

おがくず敷料における乳酸菌バクテリオシンを利用した微生物制御の効果

千葉祐子・小原 剛*・渡邊 潤

(秋田県畜産試験場・*秋田県中央家畜保健衛生所)

Effect of bacteriocin by *Lactococcus lactis* on microbial control in sawdust bedding

Yuko CHIBA, Tsuyoshi OBARA* and Jun WATANABE

(Akita Prefectural Livestock Experiment Station ·

*Central Akita Livestock Hygiene Service Center)

1 はじめに

乳房炎は、乳用牛の死傷事故の最も大きな要因となっており、酪農経営の収益性に関わる重大な疾病および家畜の最難治疾病の一つとされている。また近年、生乳の品質は、乳房炎の指標である乳中体細胞数によって評価され、取引価格に影響する。そのため、乳房炎の発生は収入減に直接つながり、酪農家は日々その対策を講じている。乳房炎は乳頭口に微生物が侵入することから始まるため、乳頭環境の微生物を制御できれば新規感染の抑制が可能となる。

また、乳酸菌にはバクテリオシンと総称される抗菌ペプチドを生産するものがある。乳酸菌バクテリオシンは、強い殺菌効果をもちながら、プロテアーゼで容易に分解され、自然環境に残留しないことから、抗生物質に比べて耐性菌を誘導しにくい特徴がある。乳酸菌バクテリオシンの代表的なものとして、ナイシン A が知られている。ナイシン A は、欧米を中心に 56 カ国で食品添加物として認可されており²⁾、ヒトや家畜に対しても安全性の高い物質である。

そこで、バクテリオシンを活用した新たな乳房炎予防の可能性として、バクテリオシンによる敷料の微生物制御の方法について検討し、予備試験として敷料の乳酸菌発酵に適する条件を調査した。

2 試験方法

ナイシンA産生乳酸菌は *Lactococcus lactis subsp. lactis* (ATCC11454) を供試した。おがくず100 gに水分50%及び60%となるよう乳酸菌培養液を添加した。試料をナイロンパウチに入れ、バキュームシーラーを用いて脱気、密閉し、3週間培養した。それぞれの水分量で、廃糖蜜を生重量比5%となるよう添加する区、添加しない区を設定した。また、培養温度についても20℃培養区、36℃培養区を設定した(表1)。培養前後の試料について、混積平板培養法で乳酸菌数(BCP加プレートカウントアガール「ニッスイ」培地)、大腸菌数(DHL培地)を算定した。またサイレージ分析法の常法¹⁾に基づき抽出液を調整し、pHを測定した。

3 試験結果及び考察

(1)乳酸菌数(図1)

添加した乳酸菌培養液の生菌数は、 3.0×10^8 cfu/mLだった。おがくずに乳酸菌培養液を添加調製直後、培養前の試料 1 g 当たりの乳酸菌数は、50%水分で 1.0×10^5 cfu/g、60%水分で 3.4×10^7 cfu/g であった。60%水分で、菌数が多くなったのは、乳酸菌培養液で水分調整を行ったことが要因である。

3週間の培養後、乳酸菌数は糖蜜添加の有無に係わらず、50%水分・20℃で $10^6 \sim 10^7$ に増加、60%水分・20℃および36℃では $10^7 \sim 10^8$ に増加が認められた。

50%水分・糖蜜添加なし・36℃培養で、乳酸菌数の増加割合が低く、3反復しているうち、2つで菌が分離されず、1つも非常に少なかった。但し、本条件が著しく乳酸菌の増加を妨げているとは考えられず、再検討する必要がある。60%水分・36℃が、50%水分および60%水分・20℃に比較して増加した理由としては、今回用いた乳酸菌株の増殖最適温度が40℃前後であることと、水分が多いため流動性が増し、運動能を有さない乳酸菌が増殖しやすい環境であったとも考えられる。

(2)大腸菌数(図2)

培養前の試料 1 g 当たりの大腸菌数は、 8.5×10^5 cfu/g であった。3週間の培養後、大腸菌数はすべての区で有意に減少し、60%水分・糖蜜添加・20℃でわずかに認められた以外は、検出されなかった。

(3)pH(図3)

培養前の pH は、50%水分・糖蜜添加(4.93)、50%水分・糖蜜添加なし(5.00)、60%水分・糖蜜添加(4.74)、60%水分・糖蜜添加なし(4.73)で、水分調整のための乳酸菌培養液添加量が多かった60%水分区で低い値となった。

3週間の培養後、50%水分・糖蜜添加・20℃で pH4.62 と有意な低下を示し、また、乳酸菌数の最も高かった60%水分・糖蜜添加・30℃で pH4.54、60%水分・糖蜜無添加・20℃で pH4.66 と低下した。糖蜜添加区において、より pH を低く、安定的に維持する傾向が認められた。

一方で、50%水分・糖蜜無添加では、20℃および36℃のどちらの温度でも、pHの上昇が認められた。乳酸菌数の増加と pH が低下する現象が不一致する

試験区もあったが、菌数と代謝物は必ずしも一致しない³⁾という報告もある。しかしながら今後、発酵品質評価手法として、有機酸含量の測定を含めて検討したい。

4 まとめ

本試験では、バクテリオシンによる敷料の微生物制御の方法について検討する事を目的とし、予備試験として敷料の乳酸発酵する条件について調査した。その結果、おがくずへのバクテリオシン産生乳酸菌の添加により、乳酸菌を増殖させる事が可能で、さらに糖蜜の添加により、安定的な pH の低下を確認した。また、発酵により大腸菌の生育を強く抑制した。

今後は、これらの結果をもとに、実際のフレコン

バックを使用した敷料発酵調製を行い、実際に搾乳牛の牛床に利用し、乳頭表面における細菌数の変化等を調査する。

引用文献

- 1) 蔡 義民. 2009. 三訂版 粗飼料の品質評価ガイドブックー自給飼料利用研究会編ー. 社団法人日本草地畜産種子協会. 64-70.
- 2) Delves-Broughton, J. 1990. Nisin and its application as a food preservative. Int. J. Dairy. Technol. 43:73-76.
- 3) Matsumoto, M. ; Kibe, R. ; Ooga, T. ; Aiba, Y. ; Kurihara, S. ; Sawaki, E. ; Koga, Y. ; Benno, Y. 2012. Impact of intestinal microbiota on intestinal luminal metabolome. Sci. Rep. 25(2): 233.

表1 試験区分

水分	50%				60%			
糖蜜添加	あり		なし		あり		なし	
培養温度	20°C	36°C	20°C	36°C	20°C	36°C	20°C	36°C

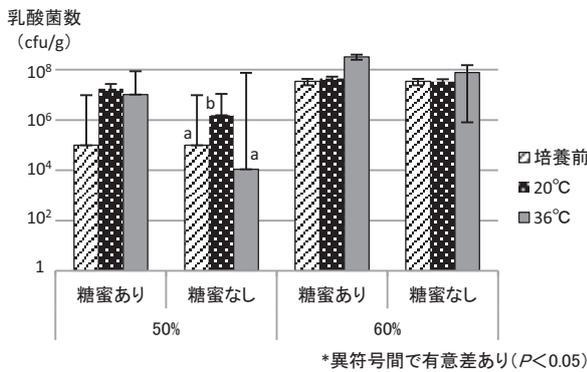


図1 乳酸菌数の変化

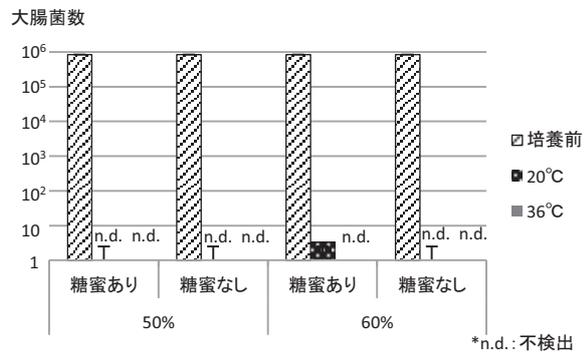


図2 大腸菌数の変化

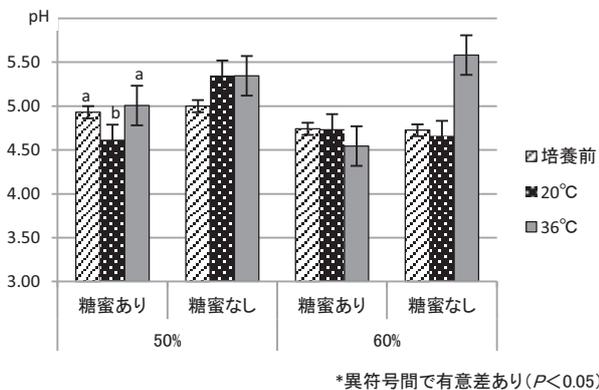


図3 pHの変化