

yoghur+

安部 美里 石橋 祐里菜 乾 愛実 大江 菜月 稗田 早紀

1. 緒言

私たちは、食品の腐敗や発酵に興味をもち、食品の腐敗や発酵の程度を、高校生のできる範囲の実験で数値化することが出来ないかと考えた。そのための実験材料として、身近にある発酵食品であるヨーグルトに着目した。

ヨーグルトの定義は、「乳および乳酸菌を原料としブルガリア菌とサーモフィルス菌が大量に存在しその発酵作用で作られたもの」である（1977年、FAO および WHO による）(*1)。また、ヨーグルトは、乳に含まれるたんぱく質であるカゼインが乳酸によって凝固することによってつくられる。

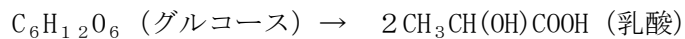
辞書(*2)によると、発酵とは「狭義には、炭水化物が微生物によって無酸素的に分解されること」をいい、腐敗とは「微生物の作用で、主に嫌氣的に分解され、悪臭を放つなど有害な物質を生成する」ことをいうが、本研究では、まず市販ヨーグルトの腐敗過程を研究した。しかし後述するように全体が腐敗する前にカビが繁殖し、実験に支障を来したので、次に自作ヨーグルトの発酵過程を研究した。

腐敗については、「腐敗する→酸味が増す→含まれる酸の量が増加する」と予想し、中和滴定により、時間の経過に伴う酸量（ヨーグルトに含まれる酸の総量）の変化を調べた。さらに、甘さにも変化があるのではないかと予想し、糖度計による糖度の測定も行った。

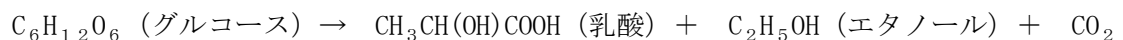
発酵については、先の腐敗実験で、材料である牛乳と、生成物であるヨーグルトの間で、酸量や糖度が大きく異なることが分かったので、その変化の過程を知るため、ヨーグルト自作過程での時間の経過に伴う酸量・糖度の変化を調べた。（一部実験ではpHの変化も測定した。）

本実験の発酵は乳酸発酵である。乳酸発酵には次の3経路があるという。(*3)

① ホモ乳酸発酵



② ヘテロ乳酸発酵



③ ヘテロ乳酸発酵（ピフィズム経路）



ブルガリア菌（ラクトバチルス デルブリュッキー亜種ブルガリスク）は①式で、ピフィズム菌は③の式で乳酸発酵を行う。(*3)いずれも発酵により酸が生成するので、中和滴定によって酸量を測定することで発酵の進行を数値化することができると考えられる。ただし、中和滴定では存在する酸の全量を測定することしかできない。食品という複雑な混合物の、しかも微生物が関与する反応であるので、上記以外の反応による他の酸の生成も考えられるが、私達では含まれる酸の分析はできなかったので、それらは誤差と割り切って実験を行い、試料の酸量変化を発酵の主な指標とした。

2. 実験方法

実験には以下の市販ヨーグルト、牛乳等を使用した。以下本報告書では略称を使用する。

表1 実験に使用した市販ヨーグルト・牛乳・その他材料の商品名と略称

会社名	商品名	略称	原材料
株式会社 明治	明治ブルガリアヨーグルト LB81 プレーン 450 g	[ブルガリア]	生乳、乳製品
雪印メグミルク株式会社	ナチュレ 恵 脂肪0	[恵]	乳製品、乳たんぱく質、 ガラクトオリゴ糖シロップ
森永乳業株式会社	森永ビヒダス プレーンヨーグルト BB536	[ビヒダス]	生乳、乳製品
高梨乳業株式会社	北海道プレーンヨーグルト	[北海道プ]	脱脂濃縮乳、生乳、クリーム
やまぐち県 酪乳業株式会社	そよ風ヨーグルト	[そよ風]	乳製品、砂糖、植物油脂、 ゼラチン、寒天、香料
株式会社いかるが 牛乳	いかるが 3.6 牛乳	[いかるが]	生乳
森永乳業株式会社	森永のおいしい牛乳	[無調整]	生乳
	森永のおいしい無脂肪乳	[無脂肪]	脱脂濃縮乳、 脱脂粉乳、生乳
スジャータ めいらく グループ	有機豆乳	[豆乳]	有機大豆（遺伝子組み換えで ない）
	スジャータホイップ	[生クリーム]	植物油脂、乳製品、乳化剤（大 豆由来）、メタリン酸Na、安 定剤（タマリンド）、香料、 カロチン色素
株式会社 ヤクルト	ヤクルト	[ヤクルト]	ぶどう糖果糖液糖、砂糖、脱 脂粉乳、香料

表2 実験に使用した市販ヨーグルトの成分表示一覧(100gあたり)

成分	[ブルガリア]	[恵]	[ビヒダス]	[北海道プ]	[そよ風]
熱量	62kcal	42kcal	65kcal	59kcal	80kcal
たんぱく質	3.4g	4.0g	3.7g	3.7g	3.3g
脂質	3.0g	0g	3.1g	2.6g	1.3g
炭水化物	5.3g	5.7g	5.5g	5.1g	13.8g
ナトリウム	51mg	53mg	50mg	45mg	42mg
カルシウム	109mg	120mg	120mg	110mg	100mg
ガラクトオリゴ糖	—	0.16g	—	—	—

表3 実験に使用した市販牛乳の成分表示一覧(100gあたり)

成分	[いかるが]	[無調整]	[無脂肪]
熱量	69kcal	67kcal	46kcal
たんぱく質	3.4g	3.3g	4.4g
脂質	3.9g	3.8g	0.4g
炭水化物	5.0g	4.8g	6.3g
ナトリウム	40mg	43mg	52mg
カルシウム	113mg	114mg	146mg

表4 実験に使用したその他の材料の成分表示一覧(100gあたり)

成分	[豆乳]	[生クリーム]	[ヤクルト]
熱量	55kcal	358kcal	77kcal
たんぱく質	5.0g	1.2g	1.2g
脂質	3.0g	38.0g	0.15g
炭水化物	2.0g	2.8g	17.7g
ナトリウム	3.0mg	40mg	18mg
カリウム	217mg	—	—
カルシウム	17mg	—	—
マグネシウム	30mg	—	—
ビタミンE	30mg	—	—
レシチン	205mg	—	—
イソフラボン	30mg	—	—
γ-アミノ酪酸 (GABA)	2mg	—	—

○ 酸量、糖度、pHの測定方法

腐敗実験、発酵実験とも次の実験方法で各値を測定した。

① 酸量測定

- ・ ヨーグルト（市販、自作を含む）5.0gを量りとり、蒸留水40mL加えて、できるだけ溶かし、これを測定試料とする。
- ・ 測定試料を、指示薬としてフェノールフタレイン（キシダ化学）を用い、約0.050mol/Lの水酸化ナトリウム（キシダ化学 特級）水溶液で中和滴定する。これを3回行い、平均値を滴定結果とする。
- ・ 滴定結果を酸量（すべて一価の酸と仮定して計算した酸のモル濃度）に換算する。

② 糖度測定

- ・ ヨーグルト（市販、自作を含む）を少量とり、ポケット糖度計（アタゴ 「PAL-1」）を用いて糖度を測定する。

③ pH測定

- ・ ヨーグルト（市販、自作を含む）少量とり、万能pH試験紙（アバンテック東洋 UNIV ユニバーサル試験紙（ロールタイプ pH1~11））を用いてpHを測定する。

I. 腐敗実験

- ・次の5種の市販のヨーグルトを開封し、軽く蓋をした状態で、室温で放置する。
[ブルガリア], [恵], [ビヒダス], [北海道プ], [そよ風]
- ・開封後から、1週間ごとに酸量、糖度の測定を行う。
- ・[ブルガリア]は3週目で、他は6週目で、カビが繁殖がひどく、実験継続を断念した。

II. 発酵実験

発酵実験① 牛乳を原料とした自作ヨーグルトの発酵実験

- ・[ブルガリア]小さじ1 (約5g)と[いかるが]100mLをプラスチック容器に入れる。
これを7個用意する。
- ・40℃に保った恒温器で発酵させる。発酵時間0時間, 5時間, 10時間, 15時間, 20時間, 25時間, 30時間の試料について、それぞれ酸量、糖度、pHの測定を行った。

発酵実験② 牛乳以外を原料とした自作ヨーグルトの発酵実験

- ・[いかるが]の代わりに次の3種を用いて、発酵実験①と同様の方法で25時間発酵させ、酸量、糖度、pHの測定を行った。
[豆乳], [生クリーム], [ヤクルト]

発酵実験③ 発酵時間5~10時間に的を絞った発酵実験

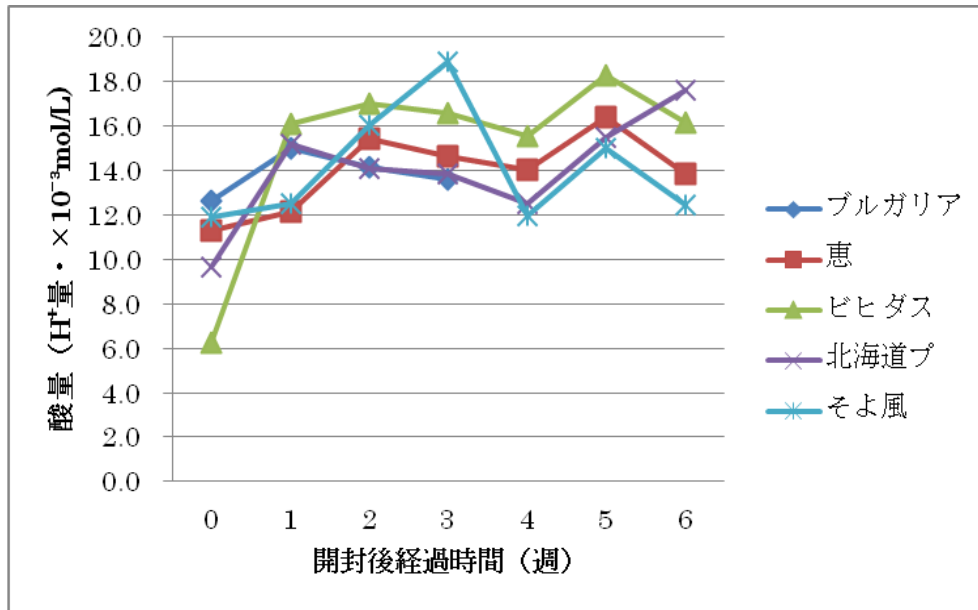
- [ブルガリア]小さじ1(約5g)と[無調整]100mLをプラスチック容器に入れたものを、発酵実験①と同様の方法で、5時間, 6時間, 7時間, 8時間, 9時間, 10時間発酵させ、酸量、糖度の測定を行った。

発酵実験④ 牛乳に熱処理を加えた場合や成分が大きく異なる場合の発酵実験

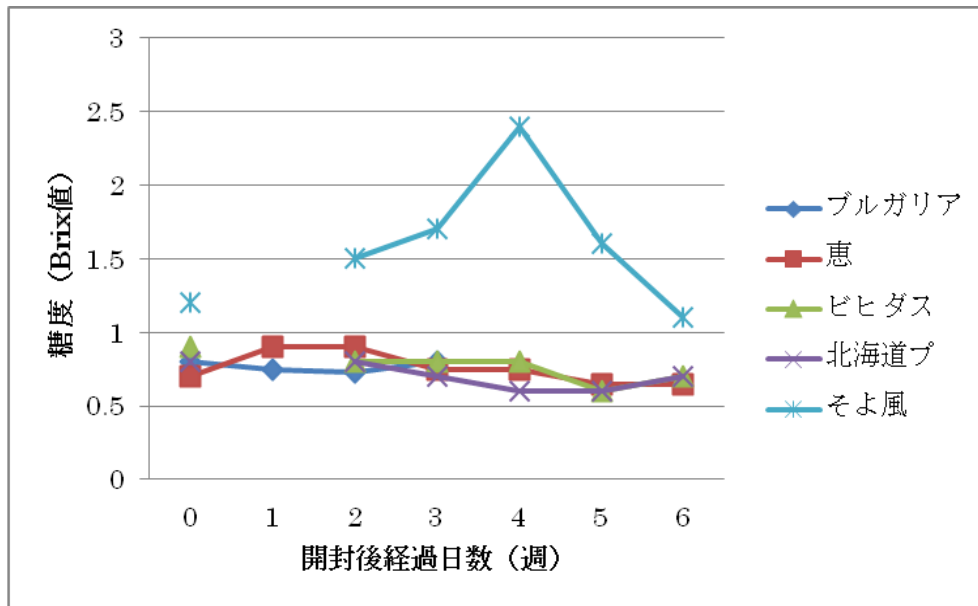
- [無調整]の代わりに以下の3種を用い、発酵実験③と同様の実験を行った。
[沸騰] ([無調整]を沸騰させ常温に戻したもの)
[冷凍] ([無調整]を冷凍させ常温に戻したもの)
[無脂肪]

3. 結果

I 腐敗実験



グラフ1 腐敗実験における酸量の変化



グラフ2 腐敗実験における糖度の変化

グラフ1より、酸量は、開封後1週目はどの市販ヨーグルトも増加傾向にあったものの、2週目以降は変化が小さく、増減があった。

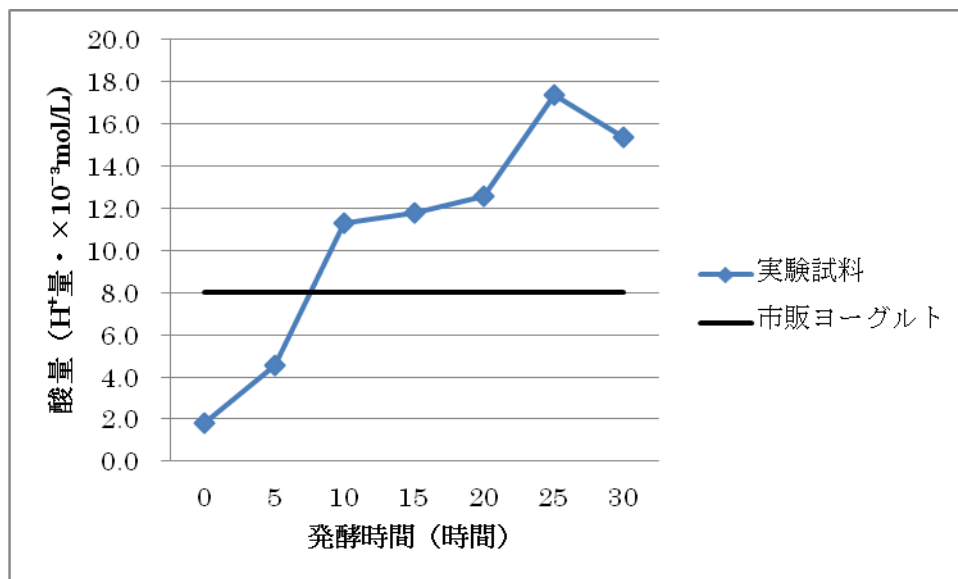
またグラフ2より、糖度は、加糖である[そよ風]以外のヨーグルトでは大きな変化はなく、[そよ風]は増加したのち減少し、開封直後の値に戻った。

この実験において、[ブルガリア]では開封3週間目からカビが発生した。そのほかのヨーグルトにおいても徐々に繁殖し、実験を中断せざるをえなくなった。

実験結果も仮説と異なったため、もっと短時間で変化の激しいと考えられる発酵実験に移った。

II 発酵実験

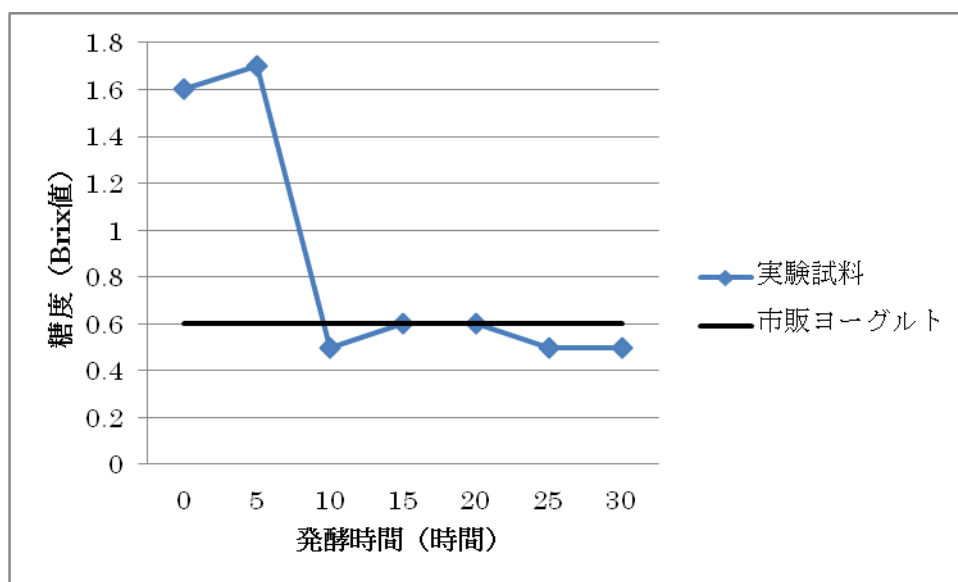
発酵実験①



グラフ 3 発酵実験①における酸量の変化

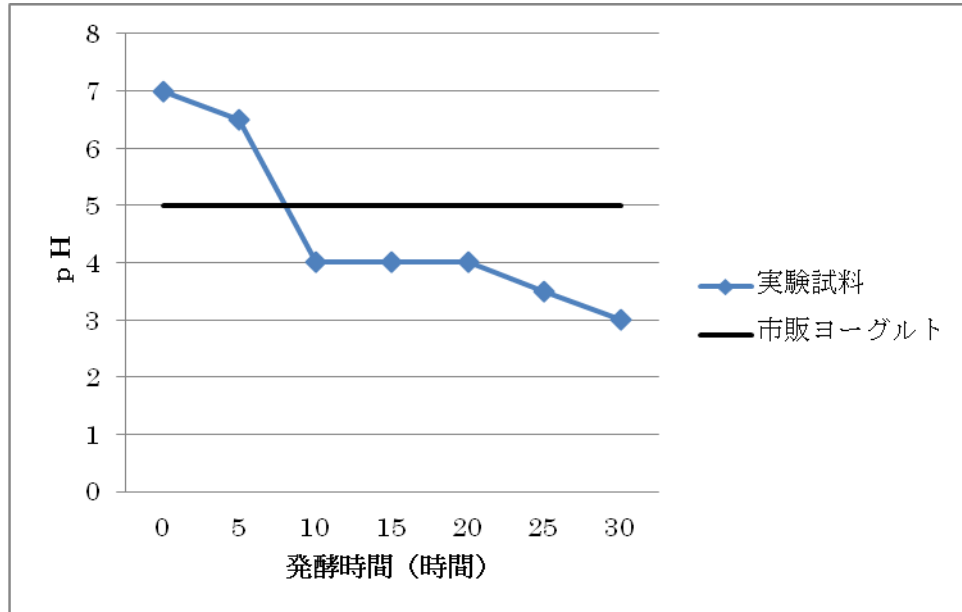
発酵の進行と共に酸量が増大し、25時間でピークを迎えている。

特に5～10時間の変化が大きい。この間に、参考として比較した市販ヨーグルト[ブルガリア]の値となる。



グラフ 4 発酵実験①における糖度の変化

5～10時間の間に急激な低下があり、それ以後は小さな増減を繰り返すだけである。



グラフ 5 発酵実験①における pH の変化

グラフ 3 の酸量の変化に対応したグラフになっている。やはり 5～10 時間の間に変化があり、市販ヨーグルトの値と等しくなる。

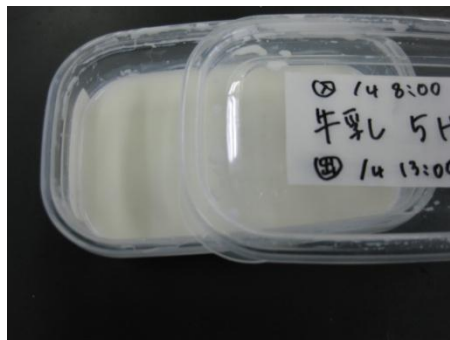


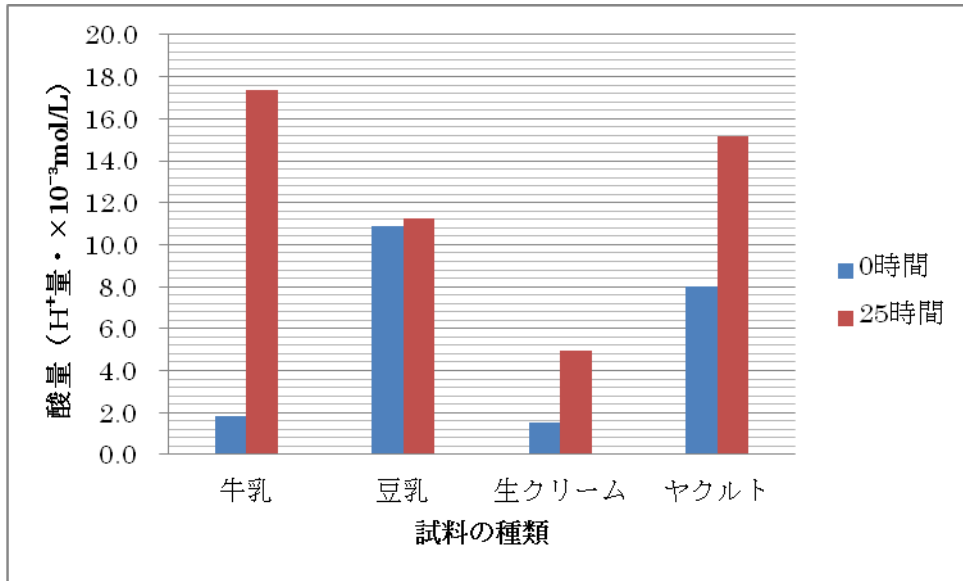
写真 1 発酵実験①における発酵時間 5 時間の試料の様子



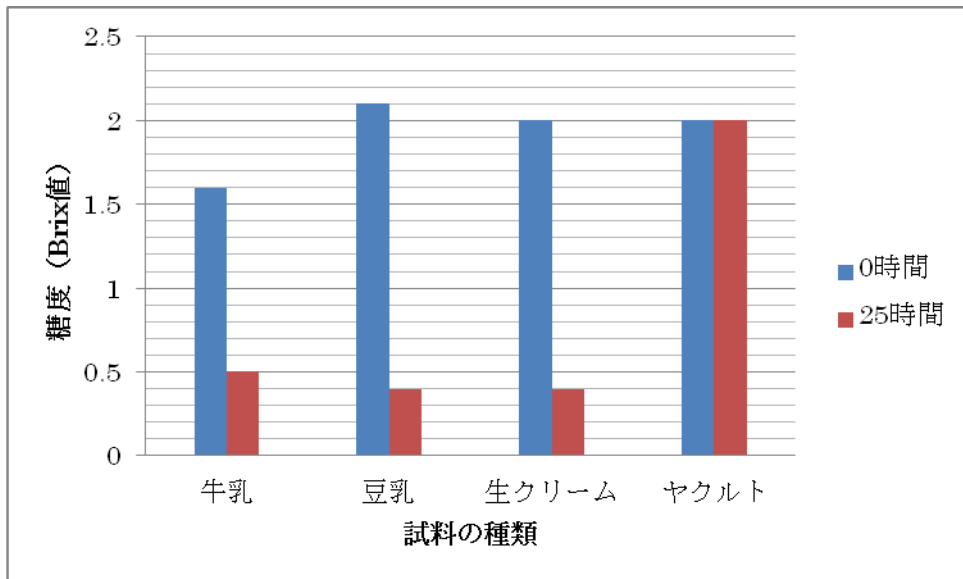
写真 2 発酵実験①における発酵時間 10 時間の試料の様子

さらに写真 1、2 から、発酵時間 5 時間の試料は固まっていないが、発酵時間 10 時間の試料は固まっていた。

発酵実験②



グラフ 6 発酵実験②における酸量の変化



グラフ 7 発酵実験②における糖度の変化

グラフ 6 より、すべての試料において、酸量は増加した。

また、グラフ 7 より、[ヤクルト]以外の試料は、糖度が減少したが、[ヤクルト]は変化しなかった。

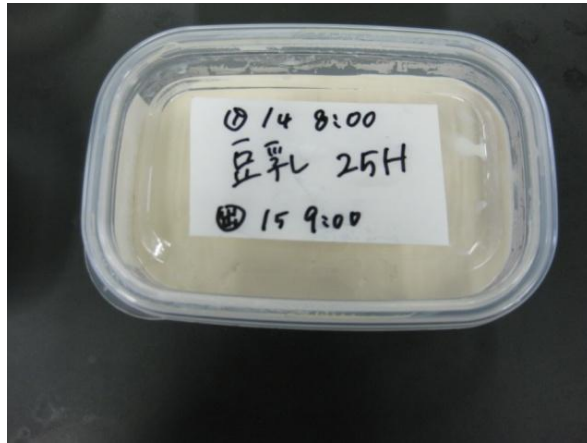


写真3 発酵実験②における豆乳を用いた試料の様子



写真4 発酵実験②における生クリームを用いた試料の様子

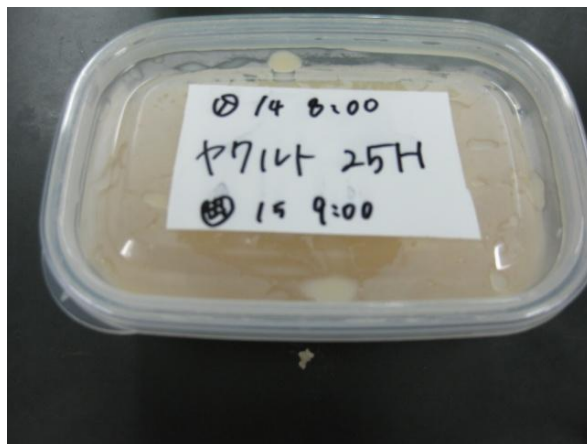
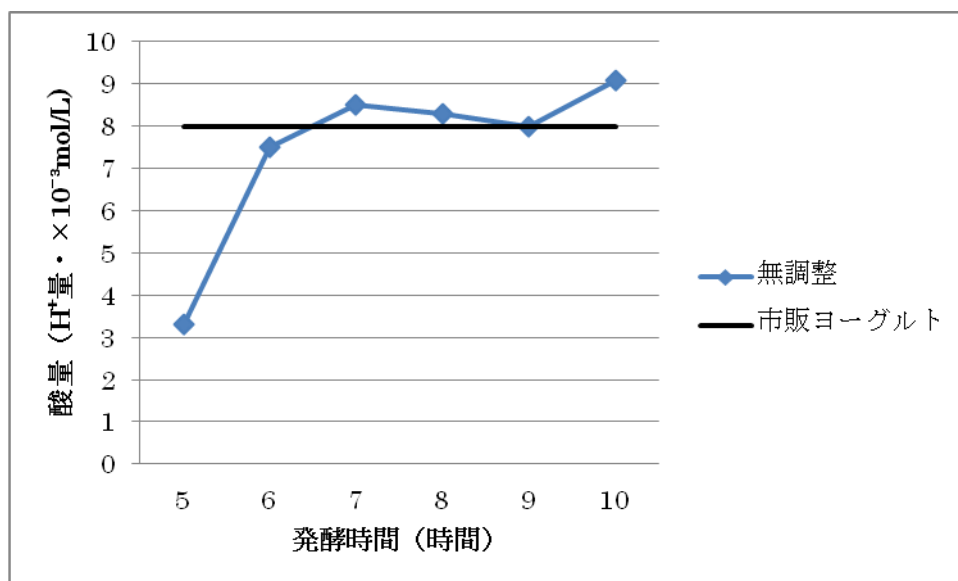


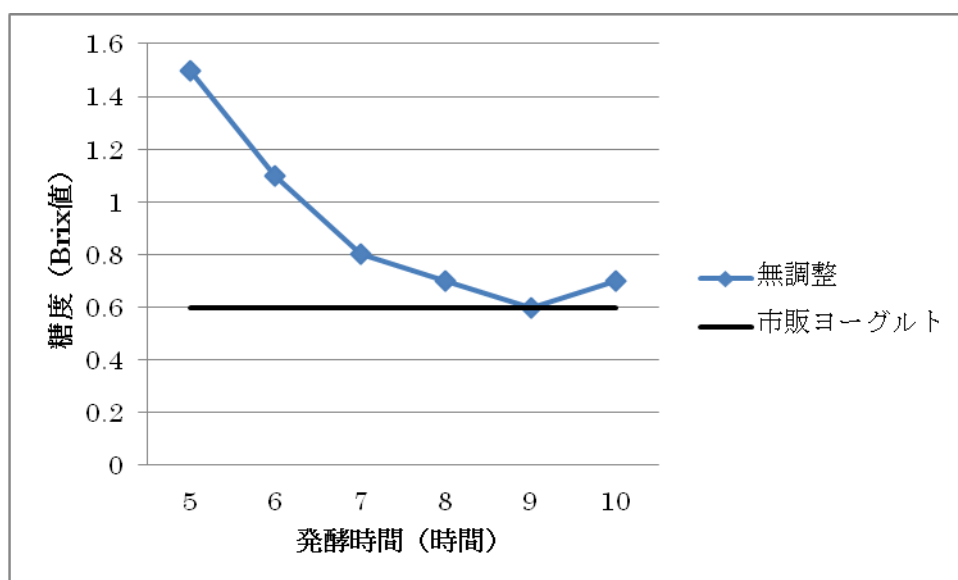
写真5 発酵実験②におけるヤクルトを用いた試料の様子

写真3, 4, 5 から、[豆乳]、[生クリーム]は固まったが、[ヤクルト]は固まらなかった。

発酵実験③



グラフ 8 発酵実験③における酸量の変化



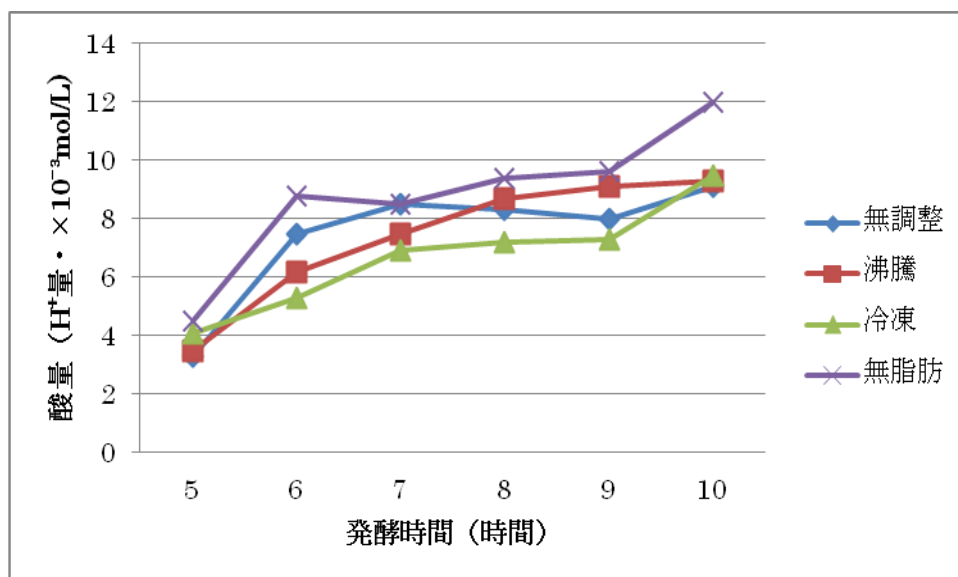
グラフ 9 発酵実験③における糖度の変化

グラフ 8 より、酸量は、5～7 時間で変化があり、7～9 時間ではほとんど変化がなかった。6～7 時間で市販ヨーグルトの値をとった。

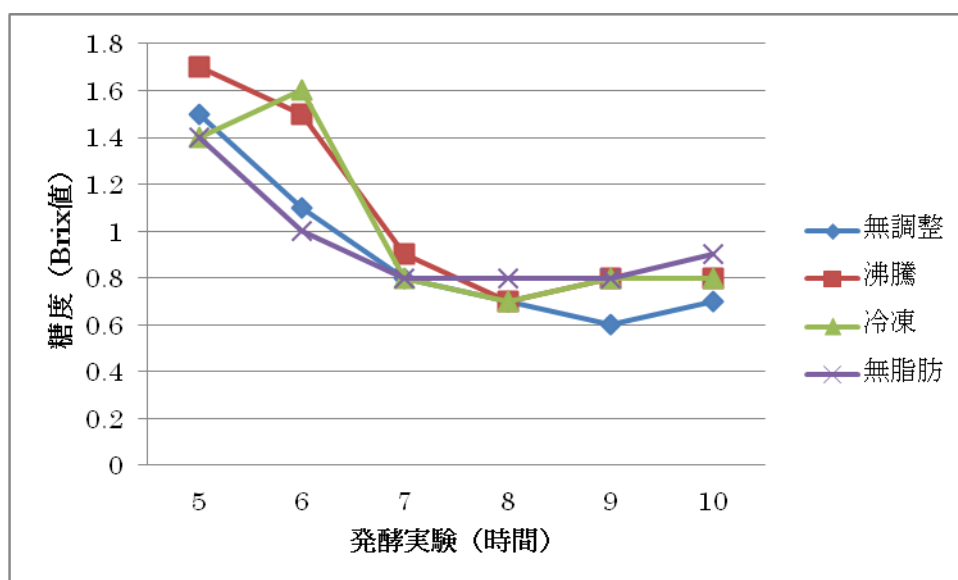
グラフ 9 より、糖度も、5～7 時間で変化があり、またその後は変化が小さく、市販ヨーグルトに近い値をとった。

この実験において、発酵時間 5 時間の試料は、まだ固まっておらずほとんど液状で、6 時間では、どろどろしていた。7 時間では完全に市販ヨーグルトの状態の固さまで固まっていた。

発酵実験④



グラフ 10 発酵実験④における酸量の変化



グラフ 11 発酵実験④における糖度の変化

グラフ 10、11 より、酸量、糖度において、[無脂肪]以外の試料は大きな違いはなかった。[無脂肪]については、糖度はほとんど変わらなかったが、酸量は全体的に大きな値をとった。

4. 考察

I. 腐敗実験

ヨーグルトの内部の腐敗進行は予想以上に遅かったので、当初表面のカビを除いて試料採取を続けたが、実験開始後3週間で「ブルガリアヨーグルト」のカビが除去できない段階に達し、さらに6週間後にはほとんどのヨーグルトでカビの繁殖が凄まじく、ここで腐敗実験を中止した。

腐敗が進行するにつれて酸量が増加すると予想したが、上記のカビの影響で考察するに十分な結果が得られなかった。

II. 発酵実験

- 発酵実験①の結果を市販のヨーグルトの値と比較してみたところ、試料が固まったこと、酸量と糖度の急激な変化、さらに市販のヨーグルトの値をとる、ということから、5時間から10時間の間に市販のヨーグルトに近い状態があると考えた。なお、酸量の値が10時間以降増え続け、市販のヨーグルトの値を大きく上回った原因は、5時間から10時間までに市販のヨーグルトの状態まで発酵したのに、余計に発酵し続けたことにあるとし、発酵実験③と発酵実験④では10時間以降の変化について考えなかった。
- 発酵実験②において、豆乳は、タンパク質量が充分であったため凝固したが、何らかの牛乳との成分の違いにより、糖度の変化において差が出たと考えられる。また、生クリームは、材料に牛乳が用いられているため、牛乳と似た酸量の増加、糖度の減少が起きたと推測できる。ヤクルトを用いた試料が固まらなかったことについては、乳製品ではあるが、タンパク質量が凝固に必要な量より少ないのではないかと考えた。
- 発酵実験③、④から、無調整乳において、沸騰、冷凍の操作は発酵に大きな影響は与えなかった。脂肪量は発酵には影響を与えるが、無脂肪乳は無調整乳以上に市販のヨーグルトの値より大きくなるので、市販のヨーグルトに近い状態を目指すという目的においては有効ではない。つまり、無調整乳を用いて、発酵時間を7時間から9時間の間に設定した時、もっとも市販のヨーグルトに近いものを作ることができる。

5. 結論

今回私たちが行った研究の範囲では、上に記したように、無調整乳を用いて7時間から9時間発酵させると市販のヨーグルトに近いものを作製することが可能であることがわかった。今後は、今回実行できなかった、発酵させる環境条件を変化させる実験を行い、さらに無調整乳よりも市販のヨーグルトに近い状態をつくりだすことのできる乳の条件を調べたい。

6. 参考文献

* 2 生化学辞典 第3版, 東京化学同人

* 3 “乳酸菌って、どんな菌？－分かりやすい基礎講座－（その2）乳酸菌の代謝,
森地 敏樹, http://www.nyusankin.or.jp/scientific/moriji_4.html

①恵ラボ <http://www.megumi-yg.com/labo/mystery01.html>

②明治ブルガリアヨーグルト倶楽部

<http://www.meijibulgariayogurt.com/knowledge/012.html>

7. 謝辞

本研究を行うにあたって、担当して下さった板口徹郎先生、ならびに時に厳しく時に優しく助言して下さった化学科の先生方、本当にありがとうございました。