



Aureobasidium pullulans FERM-P4257  
の生産する多糖について：第7報  
養豚における多糖培養液の飼料的効果

メタデータ	言語: jpn 出版者: 宮崎大学農学部 公開日: 2020-06-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 藤井, 昇, 小川, 喜八郎, 太田, 一良, 上田, 重英, 岸川, 努, Ogawa, Kihachiro, Ueda, Sigehide, Kisikawa, Tutomu メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10458/5493">http://hdl.handle.net/10458/5493</a>

## *Aureobasidium pullulans* FERM-P4257 の産生する多糖について 第 7 報 養豚における多糖培養液の飼料的効果

藤井 昇\*・小川喜八郎\*\*・太田一良\*・上田重英・岸川 努

Polysaccharide Product of *Aureobasidium pullulans* FERM-P4257

7. Effects of polysaccharide culture liquid in feed for raising pigs

Noboru FUJII, Kihachiro OGAWA, Kazuyoshi OHTA, Sigehide UEDA  
and Tutomu KISIKAWA

(平成 4 年 5 月 8 日受理)

A formula feed containing polysaccharide culture liquid produced by *Aureobasidium pullulans* FERM-P4257 was given to piglets. A series of tests were performed to evaluate its effects on body weight, effects on enterobacteria, and processing of urine. Increase in body weight was noted on the animals raised with the feed containing polysaccharide at 0.1% (v/v) to 1.0% (v/v) (test animals) compared with those raised with the feed without polysaccharide (control), resulting in increase of 5 kg at 0.1% and 8 kg at 0.2%, respectively. As to effects on enterobacteria, a marked increase of lactic acid bacteria was noted on those raised with the feed containing polysaccharide, while a number of other microbes ( $2.8 \times 10^5 - 4.0 \times 10^5$ ) were always maintained on the same level. When effects on urine discharged from the animals raised with the feed containing polysaccharide or not were tested, the number of *E. coli* in urine of the animals was  $4.1 \times 10^1$ /ml in those with addition, and  $5.2 \times 10^1$ /ml without addition of polysaccharide, respectively. However, when 1% (v/v) of polysaccharide was added to urine of each group together with 0.1% of aluminium sulfate (w/v), almost all *E. coli* was agglutinated to precipitate in both groups, while at 0.5% (v/v) it was  $6.3 \times 10^1$ /ml without addition, and  $1.3 \times 10^2$ /ml with addition of polysaccharide. Further, COD of urine obtained from these groups was  $7.1 \times 10^2$  and  $8.5 \times 10^2$  ppm, with and without polysaccharide respectively. In case when at 0.5% (v/v), COD decreased by 60% in the former and by 28% in the latter, and upon addition at 1% (v/v) it decreased by 50% and 76%, respectively. It is considered that since possibly polysaccharide contained in the feed is excreted in feces, processing of urine can be performed economically with less amount of additional polysaccharide culture liquid, when the animals are raised with the feed containing polysaccharide.

By addition of polysaccharide culture liquid to the formulation given to pigs, enterobacterial flora, specially of lactic acid bacteria, can be increased, which results in marked increase of their body weight. It greatly contributes to the improvement of productivity, being effective on urine processing with polysaccharide. It is, therefore, suggested that addition of polysaccharide culture liquid to the feed is an effective method for raising pigs and for processing of their excretions.

**Key Words :** *Aureobasidium pullulans* FERM-P4257, Agglutinating polysaccharide, Swinery waste water, Raising pig feed

\* 応用生物化学講座

\*\* 生物機能工学講座

## 結 言

筆者らは *Aureobasidium pullulans* FERM-P4257 の産生する多糖について、その化学構造<sup>1)</sup>を始め、物理的・化学的諸性質<sup>2)</sup>、毒性及び抗腫瘍性<sup>3)</sup>、豚尿排水処理<sup>4, 5)</sup>、更に乳酸菌に及ぼす影響<sup>6)</sup>等について報告した。又、オリゴ糖類の子豚に対する効果等に関して、澤入ら<sup>7)</sup>の詳細な報文がある。本報ではこれらの知見から、本多糖の養豚における総合的利用を目的として、多糖培養液添加飼料で飼育し、その飼料的効果、さらには豚尿排水処理への影響等を調べ、その有効性について検討したので報告する。

## 実験材料及び方法

### 1. 実験試料

#### 1) 供試多糖培養液の生産

蔗糖 1.0%、米ぬか 0.2%、アスコルビン酸 0.2% の液体培地 150ml を 300ml の三角フラスコに分注し、 $1\text{kg}/\text{cm}^2$ 、15分間加圧蒸気殺菌して、*Aueobasidium pullulans* FERM-P4257 の斜面培養より菌体を 1白金耳植菌し、25℃、120rpm、48時間回転振盪培養したものを種菌とした。この種菌をジャーフェーマンター（高杉製作所製）に前記と同じ培地 2000ml を入れ、 $1\text{kg}/\text{cm}^2$ 、15分間加圧蒸気殺菌した後、接種して 100rpm、通気量 0.5  $\ell/\text{min}$ 、25℃、72時間通気攪拌培養した。この培養液を  $1\text{kg}/\text{cm}^2$ 、15分間加圧蒸気殺菌し、5,000rpm、10分間遠心分離してその上澄液を供試多糖培養液とした。

#### 2) 供試動物

(A) 本学住吉牧場で生産されたヨークシャー種 10週齢の子豚（1頭の母豚由来、品種：H-L）♀、8頭を供試豚とした。

(B) 宮崎県児湯郡高鍋町県立高鍋農業高等学校舞鶴牧場で生産されたヨークシャー種 7週齢の子豚（2頭の母豚由来、品種：LW-D, LH-D）♂、7頭、♀、7頭を供試豚とした。

#### 3) 供試配合飼料

抗生物質やオリゴ糖などを含まない市販の子豚育成配合飼料（中部飼料：ハイニックシルバー）を用いた。その主な成分組成は糖タンパク 16%以上、粗繊維 4.0%以下、カルシウム 0.6%以上、粗脂肪 2.5%以上、粗灰分 7.5%以下、リン 0.5%以上、T. D. N. 7.8%以上、

D. C. P. 13.5%以上である。

#### 4) 多糖添加飼料

前記配合飼料ハイニックシルバーと多糖培養液を 2:1 (W/V) の割合で混合して通風乾燥し、ミキサーで粉砕したものを多糖添加飼料とし給餌した。

#### 3) 腸内細菌検出培地

いずれも市販の日本製薬 KK 性の BCP 加プレートカウントアガール培地、一般細菌用普通寒天培地、ポテトデキストロース寒天培地及びアソキシコレート培地を用いた。

#### 6) 豚尿排水試料及び腸内細菌検出試料

多糖添加飼料及び無添加飼料で飼育した豚から糞、尿を採取し、排水処理試験に供した。尚、糞を腸内細菌検出用試料とした。

## 2. 実験方法

### 1) 多糖添加飼料の給餌方法

(A) 宮崎大学住吉牧場の 8頭の子豚の体重を 1頭づつ計り、多糖添加飼料区（試験区）、多糖無添加飼料区（対照区）の平均体重がほぼ同じになるように、それぞれ 4頭づつ 2群に分けた。試験区 4頭には 1頭あたりの 1日の多糖摂取量が平均体重の 0.1% になるように多糖添加飼料を平均体重の 0.2% を 1日に与えた。即ち体重 1kg あたり 2g の多糖添加試料を与えた。従って平均体重 (kg)  $\times 0.002 \times 4$  (頭) を 1日給餌量とし、朝の給餌の時に多糖添加飼料 1日量と多糖無添加飼料を与え、夕方の給餌の時には多糖無添加飼料を食べるだけ与えた。飲水は自由飲水とした。本実験は小豚生後 10週齢から 24週齢にわたり飼育試験した。

(B) 宮崎県立高鍋農業高等学校牧場の 18頭の子豚の体重を 1頭づつ計り、多糖添加飼料区（試験区）と多糖無添加飼料区（対照区）の平均体重がほぼ同じになるように、それぞれ 9頭づつ 2群に分けた。試験区 9頭には 1頭あたりの 1日の多糖摂取量が平均体重の 0.2% になるように多糖添加飼料を平均体重の 0.4% を 1日に与えた。即ち体重 1kg あたり 4g の多糖添加飼料を与えた。従って平均体重 (kg)  $\times 0.004 \times 9$  (頭) を 1日給餌量として与えた。給餌方法は (A) と同様にした。本実験は子豚生後 3週齢から 19週齢にわたり飼育試験した。

### 2) 体重測定方法

毎週 1回、同時刻にゲージ付き体重計で 1頭づつ測定した。尚その測定結果より平均体重を算出し、次週の多糖添加飼料の給餌量を決定した。

### 3) 腸内細菌の検出

宮崎県立高鍋農業高等学校生産の子豚の飼育試験において体重測定時に多糖添加飼料区と多糖無添加飼料区のそれぞれの豚の中から、ランダムに採取した糞0.015gをそれぞれ殺菌シャーレにとり10mlの滅菌水を加え、よく懸濁させ、それを原液とした。この原液1mlを滅菌ピペットで滅菌試験管にとり、滅菌水9mlを加えてよく混合し10倍希釈液を調整した。このようにして $10^6$ 倍希釈液を調整し、それぞれの滅菌シャーレに1mlづつとり、BCP加プレートアガール培地、一般細菌用普通寒天培地、ポテトデキストロース培地を20mlづつ流し込み、殺菌した3%寒天をその上に流し、37℃、48時間培養して、それぞれのコロニーを数えた。又、デソキシコレート培地のものは $10^4$ 希釈液を用いて37℃、48時間培養しコロニーを数えた。

#### 4) 豚尿排水処理試験

宮崎県立高鍋農業高等学校牧場における飼育試験の最終時に多糖添加飼料区と多糖無添加飼料区の飼育豚尿をそれぞれ100ml大型試験管にとり、多糖培養液1ml又は0.5mlを加え、よく攪拌した後、硫酸アルミニウム0.5gを加え再びよく攪拌静置して、その凝集沈殿効果を調べた。即ち凝集沈殿した上澄液について常法によりCODを測定し、更にデソキシコレート培地を用いて大腸菌の検出を行った。

### 実験結果及び考察

#### 1. 多糖添加飼料給餌による体重への影響

(A) 宮崎大学農学部住吉牧場での生後10週齢から24週齢の豚の飼育試験の結果、その体重曲線はFig. 1に示したように17週齢から多糖添加飼料区(試験区)

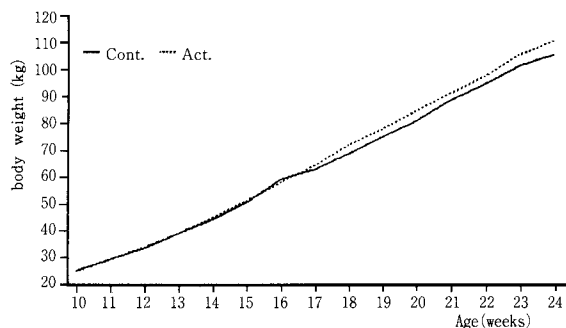


Fig. 1. The increase of average body weight of pig fed with a diet containing polysaccharide (Act.) and a diet uncontained polysaccharide (Cont.) at Sumiyoshi.

の体重増加がみられ、24週齢では多糖無添加飼料区(対照区)の104.8kgに対して試験区は110.1kgの体重を示し、約5kgの体重増加が認められた。尚、試験区は給餌開始後2週間、軟便が認められたが以後は正常であった。

(B) 宮崎県立高鍋農業高等学校牧場での生後3週齢から19週齢の豚の飼育試験の結果、その体重曲線は

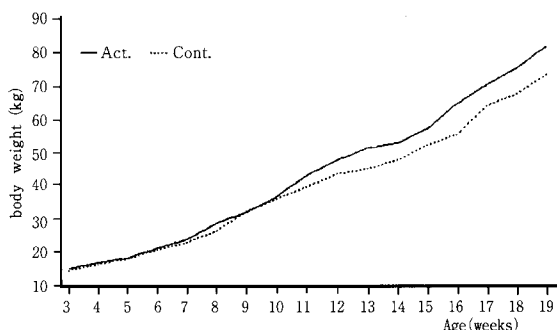


Fig. 2. The increase of average body weight of pig fed with a diet containing polysaccharide at (Act.) and a diet uncontained polysaccharide (Cont.) at Takanabe.

Fig. 2に示したように10週齢から多糖添加飼料区(試験区)の体重増加がみられ、19週齢では多糖無添加飼料区(対照区)の73.7kgに対して試験区は82.0kgの体重を示し、約8kgの体重増加が認められた。尚、試験区は給餌後3週間、軟便が認められたが以後は正常であった。

上記(A)、(B)共に多糖添加飼料を給餌することにより子豚の体重は多糖無添加飼料のものより増加し、その体重曲線は給餌開始後7週間目から影響を受け体重差が現れることが判った。又、多糖培養液添加率0.1%の(A)と0.2%添加の(B)を比較すると(B)の方が生育曲線は上まわっていたが、しかし成豚になるにつれてこの差は小さくなった。

#### 2. 多糖添加飼料の腸内細菌に及ぼす影響

小糖類であるオリゴ糖が腸内菌叢の中で有用菌とされているビフィズス菌の増殖因子<sup>7)</sup>として近年注目され、本多糖も乳酸菌に対して増殖効果も有している<sup>8)</sup>ので、多糖添加飼料による豚の飼育試験で腸内細菌がどのような影響を受けるかについて検討した結果、多糖添加飼料区(試験区)と多糖無添加飼料区(対照区)のそれぞれの豚糞1g中における腸内菌叢の経時変化はFig. 3に示した通りであった。即ちポテトデキスト

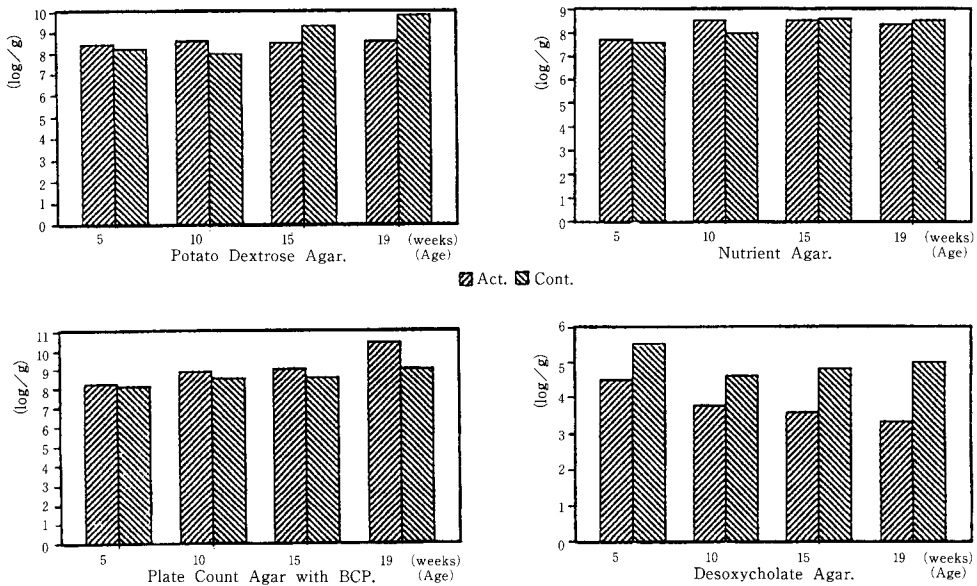


Fig. 3 Effect of polysaccharide culture liquid on counts of bacteria in intestine.

ローズ培地においては対照区は経時的に増加したが、試験区は同じ菌体数を保ち増加の傾向は見られなかった。BCP加プレートカウントアガール培地では対照区、試験区とも菌体数の増加が見られ、乳酸菌の増加が認められたが、乳酸菌の増加率は明らかに試験区の方が大きく上回っていた。又、一般細菌用普通寒天培地では菌体数は10週齢目において試験区が対照区を上まわっていたが、その後は両区とも同じような傾向を示し、あまり差は認められなかった。更に大腸菌を目的としたデソキシコレート培地においては対照区が5週齢から10週齢にかけて大きく減少しているが、その後は僅かに増加しているのに対して、試験区は経時的に減少していた。このように試験区は乳酸菌に対して顕著に増殖効果があり、大腸菌に顕著な抑制を示し、一般細菌については効果はみられなかった。

以上から本多糖培養液は乳酸菌の増殖を促し、大腸菌などを抑制し、他の腸内細菌はあまり影響を及ぼさないと考えられる。この事は腸内菌叢の改善効果を有すると判断される。

### 3. 多糖添加飼料飼育による豚尿排水処理

著者らは本多糖はアルミニウムイオンの存在下で顕著な凝集沈殿を示すことを報告した<sup>2, 4, 5)</sup>。そこで多糖添加飼料により飼育した場合の豚尿に対して凝集効果に差があるか、その排水処理効果についてCODと大腸菌に対して検討した。

#### 1) CODと大腸菌への効果

Table 1. Effect of amount of polysaccharide culture liquid added on treatment of pig urine

polysaccharide added (%)	COD (ppm)	COD removal rate (%)	<i>E. coli</i> count (/ml)
Act. 0	$7.1 \times 10^2$	0	$4.1 \times 10^4$
0.5	$2.8 \times 10^2$	60	$1.3 \times 10^2$
1.0	$1.7 \times 10^2$	76	0
Cont. 0	$8.5 \times 10^2$	0	$5.2 \times 10^4$
0.5	$6.1 \times 10^2$	28	$6.3 \times 10^3$
1.0	$4.2 \times 10^2$	50	0

Table 1に示したように多糖添加飼料区(試験区)からの豚尿排水のCODは $7.1 \times 10^2$ ppm、大腸菌数は $4.1 \times 10^4$ で、多糖無添加区(対照区)からのCODは $8.5 \times 10^2$ ppmで、大腸菌数は $5.2 \times 10^4$ であった。これらの豚尿排水に本多糖培養液を0.5% (v/v)、1.0% (v/v)添加して攪拌後、硫酸アルミニウムをそれぞれ0.5% (w/v)添加すると凝集沈殿する。この時のCOD減少率は試験区では本多糖0.5%添加のものは60%、1.0%添加のものは76%であった。対照区ではそれぞれ28%、50%であった。次に大腸菌数は試験区では本多糖0.5%添加のものは $1.3 \times 10^2$ /ml、1.0%添加のものは0/mlで全く認められなかった。対照区ではそれぞれ $6.3 \times 10^3$ /ml、0/mlであった。

以上のようにCODと大腸菌の減少率は多糖添加飼料区からの豚尿排水の方が多糖無添加飼料区からのものより効果があることが判った。このような差が認め

られるのは排泄後、尿と糞が接触して糞に含まれている多糖が尿に溶解するものと思われる。

### 要 約

*Aureobasidium pullulans* FERM-P4257の産生する多糖培養液を添加した配合飼料を子豚に給餌し、その体重増加、腸内細菌への影響及びその豚尿処理について試験した。その結果増体重量は多糖無添加飼料(対照区)のものに対して0.1% (v/v), 1.0% (v/v)の多糖添加飼料区(試験区)はいずれも体重増加がみられ、本多糖培養液の0.1%添加飼料は5kg, 0.2%添加飼料では8kgの体重増加が認められた。腸内細菌への影響について多糖添加飼料飼育では顕著な乳酸菌の増加がみられた。又、他の菌体数では終始同一レベルが維持されていた。次に多糖添加飼料と無添加飼料で飼育した豚尿排水の処理への影響を調べ、両者の豚尿中の大腸菌数は多糖添加飼料区が $4.1 \times 10^4$ /ml, 無添加区が $5.2 \times 10^4$ /mlであったが、この豚尿に多糖培養液をそれぞれ1.0% (v/v)と硫酸アルミニウム0.1% (w/v)を添加すると両者ともほとんどの大腸菌が凝集沈殿したが、0.5% (v/v)添加では大腸菌数が多糖無添加区が $6.3 \times 10^3$ /mlに対し、添加区は $1.3 \times 10^2$ /mlであった。更に両者からの豚尿のCODは多糖無添加飼料区が $8.5 \times 10^2$ ppm, 添加飼料区は $7.1 \times 10^2$ ppmであったが、多糖培養液を0.5% (v/v)添加して処理した場合のCOD減少率は多糖無添加飼料区が28%に対して、添加飼料区は60%の減少率で、1.0% (v/v)添加の場合はそれぞれ50%と76%の減少率であった。この事は多糖添加飼料で飼育した場合、糞便中に多糖が排出されている可能性が考えられ、多糖添加飼料で飼育すると、それからの豚尿排水処理も多糖培養液が少なくてすみ、経済的效果もある筈である。

本多糖培養液を配合飼料に添加して飼育することにより、豚の腸内菌叢、特に乳酸菌が増加し、又、顕著な体重増加があり、その生産性の向上に寄与でき、更に多糖培養液による豚尿排水処理についても効果的であり、本多糖は養豚において多糖培養液添加による飼育、又、それからの豚尿排水処理に一貫性を持った有効な方法であることを示唆している。

キーワード：*Aureobasidium pullulans* FERM-P4257, 凝集活性多糖, 豚尿排水, 養豚飼料

### 文 献

- 1) 藤井昇, 篠原智, 上野秀雄, 今田清久：*Aureobasidium* 属菌(黒酵母)の産生する多糖について, 宮大農報, **31** (2), 253~262 (1984)
- 2) 藤井昇, 篠原智, 今田清久：物理的並びに化学的諸性質, 宮大農報, **33** (2), 249~254 (1986)
- 3) 藤井昇, 篠原智：毒性試験と抗腫瘍性, 宮大農報, **33** (2), 243~248 (1986)
- 4) 藤井昇, 篠原智：凝集活性多糖による各種産業廃水処理, 宮大農報, **34**, 221~228 (1987)
- 5) 藤井昇, 小川喜八郎, 篠原智：凝集活性多糖による豚尿排水処理, 宮大農報, **38** (2), 131~135 (1992)
- 6) 藤井昇, 柴田展幸, 大橋登美男, 山内清, 芳賀聖一：*Aureobasidium pullulans* FERM-P4257産生多糖が乳酸酵母におよぼす影響, 日本栄養・食糧学会西日本支部大会講演要旨集, 1 (1987)
- 7) 澤入淑人 他：畜産の研究, ガラクトオリゴ糖の子豚への利用, **42**, 1003~1005 (1988)