

助成番号 0748

## パン生地発酵への食塩の影響評価に関する研究 電気インピーダンスによる生地膨張、ガス包蔵能の解析

豊田 淨彦, 井原 一高

神戸大学大学院農学研究科

**概要** 【研究目的】良質なパン製品を得るためには、パン生地発酵過程のモニタリングが有効である。そこで、本研究では、発酵管理の目安となる生地膨張やガス漏洩点の電気インピーダンス測定法、および生地の機械的特性と酵母の微生物活性に影響を及ぼす食塩の作用を同測定法により評価する手法を明らかにすることを目的とした。

【研究方法】食塩濃度を 0、1、2、4%に調整した直捏法によるパン生地を、電極を敷設した発酵容器内で発酵させ、生地の電気インピーダンス特性、ガス発生量、生地膨脹量、pH、生地膨脹体積、グルテン量を測定した。また、同様の調製生地について、伸展性測定試作装置により、生地の抗張力、伸張度を測定した。

【結果】食塩濃度の増加と共にガス発生量は減少した。食塩無添加の生地に対して、食塩濃度 2%では、ガス発生速度は約 2/3 に、また、食塩濃度 4%では 1/3 にまで低下し、食塩の酵母活性への影響が顕著であった。高い食塩濃度ほど、発酵期間のガス発生速度の変動は少なく、発酵の進行を調節しやすい。パン生地の膨脹体積はガス発生量に類似の時間変化を示したが、ガス包蔵の限界であるガス漏洩点での生地収縮は、食塩濃度の高いものほど小さく、ガス漏洩によるパン生地の収縮が食塩により抑制された。電気インピーダンス特性を 40 Hz～2 MHz の間で測定し、求めたパラメータ(レジスタンス)により、生地の体積膨張を推定できた。Gomperzt 式の適用により、食塩濃度の影響を定量的に評価可能であった。生地の伸展性は食塩濃度 0、1、2%と、増加するに連れて向上するが、4%では低下を示した。生地の骨格となるグルテンは発酵の進行と共に減少するが、それに対する食塩の影響評価は、グルテンの可溶化に対する測定法の限界により困難であった。

【考察】パン生地の発酵に及ぼす食塩の影響を生地の機械的特性とパン酵母の代謝活性について、食塩濃度 0、1、2、4%の範囲で調べた。その結果、生地の体積膨張を介して、電気インピーダンスによる発酵モニタリングの適用性を明らかにした。

【今後の課題】パン生地の構造を決定づけるグルテン形成への食塩の影響評価を試みたが、本研究では、食塩の添加による可溶化とプロテアーゼ活性の抑制について作用を分別できなかった。可溶化の影響を受けない FTIR 等により、グルテンとその構成成分であるグルテニン、グリアジンの推移を調べ、それに基づいて、パン生地の機械的特性を論じる必要がある。

### 1. 研究目的

パン生地の発酵は、ガス発生による生地の多孔化や気孔表面への香気成分の吸着等を介して、最終製品の食感や香りに影響を与える重要な工程の一つである。良質な最終製品を得るための発酵条件の最適化には、発酵の進

行状態を検出することが必要であり、パン生地の膨脹量や伸展性、ガス発生量の測定のための装置や方法<sup>1)</sup>が提案されている。その幾つかは、実際に利用されているが、試験用や検査用に限られ、パン製造現場において実際に利用できる簡便な方法は得られていない。そのため、製造に

際しては、作業者の五感に頼ることが多く、経験や勘という主観的情報が重視され、発酵管理の自動化や技術伝承を難しくしている。

豊田ら<sup>2)</sup>は微生物検査のために開発された impedance microbiology<sup>3)</sup>(以下、IM)に基づき、パン生地の発酵過程を簡便かつ容易に測定できることを明らかにしている。生地のガス包蔵能の限界を示し、発酵管理の目安であるガス漏洩点の検出や生地膨脹量の測定が電気インピーダンス測定により可能なことを明らかにしている<sup>4)</sup>。

パン生地の原材料に含まれる食塩は、1~2%と僅かであるが、味の調整に加え、グルテンを引き締め、生地を弾力性のある状態とし、生地の伸展性を向上させることから、生地の膨脹耐性とガス包蔵能を高めるとされる<sup>5)</sup>。一方、食塩には、乳酸菌や酪酸菌などの有害菌の成長を抑えると同時に、パン酵母の活性も低下させ、ガス発生を抑制する作用がある<sup>6)</sup>。

このように、食塩は生地の機械的特性とパン酵母の代謝活性に影響し、パン生地の膨脹に関して拮抗的に作用すると見なすことができる。それら影響は生地作成のミキシングや発酵の工程において、食塩の混入時期や温度、生地水分に応じて現れるが、前述のように、パン生地の膨脹は電気インピーダンス特性と相関をもつことから、電気インピーダンス計測による食塩の影響評価の可能性に着目した。

そこで、ガスの生成能と包蔵性に優れたパン生地の発酵管理法の構築を目標に、パン生地発酵過程における食塩の作用を電気計測により評価する手法を確立し、以下の項目を明らかにすることを研究の目的とした。

### 1. 食塩の生地発酵過程への影響評価

- 1) 生地のガス生成および生成速度への食塩の影響
- 2) 生地の伸展性への食塩の影響

### 2. 多孔化による生地のインピーダンス変化と食塩濃度との関係

## 2. 研究方法

### 2.1 実験材料

パン生地を Table 1 の材料配合<sup>7)</sup>に基づいて作成した。食塩の影響を調べるため、食塩濃度を 0、1、2、4%(ベーカーズ%)に調整した。生地作成は直捏法により、全材料を混合槽内に同時に投入し、24 分間混捏後の生地を発酵試料とした。混合には、自動ホームベーカリー(LG 電子ジャパン社製, LB-60W1, エムケー精工製, HBD816)、ミキサー(キッチンエイド社製, KSM5)を用いた。

Table 1. Straight dough for white pan bread

Ingredient	Quantity (% bakery)
White flour	300 g (100)
Dry yeast	3 g (1)
Sugar	15 g (5)
Salt	0~12 g (0~4)
Batter	12 g (4)
Skim milk	6 g (2)
Water	180 ml (60)

### 2.2 実験方法

発酵実験のために Fig. 1 の測定システムを構成した。電極を底部に設置した深底シャーレに透明アクリル製円筒(内径 86 mm、高さ 90 mm)を載せ、発酵容器とした。調製したパン生地の一部約 100 g を発酵容器に入れ、それを小型デシケータ内に収納した。デシケータを温度 35°C に設定したインキュベータ内に保持し、約 3 時間、発酵させた。デシケータ内の空気を気体流量計(Ritter 製ミリガスマータカウンター, 流量感度 1 mL/day)に導き、5 分間隔で

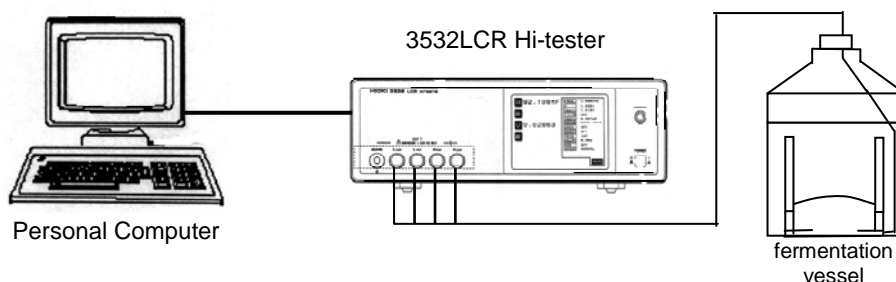


Fig. 1. Schematic of the measurement set-up of dough electrical impedance

ガス発生量を測定した。デシケータ側方に設置したデジタルカメラ(オリンパス製 SP-540UZ)により、生地画像を連続撮影した。撮影画像から生地を円筒壁面に接触した円柱部分と上部のドーム状部分に分け、投影面積から生地の体積を推算した<sup>8)</sup>。生地の pH 測定のため、分割した生地の一部を同様の発酵容器に入れ、インキュベータ内に保持し、同条件下で発酵させ、5 分間隔で生地の pH を測定した。実験は 3 反復で行った。

### 2.3 電気インピーダンス測定

前節の測定電極を 3532LCR ハイテスタ(日置電気製)を接続し、周波数 42~5 MHz 間の 21 点について 5 分間隔で測定した。インピーダンスの振幅と位相を測定し、位相が零に漸近する周波数 6.6 kHz の測定値を参考に、抵抗成分と容量成分の直列結合を仮定した等価回路(impedance splitting 法<sup>9)</sup>)を適用し、電極インピーダンス(容量成分)と生地インピーダンス(抵抗成分)を求めた。測定データの解析のため、生地のレジスタンス  $R$ 、初期値に対するレジスタンス比  $R/R_0$ 、また、レジスタンス  $R$  の逆数である導電率  $\rho$  とその比  $\rho/\rho_0$  を算出し用いた。

### 2.4 生地の機械的特性とグルテン量の測定

パン生地の伸展性試験に用いられるブラベンダー社エクステンシグラフ(Extensigraph)と類似の機構を有する伸展性測定装置を、試作ジグとレオメーター(サン科学製 CR-150)により構成した(Fig. 2a)。エクステンシグラムと同様の Fig. 2b の曲線から、抗張力  $R_m$ 、伸張度  $E$  を測定し、

その比  $R_m/E$  を求めた<sup>10)</sup>。但し、機器の制約から伸張度は最大 70 mm、プランジャの移動速度は 1、3、5 mm/s の 3 水準とした。パン生地の伸展性の原因物質であるグルテンについて、発酵初期と 1、2 時間後の生地のグルテン含量を MacRitchie の方法<sup>11)</sup> に準じた方法により測定した。

## 3. 研究結果

### 3.1 ガス発生と生地膨張への影響

ガス発生量は食塩濃度の増加と共に減少し、曲線の立ち上がりも緩やかになった(Fig. 3.a)。ガス発生速度は発酵開始直後から食塩濃度の影響が見られ、食塩濃度 0% 区(無添加)では発酵開始直後のガス発生速度は 30 ml/min であるのに対して、2% 区では無添加の約 2/3 (20 ml/min)、4% 区では無添加の約 1/3 (10 ml/min) に低減した。ガス発生速度のピークを示す最大ガス発生速度は、食塩濃度 0% では発酵開始 70 分後に 35 ml/min に達するのに対し、食塩濃度 2% では 130 分後に約 28 ml/min、4% では約 200 分後に 20 ml/min となった。

また、食塩濃度 0% ではガス発生速度がピーク後には急減するのに対して、食塩濃度 2%、4% では、より緩やかな減少傾向が見られた(Fig. 3.b)。これらより、0~4% の食塩濃度の増加は、ガス発生量を抑制すると共に発酵を遅延させる作用があり、食塩濃度により、発酵の進行をより緩やかに調整できることが確認された。

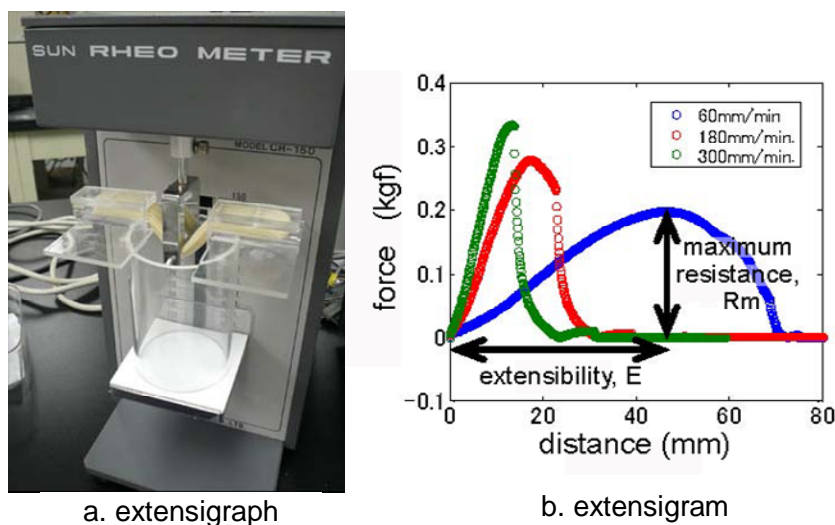


Fig. 2. Developed extensigraph and extensigram

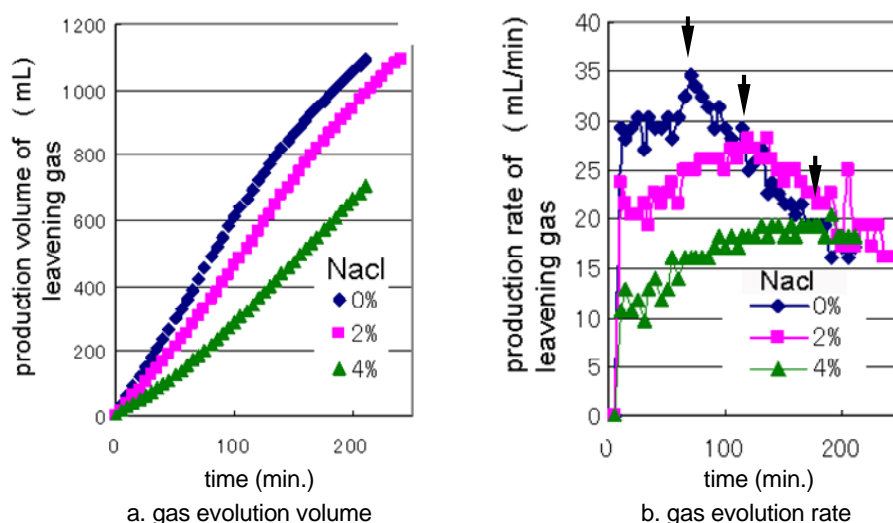


Fig. 3. Gas evolution of bread dough

生地体積への食塩の影響は、ガス発生量と類似の傾向を示した (Fig. 4)。食塩濃度 0%、2%では、体積曲線は急速に増加するが、食塩濃度が 4%では増加傾向は緩やかになり、ガス発生量と同様に、食塩による生地膨張の遅延効果が見られた。食塩濃度 0%では、75 分後に生地体積は  $500 \text{ cm}^3$  (膨張率 3.3 倍) 近くに達した後、ガス漏洩による急激な減少 (図中、矢印) を示した。一方、食塩濃度 2%、4%の生地では、それぞれ発酵開始 110 分後、140 分後にガス漏洩点に達するが、その後の体積低下は食塩濃度 0%区の場合に比べ僅かであった。これらは、ガス漏洩に伴う生地の収縮が少ないことを示し、生地の骨格を構成するグルテンが食塩により強化され、ガス漏洩によるパン生地の収縮が抑制されたためと推測される。

パン生地の pH 値は、初期の pH 5.4 から、発酵の進行に伴い、200 分後には pH 5.0 まで、一様な低下傾向を示すが、その間の塩濃度の影響は認められなかった (Fig. 5)。

### 3.2 電気インピーダンス特性への影響

パン生地発酵過程において、生地の電気インピーダンスに影響を及ぼす因子は、第一にガス発生に伴う生地の多孔化、則ち、生地膨張であり、電気インピーダンスから求まるレジスタンス  $R$ 、或いは導電率  $\rho$  の変化率により、膨張率の推定とガス漏洩点の検出が可能なのが豊田により明らかにされている<sup>12)</sup>。

食塩は電解質であり、濃度増加に伴い生地のレジスタンスは低下する。発酵開始初期に、レジスタンスは、食塩濃度 0%で  $500 \Omega$ 、濃度 2%で  $50 \Omega$ 、濃度 4%で  $20 \Omega$  であった (Fig. 6)。各食塩濃度でのレジスタンスの値は大きく異なるが、その時間変化は前述の生地体積のそれに類似した。比較のため、初期値に対するレジスタンス変化率  $R/R_0$  を用いた (Fig. 7)。

画像から求めたガス漏洩点と Fig. 7 中の変化率  $R/R_0$  が増加から減少に転じる時期は、食塩濃度区ごとにほぼ一致し、変化率  $R/R_0$  によるガス漏洩点の検出は、食塩濃度の異なる場合でも可能であった。更に、体積変化率  $V/V_0$  とレジスタンス変化率  $R/R_0$  を座標軸とした Fig. 8 より、両者の間に良好な線形関係が認められた。この線形関係は食塩濃度に関係なく、一回帰直線 ( $r = 0.993$ ) で表されることが分かった。Fig. 8 において、直線から乖離を示すデータは各実験区のガス漏洩以降の測定値であり、回帰分析から除外した。

電気インピーダンスにより、発酵過程の変化を定量的に評価するため、Gompertz 式<sup>13)</sup>を適用し、同式のパラメータを推定した。計算値は測定値に精度良く一致した。同式のパラメータの考察から、食塩濃度の増加に伴い、最大発酵速度 MFR の低下と誘導期間の増加が定量的に評価できた。

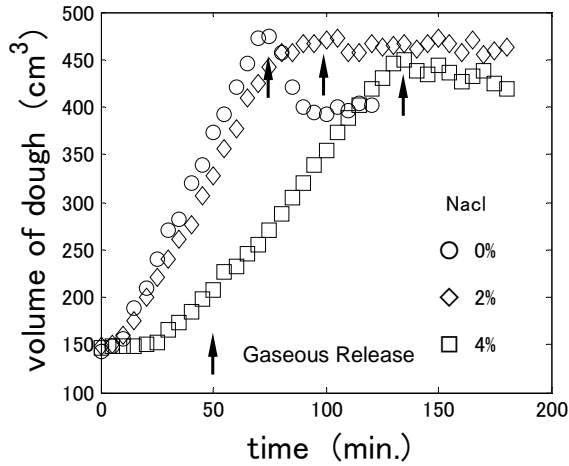


Fig. 4. Volume expansion of dough

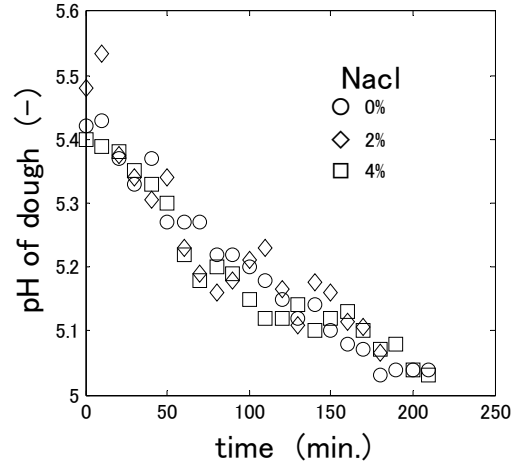


Fig. 5. Variance in pH of dough

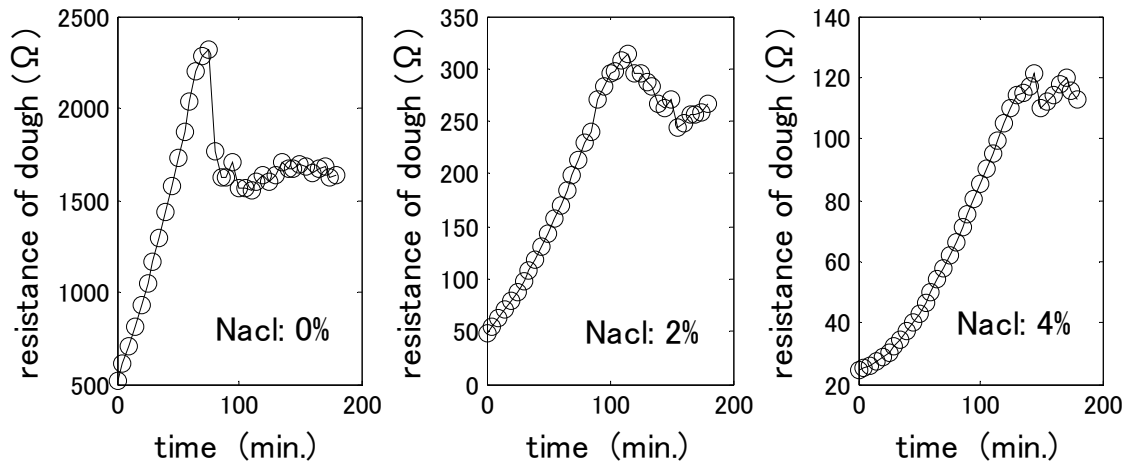


Fig. 6. Variance in resistance of dough at 0, 2 and 4% NaCl concentration

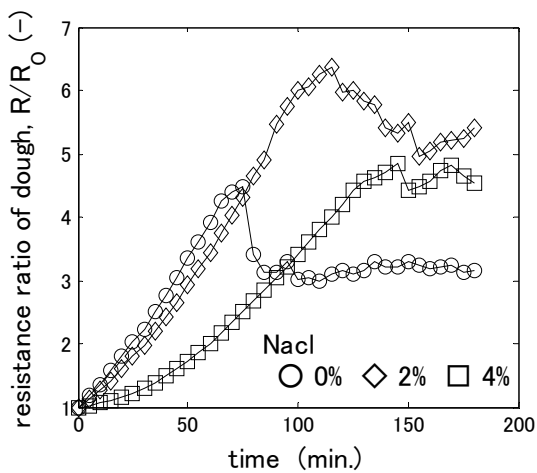


Fig. 7. Resistance ratio of dough,  $R/R_0$

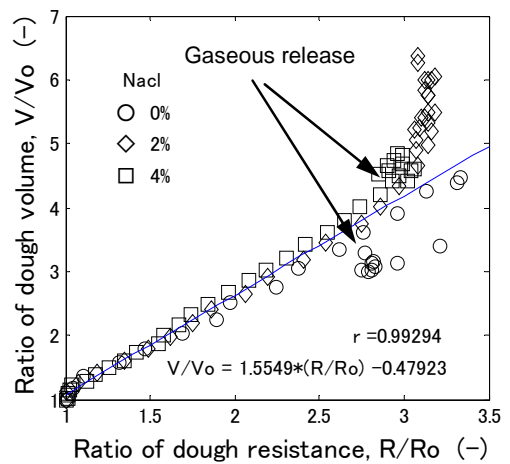


Fig. 8. Relationship between  $R/R_0$  and  $V/V_0$

### 3.3 パン生地の機械的特性への影響

伸展性実験における伸張度  $E$  と抵抗として生じる抗張力  $R$  の測定例を Fig. 9 に示す。

抗張力の最大値  $R_m$  は、生地が伸展を受け限界に達した時の発生力を示し、生地膨張の破断応力に、また、伸展性  $E$  は抗張力が最大値を示すときの変位である破断変位に対応する値とされる<sup>14)</sup>。両者の比、抗張力/伸張度 ( $=R_m/E$ ) は、生地のもつ粘弾性的な特性を示す指標であり、弾力性が乏しい“だれた”生地では  $R_m$  は小さくなり、また、膨張能が乏しいと伸展性  $E$  は小さくなる<sup>15)</sup>。

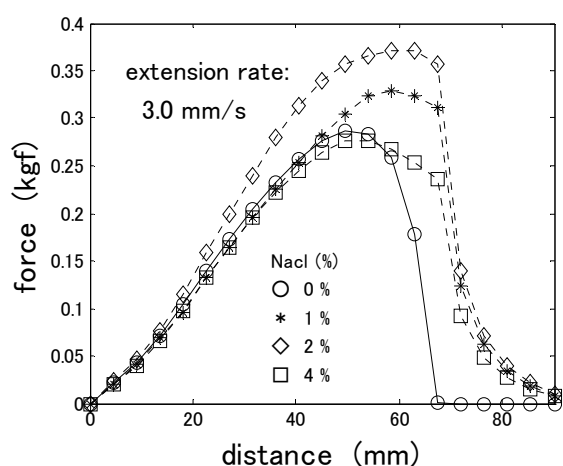


Fig. 9. Extensigram of dough at 0, 1, 2, 4% NaCl

各食塩区の  $R_m$ 、 $E$ 、 $R_m/E$  の値を Table 2 に示す。

表より、食塩濃度 0% では、 $R_m/E$  が 5.67 と食塩濃度 1%、4% に近い値を示す一方、伸展性は 50.7 と最も小さく、伸展時の抵抗が比較的大きいが、伸展性に乏しく破断し易い傾向を示す。食塩濃度 1% では  $R_m/E$  は無添加の 0% に比べ、若干、小さいものの伸張度は 58.5 mm と高く、より大きな膨張耐性が見られる。2% では、抗張力、伸張度が最も高く、弾力性があり、また、伸びやすく、破断しにくい生地であるといえる。しかし、食塩濃度が高い 4% では  $R_m/E$  は低下し、抗張力も伸張度も減少した。これより、生地の伸展性、膨張耐性の点からは、食塩を添加することにより伸展性が向上し、食塩濃度 2% で膨張耐性に優れた粘弾性が得られるが、更なる食塩濃度の増加は抗張力、伸展性を逆に低下させた。発酵に適した機械的特性を得るために食塩濃度の調節が有効であることが示された。

Table 2.  $R_m$ ,  $E$  and  $R_m/E$

NaCl	$R_m$ , kg	$E$ , mm	$R_m/E$
0%	0.29	50.7	5.67
1%	0.33	58.5	5.61
2%	0.37	59.4	6.27
4%	0.28	52.5	5.30

異なる伸張速度 1、3、5 mm/s での抗張力と伸張度を Fig. 10 に示す。抗張力は食塩濃度 1%、2% 区で食塩の添加により、無添加時より改善されるが、4% では生地膨張限界が低下した。このようなパン生地の伸張度や抗張力は、生地の骨格を構成するグルテンの作用によるものである<sup>16)</sup>。

グルテンは小麦粉由来のプロテアーゼの作用により分解されるが<sup>17)</sup>、プロテアーゼ活性は高濃度の食塩下で抑制されることが予想される。食塩添加の影響を調べるため、発酵期間中のグルテン量の変化を調べた。Fig. 11 より、食塩濃度 0%、4% の場合、時間の進行に伴いグルテン量が一樣に減少する傾向が見られ、両区とも発酵開始 2 時間後までに約 15% 減少した。食塩濃度 0% 区でのグルテン減少は生地に含まれるプロテアーゼによるグルテン分解と推測された。一方、食塩濃度 4% 区では、プロテアーゼの作用に加え、食塩添加によるグルテンの可溶化も関与している可能性がある。Mejri<sup>18)</sup> らによれば、塩の添加により、グルテンが可溶化し、生地からのグルテン回収時に流出し、また、その可溶化は pH の低下と共に増加することが報告されている<sup>18)</sup>。発酵過程でのプロテアーゼ活性を測定していないため、食塩濃度 4% 区のグルテン減少の原因は明確ではないが、今後、グルテンの可溶化とプロテアーゼ活性の視点から、食塩の影響を調べる必要がある。また、発酵開始時グルテン量については、食塩濃度 4% 区は 0% 区に比べグルテン量は約 0.3 g (約 20%) 少ない。この点についても、混捏での食塩添加生地のグルテン形成の不十分さに因るものか、回収時の可溶化によるものかを明らかにする必要がある。前者の場合、生地の膨張耐性や気泡包蔵能に関係するため、食塩添加の量と時期を検討する必要がある。

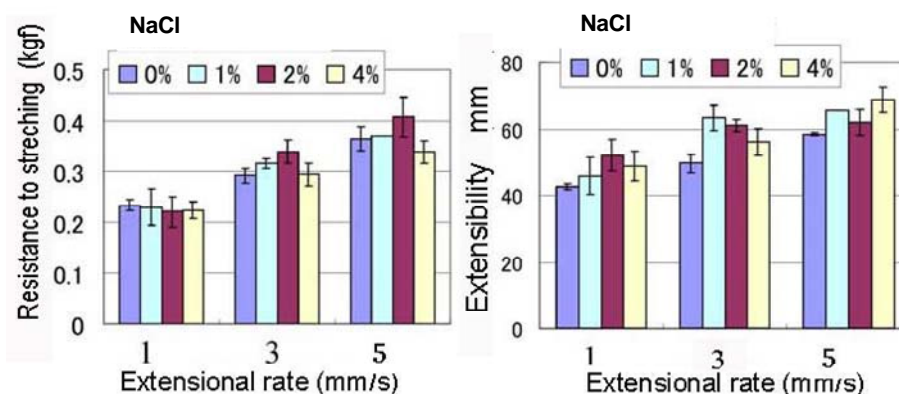


Fig. 10. Resistance of stretching and extensibility of dough at 1, 2, 4% NaCl

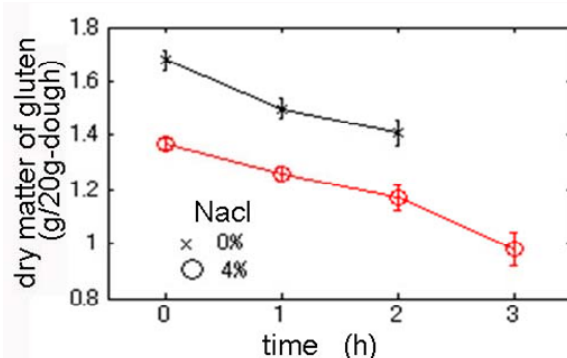


Fig. 11. Variation in gluten dry matter (g/20g-dough)

#### 4. 考察

パン生地の発酵に及ぼす食塩の影響は、主に、グルテンの強化やプロテアーゼの活性抑制を介した生地の機械的特性への影響と、パン酵母の代謝活性を抑制し、ガス発生を減少させる微生物学的影響とからなるものと考えた。そして、食塩濃度を 0、1、2、4%(ベーカーズ)に調整したパン生地について、試作のエクステンシグラフによる抗張力と伸張度、発酵過程のグルテン量変化、生地の膨脹体積とガス発生量、生地の pH、発酵過程の電気インピーダンスを測定し、食塩濃度が生地膨脹耐性・ガス包蔵能とパン酵母の発酵能へ及ぼす影響を検討し、電気インピーダンス測定による発酵モニタリングの適用性を明らかにした。

その結果、以下の知見が得られた。

- (1) 食塩濃度の増加と共にガス生成量は低下し、ガス生成速度の最大値も低下し、その発生時期も遅れた。
- (2) 食塩濃度の増加はガス発生に加え、生地膨脹量も低下させ、ガス漏洩時期を遅延させた。その際、生地の膨脹パターンはガス生成パターンと類似したが、漏洩

点以降では、ガス漏洩による生地の収縮は食塩の添加により抑制された。

- (3) レジスタンス変化率からガス漏洩点の検出、膨脹率の推定が可能であった。
- (4) 食塩濃度の増加により、生地の機械的特性の向上、パン酵母の発酵能の低下が生じるが、生地膨脹を介して、食塩の影響を電気インピーダンスにより検出、評価することが可能である。
- (5) 0~4%の食塩濃度の増加に伴い、生地の抗張力と伸張度が増加したが、発酵期間中のグルテン量の減少抑制効果は見られなかった。材料混合時に他の材料と一緒に食塩を混合、混捏すると、生地のグルテン量は見掛け上、低下した。

#### 5. 今後の課題

電気インピーダンス測定による発酵過程のモニタリングでは、本課題で着目した生地の機械的特性、パン酵母の発酵能を直接測定できる訳ではないが、生地の膨脹率を

介して、生地膨張限界と発酵遅延への食塩の影響を評価できることが示された。今後、二段発酵やパンチングなどの操作に対応した定量的な評価の可能な実用技術としての検討が必要である。パン生地の構造を決定づけるグルテン形成への食塩の影響について、本研究では食塩添加によるグリアジンの可溶化とプロテアーゼ活性の抑制を区別して測定できていない。FTIR などにより、グルテンとその構成成分であるグルテニン、グリアジンを分析した食塩添加の影響評価が望まれる。それに基づいて、パン生地の機械的特性を論じる必要がある。

### 引用文献

- 1) 田中康夫、松本博編(1997). 製パンプロセスの科学, pp.69-74, 光琳, 東京
- 2) 豊田浄彦(2003). 電気的特性の利用, pp.84-91, 河野澄夫 編著, 食品の非破壊消す側ハンドブック, サイエンスフォーラム, 東京
- 3) Firstenberg-Eden, R., *et al.* (1984). Impedance microbiology, John Wiley & Sons, New York
- 4) 豊田浄彦(2001). 電気インピーダンスによるパン酵母発酵過程のキャラクタライゼーション, エリザベス・アーノルド富士財団平成13年度学術研究助成報告書
- 5) Fance, W.J (1968). Up-To-Date Breadmaking, pp.61-62, Maclaren, London
- 6) John White (1954). Yeast Technology, pp.391-394, Wiley, New York
- 7) 取扱説明書(2000). エムケー精工製 HBD816
- 8) 豊田浄彦(2001). 電気インピーダンスによるパン酵母発酵過程のキャラクタライゼーション, エリザベス・アーノルド富士財団平成13年度学術研究助成報告書
- 9) S.H. Flint, J.D. Brooks (2001). Rapid detection of *Bacillus stearo thermophilus* using impedance-splitting, *J. of Microbiological Methods*, 44, p.205-208
- 10) H. Faridi, J. M. Faubion (1990). Dough rheology and baked product texture, pp.352, Van Nostrand Reinhold, New York
- 11) MacRitchie, F. (1985) Studies of the methodology for fractionation and reconstitution of wheat flour. *Journal of Cereal Science* 3. pp.221-230.
- 12) 豊田浄彦(2001). 電気インピーダンスによるパン酵母発酵過程のキャラクタライゼーション, エリザベス・アーノルド富士財団平成13年度学術研究助成報告書
- 13) 矢野信禮(1997). 食品への予測微生物学の適用, pp.28-34, サイエンスフォーラム, 東京
- 14) H. Faridi, J. M. Faubion(1990). Dough rheology and baked product texture, pp.19-20, Van Nostrand Reinhold, New York
- 15) 田中康夫、松本博編(1997). 製パン材料の科学, pp.184, 光琳, 東京
- 16) B. S. Khatkar, A. E. Bell, J. D. Schofield(1995). The Dynamic Rheological Properties of Glutens and Gluten Sub-Fractions from Wheats of Good and Poor Bread Making Quality, *Journal of Cereal Science* 22. pp.29-44
- 17) Caballeroa, P.A., Gómeza, M., C.M. Rosellb(2007). Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination, *Journal of Food Engineering*, 81(1), pp.42-53
- 18) Mejri, M., Roge, B. *et al.*(2005). Effects of some additives on wheat gluten solubility: A structural approach, *Food Chemistry*, 92(1), pp. 7-15



No. 0748

## Evaluation of Effect of Salt on the Bread Dough Fermentation Analysis of Dough Expansion and Gas Retention Capacity by Electrical Impedance Spectroscopy

Kiyohiko Toyoda and Ikko Ihara

Kobe University, Graduate School of Agriculture

### Summary

Salt added to bread dough affects the rheological properties of dough and the biological activity of yeast; Salt strengthens gluten properties of dough and inhibits protease activity, and controls yeast metabolism.

Straight dough at 0, 1, 2, 4% sodium chloride concentration (on the flour basis, w/w) were used for the fermentation experiments. As the salt concentration increased 0 to 4%, the gas production volume decreased and the maximum gas production rate also fell. The occurrence time of the maximum rate was more delayed at higher concentration of salt. The increase in the salt concentration caused lower volume expansion of dough and the gaseous release time was also more delayed. The time variance in dough expansion volume was similar to that of the gas production till the gaseous release. The electrical impedance parameter (resistance) of dough showed a time-variance correlated with that of the volume expansion. The addition of salt limited the shrinkage of dough volume by the gaseous release and the resistance showed a similar time-variance to that of dough volume expansion. Therefore, impedance measurement could detect the gaseous release and estimate the volume expansion at different salt concentration. Gluten in doughs at 0% and 4% NaCl concentration decreased steadily with the development of the dough fermentation. The relationship between salt concentration and gluten content in dough was complicated and could not be revealed in the range of this experiment conditions.