



有限会社峰和
近畿大学工学部
株式会社ヒロシマ・コープ

峰松和作 (研究代表者)
野村正人
宮脇好博



1. 研究の背景

広島県は柑橘産業が盛んで、特にレモンは全国生産の60%を占めている。柑橘は生食のほか加工用としても多く供されており、加工の一例として、柑橘を搾り果汁が生産されている。その果汁残渣のほとんどが産業廃棄物として取り扱われている。果汁残渣(レモン及び蜜柑)中の果皮には生体の代謝系に非常に役立つ機能性成分が含まれており、その効能に関しては学術報告書、雑誌、新聞などに多くの報告があり、その機能性 広島県は柑橘産業が盛んで、特にレモンは全国生産の60%を占めている。柑橘は生食のほか加工用としても多く供されており、加工の一例として、柑橘を搾り果汁が成分としてはポリフェノールである数種のフラボノイド等が含まれており、アラキドン酸代謝酵素に影響を及ぼし、血栓症、動脈硬化症、アレルギー疾患の予防に役立つことが証明されている。最近の少子高齢化社会において、癒しの対象としてペットの飼育が増えている一方、そのペットの中には人間と同じような疾患を患うペットが多く見られるようになった。このような状況の中で、人間と同じようにペットに対しても機能性フードの開発が求められている。そこで、果汁残渣の柑橘果皮に含まれる機能性成分をそのまま利用したペットフードの開発を試みた。

2. 研究目的

ペットフード市場は年々めざましく成長しており、柑橘果皮をそのまま利用したペットフードの開発は見当たらない。そこで、本研究ではレモン果皮及び蜜柑果皮を配合したペットフードを高脂肪食給餌(HFD-60)で飼育したマウス(C57BL/6NCr1Cr1j系雄性マウス9週齢・日本チャールス・リバー株式会社)に投与し、餌の安全性とその効果について、体重変化(メタボ対策)、摂餌量および水分摂取量について経時的に調べた。試作餌投与後9週目終了後にマウスの生検(血清生化学検査、胃・肝臓の病理診断など)を行ない、コントロールとの比較により、その安全性を明らかにした。また、飼育中のマウスの糞の匂いの低減、マウスの体臭の低減等の餌の機能性についても検討した。

3. 研究の成果

1) 肥満化したマウスにレモン果皮を配合した試作餌を投与した実験

6週齢マウスに脂肪分60%カロリー比高脂肪飼料を5週間与えた後、1群5匹としてD-1～D-3群に分けた。D-2群には、レモン果皮を配合した餌[鶏ササミ:馬鈴薯澱粉:小麦粉:レモン果皮=3:2:1:2配合比(%)]を10週間投与した。コントロール(D-3群)として、標準飼料(AIN-93M)を用いた。その結果、餌摂取量、水分摂取量及び体重変化を観察したところ、D-2群はD-3群と同様の体重維持(Fig.1)が見られた。なお、生体(血栓症、動脈硬化症、アレルギー疾患の予防等)に有効な天然物質であるポリフェノール類(ヘスペリジン(3.44mg)、オーラプテン(-)、エリオシトリン(3.96mg))の定量(/g)も行なった。また、試作餌の抗酸化能について、DPPHラジカル消去効果試験を行い、その効果についても検討した。(Table 1)

2) 蜜柑果皮及びレモン果皮/蜜柑果皮混合(1:1)試作餌を投与した実験

5週齢マウス15匹に標準飼料(AIN-93M)を1週間投与した後、蜜柑果皮配合の餌[鶏ササミ:馬鈴薯澱粉:小麦粉:蜜柑果=3:2:1:2配合比(%)]を投与したものをE-1群とし、E-3群にはレモン果皮・蜜柑果皮混合物(1:1)の餌を与えた。なお、E-2群をコントロール(AIN-93M)とした。その結果、マウスの餌摂取量、水分摂取量及び体重変化には、大きな相違はなく、しかも、マウスの行動にも変化が認められなかった。蜜柑特有の天然物質であるβ-クリプトキサンチン(黄色色素)の定量(0.08mg/g)も行なった。また、同様にDPPHラジカル消去効果試験も行い、その抗酸化能について明らかにした。(Table 1)

3) 3種類の試作餌に対するマウスの生育と組織観察の結果

3種類の試作餌を与えて、体重、摂餌量及び水分摂取量を毎日測定(Fig. 1)した。10週目(餌を変えて9週目)終了後、絶食後、解剖日前日の朝より絶食させ水のみを供給し、エーテル麻酔後断頭により採血し、開腹して胃、肝臓を摘出し重量測定を行なった(Table 2)。解剖観察した結果、レモン果皮配合試作餌(D-2群)、蜜柑果皮配合餌(E-1群)および蜜柑/レモン混合試作餌(E-3群)の各内臓には異常は認められなかった。解剖したマウスの血清から富士ドライケムスライドを用いて血清生化学検査(Table 3)を行なったところ、特にレモン果皮配合飼料では、GOT値(約31%低下)、GPT値(約46%低下)、総コレステロール値(約23%低下)の数値を得た。また、クレアチニン値をコントロールである標準飼料(AIN-93M)群と比較(0.220mg/dL)したところ、0.225mg/dLを示すなど問題のない試作餌であることを確認した。一方、蜜柑果皮を投与したマウスでは、GPT値ならびに総コレステロール値がコントロールである標準飼料(AIN-93M)に比べて、約21～23%程度低下した結果を得た。解剖で採取した5mm角の胃、肝臓細胞のパラフィン切片を作成したのち、ヘマトキシリン・エオジン染色による病理診断の結果からも組織には異常は認められなかったことから、試作餌である柑橘果皮配合のペットフードは安全であることを確認した。

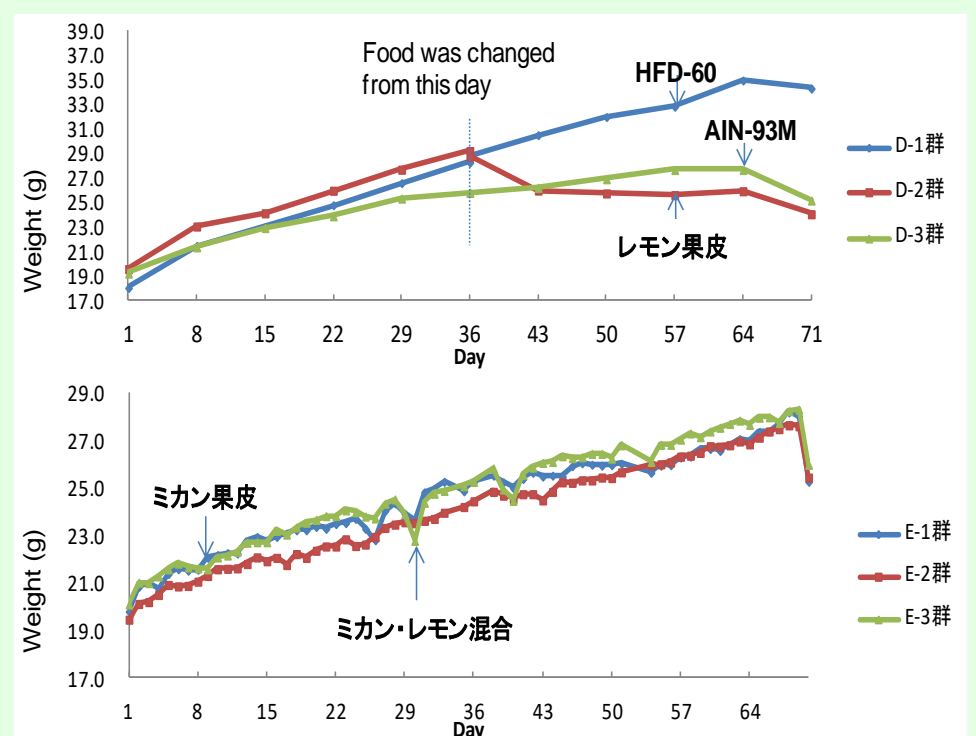


Fig 1 試作餌による体重変化

Table 1 各種試作餌の DPPH ラジカル消去試験結果

Sample	DPPH Radical Scavenging Assay	SOD-like Activity Assay ^{b)}
	Scavenging Rate(%) ^{a)}	Inhibition Rate(%)
試作餌 (レモン)	83.7	34.7
試作餌 (ミカン)	82.3	31.3
試作餌 (混合)	82.5	32.9
α-Tocopherol ^{c)}	95.5	-
Ascorbic acid ^{d)}	-	20.3

a) Final Concentration:0.4 mg/mL. b) Concentration:1.0 mg/mL.

c) Concentration:0.1 mM. d) Concentration:0.1 mg/mL.

4. データーなど

Table 2 各種試作餌を投与したマウスの血清生化学分析

測定項目	試作餌による飼育条件					
	D-1	D-2	D-3	E-1	E-2	E-3
体重(g)	34.3±0.8	24.1±0.6	25.2±0.6	25.2±0.8	25.4±0.9	25.9±1.0
胃(g)	0.2±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
(/体重 100g)	0.4±0.0	0.6±0.0	0.6±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1	0.7±0.1
肝臓(g)	0.9±0.0	0.9±0.0	0.9±0.0	0.9±0.0	0.8±0.0	0.9±0.0
(/体重 100g)	2.7±0.0	3.7±0.1	3.4±0.1	3.6±0.0	3.0±0.1	3.4±0.1

Table 3 血清生化学検査結果

分析項目	試作餌による飼育条件					
	D-1	D-2	D-3	E-1	E-2	E-3
GOT ¹⁾	104.0±9.5	71.4±1.9	97.6±9.7	97.6±7.2	94.4±8.7	94.8±9.3
GPT ¹⁾	28.4±2.6	15.2±0.4	21.0±1.4	17.6±0.7	23.4±1.0	20.2±1.5
GLU ²⁾	77.6±13.3	42.3±7.6	78.6±9.4	72.6±11.3	43.6±4.4	51.4±8.5
TG ²⁾	193.6±13.7	216.6±15.9	93.8±8.2	146.2±8.9	113.4±10.7	114.8±11.3
TCHO ²⁾	171.6±3.5	132.2±7.1	124.8±6.9	94.4±6.6	141.8±18.4	122.6±11.6
CRE ²⁾	0.3±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.3±0.1	0.2±0.0	0.3±0.0

1) U/l 2) mg/dl