



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                        |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Functional evaluation of bean husk as a new feed ingredient for monogastric animals [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | Htun Myint                                                                                                                                             |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                  |
| Degree Name         | 博士(農学)                                                                                                                                                 |
| Dissertation Number | 甲第13149号                                                                                                                                               |
| Issue Date          | 2018-03-22                                                                                                                                             |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/70187">https://hdl.handle.net/2115/70187</a>                                                                      |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>                                    |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                        |
| File Information    | Htun_Myint_review.pdf, 審査の要旨                                                                                                                           |



## 学位論文審査の要旨

|            |        |     |            |
|------------|--------|-----|------------|
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（農学） | 氏 名 | Htun Myint |
| 審査担当者      | 主査     | 教授  | 小林 泰男      |
|            | 副査     | 教授  | 高橋 昌志      |
|            | 副査     | 准教授 | 小池 聡       |
|            | 副査     | 助教  | 鈴木 裕       |

### 学位論文題名

Functional evaluation of bean husk as a new feed ingredient  
for monogastric animals  
(単胃動物のための新規飼料素材としてのマメ外皮の機能評価)

本論文は英文 74 頁，図 3，表 14，5 章からなり，参考論文 4 編が付されている。マメ外皮はマメ種子全重の 10%程度を占める農業副産物である。食物繊維およびポリフェノールなど機能性成分を含有し，多くの動物への飼料素材として着目されていたものの，科学的検討は十分ではなく，高度利用にはいたっていない。これまで一部のマメ外皮が，反芻家畜など複胃動物の消化管において繊維分解性細菌の生育を選択的に促進することが報告されている。したがって，他の動物、とくに世界で最多の単胃動物（ヒトも含む）においても，機能性素材として複胃動物と同等な，あるいはさらに効果的な作用が期待できるのかについて，注目が高まってきている。本研究は，各種マメ外皮の給与が，ラットの血液性状，ラットやイヌの大腸発酵や菌叢に及ぼす影響を評価し，その作用機序を明らかにしたうえで，単胃動物の健康維持・促進に資する新しい機能性飼料の開発に貢献することを目的としている。

#### 1) ラットにおけるヒヨコ豆外皮の機能性

ヒヨコマメ外皮の機能性を探るため，ラットへの給与試験を行った。15 匹の雄ラット（5 週齢）を 5 匹ずつの 3 群に分け，5%のセルロースを含む精製飼料（AIN 93G），そのセルロースを同量のヒヨコマメ外皮もしくはコーンスターチで置き換えたもの，計 3 種の飼料を各々に与え，3 週間個別でケージ飼育した（各々 CEL, CPH および STA）。比較にあたり，CEL をコントロール，STA をネガティブコントロールとみなした。飼料摂取量，増体量，主要臓器重や消化管内容物重に処理間で違いはなかった。CPH 区では，血清のコレステロール値が低く，過酸化脂質の低下などがみられ，抗酸化能の改善が示唆された。さらに盲腸内の総短鎖脂肪酸や酪酸濃度の上昇が確認された。変性濃度勾配ゲル電気泳動からみた盲腸細菌叢の変化も顕著であった。血液性状の改善はヒヨコマメ外皮が保有するポリフェノールによってもたらされ，腸管発酵の改善は機能性繊維成分による菌叢変化を通じたものであることが示唆された。

## 2) ラットにおけるフジマメ外皮およびダイズ外皮の機能性

フジマメ外皮およびダイズ外皮の飼料素材としての機能性について検討するため、ラットへの給与試験を実施した。20 匹の雄ラット（5 週齢）を 5 匹ずつの 4 群に分け、5%のセルロースを含む精製飼料 (AIN 93G) , そのセルロースを同量のフジマメ外皮、ダイズ外皮もしくはコーンスターチで置き換えたもの、計 4 種の飼料を各々に与え、3 週間個別にケージ飼育した（各々 CEL, LBH, SBH および STA）。飼料摂取量、増体量、主要臓器重や消化管内容物重に処理間で違いはなかった。しかし、LBH 区および SBH 区では、盲腸内容の短鎖脂肪酸や乳酸濃度が CEL 区より高くなった。また STA 区に比し、CEL 区、SBH 区および LBH 区は盲腸発酵における腐敗産物であるインドールおよびスカトール濃度が低くなった。LBH 区は CEL 区に比べ、盲腸内の有用菌群として知られる *Akkermansia muciniphila*, *bifidobacteria* および *Oscillibacter* 近縁菌群が増加した（qPCR, MiSeq および clone library 解析）。一方、SBH 区では有用菌の *lactobacilli* の存在量が高まり（qPCR および MiSeq 解析）、*bifidobacteria* も増加した（MiSeq 解析）。LBH 区と SBH 区では STA 区に比し、大腸疾患関連菌である *Dorea massiliensis* が低減した（qPCR, MiSeq および clone library 解析）。いずれのマメ外皮もオリゴ糖（ラフィノースとスタキオース）を含有しており、これらが腸内有用菌の増殖促進に貢献したと思われる。以上より、2 種のマメ外皮はいずれも単胃動物の腸内発酵の改善を通して、健康増進をもたらしうることが示唆された。

## 3) イヌにおけるダイズ外皮の機能性

ダイズ外皮の機能性をイヌで確認する給与試験を行った。4 匹のシバ（平均体重  $7.5 \pm 1.7$  kg）に、市販飼料にセルロースを 5.6%添加したものを 7 日間与え、その後、セルロースの代わりにダイズ外皮を添加したものに切り替え、さらに 7 日間飼養した（維持量を朝夕 2 回に分け制限給餌）。ダイズ外皮飼料の給与にともない、糞便の酢酸、酪酸および乳酸の増加、インドールとスカトールの低減が見られた。qPCR 解析により、*lactobacilli*, *Clostridium* cluster IV（有用菌 *Faecalibacterium prausnitzii* などを含む）、*Clostridium* cluster XIVa および *Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas* group の増加、*Clostridium* cluster XI の低減が認められた。よって、イヌの大腸発酵制御素材としてダイズ外皮は有効と判断された。

本研究では単胃動物のモデル系としてラットを、長命が望まれる単胃動物の代表としてイヌを用い、3 種のマメ外皮の飼料素材としての機能性を評価した。その結果、ヒヨコマメ外皮は抗酸化活性を、フジマメ外皮とダイズ外皮は腸内菌叢と発酵様式の改善作用を、それぞれ有することが初めて明らかとなった。以上の成果は、これら農業副産物の新規飼料素材としての活用の可能性を科学的に提示するものである。

よって審査員一同は、Htun Myint が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。