

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4157674号
(P4157674)

(45) 発行日 平成20年10月1日(2008.10.1)

(24) 登録日 平成20年7月18日(2008.7.18)

(51) Int.Cl.

F 1

A23C 9/123	(2006.01)	A 23 C 9/123
A23C 9/127	(2006.01)	A 23 C 9/127
A23C 9/13	(2006.01)	A 23 C 9/13
A23L 1/30	(2006.01)	A 23 L 1/30 Z

請求項の数 4 (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2000-245628 (P2000-245628)
(22) 出願日	平成12年8月14日 (2000.8.14)
(65) 公開番号	特開2002-58425 (P2002-58425A)
(43) 公開日	平成14年2月26日 (2002.2.26)
審査請求日	平成18年9月13日 (2006.9.13)

微生物の受託番号	ATCC 393
微生物の受託番号	ATCC 9649
微生物の受託番号	ATCC 15009
微生物の受託番号	ATCC 12315
微生物の受託番号	ATCC 7469
微生物の受託番号	JCM 1112
微生物の受託番号	JCM 2012
微生物の受託番号	ATCC 14365
微生物の受託番号	FERM BP-6224
微生物の受託番号	FERM BP-6223

(73) 特許権者	000006884 株式会社ヤクルト本社 東京都港区東新橋1丁目1番19号
(74) 代理人	100101432 弁理士 花村 太
(74) 代理人	100092082 弁理士 佐藤 正年
(74) 代理人	100099586 弁理士 佐藤 年哉
(72) 発明者	清水 加奈子 東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会社ヤクルト本社内
(72) 発明者	工藤 聰 東京都港区東新橋1丁目1番19号 株式会社ヤクルト本社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】共役脂肪酸含有発酵食品及びその製造法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記 A 群から選ばれる乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌の 1 種又は 2 種以上により発酵された発酵食品に、共役二重結合を有する共役リノール酸が含まれていることを特徴とする共役脂肪酸含有発酵食品。

[A 群]

ラクトバチルス・カゼイ YIT 0078 (ATCC393)
 ラクトバチルス・デルブルッキィ サブスピーシーズ・デルブルッキィ YIT 0080 (ATCC9649)
 ラクトバチルス・ヘルベティカス YIT 0083 (ATCC15009) 10
 ラクトバチルス・ヘルベティカス サブスピーシーズ・ラクチス YIT 0086 (ATCC12315)
 ラクトバチルス・ラムノーサス YIT 0105 (ATCC7469)
 ラクトバチルス・ロイテリ YIT 0197 (JCM1112)
 ラクトバチルス・ジョンソニー YIT 0219 (JCM2012)
 ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・クレモリス YIT 2002 (ATCC14365)
 ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチス YIT 2027 (FERM BP-6224)
 ビフィドバクテリウム・ブレーベ YIT 4065 (FERM BP-6223) 20

【請求項 2】

前記発酵食品が、発酵乳食品であることを特徴とする請求項1記載の共役脂肪酸含有発酵食品。

【請求項 3】

前記共役リノール酸の含有濃度が0.2重量%～3.0重量%であることを特徴とする請求項1又は2に記載の共役脂肪酸含有発酵食品。

【請求項 4】

下記A群から選ばれる乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌の1種又は2種以上の菌株を用い、発酵の前又は後に共役二重結合を有する共役リノール酸を添加することを特徴とする共役脂肪酸含有発酵食品の製造法。

10

[A 群]

ラクトバチルス・カゼイ YIT0078 (ATCC393)

ラクトバチルス・デルブルッキィ サブスピーシーズ・デルブルッキィ YIT0080 (ATCC9649)

ラクトバチルス・ヘルベティカス YIT0083 (ATCC15009)

ラクトバチルス・ヘルベティカス サブスピーシーズ・ラクチス YIT0086 (ATCC12315)

ラクトバチルス・ラムノーサス YIT0105 (ATCC7469)

ラクトバチルス・ロイテリ YIT0197 (JCM1112)

ラクトバチルス・ジョンソニー YIT0219 (JCM2012)

20

ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・クレモリス YIT2002 (ATCC14365)

ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチス YIT2027 (FERM BP-6224)

ビフィドバクテリウム・ブレーベ YIT4065 (FERM BP-6223)

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、共役脂肪酸を含有し、乳酸菌及びビフィドバクテリウム属細菌の生菌数が高く、保存時の生存率の高い発酵食品及びその製造方法に関するものである。

30

【0002】**【従来の技術】**

天然に存在し、食品製造加工中にも生成する共役脂肪酸は、隣り合う炭素が単結合を挟んで二重結合を持つ脂肪酸である。とりわけ、炭素数18の脂肪酸分子内に共役ジエンを1個持つ共役リノール酸は、近年多くの有用な生理活性が報告されている。

【0003】

例えば、特許第2745245号明細書には、共役リノール酸を動物に投与して動物の体重増加と飼料の効率とを高める方法が、特許第2992836号明細書には共役リノール酸を動物に投与して動物の体脂肪を減少させる方法が開示されており、また、その他にも抗腫瘍効果、抗アレルギー効果、抗糖尿病効果等の報告がなされている。

40

【0004】

共役リノール酸は、工業的にも製造販売され始めている。例えば、現在市販されている製品としては、リノール油脂社製のCLA80活性リノールや、ファーマニュートリエンツ社のトナリン等が挙げられる。これらは、リノール酸を含む油脂あるいは天然のシス型リノール酸(C18:2)をアルカリ下で共役化する事により製造することができるが、得られるのは遊離脂肪酸型で、主成分はcis-9, trans-11あるいはtrans-9, cis-11, trans-10, cis-12であり、その他いくつかの位置あるいは幾何異性体を含んでいる。

【0005】

このように共役脂肪酸は各種の生理効果を有するため、飲食品等に添加し、その栄養効果を高めることが期待されている。

50

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

ところが、これら市販の遊離脂肪酸型共役脂肪酸を含む発酵食品を製造しようとすると、その影響により、培地に添加して発酵させた場合には発酵遅延、甚だしい場合には接種菌の死滅といった問題が、また、発酵後の菌液に添加混合し保存した場合には生菌数の減少、甚だしい場合には菌の死滅といった問題が生じることが本発明者らの検討により見出された。

【0007】

これらの問題点は、直接、作業性の悪化や製品中の菌数不足による風味劣化や菌の持つ各種生理作用の低下に結びつくため、その解消が望まれる。また、遊離の共役脂肪酸を含有する発酵食品は、脂肪酸特有の強い渋味と収斂味を有するため、充分な発酵による風味の良好な共役脂肪酸含有発酵食品の製造も望まれている。10

【0008】

従って、本発明は、共役脂肪酸を含有しても、発酵に使用した菌を阻害することのない発酵食品を提供することを目的とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】

請求項1に記載された発明に係る共役脂肪酸含有発酵食品は、下記A群から選ばれる乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌の1種又は2種以上により発酵された発酵食品に、20
共役二重結合を有する共役リノール酸が含まれているものである。

[A群]

ラクトバチルス・カゼイ YIT0078 (ATCC393)

ラクトバチルス・デルブルッキィ サブスピーシーズ・デルブルッキィ YIT0080 (ATCC9649)

ラクトバチルス・ヘルベティカス YIT0083 (ATCC15009)

ラクトバチルス・ヘルベティカス サブスピーシーズ・ラクチス YIT0086 (ATCC12315)

ラクトバチルス・ラムノーサス YIT0105 (ATCC7469)

ラクトバチルス・ロイテリ YIT0197 (JCM1112)

ラクトバチルス・ジョンソニー YIT0219 (JCM2012) 30

ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・クレモリス YIT2002 (ATCC14365)

ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチス YIT2027 (FERM BP-6224)

ビフィドバクテリウム・ブレーベ YIT4065 (FERM BP-6223)

【0010】

請求項2に記載された発明に係る共役脂肪酸含有発酵食品は、請求項1に記載された発酵食品が、発酵乳食品であることを特徴とするものである。

【0011】

請求項3に記載された発明に係る共役脂肪酸含有発酵食品は、請求項1又は2に記載された共役リノール酸の含有濃度が0.2重量%~3.0重量%であることを特徴とするものである。40

【0012】

請求項4に記載された発明に係る共役脂肪酸含有発酵食品の製造法は、下記A群から選ばれる乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌の1種又は2種以上の菌株を用い、発酵の前又は後に共役二重結合を有する共役リノール酸を添加する方法である。

[A群]

ラクトバチルス・カゼイ YIT0078 (ATCC393)

ラクトバチルス・デルブルッキィ サブスピーシーズ・デルブルッキィ YIT0080 (ATCC9649) 50

ラクトバチルス・ヘルベティカス YIT0083 (ATCC15009)
 ラクトバチルス・ヘルベティカス サブスピーシーズ・ラクチス YIT0086 (ATCC12315)

ラクトバチルス・ラムノーサス YIT0105 (ATCC7469)
 ラクトバチルス・ロイテリ YIT0197 (JCM1112)
 ラクトバチルス・ジョンソニー YIT0219 (JCM2012)
 ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・クレモリス YIT2002 (ATCC14365)

ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチス YIT2027 (FERM BP-6224)

ビフィドバクテリウム・ブレーベ YIT4065 (FERM BP-6223)

【0013】

【発明の実施の形態】

本発明においては、ある種の乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌が共役脂肪酸の存在する培地中において優れた増殖能、保存時の生残性を示すことを見出し、本発明を完成了。

【0014】

すなわち、本発明は、下記A群から選ばれる乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌の1種又は2種以上により発酵された発酵食品に、共役二重結合を有する共役リノール酸が含まれていることを特徴とする共役脂肪酸含有食品を提供するものである。

[A群]

ラクトバチルス・カゼイ YIT0078 (ATCC393)
 ラクトバチルス・デルブルッキィ サブスピーシーズ・デルブルッキィ YIT0080 (ATCC9649)
 ラクトバチルス・ヘルベティカス YIT0083 (ATCC15009)
 ラクトバチルス・ヘルベティカス サブスピーシーズ・ラクチス YIT0086 (ATCC12315)

ラクトバチルス・ラムノーサス YIT0105 (ATCC7469)
 ラクトバチルス・ロイテリ YIT0197 (JCM1112)
 ラクトバチルス・ジョンソニー YIT0219 (JCM2012)
 ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・クレモリス YIT2002 (ATCC14365)
 ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチス YIT2027 (FERM BP-6224)

ビフィドバクテリウム・ブレーベ YIT4065 (FERM BP-6223)

【0015】

本発明に用いる共役脂肪酸の種類としては、少なくとも共役二重結合を有する遊離脂肪酸又はその塩であれば良く、例えば、共役リノール酸、エレオステアリン酸、パリナリン酸等が挙げられ、中でも有用な生理活性を有する共役リノール酸を用いることが好ましい。塩の形態としては、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等を挙げる事が出来る。また、遊離の共役脂肪酸又はその塩の他に、共役二重結合を有する脂肪酸を構成脂肪酸として含むグリセリド誘導体やエステル等が別途含まれていても良い。

【0016】

共役脂肪酸は、アルカリ異性化法等の常法により製造することができる。例えば、共役リノール酸の製造方法としてエチレンギリコールを用いるアルカリ共役化法 (J.Am.Oil Chem. Soc., 36, 631, 1959) やプロピレンギリコールを用いる方法 (特許公開平10-130199) 等を挙げる事が出来る。

【0017】

こうして得られる共役脂肪酸を含有した本発明の発酵食品は、発酵菌を該発酵菌が発育する培地に添加して得られる発酵食品であればよく、例えば、発酵乳食品、発酵豆乳食品、

発酵果汁、発酵植物乳液等が挙げられる。特に、発酵乳、乳製品乳酸菌飲料等の発酵乳食品とすれば、菌の生育能、生残性が良好であるため好ましい。

【0018】

発酵食品を製造するために使用される乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌としては、前記したとおり、下記A群から選ばれる乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌の1種又は2種以上を組み合わせて使用することができる。

[A 群]

- ラクトバチルス・カゼイ (Lactobacillus casei) YIT 0078 (ATCC393) 10
 ラクトバチルス・デルブルッキイ サブスピーシーズ・デルブルッキイ (Lactobacillus delbrueckii subsp.delbrueckii) YIT 0080 (ATCC9649)
 ラクトバチルス・ヘルベティカス (Lactobacillus helveticus) YIT 0083 (ATCC 15009)
 ラクトバチルス・ヘルベティカス サブスピーシーズ・ラクチス YIT 0086 (ATCC12315)
 ラクトバチルス・ラムノーサス (Lactobacillus rhamnosus) YIT 0105 (ATCC7469)
 ラクトバチルス・ロイテリ (Lactobacillus reuteri) YIT 0197 (JCM1112)
 ラクトバチルス・ジョンソニー (Lactobacillus johnsonii) YIT 0219 (JCM2012)
 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) YIT 2002 (ATCC14365) 20
 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) YIT 2027 (FERM BP-6224)
 ビフィドバクテリウム・ブレーベ (Bifidobacterium breve) YIT 4065 (FERM BP-6223)

【0019】

中でも、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチス及びビフィドバクテリウム・ブレーベは、共役脂肪酸を含有する培地での増殖性、生残性が高いため好ましく、また、風味面からはラクトバチルス・カゼイ及びラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチスを用いて発酵した場合に、発酵物の風味が共役脂肪酸の収斂味等を抑制するため好ましい。

【0020】

本発明においては、発酵食品の製造に際し、他の菌を併用してもよい。例えば、ラクトバチルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・ブルガリクス、ラクトバチルス・ガッセリ、ラクトバチルス・ゼアエ等のラクトバチルス属細菌やストレプトコッカス・サーモフィルス等のストレプトコッカス属細菌、ラクトコッカス・プランタラム等のラクトコッカス属細菌、ビフィドバクテリウム・ビフィダム、ビフィドバクテリウム・アドレスセンティス等のビフィドバクテリウム属細菌、サッカロマイセス・セルビシエに代表される酵母等は、共役脂肪酸の存在により生育等を障害される場合が多いが、発酵食品の風味付け等のために添加しても前記A群に記載の菌の生育等を阻害することはない。

【0021】

共役脂肪酸の各種発酵食品への添加量は、使用する菌の種類、適用する発酵食品の形態等によって異なる。このため、添加量はこれらの条件に合わせ、風味への影響等をも鑑み適宜設定すればよい。例えば、発酵乳であればおおむね0.2重量%~3.0重量%（以下単に%と記載する）、特に0.4%~2.0%とすることが好ましい。0.2%を下回ると共役脂肪酸の有する各種の生理効果を充分に得られるかは不明であり、一方、2.0%、特に3.0%を上回ると発酵食品の風味への影響が無視できなくなるためである。また、共役脂肪酸量が0.4%以上では、菌への傷害が特に顕著となるため、0.4%以上含む発酵食品に本発明の菌を適用することが好ましい。

【0022】

10

20

30

40

50

共役脂肪酸の添加時期は、食品の発酵前又は後の何れでもよい。通常、乳酸菌及びビフィドバクテリウム属細菌を発酵させる発酵食品の製造方法においては、発酵前の添加による菌の生育不良、発酵後の添加による菌の生残性の低下等の問題が起こるが、本発明の菌を用いればこのような問題を解消し、簡便かつ安価に共役脂肪酸を強化した発酵食品を得られるのである。

【0023】

本発明の発酵食品は常法に従い製造すればよい。例えば、発酵乳を製造する場合には、まず殺菌した乳培地に乳酸菌又はビフィドバクテリウム属細菌を接種培養し、これを均質化処理して発酵乳ベースを得る。次いで、別途調製した共役脂肪酸を含むシロップ溶液を添加混合し、ホモゲナイザー等で均質化し、更にフレーバーを添加して最終製品に仕上げればよい。ここで、共役脂肪酸はシロップ液に混合するだけでなく、発酵前又は後の乳培地に添加することもできる。

【0024】

このようにして得られる本発明の発酵食品、すなわち発酵乳食品、発酵豆乳食品、発酵果汁、発酵植物乳液等は、固形状、液状、粉末状等いずれの形態の製品とすることも可能である。また、これらの発酵食品には、食品として通常用いられている素材であれば、いずれも併用することができる。

【0025】

具体的には、グルコース、シュークロース、フラクトース、蜂蜜等の糖類、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、パラチニット等の糖アルコール、ショ糖脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、レシチン等の乳化剤、寒天、ゼラチン、カラギーナン、グーガム、キサンタンガム、ペクチン、ローカストビーンガム等の増粘（安定）剤、が挙げられる。この他にも、ビタミンA、ビタミンB類、ビタミンC、ビタミンE等の各種ビタミン類やハーブエキス等を配合することも可能である。

【0026】

【実施例】

以下、実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0027】

実施例1．共役リノール酸添加培地での乳酸菌及びビフィズス菌のスクリーニング試験
新鮮な生乳を遠心分離により脱クリームして脱脂乳を調製した。この脱脂乳10%を含む水溶液に、グルコース1%、大豆ペプチド0.1%、及び0.2%、0.5%、1.0%の共役リノール酸（CLA80、リノール油脂株式会社製）を添加して培地とした。培地に150kg/cm²の均質化処理を行い、オートクレーブで100、10分間滅菌し、表1の乳酸菌及びビフィズス菌を1%接種して37で24時間培養を行った。

【0028】

【表1】

10

20

30

菌株			YIT No.	C L A添加量			
Genus	Species	sub sp.		0%	0.2%	0.5%	1.0%
未接種				6.68	6.65	6.39	6.11
Lactobacillus	buchneri		0077 ATCC4005	4.84	6.14	5.82	5.29
Lactobacillus	casei	ss. casei	0078 ATCC393	4.69	4.82	4.84	4.77
Lactobacillus	delbrueckii	ss. delbrueckii	0080 ATCC9649	5.42	5.43	5.32	5.34
Lactobacillus	helveticus		0083 ATCC15009	4.26	4.32	4.32	4.28
Lactobacillus	helveticus	ss. lactis	0086 ATCC12315	3.96	4.24	4.24	4.52
Lactobacillus	salivarius	ss. salicinius	0089 ATCC11742	4.32	4.79	4.94	5.65
Lactobacillus	salivarius	ss. salivarius	0104 ATCC11741	4.40	5.52	5.70	6.01
Lactobacillus	rhamnosus		0105 ATCC7469	4.05	4.00	3.92	3.98
Lactobacillus	delbrueckii	ss. bulgaricus	0176	4.02	6.07	6.08	5.95
Lactobacillus	gasseri		0192 DSM20243	5.18	5.19	5.17	5.43
Lactobacillus	reuteri		0197 JCM1112	5.49	5.34	5.27	5.16
Lactobacillus	acidophilus		0198 JCM1028	4.41	4.42	4.53	5.02
Lactobacillus	johsonii		0219 JCM2012	5.13	4.98	5.03	5.05
Lactococcus	plantarum		2061 ATCC43199	4.74	4.89	5.67	5.95
Lactococcus	lactis	ss. cremoris	2002 ATCC14365	4.30	4.52	4.56	4.49
Lactococcus	lactis	ss. lactis	2027 FERM BP-6224	4.39	4.39	4.39	4.39
Bifidobacterium	breve		4065 FERM BP-6223	4.75	4.40	4.37	4.34
Streptococcus	thermophilus		2001 FERM P-11891	4.35	4.74	5.00	6.10

10

20

【 0 0 2 9 】

各乳酸菌及びビフィズス菌の培養の経過を pH を指標として観察した。また、共役リノール酸無添加の発酵乳をそれぞれの菌株を用いて同様に製造したものと対照例とした。結果を表 1 に併記する。

【 0 0 3 0 】

表 1 に示した結果から、ラクトバチルス・カゼイ YIT 0078 (ATCC393)、ラクトバチルス・デルブルッキイ サブスピーシーズ・デルブルッキイ YIT 0080 (ATCC9649)、ラクトバチルス・ヘルベティカス YIT 0083 (ATCC15009)、ラクトバチルス・ヘルベティカス サブスピーシーズ・ラクチス YIT 0086 (ATCC12315)、ラクトバチルス・ラムノーサス YIT 0105 (ATCC7469)、ラクトバチルス・ロイテリ YIT 0197 (JCM1112)、ラクトバチルス・ジョンソニー YIT 0219 (JCM2012)、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・クレモリス YIT 2002 (ATCC14365)、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチス YIT 2027 (FERM BP-6224) 及びビフィドバクテリウム・ブレーベ YIT 4065 (FERM BP-6223) に属する乳酸菌及びビフィズス菌を用いた場合には対照とほぼ同等に菌が生育することがわかった。

30

【 0 0 3 1 】

実施例 2 . 共役リノール酸添加による生育試験 1

新鮮な生乳を遠心分離により脱クリームした脱脂乳を 16 % 含む培地に、共役リノール酸 (CLA80、リノール油脂株式会社製) を所定量添加して 150 kg / cm² の均質化処理を行い、オートクレーブで 100 、 10 分間の滅菌処理後、乳酸菌を接種し 37 で培養を行った。

40

【 0 0 3 2 】

乳酸菌としては、実施例 1 のスクリーニングの結果から、脱脂乳培地 (増殖促進因子無添加) での生育が良かったラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチス YIT 2027、及び悪かったストレプトコッカス・サーモフィルス YIT 2001 を用い、接種量は 0.1 % とした。また対照例として、共役リノール酸無添加の発酵乳をそれぞれの菌株を用いて製造した。

【 0 0 3 3 】

培養時、経時的に生菌数を測定した。その結果を表 2 に示す。表 2 から、ラクトコッカス

50

・ラクチス サブスピーシーズ . ラクチスを用いた場合には、対照と同等に菌が生育することがわかった。また、ストレプトコッカス・サーモフィルスは共役リノール酸の添加により増殖が抑制され、添加量 0 . 4 % 以上で特に顕著であった。

【 0 0 3 4 】

【表 2 】

乳酸菌	CLA添加量	培養 1 時間	2 時間	8 時間	24 時間	
Lc. ラクチス	0 %	1.29E+06	2.59E+06	3.14E+08	1.87E+08	10
	0. 2 %	9.90E+05	1.53E+06	3.74E+08	3.55E+08	
	0. 4 %	1.48E+06	2.45E+06	2.63E+08	3.03E+08	
	1. 0 %	1.14E+06	1.80E+06	3.59E+08	2.99E+08	
St. サーモフィルス	0 %	1.40E+05	1.68E+05	2.02E+08	1.38E+10	20
	0. 2 %	1.63E+05	2.33E+05	2.29E+06	9.00E+09	
	0. 4 %	1.54E+05	1.26E+05	1.23E+05	2.46E+08	
	1. 0 %	1.21E+04	9.12E+03	5.34E+03	20>	

【 0 0 3 5 】

実施例 3 . 共役リノール酸添加による生存試験 1

新鮮な生乳を遠心分離により脱クリームした脱脂乳を 16 % 含む水溶液を調製し、超高温殺菌装置で 135 ℃ 、 2 秒間の滅菌処理を行った。これにラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ . ラクチス Y I T 2027 を 0 . 1 % 接種して 35 ℃ で 20 時間培養した。

【 0 0 3 6 】

こうして得られた菌液に共役リノール酸 (CLA80 、リノール油脂株式会社製) を所定量添加して 100 kg / cm² の均質化処理を行い、 15 ℃ の恒温槽で生存試験を行った。また対照例として、共役リノール酸 (C L A) 無添加の発酵乳を製造し保存した。保存時の生菌数を経時的に測定した。その結果を表 3 に示す。

【 0 0 3 7 】

表 3 に示す結果から、保存時においてもラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ . ラクチス Y I T 2027 を用いた場合では添加量 1 % 以下で対照と同等の生残性が得られることがわかった。また、 10 ℃ 保存時においても同様な結果が得られた。

【 0 0 3 8 】

【表 3 】

乳酸菌	CLA添加量	初発菌数	1 日目	7 日目	14 日目	
Lc. ラクチス	0 %	1.06E+09	3.12E+08	4.54E+08	4.43E+07	40
	0. 2 %	6.96E+08	3.94E+08	8.01E+08	9.72E+07	
	0. 4 %	5.35E+08	2.05E+08	4.56E+08	4.68E+07	
	1. 0 %	4.45E+08	4.53E+08	3.66E+08	1.80E+06	

* L c : ラクトコッカス

【 0 0 3 9 】

実施例4. 共役リノール酸による生育試験2

4%のコーン油を含む豆乳（固体分5%）に共役リノール酸（CLA）を0.2, 0.4, 1.0%、或いは0.5, 1.0, 3.0%添加して均質化処理を行い、オートクレーブで100、10分間の滅菌処理を行った。前者には乳酸球菌ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチスYIT2027を、後者にはビフィドバクテリウム・ブレーベYIT4065をそれぞれ0.1%接種して37で培養を行った。結果を表4に示す。

【0040】

【表4】

乳酸菌	CLA添加量	培養1時間	2時間	8時間	24時間
Lc. ラクチス	0%	1.43E+06	2.73E+06	3.20E+08	2.08E+08
	0.2%	1.10E+06	1.62E+06	3.82E+08	3.94E+08
	0.4%	1.65E+06	2.58E+06	2.69E+08	3.37E+08
	1.0%	1.27E+06	1.90E+06	3.66E+08	3.32E+08
B. ブレーベ	0%	2.58E+07	2.24E+07	9.63E+07	1.06E+09
	0.5%	2.08E+07	1.95E+07	4.35E+08	3.29E+09
	1.0%	1.17E+07	2.24E+07	2.85E+08	1.81E+09
	3.0%	2.74E+06	1.97E+06	7.01E+07	6.93E+08

* Lc : ラクトコッカス、B : ビフィドバクテリウム

【0041】

尚、対照例として、バターオイルを3%添加し同様に処理した発酵乳を製造した。表4に示す結果から、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチスYIT2027とビフィドバクテリウム・ブレーベYIT4065を用いた場合では、対照とほぼ同等に菌が生育することがわかった。

【0042】

実施例5. 共役脂肪酸含有発酵乳（ラクトバチルス・カゼイ）の製造

脱脂粉乳溶液（固体分10%）を超高温殺菌装置で130、3秒間殺菌処理し、ラクトバチルス・カゼイYIT078を0.01%接種し、37で培養した。培養をpH4.0とpH4.5まで行った培養液2種類を150kg/cm²で均質化した後、それぞれ蔗糖4.8%と共に脂肪酸（CLA80、リノール油脂株式会社製）2.5%、粗レシチン0.5%を含む乳化シロップ液に混合し、更にヨーグルトフレーバー0.1%を添加して発酵乳を製造した。なお、混合比率は培養液10部に対し、シロップ液2部とした。

【0043】

得られた発酵乳の生菌数は、それぞれ 3.01×10^9 、 1.01×10^{10} であり、15の恒温槽で14日間保存した後も 4.32×10^8 以上の菌数を維持していた。

【0044】

実施例6. 共役脂肪酸含有発酵乳（ラクトコッカス・ラクチス）の製造

脱脂粉乳溶液（固体分10%）を超高温殺菌装置で135、2秒間殺菌処理し、ラクトコッカス・ラクチス サブスピーシーズ・ラクチスYIT2027を0.01%接種し、37で培養した。培養はpH4.4まで行い、得られた培養液を150kg/cm²で均質化した後、それぞれ蔗糖4.8%と共に脂肪酸（CLA、リノール油脂株式会社製）2.5%、粗レシチン0.5%を含む乳化シロップ液に混合し、更にヨーグルトフレーバー0.1%を添加して発酵乳を製造した。なお、混合比率は培養液10部に対し、シロップ

10

20

30

40

50

液2部とした。

【0045】

得られた発酵乳の生菌数は 3.28×10^8 であり、15の恒温槽で14日間保存した後も 4.93×10^7 の菌数を維持していた。

【0046】

比較例1. 脂肪酸非含有発酵乳(ラクトバチルス・カゼイ)の製造

実施例5と同様の菌株、条件で共役脂肪酸を添加せずに発酵乳を製造した。なお、培養液はpH4.7まで培養したもの用いた。得られた発酵乳の菌数は 5.04×10^9 であった。

【0047】

比較例2. 脂肪酸非含有発酵乳(ラクトコッカス・ラクチス)の製造

実施例6と同様の菌株、条件で共役脂肪酸を添加せずに発酵乳を製造した。なお、培養液はpH4.4まで培養したもの用いた。得られた発酵乳の菌数は 2.08×10^8 であった。

【0048】

比較例3. 脂肪酸含有発酵乳(ストレプトコッカス・サーモフィルス)の製造

新鮮な生乳を遠心分離により脱クリームした脱脂乳(固形分20%)に共役リノール酸(CLA80、リノール油脂株式会社製)を0.4%添加して 150kg/cm^2 の均質化処理を行い、オートクレーブで100、10分間の滅菌処理後、ストレプトコッカス・サーモフィルスYIT2001を0.01%接種し、37でpH5.0まで培養した。得られた培養液を 150kg/cm^2 で均質化した後、それぞれ蔗糖4.8%シロップ液に混合し、更にヨーグルトフレーバー0.1%を添加して発酵乳を製造した。なお、混合比率は培養液10部に対し、シロップ液2部とした。得られた発酵乳の菌数は 2.46×10^8 であった。

【0049】

比較例4. 脂肪酸非含有発酵乳(ストレプトコッカス・サーモフィルス)の製造
比較例3と同様の菌株、条件で共役脂肪酸を添加せずに発酵乳を製造した。なお、培養液はpH4.4まで培養したもの用いた。得られた発酵乳の菌数は 1.38×10^{10} であった。

【0050】

実施例7. 評価試験

実施例5、6及び比較例1~4で得られた発酵乳を専門パネラー10名で以下の指標に従い官能評価した。結果を表5に示す。

【0051】

判定の指標

風味がよい：+2

やや風味がよい：+1

普通：0

やや風味が悪い：-1

風味が悪い：-2

【0052】

【表5】

10

20

30

40

サンプル	p H	生菌数	風味
実施例 5	4. 0	3.01×10^9	0. 8
	4. 5	1.01×10^{10}	1. 0
実施例 6	4. 4	3.28×10^8	0. 9
比較例 1	4. 7	5.04×10^9	1. 1
比較例 2	4. 4	2.08×10^8	0. 8
比較例 3	5. 0	2.46×10^8	- 0. 5
比較例 4	4. 6	1.38×10^{10}	1. 0

【 0 0 5 3 】

表 5 に示す通り、ラクトバチルス・カゼイ又はラクトコッカス・ラクチス サブスピーズ・ラクチスを使用した場合には、C L Aを添加しているにも拘らず対照と差はなく、風味の改善効果があった。また、ストレプトコッカス・サーモフィルスを使用した場合には、風味の改善は見られなかった。

【 0 0 5 4 】**【発明の効果】**

本発明は以上説明した通り、遊離型の共役脂肪酸が発酵製品中に存在しても乳酸菌菌数が多く、保存時の生残性、風味の良好な共役脂肪酸含有発酵食品を得ることが出来るという効果がある。

フロントページの続き

前置審査

審査官 高 美葉子

(56)参考文献 国際公開第99/056781(WO,A1)
特開平11-209279(JP,A)
国際公開第99/029886(WO,A1)
国際公開第99/032604(WO,A1)
米国特許第06060304(US,A)
Food Chemistry(2000 Apr),Vol.69, No.1, p.27-31

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A23C 1/00-23/00
A23L 1/30
WPI(DIALOG)
FOODLINE(DIALOG)
Foods Adlibra(DIALOG)
Food Sci.&Tech.Abs(DIALOG)
JSTPlus(JDreamII)
JMEDPlus(JDreamII)
JST7580(JDreamII)