



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111417311 A

(43)申请公布日 2020.07.14

(21)申请号 201880076619.7

(74)专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事

(22)申请日 2018.09.25

务所(普通合伙) 11277

(30)优先权数据

代理人 刘新宇 李茂家

2017-189949 2017.09.29 JP

(51)Int.Cl.

A23C 9/123(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

A23C 9/127(2006.01)

2020.05.26

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2018/035502 2018.09.25

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/065649 JA 2019.04.04

(71)申请人 株式会社明治

地址 日本东京都

(72)发明人 堀内启史 市村武文 井上畅子

高木奈绪

权利要求书1页 说明书11页 附图1页

(54)发明名称

发酵乳和发酵乳的制造方法

(57)摘要

制备工序是制备原料乳。乳糖分解工序是使用乳糖分解酶，将制备的原料乳中所含的至少一部分乳糖进行分解。乳糖被分解了的原料乳中的乳糖浓度相对于原料乳的总量为2.5质量%以下。在至少一部分乳糖被分解了的原料乳中，添加乳酸菌，并使添加有乳酸菌的原料乳发酵。

1. 一种发酵乳，其为通过使原料乳发酵而制造的发酵乳，在所述原料乳发酵开始之前，所述原料乳中的乳糖浓度相对于所述原料乳的总量为2.5质量%以下。
 2. 根据权利要求1所述的发酵乳，其中，所述发酵乳中的乳糖浓度相对于所述发酵乳的总量为1.25质量%以下。
 3. 根据权利要求1或权利要求2所述的发酵乳，其中，所述胞外多糖的量为使所述原料乳发酵而不使所述原料乳中所含的乳糖分解的发酵乳中所含有的胞外多糖的量的1.05倍以上且4.2倍以下。
 4. 根据权利要求1至权利要求3中任一项所述的发酵乳，其中，还含有保加利亚菌，所述发酵乳中所含的保加利亚菌的数量为使所述原料乳发酵而不使所述原料乳中所含的乳糖分解的发酵乳中所含有的保加利亚菌的数量的1.08倍以上且4.7倍以下。
 5. 根据权利要求1至权利要求4中任一项所述的发酵乳，其中，含有：作为保加利亚菌的OLL1073R-1株；和，25 (mg/kg) 以上且100 (mg/kg) 以下的胞外多糖。
6. 一种发酵乳的制造方法，其具备如下工序：
- 制备工序，制备原料乳；
- 乳糖分解工序，使用乳糖分解酶，将制备的原料乳中所含的至少一部分乳糖进行分解；
- 和，
- 发酵工序，在所述至少一部分乳糖被分解了的原料乳中，添加乳酸菌，并使添加有所述乳酸菌的原料乳发酵，
- 乳糖被分解了的原料乳中的乳糖浓度相对于所述原料乳的总量为2.5质量%以下。

发酵乳和发酵乳的制造方法

技术领域

[0001] 本发明涉及发酵乳和发酵乳的制造方法,更详细而言,涉及控制由乳酸菌产生的多糖类的量的发酵乳和发酵乳的制造方法。

背景技术

[0002] 发酵乳是通过使添加了乳酸菌起子的原料乳发酵而制造的。保加利亚菌、嗜热链球菌等乳酸菌用作乳酸菌起子。乳酸菌中,也存在大量会产生胞外多糖(exopolysaccharide:EPS)的菌株。

[0003] 已知EPS不仅有利于发酵乳的稳定性,而且通过摄取至人体内从而得到益生菌的效果。例如,已知由作为保加利亚菌的一种OLL1073R-1株(德氏乳杆菌保加利亚亚种,Lactobacillus delbruechii subsp.bulgaricus OLL1073R-1株)产生的EPS中,有预防自身免疫病的效果。已知用OLL1073R-1株制造的发酵乳中,有NK细胞的活化、患感冒的减少等效果。

[0004] 如此,通过利用产生EPS的乳酸菌、由乳酸菌产生的EPS,可以提供有利于健康的功能性食品。为了有效地制造这样的功能性食品,需要提高功能性食品中所含的EPS的量。

[0005] 专利文献1中公开了一种发酵乳的制造方法,其通过使添加了磷酸盐的原料乳发酵,可以提高EPS的产生量。磷酸盐在发酵乳中作为pH缓冲材料发挥功能。磷酸盐可以在原料乳的发酵中延长能够使乳酸菌增殖的pH区域的时间,因此,可以提高源自乳酸菌的EPS的产生量。

[0006] 专利文献1:国际公开第2014/84340号公报

发明内容

[0007] 发明要解决的问题

[0008] 本公开的课题在于,提供:包含大量EPS的发酵乳、和能提高EPS的产生量的发酵乳的制造方法。

[0009] 用于解决问题的方案

[0010] 本公开的发酵乳是通过使原料乳发酵而制造的。在原料乳发酵开始之前,原料乳中的乳糖浓度相对于原料乳的总量为2.5质量%以下。

[0011] 本公开的发酵乳中,发酵乳的乳糖浓度相对于发酵乳的总量可以为1.25质量%以下。

[0012] 本公开的发酵乳中,EPS的量可以使原料乳发酵而不使原料乳中所含的乳糖分解的发酵乳中所含有的EPS的量的1.05倍以上且4.2倍以下。

[0013] 本公开的发酵乳可以含有保加利亚菌。发酵乳中所含的保加利亚菌的数量可以使原料乳发酵而不使原料乳中所含的乳糖分解的发酵乳中所含有的保加利亚菌的数量的1.08倍以上且4.7倍以下。

[0014] 本公开的发酵乳中,可以含有:作为保加利亚菌的OLL1073R-1株;和,25 (mg/kg) 以

上且100 (mg/kg) 以下的EPS。

[0015] 本公开的发酵乳的制造方法具备制备工序、乳糖分解工序和发酵工序。制备工序是制备原料乳。乳糖分解工序是使用乳糖分解酶,将制备的原料乳中所含的至少一部分乳糖进行分解。发酵工序是在至少一部分乳糖被分解了的原料乳中,添加乳酸菌,并使添加有乳酸菌的原料乳发酵。乳糖被分解了的原料乳中的乳糖浓度相对于原料乳的总量为2.5质量%以下。

[0016] 发明的效果

[0017] 本发明的发酵乳可以含有比以往发酵乳更多的EPS。另外,本发明的发酵乳的制造方法可以通过添加至原料乳的乳酸菌起子而提高EPS的产生量。

附图说明

[0018] 图1为示出本发明的实施例1~6的发酵乳中的EPS含量、保加利亚菌数、嗜热链球菌数的表。

具体实施方式

[0019] 以下,对本发明的实施方式详细进行说明。

[0020] [1.原料乳中的乳糖浓度]

[0021] 本实施方式的发酵乳是通过使原料乳发酵而制造的。本实施方式的发酵乳为结束了发酵的原料乳。本实施方式的发酵乳的制造中,使用发酵开始前乳糖被分解了的原料乳。发酵开始前的原料乳的乳糖浓度优选相对于原料乳的总量为2.5质量%以下。

[0022] 在发酵开始前,将原料乳中所含的乳糖进行分解使得乳糖浓度成为2.5质量%以下,从而可以使本实施方式的发酵乳中所含的EPS的量和保加利亚菌的数量比使乳糖未被分解的原料乳发酵的以往发酵乳还增加。EPS是指,由乳酸菌产生的胞外多糖(exopolysaccharide:EPS)。

[0023] 发酵开始前的原料乳的乳糖浓度更优选1质量%以下。使发酵开始前的乳糖浓度为1质量%以下的原料乳发酵的发酵乳与以往的发酵乳相比,具有更多的EPS和保加利亚菌。

[0024] 发酵开始前的原料乳的乳糖浓度进一步优选0质量%。使发酵开始前的乳糖浓度为0质量%的原料乳发酵的发酵乳与以往的发酵乳相比,具有进一步多的EPS和保加利亚菌。需要说明的是,乳糖浓度为0质量%表示的是由原料乳或发酵乳检测不到乳糖。原料乳或发酵乳中所含的乳糖的检测方法没有特别限定,可以使用一直以来已知的方法。

[0025] [2.发酵乳的定义]

[0026] 本实施方式的发酵乳为乳及乳制品相关省令(昭和26年12月27日厚生省令第52号)定义的发酵乳和乳酸菌饮料。乳及乳制品相关省令中的发酵乳是指,用乳酸菌或酵母使乳或包含与其等同以上的非脂乳固体的乳等发酵并形成糊状或液态而成者或将它们冷冻而成者。乳及乳制品相关省令中的乳酸菌饮料是指,对用乳酸菌或酵母使乳等发酵而成者进行加工、或作为主要原料的饮料。

[0027] 本实施方式的发酵乳至少包含保加利亚菌和嗜热链球菌作为乳酸菌。这是由于,由联合国粮食及农业组织(FAO)和世界卫生组织(WHO)定义酸奶是如下制成的:将乳和乳酸

菌作为原料,通过基于保加利亚菌和嗜热链球菌这两种菌的乳酸发酵作用,由乳和脱脂奶粉等乳制品而制成酸奶。

[0028] 本实施方式中,“保加利亚菌”是指,德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbruechii* subsp.*bulgaricus*)种的乳酸菌。“嗜热链球菌”是指,嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)种的乳酸菌。

[0029] 需要说明的是,本实施方式的发酵乳可以包含除保加利亚菌和嗜热链球菌以外的乳酸菌。本实施方式的发酵乳可以包含格氏乳杆菌、双歧杆菌等。格氏乳杆菌是指,加氏乳杆菌(*Lactobacillus gasseri*)种的乳酸菌。双歧杆菌是指,两岐双岐杆菌(*Bifidobacterium bifidum*)种的乳酸菌。

[0030] 以下的说明中,只要没有特别说明,就将本实施方式的发酵乳(由发酵开始前的乳糖浓度为2.5质量%以下的原料乳制造的发酵乳)单纯地简化记作“发酵乳”。

[0031] [3. 发酵乳中的乳糖浓度]

[0032] 发酵乳通过使发酵开始前的乳糖浓度为2.5质量%以下的原料乳发酵而得到。在原料乳发酵期间,原料乳中所含的乳糖被保加利亚菌和嗜热链球菌所消耗。因此,发酵乳的乳糖浓度低于原料乳的乳糖浓度,优选相对于发酵乳的总量为1.25质量%以下。更优选发酵乳的乳糖浓度相对于发酵乳的总量为0质量%。

[0033] [4. 发酵乳中的EPS含量和保加利亚菌数]

[0034] 以下,对本实施方式的发酵乳中所含的EPS含量和保加利亚菌数具体地进行说明。

[0035] 本实施方式的发酵乳含有比由发酵开始前的乳糖浓度高于2.5质量%的原料乳制造的以往的发酵乳还大量的EPS。以下,将由发酵开始前的乳糖浓度高于2.5质量%的原料乳制造的以往的发酵乳记作“以往的发酵乳”。

[0036] 具体而言,优选本实施方式的发酵乳与以往的发酵乳相比,含有1.06倍以上且4.2倍以下的量的EPS。更优选本实施方式的发酵乳与以往的发酵乳相比,含有1.27倍以上且4.2倍以下的量的EPS。进一步优选本实施方式的发酵乳与以往的发酵乳相比,含有1.48倍以上且4.2倍以下的量的EPS。此处,发酵乳中的EPS含量的单位为“mg/kg”。

[0037] 本实施方式的发酵乳含有比以往的发酵乳还多的保加利亚菌。具体而言,优选本实施方式的发酵乳与以往的发酵乳相比,含有1.08倍以上且4.7倍以下的数量的保加利亚菌。更优选本实施方式的发酵乳与以往的发酵乳相比,含有1.18倍以上且4.7倍以下的保加利亚菌。进一步优选本实施方式的发酵乳与以往的发酵乳相比,含有1.65倍以上且4.7倍以下的保加利亚菌。此处,保加利亚菌数的单位为($\times 10^7$ cfu/g)。

[0038] (符合制造条件的EPS含量和保加利亚菌数)

[0039] 本实施方式的发酵乳中的EPS含量和保加利亚菌数据根据制造条件而变化。以下,作为制造条件,可以举出第1条件~第6条件,对在各条件下制造的发酵乳中的EPS含量和保加利亚菌数,进一步详细进行说明。

[0040] 第1条件~第3条件下,作为乳酸菌起子,使用从Meiji Probio Yogurt R-1(株式会社明治制)分离的保加利亚菌。第4条件~第6条件下,作为乳酸菌起子,使用从明治保加利亚酸奶LB81(株式会社明治制)分离的保加利亚菌。

[0041] 此处,从Meiji Probio Yogurt R-1分离的保加利亚菌为德氏乳杆菌保加利亚亚种(*Lactobacillus delbruechii* subsp.*bulgaricus*)OLL1073R-1株,在国家高级工业科学

技术学院,国际专利生物保藏中心(NITE-IPOD)中以保藏编号FERM BP-10741被保藏。以下的说明中,将从Meiji Probio Yogurt R-1分离的保加利亚菌记作“OLL1073R-1株”。将从明治保加利亚酸奶LB81分离的保加利亚菌记作“保加利亚菌MB株”。

[0042] (第1条件～第3条件)

[0043] 第1条件如下:在发酵开始前的乳糖浓度为2.5质量%以下的原料乳中添加OLL1073R-1株,制造发酵乳。

[0044] 在第1条件下制造的发酵乳的EPS含量为25 (mg/kg) 以上且100 (mg/kg) 以下。在第1条件下制造的发酵乳与使用OLL1073R-1株的以往的发酵乳相比,含有1.06倍以上且4.2倍以下的量的EPS。此处,EPS含量的上限“100 (mg/kg) 为假定乳酸菌消耗发酵乳中所含的全部糖成分时产生的值。

[0045] 在第1条件下制造的发酵乳的保加利亚菌数为 $23 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以上且 $100 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以下。与使用OLL1073R-1株的以往的发酵乳相比,在第1条件下制造的发酵乳含有的OLL1073R-1是1.08倍以上且4.7倍以下的保加利亚菌。

[0046] 第2条件如下:在发酵开始前的乳糖浓度为1质量%以下的原料乳中添加OLL1073R-1株而制造发酵乳。亦即,第2条件下的原料乳的乳糖浓度低于第1条件下的原料乳的乳糖浓度。

[0047] 在第2条件下制造的发酵乳含有30 (mg/kg) 以上且100 (mg/kg) 以下的量的EPS。在第2条件下制造的发酵乳与使用OLL1073R-1株的以往的发酵乳相比,含有1.27倍以上且4.2倍以下的量的EPS。

[0048] 另外,在第2条件下制造的发酵乳具有 $25 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以上且 $100 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以下的保加利亚菌。在第2条件下制造的发酵乳与使用OLL1073R-1株的以往的发酵乳相比,含有1.18倍以上且4.7倍以下的保加利亚菌。

[0049] 第3条件如下:在发酵开始前的乳糖浓度为0质量%的原料乳中添加OLL1073R-1株而制造发酵乳。亦即,第3条件下的原料乳的乳糖浓度低于第1条件和第2条件下的原料乳的乳糖浓度。

[0050] 在第3条件下制造的发酵乳包含35 (mg/kg) 以上且100 (mg/kg) 以下的EPS。在第3条件下制造的发酵乳与使用OLL1073R-1株的以往的发酵乳相比,含有1.48倍以上且4.2倍以下的量的EPS。

[0051] 另外,在第3条件下制造的发酵乳具有 $35 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以上且 $100 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以下的保加利亚菌。在第3条件下制造的发酵乳与使用OLL1073R-1株的以往的发酵乳相比,含有1.65倍以上且4.7倍以下的保加利亚菌。

[0052] (第4条件～第6条件)

[0053] 第4条件如下:在发酵开始前的乳糖浓度为2.5质量%以下的原料乳中添加保加利亚菌MB株而制造发酵乳。

[0054] 在第4条件下制造的发酵乳含有50 (mg/kg) 以上且100 (mg/kg) 以下的量的EPS。在第4条件下制造的发酵乳与使用保加利亚菌MB株的以往的发酵乳相比,含有1.18倍以上且2.36倍以下的量的EPS。

[0055] 另外,在第4条件下制造的发酵乳具有 $15 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以上且 $100 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以下的保加利亚菌。在第4条件下制造的发酵乳与使用保加利亚菌MB株的发酵乳相比,含有

1.2倍以上且8.0倍以下的保加利亚菌。

[0056] 第5条件如下:在发酵开始前的乳糖浓度为1质量%以下的原料乳中添加保加利亚菌MB株而制造发酵乳。亦即,第5条件下的原料乳的乳糖浓度低于第4条件下的原料乳的乳糖浓度。

[0057] 在第5条件下制造的发酵乳含有55 (mg/kg) 以上且100 (mg/kg) 以下的量的EPS。在第5条件下制造的发酵乳与使用保加利亚菌MB株的以往的发酵乳相比,含有1.3倍以上且2.36倍以下的量的EPS。

[0058] 在第5条件下制造的发酵乳具有 $25 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以上且 $100 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以下的保加利亚菌。在第5条件下制造的发酵乳与在发酵开始前的乳糖浓度高于2.5质量%的原料乳中添加保加利亚菌MB株而制造的以往的发酵乳相比,含有2.0倍以上且8.0倍以下的保加利亚菌。

[0059] 第6条件如下:在发酵开始前的乳糖浓度为0质量%的原料乳中添加保加利亚菌MB株而制造发酵乳。亦即,第6条件下的原料乳的乳糖浓度低于第4条件和第5条件下的原料乳的乳糖浓度。

[0060] 在第6条件下制造的发酵乳含有65 (mg/kg) 以上且100 (mg/kg) 以下的量的EPS。在第6条件下制造的发酵乳与使用保加利亚菌MB株的以往的发酵乳相比,含有1.53倍以上且2.36倍以下的量的EPS。

[0061] 另外,在第6条件下制造的发酵乳具有 $40 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以上且 $100 (\times 10^7 \text{cfu/g})$ 以下的保加利亚菌。在第6条件下制造的发酵乳与使用保加利亚菌MB株的以往的发酵乳相比,含有3.2倍以上且8倍以下的保加利亚菌。

[0062] [5.发酵乳的制造方法]

[0063] 以下,对本实施方式的发酵乳的制造方法详细地进行说明。

[0064] [5.1.制备工序]

[0065] 制备工序中,制备原料乳。作为原料乳的制备中使用的原料,例如可以举出水、生乳、脱脂奶粉、全脂奶粉、酪乳、黄油、奶油、乳清蛋白质浓缩物(WPC)、乳清蛋白质分离物(WPI)、 α -乳清蛋白、 β -乳球蛋白等。

[0066] 原料乳只要包含用于利用乳酸菌进行乳酸发酵的乳成分即可。因此,原料乳可以不包含上述中列举的全部原料,可以使用上述中列举的原料以外的原料。原料乳用一直以来已知的方法制备。例如,将上述中列举的原料混合从而生成混合物,将生成的混合物均质化,从而可以制备原料乳。如此制备的原料乳包含乳糖。乳糖包含于生乳、脱脂奶粉、全脂奶粉等源自乳的原料。

[0067] [5.2.乳糖分解工序]

[0068] 乳糖分解工序中,在制备的原料乳中添加乳糖酶,将制备的原料乳中所含的至少一部分乳糖用乳糖酶进行分解。乳糖酶将乳糖分解而生成葡萄糖和半乳糖。添加的乳糖酶的最佳pH只要为中性区域或酸性区域就对添加的乳糖酶的种类没有特别限定。例如可以在原料乳中添加市售的乳糖酶。

[0069] 将添加有乳糖酶的原料乳在例如0°C以上且50°C以下的温度范围内保持,从而可以促进基于乳糖酶的乳糖的分解。优选的是,使原料乳中所含的乳糖用乳糖酶进行分解直至原料乳中的乳糖浓度成为2.5质量%以下。通过制备工序而制备的原料乳中的乳糖浓度

例如为5质量%的情况下,乳糖被乳糖酶分解直至乳糖分解率成为50%以上。

[0070] 更优选的是,使原料乳中所含的乳糖用乳糖酶进行分解直至原料乳中的乳糖浓度成为1质量%以下。通过制备工序而制备的原料乳的乳糖浓度例如为5质量%的情况下,乳糖被乳糖酶分解直至乳糖分解率成为80%以上。

[0071] 进一步优选的是,使原料乳中所含的乳糖用乳糖酶进行分解直至原料乳中的乳糖浓度成为0质量%。上述情况下,与通过制备工序制备的原料乳的乳糖浓度无关系地,乳糖被乳糖酶分解直至乳糖分解率成为100%。

[0072] 进行利用乳糖酶的乳糖的分解直至利用保加利亚菌和嗜热链球菌的原料乳的发酵开始。发酵的开始时刻例如为在原料乳中添加乳酸菌起子(保加利亚菌和嗜热链球菌)的时刻。

[0073] [5.3. 杀菌工序]

[0074] 杀菌工序中,将乳糖被乳糖酶所分解的原料乳加热并杀菌。原料乳的加热杀菌中,可以采用一直以来已知的方法。通过原料乳的加热杀菌,可以使原料乳中添加的乳糖酶失活。

[0075] 需要说明的是,可以在乳糖分解工序前进行杀菌工序。上述情况下,后述的发酵工序中,乳糖酶可以继续乳糖的分解,因此,可以进一步降低发酵乳的乳糖浓度。

[0076] [5.4. 发酵工序]

[0077] 在杀菌后的原料乳中添加乳酸菌起子,在规定的发酵条件下使原料乳发酵。发酵结束后的原料乳作为本实施方式的发酵乳被冷藏。

[0078] 发酵温度、发酵时间等发酵条件可以考虑原料乳中添加的乳酸菌起子的种类、要求的发酵乳的风味等而适宜调整。例如,通过将原料乳放置于30℃以上且50℃以下的环境下,从而可以促进基于乳酸菌的发酵。发酵时间可以根据发酵温度、原料乳中添加的乳酸菌起子的种类、发酵乳中的希望乳酸酸度等而适宜调整。

[0079] 如以上说明那样,本实施方式的发酵乳的制造方法如下:将原料乳中所含的乳糖分解使得发酵开始前的原料乳的乳糖浓度成为2.5质量%以下,使乳糖被分解了的原料乳发酵。如此制造的原料乳可以含有比以往的发酵乳还多的EPS。

[0080] 需要说明的是,上述实施方式中,将原料乳中的发酵开始的时刻定义为乳酸菌起子添加至原料乳的时刻。然而,原料乳中添加的乳酸菌起子的数量在诱导期(直至对数增殖期开始为止的期间)不增加,因此,乳糖在诱导期基本未被消耗。因此,也可以将发酵开始的时刻定义为乳酸菌的对数增殖期开始的时刻。上述情况下,杀菌工序在乳糖分解工序前进行。亦即,乳糖酶添加至加热杀菌后的原料乳。将对数增殖期的开始时刻作为发酵开始的时刻的情况下,基于乳糖酶的乳糖的分解在于原料乳中添加乳酸菌起子后也继续。在对数增殖期的开始时刻,原料乳中的乳糖浓度可以为1.5质量%以下。

[0081] 实施例

[0082] 以下,对各实施例进行说明。但是,本发明不限定于下述的各实施例。

[0083] [实施例1]

[0084] 实施例1的发酵乳对应于在上述第1条件下制造的发酵乳。

[0085] 将生乳500.0g、脱脂奶粉53.2g、生奶油23.0g、自来水403.6g进行混合,制备原料乳。制备的原料乳的乳糖浓度为5质量%。将该制备的原料乳冷却至5℃后,在原料乳中添加

乳糖酶(GODO-YNL、合同酒精株式会社制)0.2g,从而将原料乳中所含的乳糖分解。具体而言,继续乳糖的分解直至原料乳中的乳糖分解率成为50%。对于乳糖分解率的测量方法,如后述。乳糖的分解结束后的原料乳中的乳糖浓度为2.5质量%。之后,将乳糖被分解了的原料乳在95℃的温度下进行加热杀菌,将加热杀菌后的原料乳冷却至43℃的温度。

[0086] 对原料乳中的乳糖分解率的测量方法进行说明。最初,测量添加乳糖酶前的原料乳中的单位固体成分的乳糖含量。接着,根据乳糖被分解了的原料乳中的葡萄糖浓度,测量原料乳中的单位固体成分的葡萄糖含量。

[0087] 乳糖分解率用测量后的乳糖含量和葡萄糖含量根据下述式而计算。

[0088] 乳糖分解率(%)=[(葡萄糖含量×2)/乳糖含量]×100

[0089] 需要说明的是,乳糖含量可以使用基于高效液相色谱的精氨酸荧光法(BUNSEKI KAGAKU、第32卷、第E207页、公益社团法人日本分析化学会发行、1983年)而测量。葡萄糖含量例如可以使用Medisafe Mini(Terumo Corporation制)而测量。乳糖浓度可以由原料乳中的固体成分浓度和乳糖含量计算。

[0090] 接着,将从Meiji Probio Yogurt R-1(株式会社明治制)分离的乳酸菌作为乳酸菌起子,添加至加热杀菌后的原料乳。从Meiji Probio Yogurt R-1分离的乳酸菌包含:嗜热链球菌;和,作为保加利亚菌的OLL1073R-1株。乳酸菌起子的添加量为20g。将添加有乳酸菌起子的原料乳填充至杯容器(容量:100mL。塑料制)。将填充至杯容器的原料乳放置于温度43℃的发酵室,使其静置发酵直至乳酸酸度成为0.7%。

[0091] 将静置发酵结束后的放入了杯的原料乳作为实施例1的发酵乳,在10℃的冰箱中进行冷却。发酵刚刚结束后的实施例1的发酵乳的乳糖浓度为1.25质量%。

[0092] 另外,测量冷却后的实施例1的发酵乳的EPS含量、保加利亚菌数和嗜热链球菌数。

[0093] 发酵乳中的保加利亚菌数和嗜热链球菌数可以用一直以来已知的方法测量。例如,将规定量的发酵乳适宜稀释,将发酵乳的稀释液涂抹于BL培养基。将涂抹在BL培养基上的活菌在37℃的温度环境下进行72小时厌氧地培养,测定培养后的BL培养基上的菌落,从而可以求出。

[0094] 对发酵乳的EPS含量的测量方法进行说明。首先,在容量50mL的管中投入实施例1的发酵乳10g,在投入了实施例1的发酵乳的管中添加100%的三氯乙酸1mL。将管的内容物搅拌,将搅拌后的内容物以12000G的相对离心力进行离心分离。将通过离心分离得到的上清转移至容量50mL的新的管。边将新的管内的上清搅拌,边在新的管内的上清中添加上清的2倍量的乙醇。将上清与乙醇的混合物在4℃的温度下静置一晚。将静置后的混合物以12000G的相对离心力进行离心分离,从离心分离后的混合物弃去上清。在离心分离后的混合物中的沉淀物中添加10mL的纯化水,使沉淀物完全溶解于纯化水。用口径0.45μm的带有过滤器的注射器,将沉淀物溶解后的纯化水注入至高效液相色谱(high performance liquid chromatography:HPLC)。然后,将“从注入开始时刻起经过16分钟的时刻附近,通过RI检测器检测的单一峰的峰面积”相对于“总峰面积”的比率作为实施例1中所含的EPS的含量。

[0095] HPLC的分析条件如以下所述。

[0096] HPLC系统:ACQUITY UPLC H-Class(Waters)

[0097] 柱:OHpak SB-806HQ,SB-G(Shodex)

[0098] 柱温:40℃

[0099] 溶剂:0.2M NaCl水溶液

[0100] 流速:0.5mL/分钟

[0101] 检测器:RI detector 2414 (Waters)

[0102] 检测温度:40℃

[0103] 进样:150μL

[0104] 分析时间:50分钟

[0105] [实施例2]

[0106] 实施例2的发酵乳对应于在上述第2条件下制造的发酵乳。对于实施例2的发酵乳,使原料乳中所含的乳糖用乳糖酶进行分解直至乳糖分解率成为80%,除这一点之外,与上述实施例1相同。实施例2的原料乳中的乳糖浓度在发酵开始前为1质量%。实施例2的发酵乳中的乳糖浓度在发酵刚刚结束后为0质量%。亦即,发酵刚刚结束后,由实施例2的发酵乳未检测到乳糖。

[0107] [实施例3]

[0108] 实施例3的发酵乳对应于在上述第3条件下制造的发酵乳。对于实施例3的发酵乳的制造工序,使原料乳中所含的乳糖用乳糖酶进行分解直至乳糖分解率成为100%,除这一点之外,与上述实施例1相同。实施例3的原料乳中的乳糖浓度在发酵开始前为0质量%。实施例3的发酵乳中的乳糖浓度在发酵刚刚结束后为0质量%。亦即,在发酵开始前和发酵刚刚结束后这两者中,由实施例3的发酵乳未检测到乳糖。

[0109] [比较例1]

[0110] 比较例1的发酵乳对应于使用OLL1073R-1株的以往的发酵乳。

[0111] 比较例1的发酵乳的制造工序中,从实施例1的制造方法省略乳糖分解工序。比较例1的原料乳中的乳糖分解率为0%,比较例1的原料乳中的乳糖浓度在发酵开始前为5质量%。比较例1的发酵乳中的乳糖浓度在发酵刚刚结束后为3.75质量%。

[0112] [实施例4]

[0113] 实施例4的发酵乳对应于在上述第4条件下制造的发酵乳。对于实施例4的发酵乳的制造工序,乳酸菌起子不是OLL1073R-1株而是保加利亚菌MB株,除这一点之外,与实施例1的发酵乳的制造工序相同。实施例4的原料乳中的乳糖浓度在发酵开始前为2.5质量%。实施例4的发酵乳中的乳糖浓度在发酵刚刚结束后为1.25质量%。

[0114] [实施例5]

[0115] 实施例5的发酵乳对应于在上述第5条件下制造的发酵乳。乳酸菌起子不是OLL1073R-1株而是保加利亚菌MB株,除这一点之外,实施例5的发酵乳的制造工序与实施例2的发酵乳的制造工序相同。实施例5的原料乳中的乳糖浓度在发酵开始前为1质量%。实施例5的发酵乳中的乳糖浓度在发酵刚刚结束后为0质量%。亦即,在发酵刚刚结束后,由实施例5的发酵乳未检测到乳糖。

[0116] [实施例6]

[0117] 实施例6的发酵乳对应于在上述第6条件下制造的发酵乳。对于实施例6的发酵乳的制造工序,乳酸菌起子不是OLL1073R-1株而是保加利亚菌MB株,除这一点之外,与实施例3的发酵乳的制造工序相同。实施例6的原料乳中的乳糖浓度在发酵开始前为0质量%。实施

例6的发酵乳中的乳糖浓度在发酵刚刚结束后为0质量%。亦即，在发酵开始前和发酵刚刚结束后这两者中，由实施例6的发酵乳未检测到乳糖。

[0118] [比较例2]

[0119] 比较例2的发酵乳对应于使用保加利亚菌MB株的以往的发酵乳。对于比较例2的发酵乳的制造工序，乳酸菌起子不是OLL1073R-1株而是保加利亚菌MB株，除这一点之外，与比较例1的发酵乳的制造工序相同。比较例2的原料乳中的乳糖分解率为0%，比较例2的原料乳中的乳糖浓度在发酵开始前为5质量%。比较例2的发酵乳中的乳糖浓度在发酵刚刚结束后为3.75质量%。

[0120] [考察]

[0121] 图1为示出实施例1～6和比较例1～2的发酵乳中的EPS含量、保加利亚菌数和嗜热链球菌数的表。边参照图1，边对原料乳的乳糖浓度与发酵乳的EPS含量的关系、以及原料乳的乳糖浓度与发酵乳的保加利亚菌数的关系进行说明。

[0122] [原料乳的乳糖浓度与EPS含量的关系]

[0123] (OLL1073R-1株为乳酸菌起子的情况)

[0124] 图1中，参照实施例1～3和比较例1的发酵乳中的各EPS含量。OLL1073R-1株为乳酸菌起子的情况下，随着发酵开始前的原料乳的乳糖浓度变低，EPS含量增加。

[0125] 具体而言，比较例1中，发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为5质量%，发酵乳的EPS含量为23.6 (mg/kg)。实施例1中，发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为2.5质量%，发酵乳的EPS含量为26.2 (mg/kg)。实施例2中，发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为1质量%，发酵乳的EPS含量为31.6 (mg/kg)。实施例3中，发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为0质量%，发酵乳的EPS含量为36.5 (mg/kg)。

[0126] 由实施例1～3与比较例1的比较结果表明，OLL1073R-1株为乳酸菌起子的情况下，由发酵开始前的乳糖浓度为2.5质量%以下的原料乳制造发酵乳，从而可以增加发酵乳的EPS含量。

[0127] (保加利亚菌MB株为乳酸菌起子的情况)

[0128] 参照图1，参照实施例4～6和比较例2的发酵乳中的各EPS含量。保加利亚菌MB株为乳酸菌起子的情况下，随着发酵开始前的原料乳的乳糖浓度变低，EPS含量增加。

[0129] 具体而言，比较例2中，发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为5质量%，发酵乳的EPS含量为42.4 (mg/kg)。实施例4中，发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为2.5质量%，发酵乳的EPS含量为52.4 (mg/kg)。实施例5中，发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为1质量%，发酵乳的EPS含量为59.3 (mg/kg)。实施例6中，发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为0质量%，发酵乳的EPS含量为69.6 (mg/kg)。

[0130] 由实施例4～6与比较例2的比较结果表明，保加利亚菌MB株为乳酸菌起子的情况下，由发酵开始前的乳糖浓度为2.5质量%以下的原料乳制造发酵乳，从而可以增加发酵乳的EPS含量。

[0131] 亦即，由实施例1～6和比较例1～2的结果表明，使用保加利亚菌作为乳酸菌起子，将乳糖分解直至发酵开始前的原料乳的乳糖浓度成为2.5质量%以下，从而可以有效地增加发酵乳中所含的EPS含量。

[0132] [原料乳的乳糖浓度与保加利亚菌数的关系]

[0133] (OLL1073R-1株为乳酸菌起子的情况)

[0134] 参照图1,参照实施例1~3和比较例1的发酵乳中的各保加利亚菌数。

[0135] 比较例1中,发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为5质量%,发酵乳的保加利亚菌数为 $21.2 (\times 10^7 \text{cfu/kg})$ 。实施例1中,发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为2.5质量%,发酵乳的保加利亚菌数为 $24.7 (\times 10^7 \text{cfu/kg})$ 。实施例2中,发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为1质量%,发酵乳的保加利亚菌数为 $25.3 (\times 10^7 \text{cfu/kg})$ 。实施例3中,发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为0质量%,发酵乳的保加利亚菌数为 $37.9 (\times 10^7 \text{cfu/kg})$ 。

[0136] OLL1073R-1株为乳酸菌起子的情况下,随着发酵开始前的原料乳的乳糖浓度变低,保加利亚菌数增加。发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为最小(0质量%)时,发酵乳的保加利亚菌数成为最大。认为:将原料乳中所含的乳糖分解使得发酵开始前的原料乳的乳糖成为2.5质量%以下的情况下,原料乳中所含的OLL1073R-1株在发酵工序中活化,效率良好地产生源自OLL1073R-1株的EPS。

[0137] 参照图1中的实施例1~3和比较例1的嗜热链球菌数。实施例1~3的发酵乳的嗜热链球菌数大于比较例1的发酵乳的嗜热链球菌数。亦即,将原料乳的乳糖分解使得发酵开始前的原料乳的乳糖浓度成为2.5质量%以下的情况下,可以增加嗜热链球菌数。然而,嗜热链球菌数在发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为1质量%的实施例2中为最大,因此,乳糖浓度与嗜热链球菌数的关系不如乳糖浓度与保加利亚菌数的关系明显。如上述,保加利亚菌数随着发酵开始前的原料乳的乳糖浓度变低而增加,因此认为,保加利亚菌与嗜热链球菌相比,有利于EPS含量的增加。

[0138] 如此,由实施例1~3和比较例1的结果表明,OLL1073R-1株用作乳酸菌起子的情况下,使发酵开始前的原料乳的乳糖为2.5质量%以下,从而可以增加发酵乳的EPS含量。

[0139] (保加利亚菌MB株为乳酸菌起子的情况)

[0140] 参照图1,参照实施例4~6和比较例2的发酵乳中的各保加利亚菌数。

[0141] 比较例2中,发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为5质量%,发酵乳的保加利亚菌数为 $12.5 (\times 10^7 \text{cfu/kg})$ 。实施例4中,发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为2.5质量%,发酵乳的保加利亚菌数为 $18.0 (\times 10^7 \text{cfu/kg})$ 。实施例5中,发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为1质量%,发酵乳的保加利亚菌数为 $26.5 (\times 10^7 \text{cfu/kg})$ 。实施例6中,发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为0质量%,发酵乳的保加利亚菌数为 $41.0 (\times 10^7 \text{cfu/kg})$ 。

[0142] 保加利亚菌MB株为乳酸菌起子的情况下,随着发酵开始前的原料乳的乳糖浓度变低,保加利亚菌数增加。发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为最小(0质量%)时,发酵乳的保加利亚菌数成为最大。认为:将原料乳中所含的乳糖分解使得发酵开始前的原料乳的乳糖成为2.5质量%以下的情况下,原料乳中所含的保加利亚菌MB株在发酵工序中活化,效率良好地产生源自保加利亚菌MB株的EPS。

[0143] 参照图1中的实施例4~6和比较例2的嗜热链球菌数。实施例4~6的发酵乳的嗜热链球菌数大于比较例2的发酵乳的嗜热链球菌数。亦即,将原料乳的乳糖分解使得发酵开始前的原料乳的乳糖浓度成为2.5质量%以下的情况下,可以增加嗜热链球菌数。然而,嗜热链球菌数在发酵开始前的原料乳的乳糖浓度为2.5质量%、1质量%的实施例1、2中为最大,乳糖浓度与嗜热链球菌数的关系不如乳糖浓度与保加利亚菌数的关系明显。如上述,保加利亚菌数随着发酵开始前的原料乳的乳糖浓度变低而增加,因此认为,保加利亚菌与嗜热

链球菌相比,有利于EPS含量的增加。

[0144] 如此,由实施例4~6和比较例1的结果表明,保加利亚菌MB株用作乳酸菌起子的情况下,使发酵开始前的原料乳的乳糖为2.5质量%以下,从而可以增加发酵乳的EPS含量。

[0145] 由实施例1~6和比较例1~2的结果表明,使用保加利亚菌作为乳酸菌起子,将原料乳中所含的乳糖分解使得发酵开始前的原料乳的乳糖浓度成为2.5质量%以下,从而可以有效地产生发酵乳中所含的EPS。

[0146] 以上,对本发明的实施方式进行了说明,但上述实施方式只不过是用于实施本发明的示例。由此,本发明不限定于上述实施方式,在不脱离其主旨的范围内可以对上述实施方式适宜变形而实施。

	乳酸菌 起子	乳糖浓度 (质量%)	EPS 含量 (mg/kg)	保加利亚 菌数 ($\times 10^7$ cfu/g)	嗜热链球菌数 ($\times 10^7$ cfu/g)
比较例 1	OLL1073 R-1株	5	23.6	21.2	66.0
实施例 1		2.5	26.2	24.7	95.5
实施例 2		1	31.6	25.3	103.5
实施例 3		0	36.5	37.9	80.5
比较例 2	保加利亚菌 MB株	5	42.4	12.5	81.7
实施例 4		2.5	52.4	18.0	93.0
实施例 5		1	59.3	26.5	93.0
实施例 6		0	69.6	41.0	80.0

乳糖浓度 (质量%) : 发酵开始前的原料乳的测定值

EPS 含量
 保加利亚菌数
 嗜热链球菌数

} : 发酵乳 (发酵结束了的原料乳) 的测定值

图1