

健康で安全な豚肉の生産技術の開発

金谷健史・森 尚之・橋田明彦・藤原裕士*・疇地勲和

Effect of *Ec. faecium* as a substitution for antibiotics on Berkshire piglets growth

Takeshi KANETANI, Hisashi MORI, Akihiko HASHIDA, Hiroshi FUJIWARA and Tokikazu AZECHI

要 約

- 養豚飼料に添加されている抗菌物質の代替として乳酸菌および有機酸の効果を検討した
- 1 飼料に乳酸菌を添加した場合、35℃で3週間程度は生菌として生存することが確認された。
 - 2 乳酸菌および有機酸の添加により増体重や血中代謝産物に有意な差はみられなかったが、抗菌物質のみの添加よりも飼料要求率が改善した。
 - 3 乳酸菌の添加により便の軟化、血中TBARS濃度上昇がみられたが、有機酸と併用することで改善された。

キーワード： 豚、*Ec. faecium*、プロバイオティクス、プレバイオティクス、乳酸菌

緒 言

現在、畜産分野においては飼料安全法に基づき家畜の成長促進を目的とした抗菌物質の飼料添加が行われている。しかし、抗菌物質の慢性的な利用は薬剤耐性菌の出現を招く危険性があることから、既にEU諸国では2006年より一部の抗菌物質の利用が制限されている。また、近年特に食品へ求める安全性の高まりから利用量を縮減すべき段階にあると考えられる。この動きの中にあつて、生産現場では抗菌物質と同等の生育が保持できる代替資材が求められている。

豚において抗菌物質の代替資材にはハーブや植物抽出物、難消化性オリゴ糖等が検討されており、抗菌物質には劣るが若干の成長促進効果が認められたという報告がある¹⁾。中でも現在注目されているのは、プロバイオティクス・プレバイオティクスといった消化管内の細菌バランスを整える事により成長促進作用を期待する方法である。プロバイオティクス資材として主に研究されているのは乳酸菌であり、飼料要求率の改善や下痢の低減、子豚の生存率の向上などが報告されている²⁾³⁾⁴⁾。

そこで、今回は本県において発酵代用乳により子牛の下痢を低減させた⁵⁾乳酸菌の一つである *Enterococcus faecium* (以後 *Ec. faecium*) を試験に供した。*Ec. faecium* はヒトや動物の腸管内に常在する細菌であり、漬け物やサイレージスターターとして広く食品加工に利用されている⁶⁾。

また、プレバイオティクス資材には有機酸を選択した。有機酸は単体としても抗菌物質の代替資材として研究されており、サルモネラの増殖抑制効果や腸管で酸性を示すことから、酸性化関連の消化酵素活性の改善、腸粘膜の増殖作用などが報告

されている⁷⁾。今回は既に飼料の保存性を向上させる目的で飼料添加されているが、プレバイオティクス資材として報告例の少ないプロピオン酸ナトリウムを用いた。対照とする抗菌物質には、広い家畜種において成長促進を目的に飼料添加されている硫酸コリスチンを用い、3種類の資材を組み合わせて添加した場合における子豚の生育、代謝への影響を調査することにより、抗菌物質との代替の可能性を検討した。

材料及び方法

1 試験区の設定

無薬の基礎飼料に飼料添加物として既に認可されている乳酸菌 (*Ec. faecium*) および有機酸 (プロピオン酸ナトリウム)、抗菌物質 (硫酸コリスチン) が完全配置となるよう設定した (表1)。資材の添加量は表2の通りとした。基礎飼料の配合割合は表3の通り。

表1 試験区 —：無添加

試験区	乳酸菌	有機酸	抗菌物質
1区	添加	添加	添加
2区	添加	—	—
3区	—	添加	—
4区	—	—	添加
5区	添加	添加	—
6区	添加	—	添加
7区	—	添加	添加
8区	—	—	—

表2 資材の添加量

乳酸菌：1×10 ⁹ 個/頭(0.7kg)
バルテック乾燥粉体
有機酸：0.3%(weight/weight)
ナカライテスク特級試薬
抗菌物質：40gカ価/t
「硫酸コリスチン2%可溶散明治」

表3 飼料成分

原料		栄養成分	
哺乳前期	パンくず、脱皮きなこ、	水分：	11.00%
	加熱処理とうもろこし、	粗蛋白：	20.89%
	脱脂粉乳、ホエイ、小麦	粗脂肪：	8.66%
	粉、大豆粕、魚粉、乳	可溶性	
	糖、砂糖、動物性油脂etc	無窒素：	54.99%
		粗灰分：	4.46%
		カロリー：	16.9J/g
哺乳後期	加熱処理とうもろこし、	水分：	12.56%
	大豆粕、菓子くず、魚	粗蛋白：	21.13%
	粉、加熱処理大豆、脱脂	粗脂肪：	3.99%
	粉乳、小麦粉、ホエイ、	可溶性	
	動物性油脂etc	無窒素：	57.46%
		粗灰分：	4.86%
		カロリー：	15.4J/g

2 試験期間

平成17年7月～平成18年9月において、上記試験区設定で2反復実施した。

3 供試動物

パークシャー種離乳子豚を用い、1試験区雄3頭、雌3頭 計6頭×8区とした。飼養面積は5.0m²で群飼とし、試験飼料は離乳後の32日齢から41日齢まで哺乳前期飼料を、41日齢から60日齢まで哺乳後期飼料を給与した。飼料は不断給餌とし、自由飲水とした。

4 試験方法

(1) 飼料の保存性調査

調整した試験飼料を35℃で保温し、経時的に飼料中の生菌数をBCP加プレートカウント培地により計数した。

(2) 子豚への給与試験

32日齢から試験飼料を60日齢まで給与し、毎週1回、個体ごとに生体重を測定した。また、飼料摂取量を飼料の切り替えの際に測定した。

また、試験飼料給与中における糞便性状を調査した。目測により便の性状を「正常便」「軟便」「下痢便」と3つに分類し、飼養する床面積に占める割合を調査した。性状により重み付けを行い、床面積割合を乗じた数値をスコアとし、無薬飼料である8区を基準として、グラフ化した。

(3) 採材

試験終了である60日齢に採血を行った。

(4) 分析項目

血清中のグルコース(GLU)、中性脂肪(TG)、総コレステロール(CHO)および尿素窒素(BUN)を富士ドライケムシステムにより測定した。

また、ストレスの指標として脂質酸化度(2-チオバービツル酸反応物質：以下TBARS)をYagiら⁸⁾の方法によりリンタングステンを用い分光蛍光光度計(SIMADZU RF-5300PC)により測定した。

さらに、ELISA法によりIgA濃度を測定した(BETHYL CHICKEN IgA ELISA QUANTITATION KIT)。

5 統計処理

ANOVAおよびTukeyの多重比較検定を実施した。

結果

1 乳酸菌の生存率

配合した各試験区の飼料中における乳酸菌生菌数を図1に示した。

生菌は乳酸菌を添加した1区、2区、5区、6区にのみ検出された。添加菌数を1kg換算した値と比較して、保存23日までは生菌数が維持されたが、91日では生菌が半数もしくは検出されない区もあった。

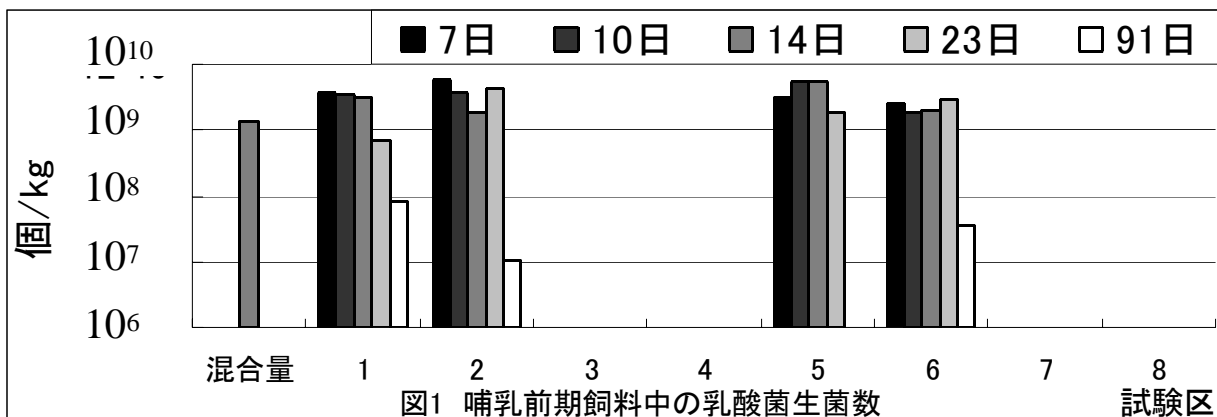


図1 哺乳前期飼料中の乳酸菌生菌数

試験区

2 子豚の生育成績

子豚の生体重の推移を図2に、哺乳前期飼料および後期飼料摂取時の増体重を図3に、試験飼料給与中の飼料要求率を表4に示した。試験期間中の生体重に有意な差はみられなかったが、無薬飼料の8区と比較して、5区が高

い傾向を示し、4区が低い傾向を示した。また、増体重においても試験区間に差はないものの、生体重と同じく5区が高く、4区が低い傾向を示した。飼料要求率は4区が最も高く効率が悪く、7区が最も低く効率が良かった。7区に次ぎ3区、8区、1区が低い値をとった。

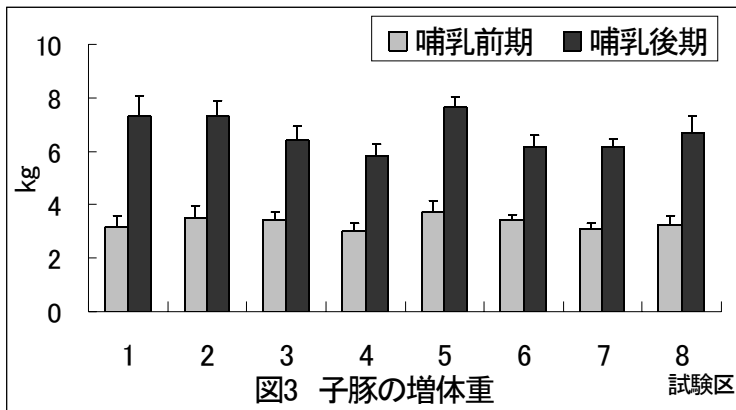
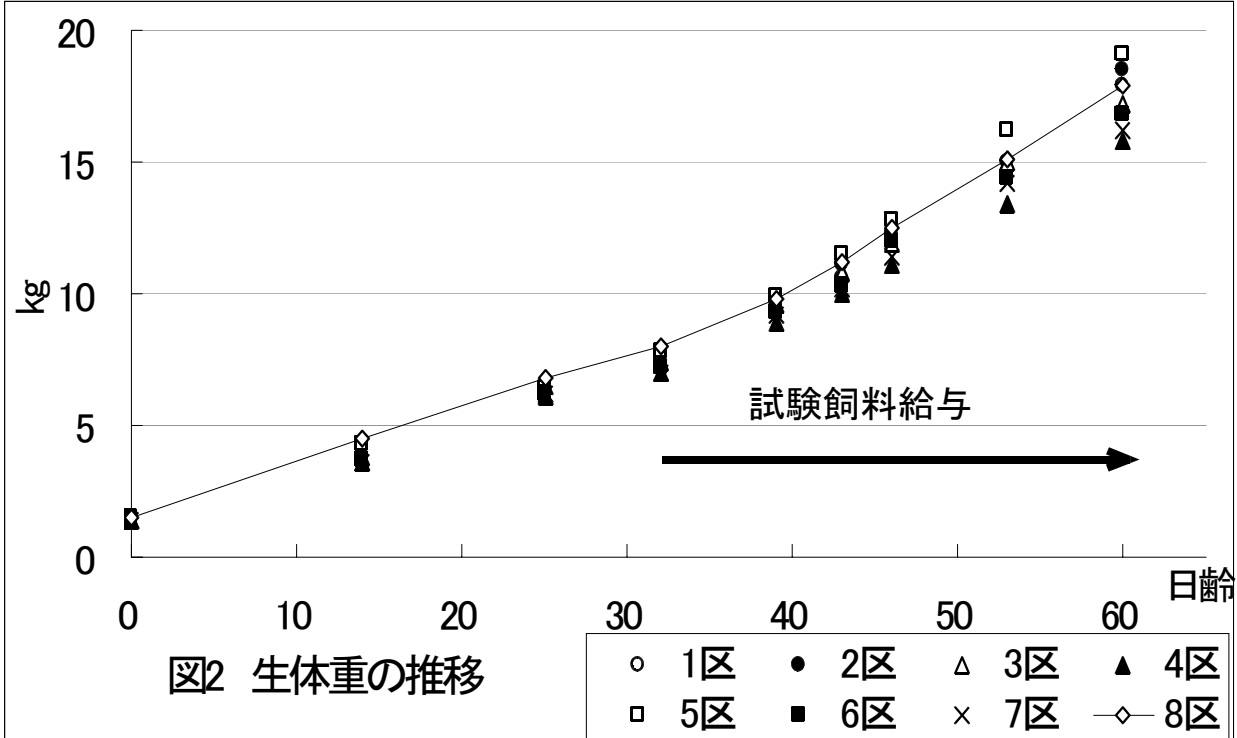


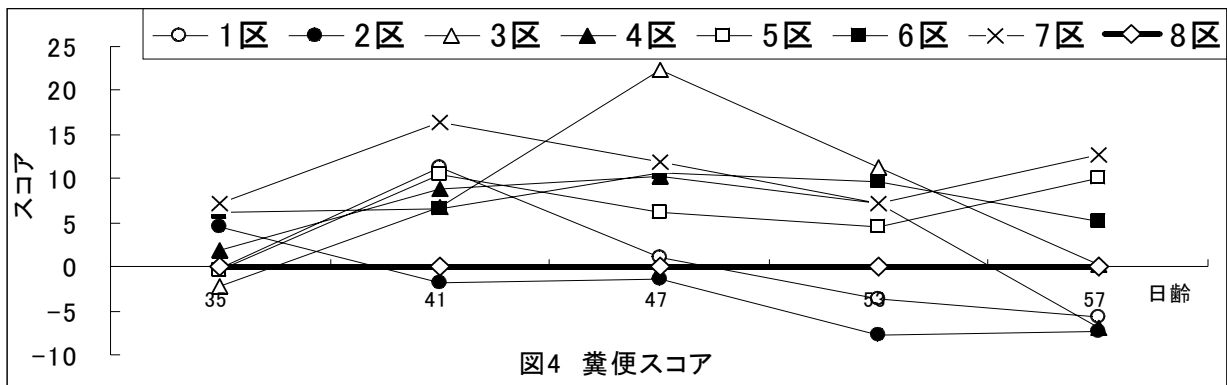
表4 飼料要求率

試験区	飼料要求
1区	1.77
2区	1.82
3区	1.76
4区	1.90
5区	1.81
6区	1.81
7区	1.74
8区	1.76

3 糞便スコア

糞便性状を調査した結果を図4に示した。8区と比較してスコアの推移は3タイプに分かれた。徐々に数値が低下する1区、2区。山型の推移を示す3区、4区。正数で一定値を維持する5区、6区、7区となった。

分かれた。徐々に数値が低下する1区、2区。山型の推移を示す3区、4区。正数で一定値を維持する5区、6区、7区となった。



4 血液検査成績

試験終了である60日齢における血清中生化学成分の結果を表5に示した。

GLU、TG、CHO、BUNは試験区間で有意な差は検出されなかったが、GLUは3区が低く8区で高く、TGは6区が低く1区で高く、CHOは4区が

低く5区で高く、BUNは1区で低く4区で高くなっていた。

TBARSは2区と比較して4区ならびに6区が有意に高い値であった。

IgAは試験区に有意差は検出されないものの、2区が最も高く、6区が最も低かった。

表5 血清生化学成分

	GLU mg/dl	CHO mg/dl	TG mg/dl	BUN mg/dl	TBARS nmol/ml	IgA mg/ml
1区	88.5±7.4	94.2±7.2	60.0±9.9	9.85±1.4	0.22±0.02	0.69±0.10
2区	83.3±10.8	90.3±7.2	53.2±8.9	12.6±1.5	0.24±0.02 ^a	0.69±0.13
3区	72.7±9.2	90.7±3.9	50.8±7.4	13.7±1.2	0.17±0.03	0.54±0.07
4区	82.7±8.5	80.8±5.7	36.7±3.5	16.4±1.7	0.15±0.01 ^b	0.55±0.11
5区	73.4±3.6	108.8±8.3	37.5±8.0	13.9±1.1	0.18±0.01 ^b	0.57±0.10
6区	76.5±12.0	84.5±4.5	35.5±5.1	11.7±1.9	0.13±0.01 ^b	0.39±0.04
7区	92.5±7.0	98.7±4.5	49.5±6.2	12.1±1.7	0.16±0.01	0.49±0.06
8区	93.5±9.7	97.0±7.9	37.0±3.4	11.6±1.4	0.19±0.01	0.54±0.08

5 出荷成績

試験終了後、通常飼料に切り替え肥育し肉豚出荷を行った。その際の出荷体重から算出したDGを表5に示した。

数値に大きな差はなかったが、5区が低く、6区で高い結果となった。

表5 出荷体重より算出したDG

試験区	DG kg
1区	0.48±0.048
2区	0.49±0.075
3区	0.48±0.047
4区	0.48±0.052
5区	0.47±0.046
6区	0.53±0.031
7区	0.49±0.035
8区	0.50±0.046

means±S. D.

表6 試験期間中の資材コスト

試験区	円
1区	7,294
2区	32
3区	1,314
4区	5,901
5区	1,211
6区	5,720
7区	6,707
8区	0

考察

1 乳酸菌の生存率

乳酸菌を添加した区にのみ生菌が検出されたことから、飼料中の乳酸菌は全て添加菌であることが確認された。14日までの菌数は多少振れ幅があるものの測定誤差の範囲であると考えられ、混合量が維持された。飼料の水分含量が高い場合、保存中に乳酸菌が増殖する可能性があ

るが、今回の試験飼料は11%程度と低く、乳酸菌をはじめとする細菌の増殖は観察されなかった。91日では生菌数が減少しており、一部の試験飼料では細菌による腐敗臭を呈した。23日から91日までの間、乳酸菌菌数は段階的に減少すると考えられ、飼料に生菌剤を添加した場合における明確な保存日数を算出するには、小刻みな日数の設定、温度設定を検討する余地があるが、3週間までは生菌飼料としての効果が期待されることが示唆された。

2 子豚の生育成績

生体重および増体重の結果から、乳酸菌・有機酸を添加した5区が優れる傾向を示したが、市販飼料のモデルである抗菌物質添加4区が低値を示した。また、飼料要求率も同様に4区が悪い結果となった。

乳酸菌種は異なるが、試験日齢の近いABEら⁹⁾の報告によると、有意差はないものの増体は抗菌物質が良く、飼料要求率は乳酸菌(*Bifidobacterium pseudolongum*)添加の方が良好な成績を得たとのことであった。本試験における傾向としては、抗菌物質よりも乳酸菌および有機酸を添加した方が生育、飼料要求率において良好な成績を得た。

3 糞便スコア

スコアの推移における3タイプの内、一定の傾向を認めない山型のグラフは飼料の効果と環境の効果を判別することが難しいが、数値の低下傾向を示した1区および2区においては便を軟化させる傾向が、正数の一定値を示した5区、6区、7区においては糞が硬化する傾向が示された。糞便性状においては資材を単味もしくは全て添加するよりも、二種類ずつ組み合わせて添加する方が効果的であるように思われた。

他の下痢における試験報告では、抗菌物質や無薬飼料と比較して乳酸菌単味でも下痢の発生が抑制されたという報告がある¹⁰⁾。これらはほ乳期からの給与であり、本試験よりも早期に給与している。このことから移行抗体が減少し始めるほ乳後期からの下痢症対策としては乳酸菌の単味添加が有効であるが、離乳後、配合飼料を摂取する時期になると、有機酸等との混合給与が下痢の低減に有効であると考えられた。

4 血液検査成績

GLU、TG、CHO、BUNにおいては資材による影響は見られなかった。乳酸菌の効果の一つに、脂質代謝への作用がある¹¹⁾。これは、腸内細菌による脂肪酸の飽和化や腓リパーゼの活性低下、腸管壁の形態変化、胆汁酸飽和による遊離胆汁酸の生成等が要因となり、血中CHO濃度が低下するというものだが、本試験では観察されなかった。

ストレスによる酸化作用を一番に受けやすい脂質を血中指標とし、過酸化脂質濃度の測定をTBA法により行った。本試験におけるTBARS濃度は、抗菌物質および乳酸菌・抗菌物質を添加するよりも乳酸菌を単味で添加することで上昇していた。TBARS: thiobarbituric acid reaction substanceはチオバルビツール酸と反応するマロンジアルデヒドやアルケナール、アルカジエナール類の事を示しており、総合的に脂質の酸化度を評価する方法として用いられている。よって、今回の様に単菌給与により変動するとは

考えにくく、乳酸菌による高値は単一の原因に由来するものではなく、複合的な要因であると考えられる。

主に腸管粘膜に分布し免疫の第一陣を担うIgAは分泌型の2量体と血清中の単量体に相関があるといわれており、今回は血清中濃度を測定した。有意差は検出されなかったが1区、2区が高く、6区が低い傾向を示した。これを糞便スコアの結果と比較すると、IgA濃度が高い方がスコアが低く、低い方がスコアが高いと読み取れる。IgAの産生は防衛的に働く能動的な分泌と、細菌の侵食による受動的な分泌があると考えられるが、本試験におけるスコア低値の試験区は後者の影響が強かったとも考えられる。

5 出荷成績

育成初期における生育が出荷時に及ぼす影響はDGを指標としたが、有意差は認められず全ての試験区で同等の生育を示した。

以上のことから、乳酸菌単味の給与では血中のストレス指標の上昇、便の軟化を招くが、有機酸と混合することで飼料要求率は変わらずデメリットを改善することが出来ることが示唆された。今回用いた乳酸菌は低コストで生産可能となった資材であり、3つの資材の中で最も安価であった(表6)。このため試験期間中の飼料摂取量からコストを算出した場合、2区が最も安く、次いで5区、3区となった。このことから、コスト面からも乳酸菌と有機酸の組合せは有用であることが示唆された。

謝辞

本試験の実施にあたり、乳酸菌粉末を提供頂きました(株)林原生物科学研究所、ならびに飼料組成について助言頂きました中部飼料(株)に深謝いたします。

引用文献

- 1) 田島茂行、栗田隆之、安藤康紀、鹿田構基(2001)：耐酸性オリゴ糖と抗菌性物質の飼料添加が子豚の発育に及ぼす効果の比較. 愛知県農業総合試験場研究報告, 33, 281-285
- 2) 奥村純一、古瀬充宏(1995)プロバイオティクス(11)：畜産の研究, 49, 8, 927-933
- 3) 山本英二、大和碩哉(1998)：生菌剤、血漿蛋白及びトルラ酵母添加飼料給与が早期離乳子豚の発育及び免疫能に及ぼす効果. 福岡県農業総合試験場研究報告, 17, 158-161

- 4) D. Taras, W. Vahjen, M. Macha and O. Simon: Performance, diarrhea incidence, and occurrence of *Escherichia coli* virulence genes during long-term administration of a probiotic *Enterococcus faecium* strain to sows and piglets. *J. Anim. Sci.* 2006;84:608-617
- 5) 野上與志郎(2000) : 乳酸菌処理豆腐飼料添加代用乳による哺乳子牛への下痢予防効果. 岡山県総合畜産センター研究報告, 11, 13-17
- 6) 乳酸菌研究集談会(2003) : 乳酸菌の科学と技術
- 7) J. J. Dibner, 奥村純一(2004) 有機酸は抗生物質以上のいくつかの役割がある : 畜産の研究, 58, 2, 275-283
- 8) 金田尚志、植田伸夫編集(1987) : 過酸化脂質実験法
- 9) F. Abe, N. Ishibashi, and S. Shimamura: Effect of Administration of Bifidobacteria and Lactic Acid Bacteria to Newborn Calves and Piglets. *J. Dairy. Sci.* 1995;78:2838-2846
- 10) 八谷純一、山本哲也、岩井俊暁(2000) : 乳酸菌の早期経口投与による子豚の下痢防止. 京都府畜産研究所試験研究成績, 40, 42-48
- 11) 光岡知足編(1983) : 腸内フローラと栄養