

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4970656号
(P4970656)

(45) 発行日 平成24年7月11日(2012.7.11)

(24) 登録日 平成24年4月13日(2012.4.13)

(51) Int. Cl.		F I			
A 2 3 K	1/16	(2006.01)	A 2 3 K	1/16	3 0 4 C
A 2 3 K	1/00	(2006.01)	A 2 3 K	1/00	C
A 2 3 K	1/18	(2006.01)	A 2 3 K	1/18	A

請求項の数 22 (全 28 頁)

(21) 出願番号	特願2000-603528 (P2000-603528)	(73) 特許権者	500039968
(86) (22) 出願日	平成12年3月10日(2000.3.10)		マーズ ユー ケー リミテッド
(65) 公表番号	特表2002-537861 (P2002-537861A)		イギリス国 エスエル1 4エルジー パ
(43) 公表日	平成14年11月12日(2002.11.12)		ークシャー スロー ダンディー ロード
(86) 国際出願番号	PCT/GB2000/000890		3ディー
(87) 国際公開番号	W02000/053030	(74) 代理人	100073184
(87) 国際公開日	平成12年9月14日(2000.9.14)		弁理士 柳田 征史
審査請求日	平成19年3月1日(2007.3.1)	(74) 代理人	100090468
(31) 優先権主張番号	9905542.8		弁理士 佐久間 剛
(32) 優先日	平成11年3月10日(1999.3.10)	(72) 発明者	フォーン, ジャネル
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		イギリス国 エルイー13 1ビービー
			レスターシャー メルトン モーブレイ
			ミル ストリート ペディグリー ペット
			フーズ

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ココナッツ胚乳繊維を含有するペットフード製品

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

コブラ、脱脂コブラ、新鮮なココナッツ胚乳、ココナッツ粉末または乾燥ココナッツの形態であるココナッツ胚乳繊維を含有するペットフード製品（ココナッツ胚乳およびカラゲナンの混合物を含む弾性含水ゲルを含有するペットフード製品、ならびに粗繊維1重量部、カルシウム0.01～1重量部及びマルチツール0.2～20重量部を含有する動物用飼料を除く）。

【請求項2】

脱脂コブラが、ペットフード製品中、乾燥重量に基づいて0.5から15%のレベルで存在することを特徴とする請求項1記載のペットフード製品。

【請求項3】

エングリスト法によって測定した場合に、前記ココナッツ胚乳繊維の食物繊維成分が、ペットフード製品中、乾燥重量に基づいて0.15から5%のレベルで存在することを特徴とする請求項1または2記載のペットフード製品。

【請求項4】

質が悪い糞便の予防または治療のためのものである請求項1から3いずれか1項記載のペットフード製品。

【請求項5】

胃腸管の調子を維持または改善するためのものである請求項1から3いずれか1項記載のペットフード製品。

【請求項 6】

ペットの大腸での病原菌感染の予防または治療のためのものである請求項 1 から 3 いずれか 1 項記載のペットフード製品。

【請求項 7】

腸炎症の予防または治療のためのものである請求項 1 から 3 いずれか 1 項記載のペットフード製品。

【請求項 8】

材料を混合する工程を含む、請求項 1 から 7 何れか 1 項記載のペットフード製品を調製する方法。

【請求項 9】

材料を加熱および/または調理する工程をさらに含む請求項 8 記載の方法。

【請求項 10】

請求項 1 から 7 何れか 1 項記載のペットフード製品を動物に与えることを含む方法。

【請求項 11】

質が悪い糞便の予防または治療のためのペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用であって、該ココナッツ胚繊維がコブラ、脱脂コブラ、新鮮なココナッツ胚乳、ココナッツ粉末または乾燥ココナッツの形態であり、ペットフード製品に該ココナッツ胚乳繊維を添加することを含む使用。

【請求項 12】

胃腸管の調子を維持または改善するためのペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用であって、該ココナッツ胚繊維がコブラ、脱脂コブラ、新鮮なココナッツ胚乳、ココナッツ粉末または乾燥ココナッツの形態であり、ペットフード製品に該ココナッツ胚乳繊維を添加することを含む使用。

【請求項 13】

ペットの大腸での病原菌感染の予防または治療のためのペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用であって、該ココナッツ胚繊維がコブラ、脱脂コブラ、新鮮なココナッツ胚乳、ココナッツ粉末または乾燥ココナッツの形態であり、ペットフード製品に該ココナッツ胚乳繊維を添加することを含む使用。

【請求項 14】

前記病原菌が、カンピロバクター、サルモネラまたは大腸菌であることを特徴とする請求項 13 記載の使用。

【請求項 15】

腸炎症の予防または治療のためのペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用であって、該ココナッツ胚繊維がコブラ、脱脂コブラ、新鮮なココナッツ胚乳、ココナッツ粉末または乾燥ココナッツの形態であり、ペットフード製品に該ココナッツ胚乳繊維を添加することを含む使用。

【請求項 16】

脱脂コブラが、ペットフード製品中、乾燥重量に基づいて 0.5 から 15% のレベルで存在することを特徴とする請求項 11 から 15 いずれか 1 項記載の使用。

【請求項 17】

エングリスタ法によって測定した場合に、前記ココナッツ胚乳繊維の食物繊維成分が、ペットフード製品中、乾燥重量に基づいて 0.15 から 5% のレベルで存在することを特徴とする請求項 11 から 16 何れか 1 項記載の使用。

【請求項 18】

前記ペットがイヌ科の動物であることを特徴とする請求項 11 から 17 何れか 1 項記載の使用。

【請求項 19】

ペットの大腸での病原菌感染を予防または治療する方法であって、ペットに、コブラ、脱脂コブラ、新鮮なココナッツ胚乳、ココナッツ粉末または乾燥ココナッツの形態であるココナッツ胚乳繊維を含有するペットフード製品を与える工程を含むことを特徴とする方

10

20

30

40

50

法。

【請求項 20】

前記病原菌が、カンピロバクター、サルモネラまたは大腸菌であることを特徴とする請求項 19 記載の方法。

【請求項 21】

動物における腸炎症を予防または治療する方法であって、動物に、コブラ、脱脂コブラ、新鮮なココナッツ胚乳、ココナッツ粉末または乾燥ココナッツの形態であるココナッツ胚乳繊維を含有するペットフード製品を与える工程を含むことを特徴とする方法。

【請求項 22】

前記ペットがイヌ科の動物であることを特徴とする請求項 19 から 21 何れか 1 項記載の方法。

10

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、ペットフード製品における食物繊維成分としてのココナッツ胚乳繊維の使用、ペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用、ココナッツ胚乳繊維を含有するペットフード製品、そのようなペットフード製品を作る方法およびペットにそのようなペットフード製品を与えることを含む方法に関する。また、本発明は、腸炎症の軽減および予防、ならびにペットの大腸での病原菌感染の軽減および予防における、ココナッツ胚乳繊維の使用に関する。

【0002】

20

ペットの健康を維持および改善することは、本分野において不変に継続した目的である。様々な方法でペットの健康をモニターすることができる。それらの中の 2 つは、糞便の質と胃腸管 (GI) の調子である。ペットにおける良好な糞便の質は二重に重要である。第一に、それは健康なペットの優れた指標となる。良好な糞便の質は、通常、健康な結腸の構造および機能を反映することが知られている。第二に、良好な糞便の質は、ペットの飼い主に実用的に好まれる。従って、ペットの糞便の良好な質を維持すること、および糞便の質を改善し得ることは、本分野において、不変に継続した目的である。また、ペットの胃腸管の調子を改善することも、本分野における継続した目的である。胃腸管の調子を維持および改善し得ることは、ペットの全身的な健康に影響を有するため、ペットの飼い主にとって有益となり得る。

30

【0003】

動物における正常な胃腸の機能を維持し、および慢性的下痢を改善するための 1 つの方法として、ペットフード製品に、繊維源を加えることが挙げられる。

【0004】

繊維は、排便習慣に広範囲の影響を有し、排便を増やし、通過期間を減らし、さらに結腸代謝を変化させる。繊維の有益な効果の多くは、大腸における繊維の広範囲での分解に関連する。発酵と称されるその嫌氣的工程は結腸において生じる主要な代謝的事象である。発酵は、大腸に存在する微生物の複合的な集合の消化機能であり、上方の腸において加水分解および吸収がなされなかった複合糖質および他の物質を分解する。これに関連して、微生物と宿主の両方が恩恵を受ける。

40

【0005】

生理学および生化学において広範囲に亘る数百ものタイプの微生物が結腸内に存在する。その多能な微小植物の個々の活性を特徴付けることは非常に複雑な仕事であり、かつヒトの領域でさえ不明確である。しかしながら、細菌集団全体としての発酵活性を定量化することによって、結腸における微小植物の役割に関するいくつかの理解を得ることができる。

【0006】

主要な複合糖質の発酵産物は、短鎖脂肪酸 (SCFAs)、ガスおよびエネルギーである。産生されたエネルギーは細菌細胞の増殖に使われ、腸の窒素の多くを細菌タンパク質に取り込ませて細菌の量をふやす。SCFAs は迅速に吸収されて、結腸粘膜にエネルギー

50

基質を提供することによって、および結腸内腔からの水および電解質の吸収を促進させることによって、胃腸機能に影響を及ぼすであろう。炭水化物制限環境下において、細菌は、分枝鎖脂肪酸の形態でのより少ないエネルギーおよび宿主に潜在的に毒性の代謝産物（アンモニア、アミン、フェノール等）を提供するタンパク質の分解に頼る。本発明の1つの目的は、ペットフード製品に、有用な食物繊維を加えることである。市販のペットフード製品の作成（または製造）において、少数の異なる技術が用いられる。全ての場合において、製品の成分を混ぜ合わせ（必ずではないが、しばしば調理/加熱と共に）、その後で任意の他の成分を添加し、さらにその後、様々な容器に移す。その方法は、例えば乾燥製品の製造において、押出し調理を含んでいて差し支えない。あるいは、その方法は、「塊(chunks)」の製造において、エマルジョンミリング(emulsion milling)の工程を含んでいて差し支えない。様々な方法は、加工装置から別の装置に製品をポンプで注入することを含み、さらに必要に応じて缶に製品を注入する。原料の最終製品への加工を最大にする原料の組合せを得ることが常に望ましい。さらに別の本発明の目的は、製造方法において特に適切な食物繊維を提供することである。

10

【0007】

本発明は、ペットフード製品に有用な繊維源を提供することに関する。その繊維源は、ペットフード製品の製造において特に容易に用いられるものである。

【0008】

従って、本発明の第1の態様は、ペットフード製品における食物繊維成分としてのココナッツ胚乳繊維の使用を提供する。

20

【0009】

単一の食物繊維成分として、あるいは、例えばビートパルプ、チコリー、柑橘類の果肉、米糖、イナゴマメまたはタルハ(talha)ガム等の1つ以上の他の食物繊維成分と組み合わせ、繊維ココナッツ胚乳繊維を用いて差し支えない。

【0010】

新鮮なココナッツ胚乳は、水(35%)、油(44%)、タンパク質(6%)、糖(7%)、繊維(3%)および灰分(1%)の一般的な栄養分配を有する。しかしながら、本発明の全ての態様に基づいた使用のためのココナッツ胚乳繊維の形態は限定されない。ココナッツ胚乳繊維は、新鮮なものであっても、あるいは例えば脱脂コブラ(例えばコブラ粕、コブラ固形油粕またはコブラ油粕とも称される)、ココナッツ粉末、脱脂ココナッツ粉末、完全なまたは脱脂した乾燥ココナッツ、コブラ、または加熱されまたは酵素的に処理された分解ココナッツ胚乳等の任意の他の形態であって差し支えない。

30

【0011】

コブラは、本発明に基づいた使用のためのココナッツ胚乳繊維の特に適切な供給源である。コブラは、乾燥ココナッツ胚乳である(通常、日光で乾燥)。脱脂コブラも特に適切である。脱脂コブラは、乾燥され、さらに機械的にヤシ油を除去されたココナッツ胚乳の一般的な結果物である。脱脂コブラ粕は、まずコブラを得て、その後、搾り器またはエキスペラーを介してコブラを搾り、ほとんどの油を除去することによって得られる。残った残渣をコブラ粕、コブラ固形油粕またはコブラ油粕と称する。

【0012】

本発明を限定はしないが、ペットフード製品にココナッツ胚乳繊維を添加することは、i) ペットの糞便の良好な質を維持しまたは糞便の質を改善しおよび/または ii) 良好な胃腸管の調子を維持または改善し、それらは、以下の：糞便の水分結合を改善し、糞便のpHを下げ、有益な最終産物の産生を増やしかつ細菌発酵の有害な最終産物の産生を減らし、有益な細菌集団を強化し、結腸の構造/調子を改善し、さらに良好な水分結合特性を与えて糞便の構成を均一にする：ことの何れか1つ以上によって達成されると考えられる。本発明は、敏感な動物ならびに糞便の質が悪くまたは胃腸管の調子が悪い動物を含む健康な動物に有用である。従って、本発明の第1の態様は、ペットの糞便の質の維持または改善における使用のためあるいは胃腸管の調子の維持または改善における使用のためのペットフード製品の製造において、ココナッツ胚乳繊維を使用することに関する。悪い糞便

40

50

の質については、付録 1 に記載している。

【 0 0 1 3 】

糞便の質の評価および糞便の質の維持または改善の特定は、当業界で周知でありかつよく用いられる技術である。1つ以上の方法を用いて差し支えない（単独でまたは組み合わせで）。それら方法は、通常、訓練を受けた観察者（一般または専門の、訓練を受けたメンバーであって差し支えない）のパネルを用いる。ペットからの糞便試料を採取し、さらに、付録 1 に概要を示した評価体系に従って採点することができる。良好な糞便の質の評価は、しばしば正常な胃腸機能を反映する糞便の質に基づいて特定する。それは、通常、硬くかつその形状を維持している糞便の構成である。硬く、小球状でかつ乾燥した（および力みによって排出されたであろう）糞便、あるいは形状が維持されないような含水量を有する糞便（下痢を含む）は、正常な胃腸機能を示さない。正確な最適糞便の一貫性は、ペットのタイプおよび動物の種の違いによって多少変化するが、当業者による再検討に基づき容易に特定することができる。

10

【 0 0 1 4 】

良好な胃腸管の調子の評価および胃腸管の調子の改善の特定も当業界で周知でありかつよく用いられる技術である。ココナッツ胚乳繊維を含まないことを除いて同じである食餌を与えられたペットと比較することによって、維持または改善された胃腸管の調子を特定することができる。糞便の質および pH、胃腸管の内腔および/または糞便中における有益なおよび潜在的に有害な細菌の存在および数、ならびに全てのおよび特定の短鎖脂肪酸の観点から、結腸（あるいは腸または胃腸）の調子を特定することができる。大腸に接近し
20
難しいことおよびその内容物を採取し難しいことのみならず、結腸において産生された S C F A s が、侵襲的技術を用いることなく試料を得る見込みのない身体の多くの部位で代謝されるという複雑さのために、インビボでのそのような特性の研究は困難である。インビボでの繊維の生理的効果のいくつかを予測するのに用い得る簡便で迅速な（特異的に定義できないが）方法として、接種材料として糞便を用いるインビトロ発酵系を用いることができる。それに関して、有益な集団の発酵活性を総括して定量化することによって、結腸における微小植物の有益な役割についての理解を得ることができる。インビトロ発酵系において測定した S C F A 産生は、細菌活性の指標を提供する（実施例 3 を参照）。

20

【 0 0 1 5 】

本発明は、ココナッツ胚乳繊維の発酵からの酪酸塩の産生を増やし、従って、消化管にお
30
ける酪酸塩の有効性を高める能力において特に有用であることが分かっている。酪酸塩は大腸細胞 (colonocytes) において発揮できる栄養効果、ならびにその有益な代謝的役割のため、特に興味深い 1 つの S C F A である。同じ試験系において例えばイヌリンのような高レベルの酪酸塩を産生することが知られている物質を用いて値が上昇するのと並行して、本発明のココナッツ胚乳繊維を用いて酪酸塩の産生レベルの上昇（インビトロ試験において）が観察された。

30

【 0 0 1 6 】

また、ココナッツ胚乳繊維は、動物の大腸での病原菌感染の予防または治療におけるその役割のため、本発明の有用な成分である。大腸における病原菌感染は、臨床的または半臨床的であって差し支えない。いずれのタイプの感染も、動物の健康および動物の糞便の質
40
に有害である。ココナッツ胚乳繊維の役割に関するより詳細な説明は、本発明の第 6 および第 7 の態様に関連して以下に記載されている。本発明の第 6 および第 7 の態様のために与えられた詳述は、本発明の第 1 から第 5 までの態様にもあてはまる。

40

【 0 0 1 7 】

さらには、ココナッツ胚乳繊維の上記の有益な効果に加えて、ペットフード製品中のココナッツ胚乳繊維は、動物の結腸の炎症状態を軽減し、または動物の結腸の低炎症状態を維持することも現在分かっている。動物の結腸の炎症状態の軽減におけるココナッツ胚乳繊維の役割に関するさらに詳細な説明は、本発明の第 8 および第 9 の態様に関連して以下に記載されている。

【 0 0 1 8 】

50

ココナッツ胚乳繊維源と組み合わせるペットフード製品の残りの成分は、本発明に本質的ではなく、必要とされるココナッツ胚乳繊維含有量と一般的な標準製品とを組み合わせで差し支えない。最も好ましくは、本発明に基づくペットフード製品の組合せ材料は、例えば、National Research Council, 1985, Nutritional Requirements for Dogs, National Academy Press, Washington D.C. (ISBN: 0-309-03496-5); National Research Council, 1986, Nutritional Requirements of Cats, National Academy Press, Washington D.C. (ISBN: 03-309-03682-8)またはAssociation of American Feed Control Officials, Official Publication 1996に記載のような、当該の特定ペットのために推奨されるビタミンおよび無機物の全てを提供する。

【0019】

本発明のココナッツ胚乳繊維源は、さらに別の理由のため、ペットフード製品の成分として特に有用でかつ有効である。それは、ほとんどの場合に、その繊維源が、例えば脂肪およびタンパク質のような他の栄養要素を有用なレベルで含むためである。そのような他の栄養要素の存在は、その繊維の供給源(ココナッツ胚乳)中におけるそれらの存在(およびそれらの存在の均衡)による。ヤシ油は中鎖脂肪酸(MCFA)の含有量が高く、そのようなMCFAは動物の消化管においてより迅速に吸収されることが知られている。従って、ココナッツ胚乳繊維の供給源(乾燥重量に基づいて5-10%の範囲の脂肪を含む脱脂コブラ粕でさえ)中に存在するヤシ油は、動物に重要な栄養要素を提供する。そのような油は容易に吸収される脂肪酸の特に優れた供給源であるため、繊維源中のその油の存在は、易感染性ペットの特定の群において特に有用である。

【0020】

食物繊維成分としてペットフード製品中に混合するココナッツ胚乳繊維のレベルは限定されない。エングリスト法(Englyst H.N., and Cumming J.H. (1984), Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. Analyst. 109, 937-942に記載されており、参照によってこの中に組み込まれる)によって測定した場合、ココナッツ胚乳の繊維成分は、好ましくは乾燥重量に基づいて約0.15から8%、より好ましくは乾燥重量に基づいて0.15から5%のレベルでペットフード製品中に存在する。本方法によって計算したレベルは、0.15%から5%、6%、7%または8%まで変化する。下限は1.5%、2%または3%からであって差し支えない。エングリスト法の説明は、付録2に記載されている。基本的に、可溶化の後にデンプンを酵素的に除去し、さらに酸加水分解によって遊離した構成糖の総量としてNSPを測定する。熱湯中で煮沸することによって、繊維源中のデンプン成分をゼラチン化し、次に - アミラーゼおよびプルラーゼを用いてそれを除去する。デンプンおよび修飾または抵抗性のデンプンをDMSO中に分散させる。次に、(i)全NSP、(ii)水溶性NSPおよび(iii)セルロースを測定する補完的方法で3つの試料を測定する。各場合において、硫酸を用いて成分を加水分解する。構成糖をアルジトールに変化させ、さらにガス-液体クロマトグラフィー(GLC)を用いて酢酸アルジトールとして測定した。全食物繊維ならびに不溶性および可溶性分画の値を得ることができる。単独でセルロースを測定することができ、さらに個々の単糖を測定することによって、非セルロース多糖を特徴付けする。

【0021】

ココナッツ胚乳繊維の特定形態中の食物繊維の量を特定することによって、ココナッツ胚乳繊維の混合レベル(例えばコブラまたは乾燥ココナッツ等のココナッツ胚乳の形態に基づいて異なるであろう)を容易に特定することができる。例えば、エングリスト法(上記)に基づいて、脱脂コブラは約33.5%の全食物繊維を含有する。従って、本発明の第1態様に従って、乾燥重量に基づいて約0.15から5%の好ましい繊維レベルをもたらすためのペットフード製品中の脱脂コブラの好ましい量は、ペットフード製品の乾燥重量に基づき約0.5から15%のレベルである。

【0022】

それらの範囲は、種々のペットのための本発明の第1の態様にあてはまる。本発明は、哺

10

20

30

40

50

乳類ペット、特にイヌ、ネコおよびウマに特に適用できる。

【0023】

ペットフード製品は、好ましくは包装されている。その場合、消費者はその包装からその食品中の材料を同定することができ、かつそれが当該の特定ペットに適切であることを確認することができる。その包装は、金属（通常、ブリキまたはフレキシホイル(flexifoil)の形態）、プラスチック、紙またはカードであって差し支えない。ペットフードは、乾性の、半湿性のまたは湿性の製品であって差し支えない。湿性食品は、ブリキ缶に入れて売られ、かつ70から90%の含水量を有する食品を含む。乾性食品は、類似の組成を有するが、5から15%の含水量であり、かつ小さなビスケット状の食べ物として存在する食品を含む。任意の製品中の含水量は、用いることのできるまたは要求される包装のタイプに影響を及ぼすであらう。

10

【0024】

本発明に基づくペットフード製品は、ペットがその食餌を食べる任意の製品を含む。従って、本発明は、標準食品、ならびにペットフード用の軽食（例えば、棒状の軽食、棒状の穀物、軽食、ビスケットおよび菓子）の範囲に及ぶ。その食品は、好ましくは調理済み製品である。それは、ゼラチン化デンプンマトリックスの形態であって差し支えない。それは、肉汁スープ、ゼリー、一塊のパンまたは水の中にある塊の形態であっても差し支えない。肉または動物由来の物質（例えば牛、鶏、七面鳥、豚、魚、血漿、骨髄等またはそれらの1つ以上）を混合して差し支えない。あるいは、その食品は、タンパク質源を提供するのに肉を含まないものであって差し支えない（好ましくは、大豆、トウモロコシグルテンまたは大豆製品等の肉の代用品を含む）。その食品は、大豆タンパク質濃縮物、乳タンパク質、グルテン等の追加のタンパク質源を含有して差し支えない。また、その食品は、1つ以上の穀物（小麦、穀粒、米、カラス麦、大麦等）のようなデンプン源を含んでいて差し支えなく、あるいはデンプンを含んでいなくても差し支えない。一般的な乾性ドッグフードまたはキャットフードは、約20-30%の粗タンパク質、約10-20%の脂肪を含有し、残りの部分は食物繊維および灰分を含む炭水化物である。一般的な湿性製品は、乾燥重量に基づき、約40%の脂肪、約50%のタンパク質を含有し、残りの部分は繊維および灰分である。本発明は、ペットフード、特にイヌまたはネコ用のペットフードとして売られる、この中に記載のようなペットフード製品に特に関連する。本発明に基づくネコおよびイヌは、好ましくはネコ属またはイヌ属である。

20

30

【0025】

本発明の第2の態様は、ペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用を提供する。本発明の第2の態様は、ココナッツ胚乳とカラゲナンとを含むゲルを含有するペットフード製品を製造するためのそのような使用を含まない。ココナッツ胚乳とカラゲナンとを含むゲルを含有するペットフード製品は、国際特許公開第W096/39046号に既に記載されている。国際特許公開第W096/39046号における開示は、カラゲナンとココナッツ胚乳とを含むゲル化系に限定される。国際特許公開第W096/39046号における胚乳の使用は、単にゲル化系の成分としてのみである。

【0026】

ペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用（本発明の第2の態様に基づく）は、本発明の第1の態様に基づく上記の利点を有する。さらには、本発明者は、ペットフード製造方法のために、ココナッツ胚乳繊維源が特に適した食物繊維であることを特定した。食物繊維としてのココナッツ胚乳の使用は、非常に満足できるものである。ココナッツ胚乳繊維は、都合よく、かつ意外にも、他の繊維源を用いた場合と比較して、残りの製品原料に加えた際に、エマルジョン粘性をあまり生じさせない。そのような繊維の利点は、製品をポンプで注入する工程および製品を形成する工程において、特に注目される。その利点は、「塊(chunks)」の製造における「エマルジョンミリング」の工程において特に有用である。さらには、ココナッツ胚乳繊維源を使用すると、加工後、いくつかの他の繊維源に関連して生じることが多い灰色を生じさせない。代わりに、美的に許容される色をもたらす。

40

50

【 0 0 2 7 】

本発明の第 1 の態様の好ましい特性は、第 2 の態様にもあてはまる。

【 0 0 2 8 】

本発明の第 3 の態様は、ココナッツ胚乳繊維を含むペットフード製品を提供する。本発明の第 3 の態様は、国際特許公開第 W O 9 6 / 3 9 0 4 6 号に記載のようなココナッツ胚乳とカラゲナンとを含むゲルを含有するペットフード製品を含まない。本発明の第 3 の態様に基づくペットフード製品は、本発明の第 1 および第 2 の態様のために上述された利点を有する。それらは：良好な糞便の質および胃腸管の調子の助長、特に S C F A である酪酸塩の発酵後のレベル、ならびに意外にも良好な加工特性：を含む。本ペットフード製品は、特に、ペットに与えるのに適している。

10

【 0 0 2 9 】

第 1 および第 2 の態様の全ての好ましい特性は、第 3 の態様にもあてはまる。それらは、ココナッツ胚乳繊維のレベルおよび供給源、食品のタイプ、製造および食品の他の成分を含む。

【 0 0 3 0 】

本発明の第 4 の態様は、本発明の第 3 の態様に基づくペットフードを調製する方法であって、必要に応じて加熱 / 調理と共に、材料を混合する工程を含む方法を提供する。混合および / または加熱 / 調理の前または後にペットフード製品を形成して差し支えない。

【 0 0 3 1 】

上記のように、ココナッツ胚乳繊維の添加は、ペットフード製品を調製する方法において、および得られたペットフード製品において、他の繊維の添加を超える多くの利点を提供する。

20

【 0 0 3 2 】

その方法は、ココナッツ胚乳繊維源をペットフード製品の 1 つ以上の材料と混合することを含む。全ての他のやり方において、当業界で公知の工程によってその製品を製造することができる。1 つ以上の他の材料を加熱または調理する前あるいは後に、ココナッツ内乳繊維を添加して差し支えない。また、その方法は、ココナッツ材料からココナッツ胚乳繊維を抽出する工程も含む。

【 0 0 3 3 】

Waltham Book of Dog and Cat Nutrition, Ed. ATB Edney, Chapter By A. Rainbird, entitled "A Balanced Diet" in pages 57 to 74 Pergamon Press Oxfordに記載のような当業界で公知の任意の方法に基づいて、その食品を作成することができる。

30

【 0 0 3 4 】

第 1 から第 3 までの態様の全ての好ましい特性は、第 4 の態様にもあてはまる。それらは、ココナッツ胚乳繊維のレベルおよび供給源、食品のタイプ、製造および食品の他の成分を含む。

【 0 0 3 5 】

本発明の第 5 の態様は、本発明の第 3 の態様に基づくペットフード製品をペットに与えることを含む方法を提供する。本発明の第 5 の態様は、ペットの胃腸管の調子を維持または改善する方法を含み、その方法は、その動物に本発明の第 3 の態様のペットフード製品を与えることを含む。ペットに、本発明の第 3 の態様のペットフード製品を与えると、ココナッツ胚乳繊維の存在によって動物の胃腸管の調子を維持または改善する。胃腸管の調子を維持または改善するために十分な量および十分な期間、ペットフード製品を動物に与える。特定の胃腸管の調子の改善は、S C F A 産生、特に酪酸塩産生に基づく。

40

【 0 0 3 6 】

本発明の第 5 の態様は、ペットの糞便の質を維持または改善する方法を含み、その方法は、本発明の第 3 の態様のペットフード製品を動物に与えることを含む。

【 0 0 3 7 】

ペットに、本発明の第 3 の態様のペットフード製品を与えると、ココナッツ胚乳繊維の存在によって糞便の質を維持または改善する。糞便の質を維持または改善するために十分な

50

量および十分な期間、ペットフード製品を動物に与える。

【0038】

本発明の第5の態様に基づいて食餌を与える量および期間は、動物のタイプ、系統、年齢および全身的健康状態等の多くの因子に依存し、それら因子は、ペットの飼い主が食餌の量および食餌を与える期間を決定するのに容易に用いることができる。

【0039】

第5の態様の方法は、限定はされないが、獣医による処置であって差し支えない。食餌を与えることは非治療であっても差し支えない。「食餌を与える」の用語は、動物に対する「投与」の意味も含む。その方法は、予防的であっても治療的であっても差し支えない。本発明の第1から第4までの態様の好ましい特性は、第5の態様にもあてはまる。それら

10

【0040】

本発明の第6の態様は、ペットの大腸での病原菌感染の予防または治療のためのペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用を提供する。

【0041】

ペットにおける病原菌による感染は関心のある問題である。特定病原菌として、カンピロバクター（特に、カンピロバクター・ジェジュニ）、サルモネラおよび大腸菌等が挙げられる。ヒトの感染症の大部分に寄与する種であるカンピロバクター・ジェジュニ（C・ジェジュニ）は、ネコおよびイヌに關与する主な種でもある。その種は、子犬または子猫において病原菌として作用でき、さらに老齢の動物において日和見病原菌となりやすい。イヌにおける臨床的疾患は、軽い状態から粘液性の血性の下痢、しぶり、嘔吐、食欲不振および機能低下に及ぶ範囲の下痢として現れる。ペットにおけるカンピロバクター感染症に関する主な関心は、生物の運搬および排泄が生じる人畜共通感染症の危険性である。全てのヒトカンピロバクター・ジェジュニ誘発による下痢の5%が、感染したイヌまたはネコに接した結果であることが分かっている。多くの最近の研究は、イヌの飼い主をカンピロバクターで病気になる有意な危険因子として引用している。ニュージーランドのクリスチャーチにおいて実施された研究では、家庭でのイヌとの接触が、1.25から2倍のカンピロバクターと接触する危険性をもたらすことを見出している。さらには、抗生物質の連続使用によってカンピロバクター感染症を軽減および除去する試みによって、その生物の

20

30

【0042】

ココナッツ胚乳繊維を含有するペットフード製品に関する本発明は、ペットの大腸での病原菌感染の予防および治療において効果的であることが分かっている。動物は、特にネコまたはイヌ（両方の場合において、好ましくはネコ属またはイヌ属）である。病原菌として、特に、カンピロバクター、サルモネラ、病原性クロストリジウム、ならびに例えば病原性大腸菌およびベロ毒素大腸菌等の大腸菌が挙げられる。

【0043】

本発明の第7の態様は、ペットの大腸での病原菌感染を予防または治療するための方法を提供し、その方法は、ココナッツ胚乳繊維を含有するペットフード製品をそのペットに与えることを含む。

40

【0044】

本発明の第8の態様は、ペットにおける腸炎症の予防または治療のためのペットフード製品の製造におけるココナッツ胚乳繊維の使用を提供する。

【0045】

イヌにおいて、結腸での炎症性反応は、エイコサノイドプロスタグランジンE（PGE₂）等の種々のメディエーターの産生に関連する。

【0046】

本発明は、ココナッツ胚乳繊維を含有するペットフード製品を与えられたペットが、繊維源を含まない同じ食餌を与えた場合よりも有意に少ないPGE₂を産生することを示す

50

。

【0047】

本発明の第9の態様は、ペットにおける腸炎症を予防または軽減するための方法を提供し、その方法は、ココナッツ胚乳繊維を含むペットフード製品をそのペットに与えることを含む。

【0048】

本発明の第6、第7、第8および第9の態様に基づき、動物はイヌ科の動物である。ココナッツ胚乳繊維は、任意の形態であって差し支えなく、好ましくは本発明の第1から第5の態様のために記載された態様である。ココナッツ胚乳繊維は、エングリスト法によって測定した場合、好ましくは、乾燥重量に基づいて0.15から5%のレベルでペットフード製品中に存在する。全ての他の好ましい特性は、本発明の第1から第5の態様において記載の通りである。

10

【0049】

図面を参照して本発明について説明する。

【0050】

以下の非限定的な実施例を参照して、本発明を説明する。

【0051】

実施例1

本実施例は、脱脂乾燥ココナッツ粉末の調製および使用について記載する。

【0052】

地方のマーケットからココナッツを購入し、白い果肉または胚乳を取り出した。胚乳をかなり細かく挽き、さらに繰り返しアセトンで抽出して脂肪および水を除去した。乾燥脱脂ココナッツ粉末を得た。

20

【0053】

実施例2

本実施例は、機械的に脱脂したコブラ粕の調製について記載する。

【0054】

ココナッツから取り出したココナッツ胚乳を圧搾した。脂肪種子の加工の分野で広く知られている技術を用いて、圧搾した材料を最高120℃まで加熱し、さらに液圧プレスまたはエキスペラーを通過させてほとんどの油を除去した。約15%の水分を含む製品を得るために必要であれば、その工程によって得られた抽出物を乾燥した。

30

【0055】

実施例3

食物繊維としてのココナッツ胚乳繊維の評価

原料

本インビトロ発酵系において評価される原料は、乾性のおよび缶詰のイヌおよびネコ用の製品に添加するのに特に適している。

【0056】

【表1】

表1. 繊維源

40

原料	外見
脱脂コブラ固形油粕	きめの粗いオレンジ/茶褐色の粒子

エングリスト法およびAOAC法を用いて全食物繊維について原料を分析した(表2)。AOAC法は、AOAC International 1995, Total, Soluble and Insoluble Dietary Fibre in Foods. AOAC Official method 991.43, Official Methods of Analysis, 16th Edにおいて見ることができる。エングリスト法は、本明細書中および付録2において既に引用されている。食物繊維分析において、全食物繊維レベルにおいて原料間で顕著な差が示された。AOACによる分析では、通常、エングリストによる分析と比較して、全食物繊維の割合(%)が高くなった。エングリスト技術は、酵素化学法を用いて、植物細胞壁

50

の主な構成成分である、伝統的な食物繊維の定義を含む非デンプン多糖（NSP）を測定する。AOAC技術は、酵素法と重量分析法との組合せを用いて繊維を測定し、その技術はリグニンおよびいくつかの耐性デンプンを含めるため全食物繊維レベルが高めになる。

【0057】

【表2】

表2. AOAC法およびエングリスト法による全食物繊維（TDF）についての原料分析

繊維	AOAC			エングリスト		
	%TDF	可溶性	不溶性	%TDF	可溶性	不溶性
脱脂コブラ 固形油粕	42.5	2.4	40.1	33.5	3.4	30.4

10

コブラ粕の食物繊維含有量（エングリスト）は40%未満であったから、その繊維源の残りの共存成分を特定するためにさらに分析を実施した（表3）。非繊維成分の含有物は、主にタンパク質（20.8%）であった。コブラ粕のタンパク質成分および遊離糖成分は、インビボで大腸に達することができないため、発酵工程の最終産物に人工的に寄与し得る。しかしながら、それら繊維源多量元素の消化率は、宿主の小腸における腸アミラーゼおよびプロテアーゼに対する接触性に依存する。コブラ粕の共存栄養物（proximal nutrients）は相対的に少量で存在し、従って繊維源は主成分と考えられている。

【0058】

20

【表3】

原料中の共存する遊離糖およびデンプンの分析

繊維	遊離糖	デンプン	ゼラチン化 デンプン	共存物			
				タンパク質	脂肪	水分	灰分
脱脂コブラ 固形油粕	7.7	0	0	20.8	8.2	10.8	5.7

方法

インビトロでの繊維の発酵を特徴付けるために簡単な方法を適用した。Brobeck Mortensen P., Hove, H., Rye Clausen, M. and Holtug, K. (1991) Fermentation to short-chain fatty acids and lactate in human faecal batch cultures. Scand. J. Gastroenterol. 26, 1285-1294, Tigemeyer, E.C., Bourquin, L.D., Fahey, G.C. and Garleb, K.A. (1991) Fermentability of various fibre sources by human faecal bacteria in vitro. Am. J. Clin. Nutri. 53, 1418-1428, Sunvold, G.D., Fahey, G.C., Merchen, N.R. and Reinhart, G.A. (1995) In vitro fermentation of selected fibrous substrates by dog and cat faecal inoculum: Influence of diet composition on substrate organic matter disappearance and short-chain fatty acid production. J. Anim. Sci. 73, 1110-1122 and Edwards, C.A., Gibson, G., Champ, M., Jensen, B-B., Mathers, J.C., Na gengast, F., Rumney, C. and Quehl, A. (1996) In vitro method for quantification of the fermentation of starch by human faecal bacteria. J. Sci. Food Agric. 71, 209-217に、類似の技術が報告されている。この中で用いられている系を含むそのような系は、糞便の発酵の結果を見るためのインビトロでの試験と

30

して有用である。しかしながら、そのような試験は、特に、任意の1つの動物の糞便の微小植物における固有の変動のため、特異的ではなくかつ絶対的に規定することができない。

40

【0059】

繊維試料の調製（1日目）

* コブラ粕として、0.7%（w/v）の濃度で繊維基質を提供した。3連の60mlガ

50

ラス血清ボトル(Jencons)に、0.231g(±0.05g)のコブラ粕を量り採り、さらに正確な重量を記録した。30mlの発酵培地(表4)を添加し、脱脂綿の栓でボトルに蓋をし、さらに金属ホイルで覆った。

【0060】

対照として、繊維源を含まない6つのボトルを調製した。

【0061】

*糞便の再懸濁液のために、ノミを含有する円錐形フラスコ中に、200mlの10mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH7.4)および200mlの栄養条件の難しい嫌気性生物用の培養液(FAB)を加えた。オートクレーブ(15分、121℃)でボトルを滅菌した。オートクレーブ後直ぐに、嫌気性キャビネット(Don Whitley)にボトルを置いて、予備還元した(pre-reduce)。

【0062】

【表4】

表4. 発酵培地の組成

発酵培地		
		1リットル
酵母抽出物		2g
ペプトン水		2g
システインHCl		0.5g
ビタミンK(d=0.967g/ml)		5μl
Tween80		2ml
塩溶液		40ml
ヘミン溶液		5ml
指示溶液		5ml
塩溶液		
CaCl ₂ ·6H ₂ O	0.2g	300mlのH ₂ O中
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2g	
NaCl	2g	500mlのH ₂ O中
K ₂ HPO ₄	1g	
KH ₂ PO ₄	1g	
NaHCO ₃	10g	
H ₂ Oで1リットルに調整		
ヘミン溶液		
KOH		0.28g
95%EtOH		25ml
ヘミン		0.1g
H ₂ Oで100mlに調整		
指示溶液		
レザスリン(Rezasurin)		0.02g
H ₂ Oで100mlに調整		

ネコおよびイヌ

*インビトロ発酵系のための細菌接種材料の供給源として、ネコまたはイヌの糞便を用い

10

20

30

40

50

た。ネコには、その研究を開始する前の少なくとも3ヶ月間、以下の乾性完全食を与えた。イヌには、その研究を開始する前の少なくとも2ヶ月間、成犬の維持のために作られた以下の乾性食を与えた。

【0063】

* 乾性製品のレシピ：

【表5】

	ネコ	イヌ
鶏肉	35	30
穀物(米&トウモロコシ)	55	60
無機物	5	5
脂肪	5	5
合計	100	100

10

* 新鮮な糞便を採取できるように、続く1週間の中断期間を含む三週間の期間、ロッジでネコを飼育した。体重を維持するのに必要な量の食餌をネコに与え、さらに常に新鮮な水を摂取できるようにした。

【0064】

* 体重を維持するのに必要な量の食餌をイヌに与え、さらに常に新鮮な水を摂取できるようにした。

20

【0065】

糞便の接種(2日目)

* 新鮮な糞便試料を採取した。排便の60分以内に、20gの湿った糞便を予備還元したリン酸緩衝液中に加えた。フラスコを嫌気性キャビネット中のマグネットスターラー上に置いて、糞便再懸濁液を作成した(スターラー上で約10分間)。脱脂綿の栓を除去し、さらに、嫌気性キャビネット内に入れた繊維源を含有する各血清ボトルおよび繊維源を含まない3つの対照ボトルに、その10%(w/v)糞便懸濁液の3mlを添加した。それによって、約1%の糞便接種レベルを各ボトルに供給した。3つの時点での測定を得るために、三連のボトルに接種した。脱脂綿の栓をブチル・ラバーキャップに代え、さらに各ボトルを密封するために金属キャップを用いた。

30

【0066】

* 3つの繊維を含まない対照ボトルに接種しないで、媒体対照として用いた。3つの繊維を含まないボトルに接種して、媒体および糞便対照として用いた。嫌気性キャビネット中において、37℃でボトルをインキュベートした。糞便接種の0、6および24時間後の時点で、測定を実施した。

【0067】

発酵終点測定(2および3日目)

(i) SCFA測定(0、6、24時間)

* 1.25mlの20%(w/v)メタリン酸を含有する15mlのプラスチックのコルテックチューブに、4mlの発酵培地を添加した。チューブをひっくり返して、室温で30分間保持して酸を沈殿させた後、ガスクロマトグラフィーによって分析する前に-80℃で保存した。それによって、SCFA：酢酸、プロピオン酸、N-酪酸、イソ-酪酸、N-吉草酸、イソ-吉草酸、カブロン酸、イソ-カブロン酸およびヘプタン酸：が検出されるであろう。

40

【0068】

* ずっと試料を混合し、全て反応させる。すりガラスの頸部を有するガラス試験チューブに、1mlの0.01M混合標準物(蒸留水中、0.01Mの酢酸、プロピオン酸、イソ-酪酸、酪酸、イソ-吉草酸、吉草酸、イソ-カブロン酸およびカブロン酸)または発酵抽出物をピペットで添加し、さらに、約0.4gのNaCl(HPLCグレード)および0.3mlの12MH₂SO₄を添加した。第三ブチルメチ

50

ルエーテル (T B M E、H P L C グレード、純度 99.8%) を添加し、さらにその混合物を 1 分間振とうさせた。水相および溶媒相を 15 分間分画して、一番上のエーテル相を特異的に除去し (処理ピペットを用いて約 0.5 ml)、さらにパラフィルムシールを有する 2 ml のネジ蓋付きガラス瓶中に入れた。それら抽出物をガスクロマトグラフィーに注入し、V F A 標準溶液と比較することによって、S C F A の濃度を測定した。

【 0 0 6 9 】

(i i) ガス測定 (6、24 時間)

* 6 および 24 時間の時点でボトルを嫌気性キャビネットから取り出した。「切取り式」金属シールを持ち上げて、ボトル内のガス圧の測定を可能とした。各測定の前に、圧力計をゼロに合わせ、mBar における圧力の変化を測定した。

【 0 0 7 0 】

(i i i) p H 測定 (0、6、24 時間)

* 分かっている標準に対して測定用電極の校正を行った後、p H メーター (Orion, ISE 71 0A) を用いて発酵培地の p H を測定した。

【 0 0 7 1 】

結果

細菌発酵終点

1% 糞便接種材料の存在下における 6 時間および 24 時間のインキュベーション後、産生された S C F A、発生したガスおよび発酵培地の p H に関連して、細菌活性に対する脱脂コプラ固形油粕の潜在的影響を測定した。14 匹のネコでの測定からの結果を解析し、表 6 に示す。イヌ (n = 6) からの結果を表 7 に要約する。

【 0 0 7 2 】

外部の基質を全く含まない対照試料は、顕著なレベルの S C F A およびガスを産生した。基質を添加した試料における産生から、対照試料における基礎産生を差引いて、ココナッツ胚乳繊維源によって生じた産生をもたらした。正の値は基礎レベルを超える追加の産生を表し、負の値は産生の阻害または対照と比べた消費を示す。p H の負の値は、p H の低下を表す (表 6 および表 7 に結果を示す)。

【 0 0 7 3 】

(a) 全 S C F A

産生された S C F A の全レベルは、時間の経過によって上昇した (表 6 および表 7)。ネコおよびイヌを用いて観察された 6 時間後の全 S C F A において、脱脂コプラ固形油粕は、繊維源の不在下で産生された全 S C F A を超える有意な上昇 (p < 0.05) をもたらした。24 時間後、類似のパターンが観察された。

【 0 0 7 4 】

S C F A の構成を特徴付けすることによって、産生された全 S C F A をより詳細に調べた。インビボにおいて、酢酸、プロピオン酸および酪酸は、炭水化物発酵の基本的終点であり、結腸における全 S C F A の 90% を占める。ネコおよびイヌを用いて、6 および 24 時間後、酢酸およびプロピオン酸における有意な上昇 (p < 0.05) が観察された (24 時間後のネコ (n = 14) での酢酸を除いて)。

【 0 0 7 5 】

(b) 酪酸

酪酸は、結腸細胞において発揮し得る栄養効果、ならびにその有益な代謝的役割のため、特に興味深い。酪酸の産生は、ネコでの 6 時間および 24 時間後、脱脂コプラ固形油粕の存在下において、対照産生を超えて有意に強化された (p < 0.05) (表 6)。ネコにおいて、24 時間後、脱脂コプラ固形油粕によって、酪酸の産生が 80% 上昇することが観察された。酪酸レベルのほぼ倍増は、インビボにおいて生物学的意義を有する。24 時間後、イヌでも上昇が観察されたが、その上昇は有意でなかった (表 7)。

【 0 0 7 6 】

(c) ガス

ガスは、2番目に主要な発酵の最終産物である。ガスの主な成分は、原理的に炭水化物発酵から生じる CO_2 、 H_2 および CH_4 である。時間の経過による圧力(mBar)の上昇として、ガス産生を測定した。

【0077】

24時間後、脱脂コブラ固形油粕繊維基質は、ネコおよびイヌにおいて、繊維の不在下において産生されるガスのレベルを超える有意な($p < 0.05$)上昇をもたらした。(表6)。

【0078】

【表6】

表6. 1%(w/v)のネコ糞便ホモジネートと共に6および24時間インキュベートした後のコブラ固形油粕(0.7%(w/v))の不在下および存在下におけるSCFA、ガスおよびアンモニアの産生(値はn=14の平均値)

ネコ(n=14)	全SCFA#	酢酸	プロピオン酸	酪酸	ガス	pH
6時間	mmol/L 産生				mBar	単位
対照	11.6 ^a	7.01 ^a	1.58 ^a	1.15 ^a	61.2 ^a	6.26 ^a
SE	±0.49	±0.39	±0.08	±0.04	±14.46	±0.02
固形油粕	3.28 ^b	0.75 ^b	1.74 ^b	0.73 ^b	29.3 ^b	-0.54 ^b
24時間	mmol/L 産生				mBar	単位
対照	16.2 ^a	9.59 ^a	2.20 ^a	1.77 ^a	108.4 ^a	6.27 ^a
SE	±0.26	±0.23	±0.09	±0.05	±8.23	±0.02
固形油粕	7.27 ^b	2.59 ^b	2.26 ^b	1.47 ^b	93.0 ^b	-0.47 ^b

異なる上付き文字のついている値(任意の1つのカラム中)は、各測定終点内の $p < 0.05$ での相違を示す。

#全SCFAは、酢酸、プロピオン酸、N-酪酸、イソ酪酸、吉草酸、イソ吉草酸、カピロン酸、イソカピロン酸、ヘプタン酸の全産生である。

SE=標準誤差

【表7】

10

20

30

表7. 1%(w/v)のイヌ糞便ホモジネートと共に6および24時間インキュベートした後のコブラ固形油粕(0.7%(w/v))の不在下および存在下におけるSCFA、ガスおよびアンモニアの産生(値はn=6の平均値)

イヌ(n=6)	全SCFA#	酢酸	プロピオン酸	酪酸	ガス	pH
6時間	mmol/L 産生				mBar	単位
対照	9.81 ^a	6.09 ^a	1.27 ^a	1.16 ^a	42.4 ^a	6.28 ^a
SE	±0.56	±0.34	±0.11	±0.10	±12.24	±0.03
固形油粕	2.39 ^b	0.06 ^b	2.89 ^b	-0.06 ^a	49.63 ^a	-0.83 ^c
24時間	mmol/L 産生				mBar	単位
対照	13.9 ^a	8.74 ^a	1.88 ^a	1.63 ^a	86.3 ^a	6.27 ^a
SE	±0.67	±0.41	±0.18	±0.09	±10.43	±0.02
固形油粕	5.43 ^b	0.87 ^b	4.40 ^b	0.12 ^a	89.4 ^b	-0.74 ^b

10

異なる上付き文字のついている値(任意の1つのカラム中)は、各測定終点内の $p < 0.05$ での相違を示す。

#全SCFAは、酢酸、プロピオン酸、N-酪酸、イソ酪酸、吉草酸、イソ吉草酸、カピロン酸、イソカピロン酸、ヘプタン酸の全産生である。

20

結論

*発酵工程は、利用可能な基質の量およびタイプによって大きく変化する。本系は、繊維基質の発酵性を理解するための優れた方法を提供し、さらに大腸内での微小植物の役割についての多くの理解を提供する。

【0079】

*理想的な繊維源は高レベルのSCFA(特に酪酸)を産生する緩い発酵槽(fermenter)であると提案されてきた。そのようなゆっくり発酵する繊維は、残りの発酵能力を有する繊維が結腸の末端に存在する細菌に達し得ることを確実にするであろう。従って、大腸全体に沿って細菌に「餌を与える」ためにそのような繊維源を用いることができるであろう。ココナッツ胚乳繊維は、そのような繊維源の基準に匹敵する。

30

【0080】

*コブラ固形油粕の全体的な発酵は、全SCFAおよびガス産生に関して、ネコとイヌとの間で類似するように見える。

【0081】

*全体の結果は、ココナッツ胚乳繊維の使用が(良好な)糞便の質を維持または改善し、さらに(良好な)胃腸管の調子を改善または維持することを示す。

【0082】

*ネコにおいて観察された酪酸の有意な上昇は、健康な腸環境に寄与する重要な因子である。ネコにおいて、繊維源としての脱脂コブラ固形油粕は、基礎レベルを超える酪酸の有意な上昇をもたらす点において、他の繊維源よりも驚くほど優れている。それ程顕著ではないが、イヌにおいても、脱脂コブラ固形油粕を用いて類似の結果が認められた。

40

【0083】

実施例4

はじめに

本試験の目的は、糞便の質に対する脱脂コブラ固形油粕を含有する2つのレシピの影響を評価することであった。

【0084】

用いられた基本のペットフードは、缶詰のゼリー製品中の塊であった。各食餌のためのそのレシピの材料は:

50

【表 8】

食餌 (塊のレシピ)	レシピ1	レシピ2
肉汁ソース	50	42
肉およびタンパク質源	43	45.5
小麦デンプン	1	1
塩	0.5	0.4
追加の水	5	10
脱脂コブラ固形油粕	1.9	1.1
全体 (%)	105.9	100.00

10

レシピ1では、オープン損失のため（オープン収率90%）、合計が100%より大きい。全ての缶詰を125で61分間処理した。

【0085】

方法

様々な異なる系統の10匹の成犬パネルに基づき、2週間交差試験 (two-week cross-over trial) において、糞便の質を測定した。

【0086】

試験に使ったイヌ：

【表 9】

- ビーグル 1
- ビーグル 2
- ビーグル 3
- ビーグル 4
- ビーグル 5
- イングリッシュスプリンガースパニエル 6
- イングリッシュスプリンガースパニエル 7
- ゴールデンレトリバー 8
- ケアンテリア 9
- ミニチュアシュナウツァー 10

20

毎日、以下の量の食餌をイヌに提供した（維持給餌レベルに基づくg/日）：

【表 10】

ビーグル 1	ビーグル 2	ビーグル 3	ビーグル 4	ビーグル 5	イングリッシュ スプリンガ- スパニエル 6	イングリッシュ スプリンガ- スパニエル 7	ゴールデン レトリバー 8	ケアンテリア 9	ミニチュア シュナウツァ- 10
1200	1400	1200	1100	1100	1100	1500	2000	600	500

40

各試験の週が始まる前に、2日間、以下のレシピの標準ペットフードを与えた。そのお決まりのやり方によって、糞便スクリーニング試験のために共通の基線を実験にもたす。

【0087】

【表 11】

食餌レシピ

- 魚および鶏肉 35%
- 穀物（トウモロコシ、小麦） 20%
- 肉汁スープ 45%

50

17 カテゴリーの糞便採点尺度を用いて主観的に糞便の質を測定し、それによって全ての排便を1から5の間でランク付けした(4分等級)(付録1を参照)。試験期間の間に得た全ての糞便得点を用いて、各イヌについて平均糞便得点を計算した。各イヌの平均値を平均することによって、その食餌の全平均糞便得点を計算した。2-way ANOVA(食餌を固定要因として、およびイヌを変動要因として用いる)によって統計分析を実施した。

【0088】

結果

受入れ

全てのイヌが2週間の試験の間に提供された食餌を100%食べた。

【0089】

糞便の質

平均糞便得点に基づいて分類した場合、両方の食餌の総合的な糞便の質は優れていた。

【0090】

95%または90%の信頼水準の何れにおいても、2つの食餌の間で、平均糞便得点に有意差は無かった(ANOVA, $p=0.77$)。

【0091】

【表12】

		レシピ1	レシピ2
糞便の質	平均得点	2.3	2.3
	排便回数	200	207

図1は、各食餌の平均糞便得点および95%LSD(最小二乗偏差)区間を示す。

【0092】

【表13】

食餌の栄養含有量(%)

	レシピ1	レシピ2
水分	81.9	82
タンパク質	7.5	6.9
脂肪	5.4	6.4
灰分	2.9	2.2
粗繊維(AOAC)	0.2	0.3
不溶性繊維(AOAC)	1.9	1.5
可溶性繊維(AOAC)	0.9	0.8

検討

平均糞便得点に基づいて分類した場合、両方の食餌の総合的な糞便の質は優れていた。

【0093】

95%または90%の信頼水準の何れにおいても、2つの食餌の間で、平均糞便得点に有意差は無かった(ANOVA, $p=0.77$)。

【0094】

実施例5

はじめに

本試験の目的は、糞便の質に対するコブラ固形油粕を含有する乾燥レシピの影響を評価することであった。

【0095】

用いられた基本のペットフードは、押し込まれた単一組成の乾燥製品であった。そのレシピの材料は以下の通りである：

【表 1 4】

食餌	レシピ
鶏肉	13
穀物 (小麦&トウモロコシ)	17
無機物	5
脂肪	5
コブラ固形油粕	5
全体 (%)	100

10

方法

様々な異なる系統の14匹の成犬パネルに基づき、1週間の試験において、糞便の質を測定した。

【0096】

試験に使ったイヌ：

- 1 ラブラドルレトリバー
- 3 ボーダーコリー
- 2 ジャーマンシェパード
- 1 ヨークシャーテリア
- 2 サセックススパニエル
- 5 交雑育種

20

維持エネルギーの必要量をイヌに与えた。

【0097】

9カテゴリーの糞便採点尺度を用いて主観的に糞便の質を測定し、全ての排便を1から5の間でランク付けした(2分等級)(付録1を参照)。試験期間の間に得た全ての糞便得点を用いて、各イヌについて平均糞便得点を計算した。各イヌの平均値を平均することによって、その食餌の全平均糞便得点を計算した。

【0098】

結果受入れ

全てのイヌが1週間の試験の間に提供された食餌を100%食べた。

30

【0099】

糞便の質

平均糞便得点に基づいて分類した場合、その食餌のための総合的な糞便の質は優れていた。

【0100】

平均糞便得点は2.5であった。

【0101】

結論

乾燥製品中における脱脂コブラの使用は、理想的な糞便の質をもたらした。

40

【0102】

実施例 6

イヌの腸におけるカンピロバクターの生存に対するココナッツ胚乳繊維の影響について調べた。

【0103】

概略

*カンピロバクターは、イヌにおいて、臨床的および非臨床的感染症を引き起こす最も多い胃腸病原菌の1つである。

【0104】

*イヌの病原菌の生存に対する新規な繊維の影響を評価するために、イヌ大腸のインビト

50

ロモデルを開発した。

【0105】

*そのモデルにおけるココナッツ胚乳繊維の接種は、結果として、その系からの生存カンピロバクター・ジェジュニ細胞の排除をもたらした。

【0106】

方法

1. 保存培養からC. ジェジュニ細胞を増殖させ、微好気性条件下(5% O₂、10% CO₂ および85% N₂)、37℃で培養した。回転式シェーカー(orbital shaker)上で振とうさせながら、50mlのコニカルフラスコ中の20ml容量中において、液体培養菌を増殖させた。Mueller Hinton(MH)培地(Oxoid)中において1晩増殖させた培養菌を測定系に接種する前にA₆₀₀ 1.0に調整した。

10

【0107】

2. フラスコに、200mlのMH培地、1mlの調整C. ジェジュニ培養液および2gの新鮮な糞便を入れた。試験フラスコに、0.7%(w/v)コブラ油粕を添加し、さらに回転させて混合した。対照フラスコには何も加えなかった。

【0108】

3. 実験の始め(0時間)と終わり(24時間)に、フラスコから試料を採取し、そのフラスコから採取した試料を連続希釈しさらに希釈物をカンピロバクター選択寒天(LabM)上に蒔くことによって、C. ジェジュニ細胞の生存数を特定した。微好氣的に48時間、プレートインキュベートし、その後、生存細胞数を特定した。

20

【0109】

4. 実験の終わりに、Multistix(Bayer)を用いて、各フラスコ中の混合液のpHを特定した。

【0110】

5. その度に異なるイヌからの糞便試料を用いて、6回実験を実施した。実験の間、市販されている上級の(完全でかつバランスのとれた)乾燥食を全てのイヌに与えた。

【0111】

結果

24時間の微好気性インキュベートの後、ココナッツ胚乳繊維を添加したフラスコからは、生存したC. ジェジュニ細胞は全く回収されなかった。一方、ココナッツ胚乳繊維を含有しないフラスコからは、約10⁸細胞/mlでC. ジェジュニ細胞が回収された。6つの別々の実験から得た結果を以下の表に示し、さらに、図2のグラフにそのデータを要約する：

30

【表15】

ココナッツ胚乳繊維を添加した場合および添加しなかった場合のイヌ大腸モデルから回収された生存カンピロバクター・ジェジュニ細胞(log₁₀)の数

<---C. ジェジュニ細胞のlog₁₀コロニー形成単位--->

糞便試料 (イヌの番号)	ココナッツ胚乳繊維			
	0時間 < +0.7%	0時間 無し	24時間 > +0.7%	24時間 無し
1	7.76	7.75	0	7.25
2	7.33	7.64	0	8.56
3	7.77	7.75	0	7.17
4	7.72	7.74	0	7.47
5	7.67	7.71	0	8.59
6	7.16	7.38	0	8.97
平均	7.57	7.66	0	8
標準偏差	0.26	0.14	0	0.79

40

50

図2は、カンピロバクター・ジェジュニの生存に対する、イヌ大腸モデルへのココナッツ胚乳繊維の接種の影響についてのグラフを示す。文字は統計的有意差を表す。

【0112】

【表16】

各イヌの系にココナッツ胚乳繊維を接種した場合および接種しなかった場合における、接種の24時間後に記録されたpH

イヌの番号	+0.7%ココナッツ胚乳繊維	ココナッツ胚乳繊維を含まない
1	6.75	7.5
2	6.25	7.5
3	6.75	7.5
4	6.25	7.5
5	6.25	7.5
6	6.25	7.5

10

接種期間の終わりに、各フラスコ中の溶液のpHを測定し、その系にココナッツ胚乳繊維を接種しなかった場合には7.5であることが分かった。(SD=0)。ココナッツ胚乳繊維をそのモデルに接種した場合は、pHは6.42(SD=0.26)であることが分かった。

【0113】

20

結論

イヌ大腸モデルへのココナッツ胚乳繊維の接種は、結果として、生存カンピロバクター・ジェジュニ細胞の排除をもたらした。ココナッツ胚乳繊維を系に添加しなかった場合は、その実験の間に、C.ジェジュニ細胞は生存性の喪失を示さなかった。6.5から7.5の範囲のpHは、カンピロバクターにとって最適であるため、2つの条件間での観察pHの違いが生存性の違いに寄与したとは思えない。そうではなく、糞便中に存在する非病原性の糖分解性細菌がココナッツ胚乳繊維を代謝したと考えられる。C.ジェジュニは、炭水化物を発酵できないため、存在するココナッツ胚乳繊維は非病原性の糖分解性細菌に利益を与える。

【0114】

30

実施例7

本研究において、ココナッツ胚乳繊維源を含有する食餌および標準食(繊維を含まない)を与えた後の結腸の炎症状態を比較した。

【0115】

方法

本試験は、様々な系統の7匹のイヌを用いた。給餌および測定期間の間、イヌを個別に飼育した。交差研究として本試験を実施した。1週間の洗浄期間を含む4週の間、体重を維持するのに必要な量の食餌(125×BW^{0.75})をイヌに与え、さらに常に水を摂取できるようにした。試験食は、缶詰のオープン調理した水中の肉の塊から成る湿性完全栄養食であった。ココナッツ胚乳繊維を7.2%(w/w)含んでいた。コブラ粕の形態のココナッツ胚乳繊維を加える分、全ての他のレシピ成分を減らした。洗い流し用の食餌は、完全でかつバランスの取れた食餌であった。

40

【0116】

生検試料の培養

中位の結腸(mid-colon)から生検試料を採取し、組織培養培地(RPMI+ゲンタマイシン)中に移し、さらに重さを量った。30分間、新鮮な培地中で生検試料を洗浄し、1mlの培地を有する新しい24穴マルチウェルプレートに移し、さらに5%CO₂下、37℃で、24時間培養した。次に、その生検試料を13000rpmで5分間回転させ、その上清を新しいエッペンドルフチューブに移し、さらに必要となるまで-20℃で凍結した。0.5mlの1%トリトン溶解緩衝液(20mM Tris pH7.5, 20mM NaCl₂, 1% tritonx100)を

50

生検試料に加え、最小限の1時間放置した。次に、その試料を簡単にホモジナイズし、Sigma Microprotein-PR™ キットを用いて全タンパク質含量を測定した。生検試料の全タンパク質は、生検試料の湿重量に有意に相関することが分かり、生検試料のサイズに対してエイコサノイド産生を標準化するために用いた。

【0117】

エイコサノイド産生の測定

酵素免疫測定法 (EIA) によって、中位の結腸の生検試料による PGE₂ 産生のレベルを測定した。新鮮な培地で上清試料を 1/10 に希釈した。R & D システムから PGE₂ EIA テストを購入し、添付されたプロトコールシートに記載のように実施した。簡単には、ヤギ抗マウス/ウサギポリクロナール抗体で予めコートした 96 穴マイクロプレートに、100 μl の試料および PGE₂ 標準物質を添加した。50 μl のアルカリホスファターゼ結合 PGE₂ および 50 μl のマウス抗 PGE₂ ポリクロナール抗体を添加した。500 ± 50 rpm に設定した水平回転プレートシェーカー上、室温で 2 時間プレートをインキュベートした。インキュベーション後、プレートを洗浄し、さらに 200 μl の pNPP 基質を添加した。1 時間のインキュベーション後、50 μl の停止溶液 (リン酸三ナトリウム) を添加し、450 nm の波長に設定したマイクロプレートリーダーを用いて直ぐに各ウェルの光学密度を特定した。生検試料のタンパク質 (mg) 当たりのエイコサノイドの濃度を標準曲線から計算した。

【0118】

結果

結腸生検試料によるエイコサノイド産生

ココナッツ胚乳繊維を含有する食餌をイヌに与えた場合、標準食をイヌに与えた場合よりも、生検試料は有意に少ない PGE₂ を産生した (p = 0.08)。以下の表に結果をまとめ、さらに図 3 に結腸生検試料による平均 PGE₂ 産生を示す。

【0119】

【表 17】

生検試料による PGE ₂ 産生	
食餌 (繊維源)	PGE ₂ 産生 (ng/mg タンパク質)
標準 (繊維を含まない)	242.3 ± 182.1 (a)
ココナッツ胚乳繊維	105.4 ± 55.5 (b)
同じ文字は有意差がないこと (p < 0.1) を表す	

付録 1 - 糞便の質

* 17 ポイント採点尺度を全ての排便を評価するために用い、それによって糞便を等級 1 から等級 5 までの間の 4 分等級の区切りで採点する。

【0120】

* 糞便が完全等級または近くの半等級として判断されない場合には、4 分等級として採点される。半等級の区分は以下の通りである。

【0121】

* 9 ポイント採点尺度を全ての排便を評価するために用い、それによって糞便を等級 1 から等級 5 までの間の 2 分等級の区切りで採点する。半等級の区分は以下の通りである：

等級 5 - 水っぽい下痢

等級 4.5 - いくらかの硬い領域を有する下痢

等級 4 - 全部ではないが大部分の形態が失われて、硬さが少なく、粘性である

等級 3.5 - 非常に湿っているが、多少ははっきりした形態を有する

等級 3 - 湿っていて、形態を失い始めていて、持ち上げた時に明確な形跡を残す

等級 2.5 - しっかり形成されており、わずかに湿った表面を有し、形跡を残し、触ると粘り気がある

等級 2 - しっかり形成されており、形跡を残さず、「蹴ることができる (kickable)」

等級 1.5 - 硬くかつ乾燥している

等級 1 - 硬く、乾燥しかつ砕けやすく、「弾丸様」である

* 以下は、糞便の質として「理想的」である範囲および「許容できない」範囲の指標に関する採点尺度の例である。

【 0 1 2 2 】

許容できない（または低い糞便の質）（U）= 1.5 より小さい場合および 3.5（含まない）より大きい場合

理想（I）= 1.5 から 2.5（含む）の間

* 各イヌについて平均糞便得点を計算し、さらに各イヌの平均糞便得点を平均することによって全平均値を試験全体において特定する。

【 0 1 2 3 】

付録 2

Englyst and Cummingsからのエングリスト法(上記)

実験

装置

前記の 50 - 60 ml のネジ蓋付きガラス遠心チューブ中において分画法を実施した。水素炎イオン化検出器を取り付けたPye Unicam Series 204クロマトグラフィーを用いて、ガス-液体クロマトグラフィーを実施した。3% SP 2330をコートしたSupelcoport(100-200メッシュ)を充填したガラスカラム(2.1mx2mm i.d.)を用いた。カラム温度は 215 であり(定温)、注入器および検出器の温度は 250 であった。搬送ガス(窒素)の流速は 20 ml / 分であった。

【 0 1 2 4 】

試薬

高純度承認試薬を全ての分析に用いた。酵素調製物は以下の通りである：ブタ膵臓 - アミラーゼ(E.C.3.2.1.1, Sigma, Cat. No. A4268)；プルラナーゼ(E.C.3.2.1.41, Boehringer, Cat. No. 108944)。

【 0 1 2 5 】

方法

本方法の工程の手順について以下に要約している。

【 0 1 2 6 】

試料の前処理

可能な限り、前処理無しに食品を分析した。代表的試料を得るのに問題がある場合は、水分含量の少ない食品を 2 - 3 分間ボールミル粉碎し、水分含量の多い試料をホモジナイズしあるいは凍結乾燥してからボールミル粉碎して差し支えない。

【 0 1 2 7 】

試料重量

150 mg 以下のデンプンおよび 50 mg の NSP を含有する 50 から 1000 mg の間の試料を正確に量り、50 - 60 ml のネジ蓋付き遠心チューブに入れ、さらにスターラーを加えた。

【 0 1 2 8 】

脂肪抽出および乾燥

90 から 100% の間の乾燥物質および 203% 未満の脂肪を含有する試料を直接分析することができる。それ以外の場合は、40 ml のアセトンを追加し、マグネットスターラーを用いて 30 分間混合し、遠心し、さらに残渣を乱すことなく可能な限り多くの上清を吸引除去する。マグネットスターラーホットプレート上の 65 の水浴中にチューブを置き、さらに、乾燥しているように見えるまで、数分間残渣を混ぜる。ピーカーを覆い、さらにウォーターポンプによってアセトン蒸気を除去する。

【 0 1 2 9 】

デンプンの分散

2 ml の DMSO を追加し、チューブに蓋をし、さらに、連続的に攪拌しながら、沸騰水

10

20

30

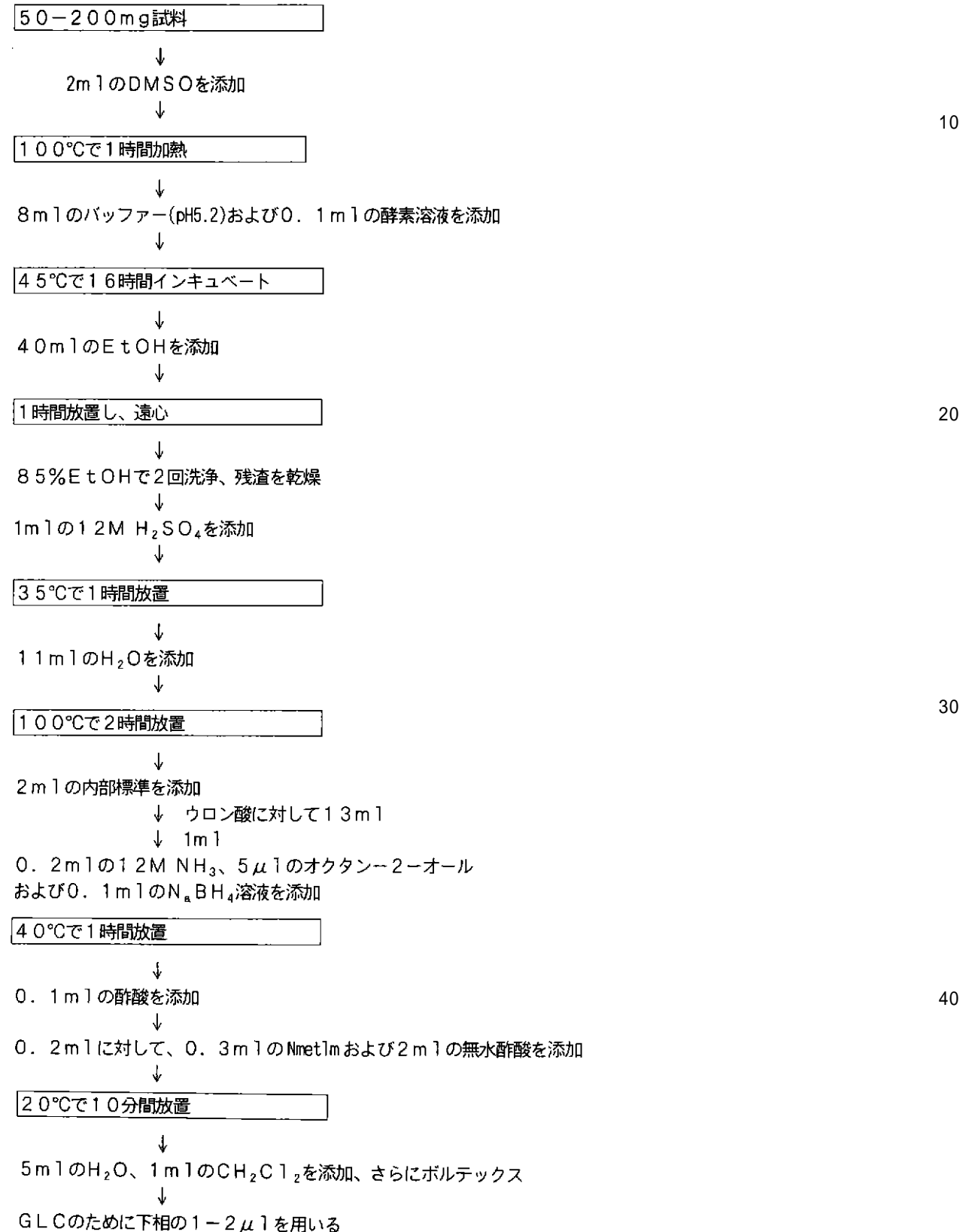
40

50

浴中において、再沸騰し始めてから1時間加熱する。次に、冷却しないで、50℃で8mlの0.1M酢酸ナトリウム緩衝液(pH5.2)を添加し、迅速にボルテックスで混合する。

【0130】

【表18】



デンプンの酵素加水分解

チューブを45℃に冷却し、その後、1 mlの酢酸緩衝液(pH 5.2)当たり5,000 unitsのα-アミラーゼおよび5 unitsのプルラーゼを含有する酵素溶液(0.1 ml)を直ぐに添加する。好ましくは上記のように連続的に混合しながら、45℃で16-18時間試料をインキュベートする。

【0131】

酵素処理後、40 mlの純粋なエタノールを添加し、よく混合し、さらに室温で1時間放置する。10分間、または透明な上清が得られるまで遠心する。残渣を掻き乱したり除去することなく、可能な限り多くの上清を吸引除去する。懸濁液を形成するように混合することによって、50 mlの85%エタノールで残渣を2回洗浄し、透明になるまで遠心し、さらに上記のように上清を除去する。洗浄した残渣にアセトン40 mlを添加し、5分間攪拌し、さらに遠心する。上清を吸引除去し、さらに脂肪抽出および乾燥の欄で記載したように、残渣を乾燥する。

10

【0132】

酵素消化後の残渣の酸加水分解

ボルテックスミキサーを用いて、乾燥した残渣を1 mlの1.2 M硫酸中に分散させる。35℃で1時間放置してセルロースを溶解させ、次に迅速に11 mlの水を添加し混合する。

【0133】

沸騰水浴中、再沸騰してから2時間、連続的に攪拌しながらその溶液を加熱する。チューブを水中に置いて室温まで冷却し、2 mlの内部標準(2 mg アロース/1 ml 飽和安息香酸溶液)を添加し、さらにチューブの内容物を混合する。酢酸アルジトールの調製のために加水分解物(1 ml)を用い、残りをウロン酸の定量のために維持する。

20

【0134】

ウロン酸

Scottの方法を修飾した方法を用いる。0.3 mlの加水分解物(必要であれば、25から100 μg/mlのウロン酸を含有するように希釈する)と0.3 mlの塩化ナトリウム-ホウ酸溶液(100 mlの水に、2 gの塩化ナトリウムと3 gのホウ酸を添加することによって調製)とを混合する。5 mlの濃縮硫酸を添加し、ボルテックスで攪拌し、さらに70℃の加熱ブロック中にチューブを置く。チューブおよび内容物を40分間放置し、その後、水中に入れて室温まで冷却する。冷却すると、0.2 mlの3,5-ジメチルフェノール溶液(100 mlの氷酢酸中、0.1 gの(CH₃)₂-C₆H₃OH)を添加し、直ぐに混合する。10から15分後、水を基準として、分光光度計において、400および450 nmで吸光度を読む。各試料について、450 nmでの読みから400 nmでの読みを差引き、グルクロン酸標準(25-125 μg/mlの範囲)のためにその差をプロットする。そのグラフから試料濃度を読む。

30

【0135】

酢酸アルジトールの調製

1 mlの加水分解物に、0.2 mlの1.5 Mアンモニア溶液および5 μlのオクタン-2-オールを添加する。その溶液がアルカリ性であることを確かめた後、3 Mアンモニア溶液1 ml当たり100 mgテトラヒドロホウ酸ナトリウム(III)(ホウ化水素ナトリウム)を含む新しく調製した溶液(0.1 ml)を添加する。混合し、その混合物を40℃で1時間放置し、さらに0.1 mlの氷酢酸を添加する。次に、0.2 mlのその酸性化した溶液に、0.3 mlのN-メチルイミダゾールおよび2 mlの無水酢酸を添加し、混合する。20℃(室温)で10分間放置し、5 mlの水を添加し、混合し、さらに冷えてから1 mlのジクロロメタンを添加し、ボルテックスミキサーで激しく内容物を攪拌し、さらに数分間遠心して、その混合物を2相に分離させる。吸引によって上相の大部分を除去し、次に下相を小さいガラス瓶に移し、密封し、-20℃で保存する。クロマトグラフィーに注入するために1-2 μl用いる。

40

【0136】

50

酢酸アルジトールの別の方法による調製

酢酸アルジトールのための溶媒としてジクロロメタンを用いる場合、自動GLC設備のない多くの研究室において、再現可能な結果を得るために注入技術が重要であることが観察されている。酢酸アルジトールのための溶媒として、酢酸エチルに代えて、ジクロロメタンを用いた場合、より強力な方法を得ることができる。方法は以下の通りである：

1 mlの加水分解物に、0.2 mlの12 Mアンモニア溶液および5 µlのオクタン-2-オールを添加する。その溶液がアルカリ性であることを確かめた後、3 Mアンモニア溶液1 ml当たり100 mgテトラヒドロホウ酸ナトリウム(III)を含む新しく調製した溶液(0.1 ml)を添加する。混合し、その混合物を40 で1時間放置し、さらに0.1 mlの氷酢酸を添加する。次に、0.5 mlのその酸性化した溶液に、0.5 mlのN-メチルイミダゾールおよび5 mlの無水酢酸を添加し、混合する。20 (室温)で10分間放置し、0.6 mlのエタノールを添加し、混合する。5分後、5 mlの水を加え、室温の水浴中に置き、5 mlの7.5 M KOHを添加し、数分後、さらに5 mlの7.5 M KOHを添加する。反転させて混合し、さらに放置して、2相に分離する。上相を小さなガラス瓶に移し、+5 で保存する。クロマトグラフィーに注入するために1-2 µl用いる。

【0137】

他の実施形態

詳細な説明と関連させて本発明を記載しているが、前記説明は例示であり、本発明の範囲を限定することを意図していないことを理解すべきである。本発明の他の態様、利点および変更も以下に記載の請求項の範囲内に含まれる。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、コブラ固形油粕を含有する2つの食餌間での糞便得点の比較を示す

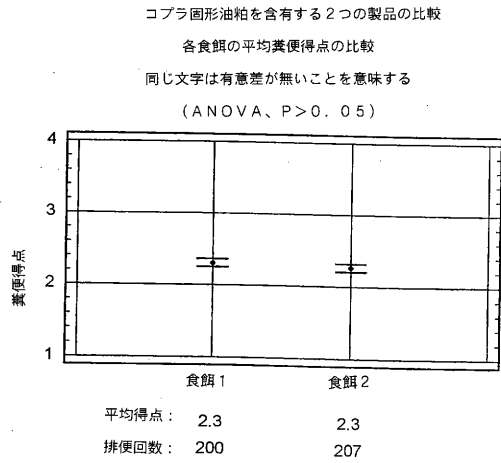
【図2】図2は、カンピロバクター・ジェジュニの生存に対する、イヌ大腸モデルへのコナッツ胚乳繊維の接種の影響についてのグラフを示す

【図3】図3は、結腸生検試料による平均エイコサノイドプロスタグランジンE₂産生を示す

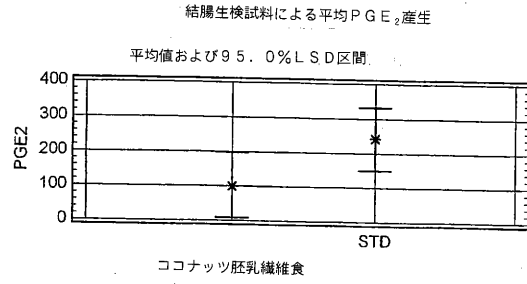
10

20

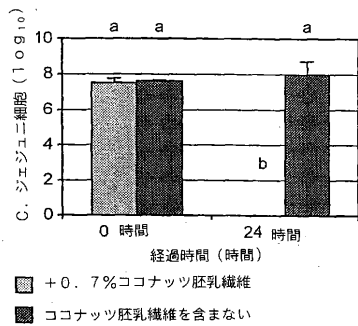
【 図 1 】



【 図 3 】



【 図 2 】



フロントページの続き

- (72)発明者 ギファード, カトリオーナ ジュリー
イギリス国 エルイー14 4アールティールスターシアールウォルサム - オン - ザ - ウォールズ
ウォルサム センター フォー ペット ニュートリション
- (72)発明者 ベイロン, マリー - ルイーズ アマンダ
イギリス国 エルイー14 4アールティールスターシアールウォルサム - オン - ザ - ウォールズ
ウォルサム センター フォー ペット ニュートリション

審査官 村田 泰利

- (56)参考文献 特開平08 - 131085 (JP, A)
国際公開第99/008544 (WO, A1)
特開平08 - 173055 (JP, A)
特開平07 - 236429 (JP, A)
特開平07 - 067544 (JP, A)
国際公開第91/018521 (WO, A1)
特開平10 - 084909 (JP, A)
国際公開第96/039046 (WO, A1)
国際公開第96/031239 (WO, A1)
特開平05 - 255097 (JP, A)
特開平05 - 000052 (JP, A)
特開平10 - 155432 (JP, A)
特開平05 - 238945 (JP, A)
梅本 達哉、谷村 弘、石本 喜和男、正木 和人、馬庭 芳朗、瀧藤 活也、玉置 卓也、松浦 成昭
、潰瘍性大腸炎の治療における食物繊維の意義についての実験的検討、日本静脈・経腸栄養研究
会誌、日本、日本静脈・経腸栄養研究会、1992年12月25日、第8巻、pp. 112 - 115

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A23K 1/00-3/04
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)
CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
Cinii