

アルコール発酵乳ケフィールの低粘度化

田村吉史・川上 誠

Viscosity Decrement of Kefir Fermented Milk

Yoshifumi TAMURA and Makoto KAWAKAMI

Kefir is a traditional fermented dairy product of the northern Caucasus. It is produced by fermenting milk with kefir grains, which are a mixture of yeasts and lactic acid bacteria. As a result, ethanol, lactic acid and carbon dioxide are also components of the final kefir product. In its traditional state, it is a highly viscous beverage. In this study, we were successful in our goal of producing a smoother, easier-drinking kefir by reducing viscosity. Three methods were useful in this pursuit: enzymolysis, the addition of whey before fermentation, and, most effective of the three, fermentation combined with a mixing action. In the last of these methods, milk was fermented using kefir grains (10% of the milk by volume) for a period of 5 hours. During that time, the fermenting mixture was maintained at a constant 20°C and agitated by revolving it at 120 rpm. After that, the kefir grains were sieved out. The remaining milk was allowed to ferment at 15°C for a further 18 hours in a static state. The result was a new, low-viscosity kefir product of about 60cP. Although smoother and readily drinkable, this new product did not suffer any loss of kefir flavor. As an additional benefit, the filtered kefir grains were reusable and remained effective in fermenting additional milk even after 10 uses.

最近、国民の健康に対する意識の高まりにより、食品についても健康に良いものを求める傾向がある。牛乳は健康食品の代名詞のような食品であり、ヨーグルトにおいては各種の研究により健康食品としての地位を確固たるものとしている。「ヨーグルトきのこ」という名称で健康飲料として雑誌等で取り上げられているケフィール(kefir)は、旧ソ連の北コーカサス地方が原産のアルコール発酵乳である¹⁾。kefirは通常ケフィアと発音されているが、原産地の発音にしたがえばケフィールであり、この語源はコーカサス地方の“kefy”，またはトルコ語の“kef”に由来し、いずれも「楽しい味」という意味である¹⁾²⁾。ケフィールは主として乳酸菌と酵母からなるケフィールグレインという天然のバイオリアクターにより発酵される。ケフィールグレインはグレイン中の特定の乳酸菌が生産する粘性多糖に、菌体及びカゼイン等が付着し固定化された天然の固定化菌体である³⁾⁷⁾。グレインの大きさはまちまちで、大きいものは手のひら大と言われるが、一般的にはクルミ大から小豆大であり、肉眼では見えないような大きさの粒もある。色は白色から黄

白色で褐色がかったものもあり、古いものほど褐色になる傾向があるといわれている。発酵に使用されたケフィールグレインは、グレイン自体が大きくなるばかりでなく、グレインが分割してその数を増していくことで成長する。

ケフィールの持つ生理活性は多方面に研究されており、抗腫瘍性、免疫賦活作用、抗変異原性が認められている^{8)~12)}。中でもグレインを形成している多糖類についての報告が多い。この多糖類はケフィランといい、グルコースとガラクトースが1:1からなることが明らかにされている¹³⁾。

一般的な作り方は、牛乳中にケフィールグレインを約10%添加し、ヨーグルト状に凝固したのからグレインを取り出して飲料としている。グレインによって発酵されたミルクは、エタノールと二酸化炭素を若干含んだ独特の刺激風味を持つものとなる。ヨーグルト状に凝固したのより除去したグレインは、再び発酵に使用される。グレインを除去したケフィールは、かなりの粘性を持つゾル状の飲料である。このため濃厚な風味を感じさせ、

飲みずらいものとなっている。このことから、粘度を低下させた液状ケフィールの製造法について検討した。

実験方法

1. 材料

牛乳は市販品（乳脂肪分3.6%以上、無脂乳固形分8.5%以上）を用いた。ケフィールグレインは酪農学園大学安藤功一教授より恵与され、当センターにおいて増殖させたものを使用した。

プロテアーゼは、和光純薬㈱、天野製薬㈱、ナガセ生化学工業㈱の製品を使用した。

2. 通常ケフィールの調整

牛乳にケフィールグレインを10%添加し、20°C、24時間静置発酵させ、その後250 μ mのステンレス製篩を用いてグレインを除去したものを通常ケフィールとした。

3. 低粘度ケフィールの調整

以下の3種類の方法により調製した。

(1) 酵素によるカゼイン分解法

発酵方式をグレインによる発酵とグレイン除去後にグレインから遊離した菌による発酵の2段階とした。20°Cで12時間静置発酵させた後グレインを除去し、各種プロテアーゼを添加後、15°Cで24時間2次発酵させ、カゼインを分解することにより低粘度化させた。

(2) ホエーの添加による方法

牛乳より調製したホエーを用いて0~100%の割合になるように牛乳と混合した。このホエー量調製牛乳にグレインを10%添加し、20°C、24時間静置発酵させた。ホエーの調製は牛乳に1NHClを加えpH4.6とし100°Cで30分加熱後沈殿を除去し、1NNaOHによりpH7とし100°Cで30分加熱後再び沈殿を除去した。

(3) 攪拌発酵による方法

2,000 ml容三角フラスコに牛乳1,000 mlを入れ、グレインを100 g添加し、恒温振とう培養器により20°C、24時間発酵させた。攪拌速度は巡回振とうで60, 90, 120 rpmの3段階とした。

4. 試作品の作成

(1) 0 rpm品

牛乳にグレインを10%添加し、20°C、24時間静置発酵させ、その後250 μ mのステンレス製篩を用いてグレインを除去した。

(2) 120 rpm品

2,000 ml容三角フラスコに牛乳1,000 mlを入れ、グレインを100 g添加し、恒温振とう培養器により120 rpm、20°C、5時間でpH4.5以下まで低下させ、グレイ

ンを除去後、酵母主体による2次発酵を行うため、温度を15°Cに低下させ、18時間発酵させた。

(3) ジャファーメンター発酵器

ジャファーメンター (TS-MC 3 ㈱高杉製作所製) により、グレイン添加量5%、20°C、24時間、120 rpm 攪拌発酵させた。

5. 保存性試験

4°Cにより10日間保存した。

6. 分析方法

(1) 粘度

B型粘度計 (デジタル粘度計DVL-BII形㈱トキメック製) を用い、200 ml容トルビーカーにケフィールを入れ付属のローターNo.1及び2を用い、30 rpm、20°Cの条件下で測定した。

(2) pH

pHメーターの電極を直接試料中に挿入し測定した。

(3) ケフィールグレインの増加量

発酵後、250 μ mのステンレス製篩を用いてケフィール中よりグレインを分離し、グレインを水洗して付着しているカゼインを除き、余分な水分を除去して重量を測定した。

(4) ケフィール中の乳酸菌数と酵母数

混釈平板培養法により乳酸菌と酵母の生菌数を測定した。乳酸菌の培養はGYP白亜寒天培地または、BCP加プレートカウント培地、酵母の培養はPDA培地に酒石酸を加えpHを低下させて使用した。

(5) シネレシス (ホエー分離)

目盛り付き試験管に各発酵液を入れ、上部に浮いたホエー部分の割合で比較した。

(6) エタノール量

食品分析酵素法試薬であるFキット (ペーリンガーハイム山之内㈱製) を用いて測定した。

(7) 一般成分

乳製品試験法注解に準拠した。

実験結果及び考察

牛乳の粘度は約4 cPであるのに対し、静置発酵させた通常ケフィールはヨーグルトと同じように500~1,000 cPとかなり高く、このための濃厚な風味を感じさせる。ヨーグルトドリンクは通常ハードタイプに発酵させたヨーグルトのカードをホモゲナイザーなどにより物理的に破壊し、牛乳、安定剤等を加えドリンクタイプとしている。市販のヨーグルトドリンクは50~100 cPの粘度を持っている場合が多い。

図1 ホエー配合量がケフィールのpH及び粘度に与える影響

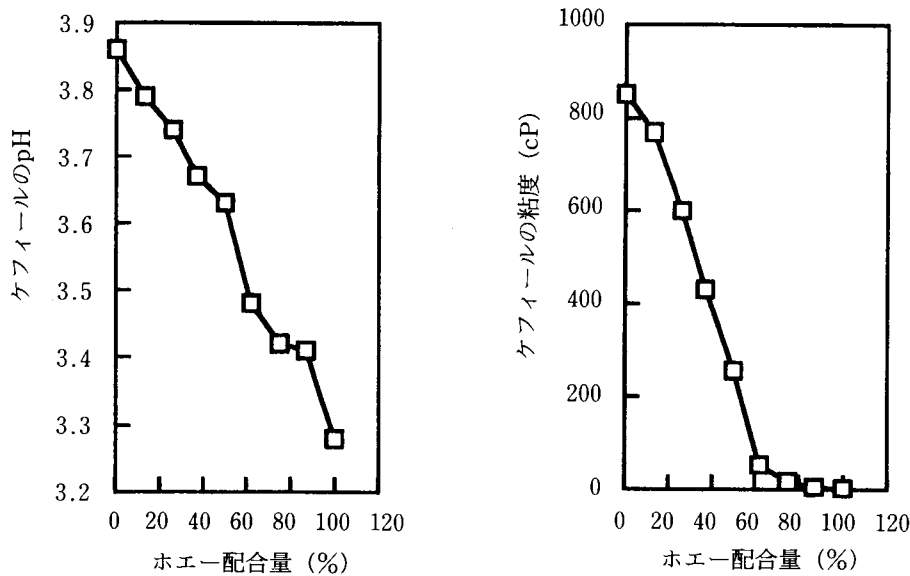


表1 ケフィールのプロテアーゼ処理による性状の影響

	粘性	ホエー分離	苦味
無添加	高	無	無
ペプシン	低	有	有
パパイン	中	有	有
α-キモトリプシン	高	わずかに有	わずかに有
アミノA	低	有	有
アミノB	中	有	わずかに有
アミノM	低	有	有
プロメライン F	低	有	有
ニューラーゼ	中	有	有
デナチーム	中	有	有
XP-415	低	有	有

高：ハードタイプのヨーグルト状
 中：ドリンクタイプのヨーグルト状
 低：牛乳状

(1) 酵素によるカゼイン分解法

各種プロテアーゼによる結果を表1に示した。ケフィールは12時間の発酵によりpH5程度となっており、このため酸性領域で活性の高いプロテアーゼが低粘度化に効果が認められた。しかし低粘度化に効果が高いものほどシネレシス、苦味の発生が大きかった。また、プロテアーゼにより分解することで、ケフィール特有の二酸化炭素を若干含んだ独特の刺激風味が損なわれた。これらのことから判断して、酵素によりカゼインを分解し低粘度化する方法は、欠点が多いことが判明した。

表2 巡回攪拌発酵したケフィールの攪拌回転数による粘度

回転数 (rpm)	粘度 (cP)
0	200以上
60	200以上
90	200以上
120	26

20°C, 24時間

(2) ホエーの添加による方法

添加するホエーの割合が0~100%になるように牛乳と混合し、静置発酵させた場合の結果を図1に示した。ホエーの添加量が増加するにしたがい粘度、pHともに低下した。牛乳中のカゼイン含有量が低下することにより粘度が低下し、同時にタンパク質の減少により緩衝能が低下しpHが低下していくと推察される。ドリンクタイプとして良好な粘度に低下させるためには60%以上をホエーにする必要があることが示され、この場合シネレシスの発生は著しく、また酸味がかなりきつくなることから、この方法も欠点が多いことが判明した。

(3) 攪拌発酵による方法

ケフィール発酵時の回転数の増加に伴う粘度の変化を表2に示した。120rpmの攪拌により粘度が著しく低下した。これは、流動状態でpHが低下し、カゼインの凝集が妨害され、酸性カゼイン粒子が鎖状構造をとれず、小さな粒子になるためと考えられる。このことから、pHが

図2 ケフィールにおける発酵時の攪拌回転数の違いによる pH, グレイン増加量の発酵時間中の変化

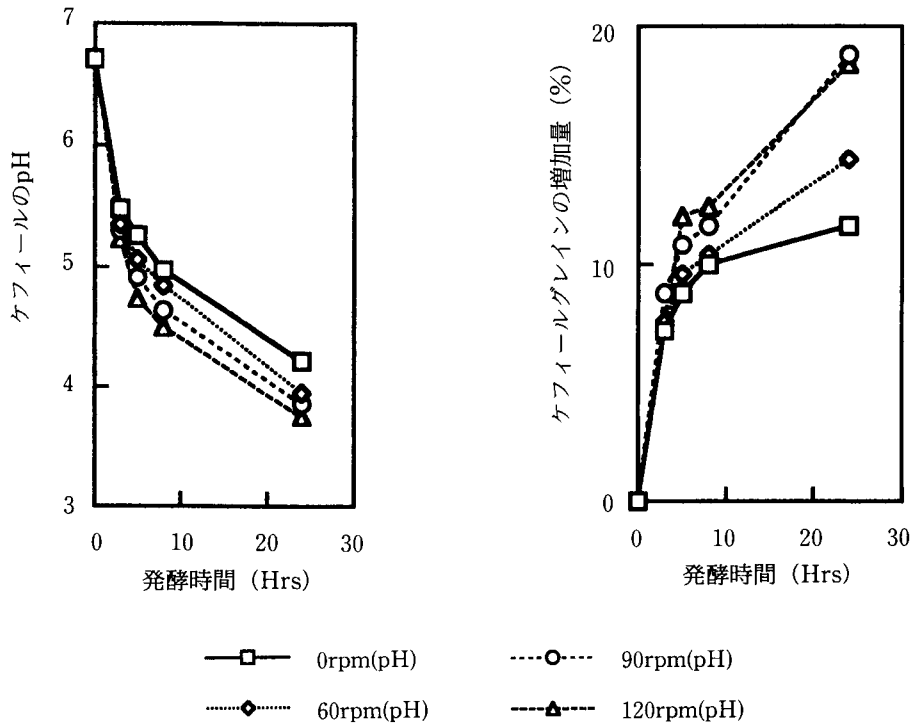
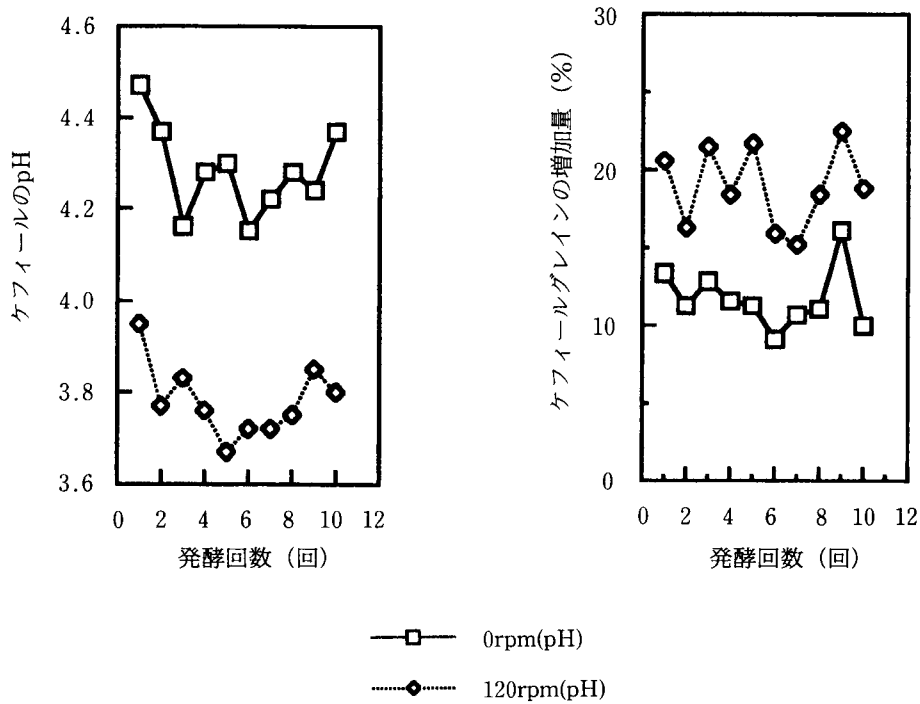


図3 ケフィールグレインを攪拌及び静置で繰り返し発酵に供した場合の pH, グレイン増加率の推移



カゼインの等電点を越えるまで攪拌を続ければ良いことになる。

各回転数における pH の低下とグレインの増加率を図 2 に示した。回転数の増加に伴い pH の低下は大きく、120 rpm の場合 5~8 時間で pH 4.5 以下に達した。グレインの増加率は、回転数が高いほうが大きい傾向を示した。

ケフィールは他の発酵乳とは異なり、スターターとして添加するグレインは繰り返し使用されるため、攪拌発酵によるグレインの安定性も考慮する必要がある。このことから、120 rpm による発酵を繰り返し行いグレイン増加量、pH の低下程度を測定した。図 3 に示すように 10 回繰り返し発酵を行ったが、攪拌発酵させた方が pH が

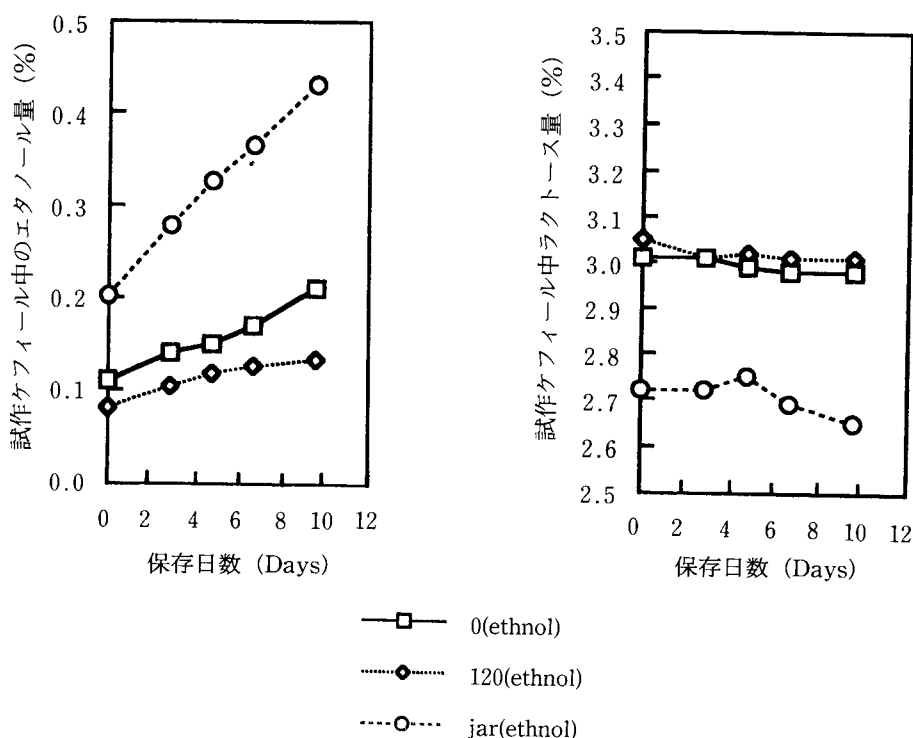
低く、グレイン増加率が高いという傾向に変化なく、攪拌発酵はグレインに悪影響を与えることはないと考えられる。

以上の検討結果より、0 rpm、120 rpm 及びジャフアーメンター発酵品を作成した。0 rpm 試作品は、通常の静置発酵によるケフィールであり、120 rpm 試作品は第一段階の発酵により pH をカゼインの等電点以下とし、これ以上の pH 低下防止のため温度を下げて第二段階の発酵を行い低粘度としたケフィール、そして、ジャフアーメンター発酵による試作品は、攪拌方法の違いによる影響を検討するため、攪拌羽根に因る攪拌を与えて低粘度化した試作品である。ジャフアーメンターによる発酵では、発酵過程でグレインの除去が困難であるため、予備

表 3 試作ケフィールの性状

	pH	エタノール (%)	ラクトース (%)	タンパク質 (%)	脂肪 (%)	粘度 (mPa・s)	乳酸菌数 (log)	酵母数 (log)
0rpm 品	4.25	0.112	3.01	3.12	3.88	567	6.12	6.10
120rpm 品	4.36	0.081	3.05	3.16	3.78	69	6.44	6.46
ジャフアーメンター品	4.03	0.202	2.72	3.15	3.87	73	6.71	6.95

図 4 試作ケフィールの 4℃による保存中のエタノール、ラクトース量の変化



試験により 24 時間発酵後の pH が同程度となる 5% グレイン添加量とした。これら試作品の性状を表 3 に示した。

攪拌発酵により粘度は著しく低下している以外に大きな差異はなかった。また、攪拌方法の違いによる影響はほとんどなかった。

アルコール濃度はジャッファーマンター攪拌発酵した場合の方が最も高く、120 rpm の場合が最も低かった。これら 3 種類について保存中のエタノール量、ラクトース量の変化について図 4 に示した。ラクトース量はほとんど変化していないが、エタノール量は徐々に増加した。4°C の保存温度では、酵母が含まれているために、わずかつエタノール量が増加していると考えられる。保存 10 日目でもエタノール量はわずかであり、今回の試作品中最大のエタノール量であるジャッファーマンター品が、図 4 にみられる傾向のまま増加したと仮定した場合でも、1% を越えるのに 30 日以上がかかる事になる。このことから通常の場合 1% を越える可能性は低いと推察される。

静置発酵した場合ほとんどシネレシスを生じないが、攪拌発酵の場合保存中に徐々に発生する。しかしながら低粘度であるため、簡単な攪拌で混合可能であった。

以上のように、製造時に攪拌発酵を行うことで、若干のアルコールと炭酸ガスを含むケフィールらしさを保持した、低粘度のケフィール飲料が製造可能であることが示された。

要 約

ケフィールは旧ソ連の北コーカサス原産で、ケフィールグレインという天然のバイオリクターを用いるアルコール発酵乳である。濃厚な風味を感じさせるかなりの

粘性を持つ飲料であるため、低粘度ケフィールの作成を検討した。酵素によるカゼイン分解法、ホエーの添加による方法、そして攪拌発酵による方法を検討し、攪拌発酵により良好な結果を得た。20°C、5 時間、120 rpm で攪拌発酵し、グレインを除去後 15°C、18 時間静置発酵することで、独特の風味のある低粘度ケフィールとなり、攪拌を繰り返して行っても、発酵状況に変化はなく、またグレインも安定していた。

文 献

- 1) 中江利考：健康長寿の可能性「ケフィール」、女子栄養大学出版部 (1989)
- 2) KURMANN J.A., RASIC J.Lj., KROGER M.: Encyclopedia of Fermented Fresh Milk Products, 156 (1992)
- 3) 戸羽隆宏 他：化学と生物, **24**, 218 (1986)
- 4) 戸羽隆宏：酪農化学・畜産の研究, **36**, 235 (1987)
- 5) 堀 俊明 他：酪農化学・畜産の研究, **36**, 246 (1987)
- 6) 戸羽隆宏 他：バイオサイエンスとインダストリー, **47**, 43 (1989)
- 7) 吉田 忠 他：北海道栄養短期大学研究紀要, **12**, 11 (1993)
- 8) 大石一二三 他：酪農化学・畜産の研究, **37**, 291 (1988)
- 9) 広中貴宏：酪農化学・畜産の研究, **40**, 277 (1991)
- 10) 北沢春樹 他：酪農化学・畜産の研究, **40**, 261 (1991)
- 11) 久保道徳 他：薬学雑誌, **112**, 489 (1992)
- 12) 広中貴宏 他：New Food Industry, **35**, 35 (1993)
- 13) 足立 達 他：微生物, **6**, 15 (1990)