

レーズンから分離した天然酵母のパン酵母としての特性

渡邊 悟 篠原尚子 金井節子 飯塚良雄

Properties of Natural Yeast isolated from Raisin
as a Baker's YeastSATORU WATANABE, NAOKO SHINOHARA, SETUKO KANAI
and YOSHIO IIZUKA

The yeast (I), which was isolated from a juice of the naturally fermented raisin maintained by Iizuka, was identified to be one of *Saccharomyces cerevisiae* species. The growth of I, compared with the popular yeasts (Oriental Yeast Co., O; Sankyo Co., S), was the same as O and/or S in the YM broth. However, in the raisin broth, the order of the growth was I>S>O. The orders for the amounts of gas production were as follows; I>S>O in the liquid culture (the raisin broth), I≒S≒O in the middle culture, and I>S>O in the bread making. The optimum pH for the growth of I was around pH 3.9, since that of the popular yeast was pH 5~6. The further addition of raisin for the raisin-containing bread making affected to be increasing the gas production, accompanied by increasing the loaf volume.

飯塚は1996年カリフォルニアレーズンコンテストでレーズン大賞を受賞したが、その受賞作はレーズンとくるみ入りの天然酵母パン（飯塚パン、写真1）であった。このパンを製造するための元種を、飯塚は長年独自の方法で管理している。飯塚パン製造に際して元種をおこすのには技術が必要で、長年の勘と労力に頼っている。

そこで著者らは、元種から主たる酵母を分離同定し、市販の生イーストと生育状況や気体発生量などを測定し、パン酵母としての特性を検討したので、ここに報告する。

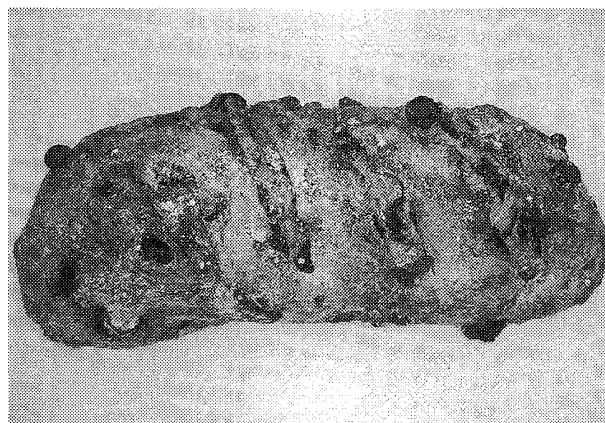


写真1 飯塚パン

Keywords: Raisin, Yeast, Bread

材料と方法

1. 材料および試薬

中力粉は日清製粉（株）、グラハム粉は（有）パイオニア企画のものを用いた。天塩は伯塩産業（株）、レーズンはサンライズ（株）、クルミはダイヤモンドオールナッツ（株）から購入した。グルコースは和光純薬工業（株）のものを使用し、ペプトン、酵母エキス、麦芽エキス、寒天はDifco社製のものを用いた。その他の試薬類は市販品特級あるいはこれに準ずるのものを用いた。

2. 酵母の分離と同定

飯塚パン製造の元種をおこした搾汁液より、常法に従いYM寒天培地¹⁾（シャーレ）上で酵母（飯塚菌、I）を分離し、YM寒天培地（スラント）で保存した。同様にオリエンタル酵母（O）と三共（S）の生イーストから、それぞれの菌を分離、保存した。同定は日本食品分析センターに依頼した。

3. 酵母の生育試験

I、S、OをそれぞれYM培地¹⁾（pH6.3）および表-Iに示すレーズン培地（pH3.8）を用いて35℃で振とう培養した。

表-I YM培地とレーズン培地

	YM培地	レーズン培地
グルコース	10g	30g
ペプトン	5g	—
酵母エキス	3g	—
麦芽エキス	3g	—
レーズン	—	250g
蒸留水	1000mL	1000mL

121℃、15分間滅菌

菌体量は、培養液を遠心分離後に一定量の蒸留水で分散させ、660nmの濁度で測定した。レーズン培地においてはまず濾過してレーズン残渣を除いてから遠心分離して培養液と菌体とを分けた。気体発生量はアトー（株）のファーモグラフⅡを用いて測定した。

4. 飯塚パンの製造工程の改良

飯塚はレーズンを栄養源とした独自の管

表-II 飯塚パン製造の配合 %

中種	100.0
中力粉	60.0
グラハム粉	10.0
熱湯	10.0
天塩	2.3
レーズン	40.0
クルミ	20.0
水	10.0

表-III 飯塚パン製造工程の条件

ミキシング時間(分)	L4M1 ↓ L0.5M0.5
捏ね上げ温度	28℃
発酵時間(分)	120、P60
分割生地量	500g
ベンチタイム	20分
成型	ワンローフ型
ホイロ条件	30℃/80%
ホイロ時間	70分
焼成条件	200℃/45分

理で元種をおこして中種を製造するが、長年の勘と労力があるので次のようにした。レーズン培地にIを植菌し、48時間35℃で培養し、得られた培養液をさらしで絞り、この搾汁液100mLに対して中力粉200gと水200mLを加えて混和し、25℃で一晩ねかせて発酵させることにより中種を製造した。以下は従来の飯塚の方法と同じであり、飯塚パン製造の配合は表-IIに、工程条件は表-IIIに示す。

5. 中種、本捏における気体発生量の測定

中種、本捏における気体発生量は、I、S、Oの培養で調製した中種それぞれ約20gずつをファーモグラフⅡにセットし、24時間気体発生量を追跡し、得られたデータをちょうど20g換算に補正した。本捏においては、表-IIの配合で混ぜ合わせた後、I、S、Oそれぞれ約20gずつをファーモグラフⅡにセットし、5時間追跡し、得られたデータをちょうど20g換算に補正した。

6. 生育の至適pHの検討

YM培地を調整し、pH2~8まで9種を0.1N—NaOHあるいは0.1N—HClでpHを合わせ、液量を一番多く添加したものに合わせる

よう蒸留水を加えて、YM培地の濃度を一致させるよう液量を同じにした。この各pHに調整した培地にIを植菌し35℃で24時間まで培養し、ファーモグラフIIにより12、18、24時間の気体発生量を追跡した。

7. 本捏でのレーズン添加の効果の検討

飯塚パン製造における本捏時に、(1)レーズンの代わりに水を添加、(2)さらにレーズンをそのまま添加、(3)水とレーズンをミキサーで粉碎し、レーズンペーストを添加の3群に分けて、あとは条件を同じにして飯塚パンを製造した。出来上がったパンの中央断面を写真で撮ると同時に、断面をトレースした紙の重量を測定した。

実験結果および考察

1. 酵母の分離同定

酵母（飯塚菌、I）の分離は常法により容易にできた。生イースト（オリエンタル酵母（O）と三共（S））からも同様に容易に分離できYM寒天培地（スラント）で保存した。Iについては、同定の依頼を日本食品分析センターにした結果、通常のサッカロマイセス・セレビシア（写真2）であった。

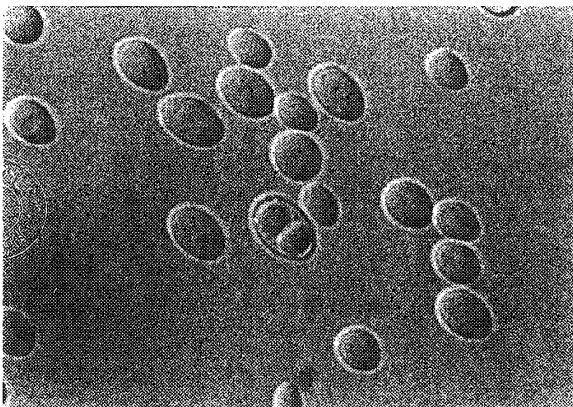


写真2 分離した酵母（倍率2,500）

2. 酵母の生育試験

I、S、Oについて、まず通常のYM培地で培養したところ、三者とも同様の菌体量の増加とpHの変化を示した（図1）。しかし、レーズン培地で培養したところ、pHの変化は同様であったが、菌体量において顕著な

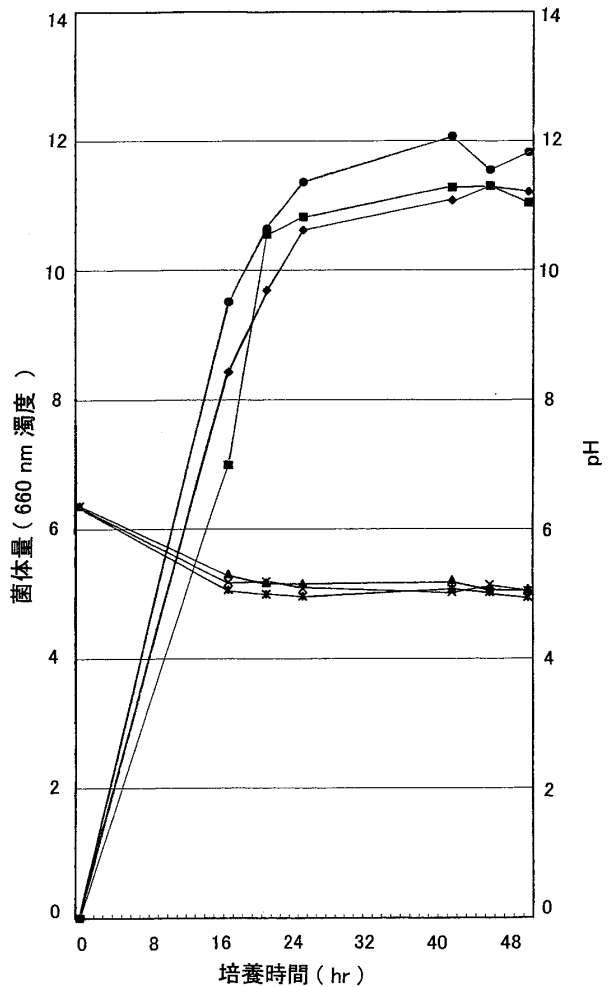


図1 YM培地による培養

O(A)
 S(A)
 I(A)

 OA(pH)
 SA(pH)
 IA(pH)

差が見られた。図2を見て分かるように、培養時間15時間から20時間の間で、Iは菌体量の増加の立ち上がりが見られ、その後も40時間、44時間と菌体量の著しい増加が見られた。その量はYM培地での菌体量より多かった。一方、Sにおいては、Iと菌体量の増加の立ち上がりは似ていたが量的に少なかった。またOにいたっては、44時間以降にようやく菌体量増加の立ち上がりが見られ、48時間でIの菌体量の半分程度であった。

以上のことから、YM培地ではI、S、Oは同じ挙動を示すが、レーズン培地では三者三様で、Iの生育が優れていることが分かった。また、Iは生育の至適pHが通常の酵母より低く、レーズンを好むことが推測された。

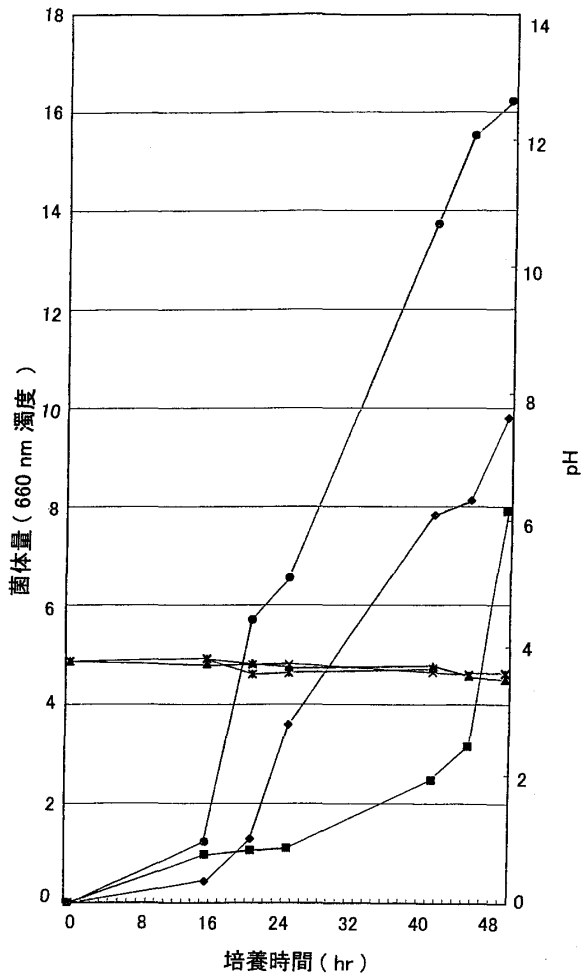


図2 レーズン培地による培養

(—●— O(B) · —◆— S(B) · —■— I(B)
 —▲— OB(pH) · —×— SB(pH) · —*— IB(pH)

3. 飯塚パン製造における酵母の気体発生量

レーズン培地での気体発生量、つまり元種をおこす時の気体発生量を比較すると、図3に示すように、 $I > S > O$ の順になっている一方で、アルカリを通じて測定した気体発生量（アルコールと考えるとよい）は、三者ともほぼ同じであった。この結果からアルコール発酵能は同じでも、呼吸作用はIが強いことが示唆された。

中種を製造し、その後の気体発生量を追跡したのが図4である。35℃の条件で24時間までみると、10時間までは全く差がなくその後若干差がでて $O > S > I$ の順であったが、実際の飯塚パンの製造時の中種は、25℃で12時間程度ねかせるわけで、その条件では有意な差はないと考えられる。25℃での気体発生量の追跡実験で確認する必要がある。

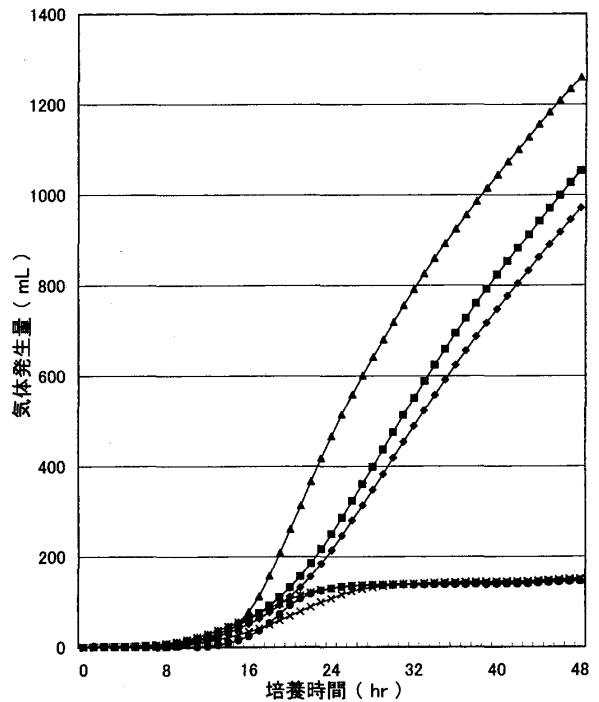


図3 レーズン培地による培養における気体発生量

(全気体発生量: —●— O · —◆— S · —■— I
 エタノール発生量: - - - × - - - O · - - - * - - - S · - - - * - - - I)

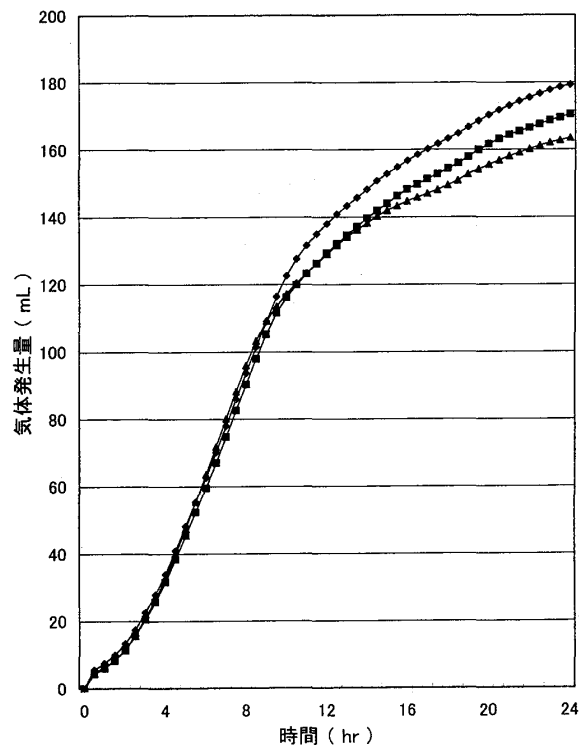


図4 中種20gの気体発生量

(—●— O · —■— S · —▲— I)

本捏における気体発生量を、35℃で5時間まで追跡した結果が図5である。I > S > Oの順であり、本捏における膨張体積はIが優れていると判断できる。これは本捏において

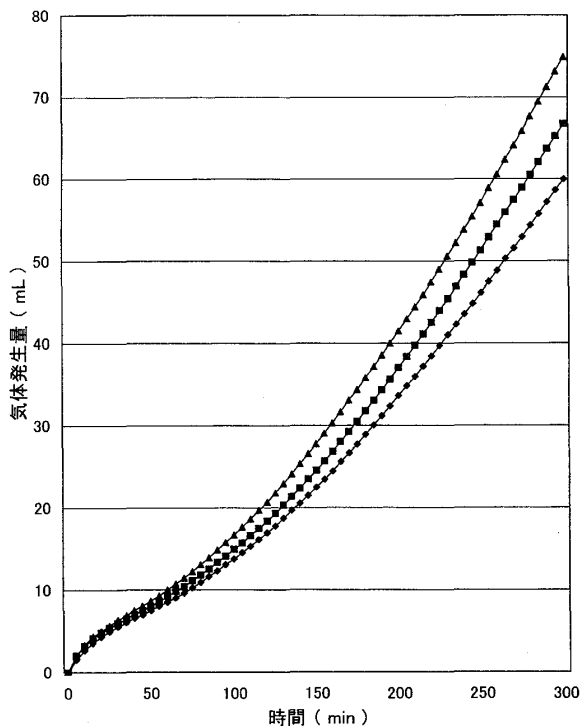


図5 本捏20gの気体発生量
(→0, →3.9, →1)

はレーズンを入れるため、Iの気体発生がレーズンに適していると考えられる。

4. 生育の至適pHの検討

通常酵母は生育の至適pHは5~6である²⁾が、Iは図2の結果から類推できるように、至適pHが低い可能性があるため、その確認をpHの異なるYM培地 (pH2~8) を調整して生育の至適pHの検討を行った。結果は表-IVに示す通りで12、18、24時間と培養が進むにつれて、各pHにおける気体発生量が増加したが、pH2.0においては気体発生量が見られなかった。レーズンのpH (pH 3.9) において気体発生量が12、18、24時間で118、555、852mLと最も多かった。そして、24時間後の培養液のpHを測定した所、初発pH3.9とほとんど変化がなかった。した

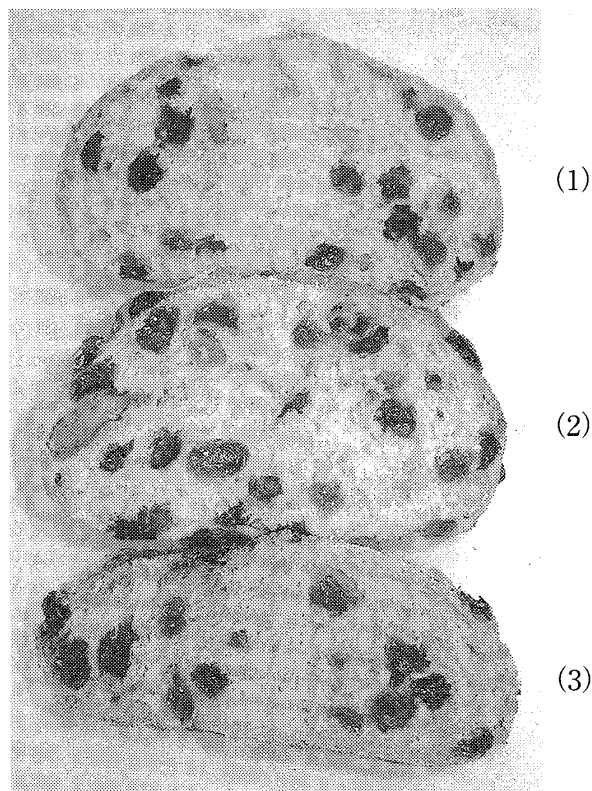


写真3 レーズン添加の効果(パンの断面)

- (1) 本捏の時にレーズンの代わりに水を添加したもの
- (2) 本捏の時にレーズンをそのまま添加したもの
- (3) 本捏の時に水とレーズンをミキサーで粉砕したレーズンペーストを添加したもの

がって、生育の至適pHは3.9付近と考えられる。

5. レーズン添加の効果

写真3でわかるように、本捏時にさらにレーズンを加えたところ、最も体積が大きく飯塚パンが出来た。ついでレーズンの代わりに水を加えたもの、続いてレーズンと水の代わりにレーズンペーストを加えたものであった。断面の外側を紙にトレースし、切って重量を測定したところ、(1) : (2) :

表-IV 各pHでの培養時間と気体発生量

		pH								
		2.0	2.5	3.0	3.9	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
気体発生量 (mL)	12 時間	0	3	44	118	62	37	50	88	91
	18 時間	0	39	394	555	465	387	432	438	367
	24 時間	0	213	808	852	783	732	758	701	590

(3) = 0.7330g : 0.7788g : 0.6656gであり、およそ0.94 : 1 : 0.85であった。つまりレーズンの添加が気体発生量を多くし、膨張体積が多くなったことがわかる。Iをレーズンペーストで培養するとレーズン培地よりも気体発生量が多くなるが（データ未掲載）、飯塚パン製造時にレーズンペーストを用いるとパンのふくらみは悪くなった。これは例えば生地に対するレーズンペーストの影響といった、何か別な要因が考えられる。

今後、Iがなぜ生育の至適pHが低いのか、なぜレーズンを好むのかを追求する必要がある。

要約

- (1) 飯塚パンの元種から酵母（飯塚菌、I）を分離同定したところ、一般のパン酵母として知られるサッカロミセス・セレベシアであった。
- (2) Iと一般の生イースト（オリエンタル酵母、O；三共、S）と生育状況について比較したところ、YM培地では菌体量が同等であったが、レーズン培地では、I > S > Oの順であった。
- (3) 気体発生量については、レーズン培地で I > S > Oの順であり、中種で同等と判断でき、本捏で I > S > Oの順であった。

(4) Iの生育の至適pHを判定したところ、一般の酵母のpH5~6とは違い、pH3.9付近であった。

(5) 飯塚パン製造時のレーズン添加の影響を見たところ、レーズン添加で膨張体積が増加し、Iの気体発生を促すには、レーズン添加が適していた。

以上より、飯塚パン製造には、Iが適しており生育の至適はpH3.9であり、レーズンを含むパンの製造において気体発生量が多くなることを示唆した。

なお、飯塚菌（I）とそれを用いた製パン法および飯塚パンについて、2005年5月23日付けで特許を出願した³⁾。また本研究は、2005年6月11日、日本食生活学会第30回大会（東京、大妻女子大）の一般講演で口頭発表した⁴⁾ことを付記する。

文献

- 1) 微生物の分離法, p855, R&Dプランニング (2001)
- 2) 堀内史郎ら: 新版 現代微生物学, p136, 朝倉書店 (1991)
- 3) 特願2005-176911
- 4) 日本食生活学会誌, 16 (3), 283 (2005)