

オリーブ飼料添加が肥育豚の糞便臭気および細菌性状に及ぼす影響 (II)

豊嶋 愛・萱原由美

Effect of olive feed on odor and bacterial properties in feces of fattening pigs II

Megumi TOYOSHIMA, Yumi KAYAHARA

要 約

当场では、オリーブ豚・オリーブ夢豚に新たな付加価値を与えるため、発育・肉質・糞便の臭気および細菌性状などを対象とした試験を実施している。オリーブ飼料を10%で18日間給与後、15%で11日間給与したところ、オリーブ区で糞便臭気中の硫化水素濃度が顕著に低かった。細菌検査では、対照区 DHL 寒天培地でのみ黒色コロニーが認められ、オリーブ区では乳酸菌群数の増加傾向がみられた ($p=0.058$)。血液検査では、オリーブ区の中性脂肪、総コレステロールおよび HDL 値が有意に高く ($p<0.05$)、オリーブ飼料中のオレイン酸による作用などが考えられた。2019年度に実施した10%オリーブ飼料給与試験との比較では、糞便臭気中の硫化水素濃度が低い点が一致した。

結 言

香川県のブランド畜産物であるオリーブ三畜(オリーブ豚・オリーブ夢豚、オリーブ牛、オリーブ地鶏)には、オリーブ飼料¹⁾(オリーブオイル搾油後の搾り果実を加工したもの)が給与されている²⁾。

オリーブ飼料には有効成分として、オレイン酸やオレウロペインなどが含まれている。オレイン酸は、一部の乳酸菌の発育に必須の物質で³⁾、血中コレステロールへの作用が示されている^{4,5)}。ポリフェノールであるオレウロペインは、抗酸化作用、抗炎症作用に加え、抗菌・抗ウイルス作用などが知られている⁶⁾。

当场では2019年度に、肥育後期豚へ10%オリーブ飼料を38日間給与し、その糞便臭気において、対照区と比較して、硫化水素濃度が低い結果を得ている⁷⁾。今回、オリーブ飼料添加が肥育豚の糞便臭気および細菌性状に及ぼす影響をさらに明らかにするため、試験を実施した(香川県畜産試験場動物実験委員会承認番号R1-1)。

材料および方法

1. 供試飼料

オリーブ区: 肉豚肥育用配合飼料(TDN78%以上、CP15%以上)90%+オリーブ飼料10%(18日間)後、
肉豚肥育用配合飼料85%+オリーブ飼料15%(11日間)

対照区 : 肉豚肥育用配合飼料100%(29日間)

※ オリーブ飼料: 製造所 NPO 法人法美匠

飼料ロット No.R-1-374

製造日 2020年2月11日(購入後使用まで15°Cに保管)

成分 粗タンパク6.2%、粗脂肪18.5%、粗繊維21.3%、粗灰分3.5%

なお、試験開始時までは両試験区ともに種豚飼育用配合飼料(TDN74.0%以上、CP15.5%以上)を給与した。

オリーブ飼料添加が肥育豚の糞便臭気および細菌性状に及ぼす影響 (II)

2. 供試豚、試験区分および給与期間

1) 供試豚

当場で生産した LWD 種 (2020/3/15 生まれ) 6 頭で、群飼、不断給餌および自由飲水とした。

2) 試験区分

各試験区分の体重の平均および標準偏差が均一となるよう、以下 2 群に区分した。

オリーブ区: 3 頭 (雌 1 頭、去勢雄 2 頭)

対照区 : 3 頭 (雌 2 頭、去勢雄 1 頭)

3) 給与期間

29 日間 (2020 年 9 月 23 日～2020 年 10 月 21 日)

3. 検査項目および方法

1) オリーブ飼料中のオレイン酸およびオレウロペインの定量

オレイン酸は GC-FID、オレウロペインは HPLC-MS/MS で定量した (株式会社マシスに委託)。

2) 発育および枝肉検査

体重は、給与開始時 (1 日目)、開始 15 日目、終了時 (29 日目・出荷時) に測定した。P2 点における背脂肪厚 (以下、P2 点背脂肪厚) は、デジタル豚背脂肪厚計 (富士平工業株式会社) により、給与開始時および終了時に測定した。P2 点背脂肪厚は、豚の体脂肪量との相関が高い部位で、豚の最後肋骨位の正中線から左右に 6 cm の場所である。出荷後、残餌を計量し、飼料摂取量および飼料要求率を算出した。枝肉調査は、午前に屠畜した枝肉を同日午後実施した。

3) 血液生化学検査

給与開始時および終了時に採血し、血液生化学検査を行った。(株式会社福山臨床検査センターに委託)。

4) 臭気検査

給与開始時および終了時に、個体ごとに直腸便を採取した。3 頭分を均等にプールした糞便 200 g を 1 トレーとし、各区 3 トレーずつ調整した。臭気の測定には、ガステック検知管 (硫化水素 4L、メチルメルカプタン 71、酢酸 81L、アンモニア 3L) を用いた。その他の手順は、2019 年度試験時の方法と同様である。

5) 細菌検査

給与開始時および終了時に、個体ごとに直腸便を採取した。糞便 1 g を段階希釈し、大腸菌数として DHL 寒天培地 (wako) および XM-G 培地 (ニッスイ) に $10^2 \sim 10^6$ 希釈液を、乳酸菌群数として変法 LBS 寒天培地 (LBS 寒天培地に酢酸を添加) (wako) に $10^6 \sim 10^9$ 希釈液を用いた。37°C で 24 時間 (DHL および XM-G) もしくは 48 時間 (変法 LBS) 培養後、コロニー数をカウントした。

6) 統計処理

t 検定を実施し、有意水準は 5% とした。

成 績

1. オリーブ飼料中のオレイン酸およびオレウロペインの定量

オリーブ飼料中に、オレイン酸は 8.53 g/100g、オレウロペインは 1.9 mg/100g 含まれていた (表 1)。

表1 オリーブ飼料分析

オレイン酸	8.53 g/100g
オレウロペイン	1.9 mg/100g

オリーブ飼料添加が肥育豚の糞便臭気および細菌性状に及ぼす影響 (II)

2. 発育成績および枝肉成績

開始時から終了時まで、オリーブ区は 28.5 kg、対照区は 27.8 kg 増加した(図 1)。両区間で、増体に有意差はなかった。また、オリーブ区において、対照区と比べて一日平均増体重は高かったが、飼料摂取量および飼料要求率は低かった (表 2)。

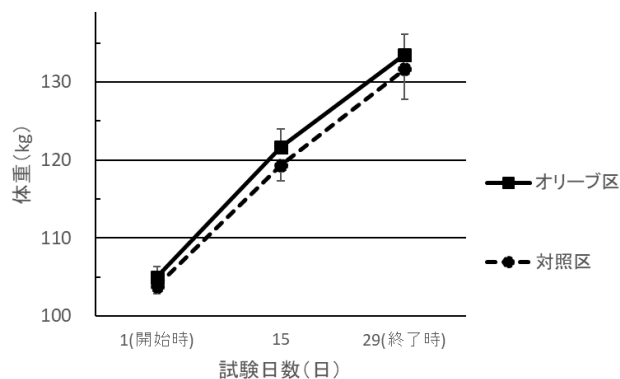


図 1 発育成績 (平均体重)

n=3/区. エラーバー: 標準誤差

表2 発育成績

		オリーブ区	対照区
一日平均増体重	kg/日・頭	0.98 ± 0.1	0.96 ± 0.1
飼料摂取量	kg/日・頭	3.78	3.91
飼料要求率		3.84	4.07

平均値±標準誤差. n=3/区.

給与開始時および終了時の P2 点背脂肪厚について、両区間で有意差はなかった (表 3)。

表3 P2点背脂肪厚

	開始時	終了時	終了時/開始時
	mm	mm	
オリーブ区	26.0 ± 5.3	35.0 ± 4.0	1.4 ± 0.2
対照区	22.7 ± 2.0	27.3 ± 1.3	1.2 ± 0.2

平均値±標準誤差. n=3/区.

枝肉成績について、両区間で有意差は認められなかった (表 4)。

表4 枝肉成績

		オリーブ区	対照区
と体長	cm	100.2 ± 0.4	103.0 ± 1.7
背腰長 I	cm	81.2 ± 1.5	85.3 ± 1.2
背腰長 II	cm	74.0 ± 3.1	79.0 ± 1.2
と体幅	cm	36.5 ± 0.5	35.3 ± 1.0
背脂肪 肩	cm	4.8 ± 0.1	4.3 ± 0.4
背脂肪 背	cm	2.6 ± 0.4	2.3 ± 0.2
背脂肪 腰	cm	3.5 ± 0.2	3.4 ± 0.1
枝肉重量	kg	86.7 ± 1.9	85.4 ± 0.7
格付		2.3 ± 0.3	2.0 ± 0.0

平均値±標準誤差. n=3/区. 格付: 上=1, 中=2, 並=3

オリーブ飼料添加が肥育豚の糞便臭気および細菌性状に及ぼす影響 (II)

3. 血液生化学検査

終了時のオリーブ区において、中性脂肪、総コレステロールおよび HDL 値が、対照区と比べて有意に高かった ($p < 0.05$) (表 5)。

表5 血液生化学性状

		開始時		終了時	
		オリーブ区	対照区	オリーブ区	対照区
総蛋白	g/dL	6.5 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.7 ± 0.1	6.6 ± 0.1
アルブミン	g/dL	4.5 ± 0.00	4.5 ± 0.17	4.9 ± 0.00	4.7 ± 0.03
グロブリン	g/dL	2.0 ± 0.1	1.9 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.1
中性脂肪	mg/dL	29.3 ± 1.2	27.3 ± 0.9	39.3 ^a ± 0.3	32.3 ^b ± 2.0
総コレステロール	mg/dL	88.7 ± 1.3	87.0 ± 5.5	103.7 ^a ± 1.5	90.0 ^b ± 4.6
HDL	mg/dL	45.3 ± 0.7	44.0 ± 1.5	56.7 ^a ± 1.3	45.7 ^b ± 0.9
LDL	mg/dL	45.3 ± 2.0	44.0 ± 4.7	48.7 ± 2.7	44.3 ± 5.2
AST	U/L	30.0 ± 2.9	34.0 ± 4.0	36.0 ± 2.1	37.7 ± 1.8
ALT	U/L	41.7 ± 2.6	40.3 ± 2.4	42.7 ± 3.2	39.3 ± 0.9
ALP	U/L	447.0 ± 39.3	458.0 ± 39.5	452.3 ± 37.9	484.3 ± 67.0
LDH	U/L	524.3 ± 38.9	630.3 ± 51.8	679.7 ± 60.6	680.7 ± 33.3
γ-GT	U/L	45.0 ± 4.7	42.3 ± 1.2	71.3 ± 8.1	58.0 ± 11.6
血清アミラーゼ	U/L	2094.7 ± 111.2	2154.0 ± 87.1	2041.3 ± 93.3	2018.0 ± 70.7
総ビリルビン	mg/dL	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
BUN	mg/dL	12.1 ± 1.5	11.9 ± 0.8	15.0 ± 2.0	16.0 ± 1.4
クレアチニン	mg/dL	1.03 ± 0.13	0.99 ± 0.03	1.07 ± 0.13	0.99 ± 0.03
血糖	mg/dL	92.3 ± 2.0	1.0 ± 0.03	79.7 ± 7.3	75.7 ± 3.4

平均値±標準誤差. n=3/区. a,b:異なる記号間で有意差 ($p < 0.05$)を示す.

4. 臭気検査

硫化水素濃度について、開始時に明らかな差はなかったが、終了時のオリーブ区は対照区の 5 分の 1 であり、両区の差が顕著になった (表 6)。なお、アンモニア濃度はすべて検出限界 (0.2 ppm) 以下だった。

表6 糞便臭気

	開始時		終了時		単位: ppm
	オリーブ区	対照区	オリーブ区	対照区	
硫化水素	11.7	7.0	4.0	34.0	
メチルメルカプタン	5.9	19.2	8.6	26.6	
酢酸(低級脂肪酸)	1.5	3.3	3.5	4.2	
アンモニア	ND	ND	ND	ND	

各区3トレイの平均値を示す. ND:検出限界(0.2ppm)以下

5. 細菌検査

終了時の乳酸菌群数において、オリーブ区が対照区と比べて、有意差はないものの高い傾向にあった ($p = 0.058$) (表 7)。なお、終了時の対照区 DHL 寒天培地でのみ、硫化水素産生菌とみられる黑色コロニーが検出され (対照区 3 頭中 2 頭で確認)、API 20 E による同定の結果、同定確率 97.4% で、*E. coli* 1 であったことから、硫化水素産生性大腸菌と判断した。また、開始時の大腸菌数 (XM-G 培地) が、対照区に比べてオリーブ区で有意に低かった ($p < 0.05$)。

オリーブ飼料添加が肥育豚の糞便臭気および細菌性状に及ぼす影響 (II)

表7 糞便細菌性状

単位: log CFU/g

培地		開始時		終了時	
		オリーブ区	対照区	オリーブ区	対照区
DHL	大腸菌数	3.3 ± 0.3	4.3 ± 0.3	4.0 ± 0.6	4.7 ± 0.3
	硫化水素産生性大腸菌 [◆]	0/3	0/3	0/3	2/3
XM-G	大腸菌数	2.7 ^a ± 0.3	4.3 ^b ± 0.3	3.7 ± 0.3	4.7 ± 0.3
変法LBS	乳酸菌群数	7.0 ± 0.0	7.3 ± 0.3	6.7* ± 0.3	6.0* ± 0.0

平均値±標準誤差. n=3/区. a,b:異なる記号間で有意差($p<0.05$)を示す. * $p=0.058$

大腸菌数:【DHL】乳糖・白糖分解菌, ◆黒色コロニーの検出を示す. 【XM-G】β-ガラクトシダーゼを有する菌.

考 察

オリーブ区の一頭一頭当たりオレイン酸等の平均給与量は、オレイン酸が 38.5 g/日・頭、オレウロペインが 8.58 mg/日・頭と算出された。2019 年度試験時は、オレイン酸 32.2 g/日・頭、オレウロペイン 1.44 mg/日・頭であり、今回、一日当たりの給与量でオレイン酸は約 1.2 倍、オレウロペインは約 6.0 倍になる。

発育検査では、オリーブ区の飼料摂取量および飼料要求率が低かった。2019 年度試験では、飼料摂取量および飼料要求率が高く、今回の結果と一致しなかった。

臭気検査では、終了時のオリーブ区で、硫化水素濃度が顕著に低かった。さらに、終了時の対照区でのみ、硫化水素産生性大腸菌が検出された。硫化水素産生性大腸菌は、健康なヒトや動物^{8,9)}での保有が認められており、豚¹⁰⁾でも報告されている。個体別に実施した細菌検査では、3 頭中 2 頭で硫化水素産生性大腸菌が検出され、オリーブ区では検出されなかったことから、終了時の硫化水素濃度差は、硫化水素産生性大腸菌に起因すると考えられた。しかしながら、硫化水素産生性大腸菌が検出されなかった 2019 年度試験でも、同様に硫化水素濃度が顕著に低い結果だった⁷⁾ことから、硫化水素産生性大腸菌以外にも、オリーブ飼料給与で硫化水素濃度が低くなる要因があると考えられる。

細菌検査では、終了時の乳酸菌群数において、対照区に対し、オリーブ区が高い傾向にあった ($p=0.058$)。オレイン酸は一部の乳酸菌発育促進に必須の物質で、乳酸菌選択培地には、オレイン酸エステル混合物の Tween80 が、オレイン酸供給源として添加されている³⁾。2019 年度試験時の乳酸菌群数に今回のような差はみられず、10~15%オリーブ飼料給与は、乳酸菌の発育を促進した可能性がある。

血液検査では、終了時のオリーブ区で、中性脂肪、総コレステロールおよび HDL 値が有意に高かった ($p<0.05$) のに対し、LDL 値に差はなかった。これは既報の血中コレステロールへ対するオレイン酸の作用 (総コレステロールや LDL 値は低下、HDL 値は低下させないか、わずかな低下のみ^{4,5)}) や 2019 年度試験 (血中コレステロール値に有意差なし⁷⁾) と一致せず、さらなる試験が必要と考えられた。また、オレウロペインの抗酸化作用機序の一つに、酸化 LDL 生成阻害⁶⁾が報告されていることから、酸化 LDL 値についても今後精査したい。

なお、開始時および終了時の基礎飼料 (含有窒素量) は異なることから、臭気検査結果等に影響を及ぼしているとも考えられた。

今後は、2019 年度試験の結果とも一致した臭気検査 (硫化水素) により着目した試験を実施したい。豚糞の臭気には、硫化水素やアンモニアだけでなく、メチルメルカプタン、トリメチルアミン¹¹⁾、フェノール、*p*-クレゾール、スカトール、フェニル酢酸¹²⁾など、様々な臭気が含まれており、引き続きこれらの臭気についても調査したい。

参考文献

- 1) 石井正樹, 乾燥オリーブ粕粉末を含む飼料の製造方法, 特許第 6298706 号, 2018 年 3 月 2 日登録
- 2) 讃岐三畜銘柄化推進協議会, みーとみゅーじあむ, <https://www.sanchiku.gr.jp/>
- 3) Saeed A. Hayek, Salam A. Ibrahim.2013. Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria: A Review, Food and Nutrition Sciences, 4, 73-87.
- 4) 亀井正治.1993.食事脂肪と血清脂質—動脈硬化を防ぐ食生活をめざして—, 生活衛生, 37, 197-213.
- 5) Janete Rocha.2020. Nuno Borges and Olivia Pinho, Table Olives and health: a review, Journal of Nutritional Science, vol. 9, e57, 1-16.
- 6) Syed Haris Omar.2010.Oleuropein in olive and its pharmacological effects, Sci Pharm. Apr-Jun;78(2):133-54.
- 7) 豊嶋愛, 山下洋治.2019.オリーブ飼料添加が肥育豚の糞便臭気および細菌性状に及ぼす影響(Ⅰ), 香川県畜産試験場研究報告, 54.
- 8) H. Sogaard.1975. Hydrogen sulphide producing variants of *Escherichia coli*, widespread occurrence in animals and humans within a confined environment, Acta Vet Scand. ;16(1):31-8.
- 9) Barbour EK, Nabbut NH, Al-Nakhli HM.1985.Production of H₂S by *Escherichia coli* isolated from poultry: an unusual character useful for epidemiology of colisepticemia. Avian Dis, 29, 341-346.
- 10) M. Magalhaes and Mabel Vance.1978.Hydrogen sulphide-positive strains of *Escherichia coli* from swine. Journal of Medical Microbiology Volume 11, Issue 2.
- 11) 松原英隆, 今村弥生, 内山幸子, 2015.キャピラリーカラムを用いた GC/MS による豚糞から発生する硫化水素, メチルメルカプタン, トリメチルアミンおよび低級脂肪酸の分析, におい・かおり環境学会誌, 46 巻 3 号.
- 12) 川村英輔, 高田陽, 今村弥生, 松原英隆.2019.豚ふん由来臭気成分が豚舎臭気に及ぼす影響, 日本養豚学会誌, 56(4) 127-138.