

産学官連携による製パン用「とがち野酵母」の開発 (平成 23 年度日本食品科学工学会技術賞)

小田有二^{1*}, 山内宏昭², 田村雅彦³

¹ 帯広畜産大学食品科学研究部門

² 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター

³ 日本甜菜製糖株式会社 総合研究所

Development of Baker's Yeast "Tokachino" through Collaboration of Industry, Academia and Government

Yuji Oda^{1*}, Hiroaki Yamauchi² and Masahiko Tamura³

¹ Department of Food Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Hokkaido 080-8555

² National Agricultural Research Center for Hokkaido Region, Sapporo, Hokkaido 062-8555

³ Research Center, Nippon Beet Sugar Manufacturing Co., Obihiro, Hokkaido 080-0831

Eight yeast strains were isolated from samples collected in Hokkaido after enrichment culture with a high concentration of sucrose. Among them, strain AK 46, which was derived from dough containing fermented cherry fruits was identified as *Saccharomyces cerevisiae*. The nucleotide sequence of the rDNA spacer region from this strain was identical to those from yeasts used for the production of whisky, wine, and bread. Strain *S. cerevisiae* AK 46 carried only *SUC2*, which is one of multiple genes that encodes invertase, in contrast to the other baking strains, and its sequences were diverged from those of the corresponding gene found in the other strains. In a comparison of six baking strains, strain AK 46 showed lower leavening ability in dough with and without the addition of 5% sucrose by weight of flour but showed high leavening ability in sweet dough containing 30% sucrose. The activities of enzymes α -glucosidase and invertase, which are related to dough fermentation, were lower than those in the other strains. A baking test showed that strain AK 46 was suitable for breadmaking by various methods. Cells of strain AK 46 were propagated industrially and used for the commercial production of dry yeast called "Tokachino", which is named for the region from which it was isolated. (Accepted Oct. 26, 2011)

Keywords : baker's yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, breadmaking

キーワード : パン酵母, *Saccharomyces cerevisiae*, 製パン

1. はじめに

日本においてパン用小麦の多くは輸入されているが、世界情勢の変化により国産原料を使ったパンへのニーズが高まっている。北海道は小麦の一大産地であると同時に、テンサイからショ糖、牛乳からバター等の生産が盛んであり、製パン用原料の大部分を安定かつ大量に供給可能な地域である。これらの原料から、ふっくらとしたおいしいパンをつくるのに不可欠なものが酵母である。

パン製造において、酵母は糖をエタノールへと変換する

際に発生する炭酸ガスで生地を膨張させ、パンに特有の好ましい風味を与えている。この酵母は *Saccharomyces cerevisiae* に分類される生物種で、エタノール発酵力が高いことから酒類の醸造にも広く利用されている。しかし、*S. cerevisiae* に含まれる菌株であってもその性質は同じではなく、製パン用、清酒用、焼酎用、ワイン用という産業上の用途によって使い分けられている¹⁾。元来 *S. cerevisiae* は自然界の果物や樹液などに生息しており、これらの野生酵母が人間の手で繰り返し使用されることにより、それぞれの産業に向くタイプに選別されたと考えられている。現在、市販パン酵母に使用されている菌株はメーカーが保有する選りすぐりのもので、当然のことながら野生酵母や醸造用菌株と比べるとパン生地を膨張する能力は際立って高い。言い換えると、野生酵母には製パン用菌株のように製

¹ 〒080-0017 北海道帯広市稲田町西2線11番地

² 〒062-8555 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘1

³ 〒080-0831 北海道帯広市稲田町南9線西13番地

* 連絡先 (Corresponding author), yujioda@obihiro.ac.jp

パン適性の高いものはきわめて少ない²³⁾。これまでに海水⁴⁾、腐葉土⁵⁾、干しブドウ⁶⁾などから分離された酵母を製パンに利用する試みがなされているが、著者らは使用する原料をすべて地元産にこだわった地域特産のパンをつくるため、北海道の自然界からパン生地発酵力の高い独自の菌株を探索することにした。そして選抜した菌株を大量培養して乾燥菌体を製造し、製パン用「とち野酵母」として販売を開始した。本論文では、産学官連携による研究開発から製品化までの経緯を紹介する。

2. 菌株の分離と選抜

2007年6月～7月に北海道十勝地域で採取した果実、花など215点の一部を20%スクロース含有液体培地に接種して培養し、重量が顕著に減少した培養液から50株の酵母(AK01～AK50)を純粋分離した。これらの菌株の中で、スクロース培地でのエタノール生成が良好であった8株(AK30, AK35, AK40, AK42, AK43, AK45, AK46, AK49)を選抜した。形態・生理学的性質およびrRNA-D1/D2領域の塩基配列から、AK30, AK42, AK43, AK45, AK49を*S. paradoxus*, AK35を*Zygosaccharomyces fermentati*, AK40を*S. mikatae*, AK46を*S. cerevisiae*と同定した⁷⁾。そして、後述するように5%スクロース添加パン生地発酵力をもっとも高かったAK46を最終的に選抜した。この菌株はエゾヤマザクラのサクランボの果汁を自然発酵させた後につくったパン種から分離されたものであり、rDNAスペーサー領域の塩基配列の解析からビール・ウイスキー・パン用菌株と同じグループに属していることが分かった⁸⁾。

3. 菌学的性質

選抜株*S. cerevisiae* AK46のエタノール生産能について調べたところ、スクロースおよびケーン糖蜜からは実験室株*S. cerevisiae* X2180-1Aおよび市販パン酵母から分離された*S. cerevisiae* 菌株6株(NBRC 2043, NBRC 2044, NBRC 2375, HP 203, HP 216, HP 467)と同様にエタノールを生成した。ところが、テンサイ糖蜜を糖源としたときには各菌株のエタノール生成に大きな差異が生じ、*S. cerevisiae* AK46はもっとも遅かった(図1)。この現象はスクロースを分解する酵母のインペルターゼ活性が低いことに起因すると推定し、さらに検討を進めた。

酵母のスクロース発酵性はインペルターゼをコードする*SUC* 遺伝子によって支配されており、複数のうちのいずれかを備えていればスクロースを発酵できる。パルスフィールドゲル電気泳動で分離した染色体DNAに対してサザン解析を行ったところ、AK46では*S. cerevisiae* X2180-1Aと同様の第9番染色体にのみハイブリダイズしたことから、*SUC2*のみを備えていると考えられた⁷⁾。一方、対照とした製パン用菌株では複数の染色体にハイブリダイズした。そこで、この*SUC2* 遺伝子をPCRで増幅し

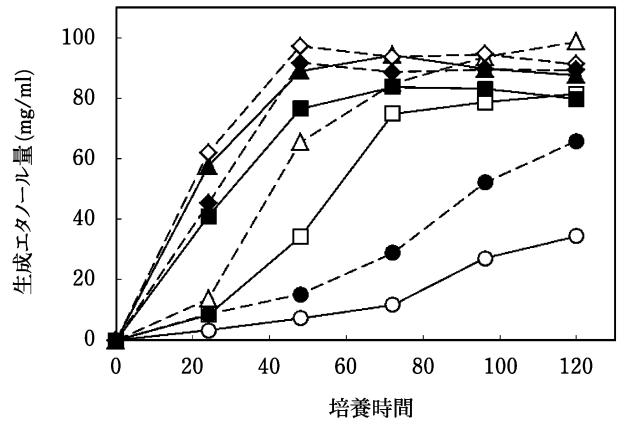


図1 テンサイ糖蜜(糖濃度20%)からのエタノール生成

使用した*S. cerevisiae* 菌株は次の通り。AK46 (○), X2180-1A (△), NBRC 2043 (▲), NBRC 2044 (◇), NBRC 2375 (◆), HP 203 (□), HP 216 (■), HP 467 (●)。AK46および実験室菌株X2180-1A以外は市販パン酵母から分離された菌株である。

て塩基配列を解析したところ、製パン用菌株と同じクラスターに位置していたが、明確に判別できた(図2)⁹⁾¹⁰⁾。

*SUC2*は複数ある*SUC* 遺伝子の祖先と考えられており、自然界から分離される酵母は*SUC2*のみを備えていることが多い¹¹⁾。一方、製パン用菌株はスクロースをすばやく発酵する性質で長期間選抜されたことによって、*SUC* 遺伝子が倍加したと推察されている。*S. cerevisiae* AK46が*SUC2*しか備えていないことは、かつてこの菌株が製パン工程などの人為的な環境に置かれたことがないことを示唆していた。

4. 製パン用菌株としての諸性質

S. cerevisiae AK46の製パン用菌株として必要とされる諸性質について調べた⁷⁾。パン酵母用のYPS培地¹²⁾で培養すると、*S. cerevisiae* AK46は良好に生育し、取得菌体量は製パン用菌株よりも高かった。この菌体を使用して、小麦粉重量当たりスクロースを5%または30%添加したパン生地および糖無添加パン生地からの炭酸ガス発生量をパン生地発酵力(ml/2h/10g小麦粉)として測定した。これらのパン生地は、食パン、菓子パンおよびフランスパンの生地に相当する。

S. cerevisiae AK46の5%スクロース添加パン生地発酵力は、製パン用菌株の約80%に相当する野生酵母としては高い水準であった。また30%スクロース添加パン生地発酵力は製パン用菌株の最高に近い水準であったが、この発酵力と関係の深いインペルターゼ活性には製パン用菌株との間に大きな差があり、*S. cerevisiae* AK46の活性はもっとも低かった。高糖生地発酵力は、菓子パン嗜好が高い日本において使用されるパン酵母には重要な性質であることから¹⁴⁾、このような特徴は*S. cerevisiae* AK46を商品化する

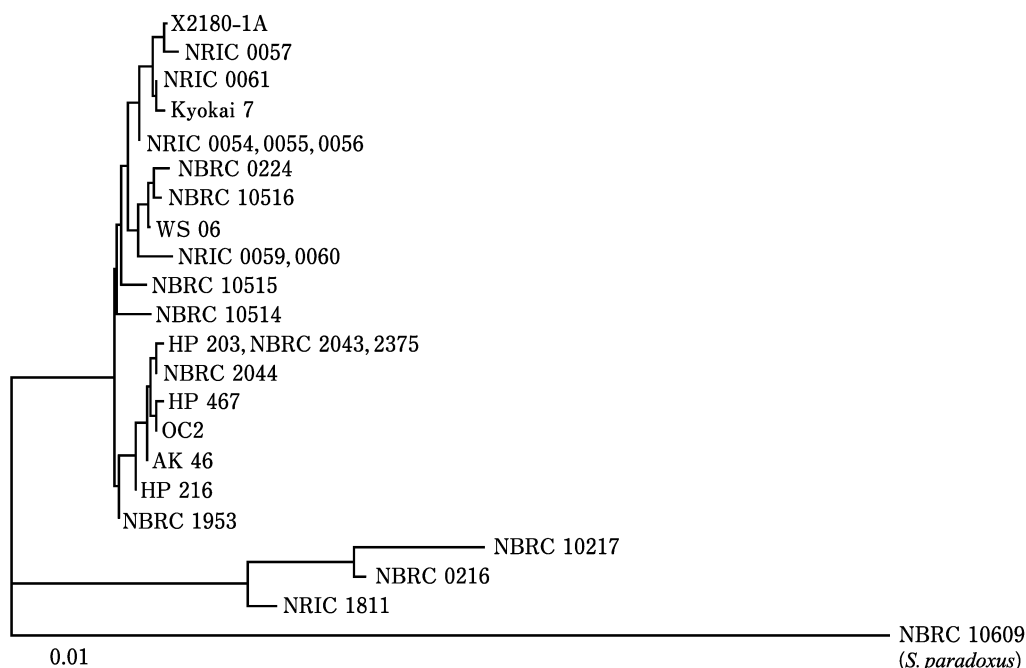


図 2 *SUC2* 遺伝子の塩基配列にもとづく系統樹

各種 *S. cerevisiae* 菌株の *SUC2* 遺伝子を解析し、それらの塩基配列から系統樹を描いた¹⁰⁾

る際の長所となった。

糖無添加パン生地を十分に膨張させるには、酵母は小麦中のデンプンから生成するマルトースを迅速に発酵しなければならず、マルトース発酵に関与するマルトースパーミターゼと α -グルコシダーゼの高い活性が必要とされる¹³⁾。自然界から分離される酵母にはマルトース発酵性のないものが多く、あったとしてもマルトース発酵性は基質であるマルトースによって誘導されるため、スクロースで培養すると α -グルコシダーゼの活性は微弱である。一方、パン酵母はマルトースのないスクロースから成る糖蜜で培養されてもマルトース発酵性が構成的に発現しており、 α -グルコシダーゼ活性は高い。スクロースで培養した *S. cerevisiae* AK 46 の菌体は比較的高い α -グルコシダーゼ活性を示し、その糖無添加パン生地発酵力は製パン用菌株よりは劣るものの、マルトース発酵性のない *S. cerevisiae* X2180-1A の 2.5 倍であった。

多くの製パンメーカーで採用されている中種製パン法では、糖を添加しない中種生地を十分に膨張させることが高品質のパンを作るのにもっとも重要な点とされている。そこで、パン製造に好適とされる輸入小麦を原料とした標準的な小麦粉を使用し、中種生地からの炭酸ガス発生速度の変化を追跡した⁷⁾。市販パン酵母から分離された菌株 *S. cerevisiae* HP 216 と比較すると、*S. cerevisiae* AK 46 は 60 分以内のガス発生速度は低かったが、それ以降 150 分までは同程度になった。通常のパン酵母は、生地中にわずかに存在する単糖類を発酵して 60 分以内に消費し、その後は小麦粉に含まれる β -アミラーゼなどの作用によってデンプンから生成するマルトースを発酵する¹⁵⁾。 *S. cerevisiae* AK 46 は *S. cerevisiae* HP 216 と同様に、小麦粉にあらかじめ存在する単糖からマルトースへの変化に迅速に適応可能な高いマルトース発酵性を備えた菌株であり、中種製パン法に好適と推察された¹⁶⁾。

5. 各種製パン試験

使用する原料をすべて地元産にした地域特産のパンをつくるため、北海道産小麦粉を原料としてノータイム法、ストレート法および中種法による製パン試験¹⁷⁾を行った(表 1)。小麦粉は超強力小麦品種「ゆめちから」および中力小麦品種「ホクシン」のそれぞれから調製した粉を 1:1 にブレンドして使用した。ノータイム法において AK 46 でつくったパンの比容積は *S. cerevisiae* HP 216 の 93% で、醗酵時間の長いストレート法では 98%、中種法では 94% となり、両者の差は縮まった。AK 46 でつくったパンの比容積は *S. cerevisiae* HP 216 にわずかに及ばなかったが、90% 以上でパンとしては十分な数値であった。各製法別に官能評価を行ったところ、ノータイム法の香りに関してのみ、*S. cerevisiae* AK 46 は *S. cerevisiae* HP 216 を下回ったもののそれ以外のすべての項目において同等もしくは HP 216 よりも優れた結果が得られた。

次に、多様なパンを合理的に生産する方法として採用されている冷凍生地製パン法への適性¹⁸⁾を調べた。対照菌株としては *S. cerevisiae* HP 216 以外に市販冷凍生地用パン酵母から分離された菌株 *S. cerevisiae* HP 688 を使用し、ストレート法に準拠した方法で、冷凍無し、冷凍 1 週間、冷

表1 北海道産小麦粉を原料として焼成したパンの品質

項目	ノータイム法		ストレート法		中種法	
	AK 46	HP 216	AK 46	HP 216	AK 46	HP 216
比容積 (ml/g)	5.91	6.38	5.63	5.77	5.66	6.00
色	2.00	2.00	1.63	1.63	2.60	1.60
味	2.00	1.75	1.88	1.75	2.20	1.80
香り	1.75	1.88	1.88	1.50	2.20	1.40
食感	1.75	1.63	1.75	1.63	2.20	2.00
きめ	2.25	1.63	2.13	1.25	2.40	1.20

官能評価については、とても良い=3点・よい=2点・普通=1点・悪い=0点で評価し、項目ごとに合計点数をモニター数(7名)で割った数値を表示した。

表2 冷凍無しおよび冷凍生地から焼成したパンの比容積およびホイロ時間

冷凍処理	項目	AK 46	HP 216	HP 688
冷凍無し	比容積 (ml/g)	5.91	6.09	5.36
	ホイロ時間 (分)	45	35	55
冷凍1週間	比容積 (ml/g)	5.06	3.41	5.49
	ホイロ時間 (分)	62	106 <	75
冷凍2週間	比容積 (ml/g)	5.29	2.98	5.48
	ホイロ時間 (分)	76	115 <	77

ホイロ時間は38℃、相対湿度85%の条件下で、パン生地が型上1cmに到達するまでの時間とした。



図3 出来上がった製品「とから野酵母」の外観

表3 冷凍無しおよび冷凍生地から焼成したパンの官能評価

項目	冷凍無し			冷凍1週間			冷凍2週間		
	AK 46	HP 216	HP 688	AK 46	HP 216	HP 688	AK 46	HP 216	HP 688
色	2.00	2.14	2.14	2.29	1.14	1.86	1.57	1.00	2.43
味	2.00	2.00	2.00	2.00	1.29	2.14	2.29	0.57	2.14
香り	2.00	1.86	2.00	1.71	1.29	1.57	2.00	0.43	1.71
食感	2.29	2.14	2.00	1.71	0.86	2.14	1.43	0.43	1.71
きめ	2.14	1.89	1.71	1.43	1.57	1.86	1.57	0.43	1.43

点数は表1と同様の方法で算出した。

凍2週間の各試験区で実験を行った(表2,3)。冷凍無しでもっともホイロ時間が短くて比容積が大きかったのはHP 216で、次いでAK 46およびHP 688の順となり、比容積および官能評価に関しては問題なかった。一方、*S. cerevisiae* HP 216の冷凍生地は所定の時間内に型上1cmにまで到達せず、焼成したパンの比容積も著しく低かった。これに対して、*S. cerevisiae* AK 46および*S. cerevisiae* HP

688の冷凍生地はいずれもホイロ時間が若干延長されたが、焼成すると冷凍無しの90%以上の比容積を示し、*S. cerevisiae* HP 216よりも優れた結果が得られた。

6. 乾燥酵母の製品化

大規模なパン工場では生菌体の酵母を使用するのが一般的であるが、生酵母は傷みやすく冷蔵保存しても使用期限

は2週間程度である。少量多品種のパン製造に対応するためには、長期保存が可能な乾燥酵母の商品形態にする必要があった。*S. cerevisiae* AK 46の培養菌体について乾燥耐性を調べたところ、十分に高い水準で乾燥酵母に適用可能であることがわかった。そこで、日本甜菜製糖株式会社清水バイオ工場でタンク培養し、乾燥酵母を製造した。モニター試験によって、出来上がった製品は実際のパン製造に十分使用可能であることを確認し、2010年1月に「とち野酵母」として販売を開始した(図3)。

7. おわりに

「とち野酵母」はマスコミで取り上げられてから、地元のベーカリーや手作りパン教室ですぐに採用となった。さらに、ブログなどによる評価やインターネットによる通信販売で全国的な広がりを見せている。最近では製パン以外にビール醸造にも応用され¹⁹⁾、北海道産小麦との組み合わせによるエールビールも販売されるようになり、さらなる発展が期待される。

本研究の遂行にあたり、多大なるご協力をいただきました帯広畜産大学大学院修士 三雲大氏および田嶋可奈子氏に心より御礼申し上げます。また、ご支援いただいた(株)満寿屋商店 杉山雅則社長、帯広畜産大学研究協力課および地域連携推進センターの皆様にも厚く御礼申し上げます。最後に日本食品科学工学会技術賞にご推薦下さいました北海道大学大学院農学研究院教授 浅野行蔵先生に感謝の意を表します。

文 献

- Oda, Y. and Ouchi, K., Principal-component analysis of the characteristics desirable in baker's yeasts. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1495-1499 (1989).
- Bell, P. J. L., Higgins, V. J. and Attfield, P. V., Comparison of fermentative capacities of industrial baking and wild-type yeasts of the species *Saccharomyces cerevisiae* in different sugar media. *Lett. Appl. Microbiol.*, **32**, 224-249 (2001).
- Okagbue, R. N., A note on the leavening activity of yeasts isolated from Nigerian palm wine. *J. Appl. Bacteriol.*, **64**, 235-239 (1988).
- 小玉健太郎, 北浦 睦, 宮本芳夫, 保坂孝雄, 菅浦敏夫, 岩田 通, 笠松篤龍, 谷口昌也, 海水から分離した酵母を用いるパンの製造法. 特開平 6-52 (1994.1.11).
- 小玉健吉, 高橋慶太郎, 酵母, 冷凍パン生地, 乾燥パン酵母, 発酵食品, 含塩発酵食品及び発酵食品製造方法. 特開 2001-178449 (2001.7.3).
- 渡邊 悟, 飯塚良雄, 天然パン酵母. 特開 2006-325562 (2006.12.7).
- Oda, Y., Mikumo, D., Tajima, K. and Yamauchi, H., Characterization of an alternative baking strain of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from fermented cherry fruits by the analysis of *SUC2* gene. *Food Sci. Technol. Res.*, **16**, 45-50 (2010).
- Kawahata, M., Fujii, T. and Iefuji, H., Intraspecies diversity of the industrial yeast strains *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces pastorianus* based on analysis of the sequences of the internal transcribed spacer (ITS) regions and the D1/D2 region of 26S rDNA. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 1616-1620 (2007).
- Oda, Y., Mikumo, D., Leo, F. and Urashima, T., Discrimination of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* strains by the *SUC2* gene sequences. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **56**, 355-358 (2010).
- Sujaya, I. N., Mikumo, D., Orikasa, Y., Urashima, T. and Oda, Y., Baking performance of *Saccharomyces cerevisiae* strains derived from *brem*, a traditional rice wine in Bali. *Food Sci. Technol. Res.*, **17**, 1616-1620 (2011).
- Naumov, G. I., Naumova, E. S., Sancho, E. D. and Korhola, M. P., Polymeric *SUC* genes in natural populations of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Lett.*, **135**, 31-35 (1996).
- Oda, Y. and Tonomura, K., Sodium chloride enhances the potential leavening ability of yeast in dough. *Food Microbiol.*, **10**, 249-254 (1993).
- Oda, Y. and Ouchi, K., Maltase gene and α -glucosidase activities: their effects on dough-leavening. *Yeast*, **5**, S135-139 (1989).
- Oda, Y. and Ouchi, K., Effect of invertase activity on the leavening ability of yeast in sweet dough. *Food Microbiol.*, **7**, 241-248 (1990).
- Oda, Y. and Ouchi, K., Role of the yeast maltose fermentation genes in CO₂ production rate from sponge dough. *Food Microbiol.*, **7**, 43-47 (1990).
- 小田有二, 山内宏昭, パン類の製造方法と本法によって得られるパン類. 特開 2010-68739 (2010.4.2).
- Yamauchi, H., Nishio, Z., Takata, K., Oda, Y., Yamaki, K., Ishida, N. and Miura, H., The bread-making quality of a domestic flour blended with an extra strong flour, and staling of the bread made from the blended flour. *Food Sci. Technol. Res.*, **7**, 120-125 (2001).
- Yamauchi, H., Nishio, Z., Takata, K., Oda, Y., Yamaki, K., Ishida, N. and Miura, H., The quality of extra strong flour used in bread production with frozen dough. *Food Sci. Technol. Res.*, **7**, 135-140 (2001).
- 小田有二, ビールの製造方法および本方法によって得られるビール. 特願 2010-095349 (2010.4.16).

(平成 23 年 10 月 26 日受理)