

JIBはみだし授業

日本パン技術研究所教育コースの興味深いテーマを解説します。

「発酵種の中の穀粉と微生物の複雑な関係」(その1) ～「天然？」の価値では語り尽くせない「種」の世界～

一般社団法人日本パン技術研究所 研究調査部 原田昌博



ここ15年くらいの間、発酵種(あるいはサワー種)を利用したパン作りは世界的に随分と拡大してきた。

近年では、さらに進化を遂げ、発酵種に関する研究は単なる製パン改良にとどまらず、栄養や健康の観点からも重要視されてきた。それも、酵母より乳酸菌に関する知見が深まってきている。

一方、我国は、未だにパン酵母主体で語られることが多く、少ない酵母菌数主体の発酵種に頼る製パン法や、敢えて酵母数を少なくして長時間発酵させる製パンなど、これらは生地膨張速度が遅いため気泡数の少ないモチ感を与え、残存糖が多いため麦芽糖由来する風香味を与える。特徴的な美味しさを表現できるが、これに「天然」表現まで付加することが販売上の差別化という点で重宝される傾向がみられる。

微生物の機能としてパン酵母だけに限定すると、炭酸ガスの発生によってパン(あるいは生地)の構造体を構築することが主な仕事といえる。これに対して乳酸菌はどうだろう。

他方、世界に目を向ければフランスのルヴァン・ナチュレル、ドイツのサワータイク、イタリアのリエビト・マードレ、アメリカのサンフランシスコサワーなど、これらは発酵種の中で乳酸菌が製パンに重要な役割を果たし、小麦粉やライ麦粉の中で酵母と共生し、多様性に富んだ機能を発揮することが判っており、近年、その効果が検証されてきている。

そこで、以下の著書を引用しながら、穀粉と酵母、乳酸菌が織りなす、サワー種の世界の一端を披露する

【参考文献】

Les levains de panification: Microbiote et Fonctionnalités
(著者:Emilie Lhomme, Xavier Dousset, Bernard Onno・
2016年12月10日発行)

1. サワー種製パンの発展

パンの歴史は農業の始まりから現代の発展に至る人類の文明の歴史と密接に結びついてきた。発酵のはじまりは古代エジプト(紀元前・約3000年)にまで遡る。

粉碎した小麦の粒をナイル川の水で練り、生地は数時間の休養中に自然に発酵し加熱調理された。この時、同時に小麦ビールの醸造も行われたといわれる。この自然発酵のサワー種は生地を膨らませる唯一の方法として後世に残り引き継がれた。

19世紀の終わりにはパン酵母の工業生産が始まり *Saccharomyces cerevisiae* がパン酵母として普及し始める。パン酵母を使用することで発酵時間を短縮することができるが、この普及とともに伝統的なサワー種製パンは市場から消えかけた。

しかし1980年代、サワー種を使ったパンは引き続き消費者の人気を得ることになり、1990年代にはスターターが工業生産されサワー種製パンが拡大する。

この時に復活したサワー種製パンは昔のサワー種の生地膨張だけに頼る製パンではなく、サワー種とパン酵母の両方が使われることで発酵時間が短縮され、製パン従事者の労働環境の改善に寄与した。このとき工業生産されたスターターは選抜された優秀な酵母と乳酸菌から成っている。

この時代背景の中、フランスではルヴァン(小麦粉サワー種)に関する政令(第93-1074)が出された。本政令第4章によると、ルヴァン(スターター)は小麦粉とライ麦粉、またはこれらのうち1つと水、オプションとしては塩の添加も可とし、自然発酵により酸性化したもので、サワー種は主に乳酸菌と酵母からなると明記され、製パン時にはパン酵母(圧搾タイプ:生イースト)の添加が対小麦粉当り最大で0.2%まで認められている。

また、第3章によると、pHは高くても4.3以下で、クラムの酢酸濃度は900ppmと定められている。この政令によって、伝統的なパンオ・ル・ヴァンの品質が維持されている。

近年の世界的なパンの消費形態をみるとヨーロッパやアメリカの動向が興味深い。長い間、小さなロール製品、白パン、ライ麦パンが欧州諸国で普及していたが、最近では全粒粉パンや多くの穀物が配合されたマルチグレインブレッドなど、健康を主張するパンが広まってきた。

さらに「有機」(Bio)においてパンは重要な位置を占めており、パンの大半はサワー種を使用している。

Bioは健康を向上させる「生産システム」として有機農業に特別な要件を定義しており、生態学的プロセスや生物多様性と地域の条件に適応し得る有機的サイクルに重きを置き、伝統、革新、環境の利益のために科学を結合し、関与しているすべての公平な関係と生活の質の向上を促進することとしている。

なお、この定義は有機農業運動国際連盟(IFOAM)によって提案されている。

2. サワー種の培地として的小麦粉

欧州において製パンに最も多く使用される原料は小麦粉で、その原料は普通小麦「*Triticum aestivum* (以下、小麦と略す)」とデュラム小麦「二粒系/*Triticum durum*」の2種がある。

小麦の胚乳は比較的脆く粉にし易い(粒度 200μ 以下)が、デュラム小麦は胚乳が硬いため製粉技術が高くない時代はセモリナ粉(粒度 $300\sim 900\mu$ の粒)として利用されてきた。近代化された製粉工場では、複数回の粉碎と篩分けによって数十種類の特性の異なる小麦粉に取り分けられ、それらを目的に応じて再度ブレンドすることで、様々なグレードの小麦粉として調製される。

小麦粒の約3%を占める胚芽には酵素活性と脂質、蛋白質、ビタミンとミネラルを多く含み、13~15%を占める外皮は果皮が4%含み、成分はセルロース、ミネラル、タンパク質、脂肪、ビタミンおよびミネラル化合物(7~9%)が豊富。胚乳は穀物の82~85%を占め、主に炭水化物で構成され、タンパク質(10-12%)も含まれる。

フランスにおける小麦粉の種類は、灰分含量(水分0%ベース)で区別され、次のようになっている。タイプ45(<0.5%)、55(0.5~0.6%)、65(0.62から0.75%)、80(0.75~0.90%)、110(1.00~1.20%)、150(>1.40%)。この内、最も一般的に使用される小麦粉はタイプ55で、Bioパン製造ではタイプ65やタイプ80の使用が多く、この一部にタイプ110や150をブレンドする場合もある。

小麦タンパク質については一般に溶媒による溶解特性で分類される。非グルテンタンパク質では、水可溶性のアルブミン(小麦の総蛋白質の5~10%)と、希薄塩溶液に可溶性のグロブリン(小麦の総蛋白質の5~10%)があり、グルテンを構成するタンパク質では、アルコールに可溶性のグリアジン(総小麦タンパク質の40~50%)と、酸性溶液に可溶性のグルテニン(小麦の全蛋白質の30~40%)がある。

グリアジンとグルテニンはグルテンを形成し、生地には粘度と弾力性、拡張性、凝集などのレオロジー特性をもたらす。

このグルテンはパン酵母による発酵と物理的な混捏や圧縮、剪断などによってガス保持が高まり、焼成により固定化され、気泡膜の構造の元になる。このような加工による変化は小麦特有で他の穀物とは異なる。

3. 雑穀とサワー種製パン

穀物とは広い意味で澱粉が豊富に含まれる種(種子)として定義される。また、小麦粉やコーンミールのように粉碎によって澱粉が有効に活用できるものを指し、他には米、大麦、オート麦、トウモロコシ、キビ、ソルガムを含むイネ科の植物、タデ科植物のソバ、厳密に言えば穀物には分類されない擬穀類でアカザ科のキノアやアマランサスなどがある。

穀物は一般的に特定のアミノ酸とビタミンが欠乏しているが、エネルギー源としてだけではなく重要な栄養源として食品に用いられている。しかし、ミネラルなどの金属イオンを錯化(不溶化)することによって栄養欠乏を招くフィチン酸などの抗栄養因子を外皮に含むこともある。

ドイツ、フランス、東欧諸国では小麦の他にライ麦も使用する。ライ麦のタンパク質は8~12%で小麦(10~14%)より少ない。さらにセカリンと呼ばれる不溶性タンパク質がグルテンネットワークの形成を阻害する。

しかし、生地を酸性化することによってタンパク質間のリンク(結合)を改善し、パンらしい気泡構造を与えることができる。

一方、米、ソルガム、アマランサスやトウモロコシなどの穀物はグルテンを持たないため、パン酵母による発酵だけではパンらしい気泡構造を持たせる事ができない。しかし、海外ではグルテン不耐症のセリアック病が問題視されており、欧米を中心にグルテンフリー食品の需要に応じるための原料となっている。

セリアック病の原因は特定の遺伝的素因を持つ患者に発症し、不耐症の人がグルテンを摂取すると、小腸で分解されたペプチドが絨毛に触れ、小腸内壁が過剰反応し炎症を起こすという疾患で、炎症が酷くなると小腸からの栄養素の吸収ができなくなる。

不耐症はコムギ染色体と近縁の穀物(小麦、スペルト小麦、大麦、ライ麦)でも発症し、有病率はアメリカとヨーロッパで1%といわれているが、それとは別のグルテンアレルギーは大人の20%といわれている。

しかし、近年、これに輪をかけて、アスリートやアーティストなどの有名人がグルテンフリーの美德を提唱しているため、十分なエビデンスを備えない状況下でグルテンフリー市場は成長し、これが問題となっている。一方、グルテンフリーパンの品質は小麦パンに対して著しく低い。そこで、ハイドロコロイドなどの食品添加物などを組み合わせた加工技術の検討が成され、一部ではサワー種によるアレルギー低減化の検討も行われている。

4. サワー種の様態「3種類」と製パン

サワー種の様態について、スターターから起こす伝統的なサワー種（I型）、大量培養される発酵済みサワー種（II型）、乾燥形態の粉末サワー種（III型）の3タイプに分類することができる。

I型は一般的にパン酵母を殆ど添加せずに長時間発酵を経て生地を膨らませるタイプ。これは3段階による発酵工程を経て最終的にパン生地に練り込まれる。

種起こしによって得たスターター（Chef）は小麦粉と水を加えられ24時間の発酵で活性化し、第二段階目の種継ぎでさらに乳酸菌と酵母が増殖する。

再度3段階目の種継ぎを行うと、乳酸菌の混在した生地膨張力のあるサワー種が得られる。また、この更新は微生物叢の最適な活動と安定した比率を維持するために一定の間隔でリフレッシュされる。

このアクティブなサワー種は直ちにパン製造に使用可能で、このプロセスを安定させることができればサワー種は半永久的に維持される。

II型は工業的規模で製造されるサワー種で、選抜された微生物を添加し15～25時間発酵させることによって得られる。通常は液体であり、完成したサワー種は生地膨張としてではなく生地を酸性化し、製品の生地物性と風味を改善する。

III型は発酵後に乾燥させたサワー種粉末を指す。形態が粉末なので管理や計量は容易で、ベーカリーはサワー種発酵の手間と時間を削減できるため、ベーカリー工場などを中心に幅広く使用されている。ただし、III型の乳酸菌や酵母は不活性である。

I型サワー種製パンにおけるサワー配合量は一般に生地総量に対して15～30%配合される。このサワー種は小麦粉、水、塩、スターターで構成され、手混ぜまたはミキサーによって調製される。生地の硬さは、発酵設備や最終製品の品質を見据えて調製され、所定の発酵時間を経て生地に練り込まれる。

生地調製後、再度発酵工程を経て、所定の重量に分割され、成形後にキャンパスの上などで二次（最終）発酵時間をとる。この最終発酵終了時の生地状態ではほぼパンのボリュームが決定する。この最終発酵はパンの種類にもよるが2～4時間もかかる場合もある。

その後、窯入れ前にカミソリなどの刃で生地表面をカットする。このカットの様相がパンの美学にも通じる。最後に、生地は240～260°Cの高温で過熱水蒸気が存在する焼成室に投入される。

生地は窯の高温によって窯入れ初期に気泡が熱膨張し、同時に気泡膜中に溶け込んでいる溶存炭酸ガスが気化し生地を膨らませ、その後発酵種や発酵工程で蓄積されたアルコールが気泡を押し上げ、アルコールは高温下において水蒸気とともに蒸発する。

さらに生地表面は高温に曝されメイラード反応やカラメル反応が進行し、クラストの典型的な香りが生成される。

5. サワー種を使ったパンの風味

20世紀、欧州では大きく膨らんだ白パンが主流になってきた。1960年代の終わりには、設備の近代化とともに高速ミキサーの普及によりパンのボリュームはさらに大きくなった。その時代のパンは風味より作り易さや外観が重視された。

それが一変するのが1980年代後半。サワー種製パンが見直されてきた。サワー種によってもたらされる香り成分はサワー種発酵によって生まれ、クラムには約300以上の揮発成分が存在する。発酵以外の成分はクラストのメイラード反応によって生じる。

定量的に検出できる主要な化合物は、アルコール、アルデヒド、エステル、ケトン、カルボン酸、ピラジン及びピロリンなど。個々の化合物の香りの強弱は濃度と感度（しきい値）によって異なるため、全ての揮発性化合物が製品の香りに必ずしも貢献していない場合もある。

焼成時に起こる3つの現象は芳香族化合物の産生に関わる。

1つ目は脂質の酸化で、小麦粉に非過熱の大豆粉や空豆粉が混ぜられている場合に起こり、ミキシングによって取り込まれる酸素がリポキシゲナーゼによって脂質を酸化し、加熱によってアルデヒド類などの揮発性化合物に分解されてヒドロペルオキシドを産生する。

揮発性化合物の第2の合成経路は発酵中に起こる。損傷澱粉がβ-アミラーゼによって分解され麦芽糖となり、酵母に取り込まれブドウ糖に分解され、ブドウ糖の約95%はピルビン酸に変換される。

その後の菌体内の代謝経路によりエタノールになる。単糖類の残りの5%は高級アルコール、カルボニル化合物、エステル及び有機酸（主としてコハク酸）など様々な香り成分の形成をもたらす。

最後に、生地に残存している糖とアミノ酸がメイラード反応やカラメル反応によってクラストが着色し風味を与える。糖のカラメル化は着色性の苦味成分のカルボニル化合物になる。

そのうちメイラード反応はクラストに複雑な香りを与え、例えばアーモンド、スモーク、モルティ（甘い）、ナッツなどの複雑な香り成分の産生に貢献する。さらに、乳酸菌はオルニチンやジアセチルを取り込みさらに複雑な香り成分へと変化させていく。

フランスは過去50年にわたって新しいニーズへの転換期を迎えた。パンの味はレトロへ回帰し、パンの多様性はサワー種製パンや有機市場の出現によって高まり復活を遂げた。

また、グルテンフリー製品の需要拡大に直面し、サワー種はパンの品質を改善するための有効な手段として検討されている。

6. 酵母の分類及び機能

酵母は分類上、真核生物で核を持ち、菌類界に属し、子囊菌門の中に含まれる。

増殖は栄養細胞では出芽による無性生殖で増え、栄養が不足した飢餓状態では孢子を形成し有性生殖を行うため、生殖サイクルを2つ持つ。

酵母はサワー種中でおおよそ106~107cfu/gで存在し、高い浸透圧にも耐える事ができると同時に、乳酸菌との共存環境下で低いpHに適応する能力をもつ。そして、サワー種から分離した酵母のほとんどは *Saccharomycetaceae* 科に属する。

過去、多くの酵母が表現型に基づいて分類されていたが、近年は徐々に遺伝子型に基づいた分類に再分類されている。*Saccharomyces cerevisiae* が含まれるとされるサッカロミセス属は現在、狭義で知られている種に限定され、広義のグループに属する他の種は、いくつかのジャンルに分られている。例えばサワー種中の酵母として代表的な *Saccharomyces Exiguus* や *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces barnettii* はそれぞれ *Kazachstania exigua*, *Kazachstania unispora*, *Kazachstania barnettii* と命名され、*Saccharomyces kluyveri* は *Lachancea* 属に割り当てられ *Lachancea kluyveri* と命名される。しかし、この分類変更は、酵母の種類によっては、いくつかの種において系統学的に密接に関連している場合、識別(同定)時に混同される事もあり、手法としては疑問視されている

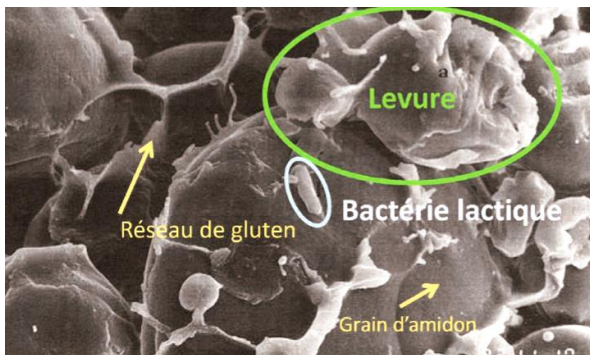


写真1. サワー種の走査電子顕微鏡写真。
(Chiron and Onno, 2010)

(さまざまな国のサワー種から分離された酵母)

Saccharomyces cerevisiae, *Candida humilis*,
Pichia kudriavzevii, *Kazachstania exigua*,
Torulaspora delbrueckii,
Wickerhamomyces anomalus, *Candida glabrata*,
Pichia membranifaciens,
Candida parapsilosis, *Candida stellata*,
Candida tropicalis, *Kazachstania unispora*,
Kluyveromyces marxianus,
Meyerozyma guilliermondii, *Saccharomyces pastorianus*

小麦粉サワー種において最も頻繁に分離された酵母は *Saccharomyces cerevisiae* と *Candida humilis* が挙げられる。前者には一般的なパン酵母(市販されている)の菌株も含まれる。

このためルヴァンなどにおける *Saccharomyces cerevisiae* の存在は、ペーカリーで使用するパン酵母や小麦粉などによる意図しない混入(コンタミネーション)に起因する場合もあり得る。

ある文献ではスターター調整後に得られた酵母の分離株のうち、65%は *Candida humilis* という報告もある。

酵母は好気性微生物で酸素存在下では呼吸し、酸素のない状態で発酵を行う。製パンにおける酵母の主な役割は、ブドウ糖を代謝し二酸化炭素(炭酸ガス)を発生させる。製パン工程中、生地膜の液相中に解けきれなくなった二酸化炭素は気泡に気化し、次第に個々の気泡を膨張させ、焼成によって除去される。

この経時的な変化によって生地の柔軟化が進む。このような酵母による炭酸ガスの発生は、生地が製パン工程中に受ける物理的な外圧と連動するにより、パンの内相構造に影響を与える。

一方、サワー種中に存在する乳酸菌(ヘテロ型)発酵によっても炭酸ガスは発生するが、発生量の多くは酵母による。クラストで形成される香り成分については、逆に酵母だけではなく乳酸菌の役割も大きい。

サワー種中の揮発性化合物は、焼成によってほとんどが揮発するが、サワー種の影響を示す成分も検出されている。

乳酸菌代謝によって生じた遊離アミノ酸が、酵母のアルコール発酵中に酵母のエールリッヒ経路を介した代謝系によって、芳香族化合物が生成されるなど、乳酸菌は酵母における芳香族化合物代謝の前駆体生成に関与する。

この経路は、脱カルボキシル化に続いて α ケト酸におけるアミノ酸の脱アミノ化が起こり、1または2つの炭素を含有するアルデヒドの生成をもたらす。このアルデヒドは酸化することができ、芳香族アルコールを産生する。

例えばフェニルアラニンからフェニルアルコールを生成するなどが、この代謝によるものである。

サワー種中の酵母の増殖は、使用する穀粉の種類やリフレッシュ(種継ぎ)時の温度や加水の影響も受ける。*S. cerevisiae* はさまざまな穀粉で検討されてきたが、ほとんどの穀粉で優勢に生育する。

しかし例外的に増殖がほとんどみられない穀粉もある。例えば、米粉やソバでは酵母の増殖に必要な糖質が不足している。この糖質とは粉砕による澱粉の損傷とアミラーゼの有無が関わっている。

また培地が小麦粉であっても、その品質の違いが菌叢に影響を与える。普通小麦とデュラム小麦を比較した研究によるとデュラム小麦粉の方で酵母菌数が少ないという報告もあるが、穀粒の硬いデュラム小麦が小麦粉並みに製粉されていたかどうか不明である。

他の研究では、発酵温度が酵母の多様性に影響を与えることを示している。ライ麦粉サワー種を 20°C または 30°C で自然に発酵させた研究では、30°C で *S. cerevisiae*, *Candida humilis*, *Candida glabrata* が発見され、20°C で *Kazachstania unispora* が発見された。

このように市販の酵母 (*S. cerevisiae*) のコンタミネーションを防ぐことができる無菌的環境でサワー種を起こした場合、酵母の多様性がみられる。

そして、サワー種中で共生あるいは糖争奪戦のライバルとなる乳酸菌が産生する有機酸に対しても、耐性の強弱が酵母の多様性に影響を与える。

一部において非発酵性の酵母も分離されているが、これらはどこにでも存在する非有用酵母である。しかし非発酵性酵母であっても培養条件如何によっては増殖し、サワー種中に多量に存在する場合もあり得る。このような場合、少なからず完成品の味に影響するであろう。

結論として、*S. cerevisiae*, *C. humilis* は、サワー種の主要酵母であることが判っており、両者は香气成分の合成によって香りに影響を与え、同時に発生する炭酸ガスによって生地に粘弾性を与えつつ、パンの構造形成に関わっている。

そして、乳酸菌との共存に際し、低い pH 環境においても適応できる能力を持っている。

7. 乳酸菌の分類及び生理学

乳酸菌は生理学的にも形態学的にも不均一な集団で、グラム陽性（グラム染色液によって細胞壁が染まる。陰性には大腸菌群などが含まれる）で、菌体形状は楕円形や球形。増殖時の酸素要求に関しては嫌気性あるいは通性嫌気性である。一般に運動性は無く胞子は形成しない。そしてカタラーゼ（過酸化水素分解酵素）や硝酸還元酵素またはチトクロームオキシダーゼを持っている。

栄養の要求性としては、アミノ酸、ペプチド、ビタミン、塩、脂肪酸など多様な栄養要件を持つ。生育環境は低い酸性環境でも生育可能で、幾つかは極端な温度（4 ~ 45°C）や、極端な pH（9.6 ~ 3.2）で成育する菌株も見つかっている。自然界における乳酸菌の生態は、植物、食品、下水などの広い生息地で、動物の胃腸などの消化管でも発見されている。

乳酸菌の利用は古代から食品を保存するために活用され、今日では食品産業を中心に多くの産業で利用されている。例えば乳製品（チーズ、ヨーグルト）、肉（ソーセージ）、野菜（ザワークラウト）、飲料（ワイン、酒）、シリアル（パン）など

乳酸菌の種類では、*Carnobacterium* 属、*Enterococcus* 属、*Lactobacillus* 属、*Lactococcus* 属、*Leuconostoc* 属、*Oenococcus* 属、*Pediococcus* 属、*Streptococcus* 属、*Tetragenococcus* 属、*Weissella* 属（うち一般に安全と認められるもの）などがあり、サワー種中からも多く発見されている。

〈サワー種から発見された乳酸菌とその発酵型式〉

〈絶対ヘテロ型乳酸菌〉

Lactobacillus acidifarinae, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. cellobiosus*, *L. crustorum*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. fructivorans*, *L. frumenti*, *L. hammesii*, *L. hilgardii*, *L. homohiochii*, *L. kefir*, *L. kunkeei*, *L. lindneri*, *L. mucosae*, *L. namurensis*, *L. nantensis*, *L. nodensis*, *L. oris*, *L. panis*, *L. parabuchneri*, *L. pontis*, *L. reuteri*, *L. rossiae*, *L. sanfranciscensis*, *L. secaliphilus*, *L. siliginis*, *L. spicheri*, *L. vaginalis*, *L. zymae*, *Leuconostoc citreum*, *Le. gelidum*, *Le. mesenteroides subsp. cremoris*, *Le. mesenteroides subsp. dextranicum*, *Le. mesenteroides subsp. mesenteroides*, *Weissella cibaria*, *W. confusa*, *W. hellenica*, *W. kandleri*, *W. paramesenteroides*, *W. viridescens*

〈通性ヘテロ型乳酸菌〉

Lactobacillus alimentarius, *L. casei/paracasei*, *L. coleohominis*, *L. kimchi*, *L. paralimentarius*, *L. pentosus*, *L. perolens*, *L. plantarum*, *L. sakei*, *Pediococcus acidilactici*, *P. dextrinicus*, *P. pentosaceus*

〈絶対ホモ型乳酸菌〉

Enterococcus casseliflavus, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. amylolyticus*, *L. curvatus*, *L. amylovorus*, *L. collinoides*, *L. crispatus*, *L. fructivorans*, *L. delbrueckii subsp. delbrueckii*, *L. farciminis*, *L. gallinarum*, *L. gasser*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. mindensis*, *L. nagelii*, *L. salivarius*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus constellatus*, *S. equinus*, *S. suis*

乳酸菌の中でも *Lactobacillus* 属はもっとも多様であり 190 以上の種が存在する。このうち 50 以上がサワー種から発見されており、小麦粉サワー種（ルヴァン）から見つかったものでは、

Lactobacillus sanfranciscensis,
Lactobacillus plantarum, *Lactobacillus acidophilus*,
Lactobacillus amylovorus, *Lactobacillus brevis*,
Lactobacillus fermentum, *Lactobacillus frumenti*,
Lactobacillus panis, *Lactobacillus alimentarius*,
Lactobacillus paralimentarius, *Lactobacillus pontis*,
Lactobacillus rossiae
などが知られている。

さらに、分子生物学が広まり、2000 年代初頭には食品微生物学で新たな培養法も確立し、新種も発見されてきた。例えば、

Lactobacillus mindensis, *Lactobacillus spicheri*,
Lactobacillus hammesii, *Lactobacillus acidifarinae*,
Lactobacillus nantensis, *Lactobacillus crustorum*,
Lactobacillus namurensis

これらの菌体の形状は桿菌または短桿菌で、通性嫌気性のため嫌気性条件下で旺盛に増殖する。増殖の最適 pH は 5.5~6.5。

Lactobacillus 属以外でサワー種から発見された乳酸菌には、*Leuconostoc* 属、*Weissella* 属、*Pediococcus* 属、*Lactococcus* 属などがあり、そのうち *Leuconostoc* 属は 12 種で分類され、そのうち 2 種類がサワー種から発見されている（*Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides*）。

この菌体の形状は単球菌または双球菌で増殖の最適温度は 20°C~30°C であるため 40°C を超える培養環境では発見されない。最適 pH は 6~7 で、幾つかの種では好气的条件下でも増殖する。

なお、*Leuconostoc* 属の 2 種は 1993 年に DNA 解析によって *Weissella* 属（14 種で分類されている）に再分類され、*Weissella cibaria*, *Weissella confusa* はサワー種から発見されている。

Pediococcus 属は、サワー種から *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* など 12 種が発見されている。この菌体の形状は球形で多くの場合 4 菌体による連鎖型をしている。

Lactococcus 属では 7 種で分類され、その内 *Lactococcus lactis* がサワー種から発見されている。

製パンにおけるサワー種中の乳酸菌は、糖の取り込みから代謝に至る経路で分類される。

生地中の糖質は小麦粉中に微量に含まれるブドウ糖、果糖、ショ糖と、損傷澱粉が β -アミラーゼの作用を受けて遊離してくる麦芽糖、それ以外に内在性のペントサナーゼがアラビノキシランやペントサン（食物繊維）を分解することによって生じるアラビノース、キシロースが存在する。

また、ショ糖はサワー種中に存在する酵母のインベルターゼによってブドウ糖、果糖に分解される。

そこで乳酸菌はブドウ糖、果糖、麦芽糖、アラビノース、キシロースを取り込むこととなる。

乳酸菌の発酵形式は、絶対ホモ型、通性ヘテロ型、絶対ヘテロ型の 3 つに大別され、糖代謝経路で分類される。そのうち乳酸だけを生成する代謝はホモ型発酵といわれ、EMP（エムデン - マイヤーホフ - パルナス）経路によりヘキソース（6 炭糖 / ブドウ糖）を発酵し生態活動に必要なエネルギー（ATP）を獲得する。

この EMP 経路のみで発酵するタイプを絶対ホモ型という（EMP 経路は一般的な解糖系であり、酵母はこの経路からエタノールを生成する）。

一方、代謝物として乳酸・酢酸・エタノール・炭酸ガスを生成する代謝はヘテロ型発酵といわれ、HMP（ヘキソース・モノ・フォスフェート）経路によりヘキソース以外にペントース（5 炭糖 / 果糖・キシロース・アラビノース）を発酵し生態に必要なエネルギー（ATP）を獲得する。

この HMP 経路のみで発酵するタイプを絶対ヘテロ型といい、EMP 経路と HMP 経路の両方の発酵ができるタイプを通性ヘテロ型という。そして、ヘテロ型発酵を行う乳酸菌の特定の菌株には大量に麦芽糖を代謝できるものもいる。

これは菌体内に取り込まれた麦芽糖をリン酸化するマルトースホスホリラーゼの有無に起因する。例えば *Kazachstania exigua*（麦芽糖を資化できない酵母）との共生で知られている

L. sanfranciscensis はエネルギー供給源として麦芽糖を利用し、菌体内に取り込まれた麦芽糖はブドウ糖 2 分子に分解され、1 分子のブドウ糖を発酵代謝し、1 分子のブドウ糖を菌体外に排出する。この余ったブドウ糖を *Kazachstania exigua* は栄養源として発酵に使用する。

これらの糖質以外にも様々な基質（果糖、クエン酸、リンゴ酸、アルデヒド類）が栄養として利用される。例えば果糖は電子受容体（NADH）の存在下で酢酸に代謝され、それによってさらに追加のエネルギー（ATP）を獲得することになる。

8. 乳酸菌によるグルテンの還元と低分子化

一般的に乳酸菌はアミノ酸要求性であり、自らの栄養を満たすために乳酸菌自体がプロテアーゼ活性を持つが、小麦粉中のプロテアーゼ活性も乳酸菌のアミノ酸代謝に大きく関与している。

乳酸菌における蛋白質の分解機構は、細胞壁結合型セリンプロテアーゼによって分解されたペプチドが細胞内に取り込まれ、ペプチダーゼによってアミノ酸に分解される。

しかし、最初の巨大なグルテンの分解には、小麦自体が持っている内在性の酸性プロテアーゼが作用する必要があり、乳酸菌による分解は小麦中の酵素反応に強く依存している。

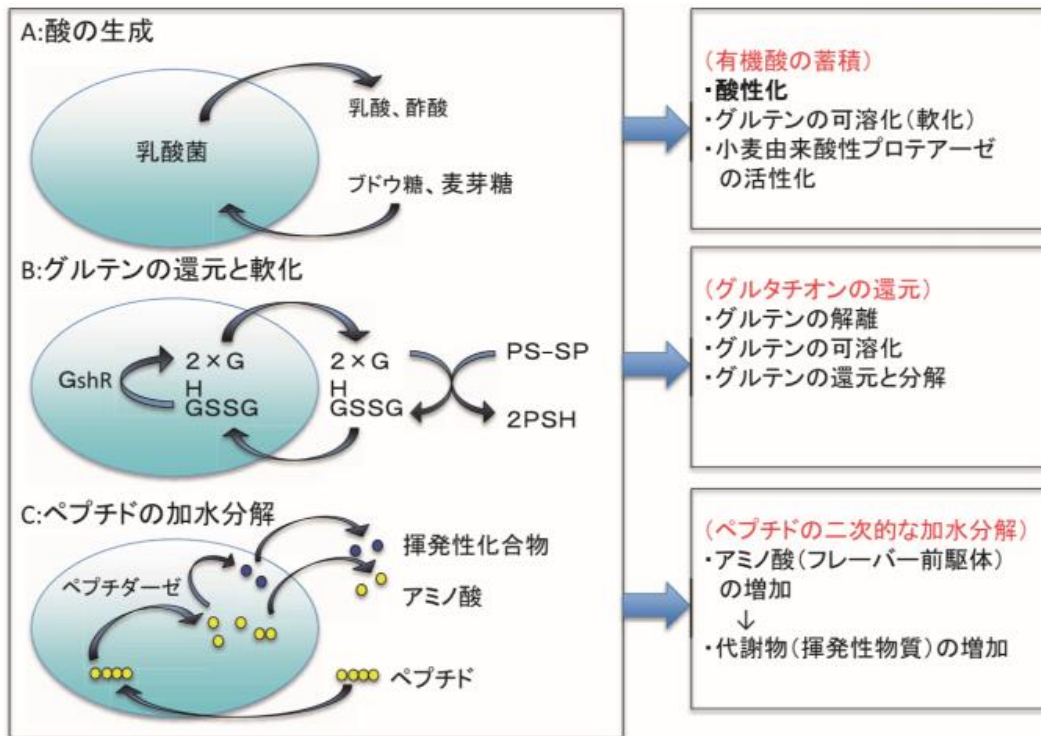


図1: サワー種の乳酸菌の作用(Gänzle et al, 2008)

これらの酵素の最適 pH は 3.0~4.5 で、サワー種発酵による生地酸性化は、小麦粉の酸性プロテアーゼを活性化させる。

そして、小麦の酸性プロテアーゼによって分解されたペプチドが乳酸菌のセリンプロテアーゼによって分解され、菌体内に取り込まれてペプチダーゼで分解され、非常に小さいペプチドやアミノ酸まで分解される。

ただし、グルテンを構成する成分全てが平等に分解を受ける訳ではない。タンパク質分解に対するグリアジンの感度は、そのタイプによって異なり、 α -および γ -グリアジンは、プロリンが豊富な ω -グリアジンよりも分解を受けやすい。

またグルテニンポリマー (GMP) は還元物質によって解離し部分的に分解される。また、ヘテロ型乳酸菌は培養中にグルタチオンレダクターゼ (還元酵素) を発現させ、細胞外の酸化型グルタチオン (GSSG) を低減し生地を軟化させる。

つまりサワー種は還元型グルタチオン (GSH) を含む還元剤的な作用も持つ。

このようなタンパク質分解活性は生地の粘弾性に影響を与え、過剰な場合は生地物性の悪化を招くが、適度な分解はアミノ酸やフレーバー前駆物質の蓄積に貢献する(図1)。

他方、一連の小麦蛋白の分解は同時にグルテン不耐症の患者にとってはメリットとなる。セリアック病患者にとって発症の原因となるグルテンの感受性に関する研究によると、原因となっている画分はサワー種発酵によって分解され、十分にセリアック病患者によって許容される範囲まで低下させることができている。

二次加工製品の製造技術にまで発展する可能性が示された。

その主な原因物質がグルテンに含まれるプロリンだといわれている。プロリンは環状アミノ酸でありグルテン分子の特定の立体構造 (折り畳まる構造) に位置する。

この複雑な構造により消化酵素による分解がより困難になる。遺伝的に不耐性の小腸組織を用いた試験では、グリアジンペプチドによって炎症を引き起こす原因物質 (サイトカイン) を分泌する腸の CD4 細胞を活性化させる。

この炎症反応の試験系で、選択された酵母と乳酸菌からなるスターターを使用すると、発症を防止する事が可能で、製品中のグルテンの完全な無害化につながる可能性が示されている。

別のライ麦粉サワー種の研究では、効果的な乳酸菌を用いて得られたサワー種で、ライ麦粉に含まれるセカリン (ライ麦中の不溶性タンパク) はほぼ完全に加水分解されることが認められた。

さらに有望な研究として、無害化を完遂するために、選抜された乳酸菌に加えてバクテリア由来のプロテアーゼを添加するとグリアジン画分の減少が顕著になったという報告もある。

また、乳酸菌と2つのカビ由来プロテアーゼの組み合わせは、液体培地中の長時間培養でタンパク質の加水分解を促進し 20ppm の閾値以下 (グルテンフリー表示に必要な最高値) のグルテンの濃度になったという報告もある。

但し、粘弾性を著しく低下させる程の過剰分解という事もあり、製品はビスケット様のものであった。

幾つかの研究で結果が有望であっても、サワー種発酵による患者救済策の安全性を確認するためには未だ多くの研究が必要であり、最終的には安全性確認のためセリアック病患者との意志疎通も必要である。

今回はサワー種の前半部分として、歴史から酵母や乳酸菌の種類や効果について原著をもとに圧縮と補足を加えた形で要約したが、サワー種の中で起こっている科学的な成分の変化、菌体外に及ぼす影響など、近年、これらの研究はさらに進んでいる。次回は後編として、これらについて紹介する