

原著論文

肥育豚における守口漬残さの給与が血漿中のチオバルビツール酸反応物質値
及び糞便性状に及ぼす影響

鈴木雅大、川本隆之、田島茂行、内倉健造、相良鮎美、栗田隆之（愛知県農業総合試験場）

Suzuki, M., Kawamoto, T., Tajima, S., Uchikura, K., Sagara, A., Kurita, T. (2021).

Effects of feeding *Moriguchizuke* residue on plasma concentration of thiobarbituric
acid reactive substances and on fecal consistencies in growing-finishing pigs*Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.* 77, 7-12.

Abstract

The effects of *Moriguchizuke* residue as a feeding material on plasma thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) values, fecal pH, and fecal *Enterobacteriaceae* and *Lactobacilli* counts were investigated in growing-finishing pigs. Thirty-six crossbred pigs were assigned into three groups (12 pigs per group, each two gilts and barrows were kept in each pen) and fed *Moriguchizuke* residue at the levels of 0% (control group), 6% (6% group), and 12% (12% group), respectively. Differences were not significant among the groups in the plasma levels of TBARS, an indicator of lipid peroxidation. For fecal analyses, six pigs (one gilt and one barrow from each three pens) were randomly selected from each group. The fecal pH was significantly lower in the 12% group as compared with that in the control group ($P<0.05$). The number of fecal *Enterobacteriaceae* was numerically lower in the 12% group than the control ($P<0.1$) and 6% groups, whereas the number of fecal *Lactobacilli* was numerically higher in the 12% group than the control group ($P<0.1$). These findings suggest that feed supplementation of *Moriguchizuke* residue may prevent diarrhea possibly through improvement of composition and metabolism of gut microbiota.

Key words : Fattening pigs, *Moriguchizuke* residue, pH, The number of *Lactobacilli*, The number of *Enterobacteriaceae*

要約

本研究では、肥育豚に対する守口漬残さの給与が脂質過酸化の指標となる血漿中のチオバルビツール酸反応物質（TBARS）値ならびに糞便の pH 値、腸内細菌科細菌数及び乳酸菌数に及ぼす影響を調査した。供試豚として三元交雑種36頭を用い、雌・去勢雄各2頭の群飼とした。基礎飼料のみを給与する対照区、基礎飼料に守口漬残さをそれぞれ6%、12%添加した6%区、12%区を設定し、各区とも3群ずつ供試した。各群の平均体重が約55kgから約110kgに至るまでの間、各飼料を給与した。血漿中の TBARS 値は各区間に有意差はみられなかったものの、各群去勢雄と雌1頭ずつの合計各区6頭を無作為に調査した糞便検査では、pHが12%区において対照区に比べ有意に低下した（ $P<0.05$ ）こと、腸内細菌科細菌数が12%区において対照区及び6%区に比べ減少する傾向（ $P<0.1$ ）が認められたこと、乳酸菌数は12%区では対照区に比べ増加する傾向（ $P<0.1$ ）がみられたことから、守口漬残さの給与は、抗菌剤を含まない飼料においても、肥育豚の発育に影響を及ぼすことなく、腸内細菌環境の調整に寄与できる可能性が示唆された。

キーワード：肥育豚、守口漬残さ、pH、乳酸菌数、腸内細菌科細菌数

緒言

日本は飼料穀物の大部分を輸入しており、2018年における濃厚飼料の自給率は12%と低く、日本政府は2030年までに15%に引き上げる目標を設定している。飼料自給率を高めるための取組の一つとして、食品製造副産物等の利用促進が挙げられる。日本では2001年に食品リサイクル法が施行され、産業廃棄物として処

理されていた食品製造副産物の有効活用が推進されている。

これまでも食品製造副産物の飼料利用は多く報告されており、食品製造副産物に含まれるポリフェノールやカテキンなどによる抗酸化作用、 β グルカンなどによる免疫賦活化作用、発酵食品残さによる腸内細菌叢改善など、疾病予防効果についても多くの研究が行われている^{7,18)}。近年、抗菌剤の多用による薬剤耐性菌出現などが問題となり、日本では子豚期用飼料における成長促進目的での抗菌性飼料添加物の使用が制限されている。そのため、今後は抗菌剤に頼ることなく、下痢などの疾病を予防することが重要になると考えられる。また、地球温暖化が進行する現在では、夏季における暑熱が酸化ストレスを高め、家畜の生産性を低下させるが²⁰⁾、肥育豚及び繁殖豚への抗酸化物質の供給は、これらのストレスを緩和することが期待される。

守口漬は塩漬けにした守口大根を発酵食品である酒粕や味噌粕、砂糖などで漬け込みを行なって作られる愛知県の地域特産品であり、その製造過程では漬粕である守口漬残さが排出される。守口漬残さの主原料である酒粕には麹である酵母ならびにその代謝産物に加え、食物繊維などの難消化成分が含まれる。ラットにおいては、酒粕の投与により盲腸内容物の pH が低下し、腸内細菌代謝に影響を与えたことが示唆されている¹¹⁾。また、酒粕に含まれる食物繊維等の難消化性成分は、ヒトやラットにおいて腸内細菌代謝に影響を与え、整腸作用が報告されている^{4,10,21)}。また、守口漬残さの褐色は、酒粕の製造や保存過程でメイラード反応

によって産生されるメラノイジンに主に由来する¹⁵⁾。メラノイジンには抗酸化作用や食物繊維類似作用、腸内細菌叢における乳酸菌数の増加などの腸内環境改善効果が報告されている^{6,9)}。これらのことから、豚に対して守口漬残さを給与することで同様の効果が得られる可能性がある。

守口漬残さが養豚飼料として活用できることに加え、豚への給与によって腸内細菌環境の改善や抗酸化特性が認められれば、豚における下痢の予防や生産性低下の防止に貢献することが出来る。しかし、これまでに豚に守口漬残さを給与し、抗酸化特性や糞便の pH や細菌数について調査した報告はない。そこで本研究では、肥育豚に対する守口漬残さの給与が、酸化ストレスの指標である血漿中の TBARS 値及び糞便性状に及ぼす影響について調査した。

材料及び方法

本研究は愛知県農業総合試験場の動物実験委員会によって承認され、愛知県農業総合試験場動物実験等実施規程にしたがって実施した。

1. 飼料の設計と供試豚の取扱い

供試豚は三元交雑種（大ヨークシャー種 × ランドレース種 × デュロック種）36頭を用い、各群間で平均体重が均等になるように雌 2 頭及び去勢雄 2 頭計 4 頭を 1 群として群飼した。試験区分は守口漬残さを添加せず基礎飼料のみを給与する対照区、基礎飼料の 6 %、12 % を同残さで代替した 6 % 区、12 % 区の 3 区とし、

表 1 基礎飼料の配合設計及び化学成分値（%重量比）

	体重 55-70 kg	体重 70-110 kg
配合設計		
二種混*	69.40	70.54
ふすま	15.90	17.98
大豆粕	12.80	9.81
塩酸 L リジン	0.11	0.02
第三リン酸カルシウム	0.34	0.20
炭酸カルシウム	0.88	0.88
並塩	0.27	0.27
ブレミックス	0.30	0.30
化学成分値**		
水分 (%)	13.6	13.7
粗蛋白 (乾物%)	16.7	15.5
粗脂肪 (乾物%)	4.2	4.3
粗繊維 (乾物%)	3.9	4.0
粗灰分 (乾物%)	5.2	5.0
可溶無窒素物 (乾物%)	70.2	71.4

*二種混：とうもろこし 98 % + 魚粉(CP60 %) 2 %

**計算値を記載

各区それぞれ3群ずつを供試した。守口漬残さは保存性が良好であるため¹⁹⁾、必要な量を一括で購入し、試験期間中は約2か月間に渡って同一ロットの守口漬残さを用いた。基礎飼料は抗菌剤を含まない原料とし、日本標準飼料成分表(2009)¹⁾に記載されている栄養成分値を用いて設計し(表1)、可消化養分総量(TDN)及び粗蛋白などは、日本飼養標準・豚(2013)²⁾に記載された養分要求量を満たすように設計した。なお、養分要求量は体重50kg～70kgと70kg～110kgとで異なるため、それぞれの養分要求量に合わせて2種類の基礎飼料を用意した。試験は不断給餌のもと、各群の平均体重が約55kgとなった時点から肥育前期飼料の給与を開始し、約70kg時に肥育後期飼料に切り替え、約110kgに到達した時点で終了とし、日増体量、飼料摂取量、飼料要求率を測定した。

2. 基礎飼料及び守口漬残さにおける抗酸化活性の測定

基礎飼料及び守口漬残さにおける抗酸化活性の測定は、DPPHラジカル消去活性法⁸⁾により行った。すなわち、基礎飼料及び守口漬残さを80%エタノールで抽出して得られた検体0.2mlに、100mM Tris-HCl緩衝液(pH7.4)0.8ml、0.2mM DPPH-エタノール溶液1mlを混合し、暗所で30分間静置した後、517nmにおける吸光度を測定した。検体の代わりに80%エタノールを添加した場合の吸光度をコントロールとして、コントロールに対する検体添加時の吸光度の減少割合(消去率)を求め、50%の消去率を示す時の濃度をIC₅₀値とした。標準物質にはTroloxを用いて同様に吸光度を測定し、TroloxのIC₅₀値を各検体のIC₅₀値で除することで、各検体のTrolox等価活性(TEAC)を算出した。

3. 血漿中におけるTBARS値の測定

TBARSは酸化ストレスに応答して濃度が上昇する物質の総称であり、脂質ヒドロパーオキシドやアルデヒドなどが含まれる。血漿中におけるTBARS値は試験終了時に測定した。採血は供試豚の全頭から行い、血液はヘパリン処理した後、遠心分離(2000g×10分、4℃)し、得られた血漿を検体とした。TBARS値はOhkawaら¹³⁾及びJentzschら⁵⁾の方法により測定した。すなわち、血漿0.08mlに20%酢酸溶液(pH3.5)0.3ml、8.1%ドデシル硫酸ナトリウム溶液0.04ml、0.8%チオバルビツール酸溶液0.3ml、蒸留水0.08ml

を混合し、95℃で60分間加熱した。冷却後、n-ブタノール-ピリジン(15:1)混合液1ml、蒸留水0.2mlを加えて攪拌した。1600g、10分間遠心した後上層を回収し、535nmの吸光度から572nmの吸光度を差し引いた。なお、標準物質はテトラメトキシプロパンを用い、TBARS値はマロンジアルデヒド(MDA)当量として表した。

4. 糞便の細菌数、pH及び糞便性状スコア

糞便の性状を確認するため、試験期間中、毎週2回合計14回、朝の給餌時に豚房の床面にある糞便の性状を観察し、正常便を1、軟便を2、水様便を3として糞便性状のスコアを記録した。正常便と軟便といった異なる性状の糞便が混在した場合には、軟便のようにスコアの大きい方を記録した。糞便中のpH及び細菌数は、調査終了時に各豚房から無作為に選択した雌・去勢雄各1頭から採取した新鮮直腸糞便を用いて測定した。糞便中におけるpHの測定は、糞便を蒸留水で10倍希釈し、pHメーターを用いて測定した。糞便中における細菌数の測定は、糞便を滅菌蒸留水で希釈して10倍段階希釈液を調製し、腸内細菌科細菌数はDHL寒天培地、乳酸菌はLBS寒天培地を用いて糞便1g当たりの生菌数を測定した。

5. 統計処理

日増体量、血漿中のTBARS値、糞便中の細菌数及びpHは、飼料及び性を要因とした二元配置分散分析を行ったが、性の効果及び飼料と性の交互作用は有意ではなかったため、結果は飼料の効果のみを記載した。飼料摂取量及び飼料要求率、糞便性状スコアについては、4頭群飼で測定しており、個体のデータは得られなかったため、一元配置分散分析を行った。有意であったものについては多重比較検定を行った。得られた結果は、 $P < 0.05$ の時に有意な差が認められると判断し、 $P < 0.1$ の時に傾向があると判断した。

結果及び考察

1. 発育調査

発育調査結果を表2に示した。本研究では、守口漬残さの給与によって、日増体量、原物飼料摂取量、乾物飼料摂取量、飼料要求率は、各区間に差はみられなかった。しかし、日増体量は各区とも日本飼養標準・豚(2013)²⁾に記載された期待増体日量である1.0kgを超えており、発育は良好であった。

表2 守口漬残さの給与が肥育豚の発育に及ぼす影響

	対照区	6 % 区	12 % 区
日増体量 (g/日)	1137± 40	1065± 49	1069± 46
原物飼料摂取量 (kg/日)	3.82 ± 0.01	3.83 ± 0.06	3.92 ± 0.06
乾物飼料摂取量 (kg/日)	3.30 ± 0.01	3.20 ± 0.05	3.16 ± 0.05
乾物飼料要求率	2.91 ± 0.11	3.02 ± 0.16	2.96 ± 0.09

データは平均値±標準誤差で示した。(各区 n=3、日増体量のみ各区 n=12)

2. 飼料の抗酸化活性及び血漿中の TBARS 値

基礎飼料及び守口漬残さにおける DPPH ラジカル消去能を表3に示した。守口漬残さの TEAC は 2.25 µg Trolox eqv/mg であり、基礎飼料の TEAC (1.39及び1.38 µg Trolox eqv/mg) と比較して高く、守口漬残さには基礎飼料より高い抗酸化活性が認められた。本研究では守口漬残さの抗酸化活性を期待して、肥育豚に対する給与試験を行った。しかし、血漿中における TBARS 値の結果は表4に示したとおりで、対照区、6 %区及び12 %区の各区分に有意な差はみられなかった。この要因の1つとして、各区における供試飼料の TEAC の計算値は、対照区が1.39及び1.38 µg Trolox eqv/mg、6 %区が1.44 µg Trolox eqv/mg、12 %区が1.49 µg Trolox eqv/mg であり、DPPH ラジカル消去能から推定される抗酸化物質量は、各区分で大きな差はなかったためであると考えられる。また、守口漬残さの抗酸化活性はメラノイジン由来である可能性が考えられる。守口漬残さの原料である酒粕は、漬け込みの過程で褐色が増すが、味噌や炒めタマネギにおいては褐色度が高くなるほどメラノイジン含量は高くなり、メラノイジン含量と DPPH 消去活性との間には高い正の相関があることが報告されている^{16,17)}。本研究で測定した供試飼料の DPPH ラジカル消去能は、メラノイジン含量を反映していると考えられる。守口漬残さはロットにより褐色度が異なることから、ロット毎に異なる抗酸化活性を有する可能性がある。

今後は、褐色度と守口漬残さの抗酸化活性との関連性を明らかにし、褐色度に応じた添加量の検討を行う必要があると考える。また、本研究において我々は TBARS 値を酸化ストレスの指標としたが、これは多価不飽和脂肪酸由来の脂質過酸化のごく一側面を調査したのみである。脂質過酸化ではヘキサノイルリジン、4-HNE、イソプラスタン、酸化 LDL などのマーカーが報告されている。今後、豚の血中におけるこれらの抗酸化活性のマーカーについても多面的に測定する必要がある。

3. 糞便の細菌数、pH 及び糞便性状スコア

細菌数、pH 及び糞便性状スコアを表5に示した。糞便中の腸内細菌科細菌数は、12 %区 (5.8log10 CFU/g) では対照区 (6.6log10 CFU/g) 及び6 %区 (6.6log10 CFU/g) に比べ低い傾向がみられた ($P < 0.1$)。糞便中の乳酸菌数は、12 %区 (9.6log10 CFU/g) では対照区 (9.1log10 CFU/g) に比べ高い傾向がみられた ($P < 0.1$)。なお、著者らの既報において1か月保存した守口漬残さにおける一般生菌数は1gあたり420 CFU 程度と非常に少ないことを確認しており¹⁹⁾、今回の調査において認められた乳酸菌数の増加に守口漬残さに含まれる乳酸菌数が直接影響を及ぼした可能性は極めて低いと考える。糞便の pH は対照区 (6.6) と比較して、12 %区 (6.2) で有意に低下した ($P < 0.05$)。糞便性状スコアは各区分に差はみられなかつ

表3 基礎飼料及び守口漬残さの DPPH ラジカル消去活性

	基礎飼料 体重 55-70 kg	基礎飼料 体重 70-110 kg	守口漬残さ
TEAC (µg Trolox eqv / mg)	1.39	1.38	2.25

TEAC は原物中の値で示した。

表4 守口漬残さの給与が肥育豚の血漿中TBARS値に及ぼす影響

	対照区	6 % 区	12 % 区
TBARS 値 (nmol MDA/ml)	2.4 ± 0.1	2.3 ± 0.1	2.5 ± 0.1

データは平均値±標準誤差で示した。(各区 n=12)

表5 守口漬残さの給与が肥育豚の糞便性状に及ぼす影響

	対照区	6 % 区	12 % 区
腸内細菌科細菌数 (log CFU/g)	6.6 ± 0.3	6.6 ± 0.3	5.8 ± 0.2 [†]
乳酸菌数 (log CFU/g)	9.1 ± 0.1	9.4 ± 0.2	9.6 ± 0.2 [§]
pH	6.6 ± 0.1 ^a	6.5 ± 0.1 ^{ab}	6.2 ± 0.1 ^b
糞便性状スコア	1.1 ± 0.03	1.0 ± 0.00	1.1 ± 0.03

データは平均値±標準誤差で示した。(各区 n=6)

ab : 異なる文字間に有意差あり ($P<0.05$)

† : 対照区及び 6 % 区との間に傾向あり ($P<0.1$)

§ : 対照区との間に傾向あり ($P<0.1$)

た。

守口漬残さの主原料である酒粕や味噌粕は発酵食品粕であり、ラットにおいては、酒粕の投与により盲腸内容物の pH が低下し、腸内細菌代謝に影響を与えたことが示唆されている¹¹⁾。また、動物実験やヒトにおいて、酒粕に含まれる食物繊維などの難消化成分やメラノイジンの摂取は、回腸または盲腸における乳酸菌数を増加させることが報告されている^{9,11,21)}。食物繊維等の難消化成分は、ビフィズス菌や乳酸菌などに資化され、増殖と代謝を活性化するとされている¹⁰⁾。五明らはラットに投与したメラノイジンが小腸粘膜に吸着したことを確認し、乳酸菌が棲息する腸粘膜の状態を変化させることを報告している³⁾。本研究においても守口漬残さに含まれるメラノイジンが乳酸菌の増殖しやすい腸粘膜環境を作るとともに、食物繊維などの難消化成分が乳酸菌による代謝の基質となり増殖を促進した可能性が考えられる。これらの要因が守口漬残さ12 % 区の豚糞便中における乳酸菌数の増加に寄与したと考えられた。

糞便の pH は腸内細菌叢の影響を受け、乳酸菌などの増加により揮発性脂肪酸の生産量が増え、糞便の pH が低下すると考えられている¹²⁾。また、糞便における腸内細菌科細菌数の減少は、pH の低下¹⁴⁾や増加した乳酸菌との競合が関与すると考えられている。本研究においては、糞便中の揮発性脂肪酸の濃度は測定していないが、12 % 区では対照区に比べ、糞便中における乳酸菌の増加傾向と pH の有意な低下がみられており、腸内細菌科細菌数の減少傾向に影響したと考えられた。本研究の期間中、各区とも下痢はほとんど認められず、発育についても日増体量が1 kg/日を超えており非常に良好な状態であった。今後、供試頭数を増やすなどし、守口漬残さ給与による整腸作用についてより詳細に検討する必要がある。

本研究の結果から、肥育豚に対して体重約55 kg から

110 kg まで、守口漬残さを12 % 配合した飼料を給与することは、肥育豚の発育や血漿中の TBARS 値には影響を及ぼさなかったが、糞便中における乳酸菌数の増加と腸内細菌科細菌数の減少、糞便の pH を低下させる可能性が示唆された。守口漬残さの給与は、抗菌剤を含まない飼料においても、肥育豚の発育に影響を及ぼすことなく、腸内細菌環境の調整に寄与できる可能性が示唆された。

すべての著者は開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 (2009) 日本標準飼料成分表2009年版, p1-304, 中央畜産会, 東京.
- 2) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 (2013) 日本飼養標準豚2013年版, p10-19, 中央畜産会, 東京.
- 3) 五明紀春ら (1983) メラノイジンの食品栄養学的研究. 日栄・食糧会誌, 36 : 331-340.
- 4) 後藤浄子 (2008) 甜菜青汁粉末に含まれる食物繊維によるラット盲腸内発酵促進作用. 日本未病システム学会雑誌, 14 : 155-161.
- 5) Jentzsch AM, et al. (1996) Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. Free Radic Biol Med, 20 : 251-256.
- 6) 加藤博通 (1991) メイラード反応生成物の安全性と食品機能. 澱粉化学, 38 : 109-114.
- 7) Konstantinos G, et al. (2015) Feed supplemented with polyphenolic by product from olive mill wastewater processing improves the redox status in blood and tissues of piglets. Food Chem Toxicol, 86: 319-327.
- 8) 松藤 寛ら (2011) ゴマ若葉に含まれるポリフェノール成分のラジカル消去活性. 日食工会誌,

- 58 : 88-96.
- 9) 三浦理代 (2016) 食品の生理機能に関する研究—メラノイジンと野菜を中心として—. 女子栄養大学紀要, 47 : 7-23.
 - 10) 森下芳行 (2000) 消化管におけるプロバイオティクス・プレバイオティクスの機能. 腸内細菌学雑誌, 13 : 53-66.
 - 11) 持田和美ら (2000) ラットのコレステロール代謝改善効果を有する酒粕粉末の調製. 日食工会誌, 47 : 78-84.
 - 12) Ohashi Y, et al. (2001) *Lactobacillus casei* strain Shirota-fermented milk stimulates indigenous *Lactobacilli* in the pig intestine. J Nutr Sci Vitaminol, 47: 172-176.
 - 13) Ohkawa H, et al. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analyt Bioc, 95: 351-358.
 - 14) Ravindran V, et al. (1993) Acidification of weaner pig diets: a review. J Sci Food Agric, 62: 313-322.
 - 15) 佐藤 信 (1969) 醸造用活性炭と清酒の色. 日本醸造協会誌, 64 : 939-945.
 - 16) 下橋淳子ら (2008) 味噌の色調と抗酸化性との関係. 日本食生活学会誌, 19 : 247-250.
 - 17) 下橋淳子 (2013) アミノカルボニル反応により褐変化したタマネギの抗酸化性について. 駒沢女子大学研究紀要, 20 : 191-195.
 - 18) 鈴木啓一ら (2009) 海藻, β グルカン, 酵母の飼料添加給与が育成豚の発育, 免疫能に及ぼす影響. 日畜会報, 80 : 27-34.
 - 19) 鈴木雅大ら (2017) 肥育豚に対する守口漬残さの給与が豚の嗜好性及び水分出納に及ぼす影響. 愛知県農総試研報, 49 : 139-142.
 - 20) Takahashi M, (2011) Heat stress on reproductive function and fertility in mammals. Reproduct Med Biol, 11: 37-47.
 - 21) 渡辺敏郎 (2012) 健康と美容に貢献する「酒粕」の成分. 日本醸造協会誌, 107 : 282-291.