

微生物利用技術に関する研究 (1)

—パン種の乳酸菌と酵母の利用—

井上和春*¹ 大澤千恵子*² 高橋広子*³ 石川準一**¹ 吉岡久雄**² 又重英一***

Study on Utilization of Microorganisms

— Utilization of Lactic Acid Bacteria and Yeasts in Breadmaking Starter Culture —

INOUE Kazuharu*¹, OSAWA Chieko*², TAKAHASHI Hiroko*³

ISHIKAWA Junichi**¹, YOSHIOKA Hisao**², MATASHIGE Eiichi***

抄録

パン種より分離した乳酸菌 (*Lactobacillus sanfranciscensis*) と酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の培養液に抗菌性があることを示した。また、これらの微生物を用いて製造した「発酵穀粉」で新製品を試作した。

キーワード：自然発酵パン種、発酵ぬかどこ、乳酸菌、酵母

1 はじめに

既報^{1) 2)}で自然発酵パン種中の乳酸菌と酵母を同定すると共に、これらの微生物を利用した「発酵ぬかどこ」を商品化した。

本報ではぬか床利用及びアガーウエル拡散法により、同定した微生物の抗菌性試験を行った。また、これらの微生物を利用して製造した「発酵穀粉」を用いた新製品を開発したので報告する。

2 実験方法

2.1 乳酸菌・酵母の抗菌性試験

前報¹⁾で同定した、自然発酵パン種から分離し

た乳酸菌 (*Lactobacillus sanfranciscensis*) ・酵母 (*S. cerevisiae*) の抗菌性を2種類の方法で試験した。

2.1.1 ぬか床利用における抗カビ試験

(1) 乳酸菌・酵母培養液の調製

自然発酵パン種から分離した乳酸菌・酵母をそれぞれ5 ml 前培養 (乳酸菌: MRS 培養液、酵母: YPD 培養液) し、次に600mlの本培養を行なった。この時、乳酸菌・酵母の前培養液を混合した本培養液 (MRS 培養液) も用意した。MRS 培養液は30℃、YPD 培養液は28℃で3日間培養した。3日後の培養液を6300rpmで遠心分離し、沈殿物 (菌体) は水で希釈し、上澄み液はろ過滅菌 (0.45 μmメンブレンフィルター) した。ろ過滅菌した上澄み液の半分は、10% NaOHでpH調製 (中和) した。

(2) ぬか床の製造

調製した①乳酸菌菌体 ②酵母菌体 ③乳酸菌・酵母混合培養菌体 ④乳酸菌上澄み液 ⑤酵母上澄み液 ⑥乳酸菌・酵母混合培養上澄み液 ⑦乳酸菌上澄み液 (中和) ⑧酵母上澄み液 (中

*¹ 北部研究所 生物工学部

*² 北部研究所 生物工学部

(現 西部環境管理事務所東松山支所)

*³ 北部研究所 技術支援交流室

**¹ みたけ食品工業(株)

**² (株)愛工舎製作所

*** 東洋大学

和) ⑨乳酸菌・酵母混合培養上澄み液(中和)を、米ぬか及び調味料と混合してシャーレに50g詰め、ぬか床とした。28℃の恒温器に放置しカビの繁殖状況を観察した。

乳酸菌、酵母の量は、自然発酵パン種に生存している菌数(乳酸菌数 10^9 cfu/g、酵母 10^7 cfu/g)となるよう調節して添加した。

表1 ぬか床の配合割合

米ぬか	22.03 g
水、上澄み液	24.56ml
塩	3.09 g
昆布	0.14 g
唐辛子	0.18 g

2.1.2 アガーウェル拡散法による抗菌性試験

本庄等³⁾の方法に準じて行った。すなわち、普通寒天培地を5mmの深さになるようにシャーレに入れ、固化後直径7mmの滅菌したコルクボーラーで底まで穴を開け、同培地100μlで底穴をシールした。9000rpmで遠心分離し、上澄液をpH7に調整後、濾過滅菌(0.45μmメンブランフィルター)した乳酸菌培養液100μlを寒天培地の穴へ注ぎ込み、4℃で1夜拡散させた。培地を天地返してシャーレの蓋に載せた後、被検菌を約 10^7 /mlとなるように添加した0.7%寒天培地5mlを重層し、30℃で1~2日培養後、阻止円の大きさを観察した。

対照として*Lactococcus lactis* JCM 7638を用いた。供試した菌株名を以下に示す。

被検菌

イ 麴カビ (*Aspergillus oryzae* 日本醸造工業(株)製吟醸用)

ロ *Bacillus subtilis* JCM 1465

ハ *Debaryomyces hansenii* var.*hansenii* JCM 5204

2.2 発酵穀粉を利用した試作品

前報¹⁾と同様にして、発酵穀粉を製造し(図1)、発酵穀粉の特徴・風味を活かした洋菓子・和菓子

を試作した。

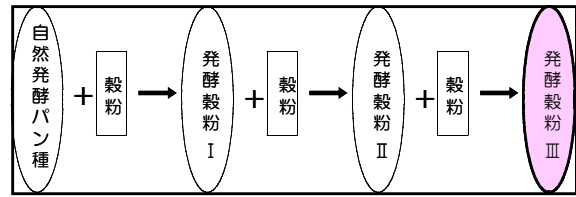


図1 発酵穀粉の製造方法(Ⅲが100%発酵穀粉)

米粉を発酵させた「発酵米粉」を利用して試作した2種類のレシピを紹介する。

2.2.1 饅頭の試作

表2 饅頭の材料

小麦粉(カメリア)	138 g
発酵米粉	300 g

- ① [表1]の材料に水を加えて均一に捏ね、70gずつに分けた。
- ② 30gに分けたあんこを包み、24℃に4時間放置した。
- ③ 蒸し器で25分間蒸した。

2.2.2 チーズケーキの試作

表3 チーズケーキの材料

ミックス粉	125 g
クリームチーズ	62.5 g
卵	1.5 個
レモン汁	1/4 個
発酵米粉	62.5 g

- ① 常温にもどしておいたクリームチーズを泡立て器でクリーム状にし、卵黄・発酵米粉を加えよく混ぜた。
- ② ふるったミックス粉を加え、レモン汁とレモンの皮も入れよく混ぜた。
- ③ 別のボールに卵白を入れ、しっかりしたメレンゲを作った。これを②に半分入れ泡立て器で混ぜ、残りのメレンゲを入れゴムベラで泡を消さないように混ぜた。
- ④ タルト型に流し込み、オーブン(日立電子レンジ MRO-5900S 形)で160℃、50分焼いた。

3 結果及び考察

3.1 乳酸菌・酵母の抗菌性試験

3.1.1 むか床利用における抗菌性試験

調製した9つのサンプルを、米ぬか・調味料と混合してむか床としたものを 28℃で7日間放置した写真を示す(図2)。

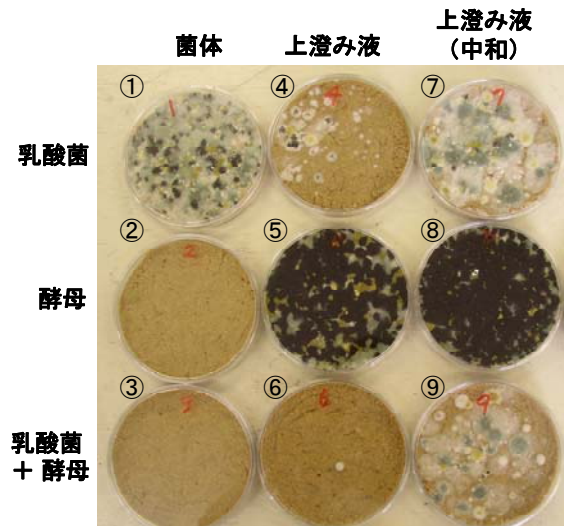


図2 むか床利用における比較 (28℃、7日目)

図2の①・②・③から酵母菌体添加区(②③)が、④・⑤・⑥から乳酸菌上澄み液(④⑥)が、カビの繁殖制御に効果があると考えられる。また⑦・⑧・⑨のpHを調製した上澄み液(中和)においても、効果は減少するが乳酸菌の生成物(⑦⑨)によるカビの繁殖制御効果は、酵母の上澄み液(⑤⑧)に比べてみられた。

このことから、自然発酵パン種から分離した乳酸菌・酵母のみでなく、菌体・生成物の含まれた「自然発酵パン種」や「発酵穀粉」を添加することが効果的であると示唆された。

3.1.2 アガーウェル拡散法による抗菌性試験

表4 分離乳酸菌の抗菌性

	イ	ロ	ハ
① <i>L. sanfranciscensis</i>	-	+	-
② <i>L. lactis</i>	-	+	-

(+ : 阻止円あり, - : 阻止円なし)

イ 麹カビ (*Asp.oryzae* 日本醸造工業(株)製吟醸用)

ロ *B.subtilis* JCM 1465

ハ *D.hansenii var.hansenii* JCM 5204

分離した乳酸菌の培養液も被検菌 (*B.subtilis* JCM 1465) に対し、阻止円 (+) を生成した(表4、ロ)。よって、微生物の培養液に抗菌性物質が生成されていることが示唆された。このことから、「発酵穀粉」の抗菌性は微生物の繁殖によるもののみならず、発酵生成物も関与していることが示唆された。

3.2 発酵穀粉を利用した試作品

3.2.1 饅頭

表2のカメリア(小麦粉)以外にも、上用粉(米粉)、ジョヨコ(芋粉)等を利用したり、重曹を加える、放置時間を変える等、条件を変えた試作も行なった。しかし、先に示したレシピで試作した饅頭が簡単であり、酒饅頭に似た食感・風味の饅頭が出来上がった(図3)。



図3 饅頭試作品 (上 : 上部、下 : 切断面)

3.2.2 チーズケーキ

表3のチーズケーキは、通常のレシピにあるクリームチーズ量を半分にし、その代わりに発酵米粉を加えて、クリームチーズの酸味を発酵米粉の酸味・風味で代用したものである。米粉のプチプチとした歯ごたえが楽しむことが出来た(図4)。

発酵穀粉を加えると、「ボリュームが出なくて使いにくい」という販売店側からの問題があったが、チーズケーキであればこれらは問題にならないと思われる。しかし一般に好まれる味にするに

は、もう少し検討の余地があると思われた。



図4 チーズケーキ試作品

4 まとめ

- (1) 発酵生成物のみでの抗菌性が示された。
このことから、微生物の存在如何に関わらず抗菌性を利用した新製品開発が可能であることが示唆された。
- (2) 「発酵穀粉」を利用した新製品を試作した。

今後、企業と連携しながら官能的にさらに良好な製品に仕上げ、デザイン等を工夫し、商品化を図りたい。

謝 辞

本研究を進めるに当たり、客員研究員として御指導いただきました(独)食品総合研究所 応用微生物部 酵母研究室 島 純 博士に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 井上和春, 大澤千恵子, 高橋広子, 石川準一, 吉岡久雄, 又重英一: 乳酸菌・酵母を利用した新規穀類加工食品の開発, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **2**, (2003) 92
- 2) 井上和春, 大澤千恵子, 高橋広子, 石川準一, 吉岡久雄, 又重英一: 乳酸菌・酵母を利用した新規穀類加工食品の開発 (第2報), 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **3**, (2004) 66
- 3) 本庄隆成, 北村英三: 微生物利用による食品の品質保持に関する研究, 埼玉県工業技術セ