

全脂大豆乳を強化した発酵乳の製造

宮本 拓・佐藤順子・中江利孝
(畜産物利用学研究室)

Received July 1, 1981

Manufacturing of Fermented Milk-Fortified Whole Soymilk

Taku MIYAMOTO, Junko SATO and Toshitaka NAKAE
(Laboratory of Animal Products Technology)

Various conditions for manufacturing fermented milk-fortified whole soymilk were investigated to produce marketable yogurt-like product.

The results were as follows :

1) In soymilk-skimmilk mixtures, acid production of *S. lactis* 527 was lower than that of other starter cultures. In soymilk, acid production of three starter cultures used was low, but was accelerated by the addition of lactose.

2) Acid production of some starter cultures in soymilk containing ten per cent soybean flour was superior to that of soymilk containing five per cent soybean flour.

3) Diacetyl production of *L. casei* 6 in lactose added soymilk was increased by the addition of citrate.

4) Yogurt-like product having suitable curd tension and being rich in poly-unsaturated fatty acid was obtained by adding soymilk to skimmilk.

5) As the results of organoleptic test, the yogurt containing soymilk, which panel members expressed a greater preference, was the one started by *L. bulgaricus* B-1 in soymilk-skimmilk mixtures with ten per cent sucrose and fermented at 35°C for 18 hours. The favourable yogurt-like product was obtained when yogurt flavor was given to this yogurt containing soymilk.

These observations suggest that strains with enhanced acid and flavor producing ability in soymilk should be screened for profitable manufacturing of such fermented soybean foods as yogurt-like and cheese-like foods.

諸 言

最近の発酵乳の普及と消費の増大はその製品の多様化をもたらしつつあるが、脱脂乳を主原料とするこれらの発酵乳に大豆乳を強化することは発酵乳製品の栄養学的改善につながるものである。大豆は必須アミノ酸組成がよく、多価不飽和脂肪酸を豊富に含むことが知られており、大豆乳における乳酸菌の発酵⁹⁾や大豆乳を利用したチーズ様^{1,4,6,8)}、ヨーグルト様¹⁸⁾食品の製造に関する研究が最近行われるようになってきた。ところで大豆乳を乳製品に適用する場合、考慮すべき点の1つに、大豆独特の臭い(大豆臭¹⁰⁾)の除去が挙げられる。

このような観点より、本研究はとくに全脂大豆乳を原料脱脂乳に配合して大豆タンパク質と必須脂肪酸を増強した発酵乳を製造するのに適した条件を選択し、全脂大豆乳を強化した発酵乳の製造に関する実用化の可能性を考察したものである。

材 料 と 方 法

供試試料

市販の全脂大豆粉末（日本ゴールデンフーズ社製のソイエース）を5%および10%還元全脂大豆乳（以下5%豆乳および10%豆乳と記す）として、均一化したものを使用した。また対照として10%還元脱脂乳を用いた（以下脱脂乳と記す）。

供試菌株

畜産試験場より分譲された乳用乳用菌の *Streptococcus lactis* 527, *Lactobacillus bulgaricus* B-1 (Bergey's Manual 第8版¹⁴⁾では *Lactobacillus helveticus*) および著者らの研究室でフランス産ナチュラルヨーグルトより分離したジアセチル産生能の高い *Lactobacillus casei* 6の3株を乳酸菌スターターとした。

酸度の測定

試料10mlを蒸留水40mlで混合希釈し、フェノールフタレインを指示薬として0.1N NaOHで滴定し、滴定数(ml)で示した。

芳香生産性の測定

芳香生産性はジアセチル含量をPackらの方法¹³⁾に準じて測定した。すなわち試料20mlを蒸留水10mlで希釈混合し、消泡剤としてシリコン油を2, 3滴加え、ジアセチル定量用装置（自家製）に装着する。受器には1.0mlのbuffered hydroxylamineを入れ、窒素ガスを送りながら（5~7気泡/秒）65°Cで1.5時間保持する。終了後33% K₂HPO₄数滴で受器に通じているガラス管の先を洗浄し、75°Cの湯槽内で10分間振とうする。反応液が温いうちに0.5mlのacetone-phosphateを加える。冷却後0.1mlのferrous sulfateを加え、33% K₂HPO₄で全量を5.0mlとしたのち、530nmの吸光度を測定する。結果はブランクを差し引いたO.D.で示した。

ヨーグルト様食品の製造

豆乳と脱脂乳を0:100, 25:75, 50:50, 75:25, 100:0の割合で配合した試料について乳酸菌スターターを1%量接種し、35°Cで0~48時間培養し経時的に酸度を測定した。さらに豆乳に乳糖を4%添加したものについても同様に行った。また酸度の測定において良好な結果を示した乳酸菌スターターを用いて、それらの菌株の芳香生産性に及ぼす影響を検討するとともに、ヨーグルト様食品の試作品を調製し、製品の一般成分の分析、脂肪酸組成の分析および硬度の測定を行った。一方Table 3に示すような各種の試作品を調製し、官能検査に供した。

一般成分の分析

滴定酸度、水分、脂肪、タンパク質および灰分含量を常法¹²⁾に基づき行った。滴定酸度は乳酸%で表示し、水分は直接法により、脂肪はレーゼゴットリーブ法により、タンパク質はケルダール法により、灰分は電気炉法により行った。また糖質は水分、脂肪、タンパク質および灰分含量の総和を100より差し引いて求めた。

脂肪酸組成の分析

試料からレーゼゴットリーブ法に準じて全脂質を得た。それらは硫酸-メタノール法¹¹⁾によってメチルエステル化後TCD恒温ガスクロマトグラフ法¹¹⁾によって脂肪酸組成を求め面積より百分率で表示した。充てん剤は3mm×3mのステンレスカラムに20% DEGSを含浸させたクロモソルブW AWD MCSを使用した。カラム槽温度は170°Cでキャリアーガスはヘリウムを使用した。

硬度の測定

中村式カードテンションメーターによって行った。すなわちあらかじめ2時間以上冷蔵，静置させた試料を定速度（21秒/インチ）で上昇させてヨーグルト用のカードナイフを用いて測定した。結果は重さ（g）で示した。

官能検査

Table 3 に示す 17 試料について、「味」「組織」「香り」の 3 項目の嗜好テストを絶対的評価による 11 段階尺度評点法²⁰⁾に従って評点し，一元配置型のデータについて F 検定と平均値間の有意差の検定をした。なお検査条件はパネル 1 人に対し試料 5 個以内，評価は 1 人ずつ個室で行い，試料の番号は乱数表を用いた 2 桁の数を使用した。試料は 2 時間以上冷蔵したのち，均一化したものを用いた。

結果と考察

1. 乳酸菌による豆乳・脱脂乳培地での酸生成

Fig. 1 は 10% 豆乳と脱脂乳を各種の割合で配合した試料に乳酸菌スターターを接種し，35°C で 24 時間培養後の酸度を測定した結果である。乳糖の添加が酸生成に与える影響をみ

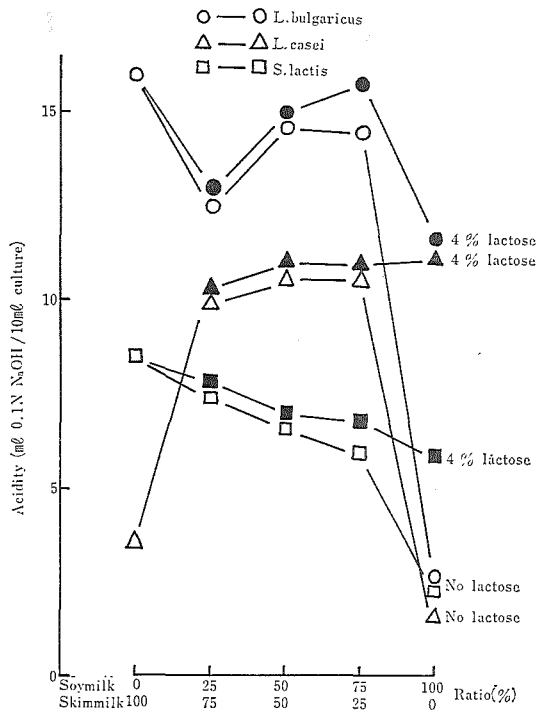


Fig. 1 Effect of lactose added on acid production of some starter cultures when incubated in soymilk-skimmilk mixtures at 35°C for 24 hours. Soymilk contains 10% soybean flour.

ると，豆乳の配合割合 100% の場合に大きな差がみられ，乳糖を添加した方が酸の生成量が多い。また *S. lactis* の場合は，他菌に比べて概して酸の生成量が少なく，豆乳の配合割合 100% の時は，培養 24 時間目までほとんど酸の生成がみられない。ところで松岡ら⁷⁾は豆乳のみの培地では *L. bulgaricus* および *S. lactis* の酸生成は低いと述べており，本実験も

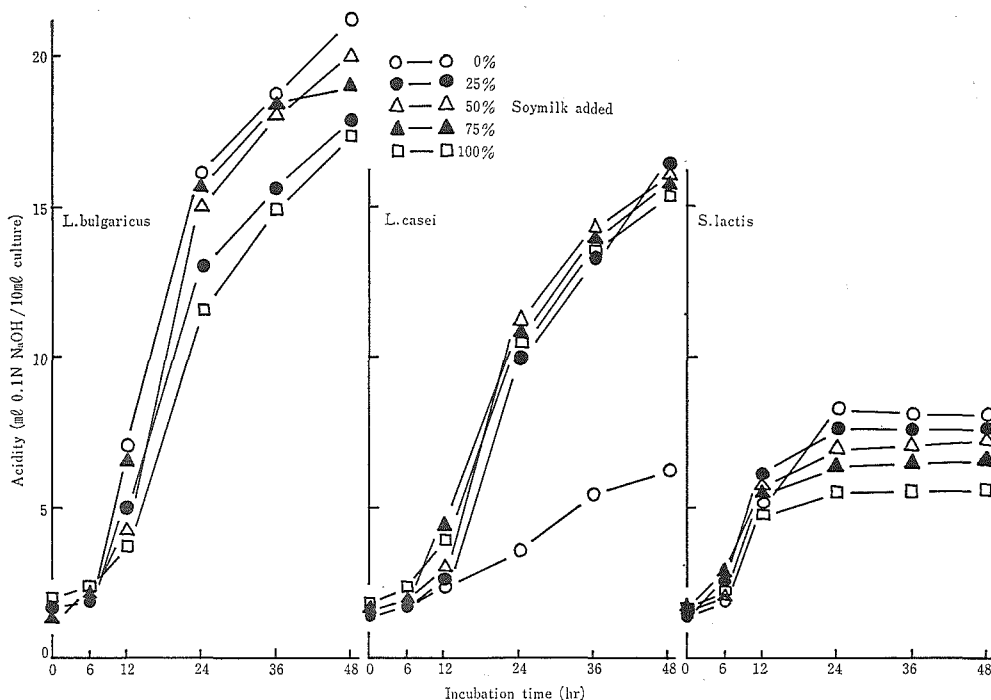


Fig. 2 Effect of soymilk concentration on acid production by some starter cultures at 35°C in soymilk containing 4% lactose and skim milk. Soymilk contains 10% soybean flour.

同様の結果であった。そこで豆乳に乳糖を4%添加した試料について以下の実験を行った。

Fig. 2は酸生成に及ぼす豆乳の配合割合の影響を経時的に調べたものである。*L. bulgaricus*の場合、培養48時間目では脱脂乳のみの時が酸生成量が最も高く、豆乳のみの場合が最も低い。しかし他の菌株に比べていずれの配合割合においても高い酸生成量を示している。*L. casei*は脱脂乳のみのものでは酸生成量が少なく、豆乳を添加することによって酸生成が促進されている。*S. lactis*では豆乳の添加割合が増加するにつれて酸生成が減少しており、酸の生成量も他菌に比べて少ない。

一方固形分含量5%の豆乳について同様の実験を行ったところ、Fig. 3に示すように、配合割合により酸生成量に差がみられる。また5%豆乳を使用した場合は、10%豆乳を使用したものより酸生成量が少ない。これらの結果は、5%豆乳を使用した時、10%豆乳に比べて豆乳の配合割合が多くなるにつれて、原料の固形分含量が減少することに起因すると思われる。矢野ら¹⁹⁾が脱脂乳培養基の固形分濃度が増加するほど乳酸菌の酸生成量が増大したと述べていることと一致する。

ヨーグルト様食品の製造を考慮した場合、ヨーグルトの適正酸度といわれている0.85~0.95%³⁾(滴定数で9.44~10.56 ml)の範囲に達する条件は、乳糖を4%添加した10%豆乳を*S. lactis*以外のスターターで発酵するのが適当と思われる。

2. 豆乳・脱脂乳培地における乳酸菌の芳香生産性

Fig. 4は豆乳・脱脂乳培地における*L. casei*のジアセチル生成について検討した結果である。乳糖を4%含む豆乳および脱脂乳培地のいずれにおいても培養温度35°Cではジアセ

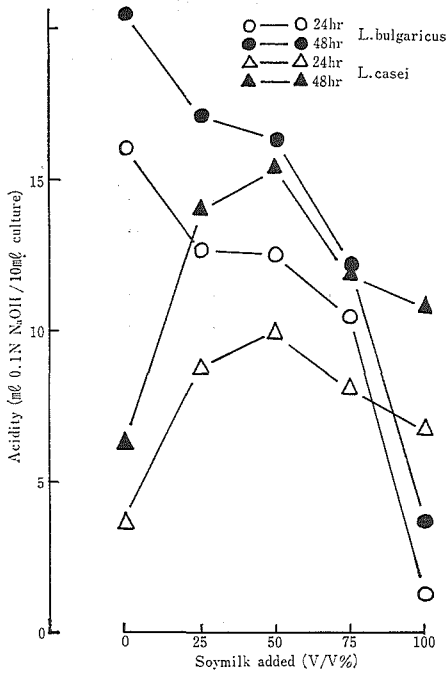


Fig. 3 Effect of soymilk concentration on acid production of some starter cultures when incubated in soymilk containing 4% lactose and skimmilk at 35°C for 24 and 48 hours. Soymilk contains 5% soybean flour.

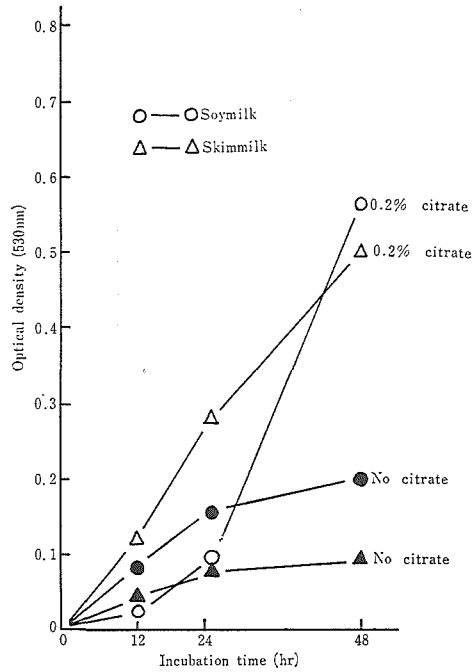


Fig. 4 Diacetyl production by *L. casei* at 25°C and 35°C in soymilk containing 4% lactose and skimmilk fortified with citrate. Soymilk and skimmilk containing citrate were incubated at 25°C. Soymilk contains 10% soybean flour.

チル生成はあまり顕著でない。ところで本菌の酸生成の至適温度は 35°C 付近、ジアセチル生成の至適温度は 25~30°C 付近にある (著者ら, 未発表)。またジアセチル生成菌はクエン酸を前駆物質として、ジアセチルを生成する³⁾とされている。そこで培養温度 25°C でクエン酸を 0.2% 添加した培地で検討したところ、豆乳および脱脂乳培地のいずれにおいてもジアセチル生成量が増加している。なお *L. bulgaricus* については、ジアセチル生成はほとんどみられなかった。

3. ヨーグルト様食品の製造

豆乳・脱脂乳培地の酸生成およびジアセチル生成の検討結果より良好な性質を示した *L. bulgaricus* および *L. casei* の菌株を用いて、ヨーグルト様食品の試作品を調製し、それらの製品の一般成分、脂肪酸組成および硬度を測定した。

Table 1 は一般成分の分析結果である。豆乳を配合した試料はタンパク質含量が若干増加している。当然のことであるが豆乳の配合割合が多いほど脂肪含量が多い。この脂肪について脂肪酸組成を分析したところ、Table 2 に示すようにオレイン酸、リノール酸、リノレン酸の不飽和脂肪酸が多く含まれていた。またそれらの製品の硬度を測定した結果は Fig. 5 である。これより豆乳の配合割合が増加するに従い硬度も増大している。ヨーグルトの硬度は 30~40 g が一般的である¹⁷⁾とされており、豆乳を加えた方が脱脂乳のみのものより適切な硬さになっている。現在ヨーグルトの一般的な製造ではヨーグルトのゲル強度を増加させるために、ゼラチン、寒天、安定剤などを加えている。これらの代わりに大豆タンパク質を

Table 1 General composition of yogurt and yogurt-like products fermented with some starter cultures at 35°C for 24 hours

Soy milk added*** (v/v%)	Strain used	Acidity (%)	Moisture (%)	Carbohydrate (%)	Fat (%)	Protein (%)	Ash (%)
0	B*	0.98	90.87	4.00	0.04	4.28	0.81
	C**	0.29	90.53	4.46	0.09	4.11	0.81
50	B	1.36	89.01	4.71	0.88	4.74	0.66
	C	0.94	88.51	5.00	1.13	4.69	0.67
100	B	0.76	87.03	5.27	1.86	5.35	0.49
	C	0.77	87.10	6.58	1.72	4.10	0.50

* *L. bulgaricus* ** *L. casei*

*** Soy milk contains 4% lactose.

Table 2 Fatty acid composition of fats from yogurt and yogurt-like products fermented with some starter cultures at 35°C for 24 hours

Soy milk added*** (v/v%)	Strain used	Fatty acid composition (%)					
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
50	B*	0.62	12.33	4.08	23.83	52.05	7.09
	C**	0.49	14.64	4.68	18.71	54.49	7.61
100	B	tr.	11.46	3.54	24.70	53.38	6.93
	C	tr.	11.11	3.63	22.52	54.61	8.13
cf. Soybean flour		tr.	17.05	3.74	15.22	56.02	7.97

* *L. bulgaricus* ** *L. casei*

*** Soy milk contains 4% lactose.

Table 3 Preparation of yogurt and yogurt-like products used sensory acceptance evaluation test

Sample No.	Soy milk added**** (v/v%)	Strain used	Incubation	
			time (hr)	temperature (°C)
1	0	B*	16	35
2	0	L**	24	35
3	0	C***	72	35
4	50	B	18	35
5	50	L	24	35
6	50	C	21	35
7	100	B	21	35
8	100	L	24	35
9	100	C	21	35
10	0	B	48	35
11	50	B	48	35
12	100	B	48	35
13	50	C	48	35
14	100	C	48	35
15	0	C	72	25
16	50	C	72	25
17	100	C	72	25

* *L. bulgaricus* ** *S. lactis* *** *L. casei*

**** Soy milk contains 4% lactose and 0.2% citrate. Yogurt and yogurt-like products contain 10% sucrose.

Table 4 Statistical analysis for sensory acceptance evaluation test of yogurt and yogurt-like products fermented by some starter cultures

Sample No.	Taste			Texture					Aroma								
	Sample No.	Sample \bar{x}	No.	Sample No.	Sample No.	Sample No.	Sample No.	Sample No.	Sample \bar{x}	No.	Sample No.						
2	4.88**	4.25*	3.75*	3.63	1	2.13	5.01**	4.51**	4.38**	4.33**	3.76*	3.88*	2.63	2	1.75	4.50**	3.25
1	4.63**	4.00*	3.50*		2	1.88	4.76**	4.26**	4.13**	4.08**	3.51*	3.13		1	1.63	4.38**	3.13
3	1.75	2.63			3	1.75	4.63**	4.13**	4.00**	3.95*	3.38*	3.00		3	0.88	3.63**	2.38
4	-0.25				4	1.38	4.25**	3.75*	3.63*	3.58*	3.01			10	0.75	3.50*	2.25
13	-0.38				13	0.75	3.63*	3.13						13	0.75	3.50*	2.25
16	-0.38				15	0.38	3.26							4	0.50	3.25	
5	-1.25				10	0.25								6	-0.38		
10	-1.25				6	-0.38								16	-0.50		
6	-1.38				11	-0.38								11	-0.63		
15	-1.38				16	-0.50								5	-0.75		
8	-1.63				5	-1.25								17	-1.00		
11	-1.63				8	-1.63								8	-1.25		
12	-1.63				12	-1.63								9	-1.38		
17	-1.63				17	-2.00								15	-1.38		
14	-1.75				14	-2.25								12	-1.50		
9	-2.25				7	-2.38								14	-1.50		
7	-2.88				9	-2.88								7	-2.75		

* Significant at $P < 0.05$

** Significant at $P < 0.01$

利用した場合、ゲル強度が効果的に増し、ホエー分離を減少させることが報告されている⁹⁾が、本実験も同様の結果であった。

ヨーグルトの一般的な製造法に準じて Table 3 に示すような各種の製品を調製し、官能検査を行ったところ、Table 4 の結果を得た。「味」については、豆乳入りのヨーグルト間では有意差はなかったが、平均値にはかなりのばらつきがみられた。最も平均値の高い豆乳入りヨーグルトは豆乳の配合割合が 50% でスターターに *L. bulgaricus* を用い、35°C で 18 時間培養したものであった。このヨーグルトに香料を加えるとかなり良好なヨーグルトが得られた。スターターとして *L. casei* を用いたものは、ジアセチル生成量からみると「香り」はよいはずであるが、検査結果から大豆臭をカバーするほどのものではなかった。また豆乳を加えた場合、一般に酸度が少し高めの試料が好まれた。以上のような結果から実用可能な豆乳入りヨーグルトの製造条件は Fig. 6 に示すようである。

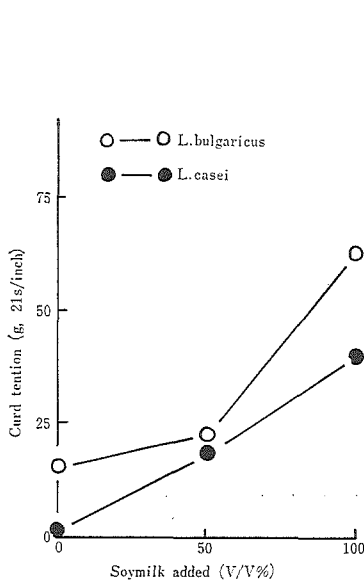


Fig. 5 Curd tention of yogurt and yogurt-like products fermented with some starter cultures at 35°C for 24 hours. Soy milk contains 4% lactose.

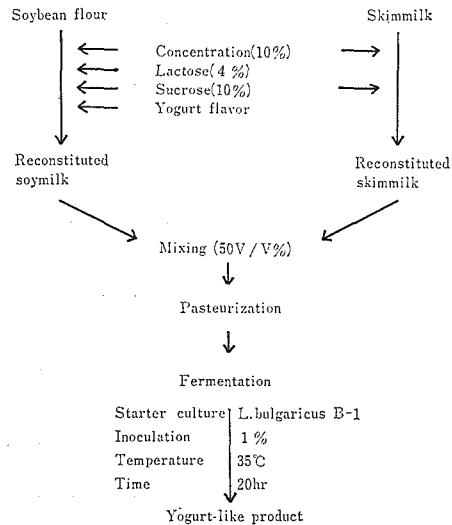


Fig. 6 Method for production of yogurt-like product fortified whole soymilk.

ところで神辺³⁾や鈴木ら^{15,16)}が指摘しているように、ヨーグルトの風味に関係するものとして、アセトアルデヒドとジアセチル含量が重要であり、これらの芳香物質の生産性の高い菌株を用い、香料を添加せずに風味を改良していくことが望まれる。また豆乳 100% のヨーグルト様、チーズ様などの発酵食品を有利に製造するには、豆乳中で顕著な酸生成を示す菌株²⁾を検索することも必要である。

摘 要

全脂大豆乳を強化した発酵乳の製造に関する種々の影響要因を調べ、実用化可能なヨーグルト様食品を製造する目的で本研究を行ったところ、次のような結果を得た。

1) 豆乳・脱脂乳の混合培地では、*S. lactis* 527 の酸生成量が他菌に比べて全般的に低い値であった。豆乳のみの培地では、使用した 3 種のスターターは酸の生成量が少なく、乳

糖を添加することによって酸生成が促進された。

2) 10% 豆乳での乳酸菌による酸生成は5% 豆乳の場合よりまさっていた。

3) 豆乳培地にクエン酸を添加することによって、*L. casei* 6のジアセチル生成量が増加した。

4) 脱脂乳に豆乳を加えることで、ヨーグルト様食品のゲル強度が適切となり、多価不飽和脂肪酸を多く含むヨーグルト様食品が得られた。

5) 官能検査で最も良好な豆乳入りヨーグルトはスターターに *L. bulgaricus* B-1 を用い、ショ糖を10% 添加し、35°Cで18時間培養したものであり、この豆乳入りヨーグルトに香料を加えるとかなり良好なヨーグルト様食品が得られた。

本実験より、豆乳100%のヨーグルト様、チーズ様などの発酵食品を有利に製造するには、豆乳中で顕著な酸生産性、芳香生産性を示す菌株を検索する必要性が示唆された。

おわりに本研究は文部省科学研究費（特定研究）の援助により行ったものであり、記して謝意を表す。

文 献

- 1) ABOU EL-ELLA, W. M., S. M. FARAHAT, and M. A. GHANDOUR : *Milchwissenschaft* **33**, 295-297 (1978)
- 2) 伊藤 寛・海老根英雄：特許公報 昭51-22070 (1976)
- 3) 神辺道雄：乳技協資料 **28** (5), 2-13 (1979)
- 4) 川口 豊：食品工誌 **27**, 1-6 (1980)
- 5) KOLAR, C. W., I. C. CHO, and W. L. WATROUS : *JAOCs* **56**, 389-391 (1979)
- 6) LEE, Y. H., and R. T. MARSHALL : *J. Dairy Sci.* **62**, 1051-1057 (1979)
- 7) 松岡博厚・笹子謙治・関口正勝：食品工誌 **15**, 103-108 (1968)
- 8) 松岡博厚・福家洋子：食品工誌 **24**, 553-558 (1977)
- 9) MITAL, B. K., and K. H. STEINKRAUS : *J. Food Prot.* **42**, 895-899 (1979)
- 10) MORR, C. V. : *JAOCs* **56**, 383-385 (1979)
- 11) 日本油化学協会編：基準油脂分析試験法, 2.4.20-71, 2.4.21-71, 日本油化学協会, 東京 (1972)
- 12) 乳業技術講座編集委員会編：牛乳・乳製品検査 (第10版), 30-63, 朝倉書店, 東京 (1971)
- 13) PACK, M. Y., W. E. SANDINE, P. R. ELLIKER, E. A. DAY, and R. C. LINDSAY : *J. Dairy Sci.* **47**, 981-986 (1964)
- 14) ROGOSA, M. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (R. E. Buchanan & N. E. Gibbons eds.) (8th Ed.), 577-582, Williams & Wilkins Co., Baltimore, U. S. A. (1974)
- 15) 鈴木一郎・渡辺正利・北田徳蔵・加藤貞雄・森地敏樹：日畜会報 **50**, 796-802 (1979)
- 16) 鈴木一郎・渡辺正利・北田徳蔵・加藤貞雄・森地敏樹：日畜会報 **51**, 342-346 (1980)
- 17) 東京大学農芸化学教室：実験農芸化学, 下巻 (第12版), 660, 朝倉書店, 東京 (1972)
- 18) 山中良忠・古川 徳：食品工誌 **17**, 456-461 (1970)
- 19) 矢野信礼・森地敏樹・入江良三郎・見坊 寛：日畜会報 **31**, 204-208 (1960)
- 20) 吉川誠次：食品の官能検査法, 105-112, 光琳書院, 東京 (1965)

正 誤 表 (Errata)

頁 (Page)	行 (Line)	誤 (Erratum)	正 (Correct)
CONTENTS	13	Weightin	Weight in
32	11	さら	さらに
32	12	にずれも	いずれも
38	4	EL-Tbiary	EL-Ibiary
48	10	用いたた牛は牛12頭	用いた牛は子牛12頭
51	10	10：1レイオン	10：1のレイション
51	21	小数例	少数例
52	2	2区	1区
51	3	2区	1区
54	4	見積りから	見積額を計算し、これから
54	4	平均増加見積	平均差益見積
54	6	飼料体系の	飼料体系の
54	28	繊維率の	繊維率は
55	7	飼料給与体型	飼料給与体系
57	37	STEINHORDT	STEINHARDT
62	17	Ionophove	Ionophore
66	38	ってメチルエステル化後	よってメチルエステル化後
66	38	よ百分率	百分率