冷凍生地食パンの老化に関する速度論的解析

山内宏昭*・一ノ瀬靖則*・高田兼則*・入来規雄*
椎名武夫**・小林 猛***

A Kinetic Study on Staling of White Bread Made by Frozen Dough Method

Hiroaki YAMAUCHI*, Yasunori ICHINOSE*, Kanenori TAKATA*,
Norio IRIKI*, Takeo SHIINA** and Takeshi KOBAYASHI***

* Upland Agriculture Research Center, Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Shinsei, Memuro-cho Kasai-gun, Hokkaido 082-0071

** Department of Food Engineering, National Food Research Institute, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8642

*** Department of Biotechnology, Faculty of Engineering, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya-shi 464-8603

In order to analyze the kinetic staling rate of bread made by no-time frozen dough method, the three methods were applied to determine the staling rate of bread firmness and the retrogradation rate of starch in bread. The results were summarized as follows: (1) The staling rate (staling rate constant) of bread made from frozen dough was almost similar to that of bread made from unfrozen dough. Furthermore, the freezing of dough hardly influenced the retrogradation rate of starch in bread. (2) The increase of staling (the changes of crumb firmness) in bread made from dough frozen for a long period was due mostly to a decrease of loaf volume and a degradation of fine crumb structure, which was supposed to be caused by freezing damages of yeast and dough structure.

(Received, Jun. 26, 1998; Accepted, Dec. 1, 1998)

現在製パン業界では大量に調製でき、一定期間保存も可能な冷凍生地が省力化、焼きたてパンの提供という観点から注目されている。しかし、冷凍生地の問題点は冷凍中に徐々に生地の劣化が起こることである。その結果として、劣化した生地からパンを焼成した場合、生地段階では、ホイロ時間が長くなったり、生地の軟化等が、パンでは、ボリュームの低下、老化の増大、梨肌の発生等が生じる。この劣化要因としては、大きく酵母の冷凍障害と生地のグルテンマトリックスの劣化が考えられている。前者については、冷凍耐性イーストの開発研究^{1)~5)}の関連で多数の研究が行われており、後者につい

ては、各種物性評価、生地の冷凍前後でのガス保持力の測定、冷凍による生地損傷度の電子顕微鏡による観察等が行われている^{6)~11)}。しかしながら、冷凍生地の劣化の1つの現象である冷凍生地製パン法により製造されたパンの老化の増大について詳細には検討されておらず、そのメカニズムはほとんどわかっていない。

そこで、本研究では特殊製法である冷凍生地製パン法で製造したパンの老化増大の機構について、我々がこれまで行ってきた速度論的解析手法¹²⁾¹³⁾を応用して検討を行った。具体的には、ノータイム冷凍生地製パン法により作成した食パン（以下、冷凍生地パン）と同条件で

* 北海道農業試験場畑作研究センター（〒082-0071 北海道河西郡芽室町新生）

** 農林水産省食品総合研究所食品工学部（〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-2）

*** 名古屋大学工学部生物機能工学科（〒464-8603 名古屋市千種区不老町）

成型生地を作成し冷凍無しでホイロ醗酵、焼成した食パン（以下、冷凍無のパン）と比較して老化速度を3種の方法により解析した¹²⁾¹³⁾。つぎにその老化の中身を解析するために、パン中のデンプンの老化、膨潤、溶出状態と生地劣化の解析を行った。なお、本研究では、基本的にはパンの硬さの経時変化を老化と表現し、老化速度定数の値の大小から老化速度を議論する。

実験方法

1. 製パン配合及び製パン条件

製パン配合、条件を Table 1, 2 に示す。製パンは小麦粉 2 kg 仕込みでノータイム冷凍生地製法により行い、冷凍無のパンを対照に生地冷凍 1 及び 5 週間後解凍、焼成したパン（以下、それぞれ冷凍 1 週のパン、冷凍 5 週のパン）の合計 3 水準のパンについて老化の解析を行っ

Table 1 Formulation of bread making

Formulation	Flour basis (%)	Making company and goods
Wheat flour	100	Nisshin Flour Milling (Camellia)
Sugar (sucrose)	5	Nippon Beet Sugar Mfg Co., Ltd (beet sugar, commercial grade)
Salt	2	Chiyoda Co., Ltd (commercial grade)
Shortening	5	Kaneka Corp. (SNOWLIGHT)
Yeast	5	Nippon Beet Sugar Mfg Co., Ltd (regular yeast)
Ascorbic acid	0.01	Wako Pure Chemical Ind. Co., Ltd (special grade)
Water	65	Distilled Water

Table 2 Procedure of bread making for frozen dough method

Process	Condition	Instrument
Mixing	Low speed 2 min, medium speed 2 min high speed 6 min Temperature of mixing end point (30°C ±0.5°C)	20 Q Mixer, Type SS78 E (Kanto Mixing Machine Co.)
Dividing, rounding	100 g, hand rounding	
Bench time	30°C, 20 min	Proofer, Type KNH8136 (Kotobuki Baking Machine Co.)
Sheeting and molding	First sheeting 0.79 cm width Second sheeting 0.47 cm width rolling time 5 s	Molder and sheeting roll (National Mfg Co.)
Freezing	-40°C, 1 h	Ultra Low Freezer, Type MDF-190 (Sanyo Electric Co.)
Frozen storage	-20°C, 1 w, 5 w	Freezer, Type KRV-701 FC (Kitazawa Industry Co., Ltd)
Thawing	30°C, RH 70%, 1 h	Proofer, Type KNH8136 (Kotobuki Baking Machine Co.)
Proofing	30°C, RH 85% to 1 cm height of the top of baking pan	Proofer, Type KNH8136 (Kotobuki Baking Machine Co.)
Baking	200°C, 25 min	Rotary Test Baking Oven (National Mfg Co.)

た。なお、ホイロ醗酵の終点は生地の上部の高さがパン型の型上1 cm になった時点とし、ホイロ時間はホイロに入れてから終点までの時間とした。イーストは冷凍耐性のない通常のイーストを使用した。通常のイーストを使用したのは、① 通常イーストは、長期の生地冷凍により極端に冷凍障害を受け、その結果として、非常に劣化した冷凍生地が得られる。② ①のように非常に劣化した生地から得られた老化の非常に大きいパンの解析を行うことによって、冷凍生地からのパンの老化増大の機構をより明確に解析できる、という理由からである。

2. パンの老化測定法

パンの老化は、測定経時で100 g 生地より焼成したワンローフのパン2つを用いパンの硬さを測定することによって評価した。具体的には、パンの中央部を2 cm にスライスし、その後クラム中央部を3 cm×3 cm にカットしたサンプル合計6枚を用い、山内ら¹²⁾の方法により2 cm のサンプルを1 cm に圧縮した時のパンの硬さによって測定した。データは6個のサンプルの測定値の平均値で示した。

後述する実験の結果から、今回のような小さいパンサンプルの場合、ポリエチレン袋(以下PE)中に入れシール後20℃で保存したワンローフのパンでは、老化の指標である保存経時のパンの硬さの変化に対して、水分蒸発、水分移動の影響が非常に大きいことが判明した。そこで、水分の影響を極力少なくした状態で老化の解析を行うため、焼成冷却後全てのパンは、保存前に上記の形状にクラム部分をカットし、アルミラミネート袋(以下AL)に2重に入れてシール後保存した。また、このサンプルの調製、老化測定時間は以下に行った。パン焼成後そのまま常温で1時間放置し、その後PEに入れ20℃、3時間保存後上記のようにカットし、AL中で20℃で保存した。そのカット時点を保存0時間として2日目までは約12時間毎に、その後は約1日毎に老化測定を行った。

3. 老化速度定数の決定

老化速度定数は以下に示す3つの方法によって求めた。

(1) 方法1

約24時間毎の硬さのデータを用い山内ら¹²⁾の方法によって、(1)式を用いて保存時間(t)に対して $\ln \{(F_L - F_0)/(F_L - F_t)\}$ をプロットし直線の傾きから求めた。

$$\ln \frac{F_L - F_0}{F_L - F_t} = kt \quad \dots\dots\dots (1)$$

なお、 F_0 、 F_t はそれぞれ保存0時間目、t時間目のパン

の硬さであり、 F_L はもうこれ以上老化しない状態まで老化させた時のパンの硬さ(限界値)で、4.7℃、10日間保存したパンを用いて求めた。kは老化速度定数、tは保存時間である。

(2) 方法2

後述する示差走査熱量測定法(DSC)により求めた老化アミロペクチンの吸熱ピークの経時変化のデータを用い、方法1と同様の方法によって求めた。

(3) 方法3

勝田ら¹⁴⁾のデンプンゲルの老化速度定数の解析手法がパンに応用できるとして、それを一部改変した以下の式を用い、直線の傾きから老化速度定数を求めた。

$$\ln \frac{F_t^*}{F_0^*} = kt \quad \dots\dots\dots (2)$$

なお、 F_0^* 、 F_t^* はそれぞれ保存0時間、t時間保存サンプルの2 mm 変形時のカットクラムの硬さである。k、tはそれぞれ老化速度定数、保存時間である。なお、(2)式は以下の仮定に基づき導かれた。本実験のパンの硬さ測定条件では、2 mm 程度の微小変形の範囲では、いずれのパンでも変形量と応力の間にはほぼ比例関係があり、物性的には、ほぼ完全弾性体であると仮定できる。このような仮定をした場合、勝田ら¹⁴⁾が老化速度解析に使用している物性値クリープコンプライアンス(J)と微小変形(2 mm)時の応力の逆数($1/F^*$)とはほぼ比例関係が成立し、Jの代わりに $1/F^*$ を勝田ら¹⁴⁾の式に代入することによって(2)式が得られる。なお、この方法では老化したデンプンの影響を除外するため保存50時間までの約12時間毎の硬さのデータを用いて解析した。

4. パンのX線回折法、DSCによるパン中の老化アミロペクチンエンタルピーの測定法

脱水パンクラム粉末を用いて、山内ら¹³⁾¹⁵⁾の方法によってそれぞれ測定した。但し、DSCについては、セイコー電子工業製DSCの代わりに理学(株)のDSC(SETARAM micro DSC II)を用いた。また、DSCのデータについては、2回の測定値の平均値を示した。

5. パン粉末の膨潤度、固形分溶出率の測定法

保存0時間のX線回折と同様の試料を用い貝沼ら¹⁶⁾の方法により膨潤度、膨潤度測定時の上清液一定量を135℃、3時間乾燥して固形分溶出率を測定した。

6. ミキシング直後、ホイロ終了時生地の真空生地膨脹量の測定

細見ら¹⁰⁾の方法を一部改変した方法により、以下のようにして測定した。それぞれミキシング直後の生地、成型直後の生地50 g(冷凍生地製法の場合、それぞれの冷

凍、解凍後の生地)を取り、それを底部に直径5mm程度の穴を5つ開けた500ml容メスシリンダーに入れ上部をほぼ平らにする。前者はミキシング直後、後者は通常の生地と同条件でホイロ醗酵後、それぞれの生地を真空デシケーターに入れ5分間で真空ポンプで約250Paの圧力まで吸引し、1分毎の生地の上部の膨脹量(生地の最上部の高さ)を記録した。そして、生地がほぼ最大膨脹量に達する吸引後3分からの膨脹量の1分毎の値(3, 4, 5分吸引時の3点のデータ)の平均を生地真空膨脹量とした。データは2つのサンプルの測定値の平均値で示した。

7. ホイロ終了時生地のガス発生量の測定

ベンチ終了直後(冷凍生地の場合解凍終了直後)の生地20gを使用しファーマグラフIIにより30℃, 5時間のトータルガス発生量を測定した。次に、各生地のホイロ時間に基づきガス発生量のデータから、ホイロ醗酵終了時点から5分間の20g生地のガス発生量を求めた。そして、その値を5倍し100g生地のホイロ終了時ガス発生量とした。データはサンプル2つの測定値の平均値で示した。

8. パンの比容積、水分含量の測定

山内ら¹⁵⁾の方法により、それぞれ焼成後1時間常温で放置したパンを用いる菜種置換法、パンクラムの一部を用いる135℃, 3時間の乾燥法によって求めた。データは比容積の場合は18個、水分含量は2つのサンプルの測定値の平均値で示した。

実験結果と考察

1. パンの老化に対する保存条件(水分蒸発、水分移動)の影響

一般に、パンの老化は、保存経時のパンの硬さで評価されるが、このパンの硬さには、パンの本来の老化以外にパンの水分含量が大きく影響する。本実験の小型のワンローフのパンの場合、通常の保存法であるそのままの形でPE保存では、袋からの水分蒸発、クラムからクラストへの水分移動等のため、硬さを測定するクラム中央部の水分低下が大きいことが推定される。そのため、その水分低下がパンの硬さの経時変化に大きく影響し、本来の老化による硬さの変化を正確に測定できない可能性がある。そこで、この点を明らかにするために、冷凍無のパンを通常の保存法(ワンローフの形でPE保存)とクラム部分の水分低下をほぼ完全に防止する保存方法(カットしたクラムをAL保存)で保存し、保存経時のクラム部分の水分含量と硬さの変化を比較した。その結果

Fig. 1 The staling and moisture of one loaf bread and cut crumb stored in PE or AL bags

○ : PE (firmness, OL) ● : PE (moisture, OL)
 △ : AL (firmness, CC) ▲ : AL (moisture, CC)
 PE : polyethylene bag, AL : aluminum laminate bag
 OL : one loaf bread, CC : cut crumb

をFig. 1に示す。この結果から、同条件で焼成したパンでも、保存方法によって硬さの経時変化が大きく異なることがわかる。焼成後そのままワンローフの形でPE保存した場合には保存中に中央部のクラム部分の水分低下が大きく、保存5日で約9%水分含量が低下し、48時間以後カットクラムAL保存に比べ硬さが急激に大きくなった。これに対し、カットクラムAL保存では水分低下もほとんどなく水分含量の影響をほぼ無視して老化解析が可能であることがわかる。これらの結果から、カットクラムAL保存の条件で老化の解析を行うことが必須であることが判明した。

2. パンの老化、老化速度定数に対する生地冷凍の有無、冷凍期間の影響

Fig. 2に冷凍無のパンと、冷凍1及び5週のパンの老化を示した。また、Table 3に方法の所で述べた3つの方法により求めた老化速度定数の値を示す。これより、冷凍無と冷凍1週のパンの老化にはほとんど差はないが、冷凍5週のパンは前二者に比べ急激に老化している。いずれのパンの水分含量も保存経時ではほぼ一定で同様の値を示したことから、この老化の差異に対する水分含量の影響は、ほぼ無視できると考えられる。これに対し、Table 3の老化速度定数の値は、解析方法によりその値がかなり異なっていたが、各解析方法での老化速度

定数の値には 3 種のパンでその値に大きな差はなく、3 種のパンの速度論的な老化速度はほぼ同じであると考えられる。

3. パン中のデンプンの老化に対する生地冷凍の有無、冷凍期間の影響

生地の冷凍によってパン中のデンプンの老化に影響があるかどうかを明らかにするために 3 種のパンについて、保存経時の X 線回折と DSC による老化アミロペクチンエンタルピー（以下 ΔH ）を測定した。その結果を Fig. 3, 4 に示す。X 線回折結果ではデンプンの代表的老化ピーク（ 2θ , 17° 付近）の変化から 3 種のパンで大差がなかった。また、Fig. 4 の ΔH の変化でも 3 種のパンに

Fig. 2 The staling and moisture of bread from frozen dough

- : nonfreezing (firmness) ● : nonfreezing (moisture)
 △ : 1w freezing (firmness) ▲ : 1w freezing (moisture)
 □ : 5w freezing (firmness) ■ : 5w freezing (moisture)

The cut crumb of bread was stored in AL bags.

Fig. 3 The changes of X-ray diffraction pattern of bread from frozen dough

The cut crumb of bread was stored in AL bags.

Table 3 The staling rate constant determined by each method

	Yamauchi method (from firmness data) ($\times 10 \text{ h}^{-1}$)	Yamauchi method (from ΔH^* data) ($\times 10 \text{ h}^{-1}$)	Modified Katsuta method (from firmness** data) ($\times 10 \text{ h}^{-1}$)
Nonfreezing	0.96	1.96	2.95
1w freezing	1.17	1.71	2.60
5w freezing	1.34	2.12	2.69

* ΔH : Amylopectin retrogradation enthalpy (J g^{-1}).

** The firmness of crumb compressed into 2 mm depth was used for modified Katsuta method.

Fig. 4 The changes of amylopectin retrogradation enthalpy of bread from frozen dough

○ : nonfreezing

△ : 1 w freezing

□ : 5 w freezing

The cut crumb of bread was stored in AL bags.

Table 4 The swelling capacity and water solubility of dried powder of bread from frozen dough

	Swelling capacity	Water solubility (%)
Nonfreezing	6.8	9.8
1 w freezing	6.9	9.9
5 w freezing	5.8	10.0

大きな差はなかったが、冷凍5週のパンの保存0時間の値が他のパンに比べかなり高い値を示した。この原因としては、比容積の小さいパンの方が火通りが悪くなりデンプンの膨潤、糊化がやや抑えられたためと考えられる。これらの結果から、パン中のデンプンの老化は生地の冷凍の有無、冷凍期間によってほとんど影響されないと考えられる。

4. パン粉末の膨潤度、固形分溶出量に対する生地冷凍の有無、冷凍期間の影響

Table 4に3種のパンの膨潤度、固形分溶出量の値を示す。これより、溶出量については3種のパンで大きな差はないが、膨潤度については、冷凍5週のパンの保存0時間のサンプルがやや低い値を示した。この原因としては冷凍5週保存0時間のΔHの値が高いのと同じ理由が考えられる。これらの結果から、パン粉末の膨潤度、溶出率がパン中のデンプンの膨潤度、溶出率を反映していると考え、多少の差はあるがパン中のデンプンの膨潤糊化状態は生地の冷凍の有無、冷凍期間によって大きな差は生じないと考えられる。

5. 真空生地膨脹量、ホイロ時間、ホイロ終了時ガス発生量、パンの比容積、内相に対する生地冷凍の有無、冷凍期間の影響

Table 5に3種のパン作成時の真空生地膨脹量、ホイロ時間、ホイロ終了時ガス発生量、パンの比容積の結果を示す。また、Fig. 5に3種のパンの内相のコピーの結果を示す。これより、冷凍1週のパンでは冷凍無パンに比べホイロ終了時ガス発生量がやや小さいこと、比容積が若干小さいこと以外大差はなかった。これに対し、冷凍5週のパンではホイロ終了時生地の真空生地膨脹量、ガス発生量、比容積が極めて小さく、ホイロ時間が長く、内相が非常に悪い。これらの結果から、冷凍5週のパンでは、イーストの冷凍障害に伴ってホイロ時間の延長、生地の真空膨脹量（ガス保持力）、ガス発生量の低下が起こり、その結果として比容積の低下、内相の劣化が起

Table 5 The expansion of dough, proofing time, gassing power and specific loaf volume in frozen dough baking

	Expansion of dough (ml)		Proofing time (min)	Gassing power after proofing (ml)	Specific loaf volume (ml g ⁻¹)
	After mixing	After proofing			
Nonfreezing	211	254	45	36.0	6.05
1 w freezing	217	264	40	26.4	5.87
5 w freezing	185	195	110	12.9	4.91

Fig. 5 The copy of crumb grain of bread from frozen dough

こっていると考えられる。

6. 冷凍生地パンの老化に関する考察

一般的に、パンの老化は硬さの経時変化で表されることが多いが、山内ら¹³⁾はこの老化に影響する要因として①限界硬差（硬さの限界値と初期値の差）②老化速度（老化速度定数）が影響しており、①を規定する要因は大きく内相等のパンの構造とパン中の糊化溶出デンプン量であり、②を規定する要因はパン中のデンプンの老化速度であると報告している。

このような前提に基づき、今回の冷凍生地パンの老化について考察すると、3つの方法により求めた老化速度定数の値が3種のパンでいずれもほぼ同じ値を示したことから、冷凍生地パンの老化は、老化速度的には長期の生地冷凍でも増大しないと考えられる。特に、冷凍1週のパンでは硬さの変化としての老化も老化速度も対照とほとんど差がないことから、イーストの冷凍障害がほとんどない1週間程度の冷凍生地からのパンの老化は対照とほぼ同じであると考えられる。硬さの変化としての老化が対照に比べ非常に大きくなった冷凍5週のパンでは、真空生地膨脹量、ホイロ時間、ホイロ終了時ガス発生量、比容積、内相が対照に比べ大きく異なっているが、パン中のデンプンの老化、パン粉末の膨潤、溶出に関するデータが対照とあまり差がない。この結果から、冷凍5週間の生地では、長期冷凍によってイーストの大きな冷凍障害に伴うガス発生量の低下と氷結晶肥大化による生地劣化が起きていると考えられる。そして、その結果として、生地のガス保持力が低下し、比容積の低下、内相の劣化が生じそれがパンの老化を増大させていると

考えられる。

以上まとめると、冷凍生地パンの生地の長期冷凍による老化の増大は、老化速度の増大やデンプンの溶出状態の差によるものではなく、比容積の低下、内相の劣化による限界硬差の増大によって主に起こっていると考えられる。そして、この限界硬差の増大は、イーストの冷凍障害や氷結晶肥大化による生地構造劣化の結果である。逆に言えば、冷凍生地パンでも、イーストの冷凍障害、氷結晶肥大化の少ない状態でパンを製造し、比容積、内相を冷凍無のパン並みにできれば、老化の増大は、今回の冷凍1週のパン同様にほとんどないと考えられる。

要 約

ノータ임冷凍生地製パン法によって作成した食パンについて、3種の方法を用いて速度論的な解析を行った結果、以下のことが判明した。

(1) 冷凍生地製法によって作成した食パンでは、生地冷凍による老化速度の増大はほとんどなく、少なくとも、パン中のデンプンは生地冷凍の有無に関わらず保存中にほぼ同じ速度で老化する。

(2) 長期冷凍の冷凍生地から得られた食パンの老化（硬さの変化）の増大は、比容積の低下、内相の劣化に主に起因しており、その原因は、長期の生地冷凍に伴うイーストの冷凍障害、生地構造の劣化であると考えられる。

文 献

- 1) WOLT, M.J. and D'APPOLONIA, B.L.: *Cereal*

- Chem.*, **61**, 209 (1984).
- 2) KLINE, L. and SUGIHARA, T.F. : *Bakers Dig.*, **42**, 44 (1968).
- 3) HINO, A., TAKANO, H. and TANAKA, Y. : *Cereal Chem.*, **64**, 269 (1987).
- 4) 日野明寛・遠藤久則・高野博幸：凍結及び乾燥研究会会誌, **37**, 130 (1991).
- 5) NEYRENEUF, O. and DELPUECH, B. : *Cereal Chem.*, **70**, 109 (1993).
- 6) INOUE, Y. and BUSHUK, W. : *Cereal Chem.*, **69**, 423 (1992).
- 7) VARRIANO-MARSTON, E., HSU, K.H. and MAHDI, J. : *Bakers Dig.*, **54**, 32 (1980).
- 8) WOLT, M.J. and D'APPOLONIA, B.L. : *Cereal Chem.*, **61**, 213 (1984).
- 9) INOUE, Y. and BUSHUK, W. : *Cereal Chem.*, **68**, 627 (1991).
- 10) HOSOMI, K., NISHIO, K. and MATSUMOTO, H. : *Cereal Chem.*, **69**, 89 (1992).
- 11) BEROLUND, P.T., SHELTON, D.R. and FREEMAN, T.P. : *Cereal Chem.*, **68**, 105 (1991).
- 12) 山内宏昭・兼重 寛・藤村昌樹・納庄康晴・橋本慎一・加藤正一・児玉邦彦・小林 猛：化学工学論文集, **19**, 549 (1993).
- 13) 山内宏昭・兼重 寛・藤村昌樹・納庄康晴・橋本慎一・西山敏彦・児玉邦彦・小林 猛：日食工誌, **41**, 1 (1994).
- 14) KATSUTA, K., MIURA, M. and NISHIMURA, A. : *Food Hydrocolloids.*, **6**, 187 (1992).
- 15) 山内宏昭・藤村昌樹・大宅甲三・平川 完・小林 猛：日食工誌, **39**, 383 (1992).
- 16) 貝沼圭二・小田恒郎・鈴木繁雄：澱工誌, **14**, 24 (1967).
- (平成 10 年 6 月 26 日受付, 平成 10 年 12 月 1 日受理)
-