

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2013年10月31日(31.10.2013)



(10) 国際公開番号
WO 2013/161303 A1

- (51) 国際特許分類:
C12N 1/16 (2006.01) *A21D 13/00* (2006.01)
A21D 8/04 (2006.01) *C12N 1/00* (2006.01)
A21D 10/00 (2006.01) *C12R 1/865* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/002806
- (22) 国際出願日: 2013年4月25日(25.04.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-101336 2012年4月26日(26.04.2012) JP
- (71) 出願人: 株式会社カネカ(KANEKA CORPORATION) [JP/JP]; 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島二丁目3番18号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 中嶋 絵理(NAKASHIMA, Eri). 北野 秀幸(KITANO, Hideyuki). 松浦 靖展(MATSUURA, Yasunobu).
- (74) 代理人: 特許業務法人 有古特許事務所(PATENT CORPORATE BODY ARCO PATENT OFFICE); 〒6500031 兵庫県神戸市中央区東町123番地の1 貿易ビル3階 Hyogo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 規則13の2に基づいて明細書とは別に提出された、寄託された生物材料に関する表示 (規則13の2.4(d)(i)及び48.2(a)(viii))

(54) Title: NOVEL BREAD YEAST

(54) 発明の名称: 新規パン酵母

(57) Abstract: Provided are a bread yeast that functions to increase dough tensile strength, prevent molding, and realize a high sugar-fermenting force in high-sugar dough, as well as bread dough and bread that use the yeast. When this bread yeast is used, the tensile force of a specific dough is 500 B.U. or greater and the acetic acid content of the dough is 400 ppm or greater; the volume of gas generated when a different specific dough is fermented is 360 mL or greater and further, the amount of gas generated when the dough is frozen and then thawed after a specific amount of time is 100 mL or greater; and further preferably, the amount of gas generated when a different specific dough is fermented using dry yeast produced by drying the bread yeast is at least 50% the amount in the case of fresh yeast.

(57) 要約: 高糖生地において、生地の抗張力を高める機能とカビ抑制機能と高糖発酵力機能を有したパン酵母および該酵母を用いたパン生地やパンを提供すること。特定の生地の抗張力が500 B.U.以上を示し、当該生地中の酢酸量が400 ppm以上を示し、さらに、別の特定の生地を発酵した時のガス発生量が360 ml以上で、好ましくは、生地を冷凍し、一定期間経過後に解凍したときのガス発生量が100 ml以上であり、さらに好ましくは、該パン酵母を乾燥させて作製したドライイーストを用いて、別の特定の生地を発酵した時のガス発生量が生イーストの場合の50%以上となるパン酵母。



WO 2013/161303 A1

明 細 書

発明の名称：新規パン酵母

技術分野

[0001] 本発明は、新規なパン酵母、該パン酵母を含有するパン生地、該パン生地を焼成してなるパン、及び、パン酵母の製造方法に関する。

背景技術

[0002] パン生地の物性は、製パン工程中の作業性や、最終製品であるパンの品質に影響を与える重要な因子の一つであり、適度な硬さと伸びを持ち、べたつきが少ない生地が好ましいとされる。中でも、硬さ（抗張力）はパン生地物性の指標として最もよく用いられ、抗張力の高い（硬い）生地は、作業性が良好であり、また、生地が十分に膨張するため、ボリュームや食感に優れたパンとなる。これに対して、抗張力の低い（軟化した）生地では製パン時の作業性が低下し、生地表面が荒れてボリュームの低下を引き起こし易く、また、発酵中の生地が自重を支えられないために十分に膨張できず、腰高性の低い、重い食感のパンとなってしまう傾向がある。このような生地の軟化を引き起こす原因の一つとして、パン生地中の糖濃度が挙げられる。一般的に、パン生地中の糖濃度は、混合する砂糖や糖液の小麦粉に対する割合として示され、この糖濃度を増加させると、生地中のグルテン量は相対的に減少し、生地軟化が発生すると考えられている。また、近年では、ソフトさやしっとり感を求める消費者のニーズに応えるために、パン生地の吸水を従来よりもさらに増やす製法が用いられており、この場合も生地の軟化が起こる。

[0003] これらの問題を解決する方法として、酸化剤（ビタミンC、臭素酸カリウム）を添加することで、生地の軟化を抑制する方法がある。しかし、ビタミンCは即効性であり、物性を長時間維持しておくことができないため十分な効果が得られず、臭素酸カリウムは発ガン性があると懸念されているため、近年の消費者の安全・安心志向によって敬遠されている。そのため、これらに代わる生地の軟化抑制法が求められている。さらに、パン生地の吸水量を

増やした場合には、生地が軟化するだけでなく、パンの保存中にカビなどの雑菌が発生し易くなり、賞味期限が短くなるという問題も生じる。そのため、生地物性の改善と同時に、パンの賞味期限の延長のために、カビの発生を抑制、あるいは遅延する方法が求められる。

[0004] 上記の軟化抑制、あるいはカビ抑制に関する技術として、これまでに、製パン時に副原料として、食物繊維、有形水、またはグリセリン有機酸脂肪酸エステルを添加することによって、高吸水のパン生地の物性を改善する方法（特許文献1～3を参照）、あるいは、酢酸ナトリウム製剤等の保存料の添加や、カビ抑制性イーストの使用により、パンの賞味期限を延長する方法（特許文献4～6を参照）が報告されている。しかし、これら2つの課題を同時に解決できる方法は報告されていない。

[0005] さらに、最近の製パンでは、工程の省力化や、焼きたてパンを提供するために冷凍生地製法を用いたり、保存性や風味の面から、ドライイーストを用いたりする場合がある。冷凍生地製法は、成型した生地を冷凍し、解凍後に焼成する方法であり、冷・解凍時に菌体が損傷を受け、菌体内成分が漏出することにより、生地が軟化する。また、ドライイーストは水分約65%のパン酵母（生イースト）を水分約5%になるまで乾燥させた製品であり、乾燥時に菌体が損傷を受け、菌体内成分が漏出することにより、生地が軟化する。そのため、冷凍生地製法やドライイーストを用いる場合でも、生地の軟化を抑制できる方法が求められているが、効果的な処方報告されていない。

先行技術文献

特許文献

- [0006] 特許文献1：特開2011-55803号公報
特許文献2：特開2006-320207号公報
特許文献3：特開2010-252667号公報
特許文献4：特開2004-313190号公報
特許文献5：特開2006-187282号公報
特許文献6：特開2007-195474号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 生地 of 軟化抑制とカビ抑制の機能を併せ持つイーストはこれまでになかった。さらに、冷凍耐性機能、または乾燥耐性機能を併せ持つイーストもこれまでになかった。

[0008] そこで、本発明の目的は、高糖生地において、生地 of 抗張力を高める機能とカビ抑制機能と高糖発酵力機能を有したパン酵母、該酵母を含有するパン生地、該パン生地を焼成してなるパン、及び、パン酵母の製造方法を提供することである。上記機能に加えてさらに冷凍耐性機能、または乾燥耐性機能も有するパン酵母、該酵母を含有するパン生地、該パン生地を焼成してなるパン、及び、パン酵母の製造方法を提供することも目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、酵母を用いて作製した特定生地 of 抗張力の値と酢酸生成量の値、及び、別の特定生地を発酵させた時のガス発生量の値が特定値以上を示すパン酵母は、各機能が向上し、さらにその機能が統合されていることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0010] 即ち、本発明の第一は、パン酵母であって、配合2（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母：0重量部、水（30℃）：任意量）、条件4（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を150g分割し、30℃で160分間静置した後成型）に従って作製した生地をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.になるよう配合2における前記水（30℃）の量を調節した生地を生地Aとし、配合3（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、前記パン酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地BをAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.以上を示し、

生地B中の酢酸量が400ppm以上を示し、さらに

配合 1（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、前記パン酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水：52重量部）、条件3（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を50g分割し、38℃で2時間発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が360ml以上を示す、パン酵母に関する。

[0011] 好ましい実施態様は、上記記載のパン酵母が、配合4（強力粉：100重量部、上白糖：15重量部、食塩：0.5重量部、前記パン酵母（水分65%湿菌体）：6重量部、水：58重量部）、条件5（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を20g分割し、30℃で60分間前発酵した後、-20℃で4週間冷凍保存した生地を25℃で30分間解凍処理した後、38℃で2時間生地を発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が100ml以上を示すパン酵母に関する。

[0012] さらに好ましい実施態様では、配合3'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、乾燥させた前記パン酵母：2重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地B'をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が生地Bの抗張力の50%以上を示し、

生地B'中の酢酸量が生地B中の酢酸量の75%以上を示し、さらに、

配合1'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、乾燥させた前記パン酵母：2重量部、水：52重量部）、条件3で生地を発酵した時のガス発生量が、配合1、条件3で生地を発酵した時のガス発生量の50%以上を示すパン酵母に関する。

[0013] 本発明のパン酵母は、例えば、以下のスクリーニング工程を行って得ることができる。

[0014] 配合2（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母：0重量部、水（30℃）：任意量）、条件4（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を150g分割し、30℃で160分間静置した後成型）に従って作製した生地をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した

時の抗張力が500 B. U. になるよう配合2における前記水（30℃）の量を調節した生地を生地Aとし、配合3（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地BをAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500 B. U. 以上となり、生地B中の酢酸量が400 ppm以上となり、さらに配合1（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水：52重量部）、条件3（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を50g分割し、38℃で2時間発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が360 ml以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択する。

[0015] 好ましい実施態様では、さらに、配合4（強力粉：100重量部、上白糖：15重量部、食塩：0.5重量部、酵母（水分65%湿菌体）：6重量部、水：58重量部）、条件5（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を20g分割し、30℃で60分間前発酵した後、-20℃で4週間冷凍保存した生地を25℃で30分間解凍処理した後、38℃で2時間生地を発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が100 ml以上を示すことを指標として酵母（倍数体）を選択する。

[0016] さらに好ましい実施態様では、配合3'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、乾燥させた酵母：2重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地B'をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が生地Bの抗張力の50%以上を示し、

生地B'中の酢酸量が生地B中の酢酸量の75%以上を示し、さらに配合1'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、乾燥させた酵母：2重量部、水：52重量部）、条件3で生地を発酵した時のガス発生量が、配合1、条件3で生地を発酵した時のガス発生量の50%以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択する。

[0017] 本発明のパン酵母は、より具体的には、以下のスクリーニング工程（１）～（５）を行って得ることができる。

[0018] スクリーニング工程（１）：

次に示す方法で、孢子株（a）、孢子株（b）及び孢子株（c）を得る。

・条件１（培地（酵母エキス：１重量部、ペプトン：２重量部、グルコース：２重量部、水：９５重量部、酵母：１白金耳）、３０℃で１８時間振とう培養）で酵母（倍数体）を培養し、得られた培養液の上清のグルタチオン量が $120\mu\text{mol/L}$ 以下となることを指標として酵母（倍数体）を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株（a）とする。

・条件１で酵母（倍数体）を培養した後、培養液をドライ換算で酵母含量が 100mg になるよう分取し、それを遠心分離して得られる酵母（倍数体）を、条件２（培地（マルトース：１０重量部、グルコース：０．６重量部、クエン酸バッファー（クエン酸 12.3% 重量％水溶液（ $\text{pH}5.28$ ））： 3.2 重量部、食塩：１重量部、水： 85.2 重量部）、３０℃で３時間発酵）で発酵させ、得られた発酵液の上清の pH が 5.0 以下となることを指標として酵母（倍数体）を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株（b）とする。

・配合１（強力粉：１００重量部、上白糖：３０重量部、食塩： 0.5 重量部、酵母（水分 65% 湿菌体）：４重量部、水： 52 重量部）、条件３（３分間ミキシングして生地を得た後、該生地を 50g 分割し、 38℃ で２時間発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が 300ml 以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株（c）とする。

[0019] スクリーニング工程（２）：

次に示す方法で、孢子株（d）及び孢子株（e）を得る。

・前記孢子株（a）と前記孢子株（b）を交雑して得られる第一世代酵母（倍数体）の中から、条件１で該酵母（倍数体）を培養して得られる培養液の上清のグルタチオン量が $120\mu\text{mol/L}$ 以下となり、且つ、条件１で該

酵母（倍数体）を培養した後培養液をドライ換算で酵母含量が100mgになるよう分取し、それを遠心分離して得られる酵母（倍数体）を条件2で発酵させ、得られた発酵液の上清のpHが5.0以下となることを指標として酵母（倍数体）を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株（d）とする。

・前記孢子株（b）と前記孢子株（c）を交雑して得られる第一世代酵母（倍数体）の中から、条件1で該酵母（倍数体）を培養した後培養液をドライ換算で酵母含量が100mgになるよう分取し、それを遠心分離して得られる酵母（倍数体）を条件2で発酵させ、得られた発酵液の上清のpHが5.0以下となり、且つ、配合1、条件3で生地を発酵した時のガス発生量が300ml以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株（e）とする。

[0020] スクリーニング工程（3）：

前記孢子株（d）と前記孢子株（e）を交雑して得られる第二世代酵母（倍数体）の中から、配合2（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母：0重量部、水（30℃）：任意量）、条件4（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を150g分割し、30℃で160分間静置した後成型）に従って作製した生地をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.になるよう配合2における前記水（30℃）の量を調節した生地を生地Aとし、配合3（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地BをAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.以上となり、生地B中の酢酸量が400ppm以上となり、さらに配合1、条件3で生地を発酵した時のガス発生量が360ml以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択する。

[0021] スクリーニング工程（4）：

上記のスクリーニング工程（3）で選択された酵母（倍数体）から、さら

に、配合4（強力粉：100重量部、上白糖：15重量部、食塩：0.5重量部、酵母（水分65%湿菌体）：6重量部、水：58重量部）、条件5（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を20g分割し、30℃で60分間前発酵した後、-20℃で4週間冷凍保存した生地を25℃で30分間解凍処理した後、38℃で2時間生地を発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が100ml以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択する。

[0022] スクリーニング工程（5）

上記のスクリーニング工程（3）または（4）で選択された酵母（倍数体）から、さらに、配合3'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、乾燥させた酵母：2重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地B'をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が生地Bの抗張力の50%以上を示し、生地B'中の酢酸量が生地B中の酢酸量の75%以上を示し、さらに、配合1'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、乾燥させた酵母：2重量部、水：52重量部）、条件3で生地を発酵した時のガス発生量が、配合1、条件3で生地を発酵した時のガス発生量の50%以上を示すことを指標として酵母（倍数体）を選択する。

[0023] 好ましい実施態様は、サッカロミセス・セレビスエ KCY1240（NITE BP-1269）、サッカロミセス・セレビスエ KCY1249（NITE BP-1270）、サッカロミセス・セレビスエ KCY1251（NITE BP-1272）、又は、サッカロミセス・セレビスエ KCY1254（NITE BP-1396）である上記記載のパン酵母に関する。

[0024] 本発明の第二は、上記記載のパン酵母を含み、糖濃度が15~40重量%であるパン生地に関する。

[0025] 本発明の第三は、上記記載のパン生地を焼成してなるパンに関する。

[0026] 本発明の第四は、上記記載のスクリーニング工程を行ってパン酵母を得ることを含む、パン酵母の製造方法に関する。

発明の効果

[0027] 本発明に従えば、高糖生地において生地軟化が懸念される条件でも、吸水を減らさずに生地軟化が抑制でき、ボリュームと腰高性の向上とカビ抑制性に優れ、より好ましくは冷凍耐性及び／又は乾燥耐性にも優れたパン酵母、並びに、該酵母を用いた食感のソフトな高糖のパンや、冷凍生地製法で作成した品質の良好なパンを提供することができる。

図面の簡単な説明

[0028] [図1]生地含有水分量が61.5%で各実施例及び比較例の生地が示す抗張力を比較するグラフ

[図2]生地含有水分量が61.5%で各実施例及び比較例のパンが示すボリュームを比較するグラフ

[図3]生地含有水分量が61.5%で各実施例及び比較例のパンが示す腰高性を比較するグラフ

[図4]各実施例及び比較例で異なる生地含有水分量での抗張力の変化を示すグラフ

[図5]各実施例及び比較例で異なる生地含有水分量でのパンのボリュームの変化を示すグラフ

[図6]各実施例及び比較例で異なる生地含有水分量でのパンの腰高性の変化を示すグラフ

[図7]各実施例及び比較例で異なる生地含有水分量でのパンの硬さの変化を示すグラフ

[図8]実施例及び比較例で冷凍生地を用いて作製したパンのボリュームを比較するグラフ

[図9]実施例及び比較例で冷凍生地を用いて作製したパンの腰高性を比較するグラフ

[図10]実施例及び比較例で冷凍生地を用いて作製したパンの硬さを比較するグラフ

[図11]実施例及び比較例のパン生地の抗張力を比較するグラフ

[図12]実施例及び比較例のパンのボリュームを比較するグラフ

[図13]実施例及び比較例のパン生地の抗張力を比較するグラフ

[図14]実施例及び比較例のパンのボリュームを比較するグラフ

発明を実施するための形態

[0029] 以下、本発明についてさらに詳細に説明する。

[0030] 本発明の一実施形態のパン酵母は、特定の指標でスクリーニング工程（１）～（３）を順に行い、最終的に得ることができる。好ましくは、（１）～（３）に加えて、さらにスクリーニング工程（４）も行う。さらに好ましくは、（１）～（３）または（１）～（４）に加えて、さらにスクリーニング工程（５）も行う。なお、本明細書において使用される用語は、以下に特に説明する場合を除いて、当該分野で通常に使用される用語の意味と同一である。

[0031] （スクリーニング工程（１））

スクリーニング工程（１）では、孢子株（a）、孢子株（b）、及び孢子株（c）を得る。スクリーニング工程（１）で選択対象として用いる酵母は、自然界の土壌、河川、果実などから単離した酵母であってよく、また、このように単離した酵母から孢子株を取得し、これらを適宜組み合わせ、常法により交雑して得られる酵母であってもよい。また、市販の酵母であってもよい。

[0032] 孢子株（a）は、以下のようにして得る。即ち、条件１（培地（酵母エキス：１重量部、ペプトン：２重量部、グルコース：２重量部、水：９５重量部、酵母：１白金耳（表２に記載））、３０℃で１８時間振とう培養）で酵母（倍数体）を培養し、得られた培養液の上清のグルタチオン量が１２０μmol/L以下となることを指標として酵母（倍数体）を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株（a）とする。

[0033] ここでグルタチオン量とは、本来酵母に含有されているグルタチオンが、発酵により、酵母外に漏洩してきたグルタチオン量の事を言う。一般に、グルタチオンは、生地中のグルテンネットワーク中のSS結合を切断し、生地

の軟化を発生させる一つの因子である（添加剤による小麦ドウの物性改良効果—三重大生物資源紀要、第19号、21—27項、平成9年12月1日）。培養液の上清のグルタチオン量を確認することによって、生地を作製せずとも、生地軟化の状態を推測することが可能となる。そして、培養液の上清のグルタチオン量が $120\mu\text{mol/L}$ 以下であることを指標にすると、生地にした時の生地軟化が比較的軽減され、作業しやすい生地の作製が可能な酵母の取得が容易になる。

[0034] そして、前記グルタチオン量は、次のようにして測定する。前記条件1の培地を大型試験管に5ml分注し、オートクレーブ殺菌した後、培養に使用する。育種株1白金耳を大型試験管に全量植菌し、 30°C で18時間振とう培養した培養液を、ドライ換算で酵母含量が100mgになるよう分取し、それを3000rpmで10分間遠心分離する。遠心後の上清液を1ml分取し、同仁社製の「Total Glutathione Quantification Kit」マニュアル（Revised November 11 2008）に従って、グルタチオン量を測定する。

[0035] 孢子株（b）は、以下のようにして得る。即ち、前記条件1で酵母（倍数体）を培養した後、培養液をドライ換算で酵母含量が100mgになるよう分取し、それを3000rpmで10分間遠心分離して得られる酵母（倍数体）を、条件2（培地（マルトース：10重量部、グルコース：0.6重量部、クエン酸バッファー（クエン酸12.3重量%水溶液（pH5.28））：3.2重量部、食塩：1重量部、水：85.2重量部（表3に記載））、 30°C で3時間発酵）で発酵させ、得られた発酵液の上清のpHが5.0以下となることを指標として酵母（倍数体）を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株（b）とする。ここでpHの測定は、常法に従えばよい。

[0036] 酢酸は、酵母が発酵中に副生する物質の一つであり、カビの増殖を抑制する効果がある。酢酸の生成量が多いと、pHは低下する傾向にあるため、pHを測定することで簡易的にカビ抑制効果を推認することが可能となる。発

酵液の上清のpHが5.0以下であることを指標にすると、既存のカビ抑制性イースト（例えばカネカイーストDR）と同等、若しくはそれ以上のカビ抑制効果を示す酵母の取得が容易になる。

[0037] 孢子株（c）は、以下のようにして得る。即ち、配合1（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水：52重量部（表1に記載））、条件3（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を50g分割し、38℃で2時間発酵（表1に記載））で生地を発酵した時のガス発生量が300ml以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株（c）とする。但し、ガス発生量は、実際には生地20gのガスをファームグラフII（ATTO社製）を用いて38℃で2時間測定し、発生した全ガス量に2.5を乗じ、生地50gに相当する全ガス量として算出する。なお、水分65%湿菌体とは、水分が65%を占める湿菌体のことをいう。

[0038] 生地を発酵した時のガス発生量は、酵母の発酵力を示すもので、当該ガス発生量を測定することで、高糖生地での発酵力機能を推認することが可能となる。本工程で、生地を発酵した時のガス発生量が300ml以上であることを指標にすると、交雑育種による最終スクリーニングで、ガス発生量が360ml以上となる高糖発酵力機能を有する酵母の取得が容易になる。

[0039] また、上記において、水分65%湿菌体である酵母は、次のようにして得ることができる。表4に記載の組成の培地を大型試験管に5ml、500ml坂口フラスコに50ml分注し、オートクレーブ殺菌した後、培養に使用する。スラント保存している酵母を、それぞれ大型試験管に1白金耳植菌し、30℃、1日間振とう培養後、500ml坂口フラスコに継植して、さらに30℃、1日間振とう培養により作製した菌体を2000rpmで5分間遠心分離し、ヌッチェにより吸引脱水し湿菌体を得る。そして湿菌体の水分含量を測定し、実際に使用する際には、配合1で記載された酵母の純分量が合うように調節する。

[0040] (スクリーニング工程 (2))

スクリーニング工程 (2) では、スクリーニング工程 (1) で得た孢子株 (a)、孢子株 (b)、及び孢子株 (c) を用いて、孢子株 (d)、及び孢子株 (e) を得る。

[0041] 孢子株 (d) は、以下に示す方法で得る。即ち、前記孢子株 (a) と前記孢子株 (b) を常法に従って交雑して得られる第一世代酵母 (倍数体) の中から、条件 1 で該酵母 (倍数体) を培養して得られる培養液の上清のグルタチオン量が $120 \mu\text{mol/L}$ 以下となり、且つ、条件 1 で該酵母 (倍数体) を培養した後、培養液をドライ換算で酵母含量が 100mg になるよう分取し、それを 3000rpm で 10 分間遠心分離して得られる酵母 (倍数体) を条件 2 で発酵させ、得られた発酵液の上清の pH が 5.0 以下となることを指標として酵母 (倍数体) を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株 (d) とする。ここで pH の測定は、常法に従えばよい。

[0042] 孢子株 (e) は、以下に示す方法で得る。即ち、前記孢子株 (b) と前記孢子株 (c) を常法に従って交雑して得られる第一世代酵母 (倍数体) の中から、条件 1 で該酵母 (倍数体) を培養した後培養液をドライ換算で酵母含量が 100mg になるよう分取し、それを遠心分離して得られる酵母 (倍数体) を条件 2 で発酵させ、得られた発酵液の上清の pH が 5.0 以下となり、且つ、配合 1、条件 3 で生地を発酵した時のガス発生量が 300ml 以上となることを指標として酵母 (倍数体) を選択し、該酵母を孢子形成させ、該孢子を分離して孢子株 (e) とする。但し、ガス発生量は、実際には生地 20g のガス量をファーモグラフ II (ATTO 社製) を用いて 38°C で 2 時間測定し、発生した全ガス量に 2.5 を乗じ、生地 50g に相当する全ガス量として算出する。

[0043] (スクリーニング工程 (3))

スクリーニング工程 (3) では、スクリーニング工程 (2) で得た孢子株 (d)、及び孢子株 (e) を用いて、本発明の新規パン酵母を得る。

[0044] 具体的には、前記孢子株 (d) と前記孢子株 (e) を常法に従って交雑し

て得られる第二世代酵母（倍数体）の中から、配合2（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母：0重量部、水（30℃）：任意量（表9に記載））、条件4（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を150g分割し、30℃で160分間静置した後、成型（表10に記載））に従って作製した生地A'を、AACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.になるよう配合2における前記水（30℃）の量を調節した生地を生地Aとし、配合3（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量（表9に記載））、条件4に従って作製した生地BをAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.以上となり、生地B中の酢酸量が400ppm以上となり、さらに配合1、条件3で作製した生地を発酵した時のガス発生量が360ml以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択する。これを本発明のパン酵母として得る。但し、ガス発生量は、実際には生地20gのガス量をファームグラフII（ATTO社製）を用いて38℃で2時間測定し、発生した全ガス量に2.5を乗じ、生地50gに相当する全ガス量として算出する。

[0045] 本工程で、生地を発酵した時のガス発生量が360ml以上であることを指標にすると、既存の高糖発酵力を有する酵母に匹敵する酵母を取得することができる。

[0046] 本発明においては、エクステンソグラフの測定で得られる抗張力が高い生地ほど、酵母の発酵により発生するガスを保持する能力や、膨張に耐える能力が高いことを意味する。抗張力が高い酵母を用いると、酵母の発生するガスを逃さず、さらには生地が上方へと膨張していくため、ボリュームが大きく、腰高なパンの作製が可能となる。

[0047] 測定時に用いる小麦粉の品質は産地や収穫時期によって異なるため、使用する小麦粉の品質によって生地の抗張力の値は変動する。そのため、酵母に由来する抗張力の絶対値評価は難しい。しかし、酵母を含まずに常に一定の

抗張力（500 B. U.）を示すよう調節した生地Aに対して、酵母を添加して生地Bを作成し、その生地Bの抗張力を測定することで、小麦粉の品質に影響を受けることなく、酵母間の抗張力の比較が可能となる。

[0048] 生地Bの抗張力が500 B. U. 以上になることを指標にすると、製パン時に生地軟化の抑制効果が顕著に感じられ、従来菌株を用いた場合と比較して確実にボリュームと腰高性に優れたパンの作製が可能となる酵母を取得することができる。

[0049] 本発明において抗張力の測定は、エクステンソグラフ（ブラベンダー社製）を用いて、AACC法54-10に記載されている方法に準拠して行なう。即ち、抗張力を測定する生地150g±1g片を分取し、軽く手丸めした後、30℃の恒温槽で160分間静置する。その後、棒状（幅18mm、高さ22.5mm）に成型した生地の両側を固定したまま、25℃の恒温槽で20分間静置した後、サンプルをエクステンソグラフのアームに乗せ、その中央にフックをかけて、生地が切れるまで下方へ引っ張り、フックにかかる力を抗張力とする。

[0050] 上述したように酢酸は、酵母が発酵中に副生する物質の一つであり、カビの増殖を抑制する効果があるため、酢酸量を測定すると、カビ抑制効果を推測することが可能となる。

[0051] 生地B中の酢酸量が400ppm以上であることを指標にすると、従来の菌株と比較して顕著に優れたカビ抑制効果を示す酵母を取得することができる。指標とすべき生地B中の酢酸量の下限は、好ましくは450ppm以上、より好ましくは500ppm以上であり、上限は好ましくは1000ppm以下であり、より好ましくは900ppm以下である。

[0052] 本発明において酢酸量の測定は、次の通りである。生地10gに滅菌水40mlを加え、15000rpmで10分間ホモジナイズする（NISSEI社製「AM-8 HOMOGENIZER」使用）。この破砕液のpHをpHメータで測定した値を生地pHとする。pH測定後、直ちに10%塩化ベンザルコニウムを1ml添加し、破砕液50mlを得る。この破砕液を3

000 rpmで10分間遠心分離して、上清0.9 mlを分取し、10%過塩素酸0.1 mlを加えて十分混合した後、12000 rpmで10分間遠心分離した上清を、孔径0.45 μmのシリンジフィルターでろ過を行い試料溶液とする。得られる試料溶液について、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で酢酸量の測定を行う。HPLCによる分析条件は以下の通りである。本発明のパン酵母はカビ抑制性が高く、該パン酵母を用いると、生地中の酢酸量が多くなり、焼成後のパンに発生するカビの発生が遅くなる。

[0053] HPLC : SHIMAZU LC10AD
カラム : SCR101H
カラム温度 : 40℃
移動層流速 : 0.8 ml/min
移動層 : p-トルエンスルホン酸溶液 (pH 3.06)
反応液流速 : 0.8 ml/min
溶出液 : 0.05 M p-トルエンスルホン酸、1 mM EDTA、0.2 M Bis-Tris
検出器 : CDD-10A vp
(スクリーニング工程 (4))

スクリーニング工程 (4) では、スクリーニング工程 (3) で得た本発明の新規パン酵母から、さらに、配合4 (強力粉 : 100重量部、上白糖 : 15重量部、食塩 : 0.5重量部、酵母 (水分65%湿菌体) : 6重量部、水 : 58重量部)、条件5 (3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を20 g分割し、30℃で60分間前発酵した後、-20℃で4週間冷凍保存した生地を25℃で30分間解凍処理した後、38℃で2時間生地を発酵) で生地を発酵した時のガス発生量が100 ml以上となることを指標として酵母 (倍数体) を選択し、これも本発明のパン酵母として得る。

[0054] 本工程で、解凍後の生地を発酵した時のガス発生量が100 ml以上であることを指標にすると、既存の冷凍耐性を有する酵母に匹敵する酵母を取得することもできる。

[0055] (スクリーニング工程 (5))

スクリーニング工程 (5) では、スクリーニング工程 (3) または (4) で得た本発明の新規パン酵母から、配合 3' (強力粉 : 100 重量部、上白糖 : 30 重量部、乾燥させた酵母 : 2 重量部、水 (30℃) : 生地 A で使用した水と同量)、条件 4 に従って作製した生地 B' を AACC 法 54-10 に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が生地 B の抗張力の 50% 以上を示し、

生地 B' 中の酢酸量が生地 B 中の酢酸量の 75% 以上を示し、さらに、

配合 1' (強力粉 : 100 重量部、上白糖 : 30 重量部、食塩 : 0.5 重量部、乾燥させた酵母 : 2 重量部、水 : 52 重量部)、条件 3 で生地を発酵した時のガス発生量が、配合 1、条件 3 で生地を発酵した時のガス発生量の 50% 以上となることを指標として酵母 (倍数体) を選択し、これも本発明のパン酵母として得る。

[0056] 以上のようにスクリーニング工程 (1) ~ (3) を経て得られるパン酵母は、前記生地 B を AACC 法 54-10 に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が 500 B. U. 以上を示し、生地 B 中の酢酸量が 400 ppm 以上を示し、さらに、配合 1、条件 3 で生地を発酵した時のガス発生量が 360 ml 以上を示すパン酵母である。

[0057] スクリーニング工程 (1) ~ (3) に加えてさらに、スクリーニング工程 (4) を経て得られるパン酵母は、配合 4、条件 5 で解凍後の生地を発酵した時のガス発生量が 100 ml 以上を示すパン酵母である。

[0058] スクリーニング工程 (1) ~ (3) または (1) ~ (4) に加えてさらに、スクリーニング工程 (5) を経て得られるパン酵母は、該パン酵母を乾燥させて作製したドライイーストを用いて、配合 3'、条件 4 に従って作製した生地 B' の抗張力が生地 B の抗張力の 50% 以上を示し、生地 B' 中の酢酸量が生地 B 中の酢酸量の 75% 以上を示し、さらに、配合 1'、条件 3 で生地を発酵した時のガス発生量が、生イーストを用いて配合 1、条件 3 で生地を発酵した時のガス発生量の 50% 以上を示すパン酵母である。

[0059] 以上のように本発明のパン酵母は、高糖生地において生地軟化が懸念される条件でも、吸水を減らさずに生地軟化が抑制でき、ボリュームと腰高性の向上とカビ抑制性に優れている。また該パン酵母を用いてなるパンは、高糖であっても食感がソフトである。さらに、該パン酵母を含有する生地を冷凍保存してから製パンに使用した場合でも、解凍後の発酵力が高く、パンのボリュームが十分にでる。さらに、該パン酵母を乾燥させ、ドライイーストを作製してから製パンに使用した場合でも、軟化が抑制でき、ボリュームと腰高性の向上とカビ抑制性に優れており、生地を冷凍保存してから製パンに使用した場合でも、解凍後の発酵力が高く、パンのボリュームが十分にでる。本発明において、高糖生地とは、生地糖配合15～40重量%の生地のことであり、20～40重量部が好ましい。

[0060] 以上では、本発明のパン酵母をスクリーニング工程(1)～(5)により取得する実施形態を説明したが、本発明のパン酵母は以上のスクリーニング工程を経たものに限定されない。上述したように、生地Bの抗張力が500 B. U. 以上、生地B中の酢酸量が400 ppm以上、および、配合1、条件3で生地を発酵した時のガス発生量が360 ml以上の3つの機能、若しくは、前記の3つの機能に加えて、配合4、条件5で解凍後の生地を発酵した時のガス発生量が100 ml以上という4つの機能、さらに、ドライイーストとして使用した場合に生イーストの場合と比較して抗張力が50%以上、酢酸量が75%以上、ガス発生量が50%以上という機能を示せば、本発明のパン酵母に該当する。

[0061] 本発明のパン酵母は、スクリーニング工程(1)および(2)を実施することなく、スクリーニング工程(3)のみを実施することでも取得可能である。なお、スクリーニング工程(3)の後には、スクリーニング工程(4)及び/又は(5)を実施してもよい。スクリーニング工程(1)および(2)を実施しない場合、スクリーニング工程(3)で選択対象として使用する酵母は、上述したような孢子株(d)と孢子株(e)を常法に従って交雑して得られる第二世代酵母(倍数体)に限定されない。自然界の土壌、河川、

果実などから単離した酵母であってよく、また、このように単離した酵母から孢子株を取得し、これらを適宜組み合わせ、常法により交雑して得られる酵母であってもよい。また、市販の酵母であってもよい。しかし、スクリーニング工程（３）の前にスクリーニング工程（１）および（２）を実施することで、より確実に、本発明のパン酵母を取得することができる。

[0062] 本発明のパン酵母としては、サッカロミセス・セレビスエ (*Saccharomyces cerevisiae*) に属するパン酵母を選択することが好ましく、具体的には、KCY1240株（受託番号：NITE BP-1269）、サッカロミセス・セレビスエ KCY1249株（受託番号：NITE BP-1270）、サッカロミセス・セレビスエ KCY1251株（受託番号：NITE BP-1272）又は、サッカロミセス・セレビスエ KCY1254株（受託番号：NITE BP-1396）が得られている。前記KCY1240株、KCY1249株、KCY1251株、KCY1254株はそれぞれ、サッカロミセス・セレビスエ「NITE BP-1269（2012年3月6日（原寄託日）に寄託されたNITE P-1269から移管。移管日：2013年2月20日）」、「NITE BP-1270（2012年3月6日（原寄託日）に寄託されたNITE P-1270から移管。移管日：2013年2月20日）」、「NITE BP-1272（2012年3月6日（原寄託日）に寄託されたNITE P-1272から移管。移管日：2013年2月20日）」、「NITE BP-1396（2012年7月27日（原寄託日）に寄託されたNITE P-1396から移管。移管日：2013年2月20日）」として、独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター（日本国千葉県木更津市かずさ鎌足2丁目5番地8）に寄託している。

[0063] 本発明のパン酵母は、糖濃度が15重量%～40重量%であるパン生地の作製において好適に使用できる。糖濃度が15重量%未満では、生地総量に対するグルテン量が生地軟化を発生させる程減少せず、本発明のパン酵母の特徴が発揮され難い。一方、糖濃度が40重量%を超えると、生地総量に対

するグルテン量が極端に減少し、さらに浸透圧の影響を大きく受け、本発明のパン酵母の特徴が発揮され難い。

実施例

[0064] 以下に実施例を示し、本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に何ら限定されるものではない。なお、実施例において「部」や「%」は重量基準である。

[0065] また、以下の実施例に使用した材料について、小麦粉は1等級粉「カメリア」（日清製粉社製）を使用し、イーストフードは「イーストフードC」（カネカ社製）、ショートニングは「スノーライト」（カネカ社製）を使用した。その他の製パン材料および製パン副原料は、一般小売店から入手可能なものを使用した。

[0066] 実施例の製パン評価における酵母の使用量は、水分65%湿菌体の使用量として記載しており、実際に水分含量が違う際には、記載された酵母の純分量が合うように使用し、水の量は実際の湿菌体の水分含量に合わせて添加量を調整した。水分約5%のドライイーストを使用する場合は湿菌体の半分量を使用した。

[0067] <中種ガス発生量測定>

実施例で作製した中種ミキシング終了後の生地20gのガス量をファーモグラフII（ATTO社製）を用いて30℃4時間測定し、全ガス量に2.5を乗じ、中種ミキシング終了後の生地50gに相当する全ガス量を算出した。

[0068] <ホイロガス発生量測定>

実施例で作製した本捏ミキシング終了後の生地、あるいは解凍後の生地20gのガス量をファーモグラフII（ATTO社製）を用いて38℃2時間測定し、全ガス量に2.5を乗じ、本捏生地50gに相当する全ガス量を算出した。

[0069] <パンの比容積・腰高性評価>

実施例で作製した生地350gをワンローフ成型、或いは生地60gをロ

ール型成型し、焼成したパンを25℃で焼成24時間保管した後に、その比容積（体積／重量）及び腰高性（高さ）をレーザー体積計（アステック社製）で測定した。

[0070] <パンの硬さ評価>

実施例で得られたパンを25℃で24時間保管後に、そのパンクラムを20mm厚に切り出して、レオナーメーター（機器名：YAMADEN CREEP METER RE2-33005S、山電社製）で以下の条件で測定した。

[0071] 接触面積 : 2500mm²
 プランジャー : 80mm
 測定歪率 : 50%
 測定速度 : 1mm/s

この方法によって得られたかたさ荷重[N]をパンクラムの硬さと判断し、この値が小さいほど、柔らかいパンであるといえる。

[0072] <カビ塗布方式によるカビ抑制性の評価>

作製したパンを空気中で1日放置させた後、ナイロン袋で密封して20℃で10日間放置させてカビを十分に生育させたパンを0.3g秤量し、滅菌水10mlに懸濁して始発濃度とする。さらにこの始発濃度の懸濁液を元に、別の滅菌水にて10倍ずつ100000倍まで順次希釈した懸濁液を作製した。

[0073] カビ発生試験には、目的サンプルのパンを2cmの厚さでスライスし、作製した希釈倍率100倍、1000倍、10000倍及び100000倍の4水準のカビ懸濁液10μlをn数=4でパンのクラム部分へ塗布したのち、ナイロン袋で密封し、30℃で4日間放置し、スライスしたクラム表面に増殖したカビの広がりと比較し、カビ抑制性を評価した。その際の評価基準は以下の通りであった。

－：カビの発生が見られない、

±：希釈倍率が最も高いところで極めて僅かなカビの胞子が見られる、

+ : 希釈倍率が最も高いところで1 mm程度のカビ胞子の広がりが見られる、

++ : 1 ~ 1.5 mm程度のカビ胞子の広がりが散見される、

+++ : 2 mm以上のカビ胞子の広がりが散見される。

[0074] (実施例1~3) K C Y 1 2 4 0株、K C Y 1 2 4 9株、K C Y 1 2 5 1株の取得

(スクリーニング工程(1) - 1 : 胞子株(a)の取得)

日本国内の土壌及び植物等から単離した*Saccharomyces cerevisiae*株(2倍体)(東北地方:380サンプル/1167分離菌、四国地方:236サンプル/695分離菌、中国地方:347サンプル/468分離菌、九州地方:294サンプル/752分離菌、その他:55サンプル/111分離菌)から胞子株を取得し、その内ランダムに選択した数々の組み合わせで18種の交雑株を作製し、条件1で培養した。

[0075] 得られた18種の酵母(倍数体)の培養上清のグルタチオン量を、前記の測定方法に準拠して測定し、グルタチオン量が $120 \mu\text{mol/L}$ 以下であった5株の酵母(倍数体)を選抜した。これらの酵母(倍数体)を同定したところ、サッカロミセス・セレビスエであり、特にグルタチオン量が $104.3 \mu\text{mol/L}$ と少なかった株を受託番号:N I T E B P - 1 2 7 1 (K C Y 1 2 5 0株)として、独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター(日本国千葉県木更津市かずさ鎌足2丁目5番地8)に寄託した(2012年3月6日(原寄託日)に寄託されたN I T E P - 1 2 7 1から移管。移管日:2013年2月20日)。選抜した5株の酵母(倍数体)をそれぞれ胞子形成させ、該胞子を分離して得られた合計20種の胞子株を胞子株(a)とした。

[0076] (スクリーニング工程(1) - 2 : 胞子株(b)の取得)

スクリーニング工程(1) - 1で得た18種の交雑株を条件1で培養した。各培養液をドライ換算で酵母含量が 100mg になるよう分取し、それを遠心分離して得られる各酵母菌体(倍数体)を、条件2で発酵させ、得られ

た発酵液の上清のpHが5.0以下となるパン酵母5株を選抜した。これら5株の内、1株は市販されているカネカ社製カネカイーストDR（商品名）であり、pHが4.85であった。これら5株のパン酵母（倍数体）をそれぞれ孢子形成させ、該孢子を分離して得られた合計20種の孢子株を孢子株（b）とした。

[0077] （スクリーニング工程（1）－3：孢子株（c）の取得）

スクリーニング工程（1）－1で得た18種の交雑株を条件1で培養した。得られた各菌体（倍数体）を用いて、配合1、条件3で生地を作製、発酵した時のガス発生量を前記の測定方法に従い測定した。ガス発生量が300ml以上となるパン酵母10株（倍数体）を選抜した。10株の内、1株は市販されているカネカ社製カネカイーストTR（商品名）であり、ガス発生量が369mlであった。これら10株のパン酵母（倍数体）をそれぞれ孢子形成させ、該孢子を分離して得られた合計40種の孢子株を孢子株（c）とした。

[0078] （スクリーニング工程（2）－1：孢子株（d）の取得）

前記孢子株（a）と前記孢子株（b）を常法に従って交雑して30種の第一世代交雑株を得、それらを条件1で培養した。得られた30種の交雑株の培養上清のグルタチオン量を、前記の測定方法に準拠して測定し、グルタチオン量が $120\mu\text{mol/L}$ 以下で、且つ、該培養液をドライ換算で酵母含量が100mgになるよう分取し、それを遠心分離して得られるパン酵母（倍数体）を条件2で発酵させ、得られた発酵液の上清のpHが5.0以下であったパン酵母（倍数体）を12株選抜した。これらのパン酵母（倍数体）をそれぞれ孢子形成させ、該孢子を分離して得られた48種の孢子株を孢子株（d）とした。

[0079] （スクリーニング工程（2）－2：孢子株（e）の取得）

前記孢子株（b）と前記孢子株（c）を常法に従って交雑して28種の第一世代交雑株を得、それを条件1で培養した。得られた28種の交雑株の培養液をドライ換算で酵母含量が100mgになるよう分取し、それを遠心分

離して得られるパン酵母（倍数体）を条件2で発酵させ、得られた発酵液の上清のpHが5.0以下で、且つ、該パン酵母（倍数体）を条件1で培養し、得られた酵母菌体を用いて、配合1、条件3で生地を作製、発酵した時の、前記の測定方法に従い測定したガス発生量が300ml以上であったパン酵母（倍数体）を10株選抜した。これらのパン酵母（倍数体）をそれぞれ孢子形成させ、該孢子を分離して得られた40種の孢子株を孢子株（e）とした。

[0080] （スクリーニング工程（3）： K C Y 1 2 4 0 株、 K C Y 1 2 4 9 株、 K C Y 1 2 5 1 株の取得）

前記孢子株（d）と前記孢子株（e）を常法に従って交雑して22種の第二世代交雑株を得、それを条件1で培養した。得られた酵母菌体の中から、配合2、条件4に従って作製した生地について前記の測定方法に従って測定した抗張力が500B.U.になるよう水（30℃）の量を調節して生地Aとし、配合3、条件4に従って作製した生地Bについて同様に測定した抗張力が500B.U.以上であって、該生地B中について前記の測定方法に従って測定した酢酸量が400ppm以上、および配合1、条件3で生地を作製、発酵した時の、前記の測定方法に従い測定したガス発生量が360ml以上であったパン酵母を複数得た。

[0081] そのうち3株を同定したところサッカロミセス・セレビスエであり、受託番号：N I T E B P - 1 2 6 9（K C Y 1 2 4 0 株・実施例1）、受託番号：N I T E B P - 1 2 7 0（K C Y 1 2 4 9 株・実施例2）、受託番号：N I T E B P - 1 2 7 2（K C Y 1 2 5 1 株・実施例3）として、独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター（日本国千葉県木更津市かずさ鎌足2丁目5番地8）に寄託した（移管日：2013年2月20日）。

[0082] これらK C Y 1 2 4 0 株、 K C Y 1 2 4 9 株、 又は K C Y 1 2 5 1 株を用いて作製した生地Bの抗張力及び酢酸量と、配合1、条件3で生地を作製、発酵した時のガス発生量を表11に示した。

[0083] (比較例1) K C Y 1 2 5 0 株

前記(スクリーニング工程(1)-1)で得たK C Y 1 2 5 0 株を用いて作製した生地Bの抗張力及び酢酸量と、配合1、条件3で生地を作製、発酵した時のガス発生量を表11に示した。

[0084] (比較例2) カネカ社製カネカイーストDR

(スクリーニング工程(1)-2)で得た、市販されているカネカ社製カネカイーストDRを用いた以外は比較例1と同様にして測定した抗張力、酢酸量、およびガス発生量を表11に示した。

[0085] (比較例3) カネカ社製カネカイーストTR

(スクリーニング工程(1)-3)で得た、市販されているカネカ社製カネカイーストTRを用いた以外は比較例1と同様にして測定した抗張力、酢酸量、およびガス発生量を表11に示した。

[0086] (実施例10) K C Y 1 2 5 4 株の取得

(スクリーニング工程(4) : K C Y 1 2 5 4 株の取得)

前記スクリーニング工程(3)で得られた複数のパン酵母から、さらに、配合4(強力粉:100重量部、上白糖:15重量部、食塩:0.5重量部、酵母(水分65%湿菌体):6重量部、水:58重量部、(表18に記載))、条件5(3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を20g分割し、30℃で60分間前発酵した後、-20℃で4週間冷凍保存した生地を25℃で30分間解凍処理した後、38℃で2時間生地を発酵、(表18に記載))で生地を発酵した時のガス発生量が100ml以上であったパン酵母を新たに1株得た。

[0087] これを同定したところサッカロミセス・セレビスエであり、受託番号: N I T E B P - 1 3 9 6 (K C Y 1 2 5 4 株・実施例10)として、独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター(日本国千葉県木更津市かずさ鎌足2丁目5番地8)に寄託した(移管日:2013年2月20日)。

[0088] (実施例12) K C Y 1 2 5 4 株の取得

(スクリーニング工程 (5)) : K C Y 1 2 5 4 株の取得)

さらに、前記スクリーニング工程 (3) または (4) で得られたパン酵母を乾燥させて作製したドライイーストを用いて、配合 3' (強力粉 : 100 重量部、上白糖 : 30 重量部、乾燥させた酵母 : 2 重量部、水 (30℃) : 生地 A で使用した水と同量)、条件 4 に従って作製した生地 B' を A A C C 法 5 4 - 1 0 に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が生地 B の抗張力の 50% 以上を示し、

生地 B' 中の酢酸量が生地 B 中の酢酸量の 75% 以上を示し、さらに、配合 1'、条件 3 で生地を作製、発酵した時のガス発生量を前記の測定方法に従い測定した時のガス発生量が生イーストを用いて配合 1、条件 3 で生地を作製、発酵した時のガス発生量の 50% 以上となるパン酵母を新たに 1 株得た。

[0089] これを同定したところサッカロミセス・セレビシエであり、受託番号 : N I T E B P - 1 3 9 6 (K C Y 1 2 5 4 株・実施例 1 2) として、独立行政法人製品評価技術基盤機構 特許微生物寄託センター (日本国千葉県木更津市かずさ鎌足 2 丁目 5 番地 8) に寄託した (受託日 : 2013 年 2 月 20 日)。

[0090] (製造例)

以下の実施例・比較例において、製パン試験に供するパン酵母を得るために、以下のように培養を行った。

[0091] <バッチ培養>

表 4 に記載の組成の培地を大型試験管に 5 m l、500 m l 坂口フラスコに 50 m l 分注し、オートクレーブ殺菌した後、培養に使用する。育種株 1 白金耳を大型試験管に植菌し、30℃、1 日間振とう培養後 500 m l 坂口フラスコに継植して、さらに 30℃、1 日間振とう培養により作製したバッチ培養菌体を以下の 5 L ジャーの種母培養に供した。なお、培地の調整の際に、糖は糖蜜を使用し、糖濃度 4% (重量/体積) 分になるよう調整した。

[0092] <5 L ジャー種母培養>

5 Lジャーに表5に記載の組成の培地2 Lを入れて、オートクレーブ殺菌後、500 ml坂口フラスコ5本分の菌体を植菌し、表6に記載の条件で種母培養を行った。なお、培地の調整の際に、糖は糖蜜を使用し、糖濃度4%（重量/体積）分になるよう調整した。

[0093] <5 Lジャー本培養>

始発液を表7に記載の培地組成として、5 Lジャーで培養した種母菌体を湿菌体として50 g添加し、表8に記載の条件で本培養を行った。具体的には13時間培養を行い、糖は12時間培養の間に分割添加した。5 Lジャー培養菌体は培養終了後直ちに遠心分離し、ヌッチェにより吸引脱水し湿菌体を作製、以下の実施例に使用した。なお、培地の調整の際に、糖としては糖蜜を、糖濃度測定後に230 g添加した。

[0094] <ドライイースト作製>

上記製造例に従って5 Lジャーで培養を行い作製した湿菌体に、乾燥菌体重量あたり0.5~2.0%の乳化剤を添加後、十分に混合し、整粒機（不二パウダル社製 ドームグランDG-L1）を用いて麺状（ $\phi=0.5$ mm）に成型してから、流動層乾燥機（フロイント産業社製 フローコーターMINI）を用いて、吸気温度40~50°Cで水分含量が2~8%になるまで乾燥させた。

[0095] （実施例4~6） 製パン評価 生地含有水分61.5%

NITE BP-1269（KCY1240株・実施例4）、NITE BP-1270（KCY1249株・実施例5）、NITE BP-1272（KCY1251株・実施例6）それぞれを用いて、表12に記載の配合1、表13に記載の工程によりパン生地を作製した。作製したパン生地について、<中種ガス発生量測定>に従って測定した中種ガス発生量、及び、<ホイロガス発生量測定>に従って測定したホイロガス発生量、並びに、中種生地とフロア20分生地について、上記のようにエクステンソグラムで測定した抗張力を表14に示した。各パン生地を焼成して作製したパンのボリューム（比容積）、腰高性を前記の<パンの比容積・腰高性評価>に従って測

定し、表 15 に示した。さらに、前記の〈パンの硬さ評価〉に従って測定したパンクラムの硬さ、および、前記の酢酸量測定に従って測定した酢酸濃度および前記の〈カビ塗布方式によるカビ抑制性の評価〉に従って評価したカビの発生状態を表 15 に示した。

[0096] (実施例 7-9) 製パン評価 生地含有水分 65.5%

NITE BP-1269 (KCY1240 株・実施例 7)、NITE BP-1270 (KCY1249 株・実施例 8)、NITE BP-1272 (KCY1251 株・実施例 9) それぞれを用いて、表 12 に記載の配合 2、表 13 に記載の工程によりパン生地を作製した。作製したパン生地について、実施例 4-6 と同様に測定した中種ガス発生量及びホイロガス発生量、並びに、中種生地とフロア 20 分生地の抗張力を表 16 に示した。各パン生地を焼成して作製したパンについて実施例 4-6 と同様に測定した、ボリューム (比容積)、腰高性、パンクラムの硬さ、酢酸濃度、及びカビの発生状態を表 17 に示した。

[0097] (比較例 4-8) 従来パン酵母の製パン評価 生地含有水分 61.5%

KCY1250 (比較例 4)、カネカ社製カネカイースト DR (比較例 5)、カネカ社製カネカイースト TR (比較例 6)、カネカ社製カネカイースト GA (比較例 7)、カネカ社製カネカイースト RED (比較例 8) それぞれを用いて、表 12 に記載の配合 1、表 13 に記載の工程によりパン生地を作製した。作製したパン生地について、実施例 4-6 と同様に測定した中種ガス発生量及びホイロガス発生量、並びに、中種生地とフロア 20 分生地の抗張力を表 14 に示した。各パン生地を焼成して作製したパンについて実施例 4-6 と同様に測定した、ボリューム (比容積)、腰高性、パンクラムの硬さ、酢酸濃度及びカビの発生状態を表 15 に示した。

[0098] (比較例 9-13) 従来パン酵母の製パン評価 生地含有水分 65.5%

KCY1250 (比較例 9)、カネカ社製カネカイースト DR (比較例 10)、カネカ社製カネカイースト TR (比較例 11)、カネカ社製カネカイースト GA (比較例 12)、カネカ社製カネカイースト RED (比較例 13)

）それぞれを用いて、表 1 2 に記載の配合 2、表 1 3 に記載の工程によりパン生地を作製した。作製したパン生地について、実施例 4 - 6 と同様に測定した中種ガス発生量及びホイログス発生量、並びに、中種生地とフロア 2 0 分生地の抗張力を表 1 6 に示した。各パン生地を焼成して作製したパンについて実施例 4 - 6 と同様に測定した、ボリューム（比容積）、腰高性、パンクラムの硬さ、酢酸濃度及びカビの発生状態を表 1 7 に示した。

[0099] 図 1 は、実施例 4 - 6 及び比較例 4 - 8 について測定した中種生地とフロア 2 0 分生地の抗張力を示す。図 2 は、実施例 4 - 6 及び比較例 4 - 8 について測定したボリューム（比容積）を示す。図 3 は、実施例 4 - 6 及び比較例 4 - 8 について測定した腰高性を示す。図 4 は、実施例 4 - 9 及び比較例 4 - 1 3 について測定したフロア 2 0 分生地の抗張力を示す。図 5 は、実施例 4 - 9 及び比較例 4 - 1 3 について測定したボリューム（比容積）を示す。図 6 は、実施例 4 - 9 及び比較例 4 - 1 3 について測定した腰高性を示す。図 7 は、実施例 4 - 9 及び比較例 4 - 1 3 について測定したパンクラムの硬さを示す。

[0100] 以上の結果から、図 1 に示すように、K C Y 1 2 4 0 株、K C Y 1 2 4 9 株、K C Y 1 2 5 1 株、および比較例の K C Y 1 2 5 0 株、カネカ社製カネカイースト G A は、カネカ社製カネカイースト D R、カネカ社製カネカイースト R E D と比較すると、抗張力が高く、生地軟化が抑制されている。それ故に、図 2 及び図 3 に示すように、パンのボリューム、及び腰高性も、カネカ社製カネカイースト D R、カネカ社製カネカイースト R E D と比較すると向上している傾向にある。

[0101] さらに図 4 に示すように、吸水量を増加すると、いずれの菌株を用いた生地でも抗張力は低下している。しかし、図 5 及び図 6 に示すように、K C Y 1 2 4 0 株、K C Y 1 2 4 9 株、K C Y 1 2 5 1 株、比較例の K C Y 1 2 5 0 株、及びカネカ社製カネカイースト G A に関しては、ボリューム及び腰高性の大きな低下は見られない。このことから、抗張力の高い生地は吸水量を減らさなくても、ボリューム及び腰高性の大きなパンが作製できるといえる

。同時に、図7から、吸水量の増加によって、パンのソフトさも向上できていることが分かる。

[0102] 酢酸生成量とそれに伴うカビ抑制効果について、表15及び17に示すように、KCY1240株、KCY1249株は、カビ抑制機能を有するカネカイーストDRと同等、若しくはそれ以上の酢酸生成量を示し、カビ抑制効果を有することが顕著に示された。KCY1251株はこれらの株より酢酸生成量が劣るも、KCY1250株、カネカイーストTR、カネカイーストGA、及びカネカイーストREDよりもカビ抑制効果が高いことが確認できた。

[0103] (実施例11) 冷凍生地製パン評価

NITE BP-1396 (KCY1254株) を用いて、表19に記載の配合、表20に記載の工程2により冷凍生地を解凍してパン生地を作製した。作製したパン生地の解凍後のガス発生量は<ホイログス発生量測定>に従って測定し、表21に示した。該生地を焼成して作製したパンのボリューム(比容積)、腰高性を前記の<パンの比容積・腰高性評価>に従って測定し、表21に示した。さらに、前記の<パンの硬さ評価>に従って測定したパンクラムの硬さ、および、前記の酢酸量測定に従って測定した酢酸濃度および前記の<カビ塗布方式によるカビ抑制性の評価>に従って評価したカビの発生状態を表21に示した。

[0104] (比較例14-16) 従来パン酵母の冷凍生地製パン評価

カネカ社製カネカイーストDR(比較例14)、カネカ社製カネカイーストGA(比較例15)、カネカ社製カネカイーストRED(比較例16)を用いて、表19に記載の配合、表20に記載の工程2によりパン生地を作製した。作製したパン生地について、実施例11と同様に測定した解凍後のパン生地のガス発生量、並びに、各パン生地を焼成して作製したパンについて実施例11と同様に測定した、ボリューム(比容積)、腰高性、パンクラムの硬さ、酢酸濃度及びカビの発生状態を表21に示した。

[0105] 図8は、実施例11及び比較例14-16について測定したボリューム(

比容積)を示す。図9は、実施例11及び比較例14-16について測定した腰高性を示す。図10は、実施例11及び比較例14-16について測定したパンクラムの硬さを示す。

[0106] 以上の結果から、表21で示すように、KCY1254株は冷凍耐性を有しているため、解凍後のガス発生量も多く、それ故に、図8・図9に示すように、従来イーストと比較して、ボリューム、及び腰高性に優れたパンが作製できていることがわかる。さらに図10に示すように、冷凍生地で作製したパンでもKCY1254株ではソフトさの低下が起きていないことが分かる。

[0107] また、酢酸生成量とそれに伴うカビ抑制効果について、表21に示すように、KCY1254株は、カビ抑制機能を有するカネカイーストDRと同等のカビ抑制効果を有することが顕著に示された。

[0108] (実施例13) ドライイースト製パン試験

NITE BP-1396 (KCY1254株)、或いは、これを乾燥させて作製したドライイーストを用いて、表19に記載の配合で、表20記載の工程1によりパン生地を作製し、作製したパン生地のガス発生量を<ホイログス発生量測定>に従って測定し、更に上記のように抗張力を測定し、表22に示した。該生地を焼成して作製したパンのボリューム(比容積)を前記の<パンの比容積・腰高性評価>に従って測定し、表22に示した。さらに、前記の酢酸量測定に従って測定した酢酸濃度、および、前記の<カビ塗布方式によるカビ抑制性の評価>に従って評価したカビの発生状態を表22に示した。

[0109] (比較例17-19) 従来パン酵母の冷凍生地製パン評価

カネカ社製カネカイーストDR(比較例17)、カネカ社製カネカイーストGA(比較例18)、カネカ社製カネカイーストRED(比較例19)、或いはこれらをそれぞれ乾燥させて作製したドライイーストを用いて、実施例13と同様にしてパン生地を作製した。作製したパン生地について、実施例13と同様に測定したガス発生量、抗張力、並びに、各パン生地を焼成し

て作製したパンについて実施例 13 と同様に測定した、ボリューム（比容積）、酢酸濃度、及びカビの発生状態を表 22 に示した。

[0110] 図 11、12 は、実施例 13 及び比較例 17-19 について測定した抗張力、およびボリューム（比容積）を示す。

[0111] 以上の結果から、表 22 で示すように、KCY1254 株は乾燥耐性を有しているため、ドライイーストとして使用した場合でも、ガス発生量が多く、それ故に、図 11、図 12 に示すように、従来イーストと比較して、抗張力、ボリュームに優れたパンが作製できていることがわかる。

[0112] また、酢酸生成量とそれに伴うカビ抑制効果について、表 22 に示すように、KCY1254 株は、カビ抑制機能を有するカネカイースト DR と同等のカビ抑制効果を有することが顕著に示された。

[0113] （実施例 14） ドライイーストの冷凍生地製パン試験

NITE BP-1396（KCY1254 株）、或いは、これを乾燥させて作製したドライイーストを用いて、表 19 に記載の配合、表 20 に記載の工程 2 により冷凍生地を解凍してパン生地を作製した。作製したパン生地の解凍後のガス発生量は＜ホイログス発生量測定＞に従って測定し、更に上記のように抗張力を測定し、表 23 に示した。該生地を焼成して作製したパンのボリューム（比容積）に従って測定し、表 23 に示した。さらに、前記の酢酸量測定に従って測定した酢酸濃度、および、前記の＜カビ塗布方式によるカビ抑制性の評価＞に従って評価したカビの発生状態を表 23 に示した。

[0114] （比較例 20-22）従来パン酵母の冷凍生地製パン評価

カネカ社製カネカイースト DR（比較例 20）、カネカ社製カネカイースト GA（比較例 21）、カネカ社製カネカイースト RED（比較例 22）、或いはこれらをそれぞれ乾燥させて作製したドライイーストを用いて、実施例 14 と同様にしてパン生地を作製した。作製したパン生地について、実施例 14 と同様に測定した解凍後のガス発生量、抗張力、並びに、各パン生地を焼成して作製したパンについて実施例 14 と同様に測定した、ボリューム

(比容積)、酢酸濃度、及びカビの発生状態を表23に示した。

[0115] 図13、14は、実施例14及び比較例20-22について測定した抗張力、およびボリューム（比容積）を示す。

[0116] 以上の結果から、表23で示すように、KCY1254株は冷凍耐性に加えて乾燥耐性も有しているため、ドライイーストとして使用した場合でも、解凍後のガス発生量も多く、それ故に、図13、14に示すように、従来イーストと比較して、抗張力、ボリュームに優れたパンが作製できていることがわかる。

[0117] また、酢酸生成量とそれに伴うカビ抑制効果について、表23に示すように、KCY1254株は、カビ抑制機能を有するカネカイーストDRと同等のカビ抑制効果を有することが顕著に示された。

[0118] 即ち、本発明による菌株（KCY1240株、KCY1249株、KCY1251株、KCY1254株）は、生地抗張力を高める機能を有し、特に、高糖生地において、吸水を減らすことなく、生地軟化を抑制し、ボリュームと腰高性を向上させ、カビ抑制効果も発揮すると同時に、吸水の増加によるソフトさとしっとり感の向上も可能にする。そしてさらに、KCY1254株は高い冷凍耐性機能も有していることから、長期冷凍によるボリュームやソフトさの低下を抑制することも可能である菌株であることが分かった。さらに、KCY1254株は高い乾燥耐性機能も有していることから、該パン酵母から作製したドライイーストを用いた場合でも、高糖生地において、吸水を減らすことなく、生地軟化を抑制し、ボリュームと腰高性を向上させ、カビ抑制効果も発揮すると同時に、吸水の増加によるソフトさとしっとり感の向上も可能にし、さらに長期冷凍によるボリュームやソフトさの低下を抑制することも可能である。

[0119]

[表1]

ガス発生量測定用パン生地、配合1、条件3

配合1	強力粉	100重量部
	上白糖	30重量部
	食塩	0.5重量部
	酵母(湿菌体)	4重量部
	水	52重量部
条件3	①3分間ホバートミキサーN50でミキシング ②38°Cで2時間発酵	

*ホバートミキサーはホバートジャパン社製

[0120] [表2]

グルタチオン量及びpH測定用菌体作製培地組成、条件1

酵母エキス	1重量部
ペプトン	2重量部
グルコース	2重量部
水	95重量部
酵母	1白金耳

[0121] [表3]

pH測定用培地組成、条件2

マルトース	10重量部
グルコース	0.6重量部
クエン酸バッファー (クエン酸12.3重量%水溶液 pH5.28)	3.2重量部
食塩	1重量部
水	85.2重量部

[0122]

[表4]

大型試験管種母及び坂口フラスコ種母の培地組成

糖(糖蜜として)	4重量部
尿素	0.3重量部
硫酸アンモニウム	0.08重量部
リン酸水素ニアンモニウム	0.04重量部
硫酸亜鉛	0.005重量部

各数値は、水でメスアップ後の培地全体中の重量比を示す。

[0123] [表5]

5Lジャー種母培養培地組成

糖(糖蜜として)	90g
尿素	6.75g
硫酸アンモニウム	1.8g
リン酸水素ニアンモニウム	0.9g
硫酸亜鉛	11.25mg
水	2250mlにメスアップ

[0124] [表6]

5Lジャー種母培養条件

通気	2.5nl/min
攪拌	650rpm
温度	33°C
pH	4.7コントロール (14%アンモニア水使用)

[0125]

[表7]

5Lジャー本培養培地組成

糖(糖蜜として)	230g
尿素	4.9g
75%リン酸	1.4ml
硫酸亜鉛	20mg
ビタミンB1	10.5mg
水	2000ml

[0126] [表8]

5Lジャー本培養条件

通気	2.5nl/min
攪拌	650rpm
温度	33°C
pH	5.0コントロール (14%アンモニア水使用)

[0127] [表9]

抗張力測定用パン生地配合

	配合2(生地A)	配合3(生地B)
強力粉	100重量部	100重量部
上白糖	30重量部	30重量部
酵母(湿菌体)	0重量部	4重量部
水(30°C)	任意量	生地Aの水と同量

[0128]

[表10]

抗張力測定用パン生地作製工程、条件4

①3分間ホバートミキサーでミキシング
②150g分割
③30°C160分静置
④モルダー成型(W:18mm H:22.5mm)

*ホバートミキサーはホバートジャパン社製

[0129] [表11]

		抗張力 (B.U.)	酢酸量 (ppm)	ガス発生量 (ml)	解凍後ガス発生量 (ml)
実施例1	KCY1240株	592	580	373	127
実施例2	KCY1249株	600	648	372	121
実施例3	KCY1251株	597	484	383	134
実施例10	KCY1254株	601	712	365	135
比較例1	KCY1250株	609	295	250	-
比較例2	カネカイーストDR	460	840	312	-
比較例3	カネカイーストTR	480	198	369	-

[0130] [表12]

製パン配合

生地配合	中種	本捏	
		配合1	配合2
小麦粉1.5kg使用			
小麦粉 カメリヤ	70重量部	30重量部	30重量部
上白糖	3重量部	25重量部	25重量部
食塩		1重量部	1重量部
パン酵母	3.5重量部		
イーストフード ニューフードC	0.1重量部		
脱脂粉乳		2重量部	2重量部
油脂 スノーライト		10重量部	10重量部
全卵(水分7.5%)		10重量部	10重量部
水	40重量部	14重量部	18重量部

[0131]

[表13]

製パン工程

中種ミキシング(カントー20コートミキサー)	低速2分→中速2分
中種生地捏上げ温度	25°C±0.5°C
中種発酵	28°C150分
本捏ミキシング(カントー20コートミキサー)	低速2分→中速6分 油脂投入 低速2分→中速7分
本捏生地捏上げ温度	28°C±0.5°C
フロアタイム	20分
生地分割	ワンローフ型350g プルマン型240g×6
ベンチタイム	20分
モルダー成型	
ホイロ発酵	温度38°C湿度85% ワンローフ:60分 プルマン:45分
焼成	ワンローフ:200°C30分 プルマン:200°C33分

[0132] [表14]

生地含有水分61.5%		中種ガス発生量 (ml/4h)	ホイロガス発生量 (ml/2h)	中種抗張力 (B.U.)	フロア抗張力 (B.U.)
実施例4	KCY1240	613	342	632	475
実施例5	KCY1249	624	331	540	599
実施例6	KCY1251	624	354	532	382
比較例4	KCY1250	588	323	250	536
比較例5	カネカイーストDR	654	298	184	209
比較例6	カネカイーストTR	649	326	414	382
比較例7	カネカイーストGA	631	321	572	585
比較例8	カネカイーストRED	637	266	198	351

[0133]

[表15]

生地含有水分61.5%		ポリユーム (ml/g)	腰高性 (mm)	硬さ (N)	酢酸濃度 (ppm)	カビ発生
実施例4	KCY1240	5.51	135	3.8	813	—
実施例5	KCY1249	5.53	134	3.5	927	—
実施例6	KCY1251	5.40	133	3.5	572	—
比較例4	KCY1250	5.63	136	3.5	345	++
比較例5	カネカイーストDR	5.05	119	5.7	874	—
比較例6	カネカイーストTR	5.30	132	3.6	469	+
比較例7	カネカイーストGA	5.53	132	3.6	350	++
比較例8	カネカイーストRED	5.10	117	4.7	506	±

[0134] [表16]

生地含有水分65.5%		中種ガス発生量 (ml/4h)	ホイログス発生量 (ml/2h)	中種抗張力 (B.U.)	フロア抗張力 (B.U.)
実施例7	KCY1240	613	354	632	427
実施例8	KCY1249	624	348	540	400
実施例9	KCY1251	624	354	532	342
比較例9	KCY1250	588	331	250	522
比較例10	カネカイーストDR	654	312	184	161
比較例11	カネカイーストTR	649	337	414	318
比較例12	カネカイーストGA	631	340	572	410
比較例13	カネカイーストRED	637	273	198	232

[0135] [表17]

生地含有水分65.5%		ポリユーム (ml/g)	腰高性 (mm)	硬さ (N)	酢酸濃度 (ppm)	カビ発生
実施例7	KCY1240	5.56	136	3.4	719	—
実施例8	KCY1249	5.56	137	3.3	951	—
実施例9	KCY1251	5.45	134	3.2	540	±
比較例9	KCY1250	5.61	135	3.5	399	+++
比較例10	カネカイーストDR	4.66	116	5.4	849	—
比較例11	カネカイーストTR	5.29	126	3.5	451	++
比較例12	カネカイーストGA	5.53	131	3.5	392	+++
比較例13	カネカイーストRED	4.71	113	4.4	473	++

[0136]

[表18]

ガス発生量測定用冷凍パン生地、配合4、条件5

配合4	強力粉	100重量部
	上白糖	15重量部
	食塩	0.5重量部
	酵母(湿菌体)	6重量部
	水	58重量部
条件5	①3分間ホバートミキサーN50でミキシング	
	②20gを前発酵(30°C60分)	
	③-20°Cで冷凍保存(4週間)	
	④25°C30分解凍処理	
	⑤38°Cで2時間発酵	

*ホバートミキサーはホバートジャパン社製

[0137] [表19]

冷凍製パン配合

小麦粉1.5kg使用		
小麦粉	カメリヤ	100重量部
上白糖		30重量部
食塩		0.8重量部
パン酵母		4重量部
イーストフード	KDIMEF4	0.6重量部
脱脂粉乳		3重量部
油脂	スノーライト	10重量部
水		57重量部

[0138]

[表20]

製パン工程

工程		工程1	工程2
ミキシング	低速2分→中速4分→高速2分 油脂投入 低速2分→中速5分→高速1分	○	○
生地捏上げ温度	24°C±0.5°C	○	○
フロアタイム	60分	○	○
生地分割、丸め	ロール型60g	○	○
ベンチタイム	25分	○	○
成型	14-8-2 W フリ-	○	○
急速冷凍	-30°C2時間	-	○
冷凍保存	-20°C8週間	-	○
解凍条件	温度25°C湿度70% 生地表面温度が20°Cになる まで解凍する。	-	○
ホイロ	温度38°C 60分	○	○
焼成	200°C10分	○	○

[0139] [表21]

		解凍後ガス発生量 (ml/2h)	ポリューム (ml/g)	腰高性 (mm)	硬さ (N)	酢酸濃度 (ppm)	カビ発生
実施例11	KCY1254	149	5.77	43.4	3.96	505	±
比較例14	カネカイーストDR	116	5.09	38.0	4.78	472	-
比較例15	カネカイーストGA	139	5.43	41.0	4.93	197	+++
比較例16	カネカイーストRED	117	5.14	40.3	5.02	205	+++

[0140]

[表22]

	ホイロガス (ml/2h)		抗張力 (BU)		ボリューム (ml/g)		酢酸濃度 (ppm)		かび発生	
	生	ドライ	生	ドライ	生	ドライ	生	ドライ	生	ドライ
実施例13	177	163	838	780	5.89	4.94	653	548	±	+
比較例17	180	127	758	580	5.88	3.73	698	415	—	±
比較例18	174	155	784	671	5.76	4.85	216	165	+++	+++
比較例19	170	134	806	666	5.59	4.55	251	196	+++	+++

[0141] [表23]

	解凍後ガス発生量 (ml/2h)		抗張力 (BU)		ボリューム (ml/g)		酢酸濃度 (ppm)		加発生	
	生	ドライ	生	ドライ	生	ドライ	生	ドライ	生	ドライ
実施例14	149	133	719	662	5.77	4.63	505	465	±	+
比較例20	116	79	569	421	5.09	3.38	472	361	-	±
比較例21	139	124	620	574	5.43	4.53	197	137	+++	+++
比較例22	117	88	589	542	5.14	4.28	205	182	+++	+++

請求の範囲

[請求項1]

パン酵母であって、

配合2（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母：0重量部、水（30℃）：任意量）、条件4（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を150g分割し、30℃で160分間静置した後成型）に従って作製した生地をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.になるよう配合2における前記水（30℃）の量を調節した生地を生地Aとし、配合3（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、前記パン酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地BをAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.以上を示し、

生地B中の酢酸量が400ppm以上を示し、さらに

配合1（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、前記パン酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水：52重量部）、条件3（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を50g分割し、38℃で2時間発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が360ml以上を示す、パン酵母。

[請求項2]

配合4（強力粉：100重量部、上白糖：15重量部、食塩：0.5重量部、前記パン酵母（水分65%湿菌体）：6重量部、水：58重量部）、条件5（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を20g分割し、30℃で60分間前発酵した後、-20℃で4週間冷凍保存した生地を25℃で30分間解凍処理した後、38℃で2時間生地を発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が100ml以上を示す、請求項1に記載のパン酵母。

[請求項3]

配合3'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、乾燥させた前記パン酵母：2重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同

量)、条件4に従って作製した生地B'をAACC法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が生地Bの抗張力の50%以上を示し、

生地B'中の酢酸量が生地B中の酢酸量の75%以上を示し、さらに、

配合1' (強力粉: 100重量部、上白糖: 30重量部、食塩: 0.5重量部、乾燥させた前記パン酵母: 2重量部、水: 52重量部)、条件3で生地を発酵した時のガス発生量が、配合1、条件3で生地を発酵した時のガス発生量の50%以上を示す、請求項1に記載のパン酵母。

[請求項4]

以下のスクリーニング工程を行って得ることができる、請求項1に記載のパン酵母。

配合2 (強力粉: 100重量部、上白糖: 30重量部、酵母: 0重量部、水(30℃): 任意量)、条件4 (3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を150g分割し、30℃で160分間静置した後成型)に従って作製した生地をAACC法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.になるよう配合2における前記水(30℃)の量を調節した生地を生地Aとし、配合3 (強力粉: 100重量部、上白糖: 30重量部、酵母(水分65%湿菌体): 4重量部、水(30℃): 生地Aで使用した水と同量)、条件4に従って作製した生地BをAACC法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.以上となり、生地B中の酢酸量が400ppm以上となり、さらに配合1 (強力粉: 100重量部、上白糖: 30重量部、食塩: 0.5重量部、酵母(水分65%湿菌体): 4重量部、水: 52重量部)、条件3 (3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を50g分割し、38℃で2時間発酵)で生地を発酵した時のガス発生量が360ml以上となることを指標として酵母(倍数体)を選択する。

[請求項5] 以下のスクリーニング工程を行って得ることができる、請求項2に記載のパン酵母。

配合2（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母：0重量部、水（30℃）：任意量）、条件4（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を150g分割し、30℃で160分間静置した後成型）に従って作製した生地をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.になるよう配合2における前記水（30℃）の量を調節した生地を生地Aとし、配合3（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地BをAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.以上となり、生地B中の酢酸量が400ppm以上となり、さらに配合1（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水：52重量部）、条件3（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を50g分割し、38℃で2時間発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が360ml以上となり、

さらに、配合4（強力粉：100重量部、上白糖：15重量部、食塩：0.5重量部、酵母（水分65%湿菌体）：6重量部、水：58重量部）、条件5（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を20g分割し、30℃で60分間前発酵した後、-20℃で4週間冷凍保存した生地を25℃で30分間解凍処理した後、38℃で2時間生地を発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が100ml以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択する。

[請求項6] 以下のスクリーニング工程を行って得ることができる、請求項3に記載のパン酵母。

配合2（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母：0重

量部、水（30℃）：任意量）、条件4（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を150g分割し、30℃で160分間静置した後成型）に従って作製した生地をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.になるよう配合2における前記水（30℃）の量を調節した生地を生地Aとし、配合3（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地BをAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が500B.U.以上となり、生地B中の酢酸量が400ppm以上となり、さらに配合1（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、酵母（水分65%湿菌体）：4重量部、水：52重量部）、条件3（3分間ミキシングして生地を得た後、該生地を50g分割し、38℃で2時間発酵）で生地を発酵した時のガス発生量が360ml以上となり、

さらに、配合3'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、乾燥させた酵母：2重量部、水（30℃）：生地Aで使用した水と同量）、条件4に従って作製した生地B'をAACCF法54-10に準拠してエクステンソグラムで測定した時の抗張力が生地Bの抗張力の50%以上を示し、

生地B'中の酢酸量が生地B中の酢酸量の75%以上を示し、さらに、

配合1'（強力粉：100重量部、上白糖：30重量部、食塩：0.5重量部、乾燥させた酵母：2重量部、水：52重量部）、条件3で生地を発酵した時のガス発生量が、配合1、条件3で生地を発酵した時のガス発生量の50%以上となることを指標として酵母（倍数体）を選択する。

[請求項7]

サッカロミセス・セレビシエ KCY1240（受託番号：NIT

E BP-1269)、サッカロミセス・セレビシエ KCY1249 (受託番号: NITE BP-1270)、サッカロミセス・セレビシエ KCY1251 (受託番号: NITE BP-1272)、又は、サッカロミセス・セレビシエ KCY1254 (受託番号: NITE BP-1396) である請求項1~6の何れかに記載のパン酵母。

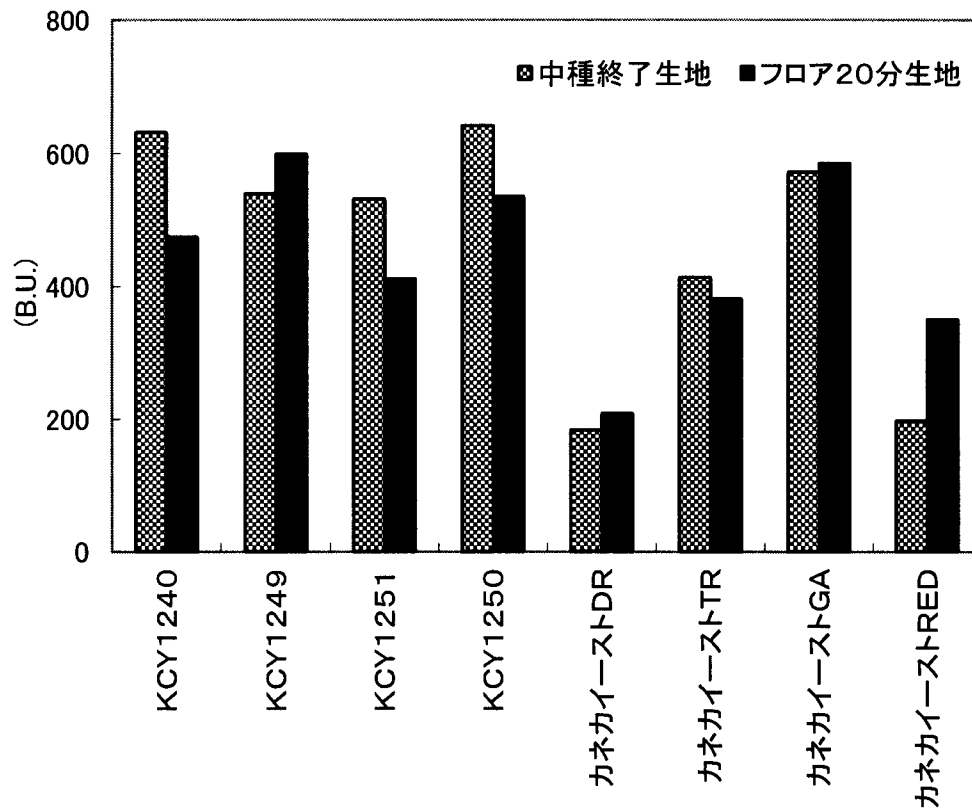
[請求項8] 請求項1~7のいずれか1項に記載のパン酵母を含み、糖濃度が15~40重量%であるパン生地。

[請求項9] 請求項8に記載のパン生地を焼成してなるパン。

[請求項10] 請求項4~6何れかに記載のスクリーニング工程を行ってパン酵母を得ることを特徴とするパン酵母の製造方法。

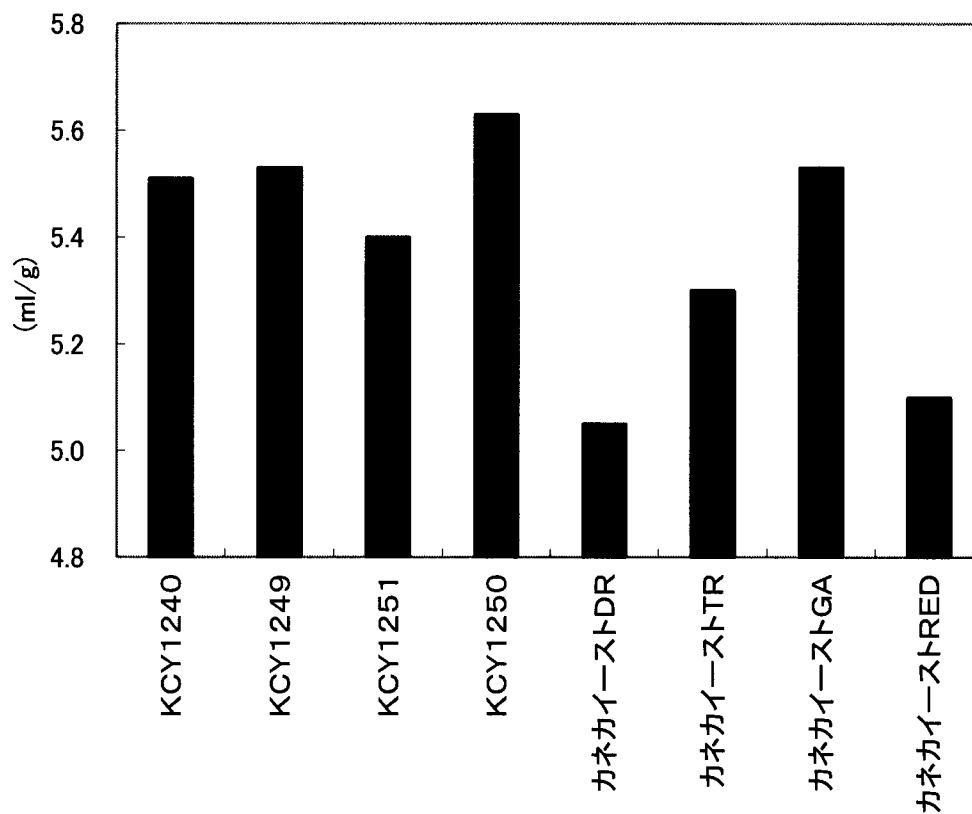
[図1]

抗張力 [生地含有水分量61.5%]



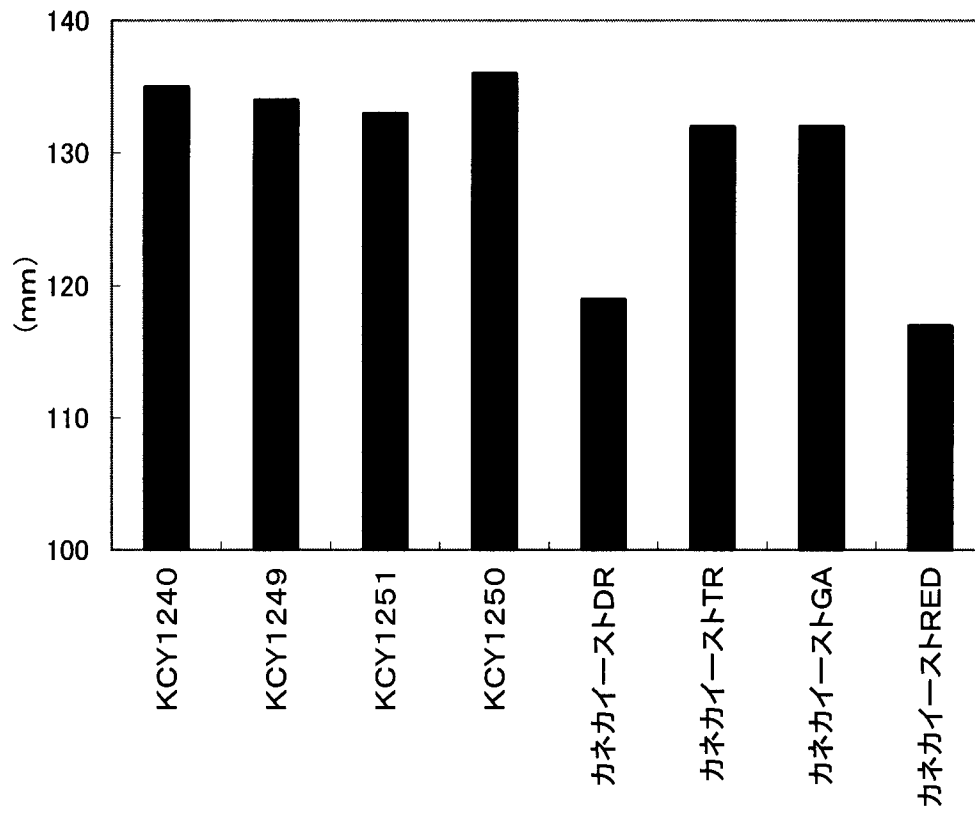
[図2]

パンのボリューム(比容積) [生地含有水分量61.5%]



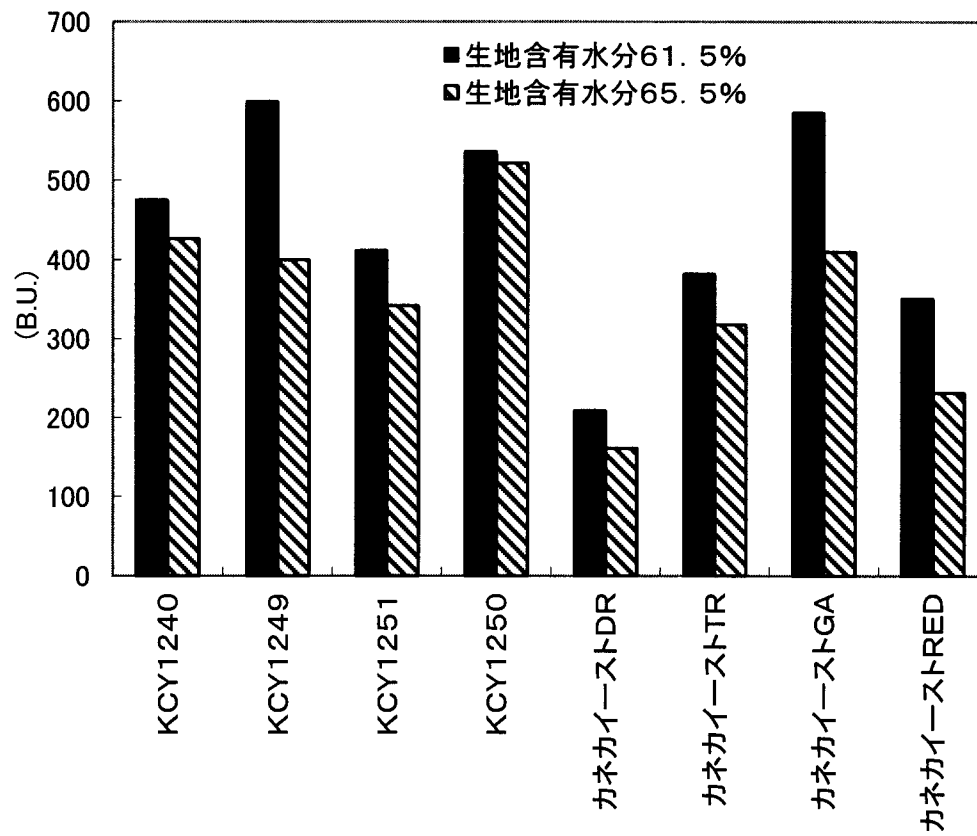
[図3]

パンの腰高性 [生地含有水分量61.5%]



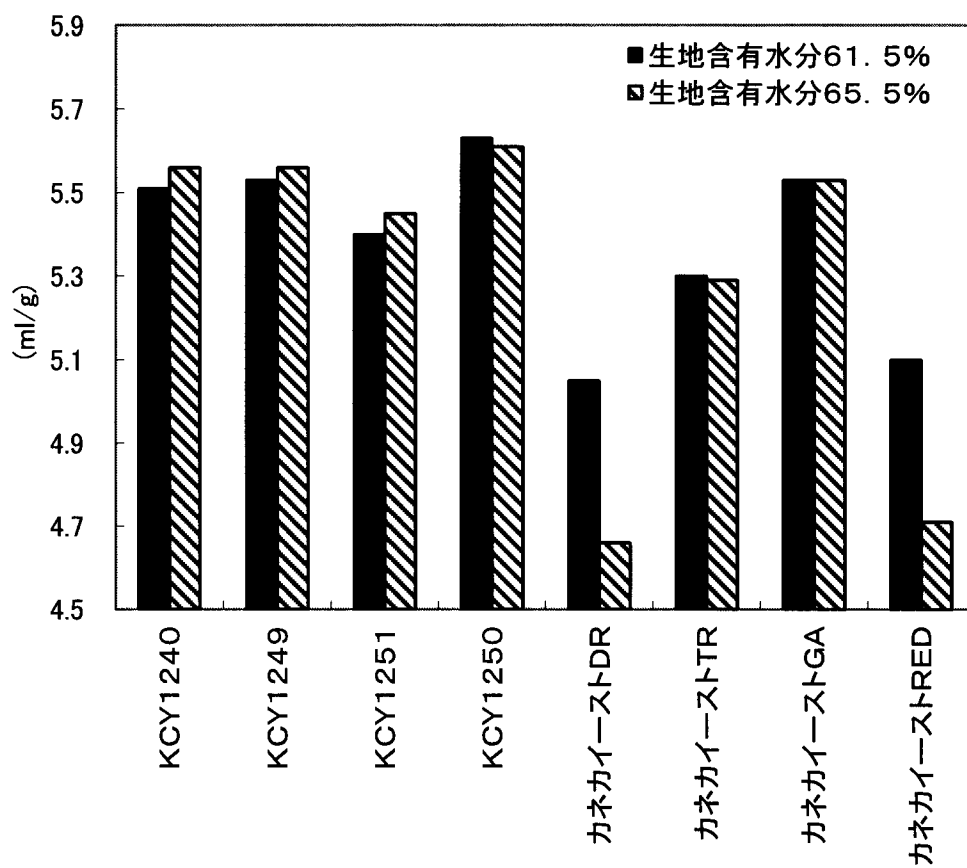
[図4]

抗張力 [フロア20分生地]

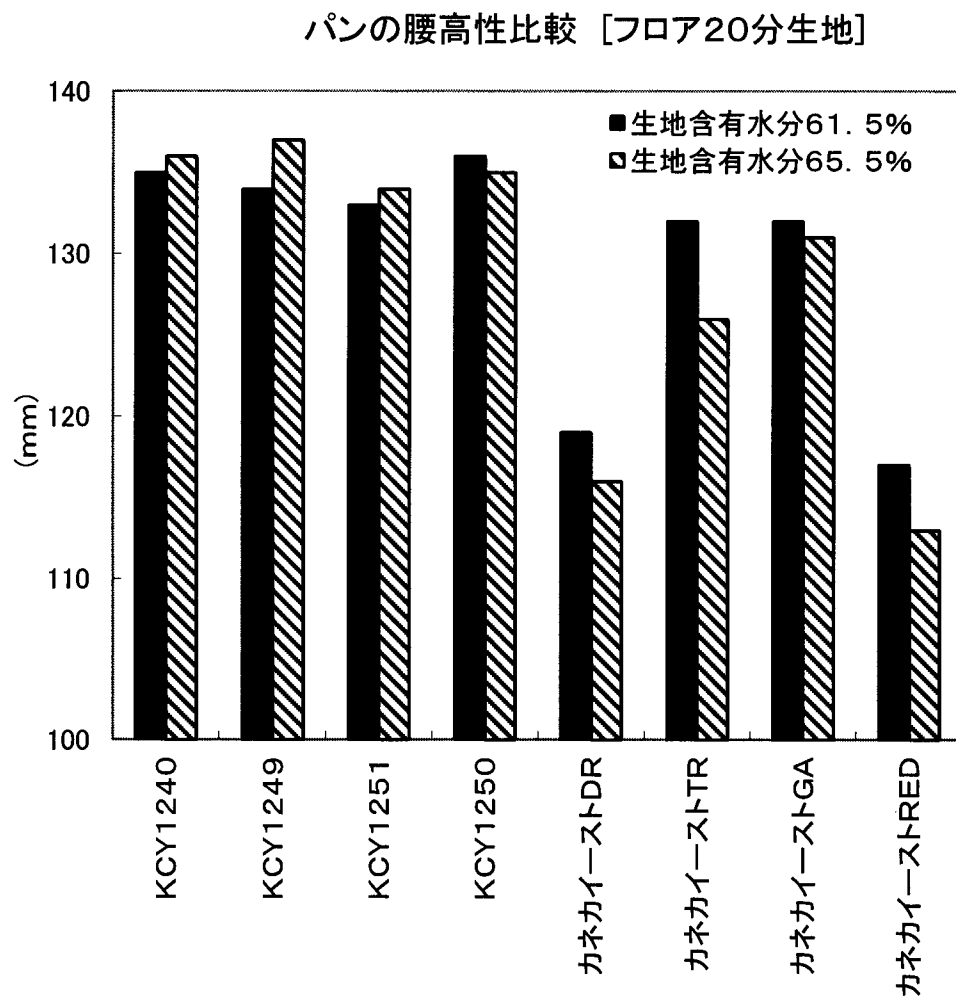


[図5]

パンのボリューム(比容積)比較 [フロア20分生地]

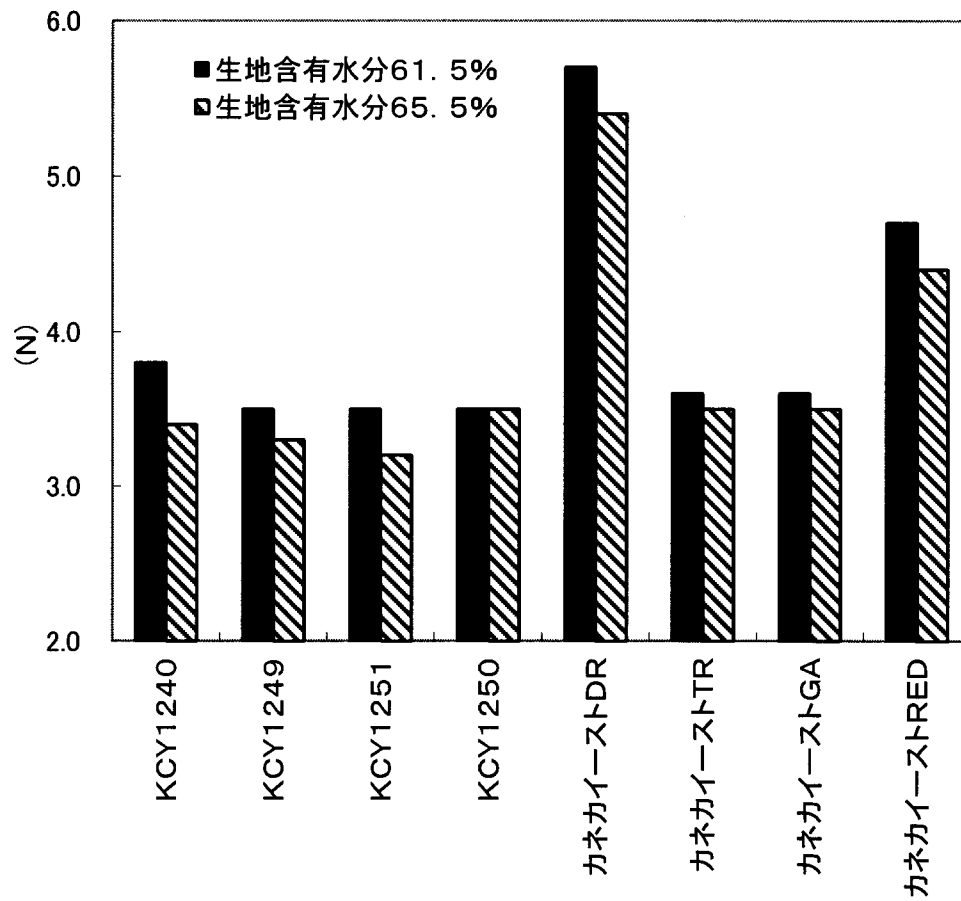


[図6]



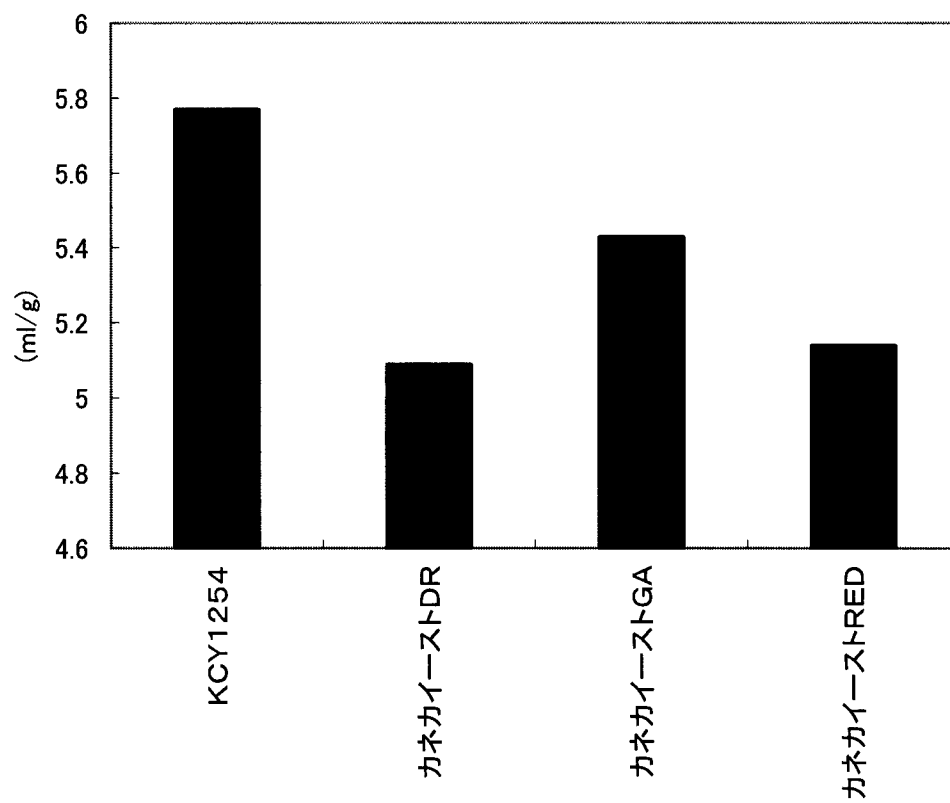
[図7]

パンの硬さ比較 [フロア20分生地]



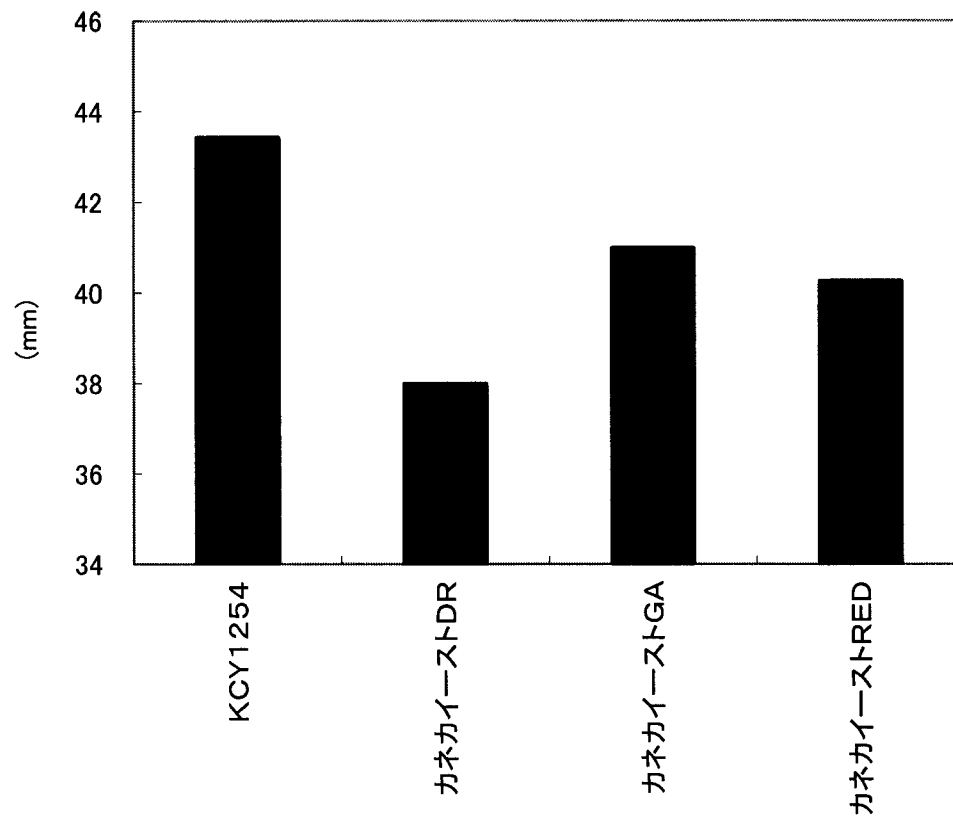
[図8]

パンのボリューム(比容積) [冷凍生地]



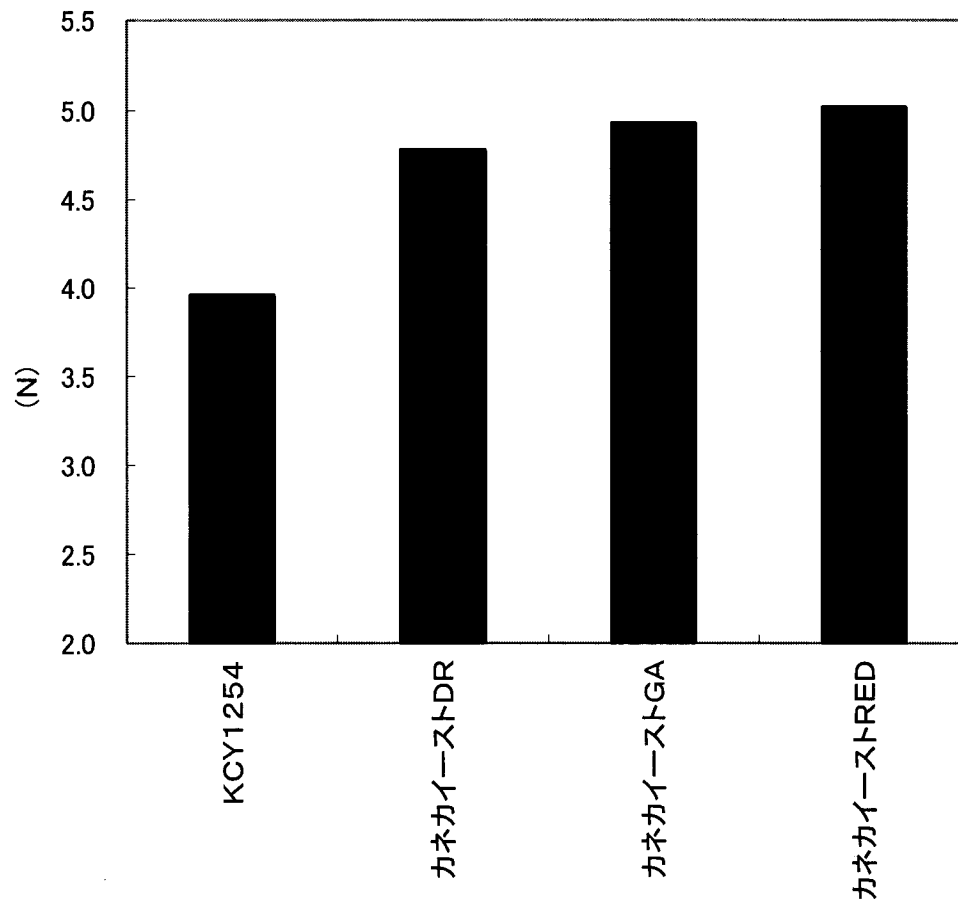
[図9]

パンの腰高性 [冷凍生地]

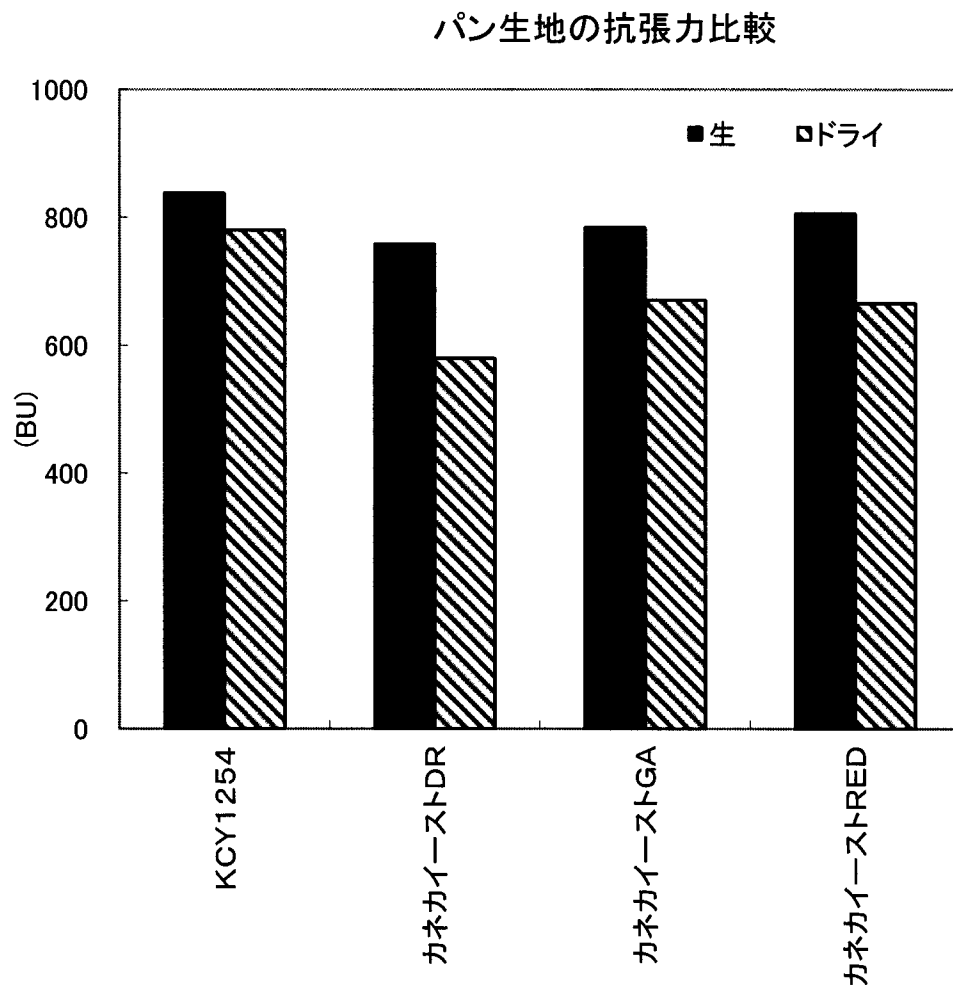


[図10]

パンの硬さ比較 [冷凍生地]

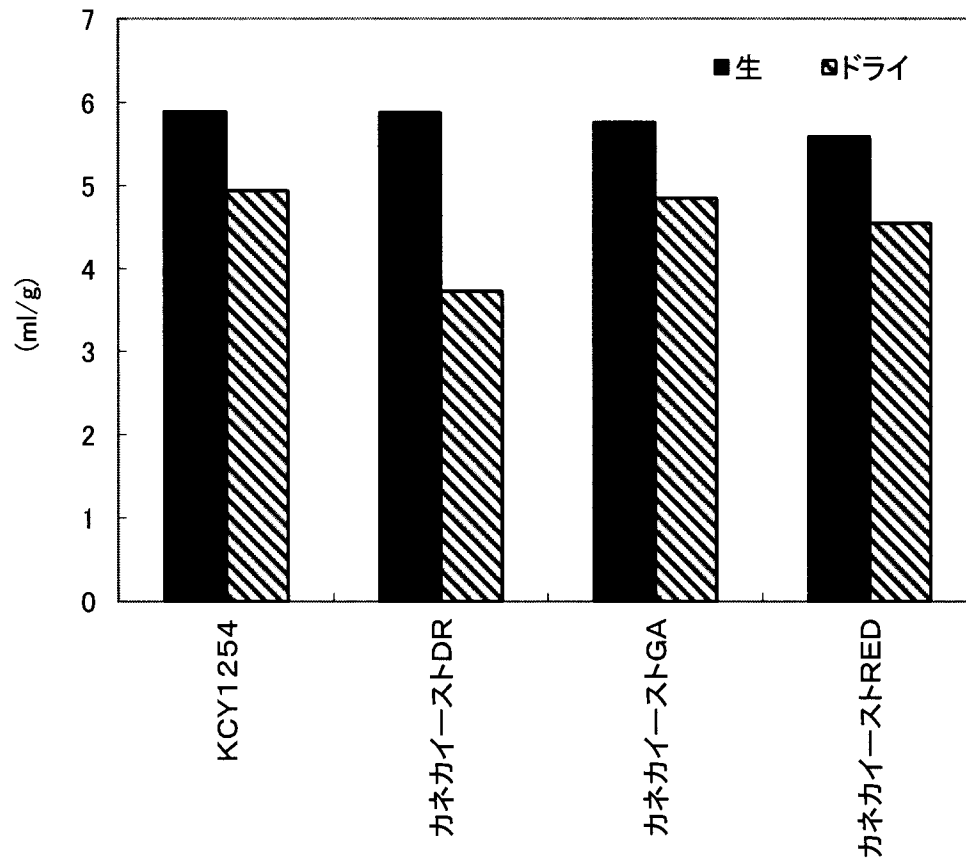


[図11]



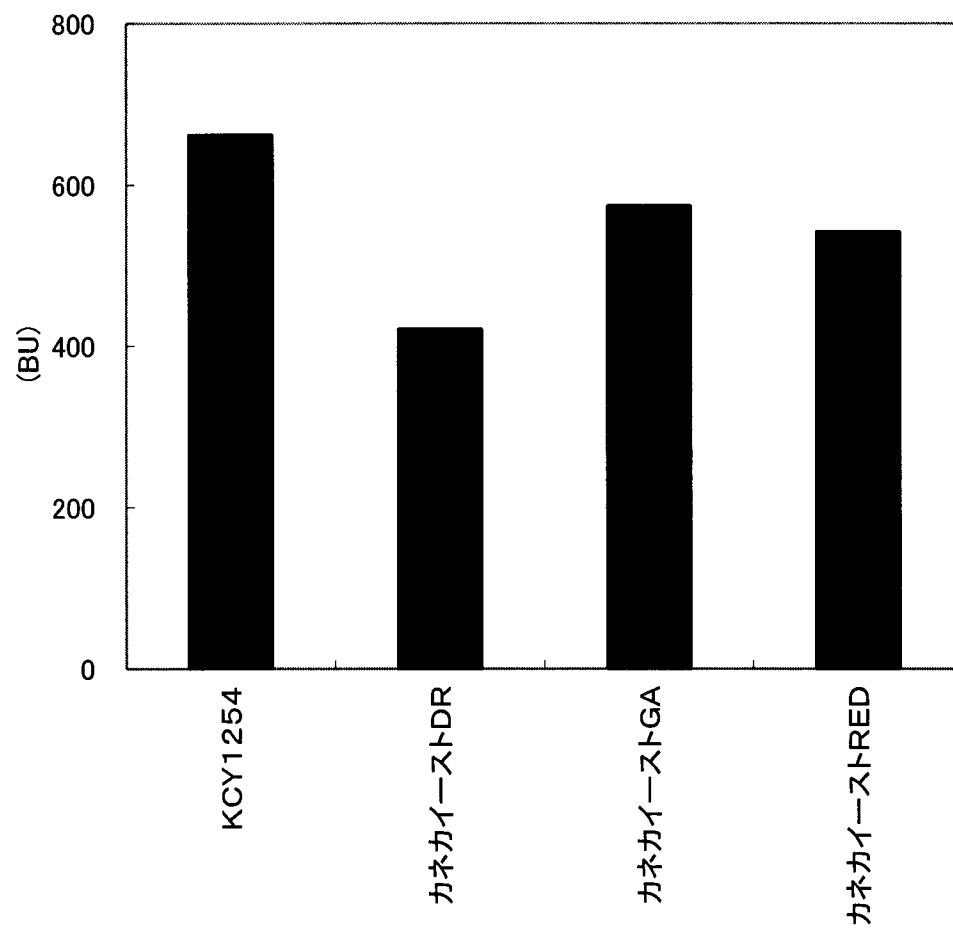
[図12]

パンのボリューム(比容積)比較



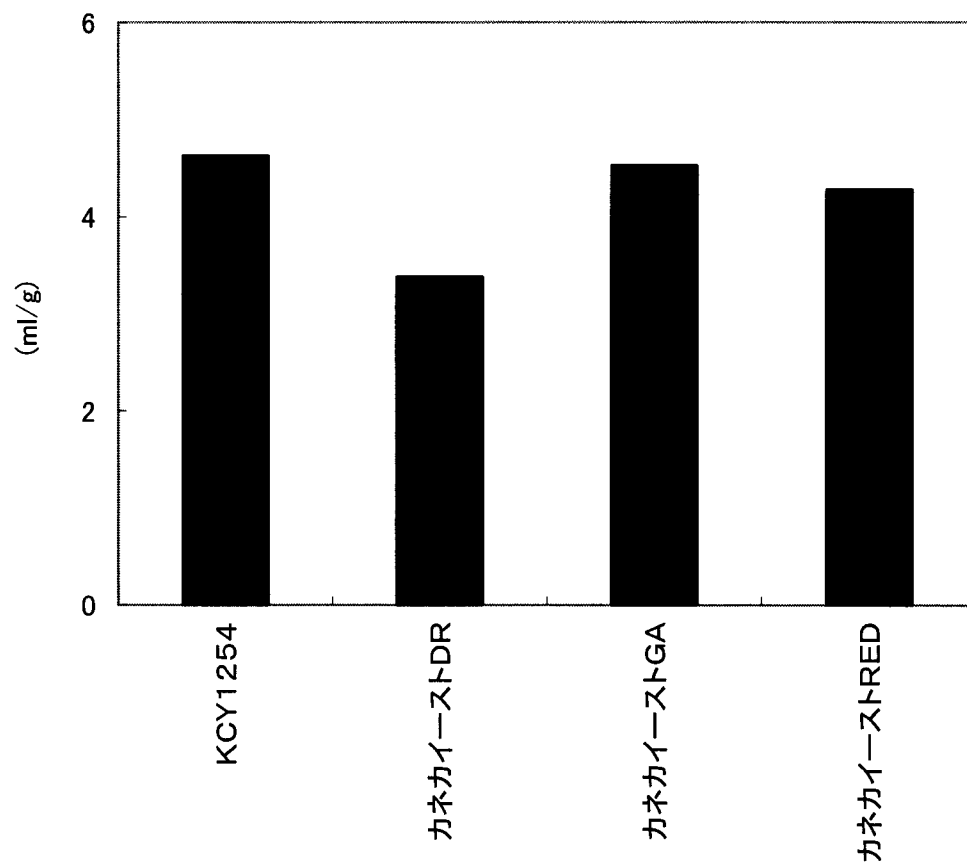
[図13]

パン生地の抗張力比較



[図14]

パンのボリューム(比容積)比較



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/002806

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>C12N1/16(2006.01) i, A21D8/04(2006.01) i, A21D10/00(2006.01) i, A21D13/00(2006.01) i, C12N1/00(2006.01) i, C12R1/865(2006.01) n</i>										
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC										
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <i>C12N1/16, A21D8/04, A21D10/00, A21D13/00, C12N1/00, C12R1/865</i>										
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched										
<table border="0"> <tr> <td>Jitsuyo Shinan Koho</td> <td>1922-1996</td> <td>Jitsuyo Shinan Toroku Koho</td> <td>1996-2013</td> </tr> <tr> <td>Kokai Jitsuyo Shinan Koho</td> <td>1971-2013</td> <td>Toroku Jitsuyo Shinan Koho</td> <td>1994-2013</td> </tr> </table>			Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013	Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013
Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2013							
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013							
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)										
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT										
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.								
A	JP 2007-195474 A (Kaneka Corp.), 09 August 2007 (09.08.2007), example 2 (Family: none)	1-10								
A	JP 2006-187282 A (Kaneka Corp.), 20 July 2006 (20.07.2006), examples 2, 3 (Family: none)	1-10								
A	JP 2005-245355 A (Kaneka Corp.), 15 September 2005 (15.09.2005), examples 3, 4 (Family: none)	1-10								
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.										
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family										
Date of the actual completion of the international search 16 July, 2013 (16.07.13)		Date of mailing of the international search report 30 July, 2013 (30.07.13)								
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer								
Facsimile No.		Telephone No.								

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12N1/16(2006.01)i, A21D8/04(2006.01)i, A21D10/00(2006.01)i, A21D13/00(2006.01)i, C12N1/00(2006.01)i, C12R1/865(2006.01)n		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12N1/16, A21D8/04, A21D10/00, A21D13/00, C12N1/00, C12R1/865		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2013年 日本国実用新案登録公報 1996-2013年 日本国登録実用新案公報 1994-2013年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2007-195474 A(株式会社カネカ) 2007.08.09 実施例2 (ファミリーなし)	1-10
A	JP 2006-187282 A(株式会社カネカ) 2006.07.20 実施例2, 3 (ファミリーなし)	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 16.07.2013	国際調査報告の発送日 30.07.2013	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 上條 肇 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4 B 9453

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2005-245355 A(株式会社カネカ) 2005.09.15 実施例 3, 4 (ファミリーなし)	1-10