



ヨーグルト製造中のpH, 酸度, アミノ酸について

近藤, 健次郎
石田, 司郎
永原, 茂雄

(Citation)

兵庫農科大学研究報告. 畜産学編, 4(1):21-24

(Issue Date)

1959

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/81006329>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81006329>



ヨーグルト製造中の pH, 酸度, アミノ酸について

近藤 健次郎・石田 司郎・永原 茂雄

Studies on pH value, Titratable acidity and Amino acids of Yoghurt.

Kenjiro KONDO, Shiro ISHIDA and Shigeo NAGAHARA.

まえがき

ヨーグルトが知られるに到つたのは Metchnikoff¹⁾氏がブルガリヤ人に長寿者が多い理由として、*L. bulgaricus* を主体とした醗酵乳飲用にある事を述べて以来の事と云はれている。

本実験はヨーグルトの基礎的研究として現在最も普通で使用されている *Streptococcus lactis* (*S. lactis*) 及び *Lactobacillus bulgaricus* (*L. bulgaricus*) を併用して、凝固時間、乳酸酸度、pH にどのような変化を与えるかを先づ検討し、次にそれらの菌が牛乳蛋白質に如何なる変化を与えるかをアミノ酸の定性に依り検討してみた。

実験方法

I. *S. lactis* 及び *L. bulgaricus* に依る酸度と pH の

Table 1. Relations between coagulating period, titratable acidity and pH value (Mixed Starter 2%, 5%, Temp., 25°C, 35°C, 45°C)

L. B S. L	2 %			5 %		
	Time m.	Acidity %	pH	Time m.	Acidity %	pH
1:5	1360	0.312	5.00	1260	0.334	4.95
1:3	1325	0.342	5.05	1215	0.365	4.90
1:1	1290	0.360	4.95	1190	0.385	4.70
3:1	1210	0.375	4.40	1095	0.424	4.30
5:1	1185	0.384	4.35	1120	0.417	4.45
35°C						
1:5	520	0.419	4.80	450	0.463	4.48
1:3	490	0.401	4.75	460	0.437	4.68
1:1	520	0.292	4.81	460	0.428	4.80
3:1	560	0.356	4.91	460	0.419	4.79
5:1	520	0.383	4.99	460	0.410	4.81
45°C						
1:5	355	0.374	3.60	370	0.383	3.95
1:3	345	0.356	3.75	370	0.365	4.00
1:1	390	0.365	3.72	335	0.365	4.15
3:1	390	0.356	4.20	305	0.374	4.25
5:1	390	0.383	4.00	290	0.374	4.20

Total Solids 11.15%

変化について

a. 試料の調整

脱脂粉乳を全固形分10~11%に稀釈し90°Cで30分殺菌しこれを試料とした。殺菌後直ちに30°Cに冷却し、バルクスターターを試料の2%及び5%となる様 *S. lactis*, *L. bulgaricus* を次の割合で添加した。即ち1:5, 1:3, 1:1, 3:1, 5:1. スターター添加後 25°C, 35°C, 45°C に於て孵卵器中にて培養し凝固に到る時間、凝固時の酸度、pH を測定した。pH はガラス電極 pH 計を使用し、酸度、pH は遠心分離後 (2500 R.P.M, 10分) その whey に依つて測定を行った。

b. スターターの調整

スターターとしては *S. lactis* 及び *L. bulgaricus* の二種を使用した。

i). マザースターター (mother starter)

培養基として稀釈脱脂粉乳 (全固形分10%) を約15cc 試験管に取り90°Cで30分、3回間歇殺菌を行い2~3°Cの冷蔵中に保存し必要に応じて使用した。菌を植付けた後培養条件は *S. lactis* は25°Cで *L. bulgaricus* は35°Cで夫々14時間であつた。

ii). バルクスターター (bulk starter)

150°Cで1時間乾熱滅菌をした 100cc 容三角フラスコに培養基 (マザスターターと全様) を40~50cc取り90°Cで1回殺菌し直ちに冷却し培養条件は *S. lactis* は25°Cで *L. bulgaricus* は35°Cで夫々15時間とした。

尚バルクスターターの乳酸酸度は *S. lactis* で 0.5~0.6%, *L. bulgaricus* では 0.7~0.8% であつた。

II. *S. lactis* 及び *L. bulgaricus* に依るアミノ酸の変化について

a. 試料の調整

実験 I と全じ。培養時間は0, 24, 96時間とした。

b. 除蛋白質液の調整

夫々の時間培養後、遠心分離し、(2500 R.P.M 10分) その whey に 15% のトリクロル醋酸 10cc を加へ、90分間重湯煎上にて加熱し沈澱物を濾紙 NO. 2 にて濾過した。この濾液中の過剰のトリクロル醋酸除去のため分液漏斗中にてエチルエーテル10ccを加へて良く振盪し、10分間

Fig. 1. Relations between titratable acidity, pH value and incubating time. (Total solids 10.12%, Starter 5%)

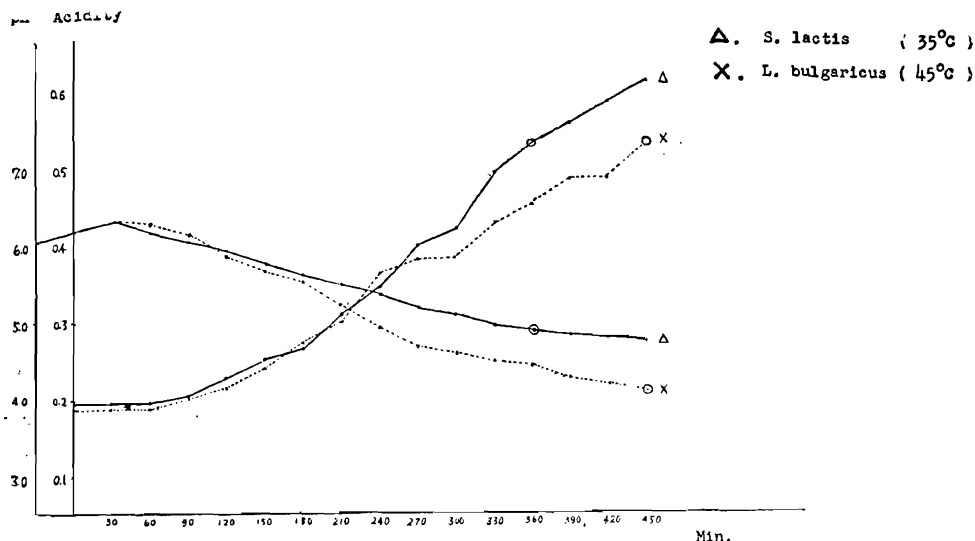


Table 2. Amino acids in unhydrolyzed and hydrolyzed protein-free fractions of milk incubated for 0, 24, and 96 hours. (Starter 2%, 35°C)

hr.	Amino acid	S. lactis		L. burgaricus		S. lactis+L. burgaricus 1:1	
		Un-hydr.	Hydr.	Un-hydr.	Hydr.	Un-hydr.	Hydr.
0	Leu	+	+	+	+		+
	Phe						
	Val	+	+		+	+	+
	Tyr						
	Ala			+	+		+
	Pro	+	+	+	+		+
	Glu	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+	+	+
	Ser						
	Cys		+		+		+
24	Leu	+	+	+	+	+	+
	Phe						
	Val			+	+		+
	Tyr			+	+	+	+
	Ala	+	+	+	+		+
	Pro			+	+	+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+	+	+
	Ser						
	Cys	+	+	+	+	+	+
96	Leu	+	+	+	+	+	+
	Phe	+	+	+	+	+	+
	Val	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+	+	+	+	+	+
	Ala	+	+	+	+	+	+
	Pro	+	+	+	+	+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+	+	+
	Ser						
	Cys	+		+	+	+	+

静置後下層の液を取り更に重湯煎上にて加熱しエーテルを除去した。

加水分解は此の液 1cc をアンプル中に封入し 6 N 塩酸 10cc を加へ 110°C で 24 時間行つた。

c. イオン交換樹脂に依るアミノ酸の抽出²⁾

アミノ酸の吸着には Amberlite IR-120 を使用し交換樹脂筒としては直径 1.0cm の 50cc 容活栓付ビューレットを利用し、樹脂は約 12cc、流速は 1 分間 1cc とした。吸着したアミノ酸を水洗後、N-NH₃ 20cc で落しその 15cc を採り過剰のアンモニアを蒸発せしめて除去した。これをペーパークロマトグラフ用に供した。

d. ペーパークロマトグラフ法³⁾⁴⁾

二次元ペーパークロマトグラフに依りアミノ酸の定性を行つたが展開用の濾紙は東洋濾紙 NO. 50 を使用、一次元溶媒は n-ブタノール：氷醋酸：水(4:1:2)、二次元溶媒はフェノール：水(4:1)のものを使用し、何れも調製後 1 週間以内のものとした。

濾紙は 20×20cm として濾紙 1 隅の両辺より夫々 3cm の所にサンプルを直径 1cm 以内の大きさに点じ、二次元上昇法に依りガラス筒内にて行い風乾後ニンヒドリン発色法に依り検出した。スポットの確認は既知アミノ酸の Rf 値との比較に依り行つた。

実験結果及び考察

実験 I. 乳酸菌配合に依る凝固時間、酸度、pH の変化は第 1 表に示した。即ち乳酸菌の使用量、使用比率に関係なく温度の上昇と共に凝固時間が短縮した。25°C に於ては *L. bulgaricus* の多い方が凝固時間が短かつ

Table 3. Amino acids in unhydrolyzed protein-free fractions of milk incubated for 24 hours. (Mixed Starter 2%, 5%. Temp., 25°C, 35°C, 45°C)

S. L	Ami- no	25°C				35°C				45°C			
		2 %		5 %		2 %		5 %		2 %		5 %	
		U.	H.	U.	H.	U.	H.	U.	H.	U.	H.	U.	H.
0 : 0	Leu		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tyr												
	Ala												
	Pro		+	+	+	+	+	+	+			+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+
	Gly												
	Ser											+	+
	Cys			+									
1 : 3	Leu	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+		+			+	+	+	+		+	+
	Ala			+			+	+	+			+	+
	Pro						+	+	+			+	+
	Glu	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+
	Gly	+	+	+	+		+	+	+	+	+		+
	Ser												
	Cys			+									
1 : 5	Leu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+		+	+	+	+	+	+			+	+
	Tyr	+		+	+	+	+	+	+			+	+
	Ala		+	+	+	+	+	+	+			+	+
	Pro		+	+	+	+	+	+	+			+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
	Ser												
	Cys			+									
3 : 1	Leu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+		+		+	+	+	+	+	+	+	+
	Ala		+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
	Pro		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
	Ser												
	Cys			+									
5 : 1	Leu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+				+	+	+	+	+	+	+	+
	Ala			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pro		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
	Ser												
	Cys			+									

Table 4. Amino acids in unhydrolyzed and hydrolyzed protein-free fractions of milk incubated for 96 hours. (Mixed Starter 2%, 5%, Temp., 25°C, 35°C, 45°C)

S. L	Ami- no	25°C				35°C				45°C			
		2 %		5 %		2 %		5 %		2 %		5 %	
		U.	H.	U.	H.	U.	H.	U.	H.	U.	H.	U.	H.
0 : 0	Leu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+											
	Ala		+	+									
	Pro	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+
	Glu	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+										
	Ser	+	+										
	Cys							+					
1 : 3	Lcu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+				+	+	+	+				
	Ala		+	+									
	Pro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+								
	Ser	+	+										
	Cys												
1 : 5	Leu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ala		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+								
	Ser	+	+										
	Cys												
3 : 1	Leu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+		+		+	+	+	+	+	+	+	+
	Ala		+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
	Pro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+								
	Ser	+	+										
	Cys												
5 : 1	Leu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Phe												
	Val	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Tyr	+				+	+	+	+	+	+	+	+
	Ala			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gly	+	+	+	+								
	Ser	+											
	Cys												

たが 35°C、45°Cに於ては2%にあつてはむしろ *S. lactis* の多いもの、5%にあつては *L. bulgaricus* の多いものが夫々時間を若干短縮して使用量、比率には一定の関係を見出さなかつた。

酸度は乳酸菌の使用量にかゝらず25°Cに於ては *L. bulgaricus* の多いもの、35°Cに於ては *S. lactis* の多いものが夫々若干の酸度の上昇を来し45°Cに於ては殆んど変化がなかつた。これは乳酸菌の生育温度に依るものと考えられる。

pH と酸度の関係についてみると25°C、35°Cに於ては WILKOWSKE⁵⁾ の結果と全じく pH と酸度は平行しているが45°Cに於てはその関係が認められなかつた。これについて *S. lactis*、*L. bulgaricus* を夫々単独に 35°C、45°Cに於て培養しその関係を見た所第1図の如き結果を得た。即ち *S. lactis* が *L. bulgaricus* より酸度の上昇が高く pH にあつては *L. bulgaricus* の方が下降度が強い事を示している。

尚温度に依る菌の分布、形態をも観察したが25°Cに於ては *S. lactis* が多く35°Cに於てはやゝ均等に分布し45°Cに於ては *S. lactis* が殆んど存在せず *L. bulgaricus* が互に連鎖状を呈していた。

以上の結果より酸度と pH が併行しないのは菌の配合に依るものと考えられる。

実験Ⅱ. *S. lactis*、*L. bulgaricus* を単独又は1:1の配合で使用した時のアミノ酸の変化は第2表に又その他の配合の場合は第3表、第4表に示した。単独の場合は特に *S. lactis* の時は VAN DER ZANT⁶⁾ らの結果と殆んど全様な傾向を示したが、非加水分解、加水分解共に時間の経過と共に現出するアミノ酸の種類が増大し又その他の配合の場合にあつても乳酸菌の使用量に関係なく全時に菌種に依る変化を殆んど認め得なかつた。

要 約

1. 温度の上昇に依つて凝固時間が短縮した。
2. 酸度と pH の関係は、*S. lactis*、*L. bulgaricus* を夫々単独に用いた時は平行したが両者を配合した時には

その傾向を認める事が出来なかつた。

3. 乳酸菌の使用量、配合には殆んど関係なくヨーグルト中に生産される遊離アミノ酸の種類は時間的経過と共に増大した事を定性的に認め得た。

(畜産製造学講座昭和34年8月31日受理)

文 献

- 1) 安藤則秀：牛乳と乳製品の理化学，1958
- 2) 清水 博：イオン交換樹脂，1957
- 3) 柴田村治：ペーパークロマトグラフ法の実際，1957
- 4) 桑田 智：クロマトグラフィ，1954
- 5) H.H. WILKOWSKE: *J. Dairy Sci.*, **37**:22, 1954.
- 6) W. C. VAN DER ZANT and F. E. NELSON: *J. Dairy Sci.*, **37**:720, 1954

Résumé

In order to investigate the properties of yoghurt, pH value, titratable acidity and amino acids were determined. *Streptococcus lactis* (*S. lactis*) and *Lactobacillus bulgaricus* (*L. bulgaricus*) were employed as starter.

The results were as follows:

1. The coagulating period was shortened by increasing temperature, and mixing ratio or amount of starter were not effective.
2. The correlation between titratable acidity and pH value was recognized by simple using of *S. lactis* or *L. bulgaricus*, but mix using of starter checked the correlation.
3. Increasing the incubating time, abundantly free amino acids were determined in hydrolyzed and unhydrolyzed protein free fraction.

The amount of starter was not the essential factor.

(Laboratory of Animal Food Chemistry)