

家庭で植え継がれたカスピ海ヨーグルト

兒玉 成一、安隨 ゆき枝*、熊川 裕子*

要 約

各家庭で植え継がれ、保存環境の異なる6種のカスピ海ヨーグルトについて、酸度、粘性、pHおよび官能評価を行い比較した。また特異的であった二種のヨーグルトの有機酸の同定ならびに含量の測定を行なった。HPLCを用いた有機酸分析の結果、カスピ海ヨーグルト中に乳酸、酢酸、グルコン酸、プロピオン酸、ピルビン酸の同定が出来た。しかし、その組成は試料によって異なり、植え継がれた環境によって菌叢が変化したことによると考えられ、生成有機酸の違いが香味や食感に影響を与えた。

緒 言

ヨーグルト (yoghurt、yogurt) は、もっとも古くから飲用された発酵乳のひとつで、牛乳、山羊乳、羊乳、水牛乳などをそのまま、あるいは一部濃縮し、乳酸菌により発酵させたものである。

その発祥地は、東地中海沿岸地方、とくにブルガリア、バルカン地方であり、住民の重要な食品であった。メチニコフがブルガリア人に長寿者が多いのは、発酵乳の飲用にもとづくというヨーグルト説を発表して以来、世界中で消費が増大した。わが国でもヨーグルトは、いまや乳製品中重要な地位を占め、市乳工場の経営合理化にとっても欠くことのできないものとなっている。

ひと口にヨーグルトといっても、世界中には実にさまざまな種類がある。グルジアの乳酸菌と酵母を使用したケフィアと呼ばれる乳酒や、フィンランドのとろりとした食感のヴィリヤ、アフガニスタンの水っぽいドゥグ、濃縮した乳を発酵させたチャカや、インドの牛、水牛、山羊の乳を発酵させたダーヒという多種多様なヨーグルトがある。

また、近年日本では、このような古くから良く知られたヨーグルトの分類とは全く別の、不思議なヨーグルトが口コミ・手渡しで広まり、大変なブームを巻き起こしている。このヨーグルトは、京都大学の長寿食の研究者である家森教授が、1986年にカスピ海と黒海にはさまれた旧ソ連コーカサス地方（いまのグルジア共和国）から分析のために持ち帰ったもので、「カスピ海ヨーグルト」と名付けられている⁽²⁾。このカスピ海ヨーグルトは、市販の牛乳に手渡しで広まったカスピ海ヨーグルトを混ぜ、一昼夜室温に置くだけで手軽にできる。また、従来のヨーグルトとは違った独特の粘りとさっぱりした味わいがあり、「株分け」ができるという、特徴を持っている。

一般的なヨーグルトとカスピ海ヨーグルトとの主な違いは二つある。第一は乳酸菌の違いである。市販のヨーグルトに多く使われている乳酸菌はブルガリア菌 (*Lactobacillus bulgaricus*)、サーモフィラス菌 (*Streptococcus thermophilus*)、アシドフィラス菌 (*Lactobacillus acidophilus*)、ビフィズス菌 (*Bifidobacterium longum*) などであるのに対し⁽³⁾、カスピ海ヨーグルトの乳酸菌はクレモリス菌 (*Lactococcus lactis subsp.cremoris*) であること。第二は、好気性細菌のアセトバクター桿菌 (*Acetobacter orientaris*) の存在がある⁽²⁾。このアセトバクター桿菌は、エタノールから酢酸をつくる酢酸菌の仲間である。そしてまた、アセトバクター桿菌は好気性であり、通性嫌気性であるクレモリス菌が苦手とする酸素を消費することでクレモリス菌の増殖を助け、その結果クレモリス菌が粘性多糖体を作り出し、独特の粘りを持つカスピ海ヨーグルトができるのである⁽²⁾。

*：金蘭短期大学生活科学科食物科学専攻食品学ゼミ平成15年度卒業

カスピ海ヨーグルトは菌の育つ環境によって菌の割合や種類が微妙に違う。その違いは、ヨーグルトの粘り具合や酸味などに表れ、日本での漬物のぬか床のようにそれぞれに異なった家庭の味が出来上がる。

そこで、いくつかの家庭で植え継がれ、それぞれ育った環境の異なるカスピ海ヨーグルトを集め、味や性質の違いを比較し、各家庭で受け継がれているカスピ海ヨーグルトの実態について明らかにするために検討した。

実験材料及び方法

1. 実験材料

(1) カスピ海ヨーグルト

①カスピ海ヨーグルトの種菌(*Lactococcus lactis* subsp.*cremoris*, *Acetobacter* sp.)

フジッコ(株)より購入。

②家庭で植え継がれてきたカスピ海ヨーグルト 6種

六家庭で植え継がれてきたカスピ海ヨーグルト(それぞれ A,B,C,D,E,Fとする)をスターターとして使用した。

(2) 材料

市販牛乳；明治おいしい牛乳 明治乳業(株)

(3) 試薬

試薬は、全て和光純薬工業(株)製 試薬特級を用いた。

2. 実験方法

(1) カスピ海ヨーグルトの調製

試料 A,B,C,D,E,Fから約15gを無菌的に採取し、滅菌した200ml容のビーカーにそれぞれ市販殺菌牛乳150ccを加えて混合し、常温で24時間放置後、冷蔵庫にて保存した。

市販カスピ海ヨーグルト種菌を使用したヨーグルトの調製は、まず50ml容の密閉容器に種菌の粉末2gに対し牛乳40mlを加えて十分混合した後、常温で24時間放置し発酵させた。凝固後、カスピ海ヨーグルトの調製法と同様の操作により調整し標準カスピ海ヨーグルトとして用いた。

(2) カスピ海ヨーグルトの酸度の測定方法

試料約8gに純水約40mlを加えよく攪拌し1.0%フェノールフタレン溶液を指示薬として0.1NaOH溶液(力値:1.001)で滴定を行った。実験は二回行い、ヨーグルト中の乳酸含量として算出した。

(3) 粘度の測定方法

B型粘度計(ロータNo.4)を用い、室温で測定した。

(4) pHの測定方法

pHメータ(HORIBA D-21)を用い、ヨーグルト中に直接電極を挿入して測定した。

(5) 官能評価の方法

市販種菌を用いて調製したヨーグルトを標準とし、同じ条件で調製した6種類のカスピ海ヨーグルトの酸味、

家庭で植え継がれたカスピ海ヨーグルト

甘味、香り、粘りについての官能評価を8名の一般パネルを使って行った。

(6) 有機酸の測定方法

①高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による測定

カスピ海ヨーグルトを適宜脱イオン水で希釈後、メンブランフィルター（孔径 $0.45\mu\text{m}$ ）でろ過し、ろ液について HPLC を用いて、保持時間 (RT) から有機酸の同定ならびに定量を行なった。

高速液体クロマトグラフィーの測定条件を下記に示した⁽⁴⁾。

< H P L C 測定条件 >

高速液体クロマトグラフィー： 日立（株）製 L-6000

カラム： 島津製作所（株）製 ULTRON PS-80H (300mm×8.0mm I.D.)

移動相： 10%アセトニトリル(CH_3CN)添加 $\text{HClO}_4\text{aq.}$ (pH2.1)

流 量： 1.0ml/min

温 度： 室温

検出波長： 210nm

実験結果および考察

1. カスピ海ヨーグルトの pH、酸度および粘度

カスピ海ヨーグルトの pH、酸度および粘度の測定結果を表-1 にまとめた。

測定した全ての試料の pH は、4.46～4.59 の範囲にあり、標準品は4.54であった。標準に比べて3試料(A,C,E) の pH が同程度、2試料(B,F) はそれ以上、D はそれ以下であった。

酸度は、乳酸として0.73(W/W%)から0.90(W/W%)の範囲にあり、標準品は0.79(W/W%)であった。標準に比べて4試料(B,D,E,F) の酸度が同程度またはそれ以上であり、2試料 (A,C) の値は低かった。

また、粘度については、標準品は2440～10400cp. であり、標準に比べていずれの試料とも、同程度もしくは高い傾向にあった。特に A, B, C, D の4試料は高かった。

表-1 pH,酸度および粘度測定結果

試料	標準	A	B	C	D	E	F
pH	4.54	4.53	4.59	4.56	4.46	4.55	4.59
酸度(W/W%)	0.79	0.73	0.9	0.77	0.83	0.79	0.88
粘度(cp)	2440～10400	3950～11200	4000～10500	3890～11600	3490～10700	2690～8900	3200～8903

2. 官能検査の結果

酸味、甘味、香り、粘りについての官能評価を8人の一般パネルを用いて行い、標準に比べて強い場合「5」、同程度であれば「3」、弱い場合「1」とした。その平均値を表-2に示した。

表-2 官能評価結果

	A	B	C	D	E	F
酸味	2.8	4.5	2.8	2.5	2.7	2.7
甘味	2.3	1.5	2.8	3.8	1.8	1.7
香り	3.3	4.0	3.0	2.8	3.0	3.3
粘り	3.0	3.3	2.0	2.1	2.7	2.7

表-2に示したように、酸味はB以外はいずれも標準に比べて同程度または弱かった。甘味はD以外の4種は標準に比べて弱く、Cは標準と同程度であった。香りはB以外のいずれも標準と同程度であった。粘りはCとDが標準に比べて弱く、他の4種は標準と同程度であった。従って、Bは最も酸味、香り、粘りが強い反面、甘味が最も低い特徴があった。

また、DはBとは逆に、最も甘味が強い反面、酸味、香り、粘りが強いという特徴があった。

酸度、粘度、pH、官能評価の結果を総合すると、各家庭から譲与された6つの試料のうち、Bは標準品よりも酸度、粘度の値が高く、官能検査でも甘味が感じられないのに対し酸味、香り、粘りが著しく強い結果であった。また、官能検査で特異的であったDは、標準品に比べてpHはやや低いが、酸度、粘度はほぼ同程度であった。そして試料Eは、官能検査では酸味、甘味、香り、粘り全てにおいて標準とほぼ同じ評価であったが、香りに関しては、一般的なヨーグルトの匂いが非常に弱い、他の試料に比べて匂いが弱く感じられたという意見と、発酵臭が強く、好ましくない臭いであるという意見の半々に分かれた。また、粘度測定によると、Eは他の5試料の中で最も低く、標準品に一番近い値であり、酸度、pHは同程度であった。そこで、B,Eの2試料には、それぞれどのような酸が存在するのかを検討することにした。

3. 有機酸の測定結果

図-1に標準有機酸のHPLCクロマトグラムおよびリテンションタイム(RT)を示した。

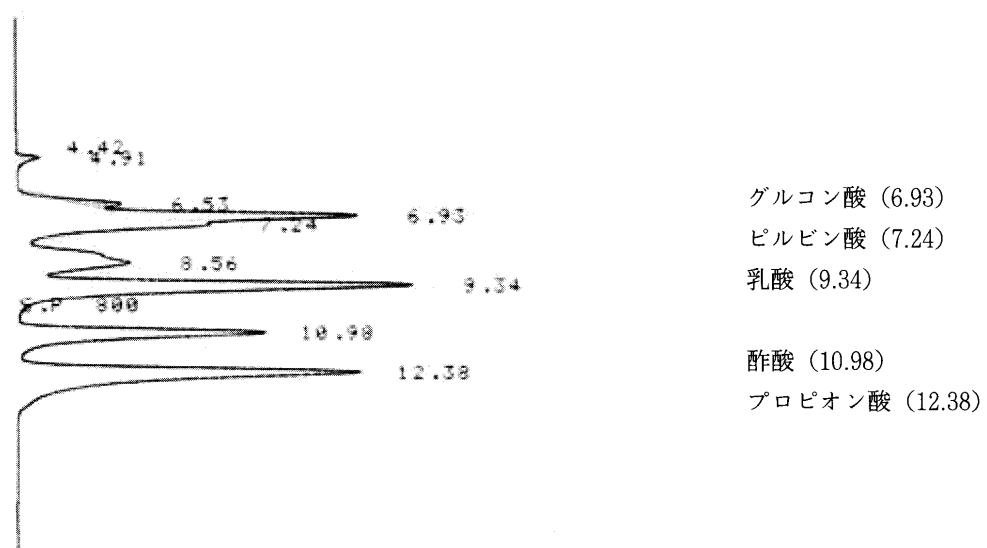


図-1 5種類の有機酸とサンプルのクロマトグラムおよびリテンションタイム

家庭で植え継がれたカスピ海ヨーグルト

pH、酸度、粘度および官能評価において特徴的であった 2 試料 (B,E) と標準とした市販種菌から調製した試料について、有機酸の同定ならびに定量を行った。

各試料のヨーグルト中には、その RT から酢酸、乳酸、グルコン酸、ピルビン酸、プロピオン酸が同定された。それぞれの有機酸の定量結果を表-3 に示した。

表-3 HPLC法によるカスピ海ヨーグルトの有機酸分析(W/W%)

試料	グルコン酸	酢酸	乳酸	ピルビン酸	プロピオン酸
標準	0.064	0.034	0.72	0.0073	0.0006
B	0.079	0.034	0.90	0.0084	0.0057
E	0.083	0.012	0.90	tr.	tr.

いずれの試料にも乳酸が最も多く検出された。そして、次にグルコン酸、酢酸、ピルビン酸、プロピオン酸の順に多く存在していた。

また、標準品よりも試料 B には検出された全ての酸において同程度又はそれ以上存在し、有機酸が多いことがわかった。また、試料 E にはピルビン酸、プロピオン酸が存在せず、また酢酸も標準品や試料 B に比べて少ないことが分かった。

主にカスピ海ヨーグルト中にはクレモリス菌やアセトバクター桿菌が存在し、それぞれ乳酸や酢酸を生成するといわれている。今回得た 6 家庭で植え継がれたカスピ海ヨーグルトは、植え継ぎの期間や保存状態は明らかではないが、植え継ぎ操作時に別の菌が混入し増殖したため活性を弱めたか、また環境により本来存在しているはずのクレモリス菌やアセトバクター桿菌の活性が低くなつたと考えられる。

他の試料や標準品に比べて特異的であった試料 B と試料 E について有機酸の測定結果からは、試料 B には乳製品特にチーズの香りに関係のあるプロピオン酸が標準品よりも約10倍多く存在していた。このことが、官能評価で B が最も発酵臭が強いと評価された原因ではないかと考えられる。

ま と め

コーカサス地方では、各家庭で一昔前の日本のぬか床のようにこのカスピ海ヨーグルトが受け継がれている⁽²⁾。最近、日本においてもカスピ海ヨーグルトブームにより多くの家庭でも受け継がれ、食されるようになり、その味や性質が異なるのはどのような要因によって影響を及ぼしているのかを検討した。まず影響を及ぼすと考えられるものとして試料中の菌とそれらが生成する有機酸が挙げられる。高速液体クロマトグラフィーを用いて有機酸の同定を行った結果、乳酸、グルコン酸ならびに酢酸が多く存在することが分かった。

明石らは、日本国内の家庭で継代培養されているカスピ海ヨーグルトの構成微生物の同定を行い、継代培養された後でも主要乳酸菌であるクレモリス菌 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) は、安定的に存在しているが、その他の菌叢は各家庭により異なると報告している⁽⁵⁾。

検出された有機酸から菌叢について考えると、牛乳および乳製品に関するホモ発酵乳酸菌は乳糖から乳酸のみを生成する。また、カスピ海ヨーグルトに存在するアセトバクター桿菌は酢酸菌の仲間であり、エタノールから酢酸をつくる。ヘテロ乳酸発酵菌種は、乳糖を主にラクターゼによって分解し、グルコース、ガラクトースまたはグルコン酸を生成すると考えられている^(6,7,8)。

乳製品中の乳糖から分解したグルコースは HMP(Hexosemonophosphate) 経路を経て、Glyceraldehyde-3-phosphate となり、次いで EMP (Embden-Meyerhof-Parnas) 経路を経てピルビン酸を生成し、さらに乳酸となる⁽⁵⁾。本実験に用いたカスピ海ヨーグルトは、多くの場合冷凍庫にて保存してきたものと考えられるが、冷蔵保

存は菌叢を一定に保つものではない⁽²⁾。そして、これらのヘテロ乳酸発酵菌種が植え継ぎ時や発酵、保存時に混入したと考えられる。

カスピ海ヨーグルトは、市販の牛乳に手渡して広まった「カスピ海ヨーグルト」を混ぜ、一昼夜室温に置くだけでできる手軽さと、従来のヨーグルトとは違った独特の粘りとさっぱりした味わいが人気の要因の一つでありまた、クレモリス菌が生産すると言われる粘性多糖類の免疫賦活効果も期待されている。しかし、本実験の結果からも分かるように、保存法や発酵条件、環境によって、大きく菌叢が変わってしまうことが予想され、期待される健康的効果が失われる可能性もある。従って、植え継ぐ際には、カスピ海ヨーグルトに合った良い条件で植え継ぐ必要があり、衛生面・安全面において十分な配慮が必要と考える。

引用文献

- (1) 池永昌靖 編集「カスピ海ヨーグルト健康レシピ」 双葉社 2002
- (2) 家森幸男 著「カスピ海ヨーグルトの真実」 法研 2002
- (3) 中西武雄 著「牛乳・乳製品の微生物」 地球社 1983
- (4) 「GC/LC 総合カタログ」 さんえい出版 製造元 信和化工(株) p.32 (1995)
- (5) 明石啓子、内田健治、大久保 慶輝、元島 英雄 2004年度日本農芸化学会大会講演要旨集 p.176
- (6) Shahani, K. M.: J. Dairy Sci., 43, 852(1960)
- (7) 北原覚雄「乳酸菌の研究」 (1966)
- (8) Wood, W. A. :The Bacteria, Vol 2. 59(1961)