Int.Cl.			F I		
C 1 2 N	1/20	(2006.01)	C 1 2 N	1/20	A
A 2 3 C	9/123	(2006.01)	A 2 3 C	9/123	
C 1 2 N	1/00	(2006.01)	C 1 2 N	1/00	T
C 1 2 Q	1/02	(2006.01)	C 1 2 Q	1/02	Z N A
C 1 2 N	15/11	(2006.01)	C 1 2 N	15/11	Z

請求項の数 20 (全 28 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-546688 (P2015-546688)	(73) 特許権者	000006138 株式会社明治 東京都中央区京橋二丁目2番1号
(86) (22) 出願日	平成26年11月7日(2014.11.7)	(74) 代理人	100102842 弁理士 葛和 清司
(86) 国際出願番号	PCT/JP2014/079544	(72) 発明者	柏木 真理 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内
(87) 国際公開番号	W02015/068790	(72) 発明者	井上 暢子 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内
(87) 国際公開日	平成27年5月14日(2015.5.14)	(72) 発明者	内田 英明 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内
審査請求日	平成29年10月31日(2017.10.31)		
(31) 優先権主張番号	特願2013-232392 (P2013-232392)		
(32) 優先日	平成25年11月8日(2013.11.8)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		
微生物の受託番号	NPMD NITE BP-01569		
微生物の受託番号	NPMD NITE BP-01696		
微生物の受託番号	NPMD NITE BP-01697		
微生物の受託番号	IPOD FERM BP-19638		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 酸度上昇が抑制された発酵乳およびその製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a) Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1171 (NITE BP-01569)、および、(b) Streptococcus thermophilus OLS3615 (NITE BP-01696)、Streptococcus thermophilus OLS3078 (NITE BP-01697) および Streptococcus thermophilus OLS3290 (FERM BP-19638) からなる群から選択される1種または2種以上

を含む、乳酸菌スターター。

【請求項2】

酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するための、請求項1に記載の乳酸菌スターター。 10

【請求項3】

Streptococcus thermophilus OLS3615 (NITE BP-01696)。

【請求項4】

Streptococcus thermophilus OLS3078 (NITE BP-01697)。

【請求項5】

(a) Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1171 (NITE BP-01569) と、(b) Streptococcus thermophilus OLS3615 (NITE BP-01696)、Streptococcus thermophilus OLS3078 (NITE BP-01697) および Streptococcus thermophilus OLS3290 (FERM BP-19638) からなる群から選択される1種または2種以上とを含む、発酵乳。

【請求項6】

原料ミックスに、請求項 1 または 2 に記載の乳酸菌スターターを添加する工程を含む、発酵乳の製造方法。

【請求項 7】

35 ~ 45、3 ~ 5 時間のいずれかで発酵する工程を含む、請求項 6 に記載の製造方法。

【請求項 8】

発酵工程を、酸度が 0.6 以上 1.4 以下となった時点で終了する、請求項 6 または 7 に記載の製造方法。

【請求項 9】

原料ミックスの脱酸素処理工程を含む、請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載の製造方法 10

【請求項 10】

請求項 6 ~ 9 のいずれか一項に記載の製造方法で製造した発酵乳。

【請求項 11】

pH が 4.1 ~ 4.7 である、請求項 5 または 10 に記載の発酵乳。

【請求項 12】

冷蔵保存された、請求項 5、10 または 11 のいずれか一項に記載の発酵乳。

【請求項 13】

酸度の上昇が抑制された、請求項 12 に記載の発酵乳。

【請求項 14】 20

酸度が 0.6 ~ 1.4 である、請求項 5 または 10 ~ 13 のいずれか一項に記載の発酵乳。

【請求項 15】

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1171 (NITE BP-01569) と併用して酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するための Streptococcus thermophilus 菌をスクリーニングする方法であって、

(a) 脱脂粉乳培地に対し、候補となる Streptococcus thermophilus 菌を接種する工程、

(b) 前記 (a) で候補となる Streptococcus thermophilus 菌を接種した脱脂粉乳培地を、培養した後、冷却する工程、 30

(c) 前記 (b) で冷却された脱脂粉乳培地の凝集物の生成を確認する工程、および、

(d) 前記 (c) で凝集物が生成されないと確認された候補となる Streptococcus thermophilus 菌を、酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するための Streptococcus thermophilus 菌であると決定する工程

を含む、前記スクリーニング方法。

【請求項 16】

脱脂粉乳培地が、全体の 100 重量% 中に対し、脱脂粉乳が 8 ~ 12 重量% のいずれかであり、水が 92 ~ 88 重量% のいずれかである、請求項 15 に記載のスクリーニング方法。

【請求項 17】 40

脱脂粉乳培地の 100 重量% に対し、酵母エキスが 0.05 ~ 0.15 重量% のいずれかで脱脂粉乳培地に混合されてなる、請求項 16 に記載のスクリーニング方法。

【請求項 18】

候補となる Streptococcus thermophilus 菌を、脱脂粉乳培地の 100 重量% に対し、1 ~ 3 重量% のいずれかで接種する、請求項 17 に記載のスクリーニング方法。

【請求項 19】

(b) の培養が、37 ~ 45、12 ~ 24 時間のいずれかで行われる、請求項 15 ~ 18 のいずれか一項に記載のスクリーニング方法。

【請求項 20】

(b) の冷却が、1 ~ 10 で行われる、請求項 15 ~ 19 のいずれか一項に記載のス 50

クリーニング方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、酸度上昇が抑制された発酵乳およびその製造方法に関する。とくに、本発明は、新規なサーモフィラス菌 (*Streptococcus thermophilus*) のスクリーニング方法を用いて得られた有用なサーモフィラス菌および該サーモフィラス菌を用いた酸度上昇が抑制された発酵乳およびその製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

乳酸産生菌を用いて製造される発酵乳では、最終製品においても、生きた乳酸産生菌が含まれていることが多い。発酵乳の風味を保つために、最終製品は通常、冷蔵保存される。しかし、冷蔵保存時においても、生きた乳酸産生菌によって、緩やかに発酵が進み、酸度が上昇するため、長期間で一定の品質を保つことが困難である。かかる現象は、ポストアシディフィケーションまたはアフターアシディフィケーションとして、発酵乳の製造上で不可欠な酸生成と区別されている。

【0003】

冷蔵保存時における酸度の上昇が抑制された発酵乳の製造方法として、発酵後に加圧処理して、発酵乳の乳酸菌の活性を低下させる方法が提案されている（特許文献1）。

また、ストレプトコッカス・サーモフィラスの変異株を用いた、保存時における酸度上昇を抑制した発酵乳の製造方法が提案されている（特許文献2および3）。

【0004】

さらに、ラクトバチルス・ブルガリカスの酸生成抑制株と、ストレプトコッカス・サーモフィラスの粘性物生産株とをスターター乳酸菌として併用する、保存時における酸度上昇を抑制した発酵乳の製造方法が提案されている（特許文献4）。

なお、本発明において用い得る *Streptococcus thermophilus* OLS3290 については、既に単離され、フローズンヨーグルトの製造において用いることについて公知である（特許文献5）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特開平04-075555号公報

【特許文献2】特開2000-270844号公報

【特許文献3】特開2005-021050号公報

【特許文献4】特開平07-236416号公報

【特許文献5】特許第4416127号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかし、本発明者らの研究によれば、特許文献1の発明においては、発酵終了後の製品全体を高圧処理する必要があり、実用的ではない。また、特許文献2の発明においては、発酵を促進し、発酵時間の遅延を抑制するために、酵母エキス等を用いる必要があり、通常の発酵時間で達成される酸度も低いものとなっている。さらに、特許文献3の発明においては、十分な乳酸酸度となる発酵時間が8～10時間（特許文献3の図2）と、極めて長時間であり、実用的ではない。また、特許文献4の発明においては、酵母エキスを用いて調製した乳酸菌スターターを用いて、発酵乳を製造している。

【0007】

上述の通り、ポストアシディフィケーションを抑制するために、様々な方法が提案されているが、依然として、発酵促進または酸度抑制のための添加物を使用することなく、通常の発酵時間で、特別な製造工程を必要としない、冷蔵保存時における酸度の上昇を抑制

10

20

30

40

50

した発酵乳の製造方法は確立されていない。また、従来の冷蔵保存時における酸度の上昇を抑制した発酵乳の製造方法では、発酵時間が長く、発酵乳の好ましい香りが豊かでないことが多かった。

【 0 0 0 8 】

したがって、本発明の課題は、従来技術の問題点を解消し、発酵促進または酸度抑制のための添加物を使用する必要がなく、従来と同程度の発酵時間で、通常の製造工程によって、冷蔵保存時における酸度の上昇を抑制した発酵乳およびその製造方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 9 】

本発明者らは、上記の課題を解決するため、鋭意研究を重ねる中で、酸感受性を有する乳酸産生菌株を使用して、発酵乳を製造することにより、発酵を遅延させることなく、冷蔵保存中における酸度の上昇を抑制できることを見出し、既にブルガリア菌 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) の優良な菌株について見出した (特願2013-116332)。さらに、サーモフィラス菌 (*Streptococcus thermophilus*) についても優良な菌株を見出すべく、さらに研究を進めた結果、本発明を完成するに至った。

【 0 0 1 0 】

すなわち、本発明は、以下に関する。

[1] (a) 乳酸を添加して pH を 4 . 2 ~ 4 . 3 に調整した脱脂粉乳培地に接種した後、35 ~ 47 に維持した該培地において、pH の 0 . 2 が低下するまでに 15 時間以上を要する、菌学的性質を有する *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 菌、および、

(b) 脱脂粉乳培地に接種し、37 ~ 45 に 12 ~ 24 時間で培養した後、1 ~ 10 で冷却した場合において、凝集物を生成しない菌学的性質を有する *Streptococcus thermophilus* 菌を含む、乳酸菌スターター。

[2] *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 菌が、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1171 (NITE BP-01569) である、前記 [1] に記載の乳酸菌スターター。

[3] *Streptococcus thermophilus* 菌が、*Streptococcus thermophilus* OLS3615 (NITE BP-01696)、*Streptococcus thermophilus* OLS3078 (NITE BP-01697) および *Streptococcus thermophilus* OLS3290 (FERM BP-19638) からなる群から選択される 1 種または 2 種以上である、前記 [1] または [2] に記載の乳酸菌スターター。

[4] 酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するための、前記 [1] ~ [3] のいずれか一項に記載の乳酸菌スターター。

[5] *Streptococcus thermophilus* OLS3615 (NITE BP-01696)。

[6] *Streptococcus thermophilus* OLS3078 (NITE BP-01697)。

[7] *Streptococcus thermophilus* OLS3615 (NITE BP-01696) または *Streptococcus thermophilus* OLS3078 (NITE BP-01697) を含む、発酵乳。

[8] (a) *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1171 (NITE BP-01569) と、

(b) *Streptococcus thermophilus* OLS3615 (NITE BP-01696)、*Streptococcus thermophilus* OLS3078 (NITE BP-01697) および *Streptococcus thermophilus* OLS3290 (FERM BP-19638) からなる群から選択される 1 種または 2 種以上とを含む、発酵乳。

【 0 0 1 1 】

[9] 原料ミックスに、前記 [1] ~ [4] のいずれか一項に記載の乳酸菌スターターを添加する工程を含む、発酵乳の製造方法。

[10] 35 ~ 45、3 ~ 5 時間のいずれかで発酵する工程を含む、前記 [9] に記載の製造方法。

[11] 発酵工程を、酸度が 0 . 6 以上 1 . 4 以下となった時点で終了する、前記 [9]

10

20

30

40

50

または [1 0] に記載の製造方法。

[1 2] 原料ミックスの脱酸素処理工程を含む、前記 [9] ~ [1 1] のいずれか一項に記載の製造方法。

[1 3] 前記 [9] ~ [1 2] のいずれか一項に記載の製造方法で製造した発酵乳。

[1 4] pH が 4 . 1 ~ 4 . 7 である、前記 [7] 、 [8] または [1 3] のいずれか一項に記載の発酵乳。

[1 5] 冷蔵保存された、前記 [7] 、 [8] 、 [1 3] または [1 4] のいずれか一項に記載の発酵乳。

[1 6] 酸度の上昇が抑制された、前記 [1 5] に記載の発酵乳。

[1 7] 酸度が 0 . 6 ~ 1 . 4 である、前記 [7] 、 [8] または [1 3] ~ [1 6] のいずれか一項に記載の発酵乳。

【 0 0 1 2 】

[1 8] 酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するための *Streptococcus thermophilus* 菌をスクリーニングする方法であって、

(a) 脱脂粉乳培地に対し、候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を接種する工程、

(b) 前記 (a) で候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を接種した脱脂粉乳培地を、培養した後、冷却する工程、

(c) 前記 (b) で冷却された脱脂粉乳培地の凝集物の生成を確認する工程、および、

(d) 前記 (c) で凝集物が生成されないと確認された候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を、酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するための *Streptococcus thermophilus* 菌であると決定する工程

を含む、前記スクリーニング方法。

[1 9] 脱脂粉乳培地が、全体の 1 0 0 重量 % 中に対し、脱脂粉乳が 8 ~ 1 2 重量 % のいずれかであり、水が 9 2 ~ 8 8 重量 % のいずれかである、前記 [1 8] に記載のスクリーニング方法。

[2 0] 脱脂粉乳培地の 1 0 0 重量 % に対し、酵母エキスが 0 . 0 5 ~ 0 . 1 5 重量 % のいずれかで脱脂粉乳培地に混合されてなる、前記 [1 9] に記載のスクリーニング方法。

[2 1] 候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を、脱脂粉乳培地の 1 0 0 重量 % に対し、1 ~ 3 重量 % で接種する、前記 [2 0] に記載のスクリーニング方法。

[2 2] (b) の培養が、3 7 ~ 4 5 、 1 2 ~ 2 4 時間のいずれかで行われる、前記 [1 8] ~ [2 1] のいずれか一項に記載のスクリーニング方法。

[2 3] (b) の冷却が、1 ~ 1 0 で行われる、前記 [1 8] ~ [2 2] のいずれか一項に記載のスクリーニング方法。

【 発明の効果 】

【 0 0 1 3 】

本発明によれば、スターターとして好適なサーモフィラス菌 (*Streptococcus thermophilus* 菌) を、原料ミックスを用いることなく、脱脂粉乳培地 (酵母エキスを混合してもよい) に対して凝集性を有するか否かという簡便な指標により、効率的に、かつ正確にスクリーニングすることができる。

本発明のスクリーニング法によって選抜されたサーモフィラス菌は、発酵乳の製造において、原料ミックスを凝集することなく、風味のよい発酵乳を製造することができる。特に当該サーモフィラス菌を単独で用いることにより、またはブルガリア菌と組み合わせて用いることにより、冷蔵保存時における酸度の上昇を抑制した発酵乳を提供することができる。

【 0 0 1 4 】

本発明の発酵乳の提供においては、発酵の促進または酸度の上昇の抑制のための添加物の使用を必要とせず、従来と同程度の発酵時間で、特殊な製造工程を用いる必要がない。特に、脱脂粉乳培地に対して凝集性を有していない *Streptococcus thermophilus* 菌は、酸度上昇の抑制をすることができるブルガリア菌と組み合わせて用いた場合であっても、酸

10

20

30

40

50

度上昇を抑制するブルガリア菌の作用を阻害することなく、好適な発酵乳を製造することができる。

【0015】

また、本発明は、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1171 (NITE BP-01569) (以下、OLL1171株ともいう)などの酸感受性を有する乳酸産生菌株として優良なブルガリア菌と組み合わせた混合スターターとして最適なサーモフィラス菌を提供することができる。特に、発酵乳の冷蔵保存時における経時的な酸度の増大やpHの低下を抑制し、長期間に亘って、爽やかな風味と、乳酸産生菌の生菌数を保ちながらも、発酵乳の製造後の流通中または保存期間中の風味の変化を従来よりも抑制することができる。

さらに、本発明は、特に、ソフトタイプヨーグルトにおいて、風味を良好に維持しつつ、食感(ボディ感=高粘度で食べ応えがあるもの)の向上を実現することができる。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】図1は、発酵乳の滑らかさ(凝集性:凝集物の生成)の目視評価(左:滑らかさ; (凝集性なし)、右:滑らかさ; ×(凝集性あり))を示す図である。

【図2】図2は、本願発明のサーモフィラス菌(候補株:6、候補株:7、候補株:19)とOLL1171株の混合スターターで調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)と、菌株Yと菌株Bの混合スターター(比較例)で調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)の冷蔵(低温)保存後における風味の比較を示す図である。

【図3】図3は、本願発明のサーモフィラス菌(候補株19)とOLL1171株の混合スターターで調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)と、菌株Yと菌株Bの混合スターター(比較例)で調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)の製造直後における風味の比較を示す図である。

【図4】図4は、本願発明のサーモフィラス菌(候補株6)とOLL1171株の混合スターターで調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)と、菌株Yと菌株Bの混合スターター(比較例)で調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)の製造直後における風味の比較を示す図である。

【図5】図5は、本願発明のサーモフィラス菌(候補株19)とOLL1171株の混合スターターで調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)と、菌株Yと菌株Bの混合スターター(比較例)で調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)の冷蔵保存後における風味の比較を示す図である。

【図6】図6は、本願発明のサーモフィラス菌(候補株6)とOLL1171株の混合スターターで調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)と、菌株Yと菌株Bの混合スターター(比較例)で調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)の冷蔵保存後における風味の比較を示す図である。

【図7】図7は、本願発明のサーモフィラス菌(候補株19)とOLL1171株の混合スターターで調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)と、菌株Yと菌株Bの混合スターター(比較例)で調製した発酵乳(フルーツヨーグルト)の製造直後における風味の比較を示す図である。

【図8】図8は、本願発明のサーモフィラス菌(候補株19)とOLL1171株の混合スターターで調製した発酵乳(プレーンヨーグルト)と、菌株Yと菌株Bの混合スターター(比較例)で調製した発酵乳(フルーツヨーグルト)の冷蔵保存後における風味の比較を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本明細書において「発酵乳」とは、乳を発酵させたものをいい、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令(乳等省令)で定義される「発酵乳」、「乳酸菌飲料」、「乳飲料」、「ナチュラルチーズ」等を包含する。例えば、発酵乳は、乳等省令で定義される「発酵乳」、すなわち、生乳、牛乳、特別牛乳、生山羊乳、殺菌山羊乳、生めん羊乳、成分調整牛乳、低脂肪牛乳、無脂肪牛乳および加工乳などの乳またはこれと同等以上の無脂乳固形分

10

20

30

40

50

を含む乳等を、乳酸菌または酵母で発酵させ、固形状（ハードタイプ）、糊状（ソフトタイプ）または液状（ドリンクタイプ）にしたもの、または、これらを凍結したものをいう。

【0018】

発酵乳の典型例としては、ヨーグルトが挙げられる。国連食料農業機構（FAO）/世界保健機構（WHO）の定義した、国際規格にも「ヨーグルトと称される製品は、*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*の両方の菌の乳酸発酵作用により乳及び脱脂粉乳などの乳製品から作られるもので、最終製品中には前述の2つの菌が多量に生存しているもの」と規定される。本明細書において、「ヨーグルト」とは、前記のFAO/WHOの定義するヨーグルトを包含するものである。

10

【0019】

ヨーグルトは生きた乳酸産生菌を大量に含むものであるため、本発明の酸感受性を有する乳酸産生菌をヨーグルトの製造に用いることにより、発酵乳の冷蔵保存時における官能的に酸味の抑制効果が顕著に表れる。したがって、本発明において、ヨーグルト、ならびに、生菌を含む乳酸菌飲料、乳飲料およびチーズ（ナチュラルチーズ、プロセスチーズ）が発酵乳として好適である。特に、プレーンヨーグルト、ハードヨーグルト（セットタイプヨーグルト）、ソフトヨーグルト、ドリンクヨーグルトなどの冷蔵保存されるヨーグルトであることが発酵乳として好適である。

【0020】

20

以下、本発明について、発酵乳がヨーグルトである場合を中心に詳細に説明する。しかしながら、本発明は、かかる態様に限定されるものではなく、乳酸菌飲料、乳飲料およびチーズなどの態様を包含するものである。また、ヨーグルトおよびその他の態様については、本明細書の記載に基づいて、当業者が適宜改変することができる。

【0021】

本明細書において、「原料ミックス」とは、生乳、全脂乳、脱脂乳、ホエイなどの乳成分を含む液体である。ここで、生乳とは、例えば、牛乳などの獣乳をいう。原料ミックスには、生乳、全脂乳、脱脂乳、ホエイなどの乳成分の他に、その加工品（例えば、全脂粉乳、全脂濃縮乳、脱脂粉乳、脱脂濃縮乳、練乳、ホエイ粉、バターミルク、バター、クリーム、チーズ、ホエイタンパク質濃縮物（WPC）、ホエイタンパク質単離物（WPI）、 α -ラクトアルブミン（ α -La）、 β -ラクトグロブリン（ β -Lg）など）を含むことができる。

30

【0022】

なお、原料ミックスには、乳成分の他にも、豆乳、砂糖、糖類、甘味料、香料、果汁、果肉、ビタミン、ミネラル、油脂、セラミド、コラーゲン、ミルクリン脂質、ポリフェノールなどの食品、食品成分および食品添加物などを含むことができる。また、原料ミックスには、必要に応じて、ペクチン、大豆多糖類、CMC（カルボキシメチルセルロース）、寒天、ゼラチン、カラギナン、ガム類などの安定剤、増粘剤、ゲル化剤などを含むことができる。

【0023】

40

本発明において、原料ミックスには、一般的に発酵乳の製造に用いられる、上述の食品、食品成分、食品添加物および安定剤、増粘剤、ゲル化剤のみを含むことが好ましい。特に、発酵乳の食感や風味の観点から、「酵母エキス」や「キトサン」などの発酵の促進効果のある成分や酸度上昇の抑制効果のある成分を発酵乳に添加（配合）しないか、それらが発酵乳に添加する場合でも、そのような効果を発揮しない微量で添加することが望ましい。

【0024】

本発明の好ましい態様において、原料ミックスには、酵母エキスの添加量を、例えば0.01重量%以下、好ましくは0.005重量%以下、より好ましくは0.001重量%以下、さらに好ましくは0.0005重量%以下、特に好ましくは0.0001重量%以

50

下とし、最も好ましくは、酵母エキスを含まないことである。そして、本発明の好ましい態様において、発酵乳には、酵母エキスの添加量を、例えば0.01重量%以下、好ましくは0.005重量%以下、より好ましくは0.001重量%以下、さらに好ましくは0.0005重量%以下、特に好ましくは0.0001重量%以下とし、最も好ましくは、酵母エキスを含まないことである。

【0025】

また、本発明の好ましい態様において、原料ミックスには、キトサンの添加量を、例えば0.01重量%未満、好ましくは0.005重量%未満、より好ましくは0.001重量%未満、さらに好ましくは0.0005重量%未満、特に好ましくは0.0001重量%未満とし、最も好ましくは、キトサンを含まないことである。そして、本発明の好ましい態様において、発酵乳には、キトサンの添加量を、例えば0.01重量%未満、好ましくは0.005重量%未満、より好ましくは0.001重量%未満、さらに好ましくは0.0005重量%未満、特に好ましくは0.0001重量%未満とし、最も好ましくは、キトサンを含まないことである。

10

【0026】

本明細書において、「乳酸産生菌を含む」、「*Streptococcus thermophilus* OLS3615 (受託番号:NITE BP-01696)を含む」、「*Streptococcus thermophilus* OLS3078 (受託番号:NITE BP-01697)を含む」、「*Streptococcus thermophilus* OLS3290 (受託番号:FER M BP-19638)を含む」、「*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1171株 (受託番号:NITE BP-01569)を含む」などの表現は、発酵乳が当該菌(当該微生物)を含むこと、好ましくは当該菌の生菌を含むことを示す。乳酸産生菌を発酵乳のスターター菌として用いることにより、その得られた発酵乳が当該菌を含む場合だけでなく、スターター菌として用いる乳酸産生菌とは別に、乳酸産生菌を発酵前、発酵中または発酵後に添加することにより、当該菌を含む場合が挙げられる。本明細書において、「スターター菌」とは、発酵する微生物を意味し、「スターター」とは、スターター菌の培養物を意味する。

20

【0027】

本明細書において、「酸度」とは、牛乳関係法令集(乳業団体衛生連絡協議会、平成十六年三月)の56頁の「5.乳及び乳製品の酸度の測定法」による測定値であり、その詳細は以下の通りである。すなわち、本明細書において、「酸度」とは、「試料10mlに同量の炭酸ガスを含まない水を加えて希釈し、指示薬としてフェノールフタレイン液0.5mlを加えて、0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液で30秒間、微紅色の消失しない点を限度として滴定し、その滴定量から試料100g当たりの乳酸のパーセント量を求め、酸度とする。0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液1mlは、乳酸9mgに相当する。指示薬は、フェノールフタレイン1gを50%エタノールに溶かして100mlとする。」に基づいて測定された酸度をいう。

30

【0028】

一般的に、最終製品として出荷される発酵乳がヨーグルトである場合、その新鮮物(発酵の終了時点)の酸度は、0.6~0.8%程度である。発酵乳は通常、1~2週間(7~14日間)程度で冷蔵保存され得るため、発酵乳が実際に消費される際には、その冷蔵保存品(冷蔵保存の後)の酸度は、0.9~1.2%程度まで上昇し得る。このとき、発酵乳の食感や風味(特に、酸味)の観点から、発酵乳の酸度として、例えば0.6~1.1%、好ましくは0.7~0.9%、より好ましくは0.75~0.85%程度である。そこで、本発明では、発酵乳の冷蔵保存時における酸度の上昇が抑制されているため、発酵乳の新鮮物の酸度として、例えば0.6~0.9%、好ましくは0.65~0.85%、より好ましくは0.7~0.8%であり、1~2週間程度で冷蔵保存した後に、発酵乳の冷蔵保存品の酸度として、例えば0.7~1.1%、好ましくは0.75~1.0%、より好ましくは0.75~0.9%である。

40

【0029】

本明細書において、「酸度の上昇が抑制される」とは、発酵の終了時点の酸度から、一定

50

期間で冷蔵保存した場合の酸度の上昇が0.25%以下であることをいう。本発明の一態様において、発酵の終了時点から1週間(7日間)の経過時点まで冷蔵(10℃)保存した場合における当該1週間(7日間)後の酸度の変化(上昇)は、例えば0.15%以下、好ましくは0.13%以下、より好ましくは0.11%以下、さらに好ましくは0.10%以下、特に好ましくは0.09%以下である。このとき、酸度の変化(上昇)の下限值は、特に限定されないが、例えば0.02%である。

【0030】

本発明の一態様において、発酵の終了時点から2週間(14日間)の経過時点まで冷蔵(10℃)保存した場合における当該2週間(14日間)後の酸度の変化(上昇)は、例えば0.25%以下、好ましくは0.23%以下、より好ましくは0.21%以下、さらに好ましくは0.20%以下、特に好ましくは0.19%以下である。このとき、酸度の変化(上昇)の下限值は、特に限定されないが、例えば0.05%である。

10

【0031】

本発明の一態様において、発酵の終了時点から1週間(7日間)の経過時点まで冷蔵(10℃)保存した場合における当該1週間(7日間)目の発酵乳の酸度は、例えば0.6~0.95%、好ましくは0.65~0.9%、より好ましくは0.7~0.85%、さらに好ましくは0.75~0.85%、特に好ましくは0.8~0.85%である。本発明の一態様において、発酵の終了時点から2週間(14日間)の経過時点まで冷蔵(10℃)保存した場合における当該2週間(14日間)目の発酵乳の酸度は、例えば0.7~1.05%、好ましくは0.75~1.0%、より好ましくは0.8~0.95%、さらに好ましくは0.85~0.95%、特に好ましくは0.9~0.95%である。

20

【0032】

本明細書において、「冷蔵保存」とは、10℃以下の低温における保存をいい、典型的には5~10℃における保存をいう。一般的に、最終製品として出荷される発酵乳がヨーグルトである場合、その新鮮物(発酵の終了時点)のpHは、4.0~5.0程度である。このとき、発酵乳の食感や風味(特に、酸味)の観点から、発酵乳のpHは、例えば4.0以上、好ましくは4.1以上、より好ましくは4.2以上である。そこで、本発明では、発酵乳の冷蔵保存時における酸度の上昇が抑制されているため、発酵乳の新鮮物のpHは、例えば4.0~5.0、好ましくは4.1~4.7、より好ましくは4.2~4.6であり、1~2週間程度で冷蔵保存した後に、発酵乳の冷蔵保存品のpHは、例えば4.0~5.0、好ましくは4.1~4.7、より好ましくは4.2~4.6である。

30

【0033】

本発明の一態様において、発酵の終了時点から1週間(7日間)の経過時点まで冷蔵(10℃)保存した場合における当該1週間(7日間)のpHの変化(低下)は、例えば0.35以下、好ましくは0.32以下、より好ましくは0.3以下、さらに好ましくは0.27以下、特に好ましくは0.25以下である。酸度の変化(低下)の下限值は、特に限定されないが、例えば0.02である。

【0034】

本発明の一態様において、発酵の終了時点から2週間(14日間)の経過時点まで冷蔵(10℃)保存した場合における当該2週間(14日間)のpHの変化(低下)は、例えば0.5以下、好ましくは0.47以下、より好ましくは0.45以下、さらに好ましくは0.42以下、特に好ましくは0.4以下である。このとき、pHの変化(低下)の下限值は、特に限定されないが、例えば0.05である。

40

【0035】

本発明の一態様において、発酵の終了時点から1週間(7日間)の経過時点まで冷蔵(10℃)保存した場合における当該1週間(7日間)目の発酵乳のpHは、例えば4.0~5.0、好ましくは4.1~4.8、より好ましくは4.2~4.6、さらに好ましくは4.3~4.6、特に好ましくは4.4~4.6である。本発明の一態様において、発酵の終了時点から2週間(14日間)の経過時点まで冷蔵(10℃)保存した場合における当該2週間(14日間)目の発酵乳のpHは、例えば4.0~5.0、好ましくは4.

50

1 ~ 4 . 8、より好ましくは4 . 2 ~ 4 . 6、さらに好ましくは4 . 3 ~ 4 . 6、特に好ましくは4 . 4 ~ 4 . 6である。

【0036】

本発明の一態様において、経時的な酸度の変化やpHの変化が上記の範囲内であれば、長期間に亘って、発酵乳を所定の品質（特に、所定の風味）に管理（維持）することができると共に、発酵乳の賞味期限を十分に延長することができる。

【0037】

本明細書において、「乳酸産生菌」とは、乳酸を産生する微生物をいい、Lactobacillus属、Streptococcus属、Lactococcus属、Leuconostoc属およびPediococcus属などに属する乳酸菌、ならびにBifidobacterium属が挙げられる。ここで、乳酸産生菌として、好ましくは、ヨーグルトの製造に必須である、ラクトバチルス・ブルガリカス（Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus、本明細書において、「ブルガリア菌」、「L. bulgaricus」ともいう）、および、ストレプトコッカス・サーモフィラス（Streptococcus salivarius subsp. thermophilus、本明細書において、「サーモフィラス菌」、「S. thermophilus」ともいう）であり、特に好ましくは、ヨーグルトの製造において、乳酸を多く産生する、ブルガリア菌（L. bulgaricus）である。

【0038】

本発明に用いることができる酸度上昇を抑制するブルガリア菌に関し、本発明者らは既に、特願2013-116332において検討しており、「乳酸を添加してpHを4 . 2 ~ 4 . 3に調整した脱脂粉乳培地に接種した後、35 ~ 47 に維持した該培地において、pHの0 . 2が低下するまでに15時間以上を要する、菌学的性質を有するLactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus菌」を選択して用いることによって、発酵乳の冷蔵保存時における酸度の上昇を抑制することができることを見出している。このような性質を有するブルガリア菌としては、Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1171（NITE BP-01569）（以下、OLL1171株ともいう）などが挙げられる。

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus OLL1171株は、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室）に、2013年3月13日付、受託番号：NITE BP-01569として国際寄託されている。

【0039】

ここで、L. bulgaricus OLL1171は、次のような科学的な性質（形態的、培地上の特徴、生理学的な性質など）を有する。

(a) 形態的な性質

培地（BL(+) Agar、Nissui）上のコロニー性状：基本的に円形（やや多形）、白色～グレー、Smooth型（一部：rough型）、扁平状

(b) 生理学的な性質

菌形態：桿菌、 グラム染色：陽性、 乳酸発酵形式：ホモ乳酸発酵、 好気的な発育：+

【0040】

(c) その他、当該微生物を特徴付ける性質

16sRNA配列ではsubsp.以下の亜種は区別できないため、groEL配列解析をdelbrueckiiの4亜種（delbrueckii, bulgaricus, lactis, indicus）の同定に活用し、以下の配列のものをOLL1171株の同定に活用することができる。

groEL配列（OLL1171株）

AAAGGCCACCAAAGCAGCCGTTGACCAATTGCACAAGAACAGCCACAAAGTTTCCAGCCGGGACCAAATTGCCAAGTTGCTTCAATCTCAAGTGCTTCAAAGGAAATCGGCGACTTGATCGCTGAAGCCATGGAAAAGGTGGCAAGGACGGTGTATCACCATTTGAAGACTCCCGCGGGATCGAAACTGAACTGAGCGTGGTTGAAGGGATGCAATTCCAGCCGCGGCTACCTGTCCCAATACATGTTAACGGACAACGACAAGATGGAAGCTGACTTGGAAAACCCATACATCTTGATCACTGACAAGAAGATTTCCAACATCCAGGACATCTTGCCAATGTTGCAGGAAATCGTGCAAC（配列番号：1）

【0041】

また、*L. bulgaricus* OLL1171は、発酵乳の酸度上昇の抑制の特性を有する。

本発明に用いることができる脱脂粉乳培地に対して凝集性を有していないサーモフィラス菌は、「脱脂粉乳培地（酵母エキスを混合してもよい）に接種し、37～45℃に12～24時間で培養した後、1～10℃で冷却（好ましくは、5～15時間冷却）した場合において、凝集物を生成しない菌学的性質を有する」、より好ましくは「脱脂粉乳培地（酵母エキスを混合してもよい）に接種し、43℃に18時間で培養した後、4℃に8時間で冷却した場合において、凝集物を生成しない菌学的性質を有する」*Streptococcus thermophilus* 菌である。このような性質を有するサーモフィラス菌としては、*Streptococcus thermophilus* OLS3615（NITE BP-01696）（以下、OLS3615株ともいう）、*Streptococcus thermophilus* OLS3078（NITE BP-01697）（以下、OLS3078株ともいう）または *Streptococcus thermophilus* OLS3290（FERM BP-19638）（以下、OLS3290株ともいう）などが挙げられる。

10

【0042】

Streptococcus thermophilus OLS3615（NITE BP-01696）は、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室）に、2013年8月23日付、受託番号：NITE BP-01696として国際寄託されている。

【0043】

ここで、*S. thermophilus* OLS3615は、次のような科学的な性質（形態的、培地上の特徴、生理学的な性質など）を有する。

20

（a）形態的な性質

培地（M17 Agar、BD）上のコロニー性状：円形、白色（半透明）、Smooth型、半球状

（b）生理学的な性質

菌形態：球菌、 グラム染色：陽性、 乳酸発酵形式：ホモ乳酸発酵、 好氣的発育：

+

【0044】

（c）その他、当該微生物を特徴付ける性質

16s rRNA遺伝子塩基配列情報

TGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTAGAACGCTGAAGAGAGGAGCTTGCTCTTCTTGGATGAGTTGCGAACGGGTGAGT
AACGCGTAGGTAACCTGCCTTGTAGCGGGGATAACTATTGGAAACGATAGCTAATACCGCATAACAATGGATGACACAT
GTCATTTATTTGAAAGGAGCAATTGCTCCACTACAAGATGGACCTGCGTTGTATTAGCTAGTAGGTGAGGTAATGGCTCA
CCTAGGCGACGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGGCAACCCTGACCGACAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTTCGGATCGTA
AAGCTCTGTTGTAAGTCAAGAACGGGTGTGAGAGTGGAAAGTTCACACTGTGACGGTAGCTTACCAGAAAGGGACGGCTA
ACTACGT（配列番号：2）

30

【0045】

Streptococcus thermophilus OLS3078（NITE BP-01697）は、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室）に、2013年8月23日付、受託番号：NITE BP-01697として国際寄託されている。

40

【0046】

ここで、*S. thermophilus* OLS3078は、次のような科学的な性質（形態的、培地上の特徴、生理学的な性質など）を有する。

（a）形態的な性質

培地（M17 Agar、BD）上のコロニー性状：円形、白色（半透明）、Smooth型、半球状

（b）生理学的な性質

菌形態：球菌、 グラム染色：陽性、 乳酸発酵形式：ホモ乳酸発酵、 好氣的発育：

+

【0047】

（c）その他、当該微生物を特徴付ける性質

50

16s RNA遺伝子塩基配列情報

TGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTAGAACGCTGAAGAGAGGAGCTTGCTCTTCTTGGATGAGTTGCGAACGGGTGAGT
AACGCGTAGGTAACCTGCCTTGTAGCGGGGATAACTATTGGAAACGATAGCTAATACCGCATAACAATGGATGACACAT
GTCATTTATTTGAAAGGAGCAATTGCTCCACTACAAGATGGACCTGCGTTGTATTAGCTAGTAGGTGAGGTAATGGCTCA
CCTAGGCGACGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGGGCAACCCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGTTTTTCGGATCGTA
AAGCTCTGTTGTAAGTCAAGAACGGGTGTGAGAGTGGAAAGTTCACACTGTGACGGTAGCTTACCAGAAAGGGACGGCTA
ACTACGT (配列番号 : 3)

【 0 0 4 8 】

Streptococcus thermophilus OLS3290 (FERM BP-19638) は、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許生物寄託センター (日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 120号室) に、2004年1月19日 (国内寄託日) に寄託し、2013年9月6日付に国際寄託へ移管し、受託番号 : FERM BP-19638として国際寄託されている。

【 0 0 4 9 】

ここで、*S. thermophilus* OLS3290は、次のような科学的な性質 (形態的、培地上の特徴、生理学的な性質など) を有する。

(a) 形態的な性質

培地 (M17 Agar、BD) 上のコロニー性状 : 円形、白色 (半透明)、Smooth型、半球状

(b) 生理学的な性質

菌形態 : 球菌、グラム染色 : 陽性、乳酸発酵形式 : ホモ乳酸発酵、好氣的発育 : +

【 0 0 5 0 】

(c) その他、当該微生物を特徴付ける性質

16s RNA遺伝子塩基配列情報

TGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTAGAACGCTGAAGAGAGGAGCTTGCTCTTCTTGGATGAGTTGCGAACGGGTGAGT
AACGCGTAGGTAACCTGCCTTGTAGCGGGGATAACTATTGGAAACGATAGCTAATACCGCATAACAATGGATGACACAT
GTCATTTATTTGAAAGGAGCAATTGCTCCACTACAAGATGGACCTGCGTTGTATTAGCTAGTAGGTGAGGTAATGGCTCA
CCTAGGCGACGATACATAGCCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGGGCAACCCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGTTTTTCGGATCGTA
AAGCTCTGTTGTAAGTCAAGAACGGGTGTGAGAGTGGAAAGTTCACACTGTGACGGTAGCTTACCAGAAAGGGACGGCTA
ACTACGT (配列番号 : 4)

【 0 0 5 1 】

本発明の発酵乳の製造方法は、従来の発酵乳の製造工程を採用することができるが、その好ましい態様を以下に説明する。

【 0 0 5 2 】

本発明の発酵乳の製造方法は、原材料を混合 (調合) する、原料ミックスの調合工程を含む。原料ミックスの調合工程では、発酵乳を製造する際に用いられる通常の条件を適宜採用すればよい。さらに、本発明の発酵乳の製造方法は、従来の方法と同様に、原料ミックスの (加熱) 殺菌工程、原料ミックスの冷却工程、スターターの添加工程、発酵工程、発酵乳の冷却工程を含み、この順番で含むことが望ましい。なお、これらの工程では、発酵乳を製造する際に用いられる通常の条件を適宜採用すればよい。

【 0 0 5 3 】

本発明の発酵乳の製造方法は、原料ミックスの均質化工程を含んでもよい。本発明の発酵乳の製造方法は、原料ミックスの調合工程と同時やその後、原料ミックスの殺菌工程の前や後、原料ミックスの殺菌工程の後の冷却工程と同時やその前や後、発酵工程の後、発酵工程の後の冷却工程と同時やその前や後などの順番で、原料ミックスの均質化工程を含ませることができる。そして、本発明の発酵乳の製造方法は、原料ミックスの均質化工程を一回または複数回で含ませることができる。そして、原料ミックスの均質化工程では、ホモゲナイザーなどを用いた場合には、均質化の圧力を、例えば 1 ~ 100 MPa、好ましくは 5 ~ 50 MPa、より好ましくは 8 ~ 30 MPa、さらに好ましくは 10 ~ 20 MPa として処理する。

10

20

30

40

50

【0054】

本発明の発酵乳の製造方法は、原料ミックスを脱酸素処理する脱酸素処理工程を含んでもよい。脱酸素処理工程では、原料ミックスに存在している酸素（溶存酸素濃度）を低減または除去する。原料ミックスの溶存酸素濃度（DO）の低減方法（脱酸素方法）は、例えば、窒素ガス、ヘリウム、ネオン、アルゴン、キセノンなどの不活性ガスによるガス置換処理、酸素透過膜による膜分離処理、低圧や真空による脱気処理などを用いることができる。脱酸素処理工程では、原料ミックスの溶存酸素濃度を、例えば5 ppm以下、好ましくは3 ppm以下、より好ましくは2 ppm以下、さらに好ましくは1 ppm以下となるまで低減または除去することとなる。

【0055】

本発明の発酵乳の製造方法は、原料ミックスの調合工程と同時やその後、原料ミックスの均質化工程の後、原料ミックスの殺菌工程の前や後、原料ミックスの冷却工程と同時やその前や後、スターターの添加工程と同時やその前や後、発酵工程と同時やその前や後、発酵乳の冷却工程と同時やその前や後などの順番で、脱酸素処理工程を含ませることができる。そして、本発明の発酵乳の製造方法は、脱酸素処理工程を一回または複数回で含ませることができる。

【0056】

脱酸素処理工程では、発酵工程の開始時において、原料ミックスの溶存酸素濃度を低減することによって、発酵時間を短縮することができる。さらに、発酵乳の冷蔵保存時における酸度上昇の抑制効果を高めることもできる。そこで、発酵工程の開始時において、原料ミックスの溶存酸素濃度が低減された状態で維持されていることが重要であることから、脱酸素処理工程は、スターターの添加工程と同時や直前や直後、発酵工程と同時や直前で含ませることが望ましい。

【0057】

本発明の発酵乳の製造方法は、前記の通り、スターターの添加工程を含む。スターターは、酸感受性を有する乳酸産生菌の単独で培養した単独スターターであっても、他の微生物と混合して培養した混合スターターであってもよい。本発明では、酸感受性を有する乳酸産生菌以外の微生物をさらなるスターター菌として用いることができる。

【0058】

乳酸産生菌を培養する成分として、原料ミックスに含まれる成分を用いることが好ましく、原料ミックスに含まれる成分のみを用いることがより好ましい。具体的には、生乳、全脂乳、脱脂乳、全脂粉乳、脱脂粉乳、全脂濃縮乳、脱脂濃縮乳、ホエイ、ホエイ粉、バターミルク、バター、クリーム、チーズ、ホエイタンパク質濃縮物（WPC）、ホエイタンパク質単離物（WPI）、 α -ラクトアルブミン（ α -La）、 β -ラクトグロブリン（ β -Lg）、グリコマクロペプチドなどを用いることが好ましく、生乳、殺菌乳、脱脂乳、脱脂粉乳、全脂粉乳、全脂濃縮乳および/または脱脂濃縮乳を用いることがより好ましい。

【0059】

乳酸産生菌を培養する増殖促進剤として、酵母エキス、ミートエキスなどの抽出物を、スターター菌を培養するための培地に添加することができる。しかしながら、発酵乳の風味の観点から、発酵乳の製造時において、これらの成分が高濃度で原料ミックスに添加されることは好ましくない。したがって、スターターには、増殖促進剤の添加量を、例えば0.1重量%未満、好ましくは0.05重量%未満、より好ましくは0.01重量%未満、さらに好ましくは0.005重量%未満、特に好ましくは0.001重量%未満とし、最も好ましくは増殖促進剤を含まないことである。

【0060】

スターターにおける乳酸産生菌の菌数は、例えば $10^5 \sim 10^{13}$ cfu/mL、好ましくは $10^6 \sim 10^{12}$ cfu/mL、より好ましくは $10^7 \sim 10^{11}$ cfu/mL、さらに好ましくは $10^8 \sim 10^{10}$ cfu/mLである。

【0061】

原料ミックスには、スターターの添加量を、例えば1～10重量%、好ましくは1～8重量%、より好ましくは2～6重量%、さらに好ましくは2～4重量%とする。なお、本発明において、原料ミックスには、スターターを常法に従って添加することができる。

【0062】

本発明の発酵乳の製造方法は、前記の通り、発酵工程を含む。本発明では、風味と食感の良好な発酵乳を効率的に得る観点から、発酵温度を、例えば30～50、好ましくは35～47、より好ましくは37～45、さらに好ましくは40～43とする。一方、原料ミックスの脱酸素処理工程を含む場合には、風味と食感の良好な発酵乳を効率的に得る観点からも、比較的低温で発酵することが望ましいため、発酵温度を、例えば28～47、好ましくは30～45、より好ましくは32～43、さらに好ましくは35～40とする。

10

【0063】

本発明では、風味と食感の良好な発酵乳を効率的に得る観点から、発酵時間を、例えば1～48時間、好ましくは2～24時間、より好ましくは3～10時間、さらに好ましくは3～6時間、特に好ましくは3～5時間とする。一方、原料ミックスの脱酸素処理工程を含む場合には、風味と食感の良好な発酵乳を効率的に得る観点からも、比較的短時間で発酵することが望ましいため、発酵時間を、例えば1～36時間、好ましくは1～12時間であり、より好ましくは2～8時間、さらに好ましくは2～5時間、特に好ましくは2～4時間とする。

【0064】

20

発酵工程では、風味と食感の良好な発酵乳を得る観点から、発酵乳の酸度として、例えば0.6～1.4%、好ましくは0.6～1.0%、より好ましくは0.65～1.0%、さらに好ましくは0.65～0.95%、とくに好ましくは0.7～0.9%、とりわけ好ましくは0.75～0.85%となった時点で終了する。また、発酵工程では、風味と食感の良好な発酵乳を得る観点から、発酵乳のpHとして、例えば4.15～4.75、好ましくは4.2～4.7、より好ましくは4.25～4.65、さらに好ましくは4.3～4.6となった時点で終了する。

【0065】

本発明の発酵乳の製造方法は、前記の通り、発酵乳の冷却工程を含むことができる。発酵乳の冷却工程では、発酵乳を発酵温度（例えば43）から所定の低温（例えば10）に低下させる。そして、発酵乳の冷却工程では、発酵乳の冷却速度として、例えば1～60分間、好ましくは1～30分間、より好ましくは1～10分間、さらに好ましくは1～5分間で、10以下まで冷却させる。このとき、発酵乳の冷却工程において、酸生成を可能な限り少なくするため、冷却速度として速いことが望ましい。

30

【0066】

本発明の発酵乳の製造方法は、発酵乳のカードの破碎工程および/または発酵乳の均質化工程を含むことができる。発酵乳のカードの破碎工程では、例えば、発酵乳に攪拌力を加えるなどして、発酵乳に含まれるカゼインの粒子（カードの固形成分）をホエイに細かく分散させて、発酵乳の組織を微粒化させる。発酵乳の均質化工程では、例えば、発酵乳に圧力を加えながら、発酵乳を狭い流路から押し出すなどして、発酵乳に含まれるカゼインの粒子（カードの固形成分）をホエイに細かく分散させて、発酵乳の組織を微粒化させることとなる。

40

【0067】

本発明の発酵乳の製造方法は、発酵工程の後、発酵乳の冷却工程と同時やその前や後などの順番で、発酵乳のカードの破碎工程および/または発酵乳の均質化工程を含ませることができる。そして、発酵乳のカードの破碎工程では、攪拌翼付きのタンクやスタティックミキサーなどを用いることができる。発酵乳の均質化工程では、ホモゲナイザーなどを用いた場合には、均質化の圧力として、例えば1～100MPa、好ましくは5～50MPa、より好ましくは8～30MPa、さらに好ましくは10～20MPaで処理される。なお、発酵乳のカードの破碎工程は、前発酵型の発酵乳のソフトタイプヨーグルトやド

50

リンクタイプヨーグルトに用いられ、発酵乳の均質化工程は、主に前発酵型の発酵乳のリンクタイプヨーグルトに用いられる。

【0068】

本発明の発酵乳の製造方法は、風味物質、酸味料、栄養強化物質、香料、安定剤などを原料ミックスおよび/または発酵乳（主に、新鮮物）と混合させる他成分の添加工程を含むことができる。他成分の添加工程では、例えば、風味物質（砂糖、高甘味度甘味料、液糖等の甘味料、果物や野菜などの果肉や果汁、ジャム、ソース、プレパレーションなど）、酸味料（クエン酸、乳酸など）、栄養強化物質（ビタミン、ミネラル、不溶性塩類（リン酸カルシウム、炭酸カルシウム、乳清カルシウムなど）など）、香料（フレーバー）、安定剤（ペクチン、カルボキシメチルセルロース（CMC）、大豆多糖類など）などを含んだ流動性のあるトロミ状や液状の溶液を発酵乳と混合させる。

10

【0069】

本発明の発酵乳の製造方法は、前発酵型の発酵乳（ソフトタイプヨーグルト、ドリンクタイプヨーグルト）の場合には、発酵工程の後、発酵乳の冷却工程と同時やその前や後、均質化工程の前や後などの順番で、他成分の添加工程を含ませることができる。また、本発明の発酵乳の製造方法は、後発酵型の発酵乳（ハードタイプヨーグルト、セットタイプヨーグルト）の場合には、原料ミックスの調合工程と同時やその後、原料ミックスの殺菌工程の前や後、原料ミックスの殺菌工程の後の冷却工程と同時やその前や後などの順番で、他成分の添加工程を含ませることができる。ただし、発酵乳の製造工程において、他成分の温度の変化を抑制する観点からは、他成分の添加工程は、前発酵型の発酵乳に用い

20

【0070】

本発明の好ましい態様において、原料ミックスには、安定剤（ペクチン、カルボキシメチルセルロース（CMC）、大豆多糖類など）の添加量として、例えば0.05～1.0重量%、好ましくは0.05～0.8重量%、より好ましくは0.1～0.5重量%、さらに好ましくは0.1～0.4重量%、特に好ましくは0.1～0.3重量%で含み、最も好ましくは、安定剤を含まないことである。そして、本発明の好ましい態様において、発酵乳には、安定剤の添加量として、例えば0.05～1.0重量%、好ましくは0.05～0.8重量%、より好ましくは0.1～0.5重量%、さらに好ましくは0.1～0.4重量%、特に好ましくは0.1～0.3重量%で含み、最も好ましくは、安定剤を

30

【0071】

本明細書において、「酸感受性を有する乳酸産生菌」とは、酸性条件下（特にpHが4.5以下）における活性が低い、乳酸産生菌をいう。具体的には、酸感受性を有する乳酸産生菌は、pHが4.5以下の発酵乳において、乳酸を産生する能力が低い、乳酸産生菌である。

【0072】

pHの変化は、常法に従って測定することができる。具体的には、pHメーター（市販品）を用いて継続的に測定することが好ましい。pHの変化は、例えば3時間以上、好ましくは5時間以上、より好ましくは10時間以上、さらに好ましくは24時間以上で継続的に測定することとなる。

40

【0073】

本発明の *Streptococcus thermophilus* 菌は、酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するために有用であり、特に、酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するためのブルガリア菌と組み合わせて用いても、ブルガリア菌の酸度上昇抑制作用を阻害することがなく、粘度が比較的が高く、食感の良好な発酵乳を製造することができる。

本発明の *Streptococcus thermophilus* 菌は、脱脂粉乳培地（脱脂粉乳：10重量%、水：90重量%）の100重量%（酵母エキス0.1重量%を混合してもよい）に対し、2重量%で接種し、典型的には、37～45 に12～24時間で培養した後、凍結しない温度（約1 ）～10 に冷却（好ましくは、5～15時間冷却）した場合、好ましく

50

は43 に18時間で培養した後、4 に8時間で冷却した場合において、凝集物を生成しない菌学的性質を有する。

【0074】

本発明の *Streptococcus thermophilus* 菌は、典型的には、以下の(a)~(d)の工程によりスクリーニング(選抜)することができる。

(a) 脱脂粉乳培地(脱脂粉乳:8~12重量%のいずれか、水:92~88重量%のいずれか)の100重量%(酵母エキス0.05~0.15重量%のいずれかを混合してもよい)に対し、候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を1~3重量%のいずれかで接種する工程、

(b) 前記(a)で候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を接種した混合液を、典型的には、37~45 に12~24時間で、好ましくは、40~45 のいずれかにて12~24時間のいずれかで培養した後、凍結しない温度(約1)~10 のいずれかにて冷却、より好ましくは1~7 のいずれかにて冷却する工程(かかる冷却の時間は、とくに限定されないが、例えば、5~15時間、好ましくは8時間程度である)、

(c) 前記(b)で冷却された混合液の凝集物の生成(凝集性)を(目視で)確認する工程、

(d) 前記(c)で凝集物が生成されない(凝集性がない)と確認された候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を、酸度上昇が抑制された発酵乳を製造するための *Streptococcus thermophilus* 菌であると決定する工程。

【0075】

このとき、前記(a)の工程において、脱脂粉乳培地の組成では、脱脂粉乳の含量として9~11重量%のいずれかが好ましく、10重量%が特に好ましく、水の含量として91~89重量%のいずれかが好ましく、90重量%が特に好ましい。そして、脱脂粉乳培地に酵母エキスを混合する混合液の組成では、脱脂粉乳培地の100重量%に対し、酵母エキスの含量として0.07~0.13重量%のいずれかが好ましく、0.1重量%が特に好ましい。

【0076】

また、前記(b)の工程において、候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を接種した混合液の培養条件では、41~44 のいずれかにて15~20時間のいずれかで保持することが好ましく、43 に18時間で保持することが特に好ましい。そして、候補となる *Streptococcus thermophilus* 菌を接種した混合液を培養した後の冷却条件では、2~6 のいずれかにて6~10時間のいずれかで保持することが好ましく、4 に8時間で保持することが特に好ましい。

【0077】

以下、本発明を実施例に基づいて、更に詳細に説明するが、本発明は、これらの実施例に限定されるものではなく、本発明の技術的な思想を逸脱しない範囲で、種々の変更が可能である。なお、本明細書において、特に明示しない場合には、%は重量%を意味する。また、数値範囲を示した場合は、特に明示しない限り、上限および下限を含めた範囲内のいずれかの値を選択し得ることを示しており、例えば、「1~100」と表記した場合、1から100のいずれかの値を選択し得ることを示している。

【実施例】

【0078】

[実施例1] サーマフィラス菌の選抜(1)

(a) サーマフィラス菌の単菌における物性評価

0.1重量%の酵母エキスを添加した脱脂粉乳培地(脱脂粉乳:10重量%、水:90重量%)で、サーモフィラス菌を2回賦活した。そして、酵母エキスを除いた脱脂粉乳培地に、このサーモフィラス菌を2重量%で接種した後に、43 に18時間で培養した。さらに、この培養した培地(培養液)を4 に一晚(約8時間)で冷却した後に、「粘性」の有無と「滑らかさ」(凝集性:凝集物の生成)を評価した。「粘性」については、培養物を薬さじで攪拌して、抵抗の高いものから4段階(; 粘性が強い、 ; 粘性がやや

10

20

30

40

50

強い、 ; 粘性がある、× ; 粘性がない) で評価した。「滑らかさ」については、培養物を葉さじに薄く載せた際に、培養物中の凝集物(ダマ)の生成の有無を目視し、4段階(; 滑らか、 ; 粒塊がほとんど見られない、 ; 粒塊がある、× ; ざらつく: 図1参照) で評価した。

なお、明治ブルガリアヨーグルト(フルーツ入りソフトタイプヨーグルト)(株式会社明治、日本:2013年4月製造)用のサーモフィラス菌株(以下、菌株Yという)では、「粘性」および「滑らかさ」は、共に「」となり、これを指標として評価した。

【0079】

(b)サーモフィラス菌とブルガリア菌の組み合わせにおける物性評価

0.1重量%の酵母エキスを添加した脱脂粉乳培地(脱脂粉乳:10重量%、水:90重量%)で、サーモフィラス菌およびブルガリア菌をそれぞれ2回で賦活した。そして、酵母エキスを除いた脱脂粉乳培地に、サーモフィラス菌を1.8重量%およびブルガリア菌を0.2重量%で接種した後に、43℃に18時間で培養した。さらに、この培養した培地(培養液)を4℃に一晚(約8時間)で冷却した後に、「粘性」の有無と「滑らかさ」(凝集性:凝集物の生成)を評価した。「粘性」と「滑らかさ」については、前記(a)サーモフィラス菌の単菌における物性評価と同様に評価した。

【0080】

前記(a)および(b)において使用した菌株は、以下のとおりである。

・サーモフィラス菌

自社保有のサーモフィラス菌(*Streptococcus thermophilus*)から、31菌株を用いた。

・ブルガリア菌

Lactobacillus delbruekii subsp. *bulgaricus* OLL1171株を用いた。同菌株は、独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター(日本国〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室)に、2013年3月13日付、受託番号:NITE BP-01569として寄託されている(特願2013-116332)。

【0081】

<結果>

31菌株のサーモフィラス菌のうち、サーモフィラス菌の単菌における物性を評価した際に、「粘性」および「滑らかさ」が共に「×」の評価である菌株は、20菌株であった。この20菌株では、ブルガリア菌と組み合わせても、物性の改善は見られなかった。この結果より、サーモフィラス菌の単菌における物性を評価することにより、ブルガリア菌と組み合わせると推定することができると思われる。つまり、サーモフィラス菌の単菌において物性が良好な菌株では、ブルガリア菌と組み合わせても(ブルガリア菌と組み合わせると推定した発酵乳においても)物性が良好である可能性が高く、サーモフィラス菌の単菌において物性が不良な菌株では、ブルガリア菌と組み合わせても物性がほぼ改善されないと考えられた。

【0082】

[実施例2]サーモフィラス菌の選抜(2)(一次スクリーニング)

自社保有のサーモフィラス菌から、258菌株を用いて、実施例1(a)と同様に、物性を評価した。その結果を表1に示す。

「粘性」および「滑らかさ」の両方が「」以上であった24菌株をスターター候補株とした。

【0083】

10

20

30

40

【表 1】

表 1. サーマフィラス菌単菌での物性評価 (258 菌株)

粘性	滑らかさ	サーモフィラス菌
◎	○	3 菌株
○	○	13 菌株
△	◎	2 菌株
△	○	6 菌株
×	○	53 菌株
×	△	50 菌株
×	×	131 菌株

10

【0084】

[実施例 3] スターター候補株 (サーモフィラス菌) とブルガリア菌の組み合わせの物性評価 (二次スクリーニング)

20

実施例 2 で選抜したスターター候補株の 24 菌株 (*Streptococcus thermophilus*) の夫々と、ブルガリア菌を組み合わせ、物性評価 (粘性および滑らかさ)、発酵時間、保存性を検討した。

「粘性」と「滑らかさ」については、実施例 1 (a) サーマフィラス菌の単菌における物性評価と同様に評価した。

発酵時間については、発酵開始から、培養物の酸度が 0.7 以上 0.8 以下となるまでの時間を測定した。

保存性については、発酵終了後に 10 で保存し、発酵終了直後、1 日後、7 日後、14 日後の酸度を測定し、酸度の上昇が抑制される程度を指標とした。酸度の測定は、常法による。また、14 日後の pH を測定した。

30

【0085】

使用した菌株は、以下のとおりである。

- ・サーモフィラス菌

自社保有のサーモフィラス菌 (*Streptococcus thermophilus*) から、スターター候補株の 24 菌株を用いた。

- ・ブルガリア菌

Lactobacillus delbruekii subsp. *bulgaricus* OLL1171 株 (受託番号: NITE BP-01569)。

OLL1171 株と同様に、発酵物の低温貯蔵時の酸度上昇が抑制される 2 菌株 (以下、夫々、菌株 L1、菌株 L2 という)。

40

明治ブルガリアヨーグルト (フルーツ入りソフトタイプヨーグルト) (株式会社明治、日本: 2013 年 4 月製造) 用のサーモフィラス菌である菌株 Y。

【0086】

前記の通り、スターター候補株 (サーモフィラス菌) の 24 菌株とブルガリア菌 OLL1171 株を組み合わせ、物性、発酵時間および保存性を評価した。その結果を表 2 に示す。

そして、対照として、明治ブルガリアヨーグルト (フルーツ入りソフトタイプヨーグルト) (株式会社明治、日本: 2013 年 4 月製造) 用のスターター (ブルガリア菌: 菌株 B とサーモフィラス菌: 菌株 Y との組み合わせ) について、物性、発酵時間および保存性を評価した。その結果を表 3 に示す。なお、「粘性」および「滑らかさ」が共に「×」の菌株では、保存性を測定しなかった。

50

【 0 0 8 7 】

24菌株のスターター候補株のうち、OLL1171株、菌株L1および菌株L2のいずれの組み合わせにおいても、「粘性」および「滑らかさ」が共に「×」ではない菌株は、スターター候補株6、7、8、9、12、17、18、19および22の9菌株であった。これら9菌株のうち、スターター候補株17は、OLL1171株、菌株L1および菌株L2のいずれの組み合わせにおいても、明治ブルガリアヨーグルト（フルーツ入りソフトタイプヨーグルト）用スターターに比べて、発酵時間が長いため、実用性が乏しいことが予測された。

【表2】

表2. 候補株とOLL1171株との組み合わせ

OLL1171	発酵時間	物性		発酵終了	D1	D7	D14	
		粘性	滑らかさ	酸度(%)	酸度(%)	酸度(%)	酸度(%)	pH
候補株1	3hr27min	×	×	0.75	0.74	—	—	—
候補株2	4hr1min	×	×	0.73	0.75	—	—	—
候補株3	4hr54min	×	×	0.76	0.79	—	—	—
候補株4	3hr59min	○	○	0.75	0.74	0.83	0.88	4.19
候補株5	3hr26min	○	△	0.76	0.76	0.93	0.95	4.13
候補株6	4hr13min	○	○	0.76	0.75	0.81	0.82	4.25
候補株7	3hr16min	○	△	0.75	0.75	0.81	0.95	4.15
候補株8	3hr37min	◎	○	0.75	0.76	0.94	1.06	3.99
候補株9	3hr20min	○	△	0.73	0.73	0.77	0.81	4.28
候補株10	4hr33min	×	×	0.71	0.7	—	—	—
候補株11	4hr39min	×	×	0.76	0.74	—	—	—
候補株12	4hr20min	○	○	0.72	0.72	0.81	0.89	4.25
候補株13	6hr3min	×	△	0.72	0.72	0.77	0.8	4.53
候補株14	5hr5min	×	×	0.76	0.72	—	—	—
候補株15	4hr34min	×	△	0.73	0.72	0.78	0.8	4.33
候補株16	4hr28min	○	×	0.73	0.74	0.88	0.9	4.18
候補株17	6hr39min	○	×	0.74	0.71	0.81	0.87	4.17
候補株18	4hr9min	○	○	0.75	0.72	0.79	0.79	4.36
候補株19	3hr41min	◎	○	0.72	0.72	0.84	0.91	4.18
候補株20	3hr55min	○	△	0.74	0.74	0.92	1.01	4.06
候補株21	3hr26min	○	×	0.74	0.74	0.76	0.82	4.33
候補株22	3hr28min	◎	○	0.75	0.74	0.86	0.96	4.14
候補株23	3hr35min	○	△	0.73	0.73	0.9	0.96	4.1
候補株24	3hr35min	○	△	0.75	0.76	0.86	0.96	4.11

【 0 0 8 8 】

【表3】

表3. 明治ブルガリアヨーグルト（フルーツ入りソフトタイプヨーグルト）用スターター

菌株B	発酵時間	物性		発酵終了	D1	D7	D14	
		粘性	滑らかさ	酸度(%)	酸度(%)	酸度(%)	酸度(%)	pH
菌株Y	3hr20min	○	○	0.75	0.77	0.87	0.97	4.11

【 0 0 8 9 】

10

20

30

40

50

[実施例 4] 大規模の培養における評価

候補株 6、7、8、9、12、18、19 および 22 の 8 菌株のスターター候補株のうちの 1 種と、ブルガリア菌 OLL1171 株、菌株 L 1 および菌株 L 2 のうちの 1 種を組み合わせ、大規模の培養における有用性を評価した。具体的には、ブルガリア菌：サーモフィラス菌 = 1 : 9 の接種比率でバルクスターターを調製し、これらバルクスターターを用いて、発酵乳を調製した。そして、これら得られた発酵乳の物性および発酵時間を評価した。その結果を表 4 に示す。

【 0 0 9 0 】

【 表 4 】

表4. 大規模培養での各スターター候補の評価

	OLL1171株		
	発酵時間	物性	
		粘性	滑らかさ
候補株6	3hr30min	○	○
候補株7	3hr30min	○	○
候補株8	3hr30min	○	○
候補株9	3hr30min	△～○	△～○
候補株12	5hr	△	△
候補株18	3hr30min	△	△
候補株19	3hr30min	○	○
候補株22	3hr30min	×～△	×～△

【 0 0 9 1 】

表 4 の結果から、(1) OLL1171 株と候補株 6、(2) OLL1171 株と候補株 7、(3) OLL1171 株と候補株 8、(4) OLL1171 株と候補株 9、(5) OLL1171 株と候補株 19、の 5 つの組み合わせを選抜した。

そして、これら 5 つのスターター候補の組み合わせで調製した発酵乳と、(6) 明治ブルガリアヨーグルト (フルーツ入りソフトタイプヨーグルト) 用スターター (菌株 B + 菌株 Y) で調製した発酵乳の保存性 (10、14 日) および官能評価 (食感および酸味) を検討した。その結果として、(1) *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1171 と候補株 6 (*Streptococcus thermophilus* OLS3290)、(2) *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1171 と候補株 7 (*Streptococcus thermophilus* OLS3078)、および (5) *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1171 と候補株 19 (*Streptococcus thermophilus* OLS3615) が優れていた。

【 0 0 9 2 】

そこで、以下では、発酵乳の製造 (調製) に際し、ブルガリア菌 (OLL1171 株など) と組み合わせるのに好適なサーモフィラス菌として、候補株 6、候補株 7 および候補株 19 の性質について、より詳細に検討した。

【 0 0 9 3 】

[実験例 1] 各種のスターターを用いた発酵乳の冷蔵 (低温) 保存中における酸度上昇の比較

前記の菌株のスクリーニングにより、新たに発見されたサーモフィラス菌の候補株 6、候補株 7、候補株 19 と、明治ブルガリアヨーグルト (フルーツ入りソフトタイプヨーグルト) 用サーモフィラス菌 (菌株 Y) を、夫々、3 種類のブルガリア菌 OLL1171 株、菌株 L 1、菌株 L 2 と組み合わせ、混合スターターとし、還元脱脂乳 (脱脂粉乳の 10 % 水溶液) を発酵させて、発酵乳 (ヨーグルト) を製造 (調製) した。

夫々について酸度が0.75%程度に到達する発酵時間、冷蔵保存(10、14日間)後における酸度上昇(PA: Post Acidification)の程度、物性評価を比較した。その結果を表5に示す。

【0094】

【表5】

表5. 各種のスターターの冷蔵保存中における酸度上昇の比較

サーモ フィラス 菌	ブルガリ ア菌	発酵時間	発酵終了	冷蔵保存	酸度	物性評価		
			時の 酸度(%)	後の 酸度(%)	上昇の 程度(%)	粘性	滑らかさ	
			[酸度①]	[酸度②]	[酸度② -酸度①]			
候補株6	OLL1171 株	3時間20分	0.76	0.82	0.06	○	○	10
	菌株L1	4時間45分	0.74	0.84	0.10	○	○	
	菌株L2	3時間42分	0.77	0.85	0.08	×	×	
候補株7	OLL1171 株	3時間20分	0.73	0.81	0.08	○	△	20
	菌株L1	3時間45分	0.74	0.82	0.08	○	△	
	菌株L2	3時間25分	0.77	0.87	0.10	○	○	
候補株19	OLL1171 株	3時間41分	0.72	0.91	0.19	◎	○	
	菌株L1	4時間39分	0.74	0.88	0.14	○	△	
	菌株L2	4時間38分	0.75	0.92	0.17	△	○	
菌株Y	OLL1171 株	3時間16分	0.75	0.85	0.10	○	△	30
	菌株L1	4時間38分	0.76	0.87	0.11	○	×	
	菌株L2	3時間49分	0.77	0.98	0.21	○	○	

【0095】

菌株Yを3種類のブルガリア菌と組み合わせて、混合スターターとした場合に比べて、サーモフィラス菌の候補株を所定のブルガリア菌と組み合わせて、混合スターターとした場合では、発酵時間が同程度となるか短縮されると共に、冷蔵(低温)保存後における酸度上昇(PA)の程度が同程度となるか低減されていた。

このとき、菌株Yを3種類のブルガリア菌と組み合わせて、混合スターターとした場合に比べて、サーモフィラス菌の候補株を所定のブルガリア菌と組み合わせて、混合スターターとした場合では、発酵乳の粘性や滑らかさが優れていた。

【0096】

[実験例2] 各種のスターターを用いた発酵乳の冷蔵(低温)保存後における風味の比較(1)

サーモフィラス菌の候補株6、候補株7、候補株19をブルガリア菌OLL1171株と組み合わせて、混合スターターとした場合と、サーモフィラス菌の菌株Yをブルガリア菌の菌株Bと組み合わせて、混合スターターとした場合において、還元脱脂乳(脱脂粉乳の10%水溶液)を発酵させて、発酵乳(ヨーグルト)を製造(調製)した。

そして、それぞれの冷蔵保存(5、14日間)後における官能検査の結果を比較した。その結果を図2に示す。

なお、この官能検査は、専門パネルの5名で実施し、サーモフィラス菌の菌株Yをブル

10

20

30

40

50

ガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターした場合を、基準の 0 . 0 0 (ゼロ) に設定した。

サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターとした場合に比べて、サーモフィラス菌の候補株 6、候補株 7、候補株 19 をブルガリア菌 OLL1171 株と組み合わせて、混合スターターとした場合では、発酵乳の酸味の程度が優位に低かった。

【 0 0 9 7 】

また、サーモフィラス菌の候補株 6、候補株 7、候補株 19 をブルガリア菌 OLL1171 株と組み合わせて、混合スターターとした場合と、サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターとした場合において、還元脱脂乳 (脱脂粉乳の 1 0 % 水溶液) を発酵させて、発酵乳 (ヨーグルト) を製造 (調製) した。

そして、それぞれの製造直後 (1 日目) と、冷蔵保存 (5、18 日間) 後における官能検査の結果を比較した。その結果を図 3 ~ 図 6 に示す。

なお、この官能検査は、専門パネルの 5 名で実施し、サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターした場合を、基準の 0 . 0 0 (ゼロ) に設定した。

サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターした場合に比べて、サーモフィラス菌の候補株 6、候補株 7、候補株 19 をブルガリア菌 OLL1171 株と組み合わせて、混合スターターとした場合では、発酵乳の酸味の程度が優位に低かった。

【 0 0 9 8 】

さらに、サーモフィラス菌候補株 19 を、ブルガリア菌 OLL1171 株と組み合わせて、混合スターター (凍結菌) とした場合と、サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターター (凍結菌) とした場合において、脱脂乳を発酵させてから、そこにアロエソースを配合 (混合) して、発酵乳 (ヨーグルト) を調製した。

そして、それぞれの製造直後 (1 日目) と、低温保存 (5、14 日間) 後における官能検査の結果を比較した。この結果を図 7 および 図 8 に示した。

この官能検査は、専門パネルの 5 名で実施し、サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターした場合を、基準の 0 . 0 0 (ゼロ) に設定した。

サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターとした場合に比べて、サーモフィラス菌候補株 19 を、ブルガリア菌 OLL1171 株と組み合わせて、混合スターターとした場合では、発酵乳の酸味の程度が優位に低かった。

【 0 0 9 9 】

[実験例 3] 各種のスターターを用いた発酵乳の冷蔵 (低温) 保存後における風味の比較 (2)

サーモフィラス菌の候補株 6、候補株 7、候補株 19 をブルガリア菌 OLL1171 株と組み合わせて、混合スターターとした場合と、サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターとした場合において、還元脱脂乳 (脱脂粉乳の 1 0 % 水溶液) を発酵させて、発酵乳 (ヨーグルト) を製造 (調製) した。

そして、それぞれの製造直後 (1 日目) における香気成分の分析の結果を比較した。その結果を表 6 に示す。

ここでは、発酵乳の容器のヘッドスペースに含まれる香気成分を GC - MS (n = 2) により分析し、サーモフィラス菌の菌株 Y をブルガリア菌の菌株 B と組み合わせて、混合スターターとした場合を、基準の 0 . 0 0 (ゼロ) に設定した。

【 0 1 0 0 】

10

20

30

40

【表 6】

表6. 各種のスターターの発酵乳における香気成分の比較

サーモ フィラス 菌	ブルガリア 菌	アセト イン	2,3- ペンタ ジオール	ジアセ チル	エタ ノール	2- ブタン	アセトン	アセト アルデ ヒド
候補株6	OLL1171株	1.1	1.0	0.9	1.3	0.9	0.6	0.8
候補株7	OLL1171株	1.1	1.0	1.3	1.3	0.9	0.6	0.8
候補株19	OLL1171株	0.9	1.4	1.9	0.8	1.0	0.7	0.7
菌株Y	菌株B	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

10

【0101】

サーモフィラス菌の菌株Yをブルガリア菌の菌株Bと組み合わせて、混合スターターとした場合に比べて、サーモフィラス菌の候補株6、候補株7、候補株19をブルガリア菌OLL1171株と組み合わせて、混合スターターとした場合では、香気成分を構成比で比較すると、アセトアルデヒドが少なめでジアセチルが多めに産生されており、酸味が抑制され乳脂肪感やコク味が強調される傾向が見られた。また、サーモフィラス菌の菌株Yをブルガリア菌の菌株Bと組み合わせて、混合スターターとした場合に比べて、サーモフィラス菌の候補株6、候補株7、候補株19をブルガリア菌OLL1171株と組み合わせて、混合スターターとした場合では、ジアセチルが多量に産生されており、乳脂肪感やコク味が強調される傾向が見られた。

20

【0102】

[実験例4] ドリンクヨーグルトの製造

サーモフィラス菌の候補株19とブルガリア菌OLL1171株とを組み合わせて、混合スターターとし、還元脱脂乳(SNF14%)を3時間発酵させて、ドリンクヨーグルトを製造した。比較例として、明治ブルガリアヨーグルト(プレーンドリンクタイプ)用スターターを用いて、還元脱脂乳(SNF14%)を3時間発酵させて、ドリンクヨーグルトを製造した。

【0103】

発酵期間の酸度およびpHの変化を表7に示す。本発明において、発酵工程においては必要な酸度上昇が得られ、ドリンクヨーグルトとすることができた。

30

【表 7】

発酵性

(min.)	OLL1171+候補株19		比較例	
	SNF14%		SNF14%	
	酸度	pH	酸度	pH
0	0.23	6.51	0.23	6.52
90	0.64	5.46	0.62	5.50
210	1.03	4.75	1.00	4.73
300	1.16	4.39	1.19	4.38
360	1.28	4.27	1.28	4.27

40

【0104】

発酵終了後、低温保存(10℃)1日後、8日後、16日後および25日後の酸度およびpHの変化を表8に示す。本発明のドリンクヨーグルトは、酸度の上昇が抑制された。

【表 8】

保存性(10°C保存)

		D+1	D+8	D+16	D+25
OLL1171+ 候補株 19	酸度	0.73	0.77	0.84	0.86
	pH	4.28	4.22	4.17	4.06
比較例	酸度	0.75	0.89	0.97	0.99
	pH	4.23	4.02	3.94	3.89

10

【0105】

発酵終了後、低温保存(10°C)10日後の官能評価を行った。評価は、甘味の程度、酸味の程度、香の程度、濃厚感、すっきり感、総合評価の項目で、比較例を0とした場合の相対評価を、優れているまたは強い方から、3、2、1、0、-1、-2、-3で表した。サンプル数は19で、その結果を表9に示す。

【表 9】

	甘味の程度	酸味の程度	香の程度	濃厚感	すっきり感	総合評価
OLL1171+候補株 19	1.7	-1.8	-0.2	0.5	-0.4	0.2
比較例	0	0	0	0	0	0

20

【0106】

本発明のドリンクヨーグルトは、低温保存10日後において、甘味および酸味は比較例に対し1%の危険率で有意差が示された。また、比較例に対し、濃厚感が増したと感じられる傾向が認められた。

【0107】

上記の実験等で、特に有用性が認められた候補株6、候補株7および候補株19を有用なサーモフィラス菌として、ブダペスト条約に基づく寄託機関に寄託し、下記の通り、受託番号を受けている。

30

【0108】

候補株6は、*Streptococcus thermophilus* OLS3290(独立行政法人 製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター(日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 120号室)に、2004年1月19日(国内寄託日)に寄託し、2013年9月6日付に国際寄託へ移管し、受託番号:FERM BP-19638として国際寄託されている)である。

【0109】

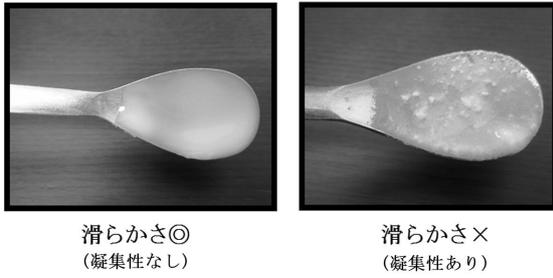
候補株7は、*Streptococcus thermophilus* OLS3078(独立行政法人 製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター(日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室)に、2013年8月23日付、受託番号:NITE BP-01697として国際寄託されている)であり、新規の菌株である。

40

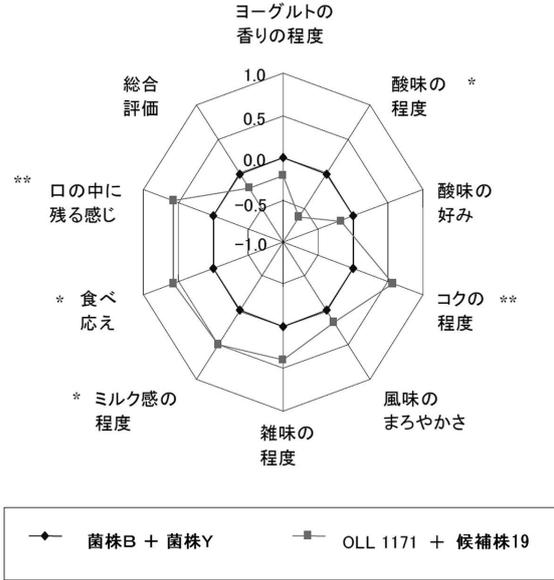
【0110】

候補株19は、*Streptococcus thermophilus* OLS3615(独立行政法人 製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター(日本国 〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8 122号室)に、2013年8月23日付、受託番号:NITE BP-01696として国際寄託されている)であり、新規の菌株である。

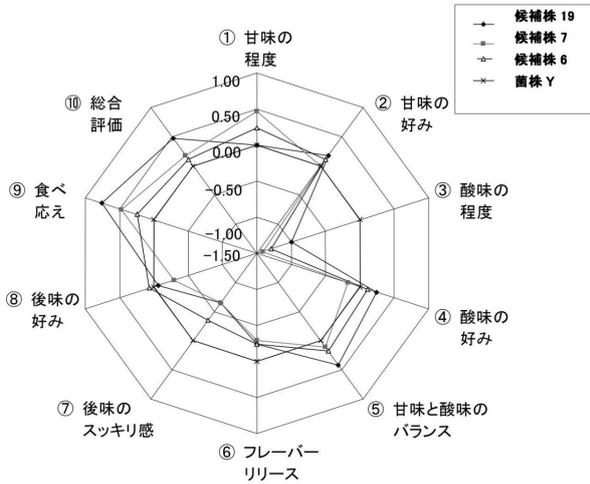
【図1】



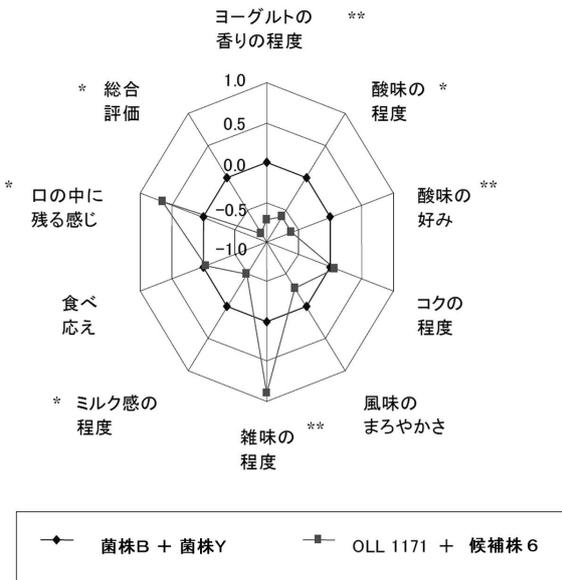
【図3】



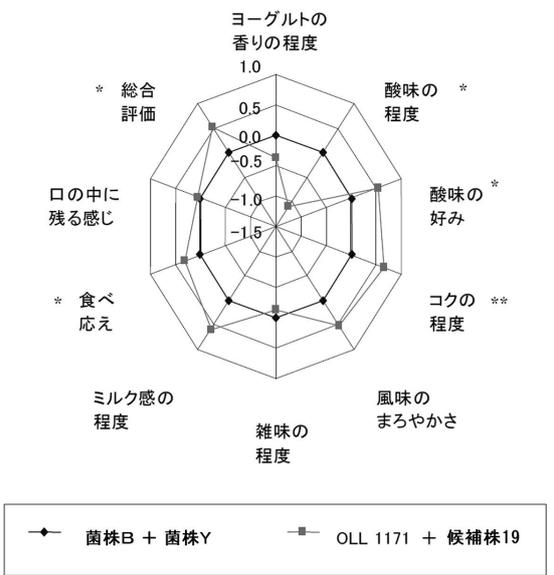
【図2】



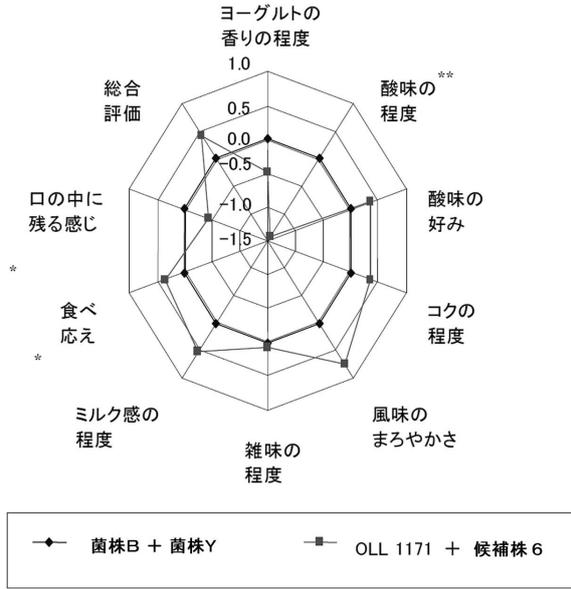
【図4】



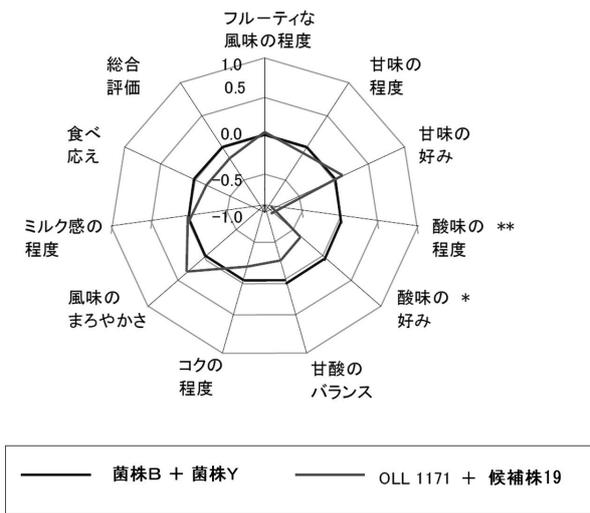
【図5】



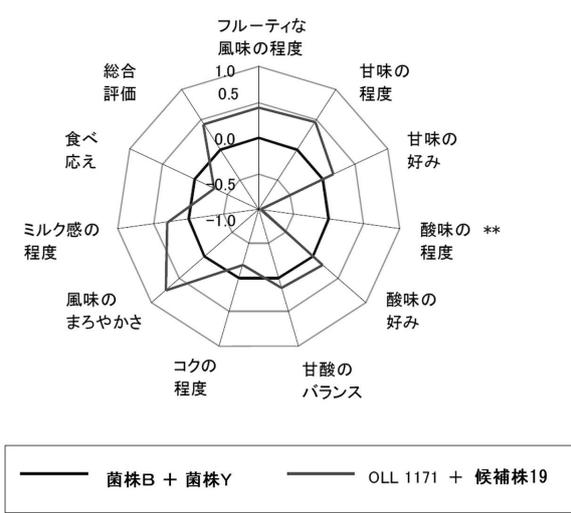
【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】



【配列表】

0006509737000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
C 1 2 R	1/225 (2006.01)	C 1 2 R 1:225
C 1 2 R	1/46 (2006.01)	C 1 2 R 1:46

(72)発明者 齋藤 瑞恵
 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内

(72)発明者 木村 勝紀
 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内

審査官 野村 英雄

(56)参考文献 特開平07-236416(JP,A)
 特開平08-256681(JP,A)
 特開2005-318855(JP,A)
 特開2005-278638(JP,A)
 国際公開第2012/121090(WO,A1)
 WANG, X. et al., "H⁺-ATPase-Defective Variants of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Contribute to Inhibition of Postacidification of Yogurt during Chilled Storage.", *Journal of Food Science*, 2013年 1月18日, Vol.78, No.2, p.M297-M302
 ONGOL, M.P. et al., "Yoghurt fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* H⁺-ATPase-defective mutants exhibits enhanced viability of *Bifidobacterium breve* during storage.", *International Journal of Food Microbiology*, 2007年 3月12日, Vol.116, No.3, p.358-366
 MOLLER, C. et al., "Production of yoghurt with mild taste by a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* mutant with altered proteolytic properties.", *BIOTECHNOL. J.*, 2007年 4月, Vol.2, No.4, pp.469-479

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 1 2 N 1 / 0 0 - 7 / 0 8
 A 2 3 C 1 / 0 0 - 2 3 / 0 0
 C 1 2 Q 1 / 0 0 - 3 / 0 0
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
 C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / W P I D S (S T N)