

## 研究論文

# 清酒酵母の発酵制御により 吟醸香を付与する新規製パン法の開発

瀬見井純\*<sup>1</sup>、船越吾郎\*<sup>2</sup>

## Development of the Fermentation Process Using Sake Yeast in Dough to Make a Bread with the Ginjo Flavor.

Atsushi SEMII\*<sup>1</sup> and Goro FUNAKOSHI\*<sup>2</sup>

Food Research Center\*<sup>1</sup> Research Support Department\*<sup>2</sup>

清酒製造用の吟醸香高生産酵母を用いて、温度制御を行いながら長時間パン生地を発酵させた。その結果、吟醸香の主成分の一つであるカプロン酸エチルの濃度が、発酵時間の延長に伴いパン生地中で増加することがわかった。吟醸香を官能的に認識できるパンを作製するため、発酵温度、糖、酵母の配合比率について検討し、発酵条件の最適化を行った。その結果、吟醸香高生産酵母を用いて所定の発酵条件にてパン生地を発酵させることにより、吟醸香様の香りをもつパンを作製できることが明らかとなった。

### 1. はじめに

近年、パンに対する嗜好性は多様化し、差別化された製品の提案が求められている。この需要に応えるため、製パン業者は特徴的なフィリングや、産地を限定した原材料の使用等により様々な製品を提供している。しかし、パンの主原料の一つである酵母について検討し、生成する代謝産物によって特徴的な風味を付与した製品例は少ない。そのため、既存の製パン用酵母とは別に、発酵種（酒種、サワー種等）を用いた伝統的な製パン法が見直されている。発酵種では、原材料に付着している酵母、乳酸菌、酢酸菌等、複数の微生物が共存し、複合的に働くことで独特の風味がパンに付与される。しかし、単一株の酵母のみを用いる場合とは異なり、不明確な菌叢を安定的に維持管理する必要があるため、使用には熟練した技術と経験が必要になる。

一方、パンと同じく酵母を用いて発酵を行う清酒製造では、単一株の酵母を目的とする酒質に合わせて選択し、低温で長時間発酵制御することで、様々な風味が醸し出される。特に、吟醸酵母を用いて製造される吟醸酒は、吟醸香と呼ばれる華やかな香りを特徴とし、付加価値の高い清酒として認識されている。この香気成分含量を高める目的で、酵母の育種研究がこれまでに多く行われており<sup>1)2)</sup>、当センターにおいても吟醸香高生産酵母を独自に取得している<sup>3)</sup>。そこで本研究では、パン製造に吟醸香高生産酵母を用いて、低温で長時間発酵させることにより、特徴的な香りである吟醸香を付与する製パン法を検討した。

### 2. 実験方法

#### 2.1 使用酵母

当センターが保有する酒造用県産酵母 FIA1 (*Saccharomyces cerevisiae*) を親株とし、エチルメタンサルフォネート処理により得られたカプロン酸エチル（吟醸香の主成分の一つ）高生産株 T22 を用いた<sup>3)4)</sup>。試験の対照株には、市販パン酵母である US（オリエンタル酵母工業(株)）、スーパーカメラヤ(日清フーズ(株))を使用した。酵母菌体は、YPD 培地（2%グルコース、2%ハイポリペプトン、1%酵母エキス）を用いて 30℃で所定時間振とう培養後、遠心分離、ろ紙ろ過することで取得し、各種試験に用いた。

#### 2.2 生地膨張力試験

パン用酵母試験法<sup>5)</sup>に基づき、シリンダー法にて低糖生地膨張力試験を実施した。表 1 に示した原料配合で混捏した生地をシリンダーの底から詰め、30℃の恒温器内で第 1 発酵（60 分）を行った。第 1 発酵終了後、生地を取り出しガス抜きを行い、再びシリンダーに詰めて第 2 発酵（40 分）を行った。同様にして第 3 発酵（40 分）まで行った。第 1～3 発酵終了時に生地頭頂部の高さ（体積）を測定し、各発酵時間での生地膨張力とした。

表 1 生地膨張力試験原料配合

小麦粉	100 g
酵母	2 g
砂糖	5 g
食塩	2 g
水	62 mL

\*1 食品工業技術センター 分析加工技術室 \*2 共同研究支援部 計測分析室

## 2.3 製パン試験

各種原材料の配合比率を表2に示す。生地を調製し、発酵終了後、ガス抜き、分割、成形を行い、38℃、85%RHのホイロ内で最終発酵を行った。焼成条件は200℃、25分とし、焼成後のパンは室温にて1時間放冷後、27℃で保管した。

表2 原材料配合比率

試験区分	1	2
小麦粉	100 g	100 g
糖	4~5 g	18 g
酵母	1.5 g	2.5 g
食塩	2 g	2 g
ショートニング	5 g	5 g
水	52~60 mL	52 mL

## 2.4 香気成分分析

ヘッドスペース-GC/MS法を用いて行った。焼成後のパンはクラム部分をホモジナイザーで粉砕し、内部標準のカプロン酸メチルと共にサンプル瓶に入れて密封した。ヘッドスペースオートサンプラーにより、サンプル瓶を80℃、120分加熱後、ヘッドスペースガスの一定量をGC/MSに導入し測定を行った。

## 2.5 官能評価

焼成後のパンのクラム部分を厚さ約1cm、縦横約2cm×4cmに切断し、官能評価分析用サンプルとした。対照サンプルには、市販ドライイーストであるスーパーカメラリヤを使用し、直捏法で作製したパンを用いた。香気成分の標品にはカプロン酸エチル希釈溶液を提示した。試験サンプルと対照サンプルをランダムに配置して被験者に提示し、喫食時に標品と同じ香りがするサンプルを選択する方法で試験を実施した。結果は、2点識別法の検定表に従い有意差検定を行った<sup>6)</sup>。パンの総合的な味と香りの強度は、評点法(-2:弱い、-1:やや弱い、0:同じ、1:やや強い、2:強い)にて評価した。結果は、t検定により有意差検定を行った。

## 3. 実験結果及び考察

### 3.1 T22の低糖生地膨張力試験

カプロン酸エチル高生産株T22の製パン性を評価するため、低糖生地膨張力試験を行った。図1に示すように、対照株であるUSと比較して、T22の低糖生地における膨張力は低かった。しかし、発酵時間を長くすることで生地膨張力は増加し、USに対する生地膨張力比も高くなる傾向を示した。この結果から、T22は初期の発酵速度は遅いが、時間を長くすることでパン酵母としても使用可能であると考えられた。

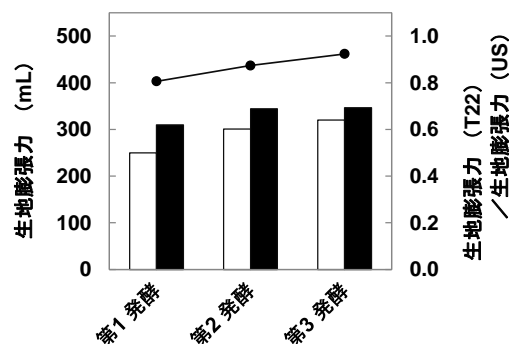


図1 低糖生地における第1~3発酵時の膨張力  
□T22 ■US ●生地膨張力比 (T22/US)

### 3.2 パン生地中でのT22による吟醸香生成

低糖生地膨張力試験の結果から、T22はパン酵母として使用可能であることが示唆された。そこで、T22を用いて発酵させたパン生地中での吟醸香生成の有無を、低温で比較的長時間発酵を行う冷蔵法を用いて確認した。福井ら<sup>7)</sup>が示した原材料の配合比率を基に、表2の試験区分1のように配合比率を設定し、パン生地を調製した。対照にはUSを用いて、発酵温度10℃で一晩発酵させ、焼成前と焼成後のパン生地に含まれる香気成分を評価した。その結果、図2に示すようにT22を用いた焼成前のパン生地では、吟醸香の主成分であるカプロン酸エチルが0.62ppm検出された。USを用いたパン生地では焼成前、焼成後共に0.2ppm以下であった。このことから、T22は一般的なパン酵母に比べ、パン生地中でより高い濃度のカプロン酸エチルを生成することが分かった。しかし、焼成後はカプロン酸エチル濃度が0.2ppm以下に低下し、官能的にも吟醸香様の香りを感じなかった。

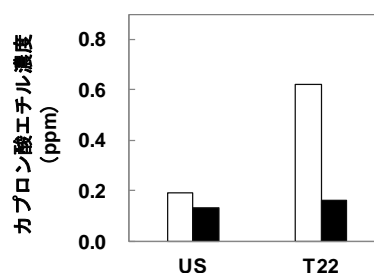


図2 冷蔵法によるカプロン酸エチル生成量  
□焼成前 ■焼成後

### 3.3 閾値の検討

T22の使用により、パン生地中のカプロン酸エチル濃度を増加させることはできたが、その香りを感じ取ることはできなかった。そこで、パン中のカプロン酸エチル濃度と官能的な閾値の関係を検討した。

表2の試験区分1の配合比率に従い生地を混捏する際、醸造用アルコールに溶解させたカプロン酸エチルを添加

した(酵母はスーパーカメリヤを使用)。第1発酵(30℃、30分)、ガス抜き、最終発酵(38℃、50分)を行い、焼成後のパンのカプロン酸エチル濃度を測定すると共に、官能的な閾値を検討した。その結果、濃度が2.2ppm以上であれば、カプロン酸エチルの香りを認識できることがわかった。よって本研究では、焼成後のパンに含まれるカプロン酸エチル濃度の目標値を2.2ppm以上として発酵条件を検討した。

### 3.4 T22の発酵条件検討

#### 3.4.1 発酵時間

図2に示したように、T22を使用した冷蔵法ではカプロン酸エチルの生成が確認されたが、焼成後の濃度は低く、目標値には達しなかった。当成分は揮発性が高いため、生地焼成時にその大部分が揮発してしまったと考えられた。そこで、カプロン酸エチルが目標値以上の濃度で焼成後のパン中に残存するための発酵条件を検討した。

初めに、発酵時間を延長した際のパン生地中のカプロン酸エチル濃度を測定した。発酵を長時間行うことから、生地の配合比率は表2の試験区分2に示すように、糖と酵母の比率を高くした。生地を混捏後、発酵温度10℃で1~7日間発酵させた。その結果、図3に示すように、発酵時間が長いほどカプロン酸エチル濃度は増加した。発酵時間6~7日では、焼成後の濃度が目標値を上回った。これらの結果から、T22を用いて発酵時間を6日以上とすることで、焼成後も目標値以上の濃度のカプロン酸エチルが残存することが明らかになった。

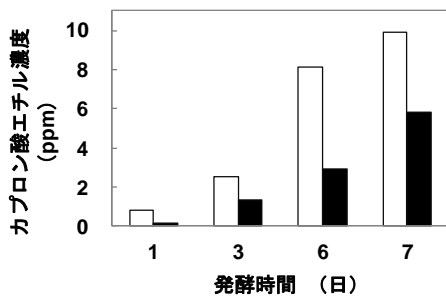


図3 カプロン酸エチルの生成に及ぼす発酵時間の影響

□焼成前 ■焼成後

#### 3.4.2 発酵温度

6日以上生地を発酵させることで、カプロン酸エチル濃度は目標値を上回った。しかし、発酵に6日を要する工程はパン製造に不向きと考えられる。そのため、期間の短縮を目的とし、発酵温度を検討した。

表2の試験区分2に示す配合比率で生地を混捏し、発酵温度10~30℃で、1~7日間発酵させた。焼成後のパンに含まれるカプロン酸エチルの濃度を図4に示す。発酵温度10、15℃では発酵時間6日、20、25℃では3日、30℃では1日で目標値を上回るカプロン酸エチル濃度が

示された。ただし、発酵温度25℃で、発酵時間3日以上、もしくは30℃で、1日以上発酵させたパンは、苦味、渋味が強く感じられ、生地の膨らみも悪い状態だった。以上の結果から、最適な発酵温度は20℃、発酵時間は3日とした。

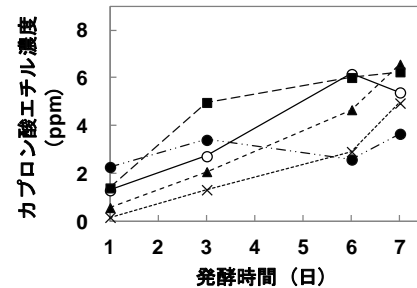


図4 カプロン酸エチルの生成に及ぼす発酵温度の影響  
--×--10℃ --▲--15℃ --○--20℃ --■--25℃ --●--30℃

#### 3.4.3 糖の配合比率

次に、糖の配合比率について検討した。表2の試験区分2を基に糖の配合比率を15~30%に設定して生地を混捏後、発酵温度20℃で、1~6日間発酵させた。焼成後のパンに含まれるカプロン酸エチルの濃度を図5に示す。その結果、糖の配合比率が15%のときは発酵時間6日で、18%のときは発酵時間3日で目標値を上回るカプロン酸エチル濃度が示された。糖の配合比率が20%以上でのカプロン酸エチル濃度は、18%のときよりも減少し、目標値に達するにはいずれのサンプルも発酵時間を6日要した。発酵時間3日の時点で官能評価分析を行ったところ、糖の配合比率が18%以下のパンでは、甘味はなく、若干の酸味、渋味があった。一方、20%以上のパンでは、配合比率の増加に伴い甘味が増し、酸味、渋味が減少する傾向があった。この結果からT22は、糖濃度が20%以上の環境下では、浸透圧ストレスの影響を強く受け、発酵が阻害されている可能性が唆された。したがって、T22をパン生地中で20℃、3日間発酵させる際の糖の配合比率は、18%を最適とした。

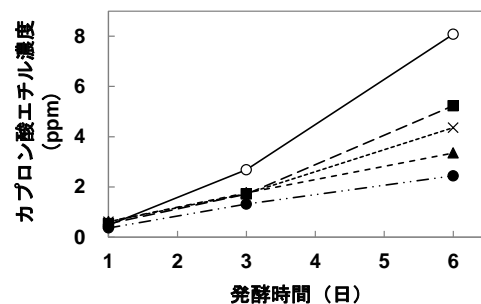


図5 カプロン酸エチルの生成に及ぼす糖の配合比率の影響

--▲--15% --○--18% --×--20% --■--25% --●--30%

### 3.4.4 酵母の配合比率

これまでの結果より、発酵時間 3 日で焼成後のパン中のカプロン酸エチル濃度は目標値を上回った。そのため、酵母の配合比率の検討は発酵時間を 1~3 日として行った。表 2 の試験区分 2 を基に酵母の配合比率を 1.5~3.5% とし、発酵温度は 20℃ とした。焼成後のパンに含まれるカプロン酸エチル濃度を図 6 に示す。発酵時間 3 日でカプロン酸エチル濃度が目標値を上回ったのは、配合比率 2.5% のときのみであった。よって、酵母の配合比率は 2.5% を最適とした。清酒製造において、脂肪酸エステルの生成は酵母の栄養飢餓状態時に多くなると考えられている<sup>8)9)</sup>。一方、パン生地発酵過程において、酵母の栄養源が枯渇した状態では、酵母の添加量が増加するに伴い、酵母の増殖は抑制される<sup>10)11)</sup>。よって今回の試験では、発酵時間の延長により栄養源が枯渇した生地中において、酵母の配合比率が 3% 以上の場合では増殖が弱まり、カプロン酸エチルの生成量が低くなっている可能性が示唆された。

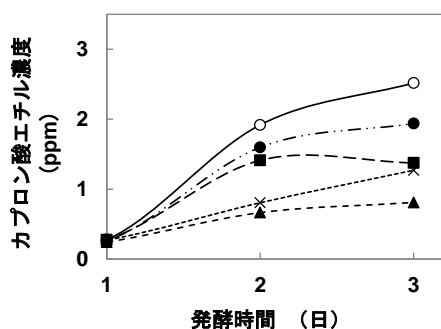


図 6 カプロン酸エチルの生成に及ぼす酵母の配合比率の影響

▲-1.5%    ×-2.0%    ○-2.5%  
■-3.0%    ●-3.5%

### 3.5 試作試験

これまでの条件検討結果から、T22 を用いた発酵条件は小麦粉 100、上白糖 18、酵母 2.5、食塩 2、ショートニング 5 の配合比率で、発酵温度 20℃、発酵時間 3 日とした。小麦粉の使用量を 900g に増加し、この条件で生地を調製したところ、発酵時間 2 日でカプロン酸エチル濃度は目標値を上回り、条件検討時の試験結果よりも高い値を示した。より短い発酵時間でカプロン酸エチルが目標値を上回る条件を見出すことを目的としていたことから、官能評価には発酵時間 2 日の試験サンプルを用いることとした。

### 3.6 官能評価

試験サンプルには、T22 を用いて前項の最適条件で試作したパンを用いた。試験の結果、被験者 23 名中、19 名が試験サンプルから標品のカプロン酸エチル溶液と同

様の香りを喫食時に感じたと回答した。その結果、有意水準 1% 以下で、T22 を用いたパンと対照サンプルとの間には差が認められ、T22 を用いたパンでは、カプロン酸エチル様の香りが感じられることが示された。また、試験サンプルは対照サンプルに対し、総合的な香りの強度が評点法の平均値で+0.83、味の強度が+0.91 となり、共に有意に強く感じるという結果になった。被験者の感想には、食パンとしては好ましくない風味という意見がある一方で、特徴的で面白い、さわやかで好印象という意見もあり、嗜好性についての評価は分かれた。総合的な風味が強いという結果が得られていることから、発酵時間を調整し、カプロン酸エチルの香りとその他の風味とのバランスを再検討することで嗜好性は向上する可能性があり、この点については今後検討する予定である。

## 4. 結び

清酒用吟醸香高生産酵母 T22 を用いて低温で長時間パン生地を発酵させることで、パン中のカプロン酸エチル濃度は増加することが明らかとなった。そして、官能的にも吟醸香様の香りを認識することが可能なパン生地の発酵条件を見出した。この結果、本研究成果を用いることで、従来の製品とは差別化された特徴的なパンの製造が可能になると考えられた。

## 付記

本研究は、公益財団法人エリザベス・アーノルド富士財団平成 26 年度学術研究助成により実施した。

## 文献

- 1) 秋田修：日本醸造協会誌，**87**(9)，621(1992)
- 2) 市川英治：日本醸造協会誌，**88**(2)，101(1993)
- 3) 三井俊，伊藤彰敏，沖塚翔太：あいち産業科学技術総合センター研究報告，**4**，88(2015)
- 4) Ichikawa, E., Hosokawa, N., Hata, Y., Abe, Y., Suginami, K., Imayasu, S. : *Agric. Biol. Chem.*, **55**(8), 2153(1991)
- 5) 日本イースト工業会編：パン用酵母試験法，2(1996)
- 6) 古川秀子：おいしさを測る 食品官能検査の実際，**128**(2012)，幸書房
- 7) 福井尚之：日本食品工業学会誌，**39**(4)，348(1992)
- 8) 宮島豊：日本醸造協会誌，**95**(12)，856(2000)
- 9) 北本勝ひこ：日本醸造協会誌，**87**(2)，90(1992)
- 10) 田中康夫，松本博編：製パンの科学 (I) 製パンプロセスの科学，P104(1997)，光琳
- 11) 田中康夫，佐藤友太郎：日本食品工業学会誌，**11**(2)，48(1964)