

# 地域貢献を目的とした思川桜から分離した *Saccharomyces cerevisiae* OPJ-1 を 用いた製パン検討

川久保 利麗叶<sup>\*1</sup>, 荻野目 あづさ<sup>\*2</sup>, 手島 悠太<sup>\*3</sup>, 上田 誠<sup>\*4</sup>

Investigation of bread making using *S. cerevisiae* OPJ-1 isolated from  
Omoigawa-zakura as baker's yeast for regional activation

Ririka KAWAKUBO, Adusa OGINOME, Yuta TESHIMA, Makoto UEDA

The budding yeast, *Saccharomyces cerevisiae* has been used to make bread and sake. We isolated *S. cerevisiae* OPJ-1 from Omoigawa-zakura at 2014; the strain was suitable for sake production. An objective of this study was application of this strain for breadmaking. We found that a culture method using rice and koji, sakadane, was effective seed culture for breadmaking by this fermentative yeast.

KEYWORDS: *Saccharomyces cerevisiae*, Omoigawa-zakura

## 1. はじめに

パンや酒などの発酵食品には、出芽酵母の *Saccharomyces cerevisiae* が主に用いられており、天然界には *S. cerevisiae* を含め多くの酵母が存在している。近年、地域性や独自性を求め、酵母を花や果実から新たに探索し利用する試みがなされ

ており、製パンについても、市販製パン用酵母の代わりに自然から得た酵母を利用する製パン店や家庭が増えている<sup>1-4)</sup>。

本研究室では 2014 年に小山市の市花である思川桜から酒造用酵母を分離し、日本酒の販売に至った。本研究はさらなる展開として同酵母を用いたパン製品を開発し、地域活性化に貢献することを目的とした。小山市の社会福祉法人つむぎと協

\*1 専攻科(Advanced Course of Material Chemistry and Bioengineering)

\*2 持田製薬工場株式会社 (Mochida Pharmaceutical Plant Co., Ltd., 2014 年度小山高専専攻科卒業)

\*3 旭化成 (Asahi Kasei Corporation, 2015 年度小山高専卒業)

\*4 物質工学科(Dept. of Material Chemistry and Bioengineering), E-mail: mueda@oyama-ct.ac.jp

働し、2014年4月よりオリジナルなパン製品の開発を開始した。研究にあたり、最大の課題となったのは、菓子パン製造に用いる酵母の供給であった。この課題を解決すべく、本検討では、本菌株が酒造用酵母である特質を利用した製パン法の検討を行った。

## 2. 方法

### 2. 1 市販製パン用酵母との比較

YPD 液体培地（酵母エキス 1%、ポリペプトン 2%、グルコース 2%）100mL が入った三角フラスコに市販製パン用酵母であるベーカーズイーストおよびホシノ天然酵母、思川桜酵母 *S. cerevisiae* OPJ-1 を植菌し、振とう培養（30°C、160rpm）を行った。1 日後、培養液を遠心分離（13,000rpm、4min）し、生理食塩水（NaCl 0.9%）による洗浄を計 2 回行い、湿潤菌体を取得した。湿潤菌体 1.4g を用い、ホームベーカリー（Panasonic 製 SD-BMS105）にて各々パンを作成した。パンの作成法としては、パン・ド・ミ（練り 20 分、ねかし 60 分、練り 10 分、発酵 170 分、焼き 30 分、計 4 時間 50 分）を用いた。

### 2. 2 酒種法の開発と評価

#### 2. 2. 1 酒種の作成

YPD 液体培地 50mL が入った三角フラスコに *S. cerevisiae* OPJ-1 を植菌し、振とう培養（30°C、160rpm）を行った。1 日後、 $\alpha$  米（徳島製麴 AA-60）54g、水道水 240mL を 900mL 容マヨネーズ瓶に測りとり放置した。30 分後、乾燥麴（徳島製麴 1-60）36g、培養液 2.4mL を入れ、静置培養（30°C）を行い酒種とした。

#### 2. 2. 2 酒種中の菌数測定

培養中の酒種を 5mL 採取し、市販水切り用不織布を用いてろ過した。ろ過液を段階希釈法により希釈し、 $10^6$  希釈液を YPD 寒天培地（酵母エキス 1%、ポリペプトン 2%、グルコース 2%、寒天 2%）に 0.1mL 塗布し、培養 2 日後に出現したコロニー数から菌数を測定した。

### 2. 2. 3 酒種を用いたパンの作成

酒種 80mL を用い、ホームベーカリーにてパンを作成した。パンの作成法は、パン・ド・ミを用い、作成したパンの高さを測定した。これを酒種培養の 3 日目まで行った。

### 2. 3 液体培養との比較

標準的な液体培養として YPD 液体培地 100mL を用いた静置培養（30°C）と、振とう培養（30°C、160rpm）を用いた。植菌後、経時的にサンプリングし、2. 2. 2 と同様に段階希釈法を用い、生菌数を測定した。

### 2. 4 凍結保存剤の検討

YPD 液体培地 100mL に *S. cerevisiae* OPJ-1 を植菌し、振とう培養（30°C、160rpm）した。培養 1 日後、2mL 容エッペンに培養液 0.5mL と各保存剤 0.5mL を分注し、-20°C にて凍結保存した。1 週間後に解凍し、2. 2. 2 と同様の方法により生菌数を測定した。

### 2. 5 凍結保存菌体を用いた酒種の作成

凍結保存菌体を用いて、2. 2 と同様に酒種の作成、菌数測定、パン作成を行った。保存菌体は、スキムミルク 16% 水溶液を凍結保存剤としており、保存期間が 1 ヶ月、1 ヶ月半の凍結保存菌体と、非凍結の菌体の比較を行った。

## 3. 結果および考察

### 3. 1 市販製パン用酵母との比較

異なる酵母を用い同一条件で作成したパンの高さを表 1 に示し、焼き上げ後のパンの画像を図 1 に示した。これより、*S. cerevisiae* OPJ-1 は市販製パン用酵母と比べ、高さが劣ることが分かる。しかし、パンのキメが細かく、味としては甘味を有することなど、本菌株の特徴もうかがうことができた。

表1 各種酵母を用いたパンの高さの比較

酵母	1日目の高さ	2日目の高さ
OPJ-1	11.9	11.2
ペーカーズイースト	12.3	11.6
ホシノ天然酵母	12.4	12.1

数値は平均値[cm] (OPJ-1はN=4、その他はN=2)



図1 各酵母を用いて作成したパン (左がホシノ天然酵母、右が *S. cerevisiae* OPJ-1)

### 3. 2 酒種法の適応

#### 3. 2. 1 酒種中の菌数測定

酒種とは、米と麴と水からつくられる発酵種であり、栄養源として米を用いる。小麦粉を使用する生種と比べ、作成したパンの風味が優れているとされる<sup>5-6)</sup>。本検討では、*S. cerevisiae* OPJ-1 が酒造用酵母であることを活かし、米や麴を用いた培養法のへ適応を生菌数、製パンにより検討した。

酒種中の生菌数の経時変化を図2に示した。これより、酒種において、生菌の数が最も多くなるのは、酒種培養開始から24時間後と考えられる。

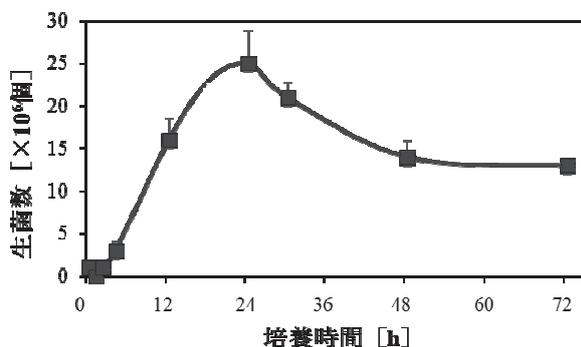


図2 酒種中の生菌数の経時変化 (N=4)

#### 3. 2. 2 酒種を用いたパンの作成

酒種培養1日目と2日目において、作成したパンの高さはそれぞれ16.0cm、14.5cm (N=2)であった。これより、酒種培養について、培養24時間がパンを作成するために最適な培養時間であると考えられる。これは、生菌数の面から最適培養時間を評価した3. 2. 1の結果と一致する。

### 3. 3 液体培養との比較

酒種での酵母の増殖性を評価するために、液体培養との比較を行った。各培養法による生菌数の経時変化を図3に示した。酒種法は、振とう培養には劣るが、攪拌作業の無いという条件で同じ静置培養と比較して酵母の増殖が良好であった。従って、簡易な設備のよる菌体供給が必要となる本件において、酒種法は、有用な培養法である。

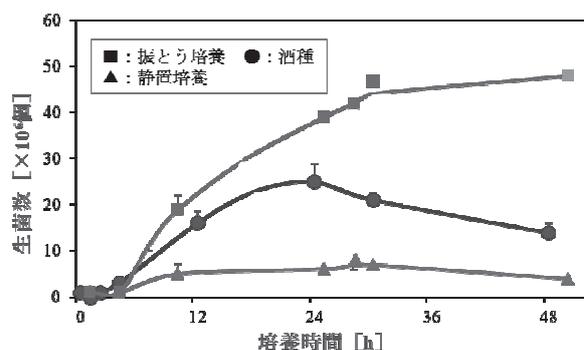


図3 培養法による生菌数の比較 (酒種はN=4、その他はN=2)

### 3. 4 冷凍保存剤の検討

これまでの検討により、製パンに必要な酵母を高価な培養装置を使わずに生産できる手法を確立することが出来た。そこで更に酒種培養の植菌に用いる種酵母の凍結保存剤の探索を行った。微生物の凍結保存ではグリセロールの使用が一般的であるが<sup>7)</sup>、食品用途であることから食品素材の中から凍結保存剤を検討した。

各凍結保存剤を用いて1週間保存したときの生菌数を測定し、各生存率を表2に示した。生存率は、凍結前の生菌数を100%とした。この結果より、スキムミルクは凍結保存剤として優れていると考える。また、スキムミルクは家庭での料理等にも用いられるため、本条件にも適している。

表2 凍結保存での生存率

条件	生存率 [%]
保存剤なし	2.1
20%グリセロール	56.0
スキムミルク 16%水溶液	42.4
16%砂糖水	15.9
トレハロース 16%水溶液	16.4
スキムミルク 4%水溶液	14.1

数値は平均値 (N=2)

### 3. 5 凍結保存菌体を用いた酒種の作成

凍結保存菌体を用いた酒種の菌数の経時変化、作成したパンの高さを図4に示した。凍結保存菌体を用いた場合においても、最適培養時間は、菌数、パンの高さから考え、24時間であると思われる。また、凍結菌体と非凍結菌体は、作成したパンの高さに大きな差がないため、1ヶ月半まではスキムミルクでの冷凍保存の活用可能性がある。しかし、生菌数に大幅な差がある場合でもパンの高さに大差がないことなど、生菌数とパンの膨らみとの関連性について不明な点があった。従って、更なる検討が必要と考える。

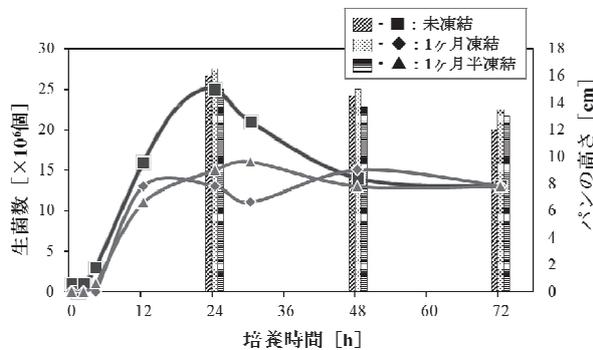


図4 凍結保存菌体を用いた菌数の経時変化 (散布図: 菌数、棒グラフ: パンの高さ)

## 4. まとめ

本検討において、小山市市花の思川桜より分離した *S. cerevisiae* OPJ-1 の製パンへの適用の可能性を評価することができた。本菌株を用いたパンの高さは市販製パン用酵母には劣る結果を得た。しかし、酒造用酵母としての性質を活かした培養法

により、膨らみの小ささの改善を行うことができ、更に旨味が増したことにより味覚の面での個性を与えることが出来た。この研究結果をもとに、本研究室は社会福祉法人つむぎと協力し、2015年、2016年に、*S. cerevisiae* OPJ-1 を用いたパン「桜の思い」(図5)を春限定で販売し、好評を得ることができた。



図5 桜の思い

### 参考文献

- 鎌倉未貴, 眞山眞理: スダチ花卉から分離した野生酵母 *Hanseniaspora meyeri* の製パンへの応用, Bull. Shikoku Univ, 34, pp.37-46, (2012)
- 木下富雄, 田中麻有: パン用野生酵母の花・果実からの分離, 兵庫大学論集, 12, pp.71-82, (2007)
- 木下富雄, 井上裕子: パン用野生酵母の花・果実からの分離 (2), 兵庫大学論集, 13, pp.69-81, (2008)
- 山下浩一, 田坂美奈: 新規酒造用酵母の開発, 奈良県工業技術センター研究報告, 30, pp.17-21, (2004)
- 赤石(喜多)記子, 五月女まりえ, 小林愛美, 山下美恵, 長尾慶子: スペルト小麦パンの物性・機能性・嗜好性に及ぼす各種発酵液添加の影響, 日本調理科学会誌, 44, pp.153-162, (2011)
- 吉野精一: パン「こつ」の科学, 柴田書店, pp.31-32
- 鈴木基文: 酵母の保存技術について(1)酵母の保存法, 日本微生物資源学会誌, 25, pp.89-91, (2009)

【受理年月日 2018年 9月27日】