自然発酵パン種の乳酸菌と酵母の利用 —発酵ぬか床の商品化—

自然発酵パン種を和風食文化において重要な地位を占める漬け物、特に手間の掛かる「ぬか床」への活用を行った。酵母・乳酸菌という微生物の複合系を生かし、雑菌の繁殖を抑制する機能を持ち、簡便かつ美味しく漬ける事を可能にした。ヒット商品を生んだ筆者らの発想の課程も含め解説いただいた。

井上和春¹・大澤千恵子¹・高橋広子¹
石川準一²・吉岡久雄³・又重英一⁴

1. はじめに

小麦粉やライ麦粉などの穀粉や果実に付着している酵母と乳酸菌を利用した「自然発酵パン種」によるパン製品の持つ味わいは格別で、「自然発酵パン種」によるパン製造に対して新たな注目が集まっている。しかしながら、この方法でのパン作りは時間がかかるのが欠点である。そこで、長所を生かしながら、時間を短縮させた製パン方法を開発した¹⁾。試験に供した「自然発酵パン種」を更新するとき、どの種類的小麦粉を使用しても正常なパン種になることに着目。「自然発酵パン種」を用いて米粉やそば粉などの小麦粉以外の穀粉を発酵させる技術を確認した²⁾。製造した「発酵穀粉」の用途開発を試みていた。たまたま米ぬかを発酵させ、漬け床として用いたところ風味が良好であった。このことから、発酵ぬか床の開発研究が開始された。

本研究は(株)愛工舎製作所（パン種の製造技術）、みたけ食品工業(株)（ぬか床の試作、商品製造販売）、東洋大学（乾燥試験、保存試験）及び埼玉県産業技術総合センター北部研究所（微生物試験、成分分析、商品デザイン）の共同で行った。

2. 自然発酵パン種

2.1 自然発酵パン種の製法

本研究に用いた「自然発酵パン種」は、ライ麦粉、

第1図 自然発酵パン種製造機（ルパン 30）

Utilization of Lactic Acid Bacteria and Yeasts in Breadmaking Starter Culture
—Merchandise of Fermented Rice bran—

Kazuharu INOUE¹, Chieko OSAWA¹, Hiroko TAKAHASHI¹, Junichi ISHIKAWA², Hisao YOSHIOKA³, Eiichi MATA-SHIGE⁴ (¹Saitama Industrial Technology Center Northern Laboratory, ²Mitake Food Manufacturing Co., Ltd., ³Aichosha Mfg. Co., Ltd., ⁴Department of Engineering, Toyo University)

第1表 自然発酵パン種の製造方法

経過日数 (温度, 時間)	材料	仕込み配合
1日目 (27°C24h)	ライ麦粉 モルト(麦芽エキス) 水(40°C)	500g 10g 600g
2日目 (27°C24h)	元種 小麦粉 水(35°C)	1100g 1100g 1100g
3日目 (27°C24h)	2日目種 小麦粉 水(33°C)	3300g 3300g 3300g
4日目 (27°C12h)	3日目種 小麦粉 水(30°C)	9900g 9900g 9900g

第2表 自然発酵パン種の
配合割合

自然発酵パン種	1000g
小麦粉	2000g
水(35°C)	2500g
モルト	4g

モルト、小麦粉及び水を原料として㈱愛工舎製作所製自然発酵パン種製造機（製品名：ルパン 30、図1）を使用して表1の方法で製造した。この「自然発酵パン種」の一部をもとにし、表2の配合で自然発酵パン種製造機に入れ、27°C8時間発酵させたものを10°Cに冷却し、試験に供した。

2.2 自然発酵パン種の性状及び特長

自然発酵パン種中には多数の乳酸菌と酵母が存在し、これらの微生物が生産する有機酸等の生成に伴う味、香りの付与並びに酵素作用による物性変化が起こり、独特な風味、食感を有したものとなっている。また、

第3表 自然発酵パン種の
性状

酵母数	$7.2 \times 10^7/g$
乳酸菌数	$6.7 \times 10^9/g$
総酸度	7.0
アミノ酸度	0.8
還元糖量	2.4g/100g
pH	3.6

第2図 自然発酵パン種の有機酸
(総有機酸量 157mg/100ml)

このパン種を用いて製造されたパンは日持ちが良いことも知られている³⁾。

2.3 自然発酵パン種の抗菌性試験

下記(1)、(2)、(3)の菌株を自然発酵パン種中に添加し、菌数変化を調べた。

(1) バチルス芽胞菌：*Bacillus subtilis* JCM 1465 を普通ブイヨン培地で35°C96時間培養した。これを8000rpm/10min遠沈後上澄みを捨て、水に懸濁してパン種更新時に添加し、初発とした。 $(9.0 \times 10^2/g)$

(2) 大腸菌：*Escherichia coli* JCM 1649 を普通ブイヨン培地で35°C48時間培養した。これを8000rpm/10min遠沈後上澄みを捨て、水に懸濁してパン種更新時に添加し、初発とした。 $(2.3 \times 10^6/g)$

(3) カビ：吟醸用麹カビ（日本醸造工業㈱製）をツイーン80加減菌水に溶解し、パン種更新時に添加した。これを初発とした。 $(7.0 \times 10^4/g)$

自然発酵パン種中のバチルス芽胞菌数は初発 $9.0 \times 10^2/g$ のものが、1日目 $6.5 \times 10^1/g$ に減少し、2日目には検出されなかった。大腸菌数は初発 $2.3 \times 10^6/g$ から1日目 $6.0 \times 10^1/g$ 、2日目には検出されなかった。

経過日数 (日)

第3図 自然発酵パン種の抗菌性

また、カビ数は初発 $7.0 \times 10^4/\text{g}$ から6日目 $6.0 \times 10^4/\text{g}$ とほぼ横這いであった。これらのことから、自然発酵パン種には抗菌性及びカビに対しては増殖抑制があることが確認できた。また、このことを利用した食品開発の可能性が示された。

3. 乳酸菌・酵母の同定

発酵米粉及び発酵ぬかから乳酸菌・酵母をそれぞれ3株、計12株分離した。乳酸菌は16SrRNA、酵母は26SrRNAの遺伝子解析⁴⁾を行い、菌株名を決定した。発酵米粉及び発酵ぬかから分離した6株とも、乳酸菌は *Lactobacillus sanfranciscensis* (相同性99%)、酵母は *Saccaromyces cerevisiae* (相同性100%) であることが分かった。よって、自然発酵パン種の乳酸菌・酵母⁵⁾が発酵米粉及び発酵ぬかへ移行し、主たる微生物叢を形成していることが確認できた。

4. 発酵ぬか床

4.1 発酵ぬか床の製造方法

発酵ぬかを製造し(第4図)、これに米ぬか・食塩・調味料を加え「発酵ぬか床」を製造した。

4.2 むか床の抗菌性試験

(1) むかどこの種類

- ①市販ぬか床
- ②発酵ぬか+煎りぬか(+塩+調味料)
- ③②を1週間前に調整したもの
- ④発酵ぬか凍結乾燥(+水+塩+調味料)
- ⑤発酵ぬか凍結乾燥50%+煎りぬか50%(+水+塩+調味料)

以上を全て同程度の硬さに水で調整し、供試ぬか床とした。

(2) 供試菌株

第4表の菌株懸濁液をシャーレに詰めたぬか床の中

第4図 発酵ぬかの製造方法

第4表 供試菌株及び懸濁液の菌数/ml

イ	麴カビ(日本醸造工業(株)製：吟醸用)	2.6×10^6
ロ	<i>Phia anomara</i> JCM 5209	7.5×10^7
ハ	ぬか床分離酵母-1	8.5×10^7
ニ	ぬか床分離カビ-1	2.8×10^7
ホ	<i>B. subtilis</i> JCM 1465	1.4×10^8
ヘ	ぬか床分離酵母-2	5.5×10^7
ト	ぬか床分離カビ-2	1.4×10^7
チ	ぬか床分離カビ-3	1.9×10^7
リ	コントロール(菌株接種なし)	

第5表 添加菌(表2、イ～リ)の生育状況

	イ	ロ	ハ	ニ	ホ	ヘ	ト	チ	リ
①	+	+	+	+	-	+	+	+	-
②	-	-	-	-	-	-	-	-	-
③	-	-	-	-	-	-	-	-	-
④	-	-	-	-	-	-	-	-	-
⑤	-	-	-	-	-	-	-	+	-

(+) = 接種菌発育, (-) = 接種菌発育なし

心に0.1ml接種した。7°C及び28°Cに保存し、ぬか床表面の接種菌の生育状況を肉眼で観察した。

ぬか床表面を肉眼観察した状況を表5に示す。①の「市販ぬか床」ではほとんどの添加菌の発育が観察された。また、⑤の「発酵ぬか凍結乾燥50%+煎りぬか50%」はぬか床分離カビ(チ)の添加菌の発育が観察された。しかしながら、他の発酵ぬかを用いたぬか床では添加菌の発育は観察されなかった。このことから、発酵ぬかを利用したぬか床の抗菌性が示された。

4.3 漬込み試験方法

表6に示すぬか床に半分に切断したカブを3片漬込み18時間後官能試験に供し、他のぬか床と比較し

第6表 供試ぬか床

	採取量 g	加水量 ml	加塩量 g
生ぬか	526	384(73%)	72(12%)
発酵ぬか	398	322(81%)	54(〃)
発酵米粉	474	384(81%)	65(〃)
煎りぬか	405	304(75%)	55(〃)

第7表 カブの官能試験結果（最も美味しいと答えた人数）

	1日目	2日目	3日目	7日目	10日目	14日目
生ぬか	5(45.5)	4(36.3)	1(10.0)	1(9.0)	1(10.0)	3(25.0)
発酵ぬか	5(45.5)	4(36.3)	3(30.0)	8(72.7)	7(70.0)	8(66.6)
発酵米粉	1(9.0)	1(9.0)	2(20.0)	2(18.1)	1(10.0)	1(8.3)
煎りぬか	—	2(18.1)	4(40.0)	0(0.0)	1(10.0)	0(0.0)

数値単位：(人) カッコ内数値単位：(%)

た。また、クロラムフェニコール加ポテトデキストロース寒天培地でぬか床のカビ数を測定した。

官能試験結果を表7に示す。最も美味しいと答えた人の人数とその百分率を示した。生ぬかで漬けたカブは少し物足りないという意見があった。発酵ぬかで漬けたカブは1日目からぬかの風味があり、日が経つにつれて味がまろやかになり、美味しいという意見が多かった。また、発酵米粉で漬けたカブの香りと色は一番良いという結果となった。ぬかの風味は、発酵ぬかで漬けたカブが一番良かった。最も美味しくカブが漬かったぬか床は、酸味や、うま味を多く出す発酵ぬかであるという結果となった。肉眼ではカビが観察されなかったが、培養すると生ぬかと煎りぬかではカビ数が増えていた。

発酵ぬかや発酵米粉を用いた漬床ではカビが増えなかった。このことから、発酵ぬか及び発酵米粉を使用した漬床はカビの増殖を抑える効果があることが分かった。ぬか床の官能試験で、日が経つにつれ生ぬかや煎りぬかが一番美味しいという人が減ってきたのは、この二つのぬか床にカビが増え始め、それにより味が損なわれたためとも考えられる。

第5図 漬床中のカビ数の増加

5. 発酵ぬか床の商品化

商品開発において、企画の段階でターゲットを決めて開発を行う場合と、マーケティングによってターゲットを絞り込んでいく場合がある。本研究では、試作したぬか床のモニター調査を実施し、その結果から商品化の方向性を探るとともに、味や使い勝手など一番反応がよかったゾーンをターゲットに、ぬか床のデザイン開発をすすめる方法をとった。

5.1 アンケート調査方法

県内、都内に住む20代～60代の女性54人にぬか床を配布しアンケートに答えてもらった。

試食期間は2週間～3週間、かきまぜは週に1回程度とした。また、デパート、スーパーの売り場でのぬか床の売られ方、他社製品との味の比較、価格、パッケージデザインなどぬか床の市場調査を行った。

5.2 アンケート調査結果

簡単に漬けられると答えた人が70%以上であった第7図)。「毎日かきまぜなくてもよいのでとても簡単」、「ぬか漬けのイメージが変わった」、「手入れが簡単で手がヒリヒリしたり臭いが手につかない」、「手軽にぬか漬けが楽しめて、カビの心配がないのがうれしい」、「熟成の手間が省け、すぐに食べられるのがよい」、「味もすっきりしている」、などの感想が多かった。

第6図 配布したぬか床

第7図 めか床使用の感想

第8図 めか漬けの味の感想

第9図 めか漬けの経験

た。

味について聞いたところ、40歳以下の人のおほとんどが「すっきりしていておいしい」と答えた(第8図)。50歳以上においては、「味にふくらみがほしい」、「酸味と風味が足りない」、「めか臭さがない」という意見があった。

次に、めか漬けを漬けたことがあるか聞いたところ、約半数の人が漬けており、やめてしまった人も多かった(第9図)。やめた理由は、「毎日かきまぜられない」、「かきまぜを忘れてかびてしまったため」、「手間がかかる」、「手が臭くなるから」、であった。

その他のアンケートの結果から、77%の人が毎日または週に2~3回めか漬けを食べていることが分かった。50歳以上の方は自分でめか床を作り、年齢が高い人ほどこだわりのめか床を漬けている。このことから、年齢が高くなるほどあっさりしためか床は好まれ

第10図 発酵めかどこパッケージデザイン

ないこと、めか漬けをやめた一番の理由はかきまぜが面倒であることなどが分かった。

他社製品を調査した結果、水分充てんタイプのめか床は、アミノ酸等が入っているため添加物の風味が強く、また、大手メーカーの商品は使い捨てタイプであった。他社製品と比較して、試作しためか床の「売り」は何かを検討した。

モニター調査の結果と試作しためか床の特徴(すっきりした味、抗菌性が高いので毎日かきまぜなくてよい)から、漬けたことがない人や面倒でやめてしまった人をターゲットとした。

5.3 デザイン開発

ネーミングは、出来上がっていて簡単そう、身体によさそうといったことをイメージさせる「発酵めかどこ」とし、発酵、無添加、乳酸菌の3つのキーワードをもとにキャッチコピーを作成した。グラフィックにおいてはメインカラーに乳酸菌をイメージさせる色TOYO CF 0566を使用し、手づくり感をめか床のイメージに落としていくことに重点をおいてデザイン開発を行った(第10図)。

6. おわりに

自然発酵パン種をスターターとして他の穀粉を発酵させた場合、パン種の微生物が発酵穀粉に移行し、主たる微生物叢を形成することが示された。この方法で米めかを発酵させた「発酵めか」でめか床を製造し、モニター調査、イメージを尊重したパッケージデザインを開発することにより、商品名「発酵めかどこ」と

第11図 商品化された「発酵ぬかどこ」

して商品化することができた。この商品は、現在も好調な売れ行きを示している。

共同研究者全員が「漬物」の専門家ではない。ましてや「ぬか床」の開発が目的で始めた研究ではなかった。研究とは摩訶不思議なものである。

現在、この自然発酵パン種の乳酸菌と酵母を利用して製造した「発酵米粉」を用い、新製品について試作検討している。

謝 辞

本研究を進めるに当たり、客員研究員として御指導

いただきました東京農工大学の小泉幸道教授、女子栄養大学の三浦理代教授、(独)食品総合研究所の島 純博士、技術士の山崎和夫先生、フジキミヨデザインオフィスの藤きみよ先生並びに微生物同定実験を遂行するにあたり御指導・御助言を賜りました東洋大学の宇佐美論教授に深く感謝の意を表します。

<¹埼玉県産業技術総合センター北部研究所、²みたけ食品工業(株)、³(株)愛工舎製作所、⁴東洋大学>

参 考 文 献

- 1) 井上和春, 仲島日出男, 吉岡久雄: 簡易発酵パン種による製パン技術の開発, 埼玉県工業技術センター研究報告, 3, (2001)221
- 2) 井上和春, 石川準一, 吉岡久雄: 微生物機能を利用した米の新規用途開発, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, 1, (2003)103
- 3) 乳酸菌研究集談会編: 乳酸菌の科学と技術, 学会出版センター, (1996)
- 4) 篠田吉史: 島津評論 Vol. 57 No 1. 2 (2000.8) 「16 SrRNA 遺伝子解析による細菌の系統分類」
- 5) 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, (2004)94