固定化乳酸菌を使用したサワー液種の製造

大石 勉*・林 毅彦**

Production of Sour Liquid Sponge by Immobilized Lactic Acid Bacteria

Tsutomu OHISHI* and Takehiko HAYASHI**

* 2-130-1 Ousu, Minato-ku, Nagoya 455

** Shikishima Baking Co., LTD, 5-3

Shirakabe, Higasi-ku, Nagoya 461-91

Sour liquid sponge for bakery was produced by immobilized lactic acid bacteria. *Lactobacillus sanfrancisco* was immobilized in 2% alginate gel, and then these gel beads were packed in a polyurethane vessel which was fixed onto the rotation shaft. After the vessel was set into a jar-fermentor, 750 g of heat treated wheat flour, 1500 g of sterilized water and 7.5 g of maltose were mixed into the jar-fermentor. The fermentation was carried out at 30°C by rotating the vessel containing gel beads at 100 rpm. The medium was withdrawn every 24 h, and fresh sterilized medium was supplied. Fermentation was continued for 45 days. No adverse effect was observed on produced liquid sponge, when compared with liquid sponge produced by a conventional method.

(Received May 30, 1989)

古くから良く知られているパン製造用サワー種¹⁾として、イタリア・ミラノのパネトーネ種、アメリカ・サンフランシスコのサンフランシスコサワー種、そして北欧のライ麦パン製造用ライサワー種がある。

これらの代表的な製パン用サワー種は、現在も世界各地で日常的に使用されている。

そして、特にサンフランシスコサワー種は、SUGIHARAらの研究²⁾³⁾で、その菌学的解明がいち早くなされた。このサワー種の中心的なヘテロ乳酸桿菌である *Lactobacillus sanfrancisco* と野生酵母の一種である *Candida milleri* (*Saccharomyces exiguus* と近縁) がサワー種内で共生している事実は、驚くべきパン種保存

のメカニズムである。

ところで、このヘテロ乳酸菌 (*L. sanfrancisco*) は、不飽和脂肪酸を必須的に要求して生育するという特殊な性質がある為に、SDB 培地を SUGIHARA らが開発する以前には全く単離されていなかった。しかし、現在は同タイプの乳酸菌が、イタリアのパネトーネ種⁴⁾や北欧のライサワー種⁵⁾からも、単離されている。

また、これら古来から伝統的に行われてきたサワー種の継種を、工業的に製パンに利用する方法の一つとして、液種法 (Fig. 1) がある。この液種法は、製パン方法の一つであるブリッファーマント法⁶⁾の一種と考えて良く、製パン用サワー種の工業化には不可欠な方法である。

しかし、そうした工業的液種法はあくまで純粋培養菌を、直接生地に添加して使用する方法である。

筆者らは、従来の方法に替わる液種の作り方として、乳酸菌 *L. sanfrancisco* をアルギン酸ゲルに固定化し、小麦粉、マルトース、水を原料とした培地で、回分発酵を行った。この方法により、液種の繰り返し製法ならびに連続的な生産の基礎データをとった。

1. 実験方法

(1) アルギン酸ゲルビーズの調製

L. sanfrancisco のフリーズドライ菌体 4g を 2% アルギン酸ナトリウム (君津化学工業製) 溶液に混合し、2% CaCl_2 水溶液中に滴下して、直径約 5 mm のゲル

Fig. 1 A conventional method to produce liquid sponge

* 〒455 名古屋市港区小碓 2-130-1

** 敷島製パン株式会社 (〒461-91 名古屋市東区白壁 5-3)

ビーズを調製した。ゲルビーズの粒径は特に揃えなかった。

(2) 培地

小麦粉（強力粉をオートクレーブで殺菌且つ熱変性させたもの）750 g，滅菌水（マルトース；0.5% 添加）1500 g を混合し使用した。

(3) pH, 酸, 菌数の測定

24時間発酵をおこなった後の液種 pH を pH メーター（堀場製）で測定した。発酵後の液種中の乳酸・酢酸量は細管式等速電気泳動分析装置（島津製作所）で測定した。発酵後の測定中の生菌数は，LS 寒天培地（Table 1）に平板塗抹して測定した。

コントロールとして，乳酸菌 *L. sanfrancisco* 発酵液種（協和発酵製）を使用し，その液種中の乳酸・酢酸量を測定し，EGSTAR 法と比較した。

2. 結果及び考察

乳酸菌固定化ゲルビーズ（200 g）を Fig. 2 で示すウレタンフォーム（井上 MTP 製）で作った容器（外径 130 mm，厚さ 100 mm）に充填した。

容器は 3 つの仕切りを設け，各部分の容積は 140 ml である。容器の上下をゲルビーズがこぼれないようにウレタンフォームで蓋をして，且つステンレス製多孔円盤で蓋を保持し，ミニジャーファメンター（丸菱バイオエッジ MD-300；5 l 容量）にセットした（Fig. 3）。このリアクターを EGSTAR（Entrapped Gel Stirring

Fig. 2 The vessel made from polyurethane
1 immobilized lactic acid bacteria in alginate gel beads
2 polyurethane vessel

Fig. 3 Configuration of EGSTAR (Entrapped Gel Stirring Tank Reactor)
1 immobilized lactic acid bacteria in alginate gel beads
2 polyurethane vessel
3 cover
4 stainless steel disk (pore size : 8 mm)
5 pH electrode
6 flour medium

Tank Reactor) と呼ぶ。温度；30℃，攪はん速度；100 rpm，の条件で発酵を行い，培地のみを 24 h 毎に交換する繰り返し回分発酵を行った。

Fig. 4 に，45 日間連続して使用したときの発酵液種の発酵後 pH を示す。製造された液種の pH は一定で，それは非常に安定して長期間乳酸菌の活性が維持されたことを示している。

Table 1 LS medium

Yeast extract	12.5 g
Peptone	12.5 g
Glucose	11.0 g
Maltose	15.0 g
KH ₂ PO ₄	0.25 g
K ₂ HPO ₄	0.25 g
CH ₃ COONa	10.0 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.1 g
MnSO ₄	5.0 mg
FeSO ₄	5.0 mg
Tween 80	300.0 mg
Adenine	20.0 mg
Guanine	20.0 mg
Uracil	20.0 mg
Cysteine HCl	300.0 mg
distilled water	1000.0 ml
Agar	20.0 g

固定化発酵終了時点での液種中の増殖遊離の乳酸菌生菌数は、常に 10^9 個/gであり、乳酸量と酢酸量 (Fig. 5) は、コントロールのそれとほぼ同じであった。

コントロールの乳酸量：酢酸量は、1.24 g/l : 0.14 g/l, EGSTAR 法の乳酸量：酢酸量は 1.14 g/l : 0.16 g/l であった。

L. sanfrancisco 乳酸菌の遊離菌体を用いた方法で液種を作る場合は、雑菌汚染の恐れがあり、長期間連続的に発酵することは困難であるが、この EGSTAR 法を用いることによって、製パン、製菓用の乳酸菌発酵液種を、半連続式 (操作によっては連続式の生産も可能と

Fig. 4 pH value after 24 h fermentation of liquid sponge

Fig. 5 Concentrations of acetic and lactic acids in every 24 h fermentation of liquid sponge

T : EGSTAR
C : control
□ : acetic acid
▨ : lactic acid

なる)に製造するバイオリクターの可能性が示された。EGSTAR 法で固定化乳酸菌を用いる利点は、次の通りである。

- ① 純粹培養した乳酸菌を繰り返し使用できるので従来のような無駄がない。
- ② 長時間連続的に均一な液種の生産が可能となる。
- ③ 液種は高粘性流体 (測定粘度 2000 cps) となるが、EGSTAR 法ではアルギン酸ゲルビーズを容器内に閉じ込めてあるので高粘性の発酵液種から分離、回収する困難がない。
- ④ ウレタンフォームでビーズを包み込むため、アルギン酸ゲルビーズが、物理的なせん断力で破壊される恐れがない。
- ⑤ 連続化することにより、装置の小型化が可能になる。
- ⑥ EGSTAR 法では、雑菌汚染が極めて起こりにくいため、従来の液種法のように pH コントロールを必要としない。

EGSTAR 法で作られた液種は、コントロールの液種とほぼ同質であった。

3. 要 約

小麦粉と水とマルトースを原料として、固定化乳酸菌 (*Lactobacillus sanfrancisco*) を用いて、サワー液種製造を行い、以下の結果を得た。

- (1) 製パン等に使うサワー液種を、固定化乳酸菌を使用して作ることができた。
- (2) 固定化乳酸菌を使用したバイオリクターでサワー液種の繰り返し回分発酵を行ったところ、45 日間安定した発酵が可能であった。

文 献

- 1) 日清精粉(株)他：パンの原点、発酵と種、(日清製粉), p. 49 (1985).
- 2) SUGIHARA T.F., KLINE L. and MILLER M.W. : *Appl. Microbiol.*, **21**, 459 (1971).
- 3) SUGIHARA, T.F. and KLINE, L. : *Appl. Microbiol.*, **21**, 459 (1971).
- 4) 大石 勉他：未発表 (社内報告).
- 5) SPICHER, and STEPHAN, : *Handbuch Sauer-teig*, p. 105 (1982).
- 6) 中江 恒：パン化学ノート (パンニュース社), p. 164 (1977).

(平成元年 5 月 30 日受理)