

乳酸菌発酵飼料米を利用したプロバイオティクス飼料の開発

松家 憲子・山口 智美・堀北 直樹*・先川 正志
金丸 芳**・新居 雅宏

要 約

飼料用米に乳酸菌を添加して発酵させた飼料の給与効果を検討するために、肥育豚、および離乳期子豚で給与試験を実施した。

試験1)パウチ法により調整した玄米サイレージにおけるGABA生産量は、貯蔵30日及び60日ともにR050区が高かった($p < 0.01$)。

試験2)乳酸菌発酵米及び粉碎玄米をそれぞれ30%添加した試験区を設定し、肥育豚へ給与した結果、腹腔内脂肪の融点が乳酸菌発酵米区で高かった($p < 0.05$)。また、試験開始28日目のリンパ球幼若化反応において、乳酸菌発酵米区が、玄米区よりもマイトジェン活性が高かった($p < 0.05$)。

試験3)基礎飼料中のトウモロコシ30%を乳酸菌発酵米及び粉碎玄米で代替した試験区と、代替しないトウモロコシ多給区の3区を設定し、肥育豚に給与した。発育及び飼料要求率は乳酸菌発酵米区が良い傾向を示した。また、腹腔内脂肪の融点は、乳酸菌発酵米区が玄米区よりも高かった($p < 0.05$)。試験開始28日のリンパ球幼若化反応は、乳酸菌発酵米区が高い活性を示し($p < 0.005 \sim 0.001$)、乳酸菌発酵米給与により免疫力が高まることが示唆された。

試験4)離乳子豚へ乳酸菌発酵米を給与すると、発育、飼料要求率が良くなる傾向がみられた。また、一定の下痢抑制効果が示された。リンパ球幼若化反応は乳酸菌発酵米区で若干高くなる傾向がみられた。

目 的

現在の養豚生産現場では、豚は消化器病、呼吸器病などの疾病に罹患しやすく、それにより生産性の低下を招いている。

一方、人では、近年、健康に関する関心が高まっており、中でも腸内細菌叢を整えることにより免疫力を高めて健康を維持するというプロバイオティクスの考え方は一般に広く知られている。このプロバイオティクス理論を豚に応用し、豚自身の免疫力を高め、疾病に対する抵抗力を持たせ、生産性の低下を低減することを目的とする。

プロバイオティクス効果のある代表的な食品には、ヨーグルトなどの乳酸菌を含む製品が挙げら

れるが、本試験でも豚に乳酸菌を給与し、その効果を検討する。

乳酸菌の効果的な給与方法として、穀類に付与し、給与する手法に着目した。これにより、乳酸菌を腸へと運搬する役割だけでなく、米の素材としての効果を生かした高品質豚肉の生産も期待されることから、免疫力および肉質に対する影響を調査した。

材料および方法

1 試験1：小規模発酵試験法（パウチ法）¹⁾による玄米サイレージの調整

1) 乳酸菌発酵米を調整するために添加する乳酸

* 農業研究所 ** 徳島大学

菌株を決定することを目的として、玄米サイレージを調整し、品質を評価した。粉碎玄米100gにMR S液体培地にて嫌気培養した乳酸菌液を、玄米1gあたり 10^5 CFU、水分率30%となるように添加、混合した。その後、ポリフレックスバッグに入れ脱気、封入し、室温にて貯蔵した。

2) 試験区分

試験区は表1に示した通り4区を設定した。

表1 試験区分(1)

使用乳酸菌株	
RO50区	<i>Lactococcus lactis</i> RO50株(RO50)
畜草1号区	「畜草1号」(雪印種苗株式会社)
RO50+畜草1号区	RO50に畜草1号を1:1で混合
対照区	乳酸菌無添加(水分調整のみ)

3) 調査項目

貯蔵開始30日後および60日後にパウチを開封し、 γ -アミノ酢酸(GABA)生産量を測定した。

2 試験2：乳酸菌発酵米の肥育豚への給与効果の検討(1)

1) 試験期間

試験は、平成22年9月から10月に実施し、試験飼料の給与は体重70kgから110kg前後とした。

2) 供試豚

当所で繋養している大ヨークシャー種を用いた。

3) 試験区分

乳酸菌発酵米と玄米との給与効果を比較検討することを目的に、表2のように試験区を設定した。各区とも去勢雄4頭の群飼とし、給与形態は不断給餌、自由飲水とした。なお、基礎飼料には新産肉能力検定飼料を使用した。

表2 試験区分(2)

試験区	頭数
乳酸菌発酵米区	基礎飼料に乳酸菌発酵米を30% (乾物換算) 添加 4頭群飼
玄米区(対照区)	基礎飼料に粉碎玄米を30%添加 4頭群飼

4) 調査項目

調査項目は、発育・と体成績、胸最長筋の理化学検査、脂肪性状(脂肪色、脂肪融点、脂肪酸組

成)、腸内細菌検査(隔週)、および免疫能の測定(リンパ球幼若化反応およびスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)活性、隔週)とした。肉の理化学検査及び脂肪性状の検査は、当所の定法により実施した。

3 試験3：乳酸菌発酵米の肥育豚への給与効果の検討(2)

1) 試験期間

試験は、平成23年8月から9月に実施し、試験飼料の給与は体重70kgから110kg前後とした。

2) 供試豚

当所で繋養している大ヨークシャー種を用いた。

3) 試験区分

トウモロコシとの代替効果を検討することを目的に、表3のように自家配合による飼料を設計し、試験区を設定した。各区とも去勢雄6頭の群飼とし、不断給餌、自由飲水とした。

表3 試験区分(3) (%)

	乳酸菌発酵米区	玄米区	対照区
トウモロコシ	48.25	48.25	78.25
玄米	0	30	0
乳酸菌発酵米	30	0	0
大豆粕	20	20	20
リン酸等	1.4	1.4	1.4
ミネラル等	0.35	0.35	0.35

4) 調査項目

調査項目は、発育・と体成績、胸最長筋の理化学検査、脂肪性状(脂肪色、脂肪融点、脂肪酸組成)、免疫能の測定(リンパ球幼若化反応およびSOD活性)、および食味官能検査とした。

4 試験4：乳酸菌発酵飼料米の離乳子豚への給与効果の検討

1) 試験期間

試験は、平成24年6月から7月に実施した。生後2週間より基礎飼料を用いて餌付けを開始し、3週齢にて離乳後群編成し、馴致期間を設けた。馴致

期間中は各区とも基礎飼料のみを給与し、試験飼料は4週齢から8週齢に達するまで給与した。

2) 供試豚

当所で繋養している大ヨークシャー種2腹の子豚を供試した。

3) 試験区分

試験区分を表4に示した。基礎飼料には無薬の市販乳前期飼料を使用した。なお、抗菌区に添加した抗生物質は、硫酸コリスチン(40g力価/トン)、及びエンラマイシン(20g力価/トン)であった。

各試験区に6頭ずつの設定で群編成後馴致を開始したが、直後に対照区で臍ヘルニアを発症した個体があったため、対照区はこれを除外した5頭での試験開始となった。更に、試験開始から2週間を経過した頃(6週齢)、対照区で1頭、抗菌区で2頭の子豚に、全身の痙攣と起立困難の症状がみられ、試験開始19日目にこれらの子豚を除外し、その後の試験を続行した。

給与形態は不断給餌、自由飲水とした。

表4 試験区分(4)

試験区	頭数
乳酸菌発酵米区 基礎飼料に乳酸菌発酵米を30% (乾物換算)添加	6頭群飼
抗菌区 基礎飼料に粉碎トウモロコシを 30%添加し、さらに抗生物質を添 加	6(4)頭群飼
無薬区(対照区) 基礎飼料に粉碎トウモロコシを 30%添加	5(4)頭群飼

4) 調査項目

調査項目は、発育、糞便性状および細菌検査(隔週)、および免疫能の測定(リンパ球幼若化反応およびSOD活性、隔週)とした。

結 果

1 試験 1

1) GABA生産量の比較

各試験区におけるGABA生産量を図1に示した。貯蔵日数にかかわらず、R050区におけるGABA生産

量が多かった。R050区に次いで、R050+畜草1号区、畜草1号区、対照区の順に生産量が多かった。

GABAは脳内で抑制性の神経伝達物質として機能し、鎮静や抗不安作用を示す^{2, 3)}。乳酸菌による腸内細菌叢の改善に加え、GABAを高含有するR050を用いて調整した乳酸菌発酵米を給与することで、免疫力の向上が期待されることから、R050を乳酸菌発酵米の調整に使用することとした。

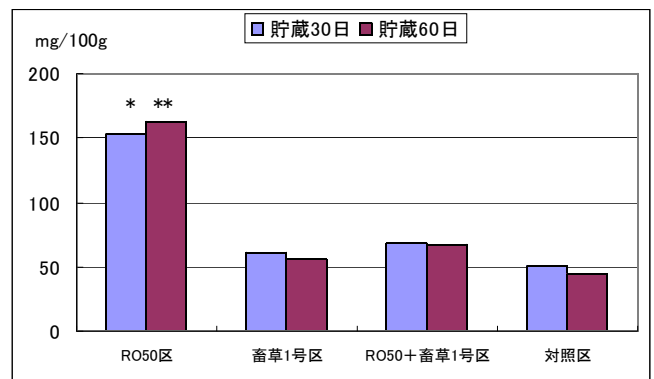


図1 GABA生産量の比較

2 試験 2

1) 発育、及び飼料要求率

試験期間中の一日平均増体重(DG)及び飼料要求率を表5に示した。各試験区間に差はみられなかった。

表5 増体性及び飼料要求率

	乳酸菌発酵米区	対照区
DG(g)	772	776
飼料要求率	5.09	5.03

2) 肉の理化学検査、及び脂肪の性状

背脂肪外層、内層、及び腹腔内脂肪の脂肪融点及び脂肪酸組成について表6に示した。腹腔内脂肪の融点において、乳酸菌発酵米給与区が玄米給与区よりも高くなり、背脂肪外層及び内層についても、同様の傾向がみられた。脂肪酸組成については、背脂肪内層及び腹腔内脂肪において、乳酸菌発酵米給与区における飽和脂肪酸の占める割合が、玄米給与区よりも高くなる傾向を示し、

背脂肪内層では、パルミチン酸の割合が乳酸菌発酵米給与区で高かった。また、全ての部位で乳酸菌発酵米給与区におけるオレイン酸割合が低くなる傾向がみられた。

その他肉の理化学検査及び脂肪色については、試験区間での差はみられなかった。

表6 脂肪の理化学検査結果 (1) (%)

	乳酸菌発酵米区		対照区	
	AVE.	STD.	AVE.	STD.
融点(外層)	36.3	3.5	33.8	2.8
融点(内層)	40.8	1.8	39.3	2.4
融点(腹腔内)	44.6a	0.8	42.8b	0.9
C16:0(外層)	26.3	0.5	26.9	0.1
C18:0(外層)	14.4	1.3	13.2	0.8
C18:1(外層)	42.1	1.9	43.0	1.1
C18:2(外層)	10.8a	0.6	9.9b	0.5
C16:0(内層)	21.0A	0.7	18.5B	0.7
C18:0(内層)	18.0	1.0	16.8	1.0
C18:1(内層)	37.3a	1.2	39.7b	1.4
C18:2(内層)	8.5	0.6	7.8	0.5
C16:0(腹腔内)	29.6	0.3	29.7	0.9
C18:0(腹腔内)	21.0	0.7	18.5	0.7
C18:1(腹腔内)	37.3	1.2	39.7	1.4
C18:2(腹腔内)	7.1	0.8	6.7	0.8

a-b;p<0.05, A-B;p<0.01

3) 免疫能の比較

(1) リンパ球幼若化反応

試験開始28日目のリンパ球幼若化反応について図2に示した。分裂促進因子であるマイトジェンによる刺激を与える前の活性値を1として、活性の変化を表した。リポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) の濃度2.5 μg/mlをのぞいて乳酸菌発酵米区の活性が高くなる傾向があり、LPSの5 μg/ml、及びphytohemagglutinin (PHA) の2.5 μg/mlにおいては乳酸菌発酵米給与区が玄米給与区よりも活性が高かった。試験開始14日目においても対照区よりも乳酸菌発酵米区の活性が高くなる傾向はみられたが、controlとの比較では、全体にほとんど活性は上がらなかった。

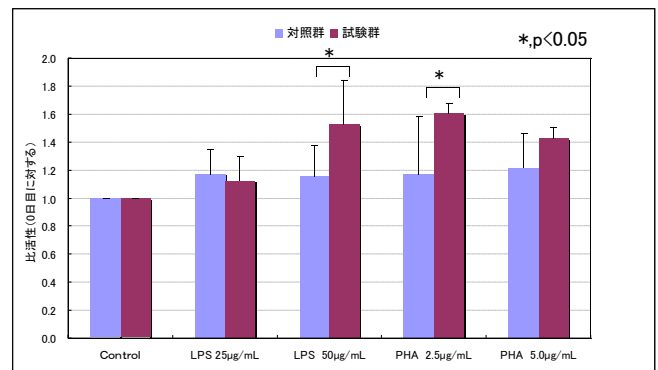


図2 試験開始28日目のマイトジェン活性(1)

(2) SOD活性

血清中のSOD活性について図3に示した。試験開始時の測定値を1として、活性の変化を表している。

乳酸菌発酵米区では、試験期間が長くなるに従って、活性が上昇した。玄米給与区では試験開始14日目には活性が下がり、28日目には上昇した。

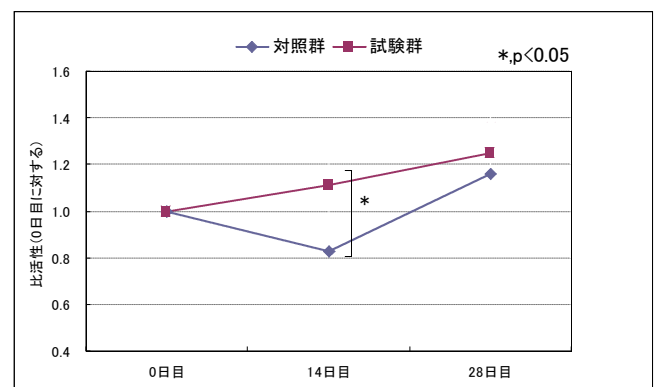


図3 SOD活性測定結果(1)

3 試験3

1) 発育, 及び飼料要求率

試験期間中のDG及び飼料要求率を表7に示した。DG及び飼料要求率は、乳酸菌発酵米区が良好な結果となった。

表7 増体性及び飼料要求率

	乳酸菌発酵米区	抗菌区	対照区
DG(g)	793.1	773	764
飼料要求率	4.1	4.5	4.4

2) 肉の理化学検査, 及び脂肪の性状

背脂肪外層, 内層, 及び腹腔内脂肪の脂肪融点

及び脂肪酸組成について表8に示した。試験2と同様に、乳酸菌発酵米区で腹腔内脂肪の融点が玄米区よりも高くなり、背脂肪外層及び内層においても同様の傾向であった。脂肪酸組成についても試験2と同様、乳酸菌発酵米区において、全ての部位でオレイン酸の占める割合が低い傾向がみられた。

その他肉の理化学検査については、試験区間に差はなかった。

表8 脂肪の理化学検査結果

	乳酸菌発酵米区		玄米区		対照区	
	AVE.	STD.	AVE.	STD.	AVE.	STD.
融点(外層)	39.18	1.61	37.42	2.40	38.35	1.08
融点(内層)	40.40	2.59	37.84	3.73	40.99	0.92
融点(腹腔内)	45.89a	2.41	42.44b	2.47	43.40	3.14
C16:0(外層)	29.53	1.08	29.60	1.01	29.47	0.84
C18:0(外層)	16.17	1.80	16.18	0.87	16.18	1.13
C18:1(外層)	40.72	1.68	41.36	1.88	41.59	2.37
C18:2(外層)	9.54	1.34	8.79	0.73	8.86	1.21
C16:0(内層)	31.11	0.81	30.73	0.96	30.72	0.96
C18:0(内層)	19.26	1.78	18.66	0.97	19.69	0.66
C18:1(内層)	39.98	1.10	40.88	1.66	40.39	2.28
C18:2(内層)	6.19	0.87	6.17	0.76	5.96	0.77
C16:0(腹腔内)	32.50	0.85	31.83	0.87	31.42	1.04
C18:0(腹腔内)	22.17	1.82	21.42	1.17	21.82	1.41
C18:1(腹腔内)	36.31	1.64	38.16	1.76	38.04	2.87
C18:2(腹腔内)	5.66	1.16	5.34	0.39	5.67	0.68

a-b: p<0.05

3) 食味官能検査

食味官能検査の結果を表9に示した。検査は玄米区と対照区、また、乳酸菌発酵米区と対照区の組み合わせによる2点試験法⁴⁾により実施し、食味は5段階評点法により評価した。その結果、一定の傾向はなく、乳酸菌発酵米給与による食味への影響はみられなかった。

表9 食味試験結果

		玄米区 - 対照区	乳酸菌発酵米区 - 対照区
1. テクチャー	① やわらかさ (噛切)	0.25	-0.16
	② やわらかさ (咀嚼)	0.32	-0.09
	③ 多汁性	0.13	0.06
2. 味	① 肉の甘み	0.00	-0.06
	② 肉のうま味	0.10	0.06
3. 香り	① 豚肉の香り	0.16	0.06
4. 脂身	① 脂の甘み	0.03	0.03
	② 脂っこさ	0.23	-0.19
5. 総合評価	① 総合評価	0.28	-0.03

4) 免疫能の比較

(1) リンパ球幼若化反応

試験開始28日目のリンパ球幼若化反応について図4に示した。試験3では、concanavalin A (Co

nA), PHA, およびpokeweed mitogen (PWM)の3種のマイトジェンに対する活性を測定した。その結果、マイトジェンの種類や濃度に関わらず玄米区と対照区ではほとんど活性は上がらず、乳酸菌発酵米区でのみ活性の上昇がみられた。

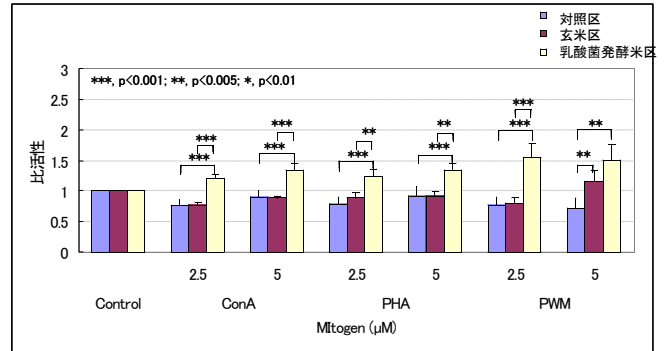
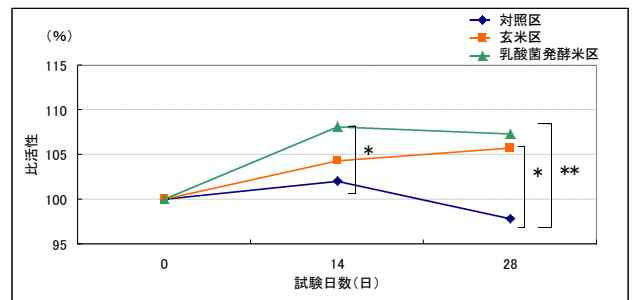


図4 試験開始28日目のマイトジェン活性(2)

(2) SOD活性

SOD活性の測定結果を図5に示した。乳酸菌発酵米区及び玄米区において活性が強くなったが、対照区では活性が上がらなかった。



**、p<0.005; *, p<0.01

図5 SOD活性測定結果(2)

4 試験4

1) 育成成績

試験期間中の体重の推移を図6に、またDG及び飼料要求率を表10に示した。抗菌区及び対照区の体重は、試験終了まで供試が可能だった8頭(それぞれの試験区で4頭ずつ)の測定結果を用いた。DG及び飼料要求率については、体調不良となった個体の除外前と除外後で期間を区切って比較することとした。

発育は、乳酸菌発酵米区が試験期間を通じて良

好であった。DG及び飼料要求率は乳酸菌発酵米区、抗菌区、対照区の順で良い結果となった。

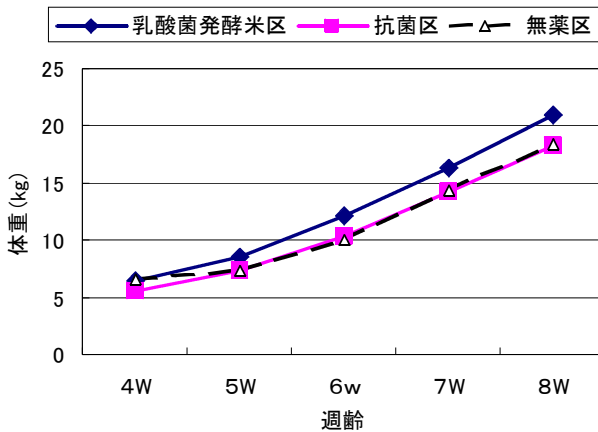


図6 離乳子豚の体重の推移

表10 離乳子豚の発育成績

	試験開始時-19日目までの試験		試験20日目-28日目までの試験	
	DG(g)	飼料要求率	DG(g)	飼料要求率
乳酸菌発酵米区	472.4	1.38	667.1	1.47
抗菌区	387.4	1.50	603.3	1.66
対照区	333.7	1.53	554.4	1.75

2) 離乳子豚の下痢発生状況

図7に離乳子豚のふん便性状を示した。直腸から採取した新鮮便を観察し、正常、軟便、下痢の3段階にて評価した。抗菌区、及び対照区は各4頭、乳酸菌発酵米区は6頭のふん便性状の観察結果とした。観察時には各区とも下痢はみられず、正常～軟便であった。乳酸菌発酵米区は試験期間中やや軟便で推移した。

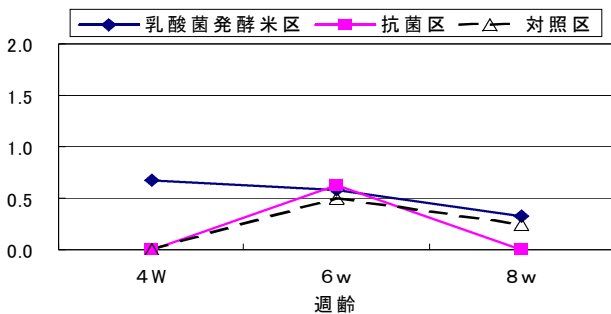


図7 ふん便性状

3) 腸内細菌の推移

性状観察したふん便を用いて細菌検査を実施した。大腸菌数及び乳酸菌数について、図8及び図

9に示した。試験期間中、大腸菌数は $10^5 \sim 10^7$ CFU/g、また、乳酸菌数は、 $10^8 \sim 10^{10}$ CFU/g程度で推移した。乳酸菌発酵米給与による影響はみられなかった。

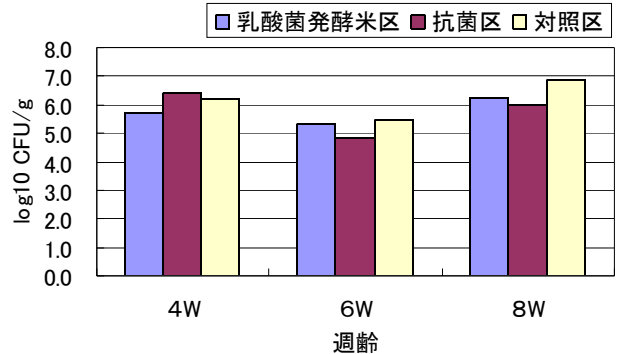


図8 ふん便中の大腸菌数

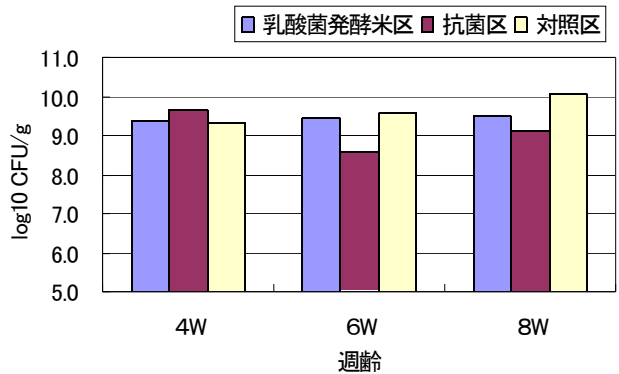


図9 ふん便中の乳酸菌数

4) 免疫能の比較

(1) リンパ球幼若化反応

6週齢、及び8週齢におけるリンパ球幼若化反応の結果を図10、及び図11に示した。抗菌区では、6週齢、及び8週齢ともに他の2区よりも活性が高かった。乳酸菌発酵米区、及び対照区においては、6週齢では活性が低下していたが、8週齢では6週齢時よりも活性は上昇する傾向にあった。活性は、対照区よりも、乳酸菌発酵米区でやや高くなる傾向がみられた。

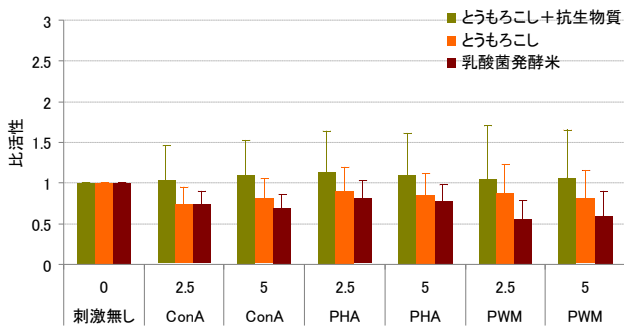


図10 6週齢におけるリンパ球幼若化反応

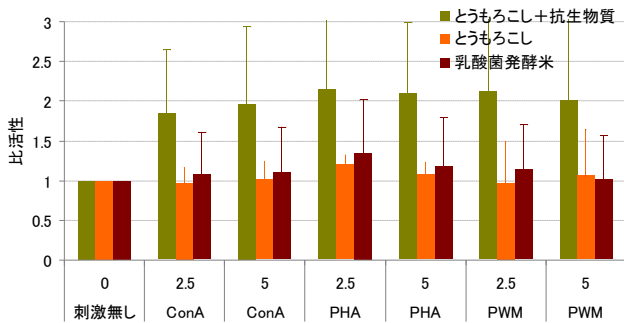


図11 8週齢におけるリンパ球幼若化反応

(2) SOD活性

SOD活性の測定結果を図12に示した。有意差はなかったが、抗菌区と対照区では活性が上がらなかったのに対し、乳酸菌発酵米区ではやや活性が高くなる傾向がみられた。

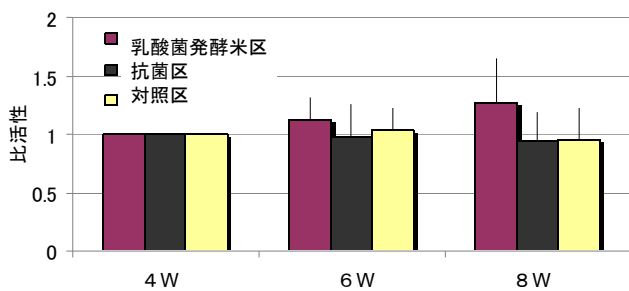


図12 SOD活性測定結果(3)

考 察

1) GABA生産量について

玄米サイレージ調整時に添加する乳酸菌の種類により、GABA生産量に差がみられ、R050添加区において最も高い生産量となり、GABAの生産効率が優れていたが、発行初期に若干のガスの発生がみ

られた。一方、畜草1号添加区においては、貯蔵開始から60日が経過してもほとんどガスの発生がみられなかった。

R050+畜草1号添加区では、畜草1号を単独で添加するよりもGABA生産量は多かったが、R050のみの添加区と比較すると、生産量は劣っていた。これは、畜草1号の方が増殖速度が速いために早期に優位となり、それによりR050の増殖を阻害したのではないかと推察される。

また、貯蔵日数を経てもGABA生産量に変化はなく、サイレージ調整後2ヶ月間は常温での保存に問題ないことが示唆された。

2) 乳酸菌発酵米の肥育豚への給与効果

肥育豚の発育および飼料効率については、トウモロコシ主体の飼料を給与するよりも、乳酸菌発酵米を添加したほうが良くなる傾向がみられた。

肉質については乳酸菌発酵米を給与した影響はみられなかったが、脂肪融点が高くなり、脂肪酸組成については、オレイン酸の割合が低くなる傾向がみられた。食味官能検査において有意差はなかったが、脂身の脂っこさについて乳酸菌発酵米区が対照区と比較してやや劣る評価であったのは、脂肪の性状による影響ではないかと推察される。

免疫力については、リンパ球幼若化反応におけるマイトジェン活性が乳酸菌発酵米区で高くなったことから、乳酸菌発酵米給与による何らかの効果があることが示唆された。これがGABAのストレス軽減作用によるものか、また別の要因によるものかは、今後更に検討すべき課題である。

3) 乳酸菌発酵米の離乳子豚への給与効果

試験4における乳酸菌発酵米の下痢抑制効果について、採取した新鮮便については図7に示した結果であったが、試験期間全体では、下痢が観察された。乳酸菌発酵米区及び抗菌区では散発した

程度であったが、対照区において、5週齢頃に全ての子豚で排便時の下痢、または尻の汚れが観察された。同じく給与飼料が無薬であった乳酸菌発酵米区では、下痢の発症は抗菌区と同程度であったことから、乳酸菌発酵米の給与により、一定の下痢抑制効果があったことが推察される。なお、ふん便性状の評価にあたっては、今回よりも回数を増やし、より正確に状態を把握する必要がある。

免疫力については、乳酸菌発酵米給与区において、マイトジェン活性及びSOD活性はやや上昇する傾向はあったが、肥育豚ほど明確な活性の上昇はみられなかった。これは、発育段階の差による、能動免疫能の差による⁵⁾ものと推察される。離乳子豚では、離乳後に免疫力が低下する^{5, 6)}、また、育成期の子豚では、群編成、及び、豚房移動により免疫力が下がり、群編成後19日経過しても編成前の状態まで戻っていないという報告がある^{5, 7)}。試験4において6週齢時(試験開始14日)に乳酸菌発酵米区及び対照区でマイトジェン活性が低下していることは、これらのことと一致する。また、8週齢は試験開始28日であり、試験開始時よりも免疫力が低下した後、回復する段階であるとする、マイトジェン活性があまり高くないことを説明できる。抗菌区のマイトジェン活性は、他の試験区と異なり、高くなった。抗生物質も「異物」であるため、リンパ球に対して刺激となった可能性が考えられる。リンパ球幼若化反応を評価法として利用するなら、試験設計には配慮が必要である。

乳酸菌発酵米給与による免疫力の向上は、離乳子豚では肥育豚のように有意差は認められなかったが、給与区では、下痢を抑制する傾向がみられた。また、肥育豚、及び離乳子豚ともに、乳酸菌発酵米給与による発育や飼料効率は良好であり、良質な飼料として期待できる。

謝 辞

本試験を実施するに当たり、乳酸菌発酵米の調整方法に関してご助言を賜りました(独)農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センターの三枝貴代氏、並びに、乳酸菌株をご提供頂き、また技術指導研修を快く受け入れて頂き当所研究員にご指導賜りました(独)国際農林水産業研究センターの蔡義民氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 田中治・大桃定洋. *Glassland Science* 41(1) 55-59. 1995.
- 2) 独立行政法人家畜改良センター編. 食肉の官能評価ガイドライン. 財団法人日本食肉消費総合センター. 2005.
- 3) 栗山欣弥ら. *日薬雑誌*. 94. 7-15. 1989.
- 4) 岡田忠司ら. *日本食品工学会誌*. Vol.47.No.8. 596-603. 2000
- 5) 出口栄三郎. *養豚界*. 4月号. 31-36. 2002.
- 6) F.Blecha, D.S.Pollman, D.A.Nichols. *J. Anim. Sci.* 56. 396-400.1983.
- 7) E. Deguchi, et al. *J.Vet.Med.Sci.* 60(2). 149-153. 1998.