

令和元年度
戦略的基盤技術高度化・連携支援事業
戦略的基盤技術高度化支援事業

「高齢者の虚弱（フレイル）の予防・改善によって健康寿命延伸に
寄与する機能性多糖類とそれを用いた食品原料の開発」

研究開発成果等報告書

令和2年3月

担当局 中部経済産業局
補助事業者 公益財団法人岐阜県産業経済振興センター

目 次

第1章 研究開発の概要	2
1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標	2
1-2 研究体制	5
1-3 成果概要	7
1-4 当該研究開発の連絡窓口	9
第2章 本論	10
1. 活性型ペクチンの高生産技術の開発	10
2. 活性型ペクチンの分析及び評価	17
3. 活性化ペクチンの量産化	27
4. 事業化に向けた取り組み	33
最終章 全体総括	36
1. 研究開発成果	36
2. 研究開発後の課題・事業化展開	37

第1章 研究開発の概要

1-1 研究開発の背景・研究目的及び目標

(1) 研究開発の背景

わが国は世界一の高度高齢化社会を形成している。総人口は2017年5月1日時点で1億2,673万人と減少傾向にある一方、65歳以上の高齢者人口は3,496万人、総人口に占める割合(高齢化率)は27.6%と過去最高を更新し続けている(図1)。それに対し、日常生活に制限の無い期間(健康寿命)は伸び悩んでいる。2001年から2013年までの平均寿命の伸びが男性2.14年、女性1.67年であるのに対して健康寿命の伸びは男性1.79年、女性1.56年に留まっている(内閣府平成28年度高齢社会白書)。

平均寿命と健康寿命との差が増大することは、高齢者のQOLの低下のみならず、医療費や介護給付費の支出増大に直結する問題であるため、健康長寿の実現は重要な国家戦略である。この解決手段の一つとして、高齢者の虚弱(「フレイル」)の克服が重要視されている

(図2)。「フレイル」とは、加齢とともに、心身の活力(例えば筋力や認知機能等)が低下し、生活機能障害、要介護状態、そして死亡などの危険性が高くなった状態をいう。今後の取組みとして、医療・介護の枠を超えて家庭での予防も含めた総合的なフレイル対策が必要となる。

国際的にも、高齢化の進む先進国ではフレイルの克服が課題となっている。特に欧州では、要介護予防にはフレイル防止が重要との考えから、アクションプラン策定に向けて2014年6月に国際会議を開催した。先進国のみならず、アジアの発展途上各国は今後日本を上回る加速度で高齢化に向かうことが予想されている。これらの国々の先駆けとして日本がどのような高齢化対策を進めるのか、各国が注視している状況である。

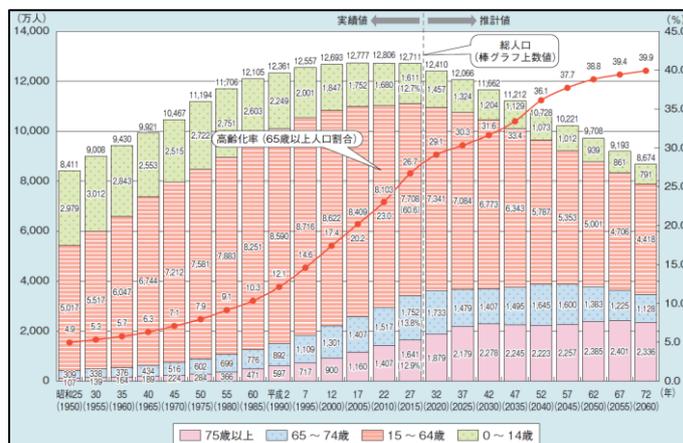


図1 日本の人口推計と高齢化率の推移

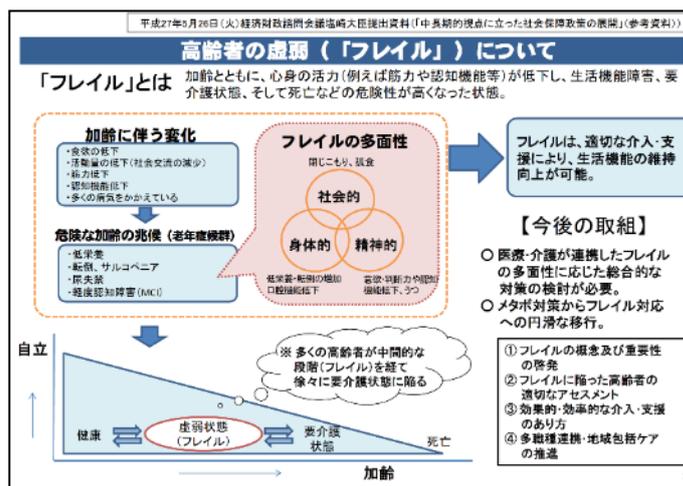


図2 高齢者の虚弱(フレイル)の図解

(2) 研究開発の目的

従来技術・状況と、新技術の概要と目的とするべき改善された状況を図3に示す。

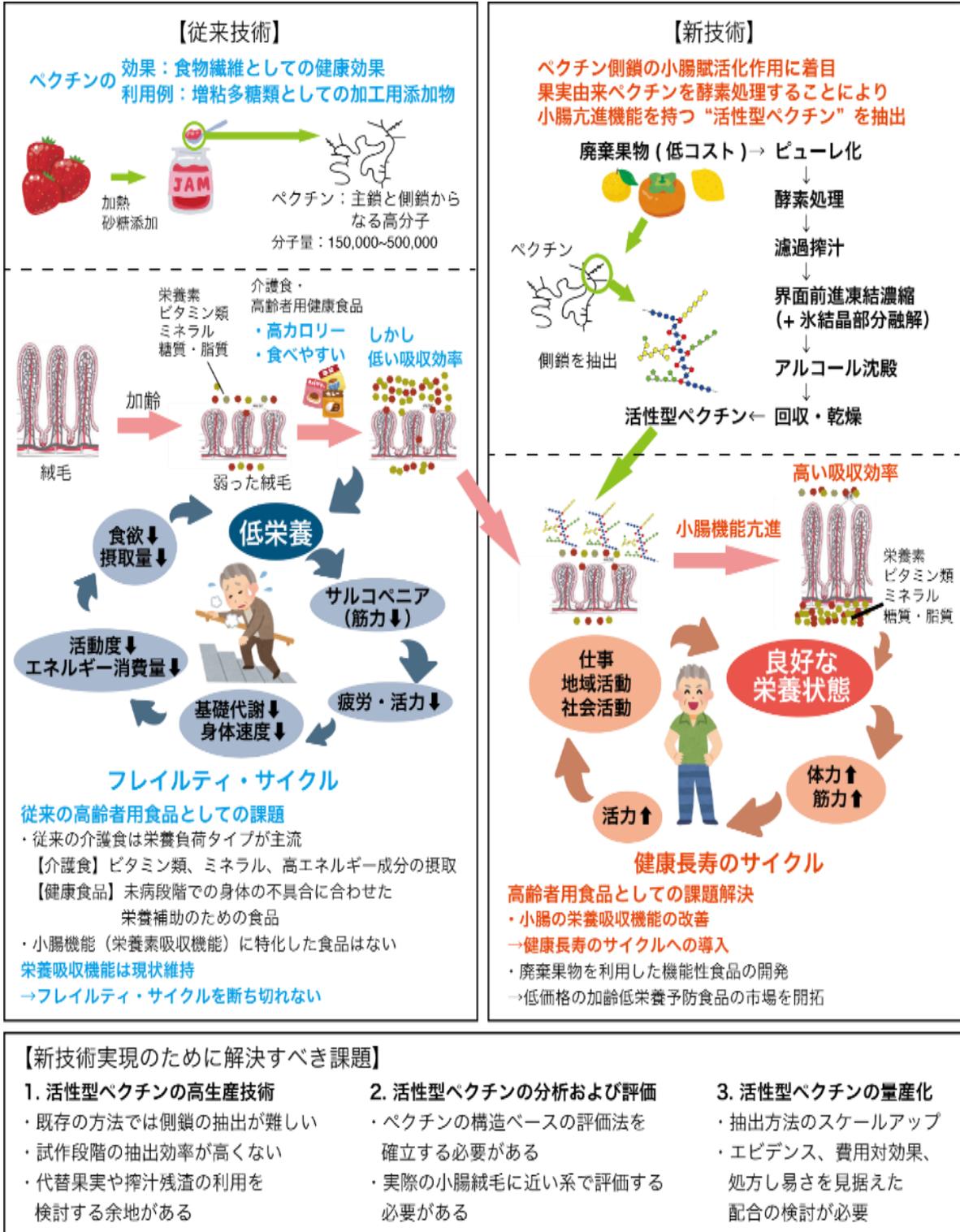


図3 活性型ペクチンの利用でフレイルティ・サイクルから健康長寿のサイクルへ

(3) 目標

1. 活性型ペクチンの高生産技術の開発

機能性表示食品の天然由来関与成分は非常に高価であるため、含有量の多いタイプと安定供給型の低コスト品の開発が必要と考える。

- ・機能性食品素材・サプリメント原料（高額ではあるが効き目が強い）

活性型ペクチン含量 20%以上、目標価格 ¥200,000/kg

- ・介護食品原料（低コストで汎用型）

活性型ペクチン含量 5%以上、目標価格 ¥10,000/kg

2. 活性型ペクチンの分析及び評価

機能性表示食品として認められるレベルでの作用機序の解明、機能性関与成分として明確な基準を設けるための分析法を開発する。

- ・特許出願 1 出願
- ・学会発表 3 題以上
- ・論文 1 報
- ・分析 LC-MS/MS での構造決定、食品原料としての製品ロットごとの定性・定量分析を検討し、第三者機関でも定量分析が行える体制を整える。

ランニングコストの抑制 10 円/回 を目指す。

3. 活性型ペクチンの量産化

1. で見出した生産技術を利用した、目的となる製品タイプの量産化を確立し、それにもたれた製法での特許出願を目指す。

- ・機能性食品素材・サプリメント原料 目標コスト ¥100,000/kg

食物繊維含量が95%以上、活性型ペクチン含量 20%以上、

- ・介護食品原料 目標コスト ¥5,000/kg

活性型ペクチン含量 5%以上、また、介護食品用献立 200 種類程を提案する。

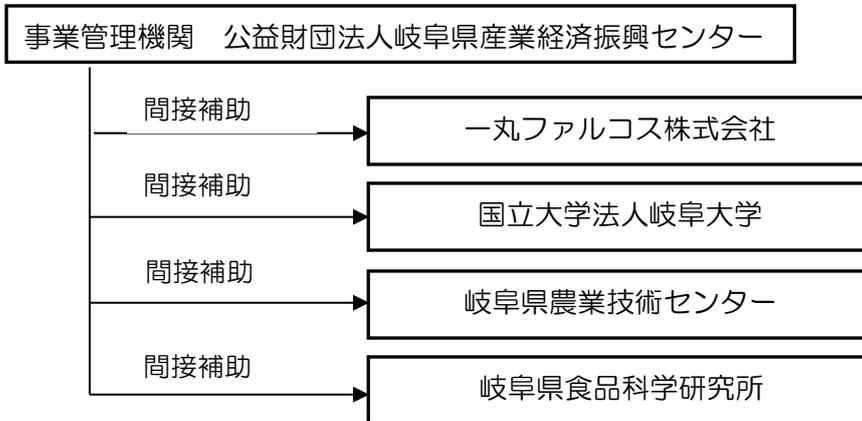
4. 事業化に向けた取り組み

- ・目標：有効摂取量 10mg/日（ヒト臨床試験により決定）
- ・機能性表示目標「本品は柿由来ペクチンが含まれています。カロテノイドなどの栄養素吸収促進作用が報告されています」等

1-2 研究体制

(研究組織・管理体制、研究者氏名、協力者)

1. 履行体制図



2. 管理員及び研究員

【事業管理機関】 公益財団法人岐阜県産業経済振興センター
管理員

氏名	所属・役職	実施内容 (研究項目番号)
原田 敏明	技術振興部長兼技術支援課長	⑤
小川 誠	技術振興部開発支援課長	⑤
澤島 英勝	技術振興部開発支援課 主査	⑤
戸松 薫	技術振興部開発支援課 主任	⑤
水野 善介	技術振興部開発支援課 管理員	⑤
内田 昌宏	技術振興部開発支援課 管理員	⑤
平光 己朗	技術振興部開発支援課 管理員	⑤
杉山 政敏	技術振興部開発支援課 管理員	⑤
後藤 満	技術振興部開発支援課 管理員	⑤
芳岡 康郎	技術振興部開発支援課 管理員	⑤

【間接補助事業者】

一丸ファルコス株式会社

氏名	所属・役職	実施内容 (研究項目番号)
大野 真貴	開発部 製品開発1課長	①-1,2、②-1,2,3 ④-1,2
中田 善久	開発部 次長兼知財管理室長 兼製品開発4課長	①-2、②-1
伊藤 賢一	開発部 次長兼製品開発2課長	②-1、④-1,2
榎谷 晃明	開発部 研究開発2課長	①-2、②-1,2
小島 弘之	開発部 製品開発2課 参事	②-1、②-2

濱田 朋志	開発部 製品開発2課 研究員	②-1
広瀬 健太郎	開発部 製品開発4課 研究員	②-1,2、③-1
岡本 知也	開発部 製品開発4課 研究員	②-1,2、③-1
上島 三枝	営業部 営業1課	④-1
竹内 良太	開発部 製品開発1課 研究員	②-1、③-1
河合 有香	開発部 研究開発1課 研究員	②-1、①-1、①-2

国立大学法人岐阜大学

氏名	所属・役職	実施内容 (研究項目番号)
矢部 富雄	応用生物科学部 教授	②-1,2,3
北口 公司	応用生物科学部 助教	②-3
矢部 律子	応用生物科学部 技術補佐員	②-1,2,3
サナ ベン オスマン アルールー	応用生物科学部 研究員	②-1,2,3

岐阜県農業技術センター

氏名	所属・役職	実施内容 (研究項目番号)
新川 猛	果樹・農産物利用部 部長	①-2
杉浦 真由	果樹・農産物利用部 研究員	①-2

岐阜県食品科学研究所

氏名	所属・役職	実施内容 (研究項目番号)
鈴木 寿	試験研究部 部長	①-1,2、③-1
加島 隆洋	試験研究部 専門研究員	①-1,2、③-1

1-3 成果概要

1. 活性型ペクチンの高生産技術の開発

(1-1) 規格外柿の利用

「活性型ペクチンの量産化検討」で実施し、処理方法が決定した規格外柿前処理品を用い、規格外柿よりペクチン抽出の効率が良い酵素の選定、反応条件の検討が完了し、実用化に向けた生産技術の開発が終了した。

柿の規格外種には様々な状態があり、それらの違いを LC-MS/MS で評価し、カイガラムシ被害果等種々の状態で使用可能であることが判明した。また、過熟柿のペクチンを適熟果と比較したところ、その分布に違いがあるものの、原料として使用することも判明した。

(1-2) 搾汁残渣等の利用

規格外柿以外の素材として、ユズ搾汁残渣の利用を検討した。規格外柿とは状態が大きく異なるため、導入した原料前処理装置を用いて処理をおこなった結果、効率よい抽出状態が得られるようになった。また、抽出酵素の検討も行い、その pH により柿とは異なった酵素で効率よく抽出できる条件を得ることができた。

岐阜県産果実を原料として使用する場合の規格外果実収集について精査し、必要量に応じた原料種選定について協議した。

2. 活性型ペクチンの分析および評価

(2-1) 有効成分の定性・定量のための分析技術の高度化

本研究により導入した多糖分析装置等を持ちい、柿過熟果におけるペクチン側鎖領域の構造変化を明確にすることができた。他、¹H-NMR の結果より、過熟果において特徴的な低磁場へのシフトも観察された。

同様に導入した LC-MS/MS において、果実種による MS スペクトルの違いが見られ、それを利用しペクチンの原料判別の検討をおこなった。また、導入した多糖類分取装置により分画分取したペクチン側鎖を LC-MS/MS にて分析評価し、特徴的な m/z ピークを見出すことができた。そのピークを基準として、各種試作品のペクチン側鎖の定性・定量分析に利用できるよう、検討を重ねた。

これらの LC-MS/MS の分析は「水」を溶離液として利用することを可能とし、試験のためのランニングコストを非常に安価に抑えることができた。

(2-2) 小腸上皮細胞の形態変化による新しい評価方法の確立

導入したタイムラプス顕微鏡を利用し、新しい評価法の核となる腸管上皮オルガノイドの安定的な作成を検討し、その作成方法を確立した。また、同様に導入した多糖類導入装置（マイクロインジェクタ）により、柿ペクチンを導入し、そのクリプト出芽数等評価を実施した。作成したマウス腸管オルガノイドが3次元コラーゲンマトリゲルに埋められている状態で、小腸管腔に相当する部分が内側に位置しているため、ハイスループット系に適用することが困難であったため、腸上皮独特の特徴を再現し続ける2次元単層として培養する方法を、更に開発した。その結果、長期間持続可能な腸上皮細胞の単層培養に成功した。これらの成果は、岐阜大学にて以下のように論文投稿中である。投稿誌 「Experimental Gerontology」

タイトル「Senescence-Accelerated Mouse Prone 8 mice exhibit specific morphological changes in the small intestine during senescence and after pectin supplemented diet」

(2-3) 老化促進マウス（SAMP8）を利用した有効性の評価

初年度実施の SAMP8 マウス（7～22週齢）利用の有効性の評価では、ペクチン摂取において腸管重量の増加が見られ、腸管への影響が示唆されたが、更に老化の進んだ36～43週齢 SAMP8 マウスでの試験においては、22週齢で見られたような効果が認められなかった。その他、行動試験、血清中総タンパク質濃度、血清アルブミン、幹細胞マーカーの発現量についても有意な差が認められなかった。これは、想定以上に SAMP8 の老化にばらつきがあり、これが大きく影響しているものと推測した。

中間年度途中から、他モデルとして、本事業のアドバイザー伊藤先生、森田先生の意見のもと、生体腸管吸収モデルとして汎用されている Caco-2 細胞での評価や、絶食マウスを用いた in vivo 試験の確立に向け検討を実施した。

Caco-2 細胞での細胞増殖試験の結果、対象に比して増殖作用に有意な差が認められた。絶食マウスでの試験では、ペクチン摂取により、脂肪酸消費の上昇に関与すると考えられる遺伝子群の発現増加が確認されるなど、小腸機能に何らかの影響を与えることは示唆されたが、絶食によるマウスの衰弱が激しく、試験系としては適切でないと判断した。

その為、最終年度において、老齢マウス・若齢マウスの臓器や IAP 活性比較や予備試験をもとに「タンパク質・エネルギー低栄養：Protein-energy malnutrition (PEM)」モデルマウスでの試験を構築し、活性型カキ・ユズペクチンの有効性試験を実施した。

また、マウス食餌への添加量を、当初は明確な結果が得られるように過剰量にて実施していたが、利用コストを考えた摂取量とするべくその量の変更を行った。

PEM モデルマウスを用いて有効性を比較した結果、効果を示す小腸の部位は異なるものの、低タンパク質摂取時の腸絨毛伸長効果がカキおよびユズ由来のペクチンにおいていずれも確認された。また、小腸に存在する糖質の消化吸収に関連するタンパク質遺伝子の発現が、ペクチン摂取時において有意に上昇することが確認され、低タンパク質摂取時のペクチンによる改善効果を示すものと考えられた。

更に解析を続け、その結果により、機能性多糖類である「ユズペクチンの小腸機能に対する作用について」特許出願を検討中である。

3. 活性型ペクチンの量産化

(3-1) 活性型ペクチンの高効率回収技術の開発

規格外柿の保管方法、抽出前処理方法・装置の選定を行い、その製造方法を確定した。

「1. 活性型ペクチンの高生産技術の開発」で見出された方法をもとに量産化検討を行い、パイロットプラントでの製造実施、コスト算定を行った。また、ユズにおいても、柿とは異なると特性を持つため、それに適した前処理方法～ペクチン抽出・高効率回収ができる方法を見出し、本事業で導入した残渣分離装置での量産検討を行い、そのコスト算定を行った。規格外柿での検討では、その製造原価が目標には及ばなかったものの、ペクチン高含有のユズ搾汁残渣よりの製造においては、目標としていた、「製造コスト¥100,000/kg」を可能にした。

また、新たな精製技術である「凍結融解法」の検討を行い、更なる高効率な回収技術の開発にも取り組んでいる。また、各果実原料の購入価格調整も継続して実施している。

(3-2) 試作準備

介護食関連の展示会、マーケティング会社主催「フレイル市場」「介護食市場」の展望と課題についてのセミナー、及びサルコペニア・フレイル学会等に参加し、研究・市場動向の情報収集した。現状においては、介護食市場よりサプリメント市場での要求のほうが多いと判断し、サプリメント市場に提供できる原料開発を優先し、各テーマの検討を実施した。

4. 事業化に向けた取り組み

(4-1) 安全性試験の実施

(2-3) 有効性評価、(3-1) 量産化コストの両結果より、活性化ユズペクチンを検体として、安全性試験(2項目)を実施し、両項目とも問題ないとの結果が得られた。

① 動物試験

- ・急性毒性試験（単回投与毒性試験） 2,000mg

② 遺伝毒性試験

- ・細菌を用いる復帰突然変異試験 陰性

（4-2）販売準備

機能性表示食品の情報を随時収集するとともに、果実ペクチン関連発表により、研究内容の周知を積極的に実施した。

1-4 当該研究開発の連絡窓口（_at_を@に変換）

（公財）岐阜県産業経済振興センター ものづくり基盤技術担当 主任 戸松 薫

電話；058-379-2212 FAX:058-379-2215 tomatu_at_gpc-gifu.or.jp

一丸ファルコス株式会社 開発部 製品開発1課長 大野 真貴

電話；058-320-1036 FAX:058-320-1044 ohno-maki_at_ichimaru.co.jp

国立大学法人岐阜大学 応用生物科学部 教授 矢部 富雄

電話；058-293-2913 FAX: 058-293-2913 yabet_at_gifu-u.ac.jp

岐阜県農業技術センター 果樹・農産物利用部 部長 新川 猛

電話；058-239-3133 FAX: 058-239-3139 niikawa-takeshi_at_pref.gifu.lg.jp

岐阜県食品科学研究所 試験研究部 部長 鈴木 寿

電話；058-201-2360 FAX: 058-201-2363 suzuki-hisashi_at_pref.gifu.lg.jp

第2章 本論

1. 活性型ペクチンの高生産技術の開発

(1-1) 規格外柿の利用(実施機関:岐阜県食品科学研究所、一丸ファルコス株式会社)

本事業の素材選定にあたり、ペクチン含有の果実の中でも地域貢献との側面から岐阜県産果実、図4に示すように、特に生産量が多く、規格外品の有効利用が広く検討されている柿の検討を行った。

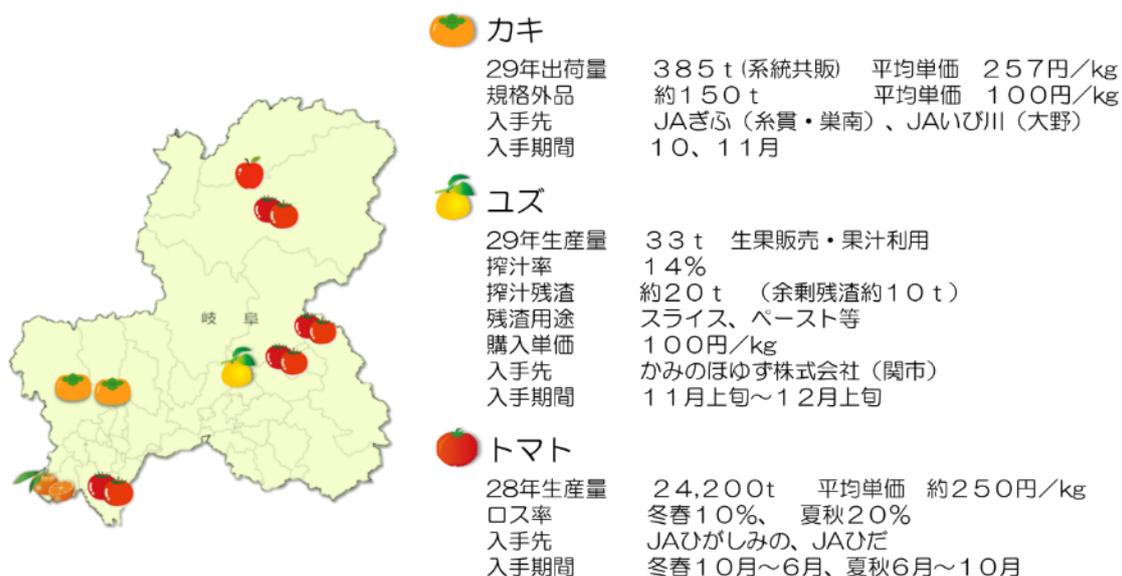


図4 岐阜県内農産物出荷状況

果実の利用では、その保管方法は重要な課題である。規格外柿は果実のままでも、0℃、6カ月保存が可能であることが確認できた。

また、その前処理方法として、蒂・種・皮を除去後、乾燥することを試みたが、コストアップと、粉碎しない場合の保管場所の拡大が問題であった。ペースト状として冷凍保管可能であり、冷凍品よりのペクチン抽出も、乾燥品からの抽出と同様の収率・状態であるため、より経済的な冷凍保管が適切であると判断した。



図5 柿洗浄

蒂取り機

蒂除去後柿

種・皮除去、ペースト化

柿ペースト

従来岐阜大学で構造や活性の検討の際に行われていた抽出方法は、オートクレーブでの高温加圧条件での抽出方法（図 6）であったが、量産には適さず、別の方法で効率よくペクチンを抽出する方法として、酵素法が考えられ、最適な酵素の選定を行った。

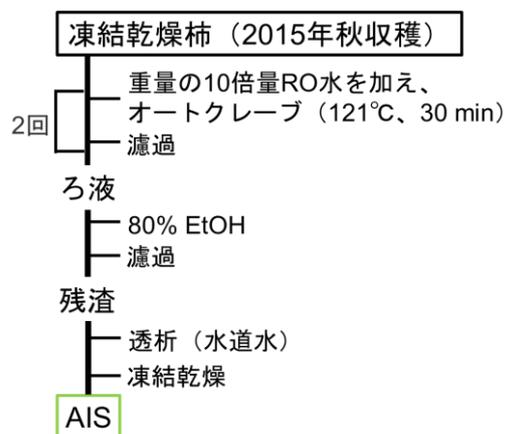


図 6 オートクレーブ抽出法

柿の一般栄養成分（可食部100g当り） ※ 7訂 日本食品標準成分表より	
	甘がき(生)
水分	83.1 g
タンパク質	0.4g
脂質	0.2g
炭水化物	15.9g
(糖質)	(14.3g)
(水溶性食物繊維)	(0.2g)
(不溶性食物繊維)	(1.4g)
灰分	0.4g

図 7 柿栄養成分

表 1 柿 抽出酵素検討

抽出法	加熱法	酵素法			
		未添加	A	B	C
酵素	-				
反応pH	未調整	3.5 (腐敗微生物の増殖抑制のため)			
反応温度(°C)	121	35			
反応時間(h)	1	24			
搾汁率(対柿ペースト)	-	17%	70%	64%	69%
エタノール沈殿濃度(%)		80			
ペクチン抽出率(対柿ペースト)	0.1%	0.1%	0.6%	1.4%	0.5%

3種類の酵素で検討した結果（表 1）、柿からペクチンを抽出する際に、有効な酵素 B を見出すことができた。この酵素を用いることで、柿中の総食物繊維 1.6g 中 1.4g(約 90%) 回収と良好な結果が得られた。

表 2 柿 活性化酵素検討

原料	酵素 B 処理果汁より調製した 66% AIS										
活	加水量	酵素処理果汁の 1/3									
性	活性化酵素	A	C	D	E	F	G	H	I	J	無
化	酵素添加量	酵素処理果汁の 0.2%									
	反応温度	45°C、24 時間									
回	EtOH 濃度	80%									
収	AIS 収率%	24.1	24.7	29.1	47.2	43.8	61.9	53.9	29.0	57.5	96.1

次に、活性が高いと推定するペクチン側鎖への加水分解を行うための酵素の検討を行った。この操作により、主鎖が分解し低分子化するため、AISの減少が起こるため、これを基準に酵素を選定した(表2)。その結果、A,C,D,IでAIS収率の低下が起こり、低分子化が示唆されたため、これを確認した。A、Dで低分子化が起こっており(図8)、より入手しやすい「A」を選択した。

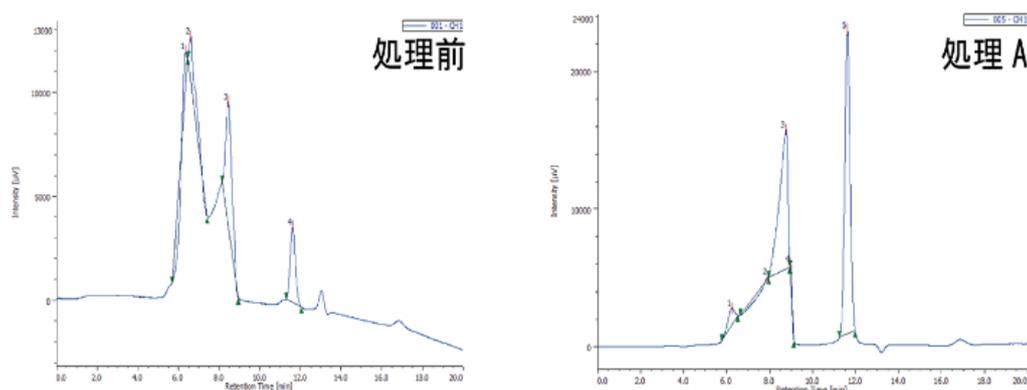


図8 活性化酵素処理残後の検討分子量

決定した2タイプの酵素の条件検討を行い、より最適な条件を見出すことができた(表3)。これにより、時間の短縮が可能であることが判明し、量産化のための基本的な条件検討は完了した。

表3 活性型柿ペクチン調製効率化検討

No.	1	2	3	4	5	6
サンプルペースト(g)	250.0	250.0	250.0	250.0	250.0	250.0
食物繊維含量(g)	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
酵素	B	B	A	A	B+A	B+A
反応温度(°C)	50	50	50	50	50	50
反応時間(H)	2	6	2	6	2	6
反応pH(未調整)	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
遠心搾汁(g)	173.0	187.5	203.2	197.2	194.5	211.0
搾汁率(%)	69.2%	75.0%	81.3%	78.9%	77.8%	84.4%
除タンパク果汁(g)	167.2	181.77	198.05	193.51	190	206.58
除タンパク果汁(g)	10.14	10.54	10.35	10.48	10.3	10.47
EtOH沈殿濃度(%)	80	80	80	80	80	80
80%AIS(乾燥重量)	0.2375	0.1332	0.111	0.1173	0.1063	0.1047
80%AIS収率(対食物繊維)	97.9%	57.4%	53.1%	54.1%	49.0%	51.6%

他に、柿は果物であるが故、原料入手時期にも制限があり、その規格外の状態にも様々なものがあることがわかってきた（図9）。そのため、各種規格外の状態、採取時期による通常品と違いをLC-MS/MSで比較し、得られたMSスペクトルに大きな差がないことが確認できた（図10, 11, 12）。また、(2-1)で説明する詳細な分析で、採取時期の違いによる詳細な比較を行った結果でも、大きな違いは見られず、更に、細胞による有用性評価でも相違がなかった。これらより、採取時期違いや様々な状態の規格外柿が原料として利用できることが判明した。



図9 規格外柿の例

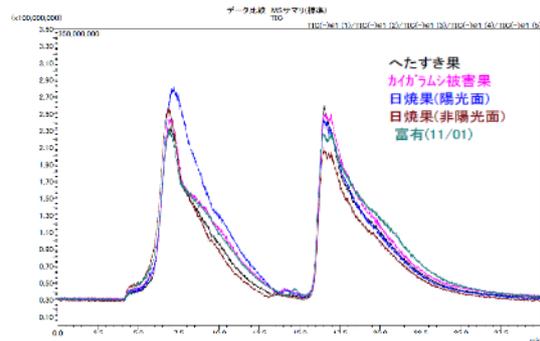


図10 規格外柿のMSスペクトル

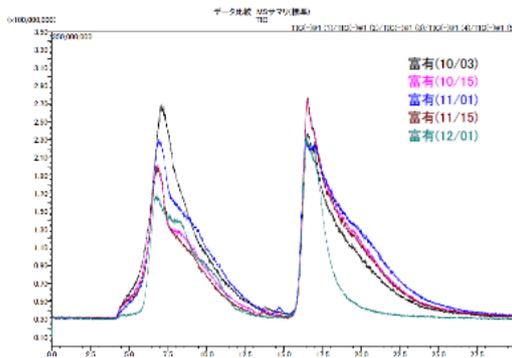


図11 柿採取時期違いのMSスペクトル

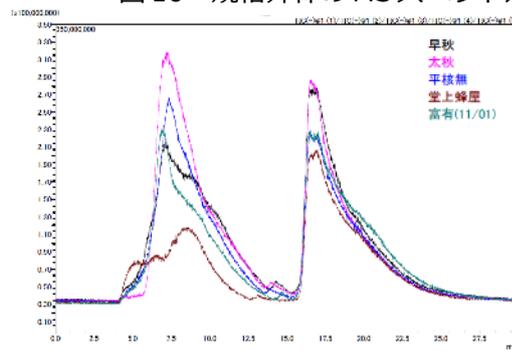


図12 柿種違いのMSスペクトル

(1-2) 搾汁残渣等の利用

(実施機関：岐阜県農業技術センター、岐阜県食品科学研究所、一丸ファルコス株)

岐阜県産の果実・野菜の中にはペクチンを含有するものが柿以外にも各種あり、その供給量・価格からユズペクチンを検討することとした。年間10tあまり発生するユズ搾汁残渣の調達を可能にした。ユズ搾汁残渣中のペクチンを含む水溶性食物繊維含量が柿の14倍もあることが確認でき（図13）、このことからユズ搾汁残渣は有用な原料となりうる事が判明した。導入した原料前処理装置で処理したユズ搾汁残渣状態は均質で非常に良好であり、効率よい抽出を可能にした（図14）。

ユズ搾汁残渣の一般栄養成分 (100g当り)	
※岐阜県産業技術センター分析値	
水分	80.7g
タンパク質	1.3g
脂質	1.2g
炭水化物	16.0g
(糖質)	(7.0g)
(水溶性食物繊維)	(2.8g)
(不溶性食物繊維)	(6.2g)
灰分	0.8g

図13 ユズ 栄養成分



図 14 ユズ搾汁残渣 原料前処理装置 ペースト化処理 ユズペースト

ユズからの抽出に効率の良い酵素の検討を行い、ユズペーストのpH 故、柿とは異なる酵素が最適であることが確認できた。その結果を表 4 に示す。

表 4 ユズ搾汁残渣 抽出酵素検討

原料	ユズ搾汁残渣ペースト				
食物繊維含量(g)	9.0% (水溶性 2.8%・不溶性 6.2%)				
酵素	B		B''		
添加量 (%)	0.5		0.5		
反応温度 (°C)	55				
反応時間 (H)	2				
反応 pH	3.7 (未調整)				
搾汁率(%)	39.9%		68.7%		
エタノール沈殿濃度 (%)	-	66	-	66	
未回収 AIS 発生率 (対食物繊維)	-	2.5%	-	3.1%	
活性化処理	加水量	-	搾汁量と同量	-	搾汁量と同量
	活性化酵素	A			
	添加量 (%)	0.4			
	反応温度 (°C)	50			
	反応時間 (H)	24			
活性型ペクチンの回収 EtOH 沈殿濃度 (%)	80				
収率 [^] (対食物繊維)	8.2%	5.8%	21.5%	10.0%	

次に、活性化酵素の検討を実施、柿と同一の酵素 A が最適であると確認できた (表 5)。

表 5 ユズ 活性化酵素検討

原料	酵素B''処理搾汁より調製した 66%AIS									
活性化処理	酵素処理搾汁の 1/2									
加水量										
活性化酵素	A	C	D	E	F	G	H	I	J	無
酵素添加量	酵素処理搾汁の 0.4%									
反応温度(°C)	45									
反応時間(h)	24									
活性型ペクチンの回収										
エタノール沈殿濃度 (%)	80									
収率% [*] (対食物繊維)	13.7	34.5	37.5	19.6	43.5	44.2	29.7	23.4	30.4	46.5

更に、選択した2タイプの酵素の反応条件の精査を行い、良好な条件を見出した(表6)

表6 活性型ユズペクチン調製効率化検討

No.	1	2	3	4	5	6
サンプルペースト (g)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
食物繊維含量(g)	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
酵素	B''	B''	A	A	B''+A	B''+A
反応温度 (°C)	50	50	50	50	50	50
反応時間 (H)	2	6	2	6	2	6
反応 pH (未調整)	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
遠心搾汁(g)	143.2	157.1	135.3	135.0	138.8	156.9
搾汁率(%)	71.6%	78.5%	67.7%	67.5%	69.4%	78.5%
除タンパク果汁(g)	137.38	149.85	133.58	132.48	128.89	138.34
除タンパク果汁(g)	10	10	10	10	10	10
EtOH 沈殿濃度 (%)	80	80	80	80	80	80
80%AIS(乾燥重量)	0.2757	0.3805	0.1467	0.1334	0.138	0.1316
80%AIS 収率 (対食物繊維)	42.1%	63.4%	21.8%	19.6%	19.8%	20.2%

岐阜県内のユズの利用は、その生産量の10~20%が生果、加工品が1%で搾汁残渣の廃棄が80%にも上り、残渣活用の現状はたい肥として一部利用しているのみであるため、ペクチン抽出での利用は、廃棄されている搾汁残渣廃棄の抑制につながり、非常に有用であると考えます。また、搾汁残渣原料価格はその低減に向けた調整が可能であることを確認している。

また、ペクチン原料として必要量に応じた、岐阜県産果実の原料収集量は以下のようであることを把握した。

- 20 t 未満 ユズ (かみのほゆず)
- 20~100 t カキ (農協に出荷していない個人・組合)
- 100~1,000 t カキ (JA 選果場)
- 1,000 t 以上 トマト (JA にしみの、JA ひだ等と調整)

2. 活性型ペクチンの分析及び評価

(2-1) 有効成分の定性・定量のための分析技術の高度化

(実施機関：岐阜大学、一丸ファルコス株)

ペクチンは由来する植物種によってその構造(図15)や性質が異なっている。H-NMRの分析により、柿ペクチンは、リンゴ、シトラス等と異なる、エステル化度が低い「LMペクチン」であるという特徴を見出した。岐阜特産の富有柿を含む10種の柿についてその特性を確認できた。表7に代表的な分析例を以下に示す。

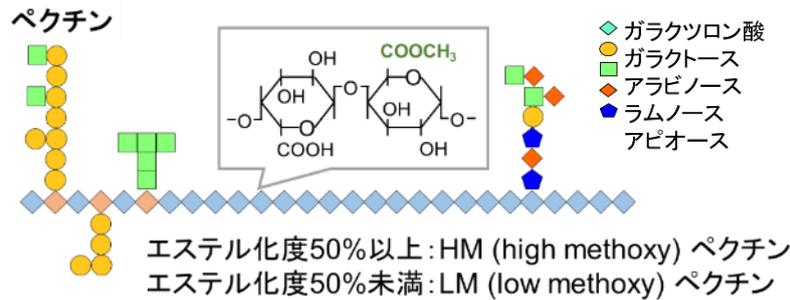


図15 ペクチン構造 模式

表7 各種柿由来ペクチンのエステル化度

	富士			刀根			富有		
	F2	F3	F4	F2	F3	F4	F2	F3	F4
DM (%)	45.00	42.04	31.07	40.31	49.65	42.29	38.03	48.34	39.11

また、柿の品種によって、ペクチンの分子量に差があったが、主鎖の長さによるものであり、側鎖は類似していることが分かった。その他、ペクチンを単糖まで分解し、定量した結果、アラビノースに対し、ガラクトースが7倍とその割合が高いという特徴も備えていた(表8)。柿ペクチンの特徴をまとめ、表9に示す。

これらの特性を踏まえて、活性型ペクチンの分析法の開発に努めた。

その一端として、適熟果と過熟果の¹H-NMRを用いた詳細な分析を行い、大きな差異がないことを確認した(図16、表10)。

単糖	含有量(μg)	含有量(nmol)	モル比
ガラクトース(Gal)	2.96	16.43	7.3
アラビノース(Ara)	0.34	2.26	1

約7倍

表8 柿由来ペクチンの糖組成

表9 柿由来ペクチンの特徴

ウロン酸量	70%
エステル化度	48.34% (LMペクチン)
Mw	4.66 × 10 ⁴
側鎖の糖組成	Gal : Ara = 7.3 : 1

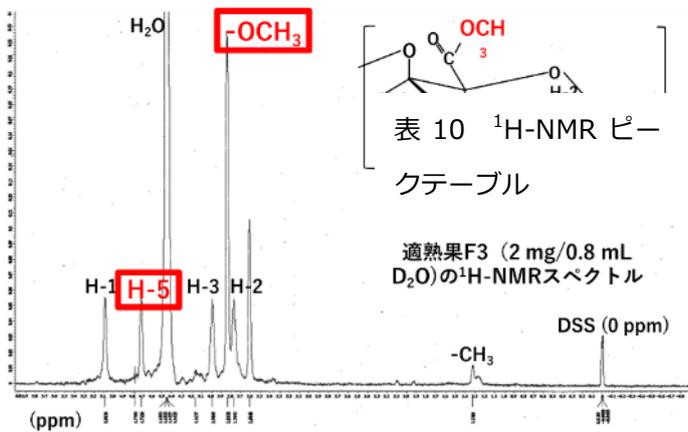


図 16 ¹H-NMR スペクトル

各種機能性食品素材の分析評価において、天然素材を用いている場合、利用している種の証明を求められることが散見される。それゆえ、本開発においても、果実種区別を検討したところ、果実種によって MS スペクトルに差異が認められた (図 17)。

また、柿、イチゴ、オレンジ、キウイ間で同様の「m/z」、セイヨウナシ、リンゴはリンゴ酸の「m/z」、ブドウでは酒石酸由来の「m/z」と果実種によって異なる特徴的な「m/z」が得られた。

ユズにおいても分析を行い、特徴的な「m/z」が観察された (図 18)。

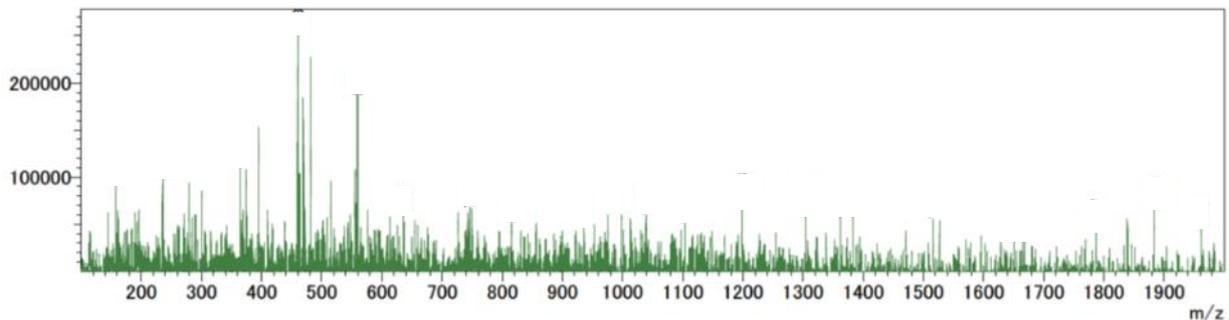


図 18 ユズペクチン m/z

活性型ユズペクチンについて、この「m/z」を用いた定量法を検討した。製造した活性型ユズペクチンの分子量分画による精製を行い、得られたオリゴ糖の「m/z」のピークを標準として計算し、開発試作、製造試作品中に、それぞれ 13%、11%含まれていることが分かった。これにより LC-MS/MS での分析が原料評価や製品評価に利用できることが示唆された。

表 10 ¹H-NMR チャート

		H-5	-OCH ₃
適熟果	F2	4.71	3.82
	F3	4.71	3.83
	F4	4.71	3.82
過熟果	F2	4.81	3.85
	F3	4.82	3.86
	F4	4.83	3.86

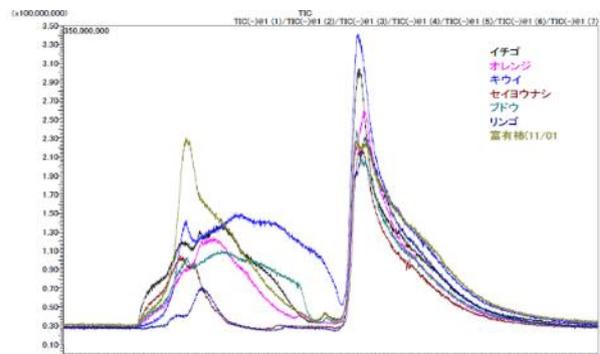


図 17 果物種類別 MS スペクトル

また、本 LC-MS/MS の分析は「水」を溶離液として実施可能であるため、試験のランニングコストは非常に安価に抑えることができた。

(2-2) 小腸上皮細胞の形態変化による新しい評価法の確立

(実施機関：岐阜大学、一丸ファルコス株)

小腸のクリプト構造をそのままの状態体外培養した小腸上皮細胞のオルガノイドは、その細胞分化が完了すると腸管として機能することが知られており、その形態変化を評価することで、動物を用いずに、腸管への作用を評価することができると考えられている。そこで、腸管オルガノイドの作成、その形態変化による新しい評価法の確立を目指し、検討を行った。まず、6 週齢の C57BL/6 マウスより摘出した小腸を用いて、オルガノイドが形成されることを確認できた (図 19)。



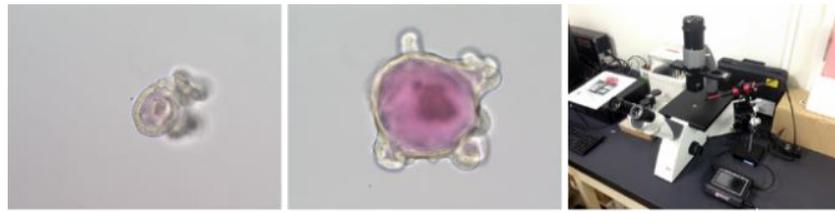
図 19 腸管上皮オルガノイドの作成

さらに、腸管上皮オルガノイドを構成する各種細胞が正常に分化していることを確認するため、E-Cadherin (上皮細胞マーカー)、Villin (吸収上皮細胞マーカー)、Lysozyme (パネート細胞マーカー) といったタンパク質の免疫染色を行い、作成した腸管上皮オルガノイドは、腸管モデルとして正常に分化が行われていることを確認した。(図 20)



図 20 腸管上皮オルガノイドの正常分化の確認

43 週齢の SAMP8 マウスから腸管オルガノドを作成することにも成功し、本事業で導入した多糖類導入装置(マイクロインジェクタ)を用いて、43 週齢マウスよりの腸管オルガノイドに柿ペクチンを導入し (図 21)、そのクリプト出芽数 (図 22)、断面積増加率 (図 23) で、その作用を評価したが、対象に比し有意な差が認められなかった。



色素をオルガノイド内腔に注入後1日目

多糖導入装置
(マイクロインジェクタ)

図 21 オルガノイドへの導入

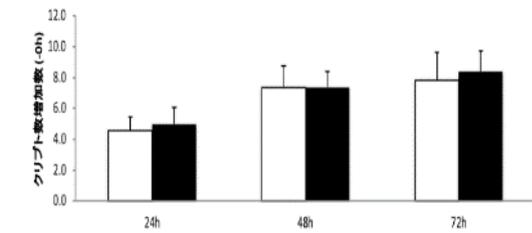


図 22 柿ペクチンによるクリプト出芽数

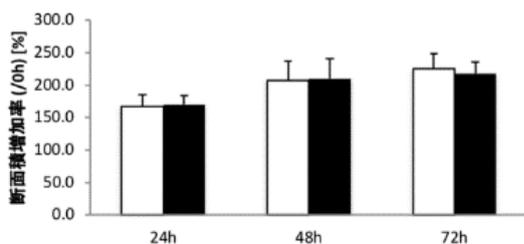


図 23 柿ペクチンによるオルガノイド断面積

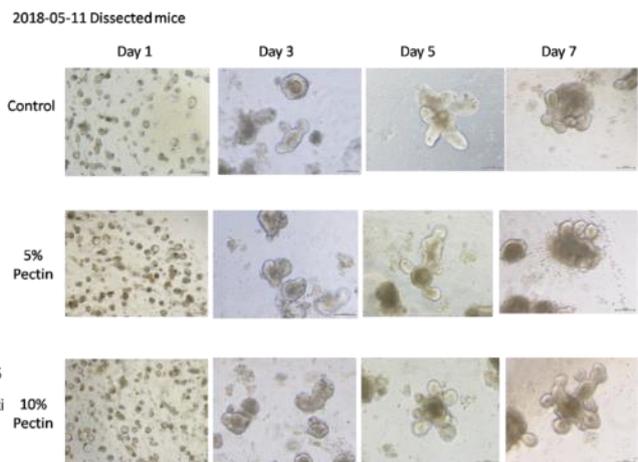


図 24 オルガノイド形態変化

腸管オルガノイドに由来する単層培養系は、40 時間程度で腸管バリアを形成し腸上皮のモデルとして使用可能となるものの、その後系が破綻することが問題として指摘されていたが、培地の改善や薬剤による幹細胞の活性化により、従来の倍程度長期間維持可能な腸上皮細胞の単層培養に成功した (図 25)。

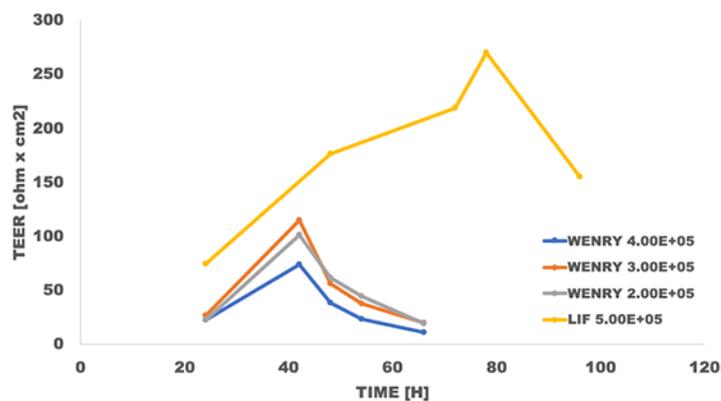


図 25 経上皮電気抵抗 (TEER)による腸管バリア形成評価

また、単層培養によって幹細胞から分化した腸上皮細胞が正常に存在することをマーカータンパク質による免疫蛍光抗体法により確認した（図26）

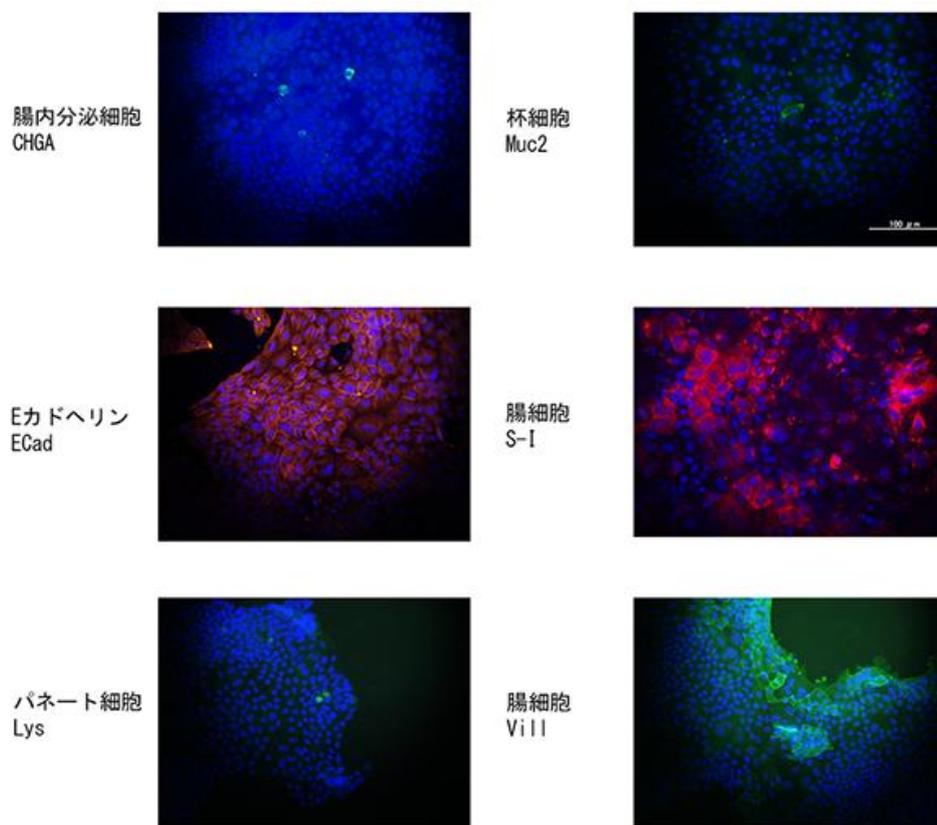


図26 マーカータンパク質を用いた腸上皮細胞の分化の確認

オルガノイドの形態変化評価試験の結果をまとめ、以下の論文に投稿した。

投稿誌「Experimental Gerontology」

タイトル「Senescence-Accelerated Mouse Prone 8 mice exhibit specific morphological changes in the small intestine during senescence and after pectin supplemented diet」

(2-3) 老化促進マウス (SAMP8) を利用した有効性の評価

(実施機関：岐阜大学、一丸ファルコス株)

老化促進マウス (SAMP8) での有効性試験は、初年度、7 週齢から 84 日間飼育で実施し、その結果、中部および下部小腸において、10%柿ペクチン摂取群における有意な重量増加が認められ、また、長さにおいても同様にその伸長が認められ (図 27)、柿由来ペクチンも他植物由来ペクチンで確認されていた腸管への影響が確認された。

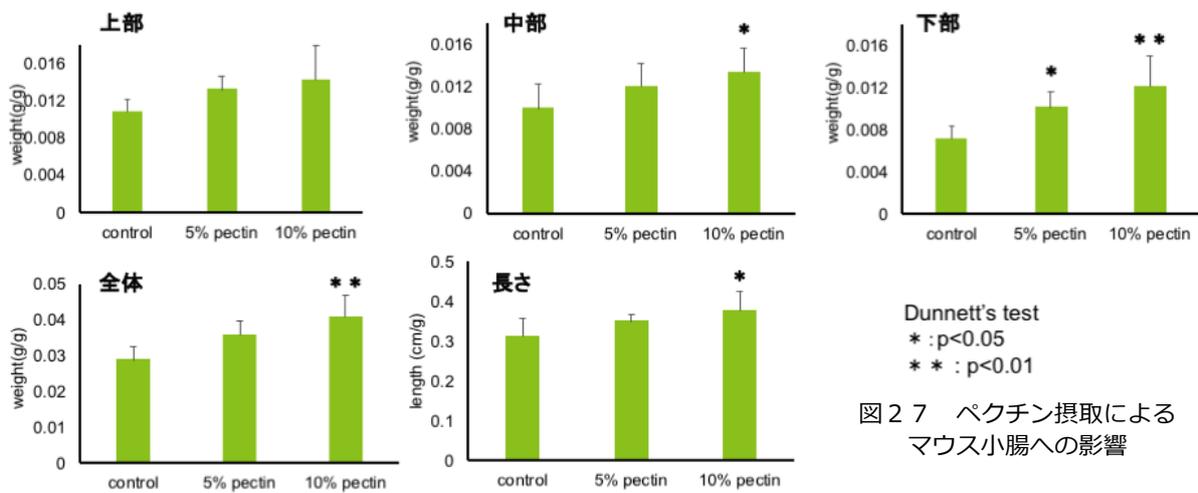


図 27 ペクチン摂取によるマウス小腸への影響

更に老化の進んだ老化促進マウスについて、柿ペクチンの有効性評価を行った (岐阜大学動物実験承認番号：17180)。36~43 週齢の体重変化、小腸の長さ、各部位の重量を比較したが、先に行った 22 週齢の試験で有意な差が見られた、小腸重量増加や伸長が認められなかった (図 28)。

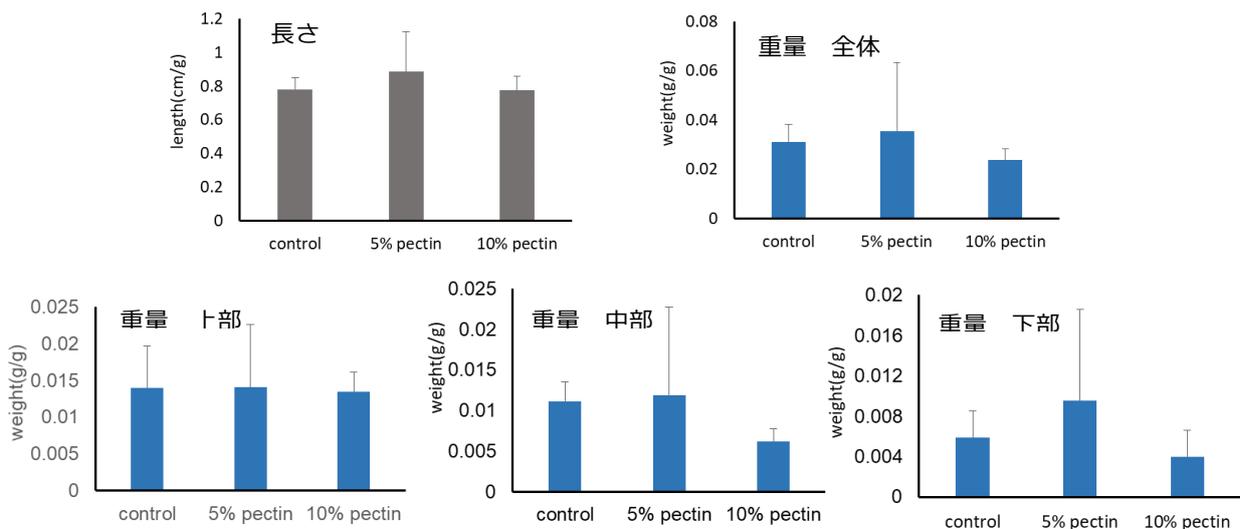


図 28 ペクチン摂取による SAMP8 マウス (43 週齢) の小腸への影響
Dunnett's Testの結果、どの部位においても、小腸の重量および長さに変化がなかった。

その他、43 週齢マウスでの行動試験 (図 29)、血清中総タンパク質濃度 (図 30)、血清アルブミン濃度 (図 31)、幹細胞マーカーの発現量についても測定した。しかしながら、どの項目も有意な差がみられなかった。

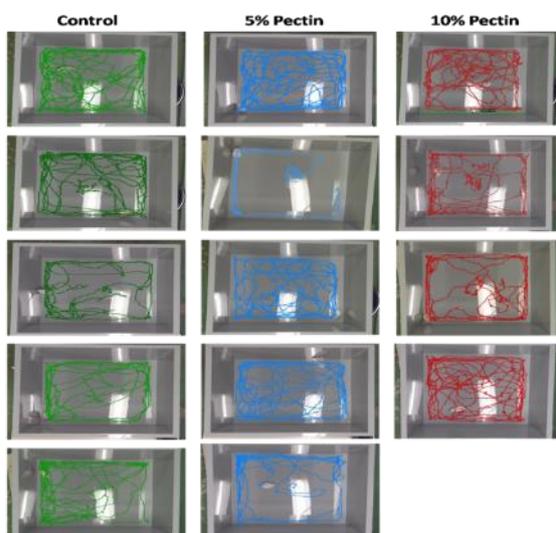


図 29 43 週齢 SAMP8 マウスでの行動試験

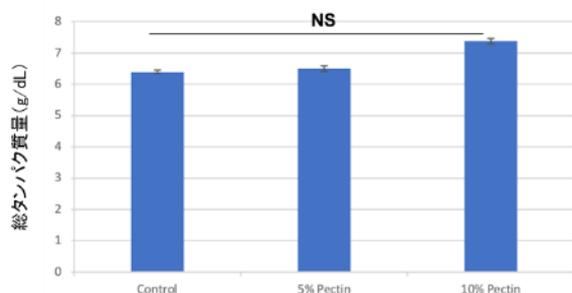
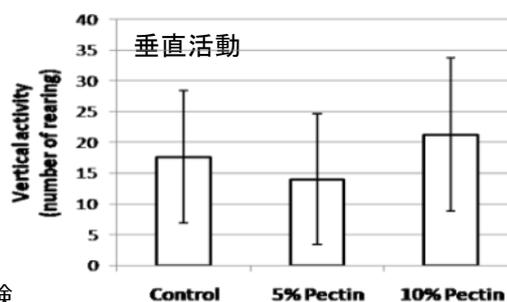
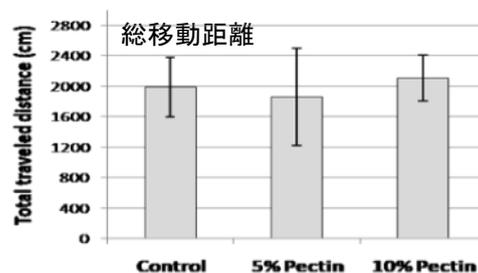


図 30 SAMP8 マウスの血清中総タンパク

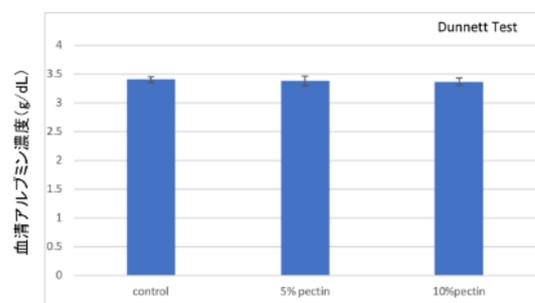


図 31 SAMP8 マウスの血清アルブミン

これは想定以上に SAMP8 の老化のばらつきが大きく影響していると判断した。SAMP8 を用いた試験を継続することは得策ではないと考え、アドバイザーの森田先生、伊藤先生のアドバイスをもちに、絶食モデルを用いた *in vivo* 試験を実施した。絶食により小腸機能が著しく衰退することが報告され、本検討において有効なモデルであると推測されることから実施を決めた。また、生体腸管吸収モデルとして汎用されている Caco-2 細胞での評価も行った。

通常飼料により飼育されたマウスと 10%ペクチンを含む飼料により飼育されたマウスに対して、血液生化学検査値 (図 32)、小腸アルカリホスファターゼ (IAP) 活性 (図 33)、小腸・肝臓・脂肪細胞の遺伝子発現 (図 34,35,36) についてそれぞれ分析し

た。その結果、ペクチン摂取は絶食時の IAP 活性に影響を与えないものの、絶食時の脂肪酸消費の上昇に関与すると考えられる遺伝子群の発現増加が確認された。

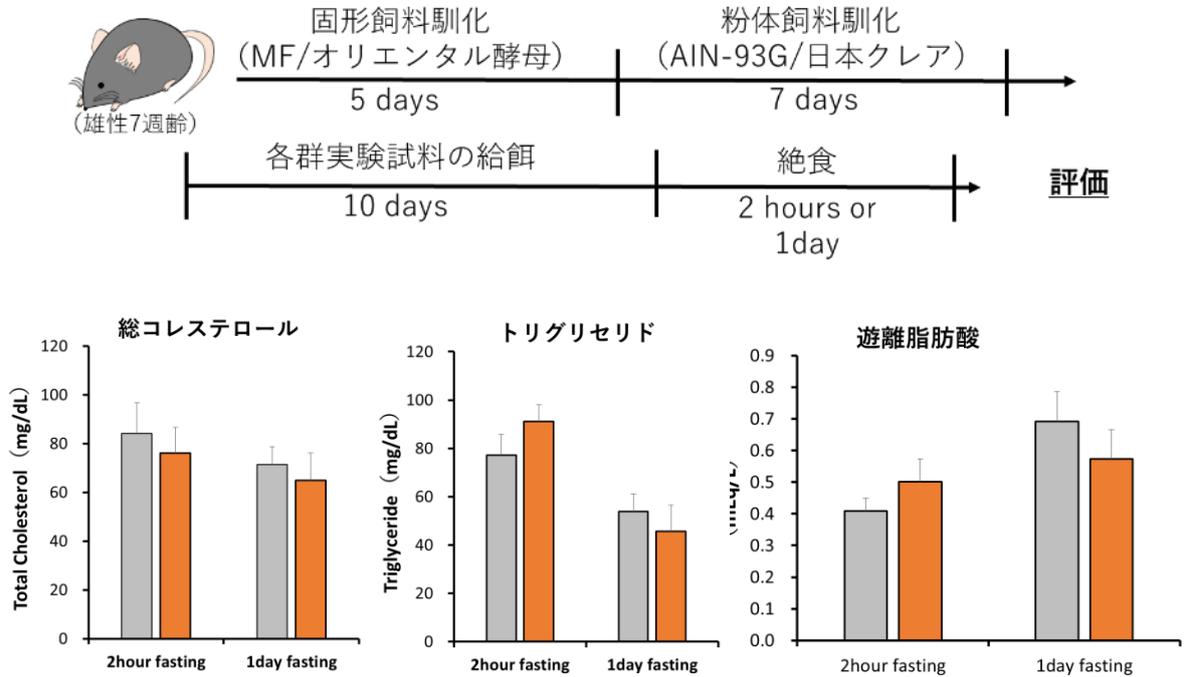


図 32 絶食マウス 血液生化学検査値

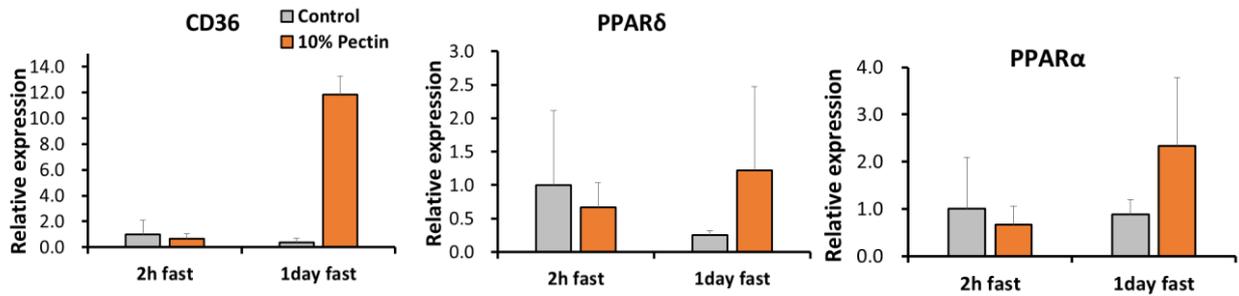


図 33 小腸上皮細胞 遺伝子発現

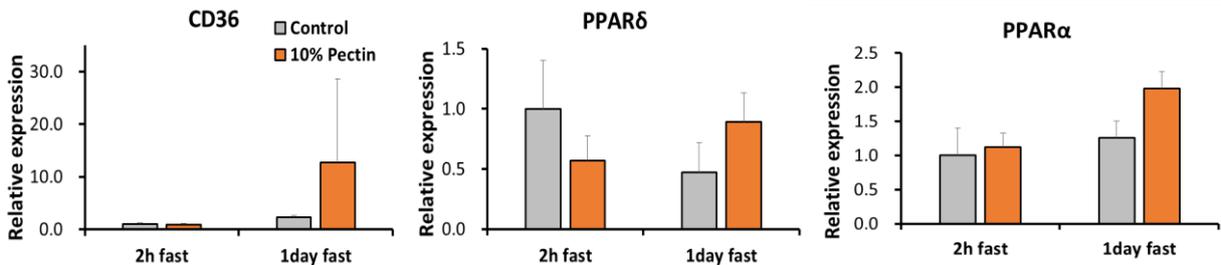


図 34 肝臓 遺伝子発現

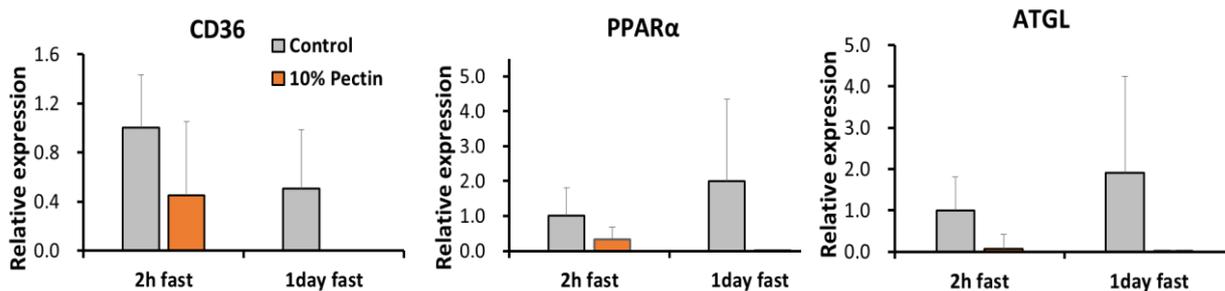


図 35 腸間膜移動細胞組織 遺伝子発現

アルカリフォスファターゼは細菌から高等動物まで高度に保存された酵素で、特に腸特異的である IAP は小腸の分化マーカーとしても知られており (Pinto M. Biol.Cell,1983)、ビタミン D や K2 を添加すると活性が上昇し(野田聖子 et al.,日本栄養・食糧学会誌,2017)、また絶

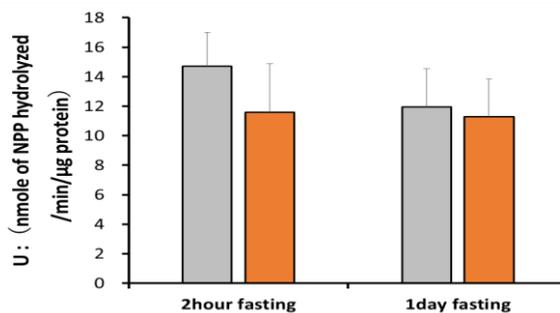


図 36 絶食マウス 小腸 IAP 活性

食によって強く活性が阻害されることがわかっている (Goldberg, R. F., et al. PNAS, 2008) ことから、本検討の指標として分析したが、柿ペクチン摂取による変動は見られなかった。また、本試験において、マウスにおける絶食は過酷でその衰弱が激しいため試験に適さないことが判明した。

その為、老化促進マウス (SAMP8) および絶食マウスを用いた評価試験に代わるモデルマウス評価試験として、新たに「タンパク質・エネルギー低栄養 (Protein-energy malnutrition : PEM)」モデルマウスを用いて有効性の評価を行った。その結果、効果を示す小腸の部位は異なるものの、低タンパク質摂取時の腸絨毛伸長効果がカキおよびユズ由来のペクチンにおいていずれも確認された (図 37、図 38)。

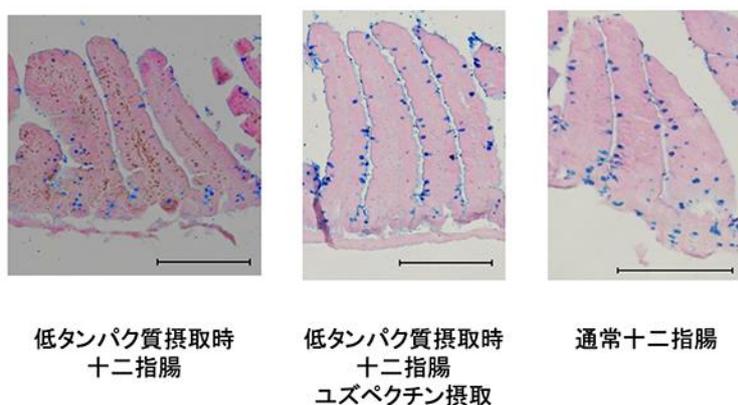
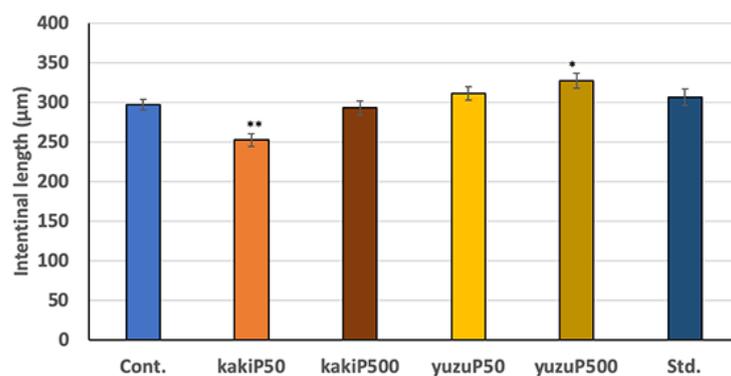


図 37 小腸絨毛伸長効果の評価 (超薄切片による観察)



Cont.: n=445, kakiP50: n=240, kakiP500: n=240, yuzuP50: n=210, yuzuP500: n=210, Std.: n=199

図 38 小腸絨毛伸長効果の評価（絨毛長の計測結果）

また、小腸に存在する糖質の消化吸収に関連するタンパク質遺伝子の発現が、ペクチン摂取時において有意に上昇することが確認され（図 39）、低タンパク質摂取時のペクチンによる改善効果を示すものと考えられた。

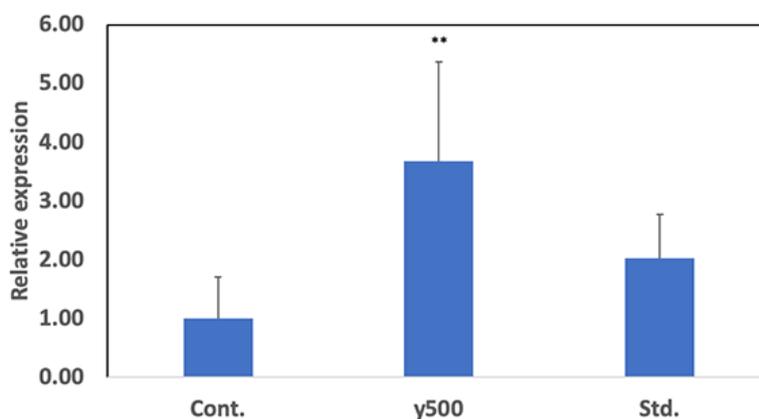


図 39 小腸（空腸）のスクラーゼ・イソマルターゼ複合体の発現相対比
これらの結果をもとに、現在ユズペクチンについての特許出願の検討中である。

3. 活性化ペクチンの量産化

(3-1) 活性型ペクチンの高効率回収技術の開発

(実施機関：一丸ファルコス㈱、岐阜県食品科学研究所)

規格外柿の利用：(1-1)の検討により選択された酵素・条件をもとに、より実生産に沿い、作業性・コスト低減に配慮した製造方法の検討し、以下のように実施した。

①酵素処理抽出：(1-1)での選択酵素、時間、温度

②抽出後残渣分離

残渣分離の方法は、ろ過、フィルタープレス、ろ布圧搾、遠心脱水装置、遠心分離、等様々である。試作時の残渣状態・量より、ろ紙ろ過は不適であると判断した。フィルタープレスは大量に処理できる装置である。残渣の粘性からろ過助剤の使用は不可欠であるが、一般的ろ過助剤に含まれる無機成分がペクチンに及ぼす影響からフィルタープレスの利用は適さないことが確認できた。遠心力を利用した遠心脱水・超高速遠心分離等の分離方法が効率よいと考え、遠心脱水と超高速遠心分離の検討を行った。



遠心脱水機 搾汁率 52%



超高速遠心分離機 搾汁率 90%

図 40 抽出残渣分離法の検討

遠心脱水機では52%であった搾汁率が、超高速遠心分離機での処理で90%と非常に高い値を示し、効率よく抽出したペクチンが分離できることが確認できた。

(図 40)

③低分子物除去・濃縮 (図 41)

柿中には果糖などの低分子の糖が多量に存在し、その除去がペクチン精製に不可欠である。初期の小ロット生産では AIS 回収後に、透析膜での処理を実施していた。工業生産においてはアルコール使用量が膨大になり、コスト高につながる。



図 41 低分子物除去・濃縮

その改善のため、透析を工業的に行える限外ろ過膜（分子量分画 13,000）を用い、低分子糖の除去とともに、低温下での濃縮を可能にした。アルコール使用量削減とともに、長時間の過熱による変質を防ぐことができ、品質の向上にも寄与する方法が見つかった。

④アルコール沈殿

⑤回収

⑥乾燥：凍結乾燥を実施したが、噴霧乾燥等、さらなる検討が必要である。



⑦粉碎：ハンマー型粉碎機で実施。（図 42）

図 42 柿ペクチン

パイロット生産で 105kg 柿ペースト（規格外柿 200kg）より、600g 柿ペクチン粉末が回収できたが、規格外柿の価格から、原材料コストだけで、¥160,000/kg となり、製造コスト目標値 ¥100,000/kg を大きく上回り、更なるコストダウンが必要となる。

ユズ搾汁残渣の利用

サブテーマ（1-2）搾汁残渣の利用について、岐阜県食品科学研究所で実施した酵素検討に基づき、実生産で高効率回収が実現できるように、一丸ファルコスにて検討を行った。まず、食品科学研究所での酵素効率と、より生産に近い装置を使用した一丸ラボでの違いを比較した（図43）その結果、どの系においても一丸ファルコスのほうが酵素効率よく作用しており、これに基づき、生産工程では調整が必要と判明した。

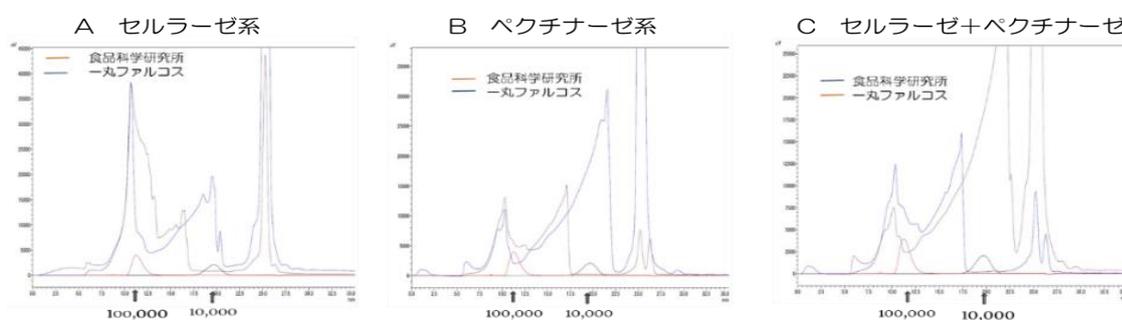


図 43 各種酵素処理後の分子量分布比較

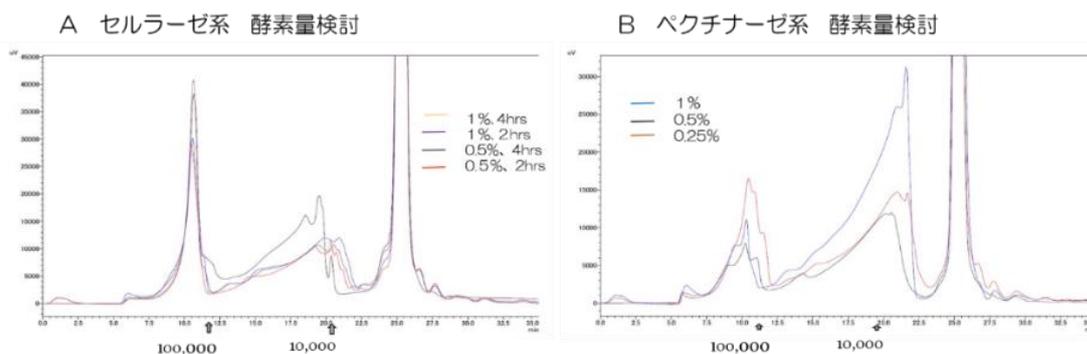


図 44 酵素濃度検討 分子量分布比較

また、上記結果において、ペクチナーゼ処理後でも、柿では見られなかった Mw100,000 以上の高分子帯が残るため、この低減のため、酵素量・反応時間の検討を行った（図 44）。しかしながら、セルラーゼのみでは酵素量・時間を増加させても、Mw100,000 以上が分解できず、分子量に大きな違いがなく、低分子化には適していない酵素であることが確認できた。

富有柿は甘味が強く、ブドウ糖・果糖・ショ糖を多く含む果実である。そのため、ペクチン精製には、これら低分子の糖を除去する為に、限外ろ過（Ultra Filtration）処理が有効であった。しかしながら、ユズ搾汁残渣には、これらの含有量が少なく、限外ろ過処理を行うことで、必要であるペクチンも同時に除去されてしまい、ユズ由来ペクチンは柿と同様の方法では精製できないことが確認できた。

また、ユズ搾汁残渣よりの抽出物はアルコール沈殿処理により、Mw100,000 以下のものは除去されることが明らかとなった（図 43）。本結果は、（1-2）の検討の際に、低分子化酵素処理後 AIS 処理を行った際に、収量が大きく低下したという事実ともつながるものである。

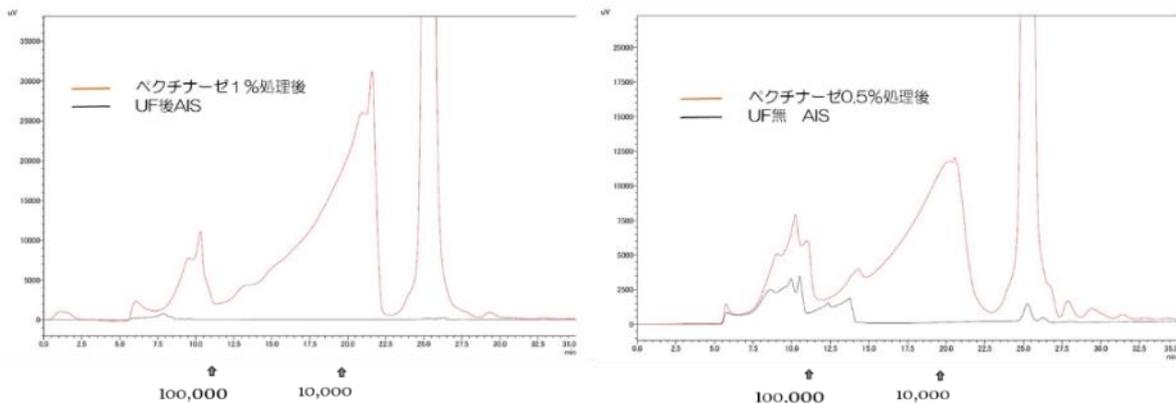


図 45 限外ろ過処理 分子量分布比較

これらを踏まえ、ユズ搾汁残渣よりの製法は、セルラーゼにより抽出効率を向上させたのち、アルコール添加し AIS を得て、その後、ペクチナーゼ処理を行うことで活性化ペクチンを高効率に回収することを見出した（図 46）。以下にその製法を示す。

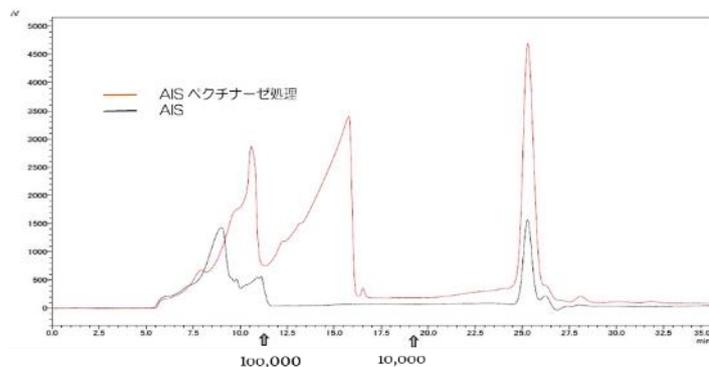
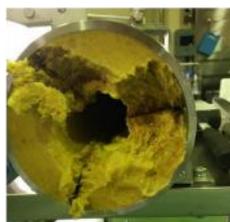


図 46 AIS 処理 分子量分布比較

- ①原料前処理：(1-2)にて実施。原料前処理装置で効率よくペースト化が可能。
- ②酵素処理抽出：(1-2)で検討、選択した酵素、温度で、より短時間で実施
- ③抽出残渣分離：柿よりもさらに不溶性の食物繊維が多いユズは、抽出後の残渣分離が困難な素材である。今期導入した「抽出残渣分離装置」を用いて、その分離条件（送液速度・回転数・ノズル径等）を検討し、短時間に効率よく分離する方法を見出し、搾汁率 90%を可能にした。



図 47 抽出液



分離残渣



ろ液



抽出残渣分離装置

④濃縮：柿では、限外ろ過膜を用いた処理が有効であったが、ユズでは低分子物が少なく、先の検討でユズペクチンが除去されてしまうことが判明したため、濃縮器の検討を行い、熱の影響が少なく効率の良い「薄膜式濃縮機」を用いて濃縮を行い、1/5 まで濃縮でき、この後に使用するアルコール量を低減できた（図 48）。

⑤アルコール沈殿：(1-1)の検討より、80%エタノールにて生成した、アルコール沈殿物を回収した。

⑥活性化（再酵素分解）：(1-1)の検討で選択された、酵素 A を用いて、活性化処理を行った。

⑦乾燥

⑧粉砕 ユズペクチン

柿は「柿ピューレ 105kg→活性型ペクチン 630g」、ユズは「ユズ搾汁残渣 50kg→活性型ペクチン 1.3kg」を得た。

ユズは柿の 4 倍量の収率が得られ、原材料原価が柿 ¥160,000/kg に対し、ユズ ¥40,000/kg となり、約 1/4 に低減でき、目標製造コスト ¥100,000 を達成できるめどがついた。また、規格外柿とユズ搾汁残渣の今後の価格調整から、活性化ユズペクチンのほうが更に安価にできるものとする。



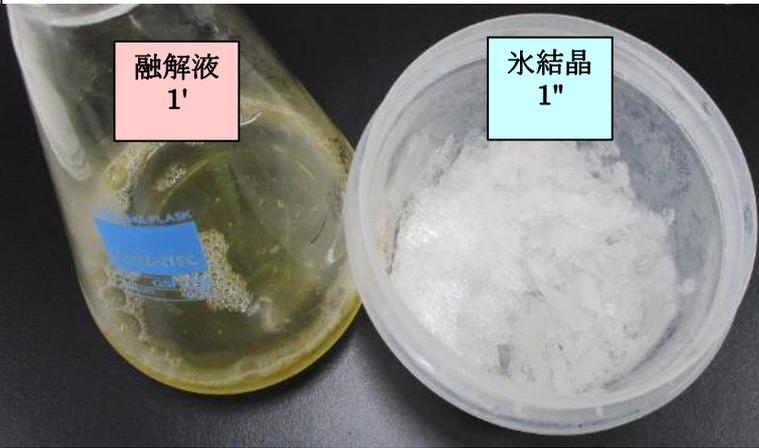
図 48 薄膜式濃縮機



図 49 ユズペクチン

活性型ペクチンの回収にはエタノール沈殿が有効であることが確認されているが、エタノールはコスト高の要因でもある。そのため、技術革新を目指し、新たな回収方法として、果汁の脱水・濃縮に有効である「凍結・融解処理法」を検討した（表 11）

表 11 凍結・融解処理 検討

サンプルペースト (g)	1036.0					
食物繊維含量(g)	16.58					
酵素	A					
添加量(%)	0.4					
反応温度 (°C)	50					
反応時間 (H)	6					
反応pH (未調整)	6.0					
遠心搾汁(g)	815.0					
搾汁率(%)	78.7%					
除タンパク処理後(g)	803					
サンプルNo.	1					
試験区	未処理	凍結融解処理 1 回目		凍結融解処理 2 回目		
処理温度	-	-2.2°C融解液	-2.2°C氷結晶	-3.1°C融解液	-3.1°C氷結晶	
凍結融解処理 1 回目後(g)	-	628	175	-	-	
凍結融解処理 2 回目後(g)	-	-	-	492	131	
分配率(%)	-	78.2%	21.8%	78.4%	20.9%	
処理果汁(g)	10.8240	7.8565	2.1964	10.0221	10.0099	
EtOH沈殿濃度 (%)	80	80		80		
80%AIS(乾燥重量)	0.1150	0.1339	0.0014	0.2506	0.0099	
80%AIS収率 (対食物繊維)	51.5%	64.6%	0.7%	74.3%	0.8%	

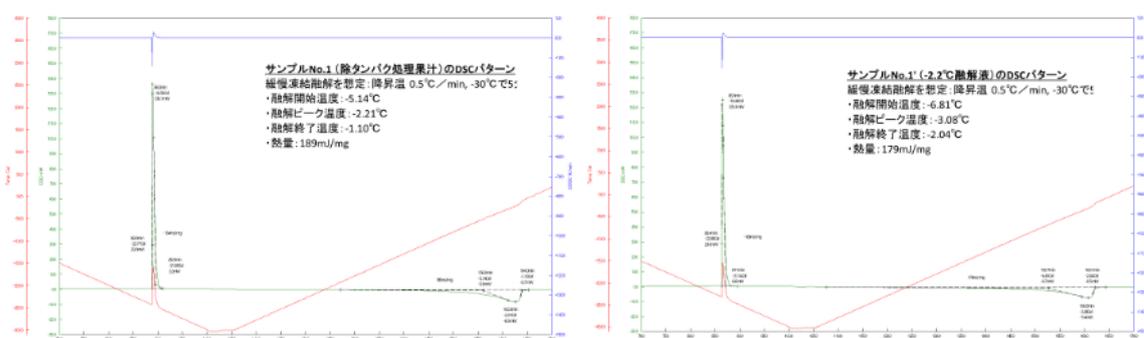


図 50 DSC による凝固点、融点測定 (1 回目) (2 回目)

凍結・融解による脱水を検討するにあたり、最適な処理温度を事前に把握するため、示差走査熱量計 (DSC) による酵素処理果汁の凝固点及び融点の測定に取り組んだ (図 50)

その結果、凍結融解処理 1 回目は-2.2℃、2 回目は-3.1℃で融解液と氷結晶が効率よく、分離できることが確認できた。本方法の実用化には、精密な温度制御ができる装置等課題も多いが、継続して検討していく予定である。

(3-2) 試作準備（実施機関：一丸ファルコス）

介護食関連の展示会等で、市場の動向の情報収集し、介護食においての要望を把握した。本年度第1回研究委員会においてそのフィードバック行うとともに、管理栄養士であられるアドバイザー馬場先生に介護事情を伺い、同様のご見解であることを確認した。栄養状態に配慮し、積極的にその改善を図られるのは、介護になる前の高齢者であろうとのことから、サプリメント原料の開発を優先し、各テーマの検討を行った。また、介護食市場においては「安価」で「より食べやすい剤型への添加が望まれる」とのアドバイスもいただいた。

4. 事業化に向けた取り組み

(4-1) 安全性試験の実施（実施機関：一丸ファルコス）

(2-3) 有効性評価、(3-1) 活性型ペクチンの回収技術検討から、活性型ユズペクチンのほうが今後有利に展開すると考えられ、これの安全性試験を以下の項目について実施した。

① ラットを用いる単回投与毒性試験

Sprague-Dawley 系ラット 雌雄各5匹×2群

投与用量 0、2,000mg/kg

【結果】

死亡の有無：観察期間を通じて、雌雄の 2,000 mg/kg 投与群で死亡例はなかった。

一般状態：観察期間を通じて、雌雄の 2,000 mg/kg 投与群の全例で一般状態に異常はみられなかった

体重：観察期間を通じて、雌雄の 2,000 mg/kg 投与群では、対照群と比べて体重に有意差は認められなかった

剖検所見：剖検では、雌雄の 2,000 mg/kg 投与群の全例に肉眼的異常は認められなかった

② 遺伝毒性試験

・細菌を用いる復帰突然変異試験

菌株名	S9 mix	本試験の用量 (µg/プレート)
TA98,TA100,TA1535,TA1537 WP2uvrA(pKM101)	-/+	5,000, 2,500, 1,250, 625, 313

【結果】

代謝活性化非存在下および存在下において、各菌株のいずれの用量においても復帰変異コロニー数は陰性対照群の2倍を超えず、用量依存的な増加もなかった。各菌株における陽性対照群の復帰変異コロニー数は、いずれも陰性対照群と比較して2倍以上確実に増加した。また、被験物質による生育阻害および沈澱は代謝活性化非存在下および存在下のすべての用量で認められなかった。

以上より、基本的な2項目の安全性試験において、問題はなかった。

(4-2) 販売準備

一丸ファルコス(株)では、毎年秋に開催される食品開発展にブースを設け、食品素材の販売促進のため利用している。この食品開発展は、各素材メーカーが原料の紹介を広く行うとともに、情報収集の場として活用している国内最大級の展示会である。本素材においても、川下ユーザー様のニーズをとらえるために、この展示会を活用して情報収集にあたった。



図 51 食品開発展 展示



弊社ブースの様子

機能性表示食品の分科会にメンバーとして参画し、次々と変化している届け出要求事項の情報収集に積極的に務めた。他にも、日本サルコペニア・フレイル学会への定期的な参加による研究動向調査、マーケティング会社主催の「フレイル市場の展望と課題」「介護食市場の最新動向と将来展望」のセミナー受講により情報収集、メディケアフーズ展 市場動向調査等各種学会、展示会に参加し、その研究・市場動向の調査を行った。

また、果実ペクチンの研究内容の周知のため、各種学会・講演会での発表を行った。その内容を以下に示す。

- 2018年3月15~18日 日本農芸化学会 2018年度大会
「富有柿由来ペクチンの多糖類構造の分析」
- 2018年9月6日 糖鎖研究中部拠点第15回『若手の力』フォーラム
「ペクチン添加が小腸絨毛伸長および小腸での透過吸収に与える影響の解析」
- 2018年9月10~12日 日本応用糖質科学会
「ペクチンが小腸絨毛伸長および透過吸収に与える影響」 <<ポスター賞受賞>>
- 2018年11月24・25日 日本食物繊維学会

「柿由来ペクチンの構造特性およびペクチン構造の相違が小腸上皮細胞へ及ぼす影響の解析」

「ペクチンが小腸絨毛伸長および透過吸収に与える影響」

- 2018年10月14～17日

International Society for Nutraceuticals & Functional Foods

“Analysis of polysaccharide structure of pectin from persimmon,
Diospyros kaki Fuyu”

- 2018年11月28日 東海地域生物系先端技術研究セミナーにて発表

「果実（柿等の規格外品）のペクチンを利用した介護用食品・機能性表示食品の開発」

- 2019年8月31日 日本食品科学工学会

「熟度上昇による柿由来ペクチンの構造変化とそれに伴う腸管への影響」

- 2019年12月2～5日

International Society for Nutraceuticals & Functional Foods

“The effect of pectin from persimmon on small intestinal villus morphology
change and nutrient absorption”

- 2020年3月5日要旨集掲載 日本農芸化学会 2020年度大会

「柿由来ペクチンが小腸絨毛形態変化と栄養吸収能に及ぼす影響の解析」

《優秀発表に選出》

最終章 全体総括

1. 研究開発成果

日本の高齢化社会は、諸外国と比較しても、高齢化率が非常に高い水準にあり、このような状況の中で、平均寿命と健康寿命との差が増大することは、高齢者の QOL の低下のみならず、医療費や介護給付費の支出増大に直結する問題であるため、健康長寿の実現は重要な課題である。この解決手段の一つとして、高齢者の虚弱（「フレイル」）の克服が重要視されている。そのため、本研究「高齢者の虚弱（フレイル）の予防・改善によって健康寿命延伸に寄与する機能性多糖類とそれをを用いた食品原料の開発」では、果実由来ペクチン側鎖（活性化ペクチン）が小腸機能を亢進することに着目し、その実用化に向けた開発に取り組んだ。

サブテーマ1、3では、活性型ペクチンの高生産技術の確立においては、複数の酵素から、果実より効率よくペクチンを抽出する酵素、及び、ペクチンの低分子化を行う酵素を選択できた。また、そのスケールアップ[®]においても、有効利用できず廃棄していたユズ搾汁残渣を用いて、当初の目標であった量産化コスト「¥100,000/kg」を実現した。

サブテーマ2では、小腸上皮細胞の形態変化による新しい評価方法として、マウス腸管上皮細胞よりオルガノイドを作成し、それをを用いて、小腸機能への作用を評価できる方法を確立できた。この結果は論文に取り纏め、投稿した。また、ペクチン分析方法では、LC-MS/MSでのスペクトルの果実種間の差異を利用して、その判別方法を見出した。活性型ペクチンの定量分析においては、特徴的な「m/z」を用いた検討を行った。

活性型ペクチンの評価においては、新たに、腸管機能低下モデルマウスとして、低タンパク質餌摂取による「タンパク質・エネルギー低栄養（Protein-Energy Malnutrition PEM）モデルマウス」を作成し、腸管機能評価に用いることができることを確認した。このPEMモデルマウスを用い、活性型柿、ユズペクチンの評価を行い、ユズペクチンでの小腸機能亢進を確認できた。

サブテーマ4では、量産コストの目標を達成でき、小腸機能評価においても効果が認められた「活性型ユズペクチン」の安全性を確認した。また、販売準備として、各種展示会やフレイル市場についてのセミナー等に参加し情報収集を欠かさなかった。他、本研究の成果を積極的に学会で発表し、ペクチンの小腸機能亢進作用も周知に大きく寄与できた。

2. 研究開発後の課題・事業化展開

ペクチン側鎖の分析法を見出したが、標準とすべき物質の精製、精査を行う必要があると考える。また、定量規格とともに、活性型ペクチンの性状、示性値等、製品規格の設定も必要であり、今後の課題となる。

活性型ユズペクチンの有用性は、まだ解析が完了していない項目があるため、引き続き解析を行い、その結果も踏まえて特許出願を検討する予定である。

製法においては、量産コスト削減のため、新たに緩慢凍結融解法のラボ検討を開始したが、量産実用化するためには、それに対応する緩慢な温度変化を制御できる設備が必要となり、その調査検討を要する。

本研究の各目標は、ペクチン側鎖の活性が、高分子ペクチンと比較して上昇することを想定して、その数値を設定していた。しかしながら、ペクチン側鎖の活性上昇が想定したように見られず、有効性濃度が高いものとなったため、1日当たりのコストを考えると、量産コストをさらに抑える必要がある。

本研究開発を行う中で、上記のような課題が新たに判明した。それぞれについて補完研究を実施し、課題解決を図っていかねばならないと考える。