乳果オリゴ糖を配合したクロワッサンの開発

上田浩二*・別府秀彦**・丸山昌樹*・榎 剛弘*・白砂史行***・井上 孝****
川井 薫*****・玉井育子**・池田 宏***・藤田孝輝*****・葛谷博磁**

Development of Oligosaccharide-containing Croissant

Khoji UEDA*, Hidehiko BEPPU**, Masaki MARUYAMA*, Takehiro SAKAKI*,
Fumiyuki SHIRASUNA***, Takashi INOUE****, Kaoru KAWAI*****, Ikuko TAMAI**,
Hiroshi IKEDA***, Koki FUJITA***** and Hiroshi KUZUYA**

*COMO Co., LTD. 505-1, Shimonotubo Muranaka, Komaki, Aichi 485-0082

**Fujita Memorial Institute of Pharmacognosy, Fujita Health University, 1865,
Issiki-cho, Hisai, Mie 514-1296

***Ensuiko Sugar Refining Co., Ltd., Sanmaruko building 2-26-8, Ningyou-cho,
Chuo-ku, Tokyo, 103-0013

****Department of Microbiology, Fujita Health University, School of Health Sciences,
1-98, Dengakugakubo, Kutukake-cho, Toyoake, Aichi 470-1192

*****Department of Biochemistry, Fujita Health University College, 1-98, Dengakugakubo,
Kutukake-cho, Toyoake, Aichi 470-1192

*****Bio Research corporation of Yokohama, 13-46 Daikoku-cho, Tsurumi-ku, Yokohama 230-0053

In an attempt to develop functional foods, we produced oligosaccharide-rich bread for activation of the intestinal bacterial flora. There is no products like this type on the market because oligosaccharide is fermented by microorganism and digested, resulting in a decrease in its content. To overcome this problem, we produced croissants containing 3 g lactosucrose (LS) per 36 g of bread using the original species of "Panettone" that differs from the yeast used for daily distributed bread. After production of the product, HPLC analysis showed remaining of 1.81 (60%) of 3 g LS. Thus, croissants containing high concentration of oligosaccharide could be produced. Bread as with polished rice is a principle food, and we are the first to develop bread containing hardly digestible oligosaccharide as a functional food for enhancement of excretion function. The oligosaccharide used in this test product was lactosucrose (LS). For the dough, *Saccharomyces exiguus*, *Lactobacillus sanfrancisco*, and *Lactobacillus comoensis* IP-5, which are original species of "Panettone", were used as microorganism. In addition, by using the method with the patent that makes the most of the characteristics of these microorganism croissants that keep for 1-2 months were obtained. Forty-three subjects (4 males and 39 females) ingested this croissant for 1 week, and the state of defecation was compared between before and after the ingestion period by a questionnaire. The frequency of defecation per week and the refreshing feeling after defecation improved significantly.

(Received Mar. 30, 2000 ; Accepted Aug. 3, 2000)

排泄機能をもめるパンの機能性食品化 (第1報)

* 株式会社コモ (〒485-0082 愛知県小牧市大字村中宇下之坪 505 番地の1)

** 藤田保健衛生大学藤田記念生薬研究所 (〒514-1296 三重県久居市一色町 1865 番地)

*** 塩水港精糖株式会社 (〒103-0013 東京都中央区日本橋人形町 2-26-8 サンマルビル 7F)

**** 藤田保健衛生大学衛生学部微生物学 (〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98)

***** 藤田保健衛生大学短期大学生化学 (〒470-1192 愛知県豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98)

***** (株)横浜国際バイオ研究所 (〒230-0053 横浜市鶴見区大黒町 13 番 46 号)

イタリアのミラノを中心とした地方で伝統的に引き継がれている、イタリアンケーキ「パネトーネ」がもつ独特な味、香り、食感および日持ちのよさの根源は、アルプス山麓コモ湖周辺の「パネトーネ種」にあると言われている。この元種中の *Saccharomyces exiguus*, *Lactobacillus sanfrancisco*, および *Lactobacillus comoensis* IP-5 (IP-5 は登録株名を示す：微工研菌寄与登録第 9022) が、代表的な醗酵菌とされ、いずれも「パネトーネ」の製造に極めて有用な微生物である^{1)~3)}。我々はこのパネトーネ種を用い、その特徴を活かした製法で、長期間常温で保存可能(約 1~2 ヶ月の賞味期限、以下ロングライフと呼ぶ)な、嗜好性のよい「ロングライフ クロワッサン」を開発してきた。

一方、この数年、難消化性オリゴ糖が排泄機能を高める機能性食品素材として多くの食品に配合され、製パンにも検討されている。その方法は用いるオリゴ糖のパン酵母による分解性・資化性によって異なり、フラクトオリゴ糖はインベルターゼ欠損酵母が用いられ、ガラクトオリゴ糖のようなパン酵母に分解・資化されないものは通常のパン酵母を用い、さらにオリゴ糖添加の時期、量を変えることによって、オリゴ糖残存率を高めたオリゴ糖配合パンが提案されている^{4)~8)}。

乳果オリゴ糖(別称：ラクトスクロース、以下 LS と略す)は乳糖とショ糖に β -フラクトフラノシダーゼを作用させることによって得られるガラクトシルスクロース [4 β -D-Galactosylsucrose, O- β -D-Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- α -D-Glucopyranosyl-(1 $\leftarrow$ 2)- β -D-fructofuranoside] であり、ヒト消化酵素ではほとんど加水分解を受けずに消化管下部(大腸)に到達し、選択的に腸内のビフィズス菌を増加させる⁹⁾¹⁰⁾。この腸内菌叢の改善を通して、糞便中の有機酸を増加させ、アンモニア、硫化物などの腐敗産物を減少させることが明らかにされている¹¹⁾¹²⁾。

この LS は、インベルターゼで容易に分解され、パン酵母に資化されることからパンに配合された例はない。

そこで特殊な「パネトーネ種」²⁾³⁾を用いて、特定保健用食品の素材として認知¹³⁾されている「乳果オリゴ糖」を配合し、「LS クロワッサン」(以下 LS パンと略す)の開発を試みた。まず「パネトーネ種」による LS の分解とその残存量を検討し、糖成分として使用が可能かどうか、また「おなかの調子を整えるパン」の応用が可能かどうか排便に関するアンケート試験、また 3 名から採便した糞便中の *Bifidobacterium* の菌数測定を行い、排便機能の効果を検討した。

実験方法

1. 元種の製造

イタリアンケーキの製パン工程を示した常法¹⁾およびその元種の製造方法²⁾に従い以下の手順で元種を作った。

水分約 13.5~14.5%、灰分 0.4~0.45%、蛋白質 11~11.5% 程度の小麦粉 100 に対し水を 40~42 混合して作製した培地に、*Saccharomyces exiguus*, *Lactobacillus Sanfrancisco* (上記 2 菌種はイタリアの R. TETTAMANTI&FIGLI R. T. F. S. p. A より入手) および *Lactobacillus comoensis* IP-5 (コモ社所有；微工研菌寄与登録第 9022)³⁾ をそれぞれ 10^7 個/g, 10^2 個/g および 10^5 個/g 接種後、18℃で 24 時間培養した。ついでこの培養物 100 に対し小麦粉を 200、水を 80 加え 15 分間混捏した。なおこのときの混捏温度は 25℃に調節し、24 時間 18℃の醗酵室で保存した。ついでこの操作を 8 回程度繰り返す。この混合物を元種(マドレー)とした。なおこの操作における混合物の pH は 3.9~4.0 になるよう注意を払った。また、接種した 3 種類の菌の培養用培地組成を図 1A に示した。

2. LS パンの製造

クロワッサン(以下パンと略す)は図 1B に示す工程を経て最終生地をつくり、10 kg に分割して 0~5℃にて 6 時間冷蔵し、油脂を折り込んで、さらに 6 時間冷蔵した。ついで常法に従い¹⁾、生地をパン(クロワッサン)の形に成型し、この生地を 30℃の醗酵室で 10 時間醗酵させた後、約 200℃のオーブンで約 20 分間焼成して製造した。

LS を添加した LS パンの製法は、上記パンの製法と同じ工程を進めるが、出来上りのパン重量 36 g のなかに LS ができる限り残存するように、生地中の LS 添加量を求め、配合混捏した。

なお LS の配合量は、パン製造で添加したショ糖およびブドウ糖の配合重量比(生地重量 43 g の 13%)と同量の LS を添加した。また LS は調製を容易にするために 2 つのタイプの LS を用いた(①LS-55P: LS 含有 55% 以上粉末タイプ、②LS-55L: LS 含有 55% 以上液状タイプ、配合量 1.4 g 対 4.2 g; 塩水港精糖(株)製)。

また、でき上がったパンおよび LS パンの、栄養成分組成(水分、灰分、脂質、蛋白、炭水化物、食塩相当量を求めるにあたり、栄養表示基準における栄養成分等の分析方法^{*)}にしたがって分析した。

3. LS パン中の LS 含量測定

A

S-exiguusの培地組成 (YM培地組成)

グルコース	1g	イーストエキス	0.3g
ペプトン	0.5g	マルトエキス	0.3g
Tween80 (0.05g/ml)	0.5ml	Salt B (注参照)	0.5ml
水	100ml		

L-sanfranciscoおよび L-comoensisの培地組成 (MYP培地組成)

マルトース	1g	イーストエキス	0.5g
ペプトン	0.5g	Tween80 (0.05g/ml)	0.5ml
グルタミン酸ナトリウム	0.1g	酢酸ナトリウム	0.1g
Salt B (注参照)	0.5ml	水	100ml

(注) Salt Bは下記の組成である。

MgSO ₄ ・7H ₂ O	20ml	MnSO ₄ ・4~5H ₂ O	1mg
NaCl	1mg	FeSO ₄ ・7H ₂ O	1mg/ml

B

第一工程

元種 100* 小麦粉 100 水 60 15分混捏する。

捏上温度を24~25℃に調節し、25℃にて4時間発酵させる。

第二工程

第一工程生地 100 小麦粉 200 水 60 15分混捏する。

捏上温度を24~25℃に調節し、25℃にて4時間発酵させる。

第三工程

第二工程生地 30 小麦粉 100 油脂 25 糖類 25 卵 25 水 45
15分混捏する。

捏上温度を24~25℃に調節し、25℃にて6時間発酵させる。

第四工程

第三工程生地 全量 小麦粉 60 油脂 100 糖類 60 卵 40 食塩 2
卵 20 30分混捏する。

捏上温度を27~28℃に調節し、最終生地を得る。

最終生地を10kgに分割し、0~5℃で6時間冷蔵保存。油脂を織り込みさらに6時間冷蔵保存。

パン (クロワッサン) の形に成型し、30℃の醗酵室で10時間醗酵させた後、
200℃のオーブンで約20分間焼成し、製品とする。* 各材料の数字は配合比率 (%) を示す。小麦粉は水分13.5~14.5%, 灰分0.4~0.45%,
蛋白質11~11.5%の品質のものを使用

図 1 LS パン試作の製造工程

「パネトーネ種」を練込だ生地に、製品1個当たり3gの乳果オリゴ糖 (LS) を含むように、第三工程および第四工程で糖類 (ショ糖およびブドウ糖) とLSとを置換させ最終生地を作る。このときのLSの配合量は、パン製造で添加するショ糖およびブドウ糖の配合重量比 (生地重量43gに対し13%) と同量のLSを添加した。

パンの上方より均等になるように半分に切断し、その片側を使用した。パン 18 g に対し水 90 ml を加え、内部標準物質としてマルトペンタオース (G5) を 10 ml (1 420 mg/ml) 加え、ホモジナイズ (5 000 rpm, 5 min) 後、遠心分離 (12 000 rpm, 20 min) して上清を得た。得られた 20 ml の上清に対し等量の n-ヘキサンを加え脱脂を行い、水層部 20 ml を回収し、さらにそこに 99% エタノールを等量加え、よく攪拌後遠心分離によって不溶物を除去する。その後、オルガノ(株)製 IRA-93 ZU および IR-120 B を 2:1 で混合したイオン交換樹脂を用いて脱塩し、フィルター濾過 (0.45 μ m) 後、20 μ l を用いて HPLC (日立製作所(株)製 L-6000 ポンプ) に供した。HPLC 条件; カラム: TSK-GEL Amide-80 (4.6 mm $\times$ 250 mm) (東ソー(株))、移動相: CH₃CN : H₂O = 71 : 29、流速: 1.0 ml/min、検出器: RID-6 A (島津製作所(株))。

4. LS パン中の LS 含有の変化

室温 (18~25℃, 湿度 50~70%) で放置保存した LS パンの LS 含量を、試験ロット製造直後に分析した。またこれとは別に、パイロットスケールで製造したロットからサンプリングし製造 3 週間目および 6 週間目の LS パン中の LS 量を測定した。

5. LS パンの官能試験

成人 63 名 (男子 45 名, 女子 18 名) に、パンと LS パンを試食させ、風味などに関するアンケート試験を行った。風味、におい、食感、色および形状の項目について、変化の無い場合を良好、異味、異臭、硬い、色むら、割れなどのある場合を明らかな変化あり、その中間を若干の変化ありとした。

6. 便性におけるアンケート調査および LS パン摂取スケジュール

日常の便性に関するアンケート調査および LS パンの摂取試験を行った。実施にあたってはヘルシンキ宣言の精神¹⁴⁾に則って、趣旨および試験内容を十分に説明したのち、同意の得られた 20 歳から 66 歳までの男子 4 名, 女子 39 名の合計 43 名 (平均年齢: 39.8 $\pm$ 13.2 歳) を被験者とした。アンケート調査は、LS パンを摂取する以前の i) 排便の状態 ii) 1 週間の排便回数 iii) 排便後の爽快感: 「さっぱりしない」, 「普通」, 「さっぱりする」の排便意識、を思いだし法による自記方式¹⁵⁾で行った。ついで LS パンを 1 日に 2 個, 1 週間試食させ、LS パン摂取による影響を以下の項目について調べた。i) 排便回数: 期間中の排便の有無と回数, ii) 排便後の爽快感, iii) 胃

腸症状: 「良好」, 「腹痛がする」, 「ゴロゴロとおなか鳴った」, 「お腹が張った」, 「おならが出た」, 「便意はあったが排便できず痛みを感じた」, 「吐き気がした」などの自覚症状, iv) LS パンを食べ続けることに対する意見: 「ずっと食べるには飽きてくる」, 「甘みが気になる」, 「おいしくたべやすい」, 「特になし」について回答をさせ、さらに食事ごとの摂取食品名, 薬剤の使用, 月経の有無, 排便意識などを記録させた。なお LS パンの摂取時間や 1 度に摂取する個数などについては特に指定しなかった。

7. パンおよび LS パン摂取時の糞便内菌叢の分析

アンケート調査被験者の中から 3 名を選び、上記試験終了 1 ヶ月後に、LS パン摂取による糞便中の菌叢の影響を検討した。糞便はパンを 1 週間摂取した最終日 (パン摂取期)、パンおよび LS パンを摂取しなかった 1 週間の最終日 (休止期)、および LS パンのみを 1 週間摂取した最終日 (LS パン摂取期) の 3 回採取した。排便後直ちに糞便を均質に混ぜ、採便管 (直径 15 mm, 栄研化学(株)) に約 1 g (小指大) 採取した。ついで糞便に、嫌気性菌用希釈液【組成: リン酸二水素カリウム 4.5 g, リン酸水素二ナトリウム 6.0 g, L-システイン塩酸塩 0.5 g, ツイン 80 0.5 g, 普通寒天培地 [栄研] (栄研化学(株)) 1.0 g, 精製水 1 000 ml を、加温溶解し、オートクレーブ (115℃, 20 分間) で滅菌して作製】9 ml を無菌的に加えた後、ストマッカー 80 T (オルガノ(株)) で攪拌 (230 rpm, 30 秒) 均一化し、これを 10⁻¹ 希釈液とした。さらに嫌気性菌用希釈液を用いて 10⁻¹⁰ まで 10 段階希釈し、光岡らの方法¹⁶⁾を一部改変し¹⁷⁾、嫌気性菌・簡易培養用アネロバック・ケンキ (三菱ガス化学(株)) を酸素吸収・炭酸ガス発生剤として用い、嫌気性下で 37℃, 48~72 時間培養した。

次に BL 寒天培地で発育した全コロニー数を総嫌気性菌数¹⁷⁾¹⁸⁾とし、試料 1 g 中の菌数を算出した。

ビフィズス菌数は、BL 培地からコロニーを釣菌し、BL 寒天培地上で 37℃, 48~72 時間嫌気培養後、ビフィズス菌の特徴的集落である直径 0.7~4 mm, ほぼ正円、半球状に隆起した、乳褐色・灰褐色・赤褐色・黄褐色コロニーで、酸産生による、集落周辺の褐変発育するコロニーの数を算定した。さらにコロニーのグラム染色および菌形態を観察し、その特徴¹⁶⁾¹⁸⁾を示したものをビフィズス菌とし菌数を求めた。

9. 統計処理

排便回数は対応のある Wilcoxon 符号付順位和検定

* 厚生省生活衛生局食品保健課 新開発食品保健対策室長通知第 13 号

を行った。排便の爽快感については、出現頻度をまとめ、その分布の独立性について χ^2 検定を行った。すべての統計処理は5%を有意水準とし、統計処理ソフトとしてStatcel¹⁹⁾を使用した。

実験結果

1. LS パンの外観および栄養成分

LS パンの外観は、既存のパン（ロングライフクロワサン）とほぼ同じ様にこげ茶に焼き上がった。パンの主な栄養成分組成は、水分19.6%、灰分0.9%、脂質20.6%、蛋白7.8%、炭水化物51.1%、食塩相当量0.7%であった。一方、LS パンの同組成は、水分19.4%、灰分0.8%、脂質23.5%、蛋白7.9%、炭水化物48.4%、食塩相当量0.6%（日本食品分析センター、第100030514-001他）であった。

2. LS パン中の LS 含量測定

図2にLS パン中の糖質のクロマトグラムプロフィールを示した。保持時間（RT）5分には、（A）パン、（B）LS パンとも醗酵に由来すると思われるグリセロール（Gly）の保持時間に一致するピーク No. 1 が検出され、ついで原料に由来する果糖（No. 2, Fru）、ブドウ糖（No. 3, Glc）、ショ糖（No. 4, Suc）の位置にピークが検出された。

LS パンではさらに乳糖（No. 5, Lac）が出現し、RT 16分には、LS（No. 6, LS）のピークが確認された。また、内部標準物質として加えたマルトペンタオース（G5）はRT 40分に両者とも検出された。また糖組成率は単糖13.9%、ショ糖7.8%、乳糖38.9%、LS30.3%、その他が9.1%であった（ $n=2$ ）。LS 3gを配合したLS パン36g中のLSの含量を求めたところ、製造直後で1.81g（ $n=2$ ）が確認できた。この結果から、LSは最初の添加量の3gから計算して、60%程度残存し、資化率は40%以下と考えられた。

3. LS パン中の LS 含量の変化

上記とは別にパイロットスケールに製造したLSパンを用いて、製造してから3週間後および6週間後までの常温で保存したときのLS含量を測定したところ、3週間目が平均1.68g/パン36g（ $n=2$ ）、6週間目が1.60g/パン36g（ $n=2$ ）であった。従って、3週間の放置では4.8%の減少率であった。このロングライフのLSパンの品質保持期限が30日なので、十分に品質を維持できるものと考えられた。

4. LS パン摂取による風味の官能試験

パン、LS パンを試食し、甘み、酸味、味の濃さ、あと

図2 パン中のLSおよび糖類のHPLC・クロマトグラム

A: LS 未配合パン B: LS パン

1. グリセロール (Gly), 2. フルクトース (Fru), 3. グルコース (Glc) 4. スクロース (Suc), 5. ラクトース (Lac), 6. ラクトスクロース (LS) 7. マルトペンタオース (G5) *G5のピークにはG5の異性体を含む。分離条件は実験方法欄に記載。

味などの風味の評価を試験したところ、パンに比べ、LSパンは変化なしが75%、若干変化ありが24%、明らかに変化ありが2%占めていた。また臭いについては78%が変化なし、若干変化ありが21%、明らかに変化ありが2%を占め、おおむね両者は同じ風味である評価を受けた。一方食感と色についてはポイントが下がったが、両方とも60%以上が変化なしの回答を占めていた（図3）。

図 3 LS パンの試食による風味官能試験結果

グラフはLS パン (LS クロワッサン) を摂取した 63 名のパネラーの、パン (元になっているクロワッサン) に対する風味、におい、食感、色、形状の比較を示す。「変化なし」は両者間の違いに変化なしの意味、縦軸は回答者の評価割合 (%) を示す。

■ 変化なし □ 若干変化 □ 明らかに変化

5. LS パン摂取前後の排便回数、排便感への影響

i) 被験者の排便に関する健康状況は、良好であるが 17 名 (39.5%)、下痢気味 2 名 (4.7%)、便秘気味 15 名 (34.9%)、便秘傾向 9 名 (20.9%) であった。ii) 排便回数：思いだし調査による試験開始前の 1 週間の平均排便回数は 4.8 ± 1.8 回であった。LS パン摂取 1 週間の全被験者平均排便回数は 5.1 ± 1.64 回 ($n=43$) で、試験開始前に対し有意差は認められなかった。このうち摂取前の排便回数を週 4 回以下とした便秘傾向者²⁰⁾の場合、LS パン摂取 1 週間における平均排便回数は 3.9 ± 0.99 回/週で、LS パン摂取前の排便回数 (3.1 ± 1.02 回/週) と比較検定を行ったところ、有意な ($p < 0.05$, Wilcoxon 符号付順位検定) 回数の増加が認められた (図 4)。ii) 排便後の爽快感：摂取前はだいたいすっきりした人は 28 名 (65.1%)、すっきりしない人は 15 名 (34.9%) であったが、LS パン 1 週間摂取後はすっきりした人、普通の人 39 名 (90.6%)、すっきりしない人 4 名 (9.3%) であった。これを摂取前の排便意識と対応させ検定したところ有意な ($p < 0.005$) 爽快感を得るとの効果を示した (図 5)。iii) 胃腸症状：LS パン摂取によって、変化なしの人 25 名 (50.0%)、鼓腸の人 5 名 (10.0%)、腹部膨満の人 6 名 (12%)、放屁多発の人 9 名 (18.0%)、腹痛の人 4 名 (8.0%) などの自覚症状を訴えた (図 6)。iv) LS パンを食べ続けることに対する意見：甘みが気になる人 5 名、特においしく食べやすいと思った人 7 名、1 週間毎日 2 個食べることに苦痛を感じる人 7 名、特になしの人 24

図 4 パン摂取前と後の 1 週間あたりの排便回数

平均±標準偏差 ($n=20$, 43 名の中から、1 週間の排便回数が 4 回以下の便秘傾向者 20 名を抽出した)。

* 摂取前に対して有意差あり；* $p < 0.05$ (Wilcoxon 符号付順位検定)。

図 5 LS パン摂取前と後の排便における爽快感

アンケートによる爽快感を感じた者の割合 ($n=43$)。摂取前に対して有意差あり；* $P < 0.005$ (χ^2 検定)。

名を得た。そのほか排便意識として、LS パンの摂取は、摂取前に比べ軟便になった、便の色が黄色くなった、便の量が増えた、便の臭いが気にならない、などの排便の向上を示す意識を得た。

6. 糞便内菌叢中のビフィズス菌数の分析

パン摂取期、休止期および LS パン摂取期のビフィズス菌数の変化を図 7 に示した。パン摂取時期が 10.2 Log (cfu/g) 、非摂取時期 (Blank) が 9.85 に対し、LS パン摂取時期が 11.5 を示し、LS パンを摂取することで、*Bifidobacterium* 菌数の増加傾向が認められた。

考 察

本稿は、機能性食品としてのパンの開発についての検討である。主食のひとつであるパンに機能性食品の効果

図 6 LS パン摂取中における胃腸症状の発生率

LS パンを摂取した 1 週間における胃腸症状を発生率で比較した。なお重複回答を含む。

図 7 パン摂取期および非摂取期における糞便中の *Bifidobacterium* 菌数の比較

パンを 1 週間摂取 (パン摂取期) 後、休止期を 1 週間設け、次に LS パンを 1 週間摂取 (LS パン摂取期) して、各期毎に採便し *Bifidobacterium* の菌数を求め比較した。LS を摂取することで *Bifidobacterium* の菌数の増加傾向を示した。

(明らかな食品) を持たせる場合、味覚や食感の嗜好性、保存性が重要視される。その一策として、機能素材をデコレーション (もしくはトッピング) で用いることでも可能であるが、いかに食品素材になじませるかが重要である。その目的のために、パンに本来配合するショ糖やブドウ糖などの甘味料の代替にオリゴ糖を用いることも一策である。

しかしながら、オリゴ糖を配合するパンの開発は困難であった。その理由として本来、パン生地配合された糖類は、パン酵母のインベルターゼで分解を受ける。いわゆる甘味料としての糖分は、パン醗酵時酵母菌のエネルギー源にもなり資化されてしまうことが常識であっ

た。ところが「バネトーネ種」¹⁾²⁾ は通常のパン酵母に比べて、インベルターゼ活性が低く、結果的に LS をほとんど資化しないことが分かった。ところで、なぜこの元種は LS を資化しないのだろうか。我々は、イタリアンケーキがもつ独特な味、香り、食感および日持ちのよさを左右する微生物として *Saccharomyces exiguus*, *Lactobacillus sanfrancisco* に加え新しい乳酸菌の 1 種である、*Lactobacillus comoensis* IP-5 を見いだした³⁾。*Lactobacillus comoensis* IP-5 は、① グラム陽性、② 無孢子、③ 運動性なし、④ 長桿菌、⑤ 通性嫌気性、⑥ カタラーゼ陰性、⑦ 生育至適温度 25~30℃、⑧ 生育至適 pH 5.4~5.8、⑨ グルコースおよびマルトースのみを資化して L (+)-乳酸、エタノール及び炭酸ガスを生成、などの特徴をもつ²⁾³⁾。

そこで我々は、この新菌種を含めた混合培養系における糖類の資化性について検討を行った。乳酸菌単独では *Lactobacillus comoensis* IP-5, *Lactobacillus sanfrancisco* 両菌ともに乳糖もショ糖も資化しないことから、LS の分解も、資化も起こらないと考えられる。また酵母においても、*Saccharomyces exiguus* は一般のパン酵母である *Saccharomyces cerevisiae* と比較してインベルターゼ活性が弱く、LS の資化も遅いことが考えられた。

さらに酵母と乳酸菌の混合培養時には、乳酸菌の酸によって酵母の活性はより抑えられる為に、好んで資化する糖が存在すると、資化の優先順位の低い LS を資化しないというのが理由として考えられた。

以上の結果より、LS パンは、パン酵母に LS が資化されにくい元種を用いる製法で製品化できた。しかもその

パンを摂取することで、排便回数が増加し（図4）、ビフィズス菌の菌数も増加（図7）させる機能性を発現させた。一方このLSパンを摂取することにより胃腸障害の出現が10数%見られた。この理由として、鼓腸、腹部膨満、放屁などの症状は、オリゴ糖を摂取し、菌叢が変化するときガスが発生しておきる一時的な胃腸症状と考えられている^{21)~23)}。よって、症状の改善は摂取を継続させ菌叢が安定させる方法がとられ、支持されている。したがって本試験で行った1週間のLSパンの摂取は、最も腸内ビフィズス菌の活性化を示す腹部症状が現れている時期ともいえる。今後はこの問題をさらに解決するために、便秘傾向者にLSパン摂取させ、さらに増量摂取などの治験試験を行い検討を加えたい。

要 約

(1) パンにオリゴ糖を配合し、腸内細菌叢の活性化を目指した機能性食品の開発を試みた。我々はパン酵母とは異なる「パネトーネ」元種を用いて、乳果オリゴ糖(LS)配合パンを試作した。その結果、パン36gに対し3g添加したオリゴ糖は、製造直後のHPLCによる分析で、1.81g(60%)残存することがわかった。

(2) これにより、難消化性オリゴ糖の有効作用量が温存された「パン」の試作は、排泄機能を高める機能性食品としての応用を可能とするものである。

(3) このパンを男4名、女39名の43名に1週間摂取させ、摂取前と摂取後の排便状況をアンケート試験により比較を行ったところ、1週間の排便回数および排便の爽快感に有意な差が認められた。

文 献

- 1) 舟橋 彪：日特開，昭63-146741（1988）。
- 2) 舟橋 彪：日特公，平2-18811（1990）。
- 3) 舟橋 彪：日特公，平4-4869（1992）。
- 4) 田中章三：日特開，昭62-146548（1987）。

- 5) 河野敏明：日特公，平4-37693（1992）。
- 6) 園池芳子：日特公，平5-13603（1993）。
- 7) 中田嘉光：日特開，平7-50976（1995）。
- 8) 山崎晶男：日特開，平11-32657（1999）。
- 9) 藤田孝輝・原 耕三・堺修造・三宅俊雄・山下昌之・恒富保彦・光岡知足：澱粉科学，**38**，249（1991）。
- 10) 藤田孝輝・大沢武司・三国克彦・原 耕三・橋本仁・北畑寿美雄：澱粉科学，**38**，1（1991）。
- 11) 緒方幸代・藤田孝輝・石神 博・原 耕三・寺田厚・原 宏佳・藤森 勲・光岡知足：栄食誌，**46**，317（1993）。
- 12) HARA, H., LI, S.-T., SASAKI, M., MARUYAMA, T., TERADA, A., OGATA, Y., FUJITA, K., ISHIGAMI, H., HARA, K., FUJIMORI, I. and MITSUOKA, T.: Bifidobacteria Microflora, **13** (2), 51（1994）。
- 13) (財)日本健康・栄養食品協会：特定保健用食品「トクホ」ごあんない，1999。
- 14) 日本栄養・食糧学会編集委員会：ヘルシンキ宣言（1964）（1989修正）**49**，1（1996）。
- 15) 森川尚美・森岡 保・塚原典子・田中たえ子・佐藤和人・江澤郁子：日本食物繊維研究会誌，**2**，37（1998）。
- 16) 光岡知足：ビフィズス菌の研究，（財）日本ビフィズス菌センター（1994）。
- 17) (社)全国はつ酵乳乳酸菌飲料協会：ビフィズス菌検査法検討委員会：はつ酵乳・乳酸菌飲料中のビフィズス菌の菌数測定法，平成12年2月。
- 18) 光岡知足：腸内細菌の世界，叢文社，（1980）。
- 19) 柳井久江：4step エクセル統計，第5版（星雲社，東京），p.101（1999）。
- 20) 厚生省「国民栄養調査の現状」（平成3年版）。
- 21) YAZAWA K., NAKAJIMA A., TAMURA Z.: Bifidobacteria. Microflora, **3**, 43（1984）。
- 22) 奥 恒行：臨床栄養，**92**，285（1998）。
- 23) 三国克彦・藤田孝輝・榊原恵美子・桑原宣洋・尾形正裕：澱粉科学，**40**，15（1993）。

（平成12年3月30日受付，平成12年8月3日受理）