

## 健康で安全な鶏肉の生産技術の開発

金谷健史・森 尚之・橋田明彦・藤原裕士\*・疇地勅和

### Effect of *Ec. faecium* as a substitution for antibiotics on Broiler chicken growth

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

#### 要 約

養鶏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 乳酸菌および有機酸の添加により生体重や代謝産物、産肉成績に有意な差はみられなかったが、飼料要求率は乳酸菌や有機酸の添加により改善する傾向がみられた。
- 2 乳酸菌の添加により腹腔内脂肪量の増加と、肉色における黄味が増加することが示唆された。また、有機酸は肉色の赤味を増加させることが示唆された。

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

#### 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始めている。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。この動きの中にあって、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。

抗菌物質の代替資材には既に様々な資材が検討されており、植物抽出物や食品副資材の発酵産物など一定の効果を上げているものもある<sup>1)</sup>。そもそも抗菌物質による成長促進効果は、腸内の有害細菌をコントロールすることによる作用であるため、その代替として現在注目されているのは、同じく腸内環境を改善する効果をもった資材である。これには難消化性成分や酵母、枯草菌、乳酸菌などが挙げられるが、中でも乳酸菌は生体の免疫力を賦活化させることが報告されており<sup>2)</sup>、近年特に注目を集めている素材である。

そこで、今回は本県において代用乳に添加することにより子牛の下痢を低減させた<sup>3)</sup>乳酸菌の一つ *Enterococcus faecium* (以後 *Ec. faecium*) をプロバイオティクス資材として選択した。*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食品加工分野においても広く利用されている<sup>4)</sup>。

また、同時に腸内で乳酸菌の生育を促進させる効

果を持ったプレバイオティクス資材として、有機酸を添加した。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<sup>5)</sup>、カンピロバクターの増殖抑制効果等が報告されている<sup>6)</sup>。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る場合における鶏の生育、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示す素材を検討した。

#### 材料及び方法

##### 1 試験区の設定

市販の養鶏用無薬飼料に飼料添加物として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)。

資材の添加量は以下の通り。

|       |  |
|-------|--|
| 乳 酸 菌 | ： 5 × 10 <sup>9</sup> 個 / 飼料kg<br>パルテック 乾燥粉体 |
| 有 機 酸 | ： 0.3 % (weight/weight)<br>ナカライテスク 特級試薬      |
| 抗菌物質  | ： 20 g 力価 / t<br>「硫酸コリスチン2%可溶散明治」            |

表1 試験区

| 試験区 | - : 無添加 |     |     |
|-----|---------|-----|-----|
|     | 乳酸菌     | 有機酸 | 抗菌剤 |
| 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  | -       | -   | -   |

## 2 試験期間

平成17年9月～平成18年1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

チャンキーブロイラー初生雛雌を120羽用い、1試験区15羽×8区とした。  
ウインドウレス鶏舎において飼育面積を各区0.74m<sup>2</sup> (86cm×86cm) で平飼いとし、不断給餌、自由飲水とした。

## 4 試験方法

## (1) 体重および飼料摂取量

毎週1回、個体ごとに生体重を測定した。また、飼料摂取量も毎週1回、試験区ごとに測定した。

## (2) と鳥検査および採材

49日齢で採血および生体重の測定を行った後、と鳥・解体し、産肉重量の調査および肉質分析を行った。

血液サンプルはと鳥前に翼下静脈より採取し、血清を分離後、分析まで-80℃で保存した。解体に際し、食鶏取引規格に準じ産肉量を測定した。

表2 生体重の推移

|     | 1区      | 2区       | 3区      | 4区      | 5区      | 6区      | 7区      | 8区      |
|-----|---------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 0週齢 | 41±1    | 41±1     | 40±1    | 41±1    | 41±1    | 42±1    | 42±1    | 41±1    |
| 1 " | 130±3   | 130±3    | 130±3   | 128±3   | 131±4   | 133±2   | 127±3   | 128±3   |
| 2 " | 324±13  | 326±11   | 329±12  | 332±9   | 329±8   | 341±9   | 318±11  | 341±11  |
| 3 " | 642±21  | 609±25   | 623±21  | 617±17  | 647±18  | 630±17  | 589±26  | 613±21  |
| 4 " | 992±33  | 965±41   | 956±33  | 982±31  | 992±29  | 974±22  | 937±40  | 950±30  |
| 5 " | 1537±56 | 1477±76  | 1422±50 | 1505±53 | 1499±46 | 1515±33 | 1381±64 | 1549±52 |
| 6 " | 2028±71 | 1963±88  | 1922±67 | 1985±75 | 1996±55 | 1987±41 | 1893±74 | 2054±59 |
| 7 " | 2509±78 | 2384±102 | 2343±77 | 2373±95 | 2448±64 | 2474±38 | 2297±88 | 2507±69 |

means±SD

## (3) 分析項目

血清中の生化学成分として、グルコース (GLU)、中性脂肪 (TG)、総コレステロール (CHO) および尿酸 (UA) を測定した。また、ストレスの指標として脂質酸化度 (2-チオバロビツル酸反応物質: 以下TBARS) をYagiら<sup>7)</sup>の方法によりリンタンゲ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)。

解体直後に採材した浅胸筋の肉色を測色計により測定した。ナイロン製の袋に筋肉を入れ以下の条件で測定した。

- ・分光タイプ (MINOLTA CM-2600d)
- ・d/8 (S C E)
- ・D 6 5 光源
- ・1 0° 視野
- ・ハンターLab

## 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 発育成績

各試験区の週間平均生体重を表2に示した。試験期間中における生体重は3週齢以降から一定の傾向が見られ、2区、3区、7区が低く、1区、5区、6区、8区が高く推移していた。全期間において試験区間に有意差は認めないものの、1区が最も良く、7区が最も悪い結果となった。

飼料要求率を表2に示した。7区が最も値が高く効率が悪く、1区が最も値が低く効率が良い結果となった。1区に次ぎ5区、2区、6区と値が低くなっていた。

|       | 1区   | 2区   | 3区   | 4区   | 5区   | 6区   | 7区   | 8区   |
|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 飼料要求率 | 1.93 | 1.97 | 1.99 | 2.02 | 1.96 | 1.98 | 2.13 | 2.10 |

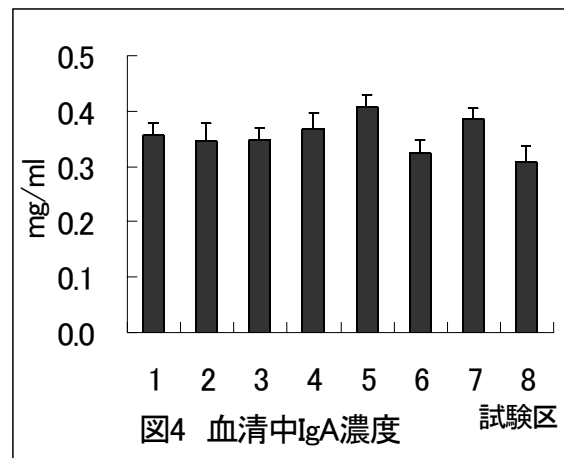
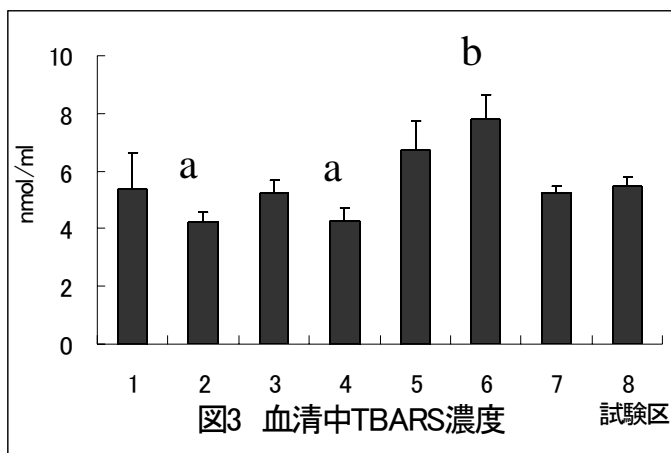
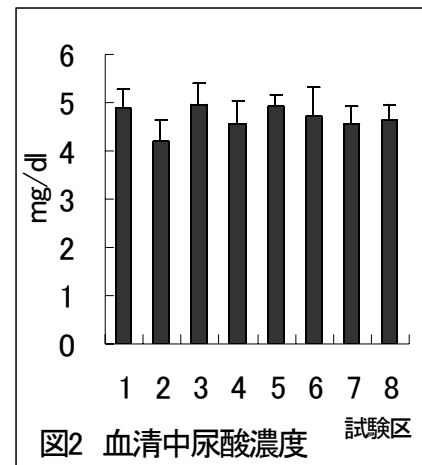
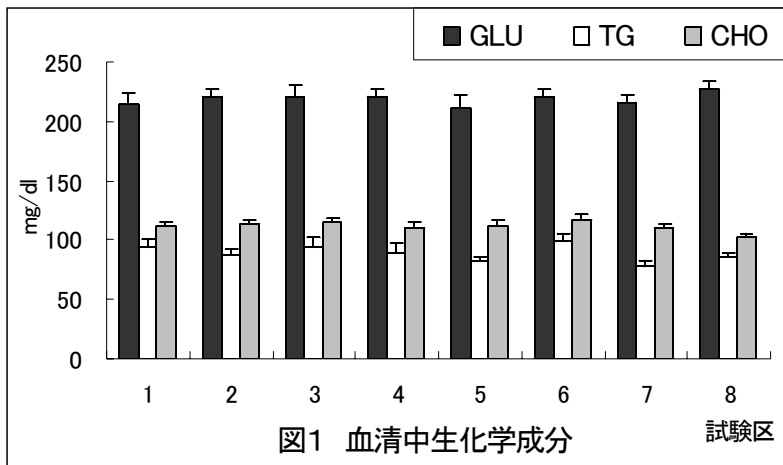
2 血液検査成績

と鳥前における血清中生化学成分の結果を図1～4に示した。GLU、TG、CHO、UAは試験区間で有意な差は検出されなかったが、GLUは5区が低く8区で高く、TGは7区が低く1区で高く、CHOは8区が低く6区で高く、UAは2

区で低く3区で高くなっていた。

TBARSは2区並びに4区と比較して、6区が有意に上昇した。

IgAは5区で高く、8区が低い値となったが、区間に有意差は検出されなかった。



3 産肉成績

と鳥時における産肉重量の結果を表4に示した。測定した項目において試験区間で重量の差は認めなかったが、可食部位であるむね肉・もも肉・ささみの重量合計である生肉三品重量は6区が最も高く、7区が最も低かった。生肉歩留まりは3区、6区、5区順に良く、中抜きと体重の数値を反映した値であった。また、不可食部位である腹腔内脂肪量は生肉三品重量の高かった6区が最も多く、3区が最も少なかった。

また、浅胸筋における肉色の測定結果を表5に示した。L値が大きければ明るいことを表し、a値が正で大きければ赤味を、負で大きければ緑味を表し、b値が正で大きければ黄味を、負で大きければ青味を表している。平均値においては試験区間で差がないものの、a値において有機酸により赤味が増す交互作用が、b値において乳酸菌により黄味が増し、抗菌物質により黄味が減退し青味が増す交互作用が検出された。

表4 産肉成績

|         | 1区         | 2区         | 3区         | 4区         | 5区         | 6区         | 7区         | 8区         |
|---------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| と鳥前体重g  | 2443±82    | 2277±100   | 2216±78    | 2249±93    | 2338±58    | 2361±40    | 2185±82    | 2381±69    |
| 中抜きと体重g | 1811±64    | 1726±83    | 1680±62    | 1720±81    | 1781±50    | 1806±32    | 1654±64    | 1828±55    |
| むね肉g    | 400.8±20.1 | 387.0±23.1 | 385.8±21.3 | 387.6±23.4 | 409.7±18.0 | 410.5±13.7 | 352.3±21.9 | 402.4±11.4 |
| もも肉g    | 436.0±18.6 | 434.5±20.6 | 423.6±14.8 | 420.9±25.4 | 436.8±11.5 | 456.4±7.2  | 423.1±17.0 | 449.2±13.8 |
| ささみg    | 89.2±5.0   | 83.4±5.1   | 83.4±3.8   | 86.8±4.7   | 88.1±4.4   | 86.6±2.6   | 78.8±4.9   | 86.5±3.2   |
| 生肉三品重量g | 926.0±41.2 | 904.9±47.1 | 892.8±38.3 | 895.3±51.0 | 934.6±29.0 | 953.6±20.7 | 854.3±36.2 | 938.2±24.8 |
| 心臓g     | 12.0±0.6   | 10.3±0.4   | 11.2±0.9   | 11.3±0.5   | 12.1±0.6   | 11.5±0.4   | 10.9±0.4   | 11.5±0.5   |
| 肝臓g     | 47.6±2.0   | 47.6±2.2   | 45.2±1.7   | 44.1±1.4   | 46.3±1.8   | 45.7±0.9   | 42.8±1.6   | 46.8±1.8   |
| 砂肝g     | 33.3±1.4   | 31.4±0.8   | 32.2±1.2   | 29.9±1.2   | 31.3±1.0   | 32.7±0.8   | 29.1±1.3   | 33.0±0.9   |
| 腹腔内脂肪g  | 52.4±3.7   | 55.0±5.2   | 44.6±3.7   | 48.1±4.4   | 47.6±1.9   | 60.0±4.2   | 47.3±6.0   | 54.2±4.8   |

means±SD

表5 肉色成績

|     | 1区    | 2区    | 3区    | 4区    | 5区    | 6区    | 7区    | 8区    |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 明度L | 43.66 | 45.74 | 43.32 | 45.89 | 45.90 | 45.10 | 37.49 | 46.42 |
| 赤味a | 0.25  | -0.09 | 0.32  | -0.31 | 0.05  | -0.30 | -0.25 | -0.25 |
| 黄味b | 3.82  | 4.31  | 3.22  | 3.14  | 4.24  | 3.75  | 3.16  | 3.71  |

## 考察

### 1 発育成績

市販の飼料モデルとして、抗菌剤を添加した4区、有機酸と抗菌剤を添加した7区を対照とみることができるが、これらと比較すると、乳酸菌・有機酸・抗菌物質すべてを添加した1区、および乳酸菌・有機酸の5区、乳酸菌・抗菌剤の6区、無薬の8区が良好な生育を示した。無薬の8区が他の試験区と同程度の良好な生育を示しており、資材の効果が検出しにくい結果となった。

消化管への作用を期待した3つの資材を飼料要求率について8区と比較すると、1区から順にパーセンテージで-8, -6, -5, -4, -7, -6, +1ポイントの差があり、生育結果と同様の傾向を示した。よって、乳酸菌を単味もしくは組み合わせて添加することにより生産性が改善すると考えられた。

### 2 血液検査成績

GLU、TG、CHO、UAにおいては資材による影響は見られなかった。無菌動物に乳酸菌の単菌摂取を行った場合、実験室レベルでは乳酸菌種にもよるが血中CHO濃度が低下した例が報告されている<sup>8)</sup>。しかし、通常の腸内細菌叢を保持していると考えられる本試験ではCHO低下は観察されなかった。また、有機酸は腸内を酸性にすることでプレバイオティクス効果を発揮するといわれているが、短鎖脂肪酸としての栄養素

でもあり、TG・CHO濃度が変動することが予想されたが、今回影響はみられなかった。

生体へのストレスは恒常的に発生する活性酸素・フリーラジカルの分解率を低下させ、結果強い酸化作用により組織や細胞を損傷する。中でも血中の脂質は最も酸化されやすく、一番にストレスの影響を受けるといわれている<sup>9)</sup>。今回の試験におけるTBARS濃度は、乳酸菌並びに抗菌物質を単味で添加するよりも、混合することにより上昇しており、生体への負荷が増加することが示唆された。今後肉質への影響など検討の余地があると考えられる。

IgAは主に粘膜に分布する免疫グロブリンであり、血中では単量体で存在しているのに対し、腸管粘膜で分泌されているのは2量体である。両者の濃度/分泌量には相関があると考えられており、今回は血清中のみの測定を行った。試験区間で差はないものの、5区が高い傾向を示し、粘膜における免疫賦活化が期待された。抗菌物質ではこのような抗体の産生量増加はみられないが、乳酸菌においては菌体タンパクを介したIgAの分泌促進が知られている。

### 3 産肉成績

可食部位である正肉三品、不可食部位である腹腔内脂肪の重量は発育成績とリンクした結果であった。一方で、可食部位と不可食部位との割合を算出すると、1区から順に5.7%, 6.1%, 5.0%, 5.4%, 5.1%, 6.3%, 5.5%, 5.8%となった。つまり、乳酸菌および抗菌物質により不可食割合が増加し、有

機酸により低下する傾向を示した。血液検査成績において有機酸は血中脂質濃度に作用しなかったが、脂肪蓄積においては低減効果が期待された。脂肪の炭素長で分類した場合に、長鎖脂肪酸に比べ中鎖脂肪酸は代謝効率が良く脂肪蓄積しにくいという報告がある<sup>10)</sup>。これは炭素長が短い方が易分解性でエネルギー代謝されやすく、また肝臓における脂質代謝を高進することに起因するといわれている。粉体である短鎖脂肪酸は液体である長鎖/中鎖脂肪酸と比較されにくい、同様の原理を当てはめると短鎖脂肪酸により脂肪蓄積の低減効果が期待されるのではないかと考えられた。

肉色を変化させる要因としては、筋肉中ミオグロビンのタイプ(還元型/酸化型)や濃度、筋繊維・筋繊維束間脂肪の割合といわれている<sup>11)</sup>。本試験における分析では添加資材が筋肉中に移行し、肉色の変化をもたらしたと言及することはできないが、肉色は消費者の購買行動を左右すると考えられ、赤味を増加させる作用を示した有機酸は有効な呈色資材となるとことが示唆された。

以上のことから、乳酸菌を主体として市販飼料と比較した場合、飼料要求率の改善、不可食割合の増加、肉色の変化などが観察されたが、デメリットとして現れた効果については有機酸との併用により改善される傾向が示された。このことから、*Ec. faecium*はプロピオン酸ナトリウムと組み合わせることで、抗菌物質と代替可能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に深謝いたします。

### 引用文献

- 1) 荒金知宏、佐野通、松馬定子、森尚之、奥田宏健(2004)：地域食品製造副産物を利用した高機能畜産物の生産技術の開発. 岡山県総合畜産センター研究報告, 15, 17-21
- 2) Erika Isolauri, Wrllda Sutas, Pasi Kankaanpaa, Heikki arvilommi, and Seppo Salminen: Probiotics: effects on immunity. Am J Clin Nutr 2001;73:444S-50S
- 3) 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
- 4) 乳酸菌研究集談会(2003)：乳酸菌の科学と技術
- 5) F. Van Immerseel, J. De Buck, F. boyen, L. bohez, F. pasmans, J. Volf, M. Sevcik, I. Rychik, F. Haesebrouck, and R. Ducatelle: Medium-Chain Fatty Acid Decrease Colonization and Invasion through *hila* Suppression Shortly after Infection of Chickens with *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis. Appl Environ Microbiol. 2004;70(6):3582-3587
- 6) P. Chaveerach, D. A. Keuzenkamp, L. J. A. Lipman, and F. Van Knapen: Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological cell changes. Poult Sci 2004;83(3):330-4
- 7) 金田尚志、植田伸夫編集(1987)：過酸化脂質実験法
- 8) 光岡知足編(1983)：腸内フローラと栄養
- 9) 二木鋭雄・野口範子・内田浩二編(2005)：酸化ストレスマーカー
- 10) Marie-Pierre, St-Onge and Peter J. H. Jones: Physiological Effects of Medium-Chain Triglycerides: Potential Agents in the Prevention of Obesity; J. Nutr. 2002;132:329-332
- 11) (財)日本食肉消費総合センター(2005)：食肉の官能評価ガイドライン