

小山市原産の思川桜から単離した *S. cerevisiae* の 製パン特性の評価

加島 敬太*¹, 岡ノ谷 侑輝*², 江面 有章*³, 上田 誠*⁴

Baking characteristics of *S. cerevisiae* isolated from Omoigawa Sakura

Keita KASHIMA, Yuki OKANOYA, Yusho EZURA, Makoto UEDA

The baking characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from Omoigawa Sakura, named OPJ-1, were investigated. The produced amount of CO₂ during fermentation was evaluated from van der Waals equation with the measured pressure inside a constant-volume bottle. OPJ-1 performed sufficient CO₂ production in same level with commercial yeasts. On the physical properties of the baked bread, OPJ-1 led to not only lower compressive stress corresponding to softer texture but also higher specific volume of the baked bread. It was revealed that both the compressive stress and the specific volume were correlated well. As evaluation of freeze tolerance of OPJ-1, the specific volume of bread baked after the pre-fermentation at 30 °C, freezing storage at -20 °C, thawing at 25 °C and the second-fermentation at 30 °C was evaluated. The bread baked with OPJ-1 kept higher specific volume in spite of frozen for 1 week. OPJ-1 possesses sufficient fermentation capacity and bread making ability in comparison with commercial baking yeast.

KEYWORDS : *Saccharomyces cerevisiae*, yeast, baking characteristics, ethanol fermentation

1. 緒言

酵母とは花卉や果実、枝や葉などに生息している単細胞の真菌類の総称である。一般には酵母というと、出芽酵母である *Saccharomyces cerevisiae* を指すことが多い。酵母は生息場所に応じて芳香性や発酵力に特徴を持つことから、長年にわたりパンや酒などの発酵食品を製造するために使用されてきた。近年、地域特性を有する植物や果物から分離した酵母を利用した食品の開発が注目されている¹⁻⁵⁾。

栃木県小山市原産の思川桜から分離された *S. cerevisiae* である OPJ-1 は、食品製造に適した発酵性能を有しており、地域性豊かなオリジナル製品の創出として清酒⁶⁾やパン⁷⁾への活用が展開されている。本研究では、OPJ-1 の製パン特性に着目して評価に取り組んだ。

酵母の製パン特性としては、パン生地中の糖を分解するアルコール発酵における反応速度^{8,9)}、食感の指標となる圧縮応力、パン生地（ドウ）の膨化性、有機酸等の生成¹⁰⁾、含水率¹¹⁻¹²⁾、色調および官能試験¹³⁾、並びに市場への流通に向けた冷凍耐性の評価¹⁴⁻¹⁶⁾が挙げられる。

本研究では、発酵速度の評価方法として、定容

*1 物質工学科 (Dept. of Materials Chemistry and Bioengineering) 助教, E-mail: keitakashima@oyama-ct.ac.jp

*2 物質工学科 平成 26 年度卒業 (Dept. of Materials Chemistry and Bioengineering)

*3 物質工学科 平成 27 年度卒業 (Dept. of Materials Chemistry and Bioengineering)

*4 物質工学科 (Dept. of Materials Chemistry and Bioengineering) 教授

積容器内における圧力変化から、アルコール発酵によって生成されるCO₂量を定量する手法を考案した。また、食感を数値化する指標として圧縮応力、パン生地の膨化を表す比容の評価を行った。さらに、食品工業での広範囲な利用の可能性を見出すため、製パン用酵母としての冷凍耐性を評価した。

2. 実験方法

2. 1 酵母の培養とパンの焼成

酵母は YM 寒天培地 (5g/L Polypepton-S, 3g/L Yeast Extract, 10 g/L D(+)-Glucose, 3 g/L Malt extract, 15 g/L Ager) を用いて 48h, 室温(25 °C) で培養した。製パンに使用した OPJ-1 は 0.8 から 2.5 g-wet base とした。製パン材料は強力粉 200g, スキムミルク 6g, バター15g, 上白糖 17g, 食塩 5g, 天然水 190g, を用い、家庭用ホームベーカリー (SD-BMS105 Panasonic) を使用してストレート法で調製した。対照として市販のドライイースト(日本製粉)1.4g-dry base, 市販の天然酵母(ホシノ天然酵母パン種)2.0g-wet base, 市販の製パン用酵母(キリン協和フーズ)2.0g-wet base を用いた。なお、市販の天然酵母及び市販の製パン用酵母は単離・培養したものを使用した。

2. 2 発酵時における CO₂ 発生量の測定

CO₂ 発生量に対する酵母種の影響

水 190g, 上白糖 17g, 各種酵母 2.0g の懸濁液を、圧力計付き定容積容器内に設置した。容器の内部空気はあらかじめ CO₂ に置換して使用した。恒温槽内で 30 °C に保温し、発酵中における容器内の圧力を経時的に測定して、実測圧力 P [atm] と容器内で気体が占める体積 V [L] から van der Waals の状態方程式を用いて、酵母の発酵により発生した CO₂ の物質量 n [mol] を求めた。

$$\left(P + \frac{an^2}{V^2}\right)(V - nb) = nRT \quad (1)$$

ここで、 R は気体定数 0.08206 [L atm / (K mol)], T は温度[K], a と b は van der Waals 定数(CO₂: $a = 3.60$ [atm L² / mol²], $b = 0.0427$ [L / mol]) である。

OPJ-1 の発酵速度の温度依存性

強力粉 20g を耐圧容器内に入れ、酵母 0.4962g (湿潤重量) を含む酵母懸濁液 2mL と、水または 1g ショ糖を含む水溶液を 11mL 添加した。ショ糖の添加量は強力粉に対して 5wt% とした¹⁶⁾。ガラス棒で 5min 混捏し、恒温槽内で、30~70°C で発酵させた。CO₂ の発生による容器内の圧力上昇を圧力計で測定し、van der Waals の状態方程式より CO₂ の発生量 n [mol] を算出した。

2. 3 焼成パンの圧縮応力測定

焼成パンの食感を評価する指標として、高さ 50% 圧縮時の圧縮応力を測定した¹³⁾。試験片のサイズは幅 2.0cm × 奥行き 2.0cm × 高さ 2.5cm とし、材料強度試験機(AGS-X, SHIMADZU)を用いて、パンの身の高さの 50% となる 1.25cm 圧縮時の最大圧縮荷重 F_c [N] を測定し、次式から圧縮応力 P_c [Pa] を算出した。

$$P_c = F_c / A \quad (2)$$

ここで、 A は試験片断面積[m²] である。

2. 4 焼成パンの比容測定

酵母の発酵による生地の膨化を評価する指標として、焼成パンの比容を測定した。焼成後のパンの質量 W [g] を電子天秤で測定するとともに、菜種法¹⁷⁾を用いて焼成パンの体積 V_b [mL] を測定した。独立して測定した焼成パンの質量と体積を用いて、次式より比容 v [mL/g] を求めた。

$$v = V_b / W \quad (3)$$

2. 5 酵母の冷凍耐性の評価

製パン酵母の冷凍耐性を評価する指標として、一次発酵後のパン生地を冷凍し、解凍後に二次発酵を行ってパンを焼成した。パン生地の組成は、酵母 2.0g (湿潤重量), 強力粉 250g, ショ糖 12.33g, 水 180mL とした。生地をストレート法で調製し、一次発酵 (30°C, 60min) させた後に取り出して、生地を 3 分割 (145.0g) にした。一次発酵で生じた生地内のガスを抜いて厚さ 5mm に延ばし、-20°C で冷凍保存した。冷凍したパン生地を 25°C で 1h 静置して解凍し、二次発酵 (30°C, 150min) させて焼成し、比容 v [mL/g] を測定した。

3. 結果・考察

3. 1 発酵時における CO₂ 発生量の測定

Fig. 1 に各種酵母を用いたパン生地の発酵における CO₂ 発生量の経時変化を示す. 全ての酵母で初期 20 分まで CO₂ は発生せず, 発酵が開始するまでに酵母の活性化のための保持時間が必要であることが示唆された. その後, 発酵時間に一次比例して CO₂ の発生量は増大した. この一次近似直線の傾きから CO₂ 発生速度を求めたところ, OPJ-1 で 4.07×10^{-7} [mol/s], 市販天然酵母で 3.88×10^{-7} [mol/s], 市販製パン酵母で 4.48×10^{-7} [mol/s] となり, 30°C における発酵速度は同等であった. 思川桜から単離された OPJ-1 は, 実用に供し得る発酵能を有していることを明らかにした.

Fig.2 に発酵温度を変化させた際の OPJ-1 によるパン生地の発酵における CO₂ 発生量の経時変化を示す. 発酵初期では発酵温度の上昇にともなって CO₂ 発生速度は増大した. また, 発酵温度 60 °C 以上では約 30 分で反応が停止し, 酵母の失活が確認された. 温度の差による発酵速度の変化は, 単に所要発酵時間に影響するだけでなく, パンの物理的構造形成にも寄与する. 低温での発酵は発酵速度の低下によって所要時間を増大させる. 一方で, 低い発酵速度は, パンの膨化, 空隙の増大, 圧縮応力の低下 (柔らかい食感) など, 製パンに適した正の効果をもたらす⁸⁾.

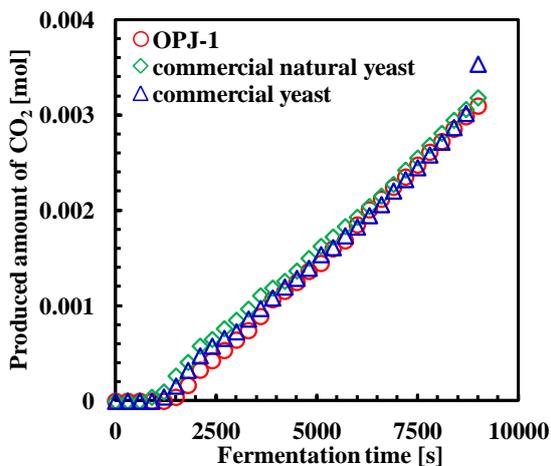


Fig. 1 Time course of CO₂ production during yeast fermentation at T = 30 °C. ○ OPJ-1, ◇ commercial natural yeast, △ commercial yeast.

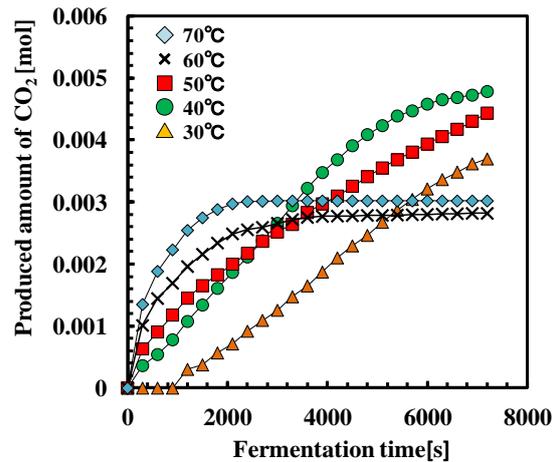


Fig. 2 Time course of CO₂ production during fermentation at various temperatures in the case of OPJ-1. ◆ 70 °C, × 60 °C, ■ 50 °C, ● 40 °C, ▲ 30 °C.

3. 2 焼成パンの物理的特性に対する酵母の添加量並びに酵母種の影響

Fig. 3 に焼成パンの圧縮試験における高さ 50% 圧縮時の応力に対する酵母添加量の影響を示す. 高い圧縮応力は歯ごたえのある食感を示し, 低い圧縮応力はソフトな食感を示す. OPJ-1 添加量が 0.8g の条件では, 高い圧縮応力とともに, 高い標準偏差を示した. 酵母の添加量が少量の条件では発酵が十分に行われず, CO₂ の発生にともなう生地膨化が未発達であったため, 不均質かつ圧縮応力の高いパンが調製されたと考えられる.

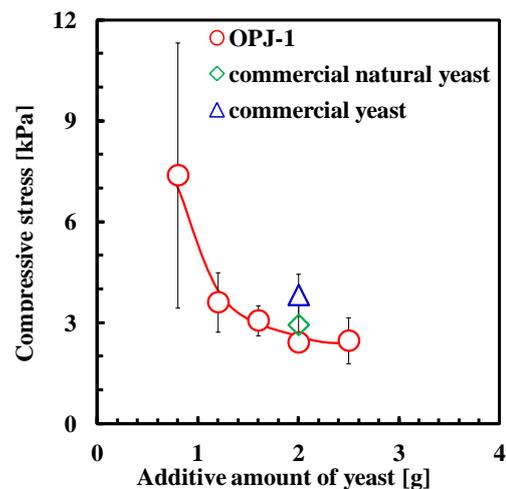


Fig. 3 Effect of additive amount of yeast on compressive stress. ○ OPJ-1, ◇ commercial natural yeast, △ commercial yeast.

また、OPJ-1 添加量の増大に伴ってパンの身の圧縮応力は減少し、OPJ-1 添加量が 2.0g 以上で圧縮応力は一定となった。一方、市販天然酵母および市販酵母 2.0g を添加して調製したパンは、2.0g の OPJ-1 で調製したパンと比較して僅かに高い圧縮応力を示した。OPJ-1 は、市販に供されている酵母と比較して、ソフトな食感のパンの調製に適していることを明らかにした。

Fig. 4 に焼成したパンの比容に対する酵母添加量の影響を示す。高い比容は、単位質量辺りの見かけ体積が高いことを表し、発酵による CO₂ ガスの発生によってパンが膨化したことを示す。OPJ-1 の添加量にともなってパンの比容は増大し、1.6g 以上で一定となった。酵母の添加量が 2.0g の条件では、市販天然酵母、並びに市販酵母で調製したパンは、OPJ-1 で調製したパンと同等であった。

Fig.5 に種々の条件で調製したパンの圧縮応力と比容の相関を示す。全ての条件で調製したパンの圧縮応力と比容に相関が得られた。単位質量当たりの見かけ体積を示す比容は、パンの内部構造に存在する空隙体積に比例する。パン内部の気泡は、小麦粉に含有するグリアジンとグルテニンの S-S 結合によって形成される架橋グルテン膜が、生地発酵によって生じた CO₂ ガスを捕獲し、焼成時の温度上昇によって気体体積が増大することで形成される⁹⁾。従って、酵母の発酵による CO₂ の発生が、パンの物理的特性に支配的な因子であると考えられる。

また、OPJ-1 の添加量の増大に伴って比容の増大と圧縮応力の低下がみられ、2g 以上の添加で一定となった。発酵によって形成される多孔質構造は酵母の添加量に依存して変化し、圧縮応力、色調、並びに香気性の向上に寄与する¹³⁾。OPJ-1 は、市販されている製パン酵母、市販天然酵母と等しい添加量で同等以上のテクスチャーを示したことから、食品工業での利用に適う発酵力を有していることを明らかにした。

3. 3 冷凍耐性の評価

酵母の冷凍耐性を評価するため、調製した生地を一次発酵した後、-20℃での冷凍保存と解凍を経て、二次発酵による製パンを行った。Fig. 6 に各酵母で焼成したパンの比容に対する生地の冷凍期間の影響を示す。冷凍期間の経過とともに焼成後のパンの比容は減少し、発酵力の低下によって生地の膨化が低下した。OPJ-1 で調製したパンは、1 週間の冷凍における比容の低下が緩やかであり、冷凍保存後も高い比容を示したことから、冷凍後の膨化性に優れていることを明らかにした。一方、対照とした2種の市販酵母は、冷凍保存期間1日目から比容が低下し、生地の膨化が顕著に抑制された。OPJ-1 は冷凍耐性に優れており、冷凍パン生地に適した酵母としても利用が期待できることを明らかにした。

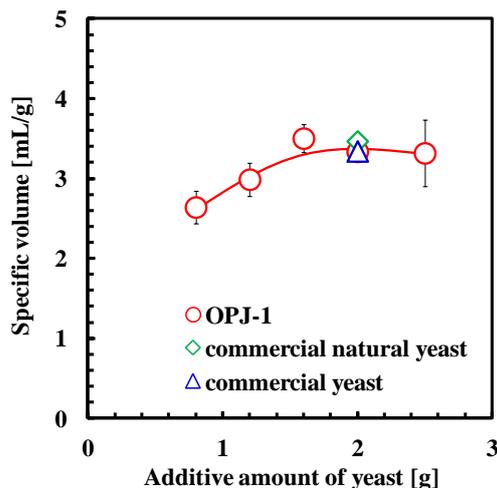


Fig. 4 Effect of additive amount of yeast on specific volume of baked breads. ○ OPJ-1, ◇ commercial natural yeast, △ commercial yeast.

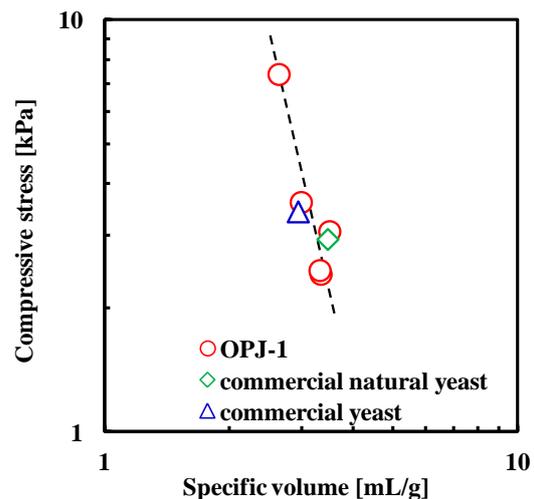


Fig. 5 Relationship between the compressive stress and specific volume of baked breads. ○ OPJ-1, ◇ commercial natural yeast, △ commercial yeast.

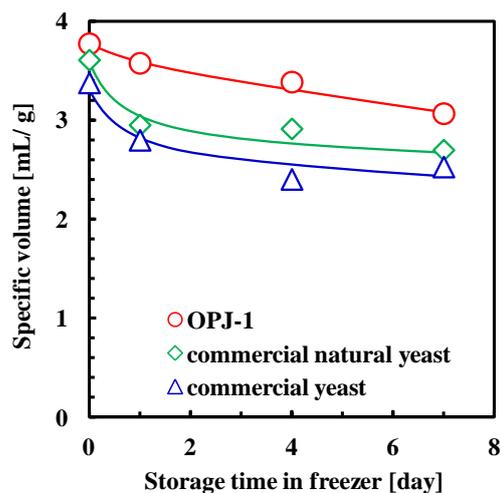


Fig. 6. Evaluation of freeze tolerance based on specific volume of baked bread after storage in freezer. ○ OPJ-1, ◇ commercial natural yeast, △ commercial yeast.

4. 結言

小山市原生の思川桜から単離された *Saccharomyces cerevisiae* である OPJ-1 の製パン特性を、市販に供されている天然酵母並びに食品工業で用いられている市販酵母と比較して評価した。発酵による CO₂ ガスの生成量を、定容積容器内の圧力変化から van der Waals 状態方程式を用いて求める手法を考案し、評価を実施したところ、OPJ-1 は既に市販で供されている酵母と比較して遜色ない発酵力を有していることを明らかにした。また、調製後のパンの物理的性質として、圧縮応力と比容を測定した。圧縮応力と比容は良好な相関を示し、パンの物理的性質の評価に有効であることを示した。市販の酵母と比較して、OPJ-1 はパンの構造形成と食感の両面で有効な発酵力を発揮した。より汎用的な利用の可能性を目指して、酵母の冷凍耐性を評価した。その結果、OPJ-1 は市販の酵母と比較して優れた冷凍耐性を有していることを明らかにした。OPJ-1 は、工業的な利用に適う発酵性能及び冷凍耐性を有した製パン用酵母としての可能性を有している。

参考文献

1) M. D. S. F. Lima, K. .M. .S. Souza, W. W. C. Albuquerque, J. A. C. Teixeira, M. T. H. Cavalcanti, A. L. F. Porto, *Microb. Pathog.* **110** (2017) 670-677.

2) L. E. Segura-García, P. Taillandier, C. Brandam, Anne Gschaedler, *LWT Food Sci. Technol.*, **60** (2015) 284-291.
 3) 綿貫仁美, 林一也, 東京家政学院大学紀要, **54** (2014) 33-40.
 4) 間瀬雅子, 瀬見井純, 幅靖志, 小野奈津子, 安田(吉野)庄子, 高村玲子, 中莖秀夫, あいち産業科学技術総合センター研究報告 2013 (2013) 72-75.
 5) 樋口智子, 上田京子, 福岡県工業技術センター研究報告, **16** (2006) 32-34.
 6) 荻野目あづさ, 川久保利麗叶, 上田 誠, 小山工業高等専門学校研究紀要, **48** (2015) 91-95.
 7) 川久保利麗叶, 荻野目あづさ, 手島悠太, 上田誠, 小山工業高等専門学校研究紀要, **49** (2016) 81-84.
 8) Różyło, R., D. Dżiki, J. Laskowski, *J. Cereal. Science.*, **59** (2014) 88-94.
 9) C. Verheyen, M. Jekle, T. Becker, *LWT Food Sci. Technol.*, **58** (2014) 194-202.
 10) M. N. Rezaei, E. Domez, P. Jacobs, A. Parsi, K. J. Verstrepen, C. M. Courtin, *Food Microbiol.* **39** (2014) 108-115.
 11) M. Mastromatteo, M. Guida, A. Danza, J. Laverse, P. Frisullo, V. Lampignano, M. A. Del Nobile, *Food Res. Int.*, **51** (2013) 458-466.
 12) E. Besbes, V. Jury, J.-Y. Monteau, A. Le Bail, *LWT Food Sci. Technol.*, **58** (2014) 658-666.
 13) V. Lampignano, J. Laverse, M. Mastromatteo, M. A. Del Nobile, *Food Res. Int.*, **50** (2013) 369-376.
 14) N. Shiomi, Y. Tanaka, *Japan J. Food Eng.*, **4** (2003) 53-60.
 15) J. Yi, W. L. Kerr, *LWT Food Sci. Technol.*, **42** (2009) 1474-1483.
 16) Y. Oda, K. Tonomura, *J. Japanese Soc. Food Sci. Technol.* **43** (1996) 185-187.
 17) 森考夫, 食品加工学実験書, 化学同人, (2003).

【受理年月日 2018年 9月14日】