

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-531189

(P2012-531189A)

(43) 公表日 平成24年12月10日(2012.12.10)

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)		
<b>A 2 3 C</b>	<b>9/123</b>	<b>(2006.01)</b>	A 2 3 C	9/123	4 B 0 0 1	
<b>C 1 2 N</b>	<b>1/20</b>	<b>(2006.01)</b>	C 1 2 N	1/20	A	4 B 0 6 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2012-516788 (P2012-516788)  
 (86) (22) 出願日 平成22年6月30日 (2010. 6. 30)  
 (85) 翻訳文提出日 平成23年12月27日 (2011.12.27)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2010/059303  
 (87) 国際公開番号 W02011/000879  
 (87) 国際公開日 平成23年1月6日 (2011.1.6)  
 (31) 優先権主張番号 PA200900815  
 (32) 優先日 平成21年6月30日 (2009. 6. 30)  
 (33) 優先権主張国 デンマーク (DK)

(71) 出願人 503260310  
 セーホーエル、ハンセン アクティーゼルス  
 スカプ  
 デンマーク国、デーコーー2970 ヘル  
 ルスホルム、バイェアレ 10-12  
 (74) 代理人 100099759  
 弁理士 青木 篤  
 (74) 代理人 100077517  
 弁理士 石田 敬  
 (74) 代理人 100087871  
 弁理士 福本 積  
 (74) 代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次  
 (74) 代理人 100117019  
 弁理士 渡辺 陽一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 発酵乳製品の生産のための方法

(57) 【要約】

本発明は、増強されたゲル剛性の発酵乳製品を生産するための方法であって、そこで多糖生産ラクトバチルス (*Lactobacillus*)、特にラクトバチルス ジョンソニー (*L. johnsonii*) がスターターとして使用される方法に関する。

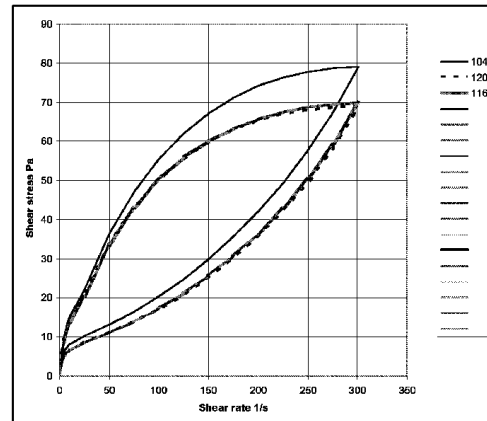


Fig 1

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

発酵乳を生産する方法であって、多糖（ホモ多糖またはヘテロ多糖など）および/またはグリコシルトランスフェラーゼ（例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ）酵素を生産できるラクトバチルス（*Lactobacillus*）種に属する株で乳基質を発酵することを含む、前記方法。

## 【請求項 2】

発酵乳を生産する方法であって、ラクトバチルス ファーメンタム（*Lactobacillus fermentum*）種に属する株で乳基質を発酵することを含む、前記方法。

10

## 【請求項 3】

ストレプトコッカス サーマフィラス（*Streptococcus thermophilus*）種に属する株、多糖生産株など、および/または DSM 22592 株、DSM 22585 株、DSM 18111 株、DSM 21408 株、CNCM I-3617 株、DSM 18344 株、DSM 22587 株、DSM 22884 株および CNCM I-2980 株、並びにこれらの株の任意の突然変異体およびバリエーションからなる群から選択される株で、前記乳基質を発酵することをさらに含む、請求項 1 または 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

多糖生産ラクトバチルス種に属する株、グリコシルトランスフェラーゼ酵素生産ラクトバチルス種に属する株、および/またはラクトバチルス ファーメンタム種に属する株での発酵前、間、または後に、ストレプトコッカス サーマフィラス種に属する株で前記乳基質を発酵させる、請求項 3 に記載の方法。

20

## 【請求項 5】

多糖生産ラクトバチルス種に属する株、グリコシルトランスフェラーゼ酵素生産ラクトバチルス種に属する株、および/またはラクトバチルス ファーメンタム種に属する株との発酵の間に、ストレプトコッカス サーマフィラス種に属する株で前記乳基質を発酵させる、請求項 4 に記載の方法。

## 【請求項 6】

タンパク質を架橋できる酵素、トランスグルタミナーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ、キモシン、およびレンネットからなる群から選択される酵素などの酵素を、前記発酵の前、間、および/または後に、前記乳基質に添加することを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

30

## 【請求項 7】

前記ラクトバチルス種が、ラクトバチルス ファーメンタムである、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記ラクトバチルス種に属する株が、ラクトバチルス ファーメンタム DSM 22584 株、およびこの株の突然変異体およびバリエーションからなる群から選択される、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 9】

多糖および/またはグリコシルトランスフェラーゼを生産できるラクトバチルス種に属する前記株；および/または前記種ラクトバチルス ファーメンタムに属する前記株に加えてラクトバチルス デルブリュッキー亜種 ブルガリカス（*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*）種またはラクティス（*Lactis*）種に属する株で、前記乳基質を発酵させる、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【請求項 10】

a) ラクトバチルス ブルガリカス種またはラクトバチルス ラクティス種に属する前記株、および

b) 多糖および/またはグリコシルトランスフェラーゼ酵素を生産できるラクトバチル

50

ス種に属する前記株、および/またはラクトバチルス ファーメンタム種に属する前記株が、 $1/100 \sim 100/1$  (a/b) の範囲内の割合 (CFU/g 乳基質で測定) で添加される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

ラクトバチルス種に属する菌、およびストレプトコッカス種に属する菌間の前記割合 (CFU/g 乳基質で測定) が、 $1/100 \sim 100/1$  の範囲内である、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

グルコースまたはスクロースが、例えば、少なくとも  $1\text{ g/l}$  の量で、前記乳基質に添加される (および/または前記乳基質がグルコースまたはスクロースを含む)、請求項 1 ~ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の方法により得られる、発酵乳製品。

【請求項 14】

前記発酵乳製品が、果実濃縮物、シロップ、プロバイオ菌培養物、プレバイオ剤、着色剤、増粘剤、および保存剤からなる群から選択される成分を含む、請求項 13 に記載の発酵乳製品。

【請求項 15】

前記発酵乳製品が、攪拌タイプ (stirred type) 製品、セットタイプ (set type) 製品、または飲用 (drinkable) 製品の形態である、請求項 13 または 14 に記載の発酵乳製品。

【請求項 16】

多糖 (例えば、ホモ多糖またはヘテロ多糖) 生産ラクトバチルス種に属する株であって、前記株が、グリコシルトランスフェラーゼ (例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ) 酵素をエンコードするヌクレオチド配列を含み、および/または前記株が、グリコシルトランスフェラーゼ (例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ) 酵素を生産する、前記株。

【請求項 17】

ラクトバチルス ファーメンタム DSM 22584 株、並びにこの株の突然変異体およびバリエーションからなる群から選択される菌株。

【請求項 18】

DSM 22592 株、DSM 22585 株、DSM 18111 株、DSM 21408 株、DSM 22587 株および DSM 22884 株、並びにこれらの任意の突然変異体およびバリエーションからなる群から選択される、ストレプトコッカス サーモフィラス種に属する菌株。

【請求項 19】

多糖 (ホモ多糖またはヘテロ多糖など) および/またはグリコシルトランスフェラーゼ (例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ) 酵素生産ラクトバチルス種に属する株、および/またはラクトバチルス ファーメンタム株 (DSM 22584 株、またはこの株の突然変異体またはバリエーションなど); およびストレプトコッカス サーモフィラス種に属する株 (多糖生産株など) を、混合物としてまたはキットの一部 (kit of parts) としてのいずれかで含む、組成物。

【請求項 20】

前記組成物が、少なくとも  $10 \times 10^7 \text{ CFU/g}$  (細胞形成単位/g)、例えば、少なくとも  $10 \times 10^8$  または  $10 \times 10^{10} \text{ CFU/g}$  などの多糖および/またはグリコシルトランスフェラーゼ酵素生産ラクトバチルス種およびまたはラクトバチルス ファーメンタム種に属する株; および少なくとも  $10 \times 10^7 \text{ CFU/g}$  (細胞形成単位/g)、例えば、少なくとも  $10 \times 10^8$  または  $10 \times 10^{10} \text{ CFU/g}$  などのストレプトコッカス サーモフィラス種に属する株を含む、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

10

20

30

40

50

前記組成物が、スターター培養物として使用でき、そして凍結、凍結乾燥または液体形態である、請求項 19 または 20 に記載の組成物。

【請求項 22】

ラクトバチルス ファーメンタム DSM 22584 株およびこの株の突然変異体またはバリエーションからなる群から選択されるラクトバチルス種に属する前記株；および DSM 22592 株、DSM 22585 株、DSM 18111 株、DSM 21408 株、DSM 22587 株、DSM 22884 株、CNCM I-3617 株、DSM 18344 株、CNCM I-2980 株、およびこれらの株の任意の突然変異体およびバリエーションからなる群から選択されるストレプトコッカスサーモフィラス種に属する前記株である、請求項 19 ~ 21 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 23】

請求項 17 に記載の菌株および請求項 18 に記載の菌株を、混合物としてまたはキットの一部としてのいずれかで含む、組成物。

【請求項 24】

請求項 19 ~ 23 のいずれか一項に記載の組成物、または請求項 17 または 18 に記載の菌株を乳基質に添加することによって得られる、発酵乳製品。

【請求項 25】

前記発酵乳製品が、果実濃縮物、シロップ、プロバイオ菌培養物、プレバイオ剤、着色剤、増粘剤、および保存剤からなる群から選択される成分を場合により含み；および/または場合により、攪拌タイプ製品、セットタイプ製品、または飲用製品の形態である、請求項 24 に記載の発酵乳製品。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、増強されたゲル剛性を伴う発酵乳製品の生産のための方法に関する。

【背景技術】

【0002】

乳酸菌は、発酵食品の生産のために広く使用され、そしてそれらは、フレーバー、テクスチャー、およびこれらの製品の全体の特徴に非常に大きく寄与している。古いそして良く知られた例は、おそらく中東起源でありそして未だに発酵乳製品の半分以上 言い換えれば 2008 年において 1900 万トン（情報源：Euro Monitor）、を構成するヨーグルトである。例えばヨーグルトとしての発酵乳は、健康的なイメージおよび好ましい官能特性ゆえ、人気が高い。

30

【0003】

世界中の多くの場所で、低脂肪発酵乳についての関心の増加が見られる。この姿勢は、官能品質の低減なしに低脂肪発酵乳製品を生産することは困難であるため、乳酸菌培養にとって並びに生産工程にとって著しい挑戦である。

【0004】

ヨーグルトは、脂肪およびタンパク質含量に関して標準化され、ホモジナイズされそして熱処理された乳から生産される。この後、当該乳にストレプトコッカスサーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) およびラクトバチルスデルブリュッキー亜種ブルガリカス (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) の培養物を植菌し、そして続いて pH 4.5 付近まで発酵させる。さらに伝統的なヨーグルト培養物に加えて、プロバイオ培養物 (probiotic culture)、例えばビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) などが、更なる健康効果を付加するために応用できる。

40

【0005】

テクスチャーは、発酵乳にとって非常に重要な品質パラメーターである。高度な食感および口内での広がり (mouth coating) を伴う滑らかな粘度が、消費者から要求される。その傾向は、増大した食感 (粘性) および口内での広がりが求められること

50

であり - 低脂肪発酵乳製品でさえそうである。発酵乳製品について、高い粘性は、菌体外多糖を生産する乳酸菌培養物の使用により得ることができる。同時に、当該製品は、高レベルのゲル剛性を有することを求められる。高レベルのゲル剛性は、製品の濃厚な外観および食べる前にかき混ぜるとき、スプーンに抵抗性を与え、そしてそれは多くの消費者により非常に好まれる。発酵乳製品におけるゲル剛性は、主に、乳の酸性化の間に形成されるタンパク質ネットワークの強さ/密度によって支配される。菌体外多糖およびタンパク質ネットワークの両方が、貯蔵の間の一般的な欠陥離液（製品上部のホエイ分離）に対し保護を確実にすることが知られている。菌体外多糖の存在が、物理的に堅固なタンパク質ネットワークの形成を阻害すると思われるため、高粘度（菌体外多糖）および高いゲル硬度の組み合わせは、しかしながら、（添加物なしの）ヨーグルトについて得るには困難であろう。

10

#### 【0006】

多くの地域での傾向は、芳香特性を伴うマイルドなフレーバー（低度後酸性化（low post acidification））が好ましいフレーバー特性であることである。世界のヨーグルト製品の大部分は、しかしながら、フレーバーおよび/または果実調理食品が付加される。

#### 【0007】

新しい培養物調合技術、例えば伝統的にヨーグルト製品に応用されない菌種のおよび/または菌種間の相互作用の使用などは、これらのターゲットを得るために興味深い。

20

#### 【0008】

従って、改善された発酵乳製品およびこれらの製品の生産用の乳酸菌培養物の必要性がある。

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0009】

本発明者らは、乳酸菌の特定のグループが、また伝統的なヨーグルトと比較したときに、結果として高粘度、高ゲル剛性、高い口の中での広がり、心地のよいフレーバー、および低度後酸性化をもたらす乳発酵のための能力を有することを驚くべきことに見出した。

#### 【0010】

従って、重要な態様として、本発明は、高粘度維持または増強と同時に、発酵乳製品についてゲル剛性および口の中での広がりを増強するために、「ヨーグルト」培養物中の、ラクトバチルス デルブリュッキー亜種 ブルガリカス（*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*）株を置き換えるために（すべてまたは部分的に）ラクトバチルス ファーメンタム（*Lactobacillus fermentum*）種の多糖生産株を使用することに関する。

30

#### 【0011】

更なる態様として、本発明は、乳酸菌を含むスターター培養物に関し、そして本発明のスターター培養物で乳を発酵することにより製造された発酵乳製品に関する。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0012】

【図1】図1は、発酵乳サンプル104（Lb. ファーメンタム（*fermentum*）CHCC 2008 + ST（CHCC 6008 + CHCC 7018））、116（Lb. ブルガリカス（*bulgaricus*）CHCC 7159 + ST（CHCC 6008 + CHCC 7018））および120（Lb. ブルガリカス（*bulgaricus*）CHCC 4351 + ST（CHCC 6008 + CHCC 7018））について、せん断速度の関数として測定したせん断応力の、発酵乳についての流動曲線（flow curve）を示す。

40

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0013】

詳細な開示

50

第一態様として、本発明は、多糖および/またはグリコシルトランスフェラーゼ酵素を生産できるラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種に属する株および/またはラクトバチルス ファーメンタム (*Lactobacillus fermentum*) 種に属する株で乳基質を発酵することを含む、発酵乳製品の生産のための方法に関する。本発明の文脈において好ましいグリコシルトランスフェラーゼは、フルクトシルトランスフェラーゼおよびグルコシルトランスフェラーゼである。当該トランスフェラーゼは、酵素分類システムの EC 2.4 群に属する。本発明との関係において好ましい多糖は、菌体外多糖、ホモ多糖およびヘテロ多糖である。

**【0014】**

本発明の方法は、さらに、前記種に属する株：ストレプトコッカス サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*)、例えば多糖生産株など、および/または DSM 22592 株、DSM 22585 株、DSM 18111 株、DSM 21408 株、DSM 22587 株、DSM 22884 株、CNCM I 3617 株 (WO 2008/040734)、DSM 18344 株 (WO 2007/144770)、および CNCM I 2980 株 (US 2006/0240539) からなる群から選択される株、並びにこれらの任意の突然変異体およびパリアントと、乳基質の発酵を含んでもよい。

10

**【0015】**

乳基質は、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種に属する株と発酵する前、間または後に、ストレプトコッカス サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種に属する株と発酵させてもよい。乳基質は、多糖生産ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種に属する株との発酵の間、ストレプトコッカス サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種に属する株と発酵させることが現在のところ好ましい。

20

**【0016】**

興味深い実施態様において、本発明の方法は、発酵の前、間およびまたは後に、乳基質に酵素、例えばタンパク質を架橋できる酵素、トランスグルタミナーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ、キモシン、およびレンネットからなる群から選択される酵素の添加を含む。

**【0017】**

ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種は、ラクトバチルス ファーメンタム (*Lactobacillus fermentum*) であることが現在好ましい。もっとも好ましい株は、ラクトバチルス ファーメンタム (*Lactobacillus fermentum*) DSM 22584 株であり、並びにこの株の突然変異体およびパリアントである。

30

**【0018】**

更なる態様において、本発明は、多糖 (例えば、ホモ多糖またはヘテロ多糖) 生産ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種に属する株、例えばグリコシルトランスフェラーゼ (例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ) 酵素をエンコードするヌクレオチド配列を含む株、および/またはグリコシルトランスフェラーゼ (例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ) 酵素を生産する株、並びに多糖 (例えば、ホモ多糖またはヘテロ多糖) 生産ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種に属する株であって、グリコシルトランスフェラーゼ (例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ) 酵素をエンコードするヌクレオチド配列を含む前記株、および/またはグリコシルトランスフェラーゼ (例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ) 酵素を生産する前記株に関する。

40

重要な実施態様において、菌株は、ラクトバチルス ファーメンタム (*Lactobacillus fermentum*) DSM 22584 株、並びにこの株の突然変異体およびパリアントである。

50

## 【0019】

他の態様において、本発明は、DMS 22592株、DMS 22585株、DMS 18111株、およびDMS 21408株、DMS 22587株、DMS 22884株、並びにこれらの株の任意の突然変異体およびバリエーションからなる群から選択される、ストレプトコッカス サーマフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種に属する菌株に関する。

## 【0020】

さらに他の態様において、本発明は、以下の：

- 多糖（ホモ多糖またはヘテロ多糖など）および/またはグリコシルトランスフェラーゼ（例えば、フルクトシルトランスフェラーゼまたはグルコシルトランスフェラーゼ）酵素生産ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種に属する株；および
  - ストレプトコッカス サーマフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種（多糖生産株など）に属する株
- を、混合物としてまたはキットの一部 (kit of parts) としてのいずれかを含む組成物に関する。

10

## 【0021】

重要な実施態様として、本発明の組成物は、少なくとも  $10 \times 10^7$  CFU（細胞形成単位）の、多糖および/またはグリコシルトランスフェラーゼ酵素を生産するラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種に属する株；および少なくとも  $10 \times 10^8$  CFUのストレプトコッカス サーマフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種に属する株を含む。

20

## 【0022】

本発明の組成物は、スターター培養物として使用できてもよく、そして凍結、凍結乾燥または液体形態であってもよい。

## 【0023】

現在好ましい実施態様は、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種に属する株が、ラクトバチルス ファーメンタム (*Lactobacillus fermentum*) DSM 22584株、およびこの株の突然変異体またはバリエーションからなる群から選択され；そしてストレプトコッカス サーマフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種に属する株が、DSM 22592株、DSM 22585株、DSM 18111株、DSM 21408株、DSM 22587株、DSM 22884株、CNCM I 3617株 (WO 2008/040734)、DSM 18344株 (WO 2007/144770)、CNCM I 2980株 (US 2006/024053) 並びにこれらの株の任意の突然変異体およびバリエーションからなる群から選択される、本発明の組成物である。

30

## 【0024】

最後の態様において、本発明は、本発明の方法により得られる発酵乳製品に関する。

## 【0025】

興味深い実施態様において、本発明の発酵乳製品は、果実濃縮物、シロップ、プロバイオ菌培養物（例えば、ビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*)、例えばBB-12（登録商標）の培養物）、プレバイオ剤 (prebiotic agent)、着色剤、増粘剤、および保存剤からなる群から選択される成分を含む。

40

## 【0026】

本発明の発酵乳製品は、攪拌タイプ (stirred type) 製品、セットタイプ (set type) 製品、または飲用 (drinkable) 製品の形態をとってもよい。本発明の発酵乳製品は、また、チーズ、例えばフロマージュフレ (fromage frais) の形態をとってもよい。

## 【0027】

定義

本文脈において、用語「乳基質 (milk substrate)」は、本発明の方法

50

による発酵を受け得る任意の生および/または加工乳材料であってもよい。従って、有用な乳基質は、これに限定されないが、例えば、全乳または低脂肪乳、スキムミルク、バターミルク、還元乳パウダー、コンデンスミルク、ドライミルク、ホエイ、ホエイパーミエイト、ラクトース、ラクトースの結晶化由来の母液、ホエイプロテインコンセントレート、またはクリームなどの、任意の乳またはタンパク質を含む乳様製品の溶液/懸濁液を含む。言うまでもなく、乳基質は、例えば、実質的に純粋な哺乳類の乳、または還元乳パウダーのように、なんらかの哺乳類に由来するであろう。

【0028】

好ましくは、乳基質の少なくとも一部のタンパク質が、カゼインまたはホエイタンパク質のような乳中に天然に存在するタンパク質である。しかしながら、タンパク質の一部は乳中に天然に存在しないタンパク質であってもよい。

10

【0029】

用語「乳」は、例えばウシ、ヒツジ、ヤギ、スイギュウまたはラクダのような、なんらかの哺乳類を搾乳することにより得られる乳の分泌物として理解される。

【0030】

発酵前に、乳基質は、当該技術分野に既知の方法に従ってホモジナイズおよび殺菌されるであろう。

【0031】

本明細書中で使用される「ホモジナイズ (homogenizing)」は、可溶性懸濁液またはエマルジョンを得るために激しく混合することを意味する。仮にホモジナイズが発酵前に行われると、それは、乳脂肪がもはや乳から分離しないために、乳脂肪をより小さい大きさに分散するように遂行されるであろう。これは、乳を高圧で小さな開口を通して押し出すことで達成されるであろう。

20

【0032】

本明細書中で使用される「殺菌」は、例えば微生物などの生きている生体の存在を減らすまたは除去するための乳基質の処理を意味する。好ましくは、殺菌は特定の期間の間、特定の温度を維持することにより達成される。特定の温度は、普通加熱により達成される。温度および期間は、例えば有害な細菌などのあるバクテリアを殺しまたは不活性化するために選択されるであろう。急冷工程が、続いてよい。

【0033】

本発明の方法における「発酵」は、微生物(例えば、乳酸菌など、例えば、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種およびストレプトコッカスサーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種)の作用を通じて炭水化物のアルコールまたは酸への変換を意味する。好ましくは、本発明の方法における発酵は、乳糖の乳酸への変換を含む。

30

【0034】

ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種およびストレプトコッカスサーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種の細菌を含む乳酸菌は、バルクスターター増殖のための凍結または凍結乾燥培養物のいずれかとして、または例えば、発酵乳製品などの乳製品の生産のための発酵容器またはバット内に直接植菌用に予定されるいわゆる「ダイレクトバットセット (DVS)」培養物として乳業会社に通常供給される。そのような培養物は、「スターター培養物」または「スターター」として一般的に呼ばれる。本文脈において、「発酵乳製品」、または「発酵乳」は、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種の細菌 (特にラクトバチルスファーマンタム (*Lactobacillus fermentum*)) により、場合によりストレプトコッカスサーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 種の細菌と一緒に、発酵される乳基質として理解されるべきである。場合により、発酵乳 (製品) は、細菌を不活性化するための熱処理を受けてもよい。

40

【0035】

発酵乳製品の生産において使用される発酵工程は、よく知られそして当業者は、例えば

50

温度、酸素、炭水化物の添加、微生物（一または複数）の量および特徴並びに工程時間などの適切な工程条件の選択方法を知るであろう。言うまでもなく、発酵条件は、本発明の達成を支援するため、すなわち発酵乳製品を得るために選択される。

【0036】

用語「攪拌タイプ (Stirred type) 製品」は、発酵後機械的な処理を受け、その結果、発酵ステージにおいて形成された凝固物の破壊および液状化をもたらす発酵乳製品を指す。機械的処理は、典型的に、ゲルの攪拌、ポンピング、ろ過またはホモジナイズにより、あるいは他の成分とゲルとを混合することによって得られるが、これに限定されない。攪拌タイプ製品は、典型的に9～15%の無脂乳固形分を有するが、これに限定されない。

10

【0037】

用語「セットタイプ (Set type) 製品」は、例えばスターター培養物で植菌され、そして植菌工程の次にパッケージ化され、その次にパッケージ内で発酵された乳に基づく製品を含む。

【0038】

用語「飲用 (drinkable) 製品」は、例えば「飲用 (drinking) ヨーグルト」および類似物のような飲料を含む。用語「飲用ヨーグルト」は、典型的に、ラクトバチルス (Lactobacillus) 種およびストレプトコッカスサーモフィラス (Streptococcus thermophilus) の組み合わせによる発酵により生産される乳製品をカバーする。飲用ヨーグルトは、典型的に、8%またはそれ以上の無脂乳固形分を有する。さらに、飲用ヨーグルトドリンク用の生培養計数 (live culture count) は、典型的に少なくとも $10^6$ 細胞形成単位 (CFU) / mlである。

20

【0039】

本文脈において、用語「突然変異体」は、例えば遺伝子工学、放射線および/または化学剤処理を用いた本発明の株由来の株として理解されるべきである。突然変異体は、機能的に同等の突然変異体、例えば、母株と実質的に同一の、または改善された特性（例えば、粘度、ゲル剛性、口内での広がり、フレーバー、および/または後酸性化に関して）を有する突然変異体である。そのような突然変異体は、本発明の一部である。特に、用語「突然変異体」は、例えばエチルメタンスルホネート (EMS) またはN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (NTG)、UVライトのような化学的変異原との処理を含む、任意の従来使用される変異誘発処理に本発明の株をかけることによって得られる株、または自然発生突然変異体を指す。

30

【0040】

本文脈において、用語「バリエーション」は、例えば、実質的に同一の、または改善された特性（例えば、粘度、ゲル剛性、口内での広がり、フレーバー、および/または後酸性化に関して）を有する、本発明の株と機能的に同等の株として理解されるべきである。適当なスクリーニングを使用することで同定されうるそのようなバリエーションは、本発明の一部である。

【0041】

用語「一つの (a)」および「一つの (an)」および「その (the)」の使用並びに本発明に記載する本文脈における（特に、以下の請求項の構成において）同様の指示語は、本明細書において他に示されない限り、または文脈と明らかに矛盾しない限り、単数形または複数形の両方をカバーすると解釈される。用語「含む (comprising)」、「有する (having)」、「含む (including)」および「含む (containing)」は、他に注意がない限り、非制限用語（すなわち、「に限定されないが、含む」 (including, but not limited to)）を意味）として解釈される。本明細書中の数値範囲の記載は、本明細書において他に示されない限り、その範囲内にある各々別個の値を個々に示す簡略化した方法として有用であることを単に意図し、各々別個の値は、それが個々に本明細書に記載されたように本明細書中に

40

50

組み込まれる。本明細書に記載されたすべての方法は、本明細書において他に示されない限り、または文脈と明らかに矛盾しない限り、任意の適当な順序で行われ得る。本明細書において提供される任意の、および全ての例、または例示のための用語（例えば、「など（such as）」）は、本発明をよりよく示すことを単に意図されたものであって、他に記載されない限り、本発明の範囲において限定を課すものではない。本明細書における如何なる用語も、本発明の実施において不可欠である、請求項に記載されていない要素を示すものとして解釈されるべきではない。

【実施例】

【0042】

実施例 1：

ストレプトコッカス サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) + ラクトバチルス種 ファーメンタム (*Lactobacillus species fermentum*) の発酵乳製品とストレプトコッカス サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) + ラクトバチルス デルブリュッキー亜種 ブルガリカス (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) の伝統的なヨーグルトとの比較。

【0043】

ストレプトコッカス サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) の 4 つの異なる株を、ストレプトコッカス サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*) 株 (以後、「ST 株」(*ST-strain*) という) の選択と無関係に、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 特性の一般的な知見を得るために (一つずつ) 用いた。

【0044】

12 個の発酵乳を 200 ml スケールで 2 回生産した。ラクトバチルス株 ファーメンタム (*Lactobacillus strains fermentum*) ( $n=1$ ) およびデルブリュッキー亜種 ブルガリカス (*delbrueckii subsp. bulgaricus*) を、一つずつ、4 つの異なる ST 株のそれぞれの株と組み合わせて試した。ST 株 CHCC7018 株 (*DSM21408* 株) の 5% を、それぞれの培養物に添加して、十分な酸性化率を確保した。

【0045】

ミルクベース (*milk base*) は、1.5% 脂肪の乳、添加された 2% スキムミルクパウダーおよび 5% スクロースで構成される。ミルクベースを、90 で 20 分間、熱処理し、そして発酵温度 40 に冷却した。その後、0.02% 乳酸菌培養物 (*F-DVS = フローズン ダイレクト パット セット カルチャー*) で植菌した。培養物の組成は、表 1 に示す。pH 4.55 まで発酵後、ヨーグルトを、標準化された方法で攪拌し、ウォーターバスで 25 に冷却し、そして分析を、1 日目および 7 日目のそれぞれで行うまで、8 で貯蔵した。

【0046】

10

20

30

【表 1】

	ラクトバチルス				ストレプトコッカス サーマフィラス				
	ファーマンタム		デルブリュッキー亜種ブルガリカス	デルブリュッキー亜種ブルガリカス					
DSM	22584		17959	22586	*	22592	22585	18111	21408
CHCC	2008		7159	4351		10655	4239	6008	7018
101	30%				65%				5%
102	30%					65%			5%
103	30%						65%		5%
104	30%							65%	5%
113			30%		65%				5%
114			30%			65%			5%
115			30%				65%		5%
116			30%					65%	5%
117				30%	65%				5%
118				30%		65%			5%
119				30%			65%		5%
120				30%				65%	5%

表1. 実施例で使用した培養物組成

\*Chr. Hansen A/S社から入手できる市販品ST-BODY-4

## 【0047】

1日および7日保存後、pHをそれぞれ測定した。すべての製品を同一の終pH(4.55)で発酵したため、貯蔵後のpHは、貯蔵の間に起きる後酸性化の程度を反映する。

## 【0048】

レオロジー分析は、Rheologica Instruments, Lund, Sweden製の、ストレステックレオメーター(StressTech rheometer)を使用した。分析は、13で行った。最初、ゲル剛性を反映する $G^*$ を、1Hzの振動数で振動(oscillation)により測定した。続いて、せん断速度0.1/s~300.1/s、300.1/s~0.1/s(上昇および下降曲線で)の関数としてせん断応力を測定する流動曲線を、記録した。上昇および下降曲線の間の、ヒステリシス(hysteresis)ループ面積を計算し、上昇曲線下面積で割り、相対的なループ面積を供した。せん断速度300.1/sで測定したせん断応力を選択し、サンプルの見かけ上の粘度を表した(表2に記録されたデータ)。流動曲線の実例として図1を参照のこと。

## 【0049】

乳中の菌培養物の発酵に由来する揮発性化合物(VOC)を、水素炎イオン化型検出器を備えるオートシステムXL GC(Perkin Elmer, Waltham, US)を使用し、静的(static)ヘッドスペースガスクロマトグラフィー(HSGC)により分析した。発酵乳サンプルを、固体塩化ナトリウム、フッ化ナトリウムで保存しそしてリン酸緩衝液(pH7)で安定化した。ヘッドスペースの一部(50 $\mu$ L)を、GC内に注入し、そして化学的性質および沸点により、揮発化合物を分離した。ピークサイズ(高さおよび面積)は、注入したサンプル量中の化合物濃度に正比例する。標準(既知の濃度)を分析することで、感度係数(ピークサイズあたりの感度)を決定し、そして分析したサンプルから得られたピークサイズを、感度係数を用いてppmに変換した。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 0 】

【 表 2 】

	pH (1日目)	pH (7日目)	せん断応力 (Pa)	ゲル剛性 G* (Pa)	ループ面積 (相対値)
Lb. ファーメンタム DSM22584 CHCC2008	4.51	4.38	92.3	94.3	0.38
Lb. ブルガリカス DSM17959 CHCC7159	4.39	4.30	88.8	87.5	0.38
Lb. ブルガリカス DSM22586 CHCC4351	4.42	4.35	89.8	79.8	0.39

10

表2. 実施例の結果 すべてのデータは、ラクトバチルス株(4つの異なるST株)あたり4製品および2回の平均である

【 0 0 5 1 】

ラクトバチルス種 ファーメンタム (*Lactobacillus species fermentum*) の発酵乳は、ラクトバチル デルブリュッキー亜種 ブルガリカス (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) の製品と比較して貯蔵1日目および7日目のpH値が、より高かった。これは、ラクトバチルス デルブリュッキー亜種 ブルガリカス (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) (また、Lb. ブルガリカス (*bulgaricus*) と呼ぶ) の伝統的なヨーグルトと比較して、これらの発酵乳中でより低いレベルの後酸性化が起こったことを意味する。低度後酸性化は、大抵の消費者により求められるマイルドな発酵乳製品の生産を可能にするため、非常に価値のある特性である。

20

【 0 0 5 2 】

Lb. ブルガリカス (*bulgaricus*) と比較して、Lb. ファーメンタム (*fermentum*) の発酵乳製品において、より高い粘度 (せん断応力) が得られた。図1は、Lb. ファーメンタム (*fermentum*) および2つの異なるブルガリカス (*bulgaricus*) 株の発酵乳製品の流動曲線 - すべて同一のバックグラウンド (CHCC6008株およびCHCC7018株の組み合わせ)、を示す。見かけ上の粘度 (せん断応力レベル) は、ブルガリカス (*bulgaricus*) の2つの製品と比較してファーメンタム (*fermentum*) の製品が、明らかにより高かった。これは、50 1/s からそして300 1/s まで、すべてのせん断速度について当てはまる。

30

【 0 0 5 3 】

非常に興味深いことに、Lb. ファーメンタム (*fermentum*) の製品は、また、Lb. ブルガリカス (*bulgaricus*) の2つの製品よりもより高いゲル剛性レベルを得た。乳酸菌培養物に起因するこの組み合わせ効果 (より高い粘度およびより高いゲル剛性) を見ることは、まれである。しばしば、ゲル剛性の減少の結果、改善された粘度を生じる。しかしながら、高い粘度と高いゲル剛性の組み合わせは、背景部分で記載したように、商業的に非常に魅力的である。

40

【 0 0 5 4 】

最後のレオロジーパラメーター「ループ面積」は、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種の選択によって影響を受けるように思われない。

【 0 0 5 5 】

結論として、本研究は、ラクトバチルス種 ファーメンタム (*Lactobacillus*)

50

us species fermentum) の適用が、Lb. ブルガリカス (bulgaricus) で生産された製品 同一のカルチャーバックグラウンドにおいて (4つの異なるバックグラウンドカルチャーを試した) と比較して、よりマイルド (低度後酸性化) でそしてより高い粘度並びにより高いゲル剛性を持つ発酵乳製品の生産を可能にすることを示す。

【0056】

ストレプトコッカス サーモフィラス (Streptococcus thermophilus) 株および本発明のラクトバチルス (Lactobacillus) 株を使用し調製された発酵乳製品を、揮発性化合物に関して分析し、そして標準ヨーグルトと比較した (表3参照)。揮発性化合物についての大きな相違を、Lb. ファーメンタム (fermentum) で生産された発酵乳製品と他の発酵乳製品との比較間で見出した。興味深いことに、Lb. ファーメンタム (fermentum) を含む発酵乳製品において、顕著により高いエタノールレベルを見出した。さらに、アセトアルデヒドおよびアセトンレベルは、Lb. ファーメンタム (fermentum) で調製された発酵乳でより低かった。揮発性化合物のこれらの相違は、「ヨーグルト」のフレーバーおよび食感に寄与することが示唆される。

10

【0057】

【表3】

サンプル	アセトアルデヒド (ppm)	アセトン (ppm)	エタノール (ppm)	ジアセチル (ppm)
Lb. ファーメンタム CHCC2008	2,9	0,6	10,6	<0,1
Lb. ブルガリカス CHCC7159	6,6	1,2	<2,9	<0,1
Lb. ブルガリカス CHCC4351	7,1	1,2	<2,9	<0,1

20

表3. 実施例の結果 すべてのデータは、ラクトバチルス株 (4つの異なるST株) あたり4製品および2回の平均である

30

【0058】

実施例 2 :

低脂肪ヨーグルトにおけるラクトバチルス ファーメンタム (Lactobacillus fermentum) DSM 22584 株の影響

2つの発酵乳を3Lスケールで生産した。ラクトバチルス ファーメンタム (Lactobacillus fermentum) DSM 22584 株を、2つの異なるストレプトコッカス サーモフィラス (Streptococcus thermophilus) 株 (DSM 22587 株および DSM 22884 株) の混合物およびラクトバチルス デルブリュッキー亜種 ブルガリカス (Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus) 株 DSM 19252 株存在下、組み合わせて試験をした。コントロール培養物は、同一の2つのST株およびラクトバチルス デルブリュッキー亜種 ブルガリカス (Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus) DSM 19252 株のみを含む (表4参照)。

40

【0059】

ミルクベースは、2% スキムミルクパウダーを添加したスキムミルクで構成される。ミルクベースを、95 で6分間熱処理し、そして発酵温度42 に冷却した。その後、0.018% 乳酸菌培養物 (F-DVS = フローズン ダイレクト バット セット カルチャー) で植菌した。培養物組成を表3に示す。pH 4.55まで発酵した後、機械的後処理 (42 / 2 bar / flow 45 l / hour) を、1分間行いそしてヨーグル

50

トを5 に冷却し、そして分析を4日目および35日目のそれぞれで行うまで、5 で貯蔵した。

【0060】

【表4】

表4. 実施例で使用した培養物組成

	ラクトバチルス ファーマンタム	ラクトバチルス デルブリュッキー 亜種 ブルガリカス	ストレプトコッカス	サーモフィラス
DSM	22584	19252	22587	22884
CHCC	2008	10019	5086	11379
M1	11%	5, 5%	72, 5%	11%
対照	-	11%	78%	11%

10

【0061】

pHを35日貯蔵で測定した。すべての製品を、同一の終pH(4.55)で発酵したので、貯蔵後のpHは、貯蔵の間起こった後酸性化のレベルを反映している。

定性的官能評価を、生産後4日目で5人の専門家によって行った。レオロジー分析を、実施例1のように行った。

20

【0062】

【表5】

	pH	レオロジー			官能評価	
		せん断速度 300 1/s における せん断 応力 (Pa)	ゲル剛性 G*(Pa)	ループ面積 (相対値)	スプーンで 製品を すくった 時の濃厚力 (thickness force)	飲み込んだ 後の口内での 口の中に 広がる ヨーグルトの とどまり
Lb. ファーマンタム M1 DSM22584 CHCC2008	0,16	48,0	32,66	0.38	+	+
対照	0,18	45,8	4,10	0.37	-	-

30

表5. 実施例2の結果

40

【0063】

ヨーグルトにおけるラクトバチルス種 ファーマンタム (*Lactobacillus species fermentum*) の使用は、後酸性化を増加しなかった。

【0064】

ファーマンタム (*fermentum*) の製品の見かけ上の粘度 (せん断応力レベル) は、コントロールと比較してわずかに高かった。「ループ面積」は、培養物選択によって影響を受けなかった。

【0065】

驚くべきことに、単一のラクトバチルス (*Lactobacillus*) 種としての *Lb.* ブルガリカス (*bulgaricus*) のコントロール製品よりも、*Lb.* ファーメ

50

ンタム (fermentum) の製品は、顕著により高いゲル剛性レベルを得た。乳酸菌培養物に起因するこの組み合わせ効果 (より高い粘度およびより高いゲル剛性) を見ることは、まれである。しばしば、改善された粘度は、ゲル合成の低下をもたらすものである。しかしながら、高い粘度および高いゲル剛性の組み合わせは、背景部分で記載したように、商業的に非常に魅力的である。

ゲル剛性上の Lb . ファーメンタム (fermentum) の影響は、官能分析の評価員によって明らかに見出された。

#### 【0066】

結論として、本研究は、ラクトバチルス種 ファーメンタム (Lactobacillus species fermentum) の適用が、単一のラクトバチルス (Lactobacillus) 種としての Lb . ブルガリカス (bulgaricus) と同一のストレプトコッカス サーマフィラス (Streptococcus thermophilus) 株の組み合わせで生産された製品と比較して、マイルド (低度後酸性化) で、高い粘度および同時に顕著により高いゲル剛性を示す発酵乳製品の生産を可能にすることを示す。

#### 【0067】

本発明の好ましい実施態様は、本明細書において記載され、本発明を実施するための本発明者の知る最良の形態 (best mode) を含む。それらの好ましい実施態様のバリエーションは、先の記載を読んだ場合において、当業者にとって明らかとなり得る。本発明者は、適当にそのようなバリエーションを使用することができることを当業者に期待し、そして本発明者は、当該発明が本明細書において具体的に記載されたものとは別の方法で行われることを意図している。したがって、本発明は、ここに添付された特許請求の範囲中に記載された対象の全ての改良および均等物を、適用法によって許される限り含む。さらに、その全ての可能なバリエーションにおける、上記の要素の任意の組み合わせは、本明細書において他に示されない限り、または文脈に明らかに矛盾しない限り含まれる。

#### 【0068】

##### 寄託およびエキスパートソリューション

本出願人は、以下に規定した寄託された微生物のサンプルが、出願人により承認された専門家に利用可能にされてもよいことを要求する。寄託は、特許手続の目的のため微生物の寄託の国際的な承認によるブタベスト条約に従ってなされた。

ラクトバチルス (Lactobacillus) およびストレプトコッカス (Streptococcus) 株は、ドイツ国際寄託機関 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ)、所在地 (Inhofenstr. 7B、D-38124 Braunschweig) に2009年5月19日に寄託されそして受託番号を与えられた：

ラクトバチルス ファーメンタム (Lb . fermentum) CHCC2008株 : DSM22584株

ラクトバチルス デルブリュッキー亜種 ブルガリカス (Lb . delbrueckii subsp . bulgaricus) CHCC4351株 : DSM22586株

ストレプトコッカス サーマフィラス (Streptococcus thermophilus) CHCC10655株 : DSM22592株

ストレプトコッカス サーマフィラス (Streptococcus thermophilus) CHCC4239株 : DSM22585株。

さらに、DSMZに受託された：

ラクトバチルス ブルガリカス (Lb . bulgaricus) CHCC7159株 : DSM17959株 (受託日：2006年2月8日)

ストレプトコッカス サーマフィラス (Streptococcus thermophilus) CHCC6008株 : DSM18111株 (受託日：2006年3月23日)

10

20

30

40

50

ストレプトコッカス サーモフィラス (streptococcus thermophilus) CHCC7018株 : DSM21408株 (受託日 : 2008年4月23日)

ストレプトコッカス サーモフィラス (streptococcus thermophilus) CHCC5086株 : DSM22587株 (受託日 : 2009年5月19日)

ストレプトコッカス サーモフィラス (streptococcus thermophilus) CHCC11379株 : DSM22884株 (受託日 : 2009年8月26日)

ラクトバチルス デルブリュッキー亜種 ブルガリカス (Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus) CHCC10019株 : DSM19252株 (受託日 : 2007年4月3日)。

10

【0069】

参考文献

WO2008/040734、WO2007/144770、US2006/0240539、WO2007/147890、WO2010/023290。本特許書類にあるすべての参照は、それらのすべてについて参照により、これによって本明細書中に取り込まれる。

【図1】

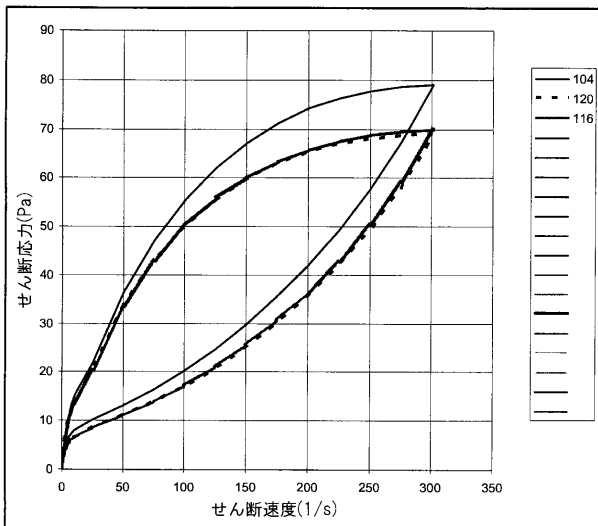


Fig 1

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2010/059303
---

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A23C9/123 A23K1/00 A23K1/08 C12N1/20 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A23C A23K C12N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, FSTA, COMPENDEX, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 656 268 A (SORODSKY MICHAEL [US]) 12 August 1997 (1997-08-12) the whole document	1-25
X	----- MODZELEWSKA-KAPITULA ET AL.: "Evaluation of the possible use of potentially probiotic Lactobacillus strains in dairy products", INTERNATIONAL JOURNAL OF DAIRY TECHNOLOGY, vol. 61, no. 2, 2 May 2008 (2008-05-02), pages 165-169, XP002626043, P. 166: "yogurt production"	1-25
X	US 2005/130279 A1 (HOLLAND ROSS [NZ] ET AL) 16 June 2005 (2005-06-16) example 4	1-25
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
3 March 2011		16/03/2011
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Koch, Jürgen

5

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2010/059303

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE WPI Week 200570 Thomson Scientific, London, GB; AN 2005-677563 XP002626044, & CN 1 628 530 A (HARBIN MEIHUA BIOLOGIC TECHNOLOGY CO LTD) 22 June 2005 (2005-06-22) * abstract -----	1-25
X	US 6 599 504 B1 (WADSTROM TORDEL [SE] ET AL) 29 July 2003 (2003-07-29) example 8 -----	1-25
X	SAWADOGO-LINGANI ET AL.: "Technological properties of Lactobacillus fermentum involved in the processing of dolo and pito, West African sorghum beers, for the selection of starter cultures", JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 104, no. 3, 2008, pages 873-882, XP002626045, page 879, left-hand column, paragraph 2 -----	16,17
A	EP 0 323 201 A2 (YAKULT HONSHA KK [JP]) 5 July 1989 (1989-07-05) page 3, lines 2-37; table 1 -----	1-15, 18-25
X	WO 2007/044439 A2 (ACILLIX INC [US]; PERRY THOMAS D [US]) 19 April 2007 (2007-04-19) page 25, paragraph 2 -----	1-15, 18-25
X	WO 2008/148561 A1 (HANSENS LAB [DK]; BEZENER MARIE-CLAUDE [FR]; ODINOT JEAN-MARIE [FR];) 11 December 2008 (2008-12-11) claim 1 -----	18

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2010/059303

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5656268	A	12-08-1997	NONE
US 2005130279	A1	16-06-2005	AT 341225 T 15-10-2006 AU 2003206477 A1 09-09-2003 CA 2476885 A1 28-08-2003 DE 60308834 T2 15-03-2007 DK 1482806 T3 05-02-2007 EP 1482806 A1 08-12-2004 JP 2005517417 T 16-06-2005 MX PA04008060 A 01-07-2005 WO 03070010 A1 28-08-2003
CN 1628530	A	22-06-2005	NONE
US 6599504	B1	29-07-2003	AT 318889 T 15-03-2006 AU 751284 B2 08-08-2002 AU 1896899 A 28-06-1999 CA 2313245 A1 17-06-1999 CZ 20001983 A3 11-04-2001 DE 69833691 T2 31-08-2006 DK 1036160 T3 08-05-2006 EE 200000339 A 15-08-2001 EP 1036160 A1 20-09-2000 ES 2255195 T3 16-06-2006 HU 0100428 A2 28-06-2001 JP 4247458 B2 02-04-2009 JP 2001526024 T 18-12-2001 NO 20002919 A 08-08-2000 PL 341010 A1 12-03-2001 PT 1036160 E 31-07-2006 RU 2205871 C2 10-06-2003 SE 510813 C2 28-06-1999 SE 9704577 A 09-06-1999 WO 9929833 A1 17-06-1999
EP 0323201	A2	05-07-1989	AU 2709788 A 29-06-1989 CA 1327720 C 15-03-1994 DE 3878879 D1 08-04-1993 DE 3878879 T2 17-06-1993 JP 1168234 A 03-07-1989 JP 2518663 B2 24-07-1996 NZ 227440 A 26-02-1991 US 4944952 A 31-07-1990
WO 2007044439	A2	19-04-2007	NONE
WO 2008148561	A1	11-12-2008	AT 489853 T 15-12-2010 DK 2173183 T3 24-01-2011 EP 2173183 A1 14-04-2010 US 2010189841 A1 29-07-2010

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100179039

弁理士 伊藤 洋介

(72)発明者 ディテ マリエ フォルケンベルウ

デンマーク国, デーコー - 3 4 0 0 ヒルレズ, ベド スコウゲルデート 3 3

(72)発明者 ロネ ポウルセン

デンマーク国, デーコー - 2 6 1 0 レドブレ, ロードマンド ビレス バイ 1 9 7

Fターム(参考) 4B001 AC31 BC14 EC04

4B065 AA30X AC20 BA22 BB24 CA42