

「十勝地域由来酵母による発酵食品の研究開発」(R1)

公益財団法人 とかち財団 ものづくり支援部

食品加工技術センターグループ

高谷 政宏

1 研究の背景と目的

一般的にパンは小麦粉、砂糖、水、市販パン酵母およびその他の原料で作られるが、市販パン酵母の代わりに果物、花など自然界に生息している野生酵母を数日間発酵することによって調製したスターターカルチャー、いわゆる自家製酵母を用いる製パン法も家庭やベーカリーで人気がある。前年度の試験研究課題「新規有用微生物による発酵食品の研究開発」により、池田町の山幸ブドウから新たに分離した酵母 *Hanseniaspora vineae* TW15 をパンに用いると風味豊かなパンが得られることが分かったが、この酵母にはグルコース、フルクトースしか発酵できないという課題があった。この課題を解決するために前年度は工業的な大量生産を想定して安価な異性化糖を用いてパンの品質を評価した。しかしながら、この方法で使用する異性化糖は酵素処理により製造されるため人工的であると敬遠するベーカリー、一般消費者が少なからず存在することが懸念された。そこで、本研究では製菓・製パン材料として一般的であり、また自家製酵母の調製にも用いられるレーズンを天然の糖源として使用して *H. vineae* TW15 のスターターカルチャーを調製し、小規模ベーカリーでも実施可能な製パン法の開発を試みた。

2 試験研究の方法

山幸ブドウから分離した *H. vineae* TW15 と対照菌株として市販汎用パン酵母製品から分離した酵母 *S. cerevisiae* HP467 を使用した。

オイルコートなしのレーズンの市販品をミルミキサーにより 100 mL の蒸留水中で均質化し、85°C で 30 分間の条件で殺菌した。この抽出液に 30°C で 24 時間旋回振盪培養 (150 rpm) した種培養液 (0.67% Yeast nitrogen base without Amino Acids、2.0% グルコース) 1.0 mL を接種した。25°C、静置条件で発酵したレーズン発酵液をスターターカルチャーとして以下の実験に使用した。

10.0 g の小麦粉 (日清カメリヤ強力粉) に 6.0 mL のスターターカルチャーを加え、1 分間素早く手で捏ね、この生地から 30°C で 5 時間に発生するガス量をパン生地発酵力として測定した。

ホームベーカリー SD-BMT1000 (Panasonic) の天然酵母食パンモード (所要時間: 約 7 時間) で製パンした。パン生地の配合は強力小麦粉 (日清カメリヤ強力粉) 300 g、無塩バター 10.0 g、食塩 5.0 g、スターターカルチャー 50 mL、蒸留水 140 mL とした。パンの比容積 (mL/g) は、室温まで冷却後の重量と体積から算出した。

スターターカルチャーとパン中の水溶性成分 (糖、有機酸、遊離アミノ酸) と揮発性成分

を分析した。糖と有機酸は小田らの方法¹⁾、遊離アミノ酸はフェニルイソチオシアネートを
用いたプレカラム誘導体化による PTC 法²⁾、揮発性成分は Aslankoohi らの方法³⁾ を基に分
析した。なお、糖の分析結果では検出したグルコースとフルクトースの合計を全糖濃度とし
た。

実験は独立して 3 回実施し、得られたデータは平均値±標準偏差として示した。また、有
意差を検出するためにスチューデントの t 検定を実施した。

3 結果と考察

H. vineae TW15 の特徴を引き出したパンを得るため、パン生地発酵力が最大になるレー
ズン濃度と発酵時間を検討した。25℃で 2 日間発酵した各レーズン濃度のスターターカル
チャーのパン生地発酵力を比較すると、レーズン濃度 20%が最も高くなり、この濃度を至
適レーズン濃度とした (図 1)。また、このとき TW15 の生菌数はレーズン濃度 5%だけやや
低く、およそ 5.8×10^7 cfu/mL であったが、レーズン濃度 10~30%ではおよそ 1.0×10^8
cfu/mL でほぼ一定であった。25℃で 3 日間発酵したレーズン濃度 20%のスターターカル
チャーを評価したところ、発酵 2 日目で最も高いパン生地発酵力となった (図 2)。3 日目の生
菌数はおよそ 1.2×10^8 cfu/mL であり、2 日目よりわずかに増加していたが、パン生地発酵
力は 2 日目よりも低い値となった。これはパン生地中に含まれていた TW15 の発酵可能な糖
濃度が影響したものと考えられた。以上の結果からレーズン濃度 20%、25℃で 2 日間の発
酵時間をパン生地発酵の至適条件として、次に製パン試験を実施した。

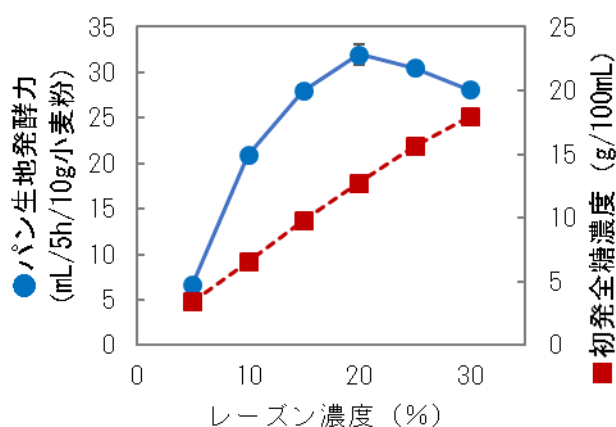


図 1. 各レーズン濃度によるパン生地
発酵力への影響

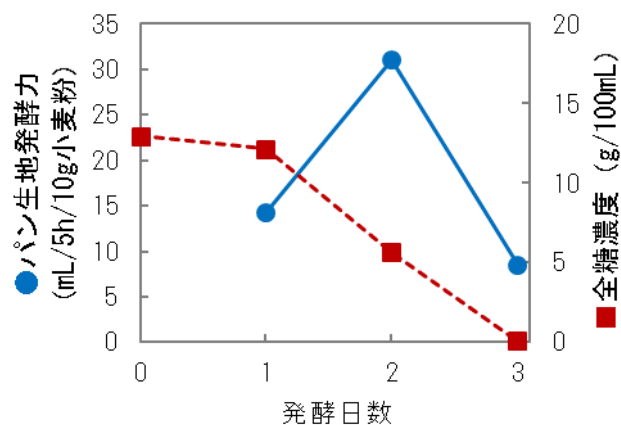


図 2. レーズン濃度 20%のパン生地
発酵力の経時変化

焼きあがったパンの比容積は TW15 が 2.85 ± 0.05 mL/g であり、HP467 の 2.48 ± 0.03 mL/g
と比べ TW15 が有意に大きくなった (図 3)。3 名のパネルによる簡易的な官能評価では、
HP467 よりも TW15 のパンのほうが華やかな香りが感じられて好ましい風味であると評価し

た。2つの菌株によるパンの可溶性成分のうち、総糖濃度はTW15が6914±1195 mg/固形100g、HP467が7070±824 mg/固形100gであり、有意な差はなかった。一方で、総アミノ酸濃度はTW15が111±9 mg/固形100g、HP467が147±15 mg/固形100gとHP467のほうが有意に高く、総有機酸はTW15が64±8 mg/固形100g、HP467が54±4 mg/固形100gとTW15のほうが有意に高かった。しかし、これらの成分の濃度に統計的に有意な差はあったものの、簡易的な官能評価では味については2者間で違いが感じられておらず、TW15に特有の風味は揮発性成分の影響が大きいものと考えられた。検出された揮発性成分中の主要な成分(相対ピーク面積1.0以上)は、アセトイン、イソアミルアルコール、および2-フェニルエチルアルコールであった(表1)。検出した成分のうち、華やかな香りを特徴とする酢酸2-フェニルエチルがTW15によるパンの香りを特徴づける化合物の1つであると考えられる。また、パンの揮発性成分中には検出できなかったが、レーズン発酵液中ではブドウ、ホップや花などに含まれて華やかな香りを特徴とするゲラニオールとリナロールといったモノテルペン化合物をTW15のみ検出した。これらの成分はレーズン組織中の配糖体からTW15が合成したβ-グルコシダーゼとβ-キシロシダーゼの作用により生成したと考えられ⁴⁾、特にリナロールの閾値は1 ppbと非常に低く⁵⁾、GC-MSで検出することができなかった極微量がパンに残り、TW15のパンに特有の華やかな香りに寄与していたかもしれない。

山幸ブドウから分離した酵母 *H. vineae* TW15 を使用したレーズンによるスターターカルチャーは好ましい香りのパンを得る簡単な製パン法であることが示された。この方法は異性化糖などの単糖類を使用せずに従来のパン酵母では得られない良好な香りのパンが得られ、なおかつ小規模ベーカリーでも容易に実践できる簡便な製パン法である。



図3. パンの外観

左: *H. vineae* TW15、右: *S. cerevisiae* HP467

表1. パン中の揮発性成分(一部)

化合物	相対面積(%)		有意差
	TW15	HP467	
アセトイン	4.619 ± 0.560	1.294 ± 0.143	**
ベンズアルデヒド	0.675 ± 0.063	0.264 ± 0.025	**
1-ヘキサノール	0.732 ± 0.056	0.617 ± 0.025	**
カブロン酸エチル	0.095 ± 0.018	0.118 ± 0.024	*
イソアミルアルコール	7.012 ± 0.873	12.908 ± 1.290	**
カプリル酸エチル	0.040 ± 0.010	0.055 ± 0.007	**
2-ペンチルフラン	0.271 ± 0.066	0.221 ± 0.095	
2-フェニルエチルアルコール	3.068 ± 1.088	3.953 ± 0.450	*
酢酸2-フェニルエチル	0.253 ± 0.132	0.000 ± 0.000	**
吉草酸	0.027 ± 0.008	0.017 ± 0.006	**

** : 有意水準 1%以下で有意差あり、* : 有意水準 5%以下で有意差ありを意味する。

4 参考文献

- 1) Oda, Y., Yajima, Y., Kinoshita, M., and Ohnishi, M. (2003). Differences of *Rhizopus oryzae* strains in organic acid synthesis and fatty acid composition. *Food Microbiol.* 20, 371-375
- 2) Zhu, Y., Luo, Y., Wang, P., Zhao, M., Li, L., Hu, X., and Chen, F. (2016). Simultaneous determination of free amino acids in Pu-erh tea and their changes during fermentation. *Food Chem.* 194, 643-649.
- 3) Aslankoochi, E., Herrera-Malaver, B., Rezaei, M. N., Steensels, J., Courtin, C. M., and Verstrepen, K. J. (2016). Non-conventional yeast strains increase the aroma complexity of bread. *PLoS One* 11, e0165126.
- 4) López, M. C., Mateo, J. J. and Maicas, S. (2015). Screening of β -glucosidase and β -xylosidase activities in four non-Saccharomyces yeast isolates. *J. Food Sci.*, 80, C1696-C1704.
- 5) 蛸井 潔 (2013) . 酵母の geraniol 代謝が醸し出す柑橘の香りーホップ香気成分の相互作用の解析 (2) ー. 醸協. 第 108 卷. 第 2 号. 88 - 97.