

平成 21 年 4 月 7 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19780200
 研究課題名 (和文) 反芻動物の消化生理に対する食品廃棄物由来タンニンの量的・質的評価
 研究課題名 (英文) Quantitative and qualitative evaluation of tannins in food byproducts for digestive characteristics in ruminants
 研究代表者 近藤 誠 (KONDO MAKOTO)
 三重大学・大学院生物資源学研究科・助教
 研究者番号：50432175

研究成果の概要：食品廃棄物に含まれるタンニンの含量（量的情報）とタンパク質結合力（質的情報）から反芻動物における消化阻害作用について検証した。15 種類の廃棄物のうちタンニンを豊富に含む素材はタンパク質結合力が高い傾向にあったが、タンニン量当たりのタンパク質結合力は、素材により大きく異なった。ルーメンおよび下部消化管における飼料タンパク質の消化に及ぼすタンニンの分子構造の特徴は、加水分解型と縮合型の分類に加えて、他の機構が関与する可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	900,000	0	900,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,600,000	210,000	1,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・畜産学・草地学

キーワード：反芻動物、消化阻害、食品廃棄物、タンニン、タンパク質結合力

1. 研究開始当初の背景

植物に含まれるタンニンの多くは、タンパク質と結合する特徴をもつ。タンニンは、動物が採食したタンパク質と結合して消化吸収を阻害させることや消化酵素と結合し酵素活性を低下させることが報告されている。一方、食品廃棄物を飼料資源として利用することは、有機資源の効率的利用や飼料コストの低減につながることを期待されており、多種多様な食品廃棄物についてその栄養評価が行われてきた。しかし、茶粕やブドウ皮、カカオ皮などの食品廃棄物には、タンパク質や繊維の他にタンニンなどのフェノール性

化合物が含まれることが多い。このような食品廃棄物の飼料価値を評価する場合、既存の栄養評価方法とは異なり、消化阻害作用を精査する必要があるが、そのような科学的な情報は乏しい。

反芻動物とタンニンに関する研究は、そのほとんどが熱帯や温帯のマメ科植物によって蓄積された知見に基づき体系付けられてきた。一方、飼料として利用が可能な食品産業廃棄物に含まれるタンニンに関しては報告例が少ない。特にこのような廃棄物は由来となる植物種や部位も様々であることから、牧草とは異なる活性を有していることが予

想され、個々の資源に応じた飼料評価が必要である。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、食品廃棄物について、タンニンの含量(量的情報)とタンパク質結合能力(質的情報)から評価を行なう。

(2) 上記より選抜された食品廃棄物について in vivo での消化特性と in vitro ルーメン内での分解に対するタンニンの影響を明らかにする。

(3) 植物タンニンの分子構造の違いが、反芻動物の消化管内におけるタンパク質消化に及ぼす影響を調べる。

3. 研究の方法

(1) 既存の飼料原料と食品廃棄物と農林業副産物(コーヒー粕、オレンジ皮、グレープフルーツ皮、レモン皮、スギ樹皮、カカオ殻、ヒノキ樹皮、ピーナッツ殻、ワイン粕、ブドウ皮、緑茶粕、ウーロン茶粕、紅茶粕)を収集した。これらについてタンニン含量を folin 法により定量し、さらに質的な評価を行うためタンパク質との結合力を測定した。

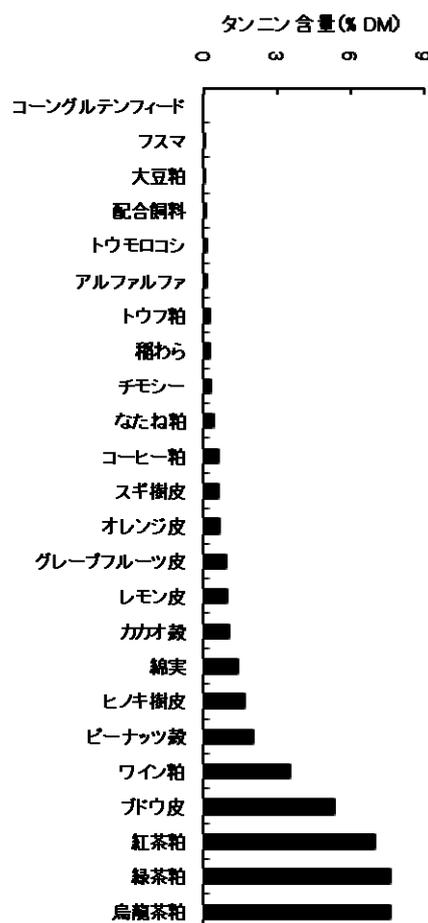
(2) 緑茶粕と紅茶粕についてアルファルファを比較対象として、シバヤギによる消化特性を評価した。給与飼料は、基礎飼料としてチモシー乾草とフスマにより体重の維持に必要なタンパク質要求量の 100%を充足させ、アルファルファ、緑茶粕サイレージ、紅茶粕サイレージにより要求量の 15.6%相当量を添加した。この時、茶粕の混合割合は乾物重量比で緑茶粕は 4.2%、紅茶粕は 5.8%であった。なお茶粕のタンニン含量は緑茶粕、紅茶粕でそれぞれ 9.6%、6.1%であったので、給与飼料に含まれる茶粕由来のタンニンはそれぞれ 0.38%、0.35%となった。さらに、次の実験では紅茶粕を給与する場合にポリエチレングリコール(PEG)を添加し、タンニンを不活性化させた状態で消化特性を調査した。また in vitro ルーメン内で緑茶粕および紅茶粕を培養し、それぞれのタンニンが飼料の分解性に及ぼす影響を評価した。

(3) 植物タンニンはその構造から加水分解型タンニンと縮合型タンニンに分類される。本実験では、構造上の分類が容易な樹木由来のタンニンを供試材料として選抜し、加水分解型タンニンとしてチェストナットとミラボラム、縮合型タンニンとしてミモザとケブラチョ、混合型としてタラとガンビアのタンニン剤を用いた。これらのタンニン剤を大豆粕に 10%付加した飼料を調製し、in vitro においてルーメン内分解率と下部消化管での消化率を評価した。

4. 研究成果

(1) 15 種類の食品廃棄物に含まれる総タンニン含量は 0.5~7.5%と素材によって様々であった(図 1)。その傾向として、ブドウ皮や茶殻が高い含量(5~7.5%)を示し、バナナ果皮やピーナッツ殻が中程度(2~3%)で、コーヒー粕、カカオ粕、かんきつ類の果皮は低い(1%以下)値を示した。また、タンパク質(牛血清アルブミン)に対する結合能力では、茶殻やブドウ皮で高い値を示し、カカオ粕、バナナ皮やピーナッツ殻が中程度の結合能力を示した(図 2)。一方、コーヒー粕やかんきつ類の果皮にはタンパク質結合能力が認められなかった。以上の結果から、タンニン含量が高い素材に関しては、タンパク質との結合能力が高いことが認められたが、低~中程度の含量では一定の関係は見出されなかった。このことから、食品廃棄物に含まれるタンニンのタンパク質結合能力は、タンニンの濃度とその種類(構造)によって異なること示された。

図 1. 飼料原料と食品廃棄物に含まれるタンニン含量



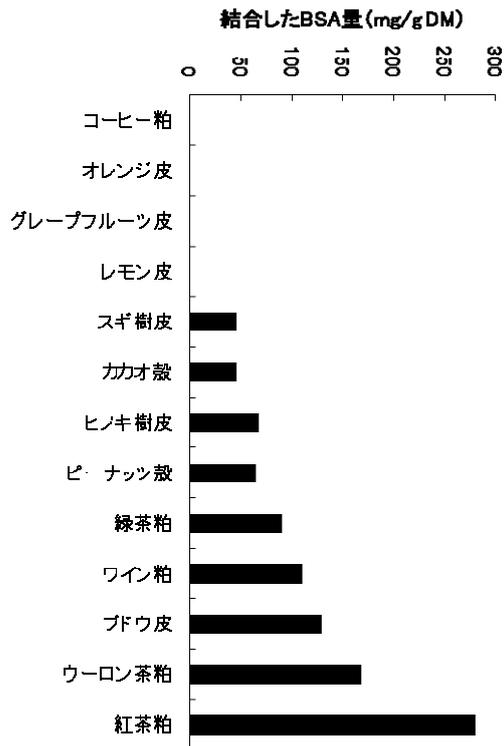


図 2. 食品廃棄物のタンニンと結合したタンパク質量

(2) 先に挙げた食品廃棄物の中でも、茶粕は粗タンパク質 (CP) 含量が乾物当たり 20~30%と高いため、タンパク質供給源として期待された。緑茶粕と紅茶粕をアルファルファと比較し、シバヤギに給与した結果、緑茶粕の給与ではアルファルファ給与区と比べて乾物やタンパク質、繊維の消化率に影響を与えなかったが、紅茶粕の場合ではタンパク質の消化率が低下する傾向が認められた。特に酸性デタージェント不溶性タンパク質

(acid detergent insoluble crude protein: ADICP) の消化率が負の値を示した (-10%)。ADICP は酸性デタージェントに不溶な窒素成分で、熱変性したタンパク質や、リグニンやタンニンと強固に結合したタンパク質を含む難消化性の CP 画分である。続く実験で、紅茶粕を給与する際に PEG を同時に添加したタンニンを不活性化させた結果、糞中への ADICP の排泄量が減少し、負の値を示していた ADICP の消化率が回復された。このことから、紅茶粕のタンニンが消化管内において新たに ADICP を形成させたことで摂取量よりも多い ADICP を排出させ、その結果消化率が負の値を示していたことが示された。紅茶粕のタンニンと結合したタンパク質の由来は、同時に採食している飼料や消化管内微生物、消化酵素などが考えられる。紅茶粕のタンニン

とタンパク質の結合が強固なために、下部消化管内でもその結合が解離せずタンパク質が消化されなかったため、糞中の ADICP として検出されることとなった。これに対して、緑茶粕ではそのタンニンがシバヤギの消化管内においてタンパク質との結合性が弱いために、本試験の給与量ではタンパク質の消化阻害は認められないと考えられた。続いて *in vitro* でのルーメン微生物の培養試験により、茶粕の分解性を PEG 共存下で評価した。本試験法では、飼料中の栄養素が微生物により代謝されることで発生するガスや NH_3 量を飼料の分解の指標としている。PEG の添加によりタンニンを不活性化させることでガスや NH_3 量が増加すれば、その飼料の分解をタンニンが抑制していたという間接的な指標となる。アルファルファや緑茶粕では PEG の添加によってもガス量が増加しないが、紅茶粕では PEG によりガス発生量が増加した。また NH_3 を指標とした場合、緑茶粕および紅茶粕で増加が認められた。つまり、茶粕のタンニンはルーメン内微生物による炭水化物やタンパク質の分解を抑制していたことを表している。またそれらの増加量は緑茶粕よりも紅茶粕で顕著に高いことから、紅茶粕の阻害活性は *in vitro* ルーメン内においても緑茶粕と比べて高いことがわかった。In vivo および *in vitro* の結果から、緑茶粕と紅茶粕は同程度のタンニン含量であるが、タンパク質に対する消化阻害活性は大きく異なり、特に紅茶粕のタンニンは消化されないほど強固なタンニン-タンパク質複合体を形成させることがわかった。

(3) ルーメン内における大豆粕のタンパク質分解率は 64%であったのに対し、タンニンを付加した大豆粕では 61.3~17.6%と有意に低下した。特に加水分解型タンニンであるミラボラム (36.8%) とチェストナット

(17.6%) を付加した場合において顕著に低い値を示したことから、加水分解型タンニンは縮合型タンニンと比べて、*in vitro* ルーメン内でタンパク質分解を抑制する作用 (=ルーメンバイパス作用) が高いことが示唆された。一方、下部消化管 (ペプシン+パンクレアチン) でのタンパク質消化に対するタンニンの阻害作用は、縮合型のケブラチョで顕著であり、次いで加水分解型のチェストナットで高かった。しかし、同じ加水分解型に属するミラボラムでは消化阻害作用は低かった。これらの結果から下部消化管内では消化阻害作用とタンニンの構造には明確な関係が認められなかった。以上より、反芻動物の消化管内におけるタンパク質消化に及ぼすタンニンの分類は、加水分解型と縮合型の二分類に加えて、さらに他の構造上の特徴が関与することが示唆された。

これらの成果を総じて、タンニンが反芻動物のタンパク質消化に及ぼす影響の程度から、タンニンを次のA、B、Cの三つに分類した(図3)。タンニンの種類によってはタンパク質と結合が弱くルーメン内におけるタンパク質分解を抑制しないタンニンの存在も考えられる(タンニンA)。この場合、タンパク質は微生物により速やかに分解され、 NH_3 となり新たな菌体の合成に利用されたり、ルーメン壁から体内へ吸収され、肝臓を経由し唾液として再循環されるか尿中へ排出される。一方、タンニンがタンパク質と結合体を形成してルーメン微生物による分解を免れる場合では次の2通りが想定される。タンニンとタンパク質の結合が適度に緩やかな場合、ルーメン内でのタンパク質の分解速度を遅らせることや、第四胃(pH約2.5)や十二指腸(pH8~9)でその結合が解離し、タンパク質が消化酵素により消化されて吸収されることが考えられる(タンニンB)。しかし、タンニンとタンパク質の結合が強固な場合は下部消化管内でも解離せず、消化酵素が働かないために、タンパク質がタンニンと結合したまま糞中へ排泄される(タンニンC)。以上のようにタンパク質消化に及ぼすタンニンの影響を分類すると、タンニンBのように、非分解性タンパク質を増加させ、さらに下部消化管ではアミノ酸にまで消化・吸収させる様式が最も望ましいタンニンであり、このようなタンニン素材の選抜が重要となる。

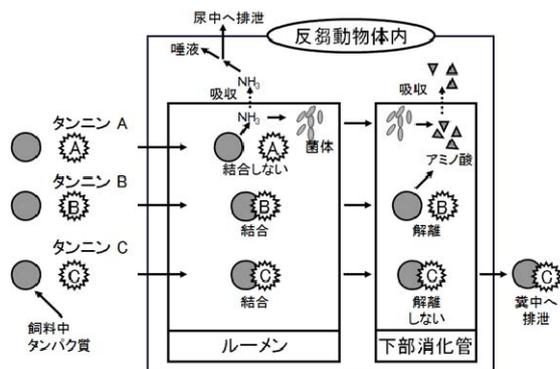


図3. 反芻動物の消化管内で想定されるタンニンとタンパク質の結合と解離

本研究を通して、次の点が今後の課題として挙げられた。食品廃棄物由来のタンニンとタンパク質との結合力について、反芻動物の消化管内を想定した様々なpHで行うことと、飼料由来のタンパク質や消化酵素を対象として測定することが必要である。また、化学分析による既存の定量法だけではタンニンによる消化阻害活性を評価できない面が多いため、今後、消化特性と関連性のある分子

構造を捉える新たな分析手法の確立が必要である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① 近藤 誠. 反芻動物におけるタンニン含有資源の飼料特性. 北信越畜産学会報. 98: 1-15, 2009 (査読有り)
- ② 近藤 誠, 喜多一美, 横田浩臣. 飲料工場間およびロット間における各種茶抽出粕の化学成分の変動. 日本草地学会誌. 53: 172-178, 2007年 (査読有り)
- ③ Kondo M, Kita K, Yokota H. Ensiled or oven-dried green tea by-product as protein feedstuff: effects of tannin on nutritive value in goats. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 20: 880-886, 2007年 (査読有り)
- ④ Nishino N, Kawai T, Kondo M. Changes during ensilage in fermentation products, tea catechins, antioxidative activity and in vitro gas production of green tea waste stored with or without dried beet pulp. Journal of the Science of Food and Agriculture. 87: 1639-1644, 2007年 (査読有り)
- ⑤ Kondo M, Hidaka M, Kita K, Yokota H. Feeding value of supplemented diet with black tea by-product silage: Effect of polyethylene glycol addition to the diet on digestibility of protein fractions in goats. Grassland Science. 53: 131-137, 2007年 (査読有り)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 誠 (KONDO MAKOTO)

三重大学・大学院生物資源学研究科・助教
研究者番号: 50432175

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者