

## 黒麹・乳酸菌飼料によるブロイラーの盲腸内短鎖脂肪酸の変動

日置久美子<sup>1,3</sup>・川崎千穂子<sup>2</sup>・山元正博<sup>1</sup>・林 国興<sup>1</sup>・屋 宏典<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 株式会社源麴研究所, 鹿児島県霧島市溝辺町麓 899-6404

<sup>2</sup> 株式会社河内源一郎商店, 鹿児島県霧島市溝辺町麓 899-6404

<sup>3</sup> 鹿児島大学大学院連合農学研究科, 鹿児島市郡元一丁目 21 番 24 号 890-8580

本研究では、黒麹 (*Aspergillus luchuensis*) と乳酸菌 (*Lactobacillus casei*) の混合培養飼料 (黒麹・乳酸菌飼料) が、ブロイラーの消化管内容物中の生菌数、消化管内容物中の有機酸濃度および生産性に及ぼす影響を調べた。チャンキー種雌雄各 18 羽を用い、雌雄各 1 羽を 1 組とし、各区 6 組となるよう 3 区に分けた。対照区には基礎飼料 (ブロイラー前期中飼料, 社団法人日本科学飼料協会, 東京都) を、黒麹・乳酸菌飼料区には基礎飼料に黒麹・乳酸菌飼料を乾物換算で 1% 添加したものを与えた。また、ポジティブコントロールとして黒麹区には基礎飼料に黒麹 0.04% を添加したものを与えた。その結果、増体量は対照区に対し黒麹・乳酸菌飼料区で 16% 向上した ( $p=0.064$ )。小腸内容物中の乳酸菌数は、対照区に比べ黒麹・乳酸菌飼料区において増加する傾向にあった ( $p=0.098$ )。盲腸内容物中の乳酸菌数は、対照区に比べ黒麹・乳酸菌飼料区で有意に増加、麹菌数は黒麹・乳酸菌飼料区および黒麹区で有意に増加した。小腸内容物中の有機酸濃度は、プロピオン酸および酪酸は検出されなかったものの、クエン酸、乳酸および酢酸を合わせた総酸の濃度は、黒麹区で対照区よりも高くなる傾向にあり ( $p=0.066$ )、黒麹・乳酸菌飼料区で有意に高くなった。盲腸内容物中のクエン酸、乳酸、酢酸およびプロピオン酸濃度は、黒麹・乳酸菌飼料区が対照区に比べ有意に高く、酪酸濃度も上昇する傾向にあった ( $p=0.079$ )。総有機酸濃度は、黒麹・乳酸菌飼料区で有意に上昇した。以上の結果より、黒麹・乳酸菌飼料はブロイラーの腸内容物中の乳酸菌数を増加させて有機酸濃度を高めブロイラーの生産性を向上させることが示唆された。

キーワード: 黒麹, 乳酸菌, 腸内短鎖脂肪酸, ブロイラー

### 緒 言

筆者らは、黒麹 (*Aspergillus luchuensis*) 給与によりブロイラーの生産性が配合飼料を給与した場合に比べ、著しく改善されることを明らかにしている (Saleh ら 2011, 2012)。黒麹は、アミラーゼ、プロテアーゼ、セルラーゼおよびキシラナーゼ活性を持ち、タンパク質やエネルギーの消化を促進すること (Hajati ら 2010) が報告されている。また、麹菌による発酵の過程で成長促進因子であるプトキシブチルアルコール (BBA) が生産される可能性があること (Saleh ら 2011)、並びに、BBA は筋肉タンパク質の分解を抑制し、ブロイラーの成長を促進すること (Kamizono ら 2014) も分かっている。しかし、麹給与によりどのような機構で成長が促進されるのか未だ不明な点も多い。

乳酸菌や酪酸菌等の生菌剤は、腸内細菌叢を変化させ、ヒトの健康や家畜の生産性を改善することはよく知られている (Ljungh と Wadstrom 2006, Fuller 1989, Jin ら 1997, 1998, Yang ら 2012)。著者らは、黒麹も生きて下部消化管に到達し、腸内細菌叢を変えエネルギーの代謝に影響を及ぼすのではないかと考えている。乳

酸菌や酪酸菌は消化器管内の乳酸、酢酸、酪酸等の有機酸の生成に寄与しており、近年これら短鎖脂肪酸 (SCFA) の生成や作用機序に対する関心が高まっている。SCFA は、大腸での上皮細胞の増殖を促進し、消化管の炎症や癌を抑制することや、水やミネラルの吸収を促進することが分かっている (Henningsson ら 2001)。さらに近年、SCFA が肝臓でのコレステロール代謝 (Chen ら 1984, Hara ら 1999) や、腸内免疫細胞分化 (Furusawa ら 2013)、筋肉や肝臓でのエネルギー代謝 (Kimura ら 2011, 2013) に関与していることが分かってきた。SCFA は、食物繊維が大腸内で腸内細菌によって発酵されることにより生じる (Henningsson ら 2001)。黒麹はセルラーゼ、キシラナーゼ活性を持つことから、消化管内で食物繊維を分解してオリゴ糖を生成し、その結果、乳酸菌等の増殖を助けて腸内細菌叢を変え、消化管内での SCFA の合成を促進すると期待される。

ブロイラーの成長に対する乳酸菌の効果については多くの研究がある (Jin ら 1997, 1998, Mountzoruris ら 2007)。消化器管内には極めて多くの種類の乳酸菌が生育しており、宿主の健康に及ぼす効果は種類により異なると考えられる。*Lactobacillus casei* は、ブロイラーに対して優れた効果があると報告されており (Yeo ら, 1997)、胃酸 (pH3.0) にも耐性を示すので (小林ら 1974, Mishra ら 2005)、この乳酸菌を黒麹とともに給与すると腸内の乳酸菌叢が安定し麹の成長促進効果が増強されると期待される。本研究では、黒麹と *L. casei* を混合培養した飼料 (黒麹・乳酸菌飼

2014 年 11 月 6 日受付, 2015 年 5 月 20 日受理

連絡者: 屋 宏典

〒903-0213 沖縄県西原町千原一番地

Tel : 098-895-8972

E-mail : okuhiro@comb.u-ryukyuu.ac.jp

料)ならびにポジティブコントロールとして黒麹飼料をプロイラーに与え、腸内容物中の生菌数、腸内容物中の有機酸濃度および生産性に対する影響を調べることを目的とした。

なお、主に沖縄県で製造される蒸留酒である泡盛に使用されている黒麹は、*Aspergillus awamori*, *A. luchuensis*, *A. acidus*などの総称であるが、*A. awamori*とされている種の中には、黒麹とは異なり*A. niger*の近縁種でマイコトキシンを産生する種が存在することが分かり(Hongら2013)、正確な分類が求められてきた。Hongら(2013)は、著者らが用いている黒麹は分類学的に*A. luchuensis*に属することを明らかにしている。そこで本報においては、これまで誤用してきた*A. awamori*を改め、正しく、*A. luchuensis*の呼称を使用することとした。*A. luchuensis*はマイコトキシンを産生しないことが明らかにされている(Suscaら2014, Yamadaら2011, Hongら2013)。

## 材料と方法

### 実験1 黒麹、乳酸菌飼料および黒麹と乳酸菌による共培養飼料(黒麹・乳酸菌飼料)の調製

#### 1. 飼料調製

乳酸菌飼料は、飼料米に水分99%になるよう加水し、95°Cで60分殺菌し、30°Cまで冷却した後、乳酸菌(*L. casei* JCM 1134<sup>T</sup>, 独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター、茨城県)培養液0.1%を添加し、30°Cで72時間静置培養した。同様に黒麹・乳酸菌飼料は、乳酸菌に加え、黒麹菌(株式会社河内源一郎商店、鹿児島県鹿児島市)0.1%を添加し培養した。培養開始時の黒麹胞子数は、培養液1ml当り $2.0 \times 10^6$ 個、乳酸菌数は、培養液1ml当り $1.2 \times 10^6$ cfuであった。黒麹は、飼料米を浸漬、水切り後、60分蒸した後冷却し、黒麹菌0.1%を添加して小型の自動製麹装置(株式会社河内源一郎商店、鹿児島県鹿児島市)に入れ、33~38°Cで5日間発酵して調製した。培養開始時の黒麹胞子数は、黒麹飼料調製開始時の飼料1g当り $2.0 \times 10^6$ 個であった。

#### 2. 分析

##### 1) 乳酸菌飼料および黒麹・乳酸菌飼料のpHおよび乳酸菌数の測定

乳酸菌飼料および黒麹・乳酸菌飼料中のpHは、pHメーター(株式会社堀場製作所、京都府)で測定した。乳酸菌数は、乳および乳製品の成分規格等に関する省令第52号(厚生労働省、1951)に準じて測定した。すなわち、飼料1mlに滅菌生理食塩水9mlを添加し、10倍ずつ段階的に希釈して、各希釈液につき2枚のシャーレを用い、1mlずつを取り、BCP加プレートカウント寒天培地を加えて混合し、37°Cで72時間好気培養した。生じたコロニーをカウントし、1平板の乳酸菌のコロニー数が30個から300個までのものを平均して乳酸菌数とした。

##### 2) 黒麹のpH、酵素活性および胞子数測定

pHは、黒麹に5倍量のイオン交換水を添加して室温(15-20°C)で3時間抽出したろ液をpHメーター(株式会社堀場製作所、京都府)で測定した。酸性プロテアーゼ活性は、国税庁所定分析法注解(日本醸造協会2003)に従って測定した。すなわち、黒麹に5倍量の0.1M酢酸緩衝液(pH5.0, 塩化ナトリウム0.5%を含む)を加え、室温(15-20°C)で3時間抽出して麹抽出液を得

た。次いでカゼインを基質とし、pH3.0において40°Cで60分反応させ、Folin-Ciocalteu試薬を添加して発色させ、660nmにおける吸光度を測定し、60分間に1μgのチロシン相当量の呈色を示す活性を1Uとした。キシラナーゼ活性は、山本ら(山本ら1981)の方法に準じ、上記抽出液をキシランを基質としてpH5.5において40°Cで60分間反応させ、生じた還元糖をSomogyi-Nelson法にて定量し、60分間に1mgのキシロース相当量の還元糖を生成する活性を1Uとした。また、アミラーゼ活性は微生物遺伝資源利用マニュアル(16)(独立行政法人農業生物資源研究所2004)に準じ、デンプンを基質とし、pH3.7において40°Cで60分間反応させた後、還元糖を定量し、60分間に1mgのグルコース相当量の還元糖を生成する活性を1Uとした。胞子数は、麹を0.1%Tween80溶液で抽出し、Thoma血球計算盤にて計測した。

##### 3) 黒麹・乳酸菌飼料の酵素活性、生菌数および有機酸濃度測定

黒麹・乳酸菌飼料の酵素活性は、黒麹と同様に測定した。糸状菌数は、乳酸菌数と同様に希釈して、各希釈液につき2枚のシャーレを用い、1mlずつを取り、ポテトデキストロース寒天培地を加えて混合し、30°Cで72時間培養した。生じた糸状菌のコロニーをカウントし、1平板の乳酸菌のコロニー数が30個から300個までのものを平均して糸状菌数とした。有機酸含量は、動物栄養試験法(石橋見監修2001)に準じて測定した。飼料10mlにイオン交換樹脂(Amberlite IR-120H)1mlを加え振とうし、上澄み液を遠心分離して上清を0.45μmをフィルターでろ過した。このろ液を高速液体クロマトグラフ(株式会社島津製作所、京都)を用いて分離、プロモチモールブルーによりポストカラム法にて発色させ、波長445nmの吸光度を測定した。使用したカラムはShodex Ionpak C-811(昭和電工株式会社、東京)、移動相は3mM過塩素酸溶液、発色試薬は0.2mMプロモチモールブルー/8mMリン酸水素二ナトリウム/2mM水酸化ナトリウム溶液、流速は1.5ml/分、カラム温度は60°Cとした。

### 実験2 黒麹および黒麹・乳酸菌飼料がプロイラーの盲腸内容物中の短鎖脂肪酸濃度に及ぼす影響

#### 1. 動物実験

基礎飼料として、プロイラー前期用標準飼料(社団法人日本科学飼料協会、東京都)を使用した。黒麹および黒麹・乳酸菌飼料は、実験1で調製したものをを用いた。黒麹飼料区には、基礎飼料に0.04%の黒麹を添加したものを、黒麹・乳酸菌飼料区には、基礎飼料に基礎飼料の1.2倍量(乾物換算1%)の黒麹・乳酸菌飼料を添加したものを与えた。

供試動物として、鹿児島くみあいチキンフーズ株式会社より供与されたチャンキー種初生雛50羽(雄25羽、雌25羽)を用いた。プロイラー前期用標準飼料(日本科学飼料協会、CP21.8%, ME3.10Mcal/kg)で1週間予備飼育した後、体重の近い雌雄各18羽を選抜し、平均体重および標準偏差が出来るだけ等しくなるように3区に分けた。雌雄各1羽ずつを組にしてケージに入れ、飼料および水は自由摂取とし、反復を6として16日間飼育した。体重は4日毎に飼料摂取量は毎日測定し、乾物摂取量基準飼料要求率を算出した。試験最終日に解剖し、肝臓および内容物を含む盲腸重量を測定した後、小腸(メッセル憩室から空回腸末端まで)

および盲腸は Mathlouthi ら (2002) の方法に準じて  $-20^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存し、内容物の pH、乳酸菌数、麹菌数および有機酸の測定に供した。なお、動物実験に関しては、鹿児島大学の動物実験指針に準じて行った。

## 2. 分析

### 1) 飼料の粗タンパク質および総エネルギー

飼料の粗タンパク質は、セミマイクロケルダール法で定量した窒素に 6.25 を乗じて求めた。総エネルギーは、ボンブカロリメーター (O.S.K 150, 小川サンプリング株式会社, 埼玉県) を用いて測定した。

### 2) 盲腸および小腸内容物中の乳酸菌数および糸状菌 (黒麹菌) 数の測定

糸状菌数は、腸内容物 1g に滅菌生理食塩水 9ml を添加し、実験 1 に準じて測定した。乳酸菌数は、Jin ら (1996) の方法に従い、腸内容物 1g に滅菌生理食塩水 9ml を添加し、実験 1 に準じて測定した。

### 3) 盲腸および小腸内容物中の有機酸濃度

盲腸および小腸内容物中の有機酸濃度は、イオン交換水で抽出した抽出液 10ml を黒麹・乳酸菌飼料と同様に処理、ろ液を得た。このろ液を実験 1 に準じて測定した。

## 3. 統計処理

各区のデータは、平均値±標準偏差で表示した。統計解析は、一元配置分散分析後に Tukey の多重比較検定を行い、5% 水準の差を有意とした。

## 結 果

表 1 に乳酸菌飼料および黒麹・乳酸菌飼料の pH および乳酸菌数を示した。pH は、乳酸菌飼料が 4.44 であり、黒麹・乳酸菌飼料

表 1. 乳酸菌飼料および黒麹・乳酸菌飼料の pH および乳酸菌数

	pH	乳酸菌数
乳酸菌飼料	4.44	$2.9 \times 10^7$
黒麹・乳酸菌飼料	3.70	$2.6 \times 10^9$

が 3.70 であった。また、飼料 1ml 当たりの乳酸菌数は、乳酸菌飼料が 2,900 万 cfu であり、黒麹・乳酸菌飼料が 26 億 cfu であった。

表 2 に供試黒麹の pH、酵素活性および胞子数を、表 3 に黒麹・乳酸菌飼料の酵素活性、生菌数および有機酸濃度を示した。黒麹は、酸性プロテアーゼ、キシラナーゼ、アミラーゼ活性を持ち、1g 当たりの胞子数は 9.2 億個であった。黒麹・乳酸菌飼料からは 1ml 当たり 6,000 個の糸状菌が検出された。乳酸菌数は 1ml 中に 26 億個検出され、大腸菌群は検出されなかった。また、酵素力価はほとんど検出されなかった。

表 4 に供試飼料の組成と成分を示した。各飼料の乾物当たりの粗タンパク含量および総エネルギーはほぼ同等であった。

表 5 に黒麹および黒麹・乳酸菌飼料給与がブロイラーの体重、臓器重量、消化管内内容物の pH に及ぼす影響を示した。増体量は、有意ではないが対照区に対し黒麹・乳酸菌飼料で 16% 向上した ( $p=0.064$ )。乾物飼料摂取量は、黒麹・乳酸菌飼料区で対照区および黒麹飼料区に比べ有意に増加した。乾物摂取量基準飼料要求率は、各区で差はなかった。肝臓重量、内容物を含む盲腸重量および盲腸内容物 pH には、各区で差がなかった。小腸内容物 pH は、黒麹区で対照区に比べて有意に低下した。

図 1 に小腸内容物中の生菌数を示した。乳酸菌数は、対照区に比べ黒麹・乳酸菌飼料区において増加する傾向にあった ( $p=0.098$ )。糸状菌数は、黒麹飼料区で黒麹・乳酸菌飼料区に比べ増加する傾向にあった ( $p=0.053$ ) が、個体差が大きく有意な差ではなかった。

図 2 に盲腸内容物中の生菌数を示した。乳酸菌数は、黒麹飼料区でやや増加したが、黒麹・乳酸菌飼料区ではさらにその数が増加し、対照区に比べ有意な差となった。糸状菌数は、対照区に比べ黒麹・乳酸菌飼料区および黒麹区で有意に増加した。消化管内内容物から検出された糸状菌は、すべて黒い分生子を形成しており、形態から黒麹菌であると類推された。

小腸内容物中の有機酸濃度を図 3 に示した。プロピオン酸および酪酸は検出されなかったものの、クエン酸、乳酸および酢酸を合わせた総有機酸の濃度は、黒麹区で対照区よりも高くなる傾向にあり ( $p=0.066$ )、黒麹・乳酸菌飼料区で有意に高くなった。

図 4 に盲腸内容物中のクエン酸、乳酸および SCFA 濃度を示し

表 2. 供試黒麹の pH と酵素活性

pH	酵素活性 (U/g)			胞子数 (個/g)
	酸性プロテアーゼ	キシラナーゼ	アミラーゼ	
3.14	12966	6.11	299	$9.2 \times 10^8$

表 3. 供試黒麹・乳酸菌飼料の酵素活性、生菌数および有機酸濃度

酵素活性 (U/g)			生菌数 (cfu/g)		有機酸濃度 ( $\mu\text{mol/ml}$ )		
酸性プロテアーゼ	キシラナーゼ	アミラーゼ	糸状菌数	大腸菌群	クエン酸	乳酸	酢酸
0.62	0.00	0.01	$6.0 \times 10^3$	<10	0.54	30.75	0.00

表 4. 飼料の組成と成分

	対照区	黒麹区	黒麹・乳酸菌飼料区
配合飼料 (g)	1000	1000	1000
黒麹 (g)	—	0.04	—
黒麹・乳酸菌飼料 (g)	—	—	1200
合計 (g)	1000	1000.04	2200
乾物 (g)	885	885	892.2
粗タンパク質 (乾物当り%)	24.63	24.63	24.43
総エネルギー (乾物 1kg 当たり Mcal)	5.49	5.49	5.47

表 5. 黒麹・乳酸菌飼料給与がブロイラーの生産性に及ぼす影響

	対照区	黒麹区	黒麹・乳酸菌飼料区
初体重 (g)	148.2±10.1	148.6±9.9	147.9±10.1
終体重 (g)	882.8±80.4	908.9±84.3	1000.3±87.3
増体量 (g)	734.7±82.2	758.3±81.9	852.4±82.5
乾物飼料摂取量 (g/16 日)	940.1±87.2 <sup>b</sup>	971.2±80.1 <sup>b</sup>	1091.9±57.8 <sup>a</sup>
乾物摂取量基準飼料要求率	1.282±0.029	1.284±0.034	1.286±0.063
肝臓重量 (g/100gBW)	25.93±3.11	25.46±4.87	31.10±5.30
内容物を含む盲腸重量 (g/100gBW)	8.00±1.21	7.94±2.84	8.38±1.82
盲腸内容物 pH	6.12±0.20	6.20±0.22	5.94±0.39
小腸内容物 pH	7.11±0.21 <sup>a</sup>	6.55±0.24 <sup>b</sup>	6.83±0.41 <sup>ab</sup>

異符号間に有意差 (p<0.05) あり  
 数値は平均値±標準偏差で表した (n=6)。

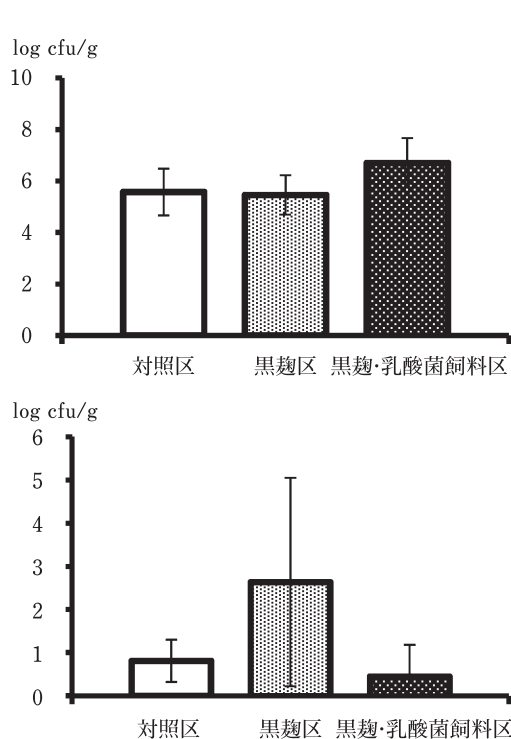


図 1. 小腸内容物中の生菌数  
 A: 乳酸菌数, B: 糸状菌数  
 誤差バーは標準偏差を示す。

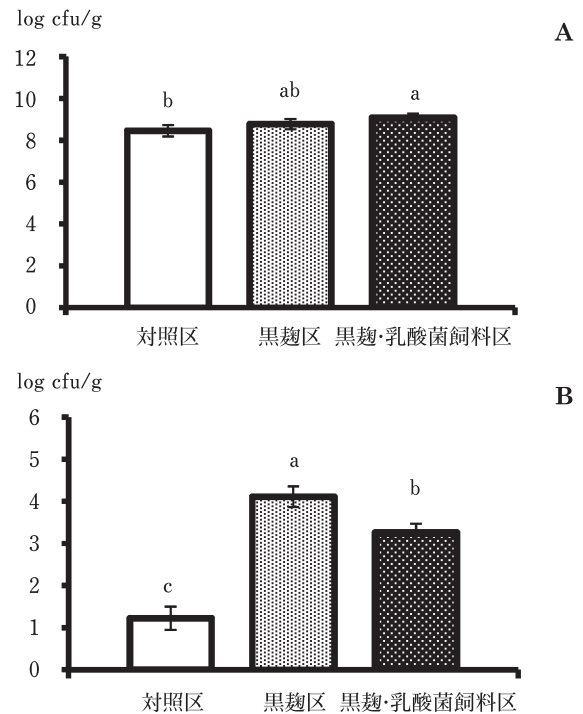


図 2. 盲腸内容物中の生菌数  
 A: 乳酸菌数, B: 糸状菌数  
 異符号間に有意差 (p<0.05) あり  
 誤差バーは標準偏差を示す。

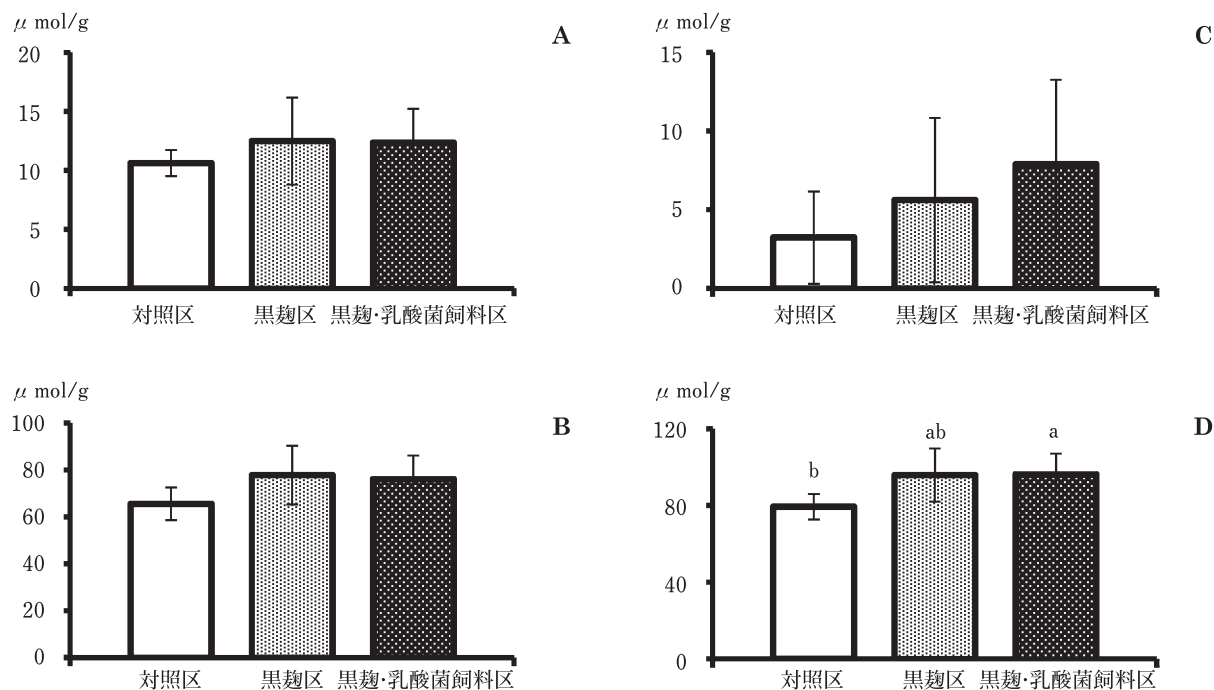


図 3. 小腸内容物中の有機酸濃度  
 A: クエン酸, B: 乳酸, C: 酢酸, D: 総有機酸 (クエン酸, 乳酸および酢酸の合計)  
 異符号間に有意差 ( $p < 0.05$ ) あり  
 誤差バーは標準偏差を示す。

た。黒麹飼料区で盲腸内容物中の有機酸はわずかに増加した。クエン酸、乳酸、酢酸およびプロピオン酸濃度は、黒麹・乳酸菌飼料区で対照区に比べ有意に上昇し、酪酸濃度は、上昇する傾向にあった ( $p = 0.079$ )。総有機酸濃度は、黒麹・乳酸菌飼料区で有意に上昇した。

## 考 察

本研究では、実験1において飼料米を原料として黒麹菌と乳酸菌を共培養し、多量の乳酸菌を含有する試料 (黒麹・乳酸菌飼料) の調製を試みた。その結果、黒麹菌と乳酸菌の共培養により pH は 3.7 まで低下し、黒麹菌と乳酸菌を多量に含む良質の黒麹・乳酸菌飼料が得られた。この黒麹・乳酸菌飼料は本研究の目的達成に好適である。なお、乳酸菌のみの培養では pH は 4.4 までしか低下せず、乳酸菌数も黒麹・乳酸菌飼料に比べ著しく少なかった (表 1)。

黒麹は、アミラーゼ、プロテアーゼ、セルラーゼやキシラナーゼ活性を持ち、飼料中のタンパク質およびエネルギーの消化を促進する (Hajati ら 2010)。また、著者らは、プロイラーに黒麹 0.04 % を添加した飼料を与え、配合飼料を給与した区 (対照区) と盲腸内容物の BBA 濃度を比較したところ ( $n = 6$ )、対照区の盲腸内容物からは BBA は検出されず、黒麹区からは  $4.53 \pm 2.59$  ppm (平均値 ± 標準偏差) の BBA が検出され、この差は有意であったことを確認している。一方、乳酸菌は、腸内細菌叢を改善し、宿主の健康に貢献する (Ahmed ら 2006, Jin ら 1998)。これらのこと

から、黒麹と乳酸菌はプロイラーの成長に対して相乗効果を示すことが期待された。期待通り、実験2において、黒麹・乳酸菌飼料により増体が 16% 促進され、小腸内容物中の乳酸菌数は増加する傾向を示し、盲腸内容物中の乳酸菌数は有意に増加した。この増体効果は、麹により消化が促進され、BBA が作られ、さらに、乳酸菌の増加により腸内環境が改善され鶏の健康が増進したことなど複数の要因によるものと考えられる。また、黒麹の酵素によりオリゴ糖やアミノ酸等の乳酸菌の生育に欠かせない成分が生成され、乳酸菌の生育が一層促進され宿主の健康増進に寄与した可能性がある。

糸状菌数は、黒麹および黒麹・乳酸菌飼料により盲腸内において有意に増加し、麹菌はプロイラーの下部消化管内で生存できることが示された。しかし、小腸における麹菌数および乳酸菌数に対する効果は明瞭でなかった。これは、小腸が消化と吸収を行なう場である上、内容物の滞留時間が短いためであると考えられる。

鶏回腸内細菌叢の構成は、*Lactobacillus* が圧倒的に優勢であり、*Bifidobacterium*, *Clostridium* などは通常検出されない (光岡ら 1991)。一方、盲腸では偏性嫌気性菌が最優勢となり、総菌数も最大となる。本実験においても、乳酸菌数は全ての区で小腸よりも盲腸内で増加した。本実験では、乳酸菌の培地として、*Bifidobacterium* 属が生育できない BCP 加プレート寒天培地を用いた。したがって、ここで検出された乳酸菌の大半は、この培地で良好に生育するとされる *Lactobacillus* 属や *Strepto-*

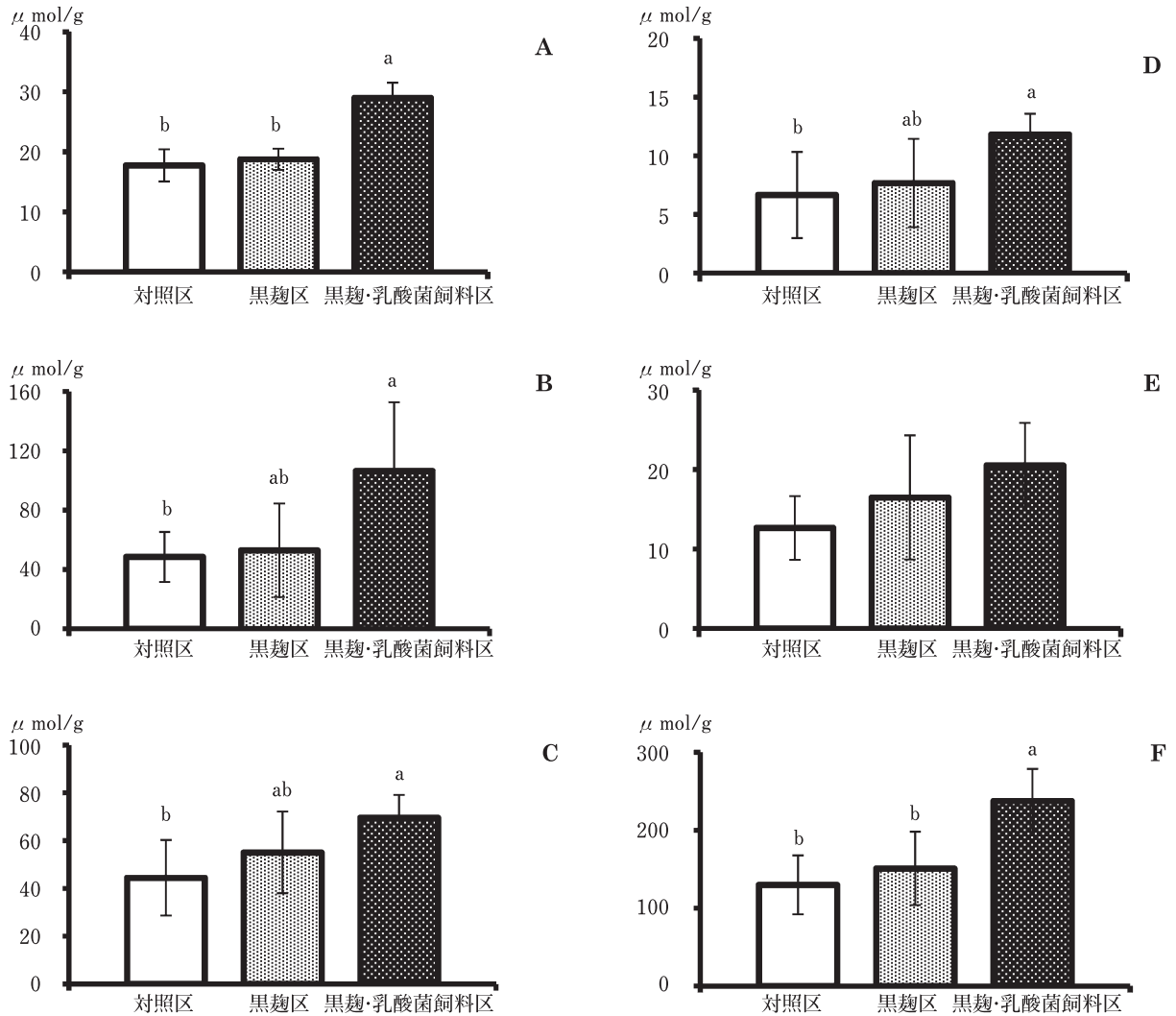


図 4. 盲腸内容物中の有機酸濃度  
 A: クエン酸, B: 乳酸, C: 酢酸, D: プロピオン酸, E: 酪酸, F: 総有機酸 (クエン酸, 乳酸, 酢酸, プロピオン酸および酪酸の合計)  
 異符号間に有意差 ( $p < 0.05$ ) あり  
 誤差バーは標準偏差を示す。

*coccus* 属 (荻原ら 1983) であった可能性が高い。

小腸内容物中のクエン酸、乳酸および酢酸を合わせた総有機酸濃度は、黒麹・乳酸菌飼料により有意に上昇したが、プロピオン酸および酪酸は検出されなかった。このことは、小腸で生育する細菌が主に SCFA を生成しない通性嫌気性菌であるとの報告 (光岡ら 1991) と符合する。一方、黒麹・乳酸菌飼料給与により盲腸内容物中のクエン酸、乳酸、酢酸およびプロピオン酸濃度は有意に上昇し、酪酸濃度は増加する傾向を示した。総有機酸濃度も有意に上昇した。ヒトにおいて、乳酸は腸内細菌により発酵され主に酪酸になると言われているが (Bourriaudら 2005)、プロイラーの腸内でも同様のことが起こっている可能性が高い。麹は乳酸菌を増加させる可能性があることから、盲腸内で乳酸の生成が促進され、その結果、乳酸利用性細菌が増加し、盲腸内での SCFA 合

成が促進される可能性が考えられる。

消化管内で生産された SCFA の 90% 以上が吸収されると言われている (Henningssonら 2001, 坂田ら 1994) ので、麹・乳酸菌飼料による増体効果は、すでに述べたように麹による消化促進および BBA の合成に加え、麹が下部消化管においてオリゴ糖から SCFA 生成を促進し免疫機能を亢進するなど健康増進効果を示した可能性がある。また、繊維由来の SCFA 自身がエネルギー源となったことも一因であると考えられる。

ポジティブコントロールとして設けた黒麹飼料区においても増体をはじめ消化管内容物の有機酸濃度などほとんど全ての項目において黒麹・乳酸菌飼料区と同様の効果が認められたが、黒麹・乳酸菌飼料に比べ効果が劣った。これは、乳酸菌数の違いに加え、黒麹区と黒麹・乳酸菌飼料区とは消化管内の乳酸菌の構成

が異なったことによるものと推測される。

以上のことから、黒麹・乳酸菌飼料は腸内容物中の乳酸菌数および有機酸濃度を高めブロイラーの生産性を向上させることが示唆された。

## 引用文献

- Ahmad, I. Effect of probiotics on broilers performance. *International Journal of Poultry Science*, 5 : 593-597. 2006.
- Bourriaud C, Robins RJ, Martin L, Kozłowski F, Tenaillieu E, Cherbut C and Michel C. Lactate is mainly fermented to butyrate by human intestinal microfloras but inter-individual variation is evident. *Journal of Applied Microbiology*, 99 : 201-212. 2005.
- Chen WJ, Anderson JW and Jennings D. Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol-fed rats. *Experimental Biology and Medicine*. 175 : 215-218. 1984.
- 独立行政法人農業生物資源研究所. 微生物遺伝資源利用マニュアル (16). 1-4. 独立行政法人農業生物資源研究所. 茨城. 2004.
- Fuller R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66 : 365-378. 1989.
- Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, Nakanishi Y, Uetake C, Kato K, Kato T, Takahashi M, Fukuda NN, Murakami S, Miyauchi E, Hino S, Atarashi K, Onawa S, Fujimura Y, Lockett T, Clarke JM, Topping DL, Tomita M, Hori S, Ohara O, Morita T, Koseki H, Kikuchi J, Honda K, Hase K and Hiroshi Ohno H. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 504, 446-450. 2013.
- Hajati H. Effects of enzyme supplementation on performance, carcass characteristics, carcass composition and some blood parameters of broiler chicken. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 5 : 221-227. 2010.
- Hara H, Haga S, Aoyama Y and Kiriya S. Short-chain fatty acids suppress cholesterol synthesis in rat liver and intestine. *The Journal of Nutrition*, 129 : 942-948. 1999.
- Henningson Å, Björck I and Nyman M. Short-chain fatty acid formation at fermentation of indigestible carbohydrates. *Scandinavian Journal of Nutrition*, 45 : 165-168. 2001.
- Hong SB, Lee M, Kim DH, Varga J, Frisvad JC, Perrone G, Gomi K, Yamada O, Machida M, Houbraken J, and Samson RA. *Aspergillus luchuensis*, an industrially important Black *Aspergillus* in East Asia. *PLoS ONE* 8(5) : e63769. 2013.
- 石橋 晃. 新編動物栄養試験法. 第1版. 497頁, 499-500頁. 養賢堂. 東京.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N and Jalaludin S. Influence of dried *Bacillus subtilis* and lactobacilli cultures on intestinal microflora and performance in broilers. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 9 : 397-404. 1996.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N, Kudo H and Jalaludin S. Studies on the intestinal microflora of chicken under tropical condition. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 10 : 495-504. 1997.
- Jin LZ, Ho YW, Abdullah N and Jalaludin S. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. *Poultry Science*, 77 : 1259-1265. 1998.
- Kamizono T, Saputra D, Miura I, Kikusato M, Hayashi K and Toyomizu M. Effect of feeding butoxybutyl alcohol on the growth performance and status of skeletal muscle proteolysis in broiler chickens. *Journal of Agricultural Science*, 1-9. 2015.
- Kimura I, Inoue D, Maeda T, Hara T, Ichimura A, Miyauchi S, Kobayashi M, Hirasawa A and Tsujimoto G. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108 : 8030-8035. 2011.
- Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T, Terasawa K, Kashihara D, Hirano K, Tani T, Takahashi T, Miyauchi S, Shioi G, Inoue H and Tsujimoto G. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nature Communications*, 4 : 1829. 2013.
- 小林洋一・遠山 清・寺島経男. 乳酸桿菌の生物学的特性について. *日本細菌学会誌*, 29 : 691-697. 1974.
- 厚生省. 乳および乳製品の成分規格等に関する省令 (厚生省令第52号). 1951.
- Ljungh Å and Wadström T. Lactic acid bacteria as probiotics. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 7 : 73-90. 2006.
- Mathlouthi N, Mallet S, Saulnier L, Quemener B, and Larbier M. Effects of xylanase and  $\beta$ -glucanase addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. *Animal Research*, 51 : 395-406. 2002.
- Mishra V and Presad DN. Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 103 : 109-115. 2005.
- 光岡知足. 家畜生産における生菌剤の利用. *ビフィズス*, 5 : 1-18. 1991.
- Mountzouris KC, Tsirtsikos P, Kalamara, Nitsch S, Schatzmayr G and Fegeros K. *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science* 86 : 309-317. 2007.
- 日本醸造協会. 第四回改正国税庁所定分析法注解. 221-222, 181-183. 日本醸造協会. 東京. 2003.
- 萩原博和・佐藤啓子・春田三佐夫. 乳酸菌数測定用公定培地“BCP加プレートカウント寒天”の検出測定能の検討. *食品衛生学雑誌*, 24 : 230-233. 1983.
- 坂田 隆. 腸内細菌からのメッセージ. *科学と生物*, Vol. 32, No. 1, 23-31. 1994.
- Saleh AA, Eid YZ, Ebeid TA, Kamizono T, Ohtsuka A and Hayashi K. Effects of feeding *Aspergillus awamori* and *Aspergillus niger* on growth performance and meat quality in broiler chickens. *Journal of Poultry Science*, 48 : 201-206. 2011.
- Saleh AA, Eid YZ, Ebeid TA, Ohtsuka A, Hioki K, Yamamoto M and Hayashi K. The modification of the muscle fatty acid profile by dietary supplementation with *Aspergillus awamori* in broiler chickens. *British Journal of Nutrition*, 108 : 1546-1602. 2012.
- Susca A, Proctor RH, Butchko RAE, Haidukowski M, Stea G, Logrieco A and Moretti A. Variation in the fumonisin biosynthetic gene cluster in fumonisin-producing and nonproducing black aspergilli. *Fungal Genetics and Biology*, 73 : 39-52. 2014.
- Yamada O, Takara R, Hamada R, Hayashi R, Tsukahara M and Mikami S. Molecular biological researches of Kuro-Koji molds, their classification and safety. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 112 : 233-237. 2011.
- 山本 泰・東 和男・好井久雄. 麹菌のキシラナーゼ活性について.

て. 日本食品工業学会誌, 28 : 496-501. 1981.  
Yang CM, Cao GT, Ferket PR, Liu TT, Zhou L, Zhang L, Xiao YP  
and Chen AG. Effects of probiotic, *Clostridium butyricum*, on  
growth performance, immune function, and cecal microflora in

broiler chickens. Poultry Science, 91 : 2121-2129. 2012.  
Yeo J and Kim KI. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a  
probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease  
activity in broiler chicks. Poultry Science, 76 : 381-385. 1997.

## Modification of Cecal Short-Chain Fatty Acids Profile by *Aspergillus Luchuensis* in Broiler Chickens

Kumiko Hioki<sup>1,3</sup>, Chihoko Kawasaki<sup>2</sup>, Masahiro Yamamoto<sup>1</sup>,  
Kunioki Hayashi<sup>1</sup> and Hirosuke Oku<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Biogenkoji Research Institute, Fumoto, Mizobe-cho, Kirishima city, Kagoshima 899-6404

<sup>2</sup> Kawachi Genichiro Shoten, Fumoto, Mizobe-cho, Kirishima city, Kagoshima 899-6404

<sup>3</sup> The United Graduate School of Agricultural Sciences Kagoshima University, Korimoto, Kagoshima city, 890-8580

This study was conducted to examine the effects of feeding mixed culture of *Aspergillus luchuensis* and *Lactobacillus casei* (AL feed) on live microorganisms and organic acids content in gastrointestinal tracts and performance in broiler chickens. Chunky (Ross 308) male and female chickens (18 chickens each) were allotted to control group (basal feed), AL feed group (basal feed added 1% AL feed as dry matter bases) and Koji group (basal feed supplemented with 0.04% *A. luchuensis*) as positive control. As the result, body weight gain tended to be improved (16%) by feeding AL feed compared to the control. Lactic acid bacteria was significantly increased in cecum and tended to be increased in small intestine by AL feed. Koji mold in cecum was significantly increased by AL feed and Koji feed. Although propionate and butyrate were not detected in small intestine, total acids (citrate, lactate and acetate) were significantly higher in AL feed group and tended to be higher in Koji group than control group. Cecum citrate, lactate, acetate and propionate were significantly increased and butyrate tended to be increased by AL feed. Total organic acids in cecum were significantly increased by AL feed. In conclusion, it was suggested that *A. luchuensis* and *L. casei* concertedly increase live lactic acid bacteria and organic acid content in gastrointestinal tracts and thus improve performance in broiler chickens.

(*Japanese Journal of Poultry Science*, 52 : J48-J55, 2015)

**Key words** : *Aspergillus luchuensis*, broiler, *Lactobacillus casei*, short-chain fatty acids