

氏名	ヒタ ヒロシ 平田 浩
本籍（国籍）	北海道
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第 723 号
学位授与年月日	平成 30 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 生物資源科学
学位論文題目	植物エキス醗酵液の製造副産物における飼料価値に関する研究 (Study on feed value in by-products of fermented beverage of plant extract)
学位審査委員	主査 福島 道広(帯広) 副査 長澤 孝志(岩手 教授),島田 謙一郎(帯広 教授),前多 隼人 (弘前 准教授)

論文の内容の要旨

植物エキス発酵液（FPE）は、数十種類の植物原料からショ糖の浸透圧を利用してエキスを抽出し、それを製造工程の環境中に定着している酵母（*Zygosaccharomyces* spp., *Pichia* spp.）や乳酸菌（*Leuconostoc* spp.）等によって 37 °C で 180 日間以上発酵熟成させて製造した褐色、粘ちょう性の健康飲料である。FPE の機能性として、抗酸化物質（コーヒー酸やクロロゲン酸等）によるアルコール性胃粘膜障害の抑制効果等を報告している。また近年では、新規を含む十数種類のオリゴ糖が検出されて数種類の構造が決定されており、プレバイオティクスとして腸内環境の改善が期待されている。

一方、その製造工程で生じる沈殿物等の副産物（FPEB）にも、FPE 同様に原料植物を由来とするポリフェノールやペクチン等の難消化性多糖類、また前述の新規を含むオリゴ糖、そして長期間の発酵熟成中に蓄積する乳酸菌や酵母等の死菌体由来の難消化性多糖類を含むことが示唆されている。FPEB はプレバイオティクス効果を有する家畜の健康飼料としての利用が期待されているが、その機能性はまだ十分に検討されていない。

そこで本研究では、FPEB に含まれる難消化性多糖類に注目し、FPEB のプレバイオティクス効果を明らかにする目的で、豚の糞中微生物の混合培養による *in vitro* 試験、そしてラットの 28 日間投与による *in vivo* 試験を実施した。さらに FPEB の飼料価値を評価する目的で、FPEB を肥育豚に給与し、発育、産肉性、脂肪組織の脂肪酸組成および悪臭化合物のインドールやスカトール含量に対する影響を検討した。

第 2 章では、FPEB の大腸発酵性を明らかにした。FPEB を分画分子量 3500 で透析・分離した FPEB 透析物を、ジャーファーメンター装置で 48 時間培養した結果、一般嫌気性菌、*Lactobacillus* および *Bifidobacterium* の増加がみられ、

腸内発酵，とくに有用菌の発酵に適していることが確認された。また生体内で有効利用が報告されている短鎖脂肪酸量が FPEB 透析物で増加しており，さらに pH の変動とも一致していた。このことから，FPEB 透析物は生体内でも腸内環境を改善する可能性が見出された。さらに，有害物質のアンモニア産生が，FPEB 透析物で有意に低下していることから，有害菌であるアンモニア生成菌等の生育が抑制されている可能性が示された。

第 3 章では，FPEB に含まれている難消化性多糖類に注目し，FPEB がラットの盲腸における発酵性を明らかにするとともに，腸管免疫関連物質に及ぼす影響についても検討した。本章では，FPEB を分画分子量 10,000 で透析・分離し，その FPEB 透析物を 5% 添加した試験食をラットに 28 日間給与した。その結果，FPEB 透析物は第 2 章の *in vitro* 試験と同様に，盲腸内の *Bifidobacterium*，一般嫌気性菌数および短鎖脂肪酸濃度を増加させ，それに伴い盲腸内の pH を低下させたことより，腸内環境の改善効果が認められた。また腸管免疫関連物質である盲腸内ムチンや IgA 濃度も増加させたことから，腸管粘膜バリア機能の向上作用も示唆された。第 2 章と第 3 章において，腸内細菌叢や短鎖脂肪酸の変動に整合性が認められたことから，FPEB 透析物のプレバイオティクス効果が明らかとなり，その作用はイヌリンと同等であることが示唆された。また FPEB 透析物には，大腸内でプロピオン酸の生成を促進させる特異性が示された。

第 4 章では，FPEB の飼料価値を評価する目的で，FPEB を給与した肥育豚の発育，産肉性，脂肪組織の脂肪酸組成および悪臭化合物であるインドール・スカトール含量への影響を明らかにした。その結果，FPEB は肥育豚の増体成績に悪影響を及ぼすことなく，豚肉の旨み成分の一つであるオレイン酸を増加させる効果が示された。また皮下脂肪においては，肉の臭みの原因となるスカトールやインドール含量を低下させる効果が認められた。スカトールやインドール含量の低下には，FPEB のプレバイオティクス作用との関連性が示唆されたことより，豚の大腸内でも第 3 章 *in vivo* 試験のラット盲腸内と同様に，*Bifidobacterium* 等の有用菌や短鎖脂肪酸濃度が増加し，腸管免疫物質であるムチンや IgA 生成量も増加している可能性が推察された。

以上の結果より，FPEB の飼料価値は，本研究で見出したプレバイオティクス効果による感染症予防に対して最も高いと評価した。ただし，その評価には豚に対するプレバイオティクス効果をより明確にする必要があり，第 3 章のラット *in vivo* 試験で実施した盲腸内細菌叢や短鎖脂肪酸濃度，そして腸管免疫物質であるムチンや IgA 濃度の変動を追加検証することで明らかになると思われた。

結論として，FPEB は腸内環境の改善や，腸管粘膜バリア機能を向上させるプレバイオティクス効果を有することから，家畜の感染症予防を目的とした機能性飼料としての価値を有する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では，植物エキス発酵液（FPE）が数十種類の植物原料からショ糖の浸透圧を利用してエキスを抽出し，それを製造工程の環境中に定着している酵母や

乳酸菌等によって 37℃で 180 日間以上発酵熟成させて製造した褐色、粘りょう性の健康飲料の製造工程で生じる沈殿物等の副産物（FPEB）に含まれる難消化性多糖類に注目し、FPEB のプレバイオティクス効果を明らかにする目的で、豚の糞中微生物の混合培養による *in vitro* 試験、ラットによる *in vivo* 試験を実施した。さらに FPEB の飼料価値を評価する目的で、FPEB を肥育豚に給与し、発育、産肉性、脂肪組織の脂肪酸組成および悪臭化合物のインドールやスカトール含量に対する影響を検討した。

1)FPEB の *in vitro* 試験による腸内発酵性の評価

FPEB を分画分子量 3500 で透析・分離した FPEB 透析物を、ジャーフェーメンター装置で 48 時間培養した結果、一般嫌気性菌、*Lactobacillus* および *Bifidobacterium* の増加がみられ、腸内発酵、とくに有用菌の発酵に適していることが確認された。また生体内で有効利用が報告されている短鎖脂肪酸量が FPEB 透析物で増加しており、さらに pH の変動とも一致していた。このことから、FPEB 透析物は生体内でも腸内環境を改善する可能性が見出された。さらに、有害物質のアンモニア産生が、FPEB 透析物で有意に低下していることから、有害菌であるアンモニア生成菌等の生育が抑制されている可能性が示された。

2)FPEB がラットの腸内環境に与える影響

FPEB がラットの盲腸における発酵性を明らかにするとともに、腸管免疫関連物質に及ぼす影響についても検討した。FPEB を分画分子量 10,000 で透析・分離し、その FPEB 透析物を 5% 添加した試験食をラットに 28 日間給与した。その結果、盲腸内の *Bifidobacterium*、一般嫌気性菌数および短鎖脂肪酸濃度を増加させ、それに伴い盲腸内の pH を低下させたことより、腸内環境の改善効果が認められた。また腸管免疫関連物質である盲腸内ムチンや IgA 濃度も増加させたことから、腸管粘膜バリア機能の向上作用も示唆された。以上の結果、FPEB 透析物のプレバイオティクス効果が明らかとなり、その作用はイヌリンと同等であることが示唆された。

3)FPEB が肥育豚の産肉性に及ぼす影響

FPEB の飼料価値を評価する目的で、FPEB を給与した肥育豚の発育、産肉性、脂肪組織の脂肪酸組成および悪臭化合物であるインドール・スカトール含量への影響を検討した。その結果、FPEB は肥育豚の増体成績に悪影響を及ぼすことなく、豚肉の旨み成分の一つであるオレイン酸を増加させる効果が示された。また皮下脂肪においては、肉の臭みの原因となるスカトールやインドール含量を低下させる効果が認められた。スカトールやインドール含量の低下には、FPEB のプレバイオティクス作用との関連性が示唆された。

以上の結果より、FPEB は腸内環境の改善や、腸管粘膜バリア機能を向上させるプレバイオティクス効果を有することから、家畜の機能性飼料としての価値を有する可能性が示唆された。

本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

主論文

1. 平田浩，本間智子，永田龍次，韓圭鎬，島田謙一郎，日高智，岡田秀紀，福島道広
(2018)

植物エキス発酵液の製造副産物が腸内環境に与える影響

ルミコナイド研究 22(1) : 11-20