

1 新技術情報

マイクロカプセル化消化酵素による
肥育豚糞排せつ量の減量化

九州大学大学院農学研究院 教授 松本 清

1. はじめに

近年、畜産を取り巻く環境問題の改善が叫ばれ、家畜排泄物の適切な処理が重要な課題となっている。しかしながら、家畜排泄物の処理は乾燥、発酵過程に多大な労力とエネルギーを要するだけでなく、その処理施設に莫大な費用を伴う。従って、低コスト且つ効率的な処理技術の開発が急務であるが、それ以前に、いかに糞排泄物を減少させ得るかが、処理労力と経費に大きく影響する。

筆者らは、マイクロカプセル化技術を食品機能改善の基本プロセスとして確立することを目的として、有孔デン粉を用いた噴霧乾燥法を考案し、食品分野への適用性を提案してきた。本研究では、消化酵素をマイクロカプセル化する技術を開発すると共に、肥育豚糞排泄量並びに臭気改善を図った。

2. 実験方法

1) アスペラーゼのマイクロカプセル化

糖分解性酵素アスペラーゼ(キシラナーゼ・ペクチナーゼ複合酵素、*Aspergillus usamii* mut. shiro-usamii由来、至適pH5.0~7.0、至適温度60°C)のマイクロカプセル化は噴霧乾燥法にて行った。すなわち、アスペラーゼ2.1 L(285 mg/mL)に対して有孔デン粉900 gを添加し、超音波処理により酵素をデン粉細孔内に十分浸透させることで、アスペラーゼ埋設有孔デン粉を調製した(1.1 kg生成)。凍結乾燥後、腸溶性被膜剤Eudragit L100/エタノール溶液22 L(50 mg/mL)にこの凍結乾燥品を移し、噴霧乾燥することにより(入口温度;105°C、出口温度;62~79°C)、目的とするマイクロカプセル化酵素を作製した。

2) マイクロカプセル化消化酵素の摂食効果

(1) 肥育豚への適用: 糞排泄物の減量及び消化性の改善を目的として、肥育豚に対するカプセル化酵素の摂食実験を行った。供試飼料は、大豆粕、乾燥ホエー、コーンスターチを主体とする基礎飼料(Total Digestible Nutrients; 85%, Digestible Crude Protein; 18%)に、遊離酵素(12,000 U/g)及びカプセル化酵素(3075 U/g)を0.5 wt%添加した飼料の合計3種類を用いた。なお、強い糖化力とコストを考慮して、カプセル化酵素は、遊離酵素活性の1/4に相当する量を添加した。実験は、体重約60 kgの成育豚(14週齢)3頭を用い、1期7日間とし、3種類の飼料を順次摂食させるスイッチ・バック法で実施した。飼料給与量は、1日2 kgで朝1回与え、飲水は自由とした。糞は後の4日間に全量採集し、95°Cで24時間乾燥後、粉碎して分析に供した。

(2)子豚への適用: 飼料効率及び糞臭気の改善を目的として、子豚に対するカプセル化酵素の摂食実験を行った。供試飼料は、大豆粕、乾燥ホエー、コーンスターチを主体とする基礎飼料 (Total Digestible Nutrients; 84%, Digestible Crude Protein; 19%) に、遊離酵素及びカプセル化酵素を各0.5 wt%、1.0 wt%添加した飼料の合計3種類を用い、市販の人工乳に脱脂粉乳とコーンスターチを配合した飼料をコントロールとして比較した。なお、カプセル化酵素は、遊離酵素活性の1/2に相当する量を添加した。供試豚は、平均体重6.0 kgの子豚(3週齢)32頭を用い、各群8頭(♂; 4頭、♀; 4頭)としてコンクリート床豚房に群飼し、豚舎内の環境温度は23°Cに保った。摂食実験は、離乳後14日間にわたって実施し、飼料摂取量及び飲水は自由とした。体重と飼料摂取量は1週間毎に記録し、糞は後の2日間に部分採集し、分析に供した。糞の臭気成分は、Tenax GC (2,6-diphenyl-p-phenylene oxide系)を用いたヘッドスペース法により分析した。

3. 結果及び考察

1)アスペラーゼのマイクロカプセル化とその性質

まず、噴霧乾燥法により作製したマイクロカプセルへのアスペラーゼの包接効率を検討した。ペクチンを基質としてカプセル内の酵素活性をもとにアスペラーゼの包接効率を算出した結果、86.7%と極めて高い包接率を得た。図1は、得られたマイクロカプセル化アスペラーゼのSEM写真を示している。マイクロカプセルの形態は、若干の凹凸が認められたものの、カプセルサイズが10~20 μm の微粒子であった。以上のことから、有孔デンプンを用いた噴霧乾燥法では、対象物質に応じた適切な条件で処理することにより、経済性、安全性及び簡便性に優れたマイクロカプセルの作製が可能であることが明示された。

次に、Eudragit L100で被膜したカプセルの耐酸性を検討した。すなわち、日本薬局方に準じて調製した人工胃液(0.2%塩化ナトリウム含有塩酸溶液、pH 1.2)処理後のカプセルのアスペラーゼ保持率を測定した。本カプセルは3時間処理によりカプセル内のアスペラーゼ活性が約20%低下したが、それ以後はほぼ一定の活性を保持していた。このことは、カプセル化により、アスペラーゼが安定な状態で胃内を通過し得ることを明示するものである。続いて、日本薬局方に準じて調製した人工腸液(リン酸塩緩衝液、pH 6.8)中で所定時間処理した際のカプセルからのアスペラーゼの溶出率を検討した。人工腸液へのアスペラーゼの溶出は極めて迅速であり、反応開始後1時間で約95%のアスペラーゼ溶出率が達成され、それ以後は緩慢に増加する傾向が認められた。以上の結果から、作製したマイクロカプセル化アスペラーゼは、胃内環境下での耐性と小腸域での易溶出性を兼備していることが確認された。

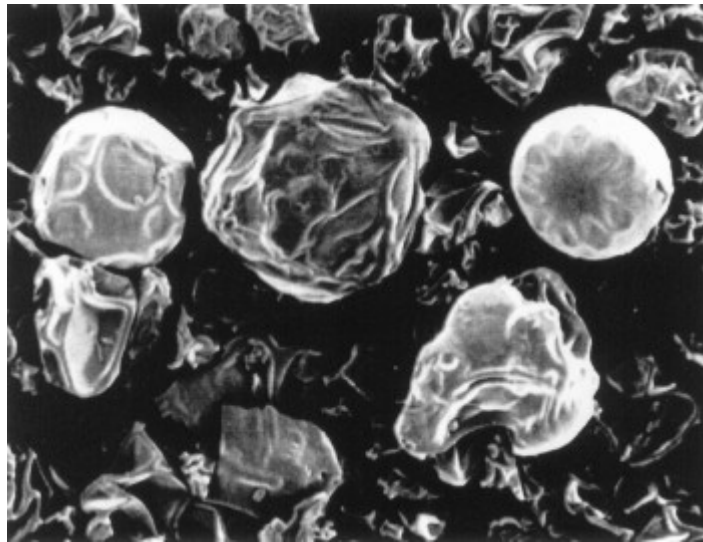


図1 マイクロカプセル化酵素のSEM写真

2)カプセル化消化酵素の肥育豚への適用

(1)カプセル化酵素による糞排泄物の減量効果:カプセル化酵素の摂取による肥育豚の糞排泄物の減量効果を検討した。表1は、基礎飼料、遊離酵素添加飼料、カプセル化酵素添加飼料を摂取した際の肥育豚の糞排泄量、乾燥重量及び水分含量を示している。

遊離酵素添加群では、生糞量のある程度の減量が達成され、基礎飼料群に対して29%の減少率を得た($p < 0.05$)。一方、カプセル化酵素添加群では、糞排泄量の更なる減少傾向が認められ、基礎飼料群に対して43% ($p < 0.01$)、遊離酵素添加群に対して20%低い糞排泄量を示し、本カプセル摂取による生糞量の顕著な減量効果が明らかとなった。また、カプセル化酵素摂取による糞乾物量の低減化も可能であり、基礎飼料群、遊離酵素添加群に対して各34% ($p < 0.05$)、13%少ない糞乾物量であった。以上の結果から、本カプセル化酵素を同時摂取することは、糞排泄量及び糞乾物量を有意に減量させ得ることを明示しており、多大な労力と経費を伴う生糞処理の節減に極めて有用であると考えられた。

表1 肥育豚糞量及び食餌成分の消化率

餌	生糞量 (g/d)	糞乾物量 (g/d)	水分 (%)	見掛け消化率(%)				
				乾物量	粗蛋白	可溶無窒素物	粗脂肪	粗繊維
基礎飼料	923	292	68.4	84.0±2.1	78.1±3.2	91.8±1.0	62.8±6.6	34.5±9.7
+遊離酵素	653	223	65.8	87.7±1.7	86.0±1.3	92.8±1.0	75.9±5.8	42.0±6.4
+カプセル酵素	523	194	62.9	89.4±0.7	90.9±0.8	93.0±0.3	80.6±0.7	47.6±3.7

(2)カプセル化酵素による消化率の改善効果:カプセル化酵素の摂取による肥育豚の消化率の改善効果を検討した。表1は、基礎飼料、遊離酵素添加飼料、カプセル化酵素添加飼料の摂取による肥育豚の栄養成分の消化率を比較したものである。基礎飼料群と比較して、遊離酵素添加群

では、乾物、粗蛋白質、可溶無窒素物、粗脂肪、粗繊維の消化率は僅かに増加した。これに対して、カプセル化酵素添加群では、カプセル化法による処理効果の差が顕著に現れ、基礎飼料に対して各5.4%、12.8%、1.2%、17.8%、13.1%の改善効果を得た。以上の結果は、アスペラーゼをマイクロカプセル化(アスペラーゼの発現部位を腸管内に限定)することにより、その消化率の顕著な改善効果が明らかとなり、肉質に及ぼす影響との関連からも極めて有効であることを示している。

3)カプセル化消化酵素の子豚への適用

通常、離乳前後の子豚は、飼育環境の変化及び小腸形態の変化などにより、飼料効率(=増体量/摂取量)の低下や糞の軟便化を招きやすいことから、最大の動物生産を達成する養豚飼料の開発は、家畜飼養上の要務となっている。本項では、カプセル化酵素の養豚飼料としての有用性を明らかにするために、離乳子豚に対する飼料効率の改善効果並びに糞排泄物の臭気改善効果を検討した。

(1)カプセル化酵素による飼料効率の向上効果: 摂食期間中の各群離乳豚の成長に及ぼすカプセル化酵素の効果を検討した。表2に示したように、コントロールのカゼイン飼料群と比較して、基礎飼料群では、摂取量が1.8倍と大幅に増大したものの、体重の増量効果はほとんど認められず、その飼料効率は1/2程度に低下した。同様に、遊離酵素添加によっても、飼料効率に対して十分な改善効果を得るには至らなかった。これに対して、カプセル化酵素添加群では、摂取量及び増体量は各1.5倍、1.3倍の改善効果が認められ、さらに飼料効率に関してもほぼ同等の値が得られた。このことは、本カプセル化酵素の同時給与が離乳子豚の成長阻害を大幅に緩和し、対照としたカゼイン飼料と何ら遜色がないことを示すものである。

表2 離乳子豚に対するカプセル化酵素の効果

項 目	食 餌			
	脱脂粉乳	大豆蛋白	+遊離酵素	+カプセル化酵素
終体重(Kg)	8.6	8.9	9.3	9.1
体重増(g/日)	185	207	236	241
摂食量(g/日)	234	428	429	345
飼料効率 (G/F-ratio)	0.79	0.48	0.55	0.70

(2)カプセル化酵素による糞臭気の改善効果: GC分析の結果より、糞臭気的主要成分と考えられる24個のピークを選び、GC-MS分析によりそれぞれのピークに対応する揮発性成分を同定した。これら24の揮発性成分の基礎飼料群、遊離酵素添加群、カプセル化酵素添加群でのピーク面積を比較し、表3に示した。なお、糞排泄物の臭気改善を目的としていることから、基礎飼料群より増大したピーク面積は、比較の対象から除外した(一で表記)。基礎飼料群と比較して、カプセル化酵素添加群ではアルコール類、脂肪酸類をはじめ悪臭香の強い揮発性成分の減少が認められた。特に、1-propanol, 1-pentanol, isobutanoic acidはピーク面積比が数%にまで低減していた。これら臭気成分の減少は、炭水化物(ペクチン、キシラン)に対するアスペラーゼの加水分解作用により、腸内細菌の有機酸発酵が一部抑制されるためと考えられた。なお、先に述べたように、カ

プセル化酵素の摂取は離乳子豚の飼料効率を効果的に促進していることから、これら揮発性成分の減少は、家畜飼養上悪影響を及ぼすものではない。一方、acetone, 2-butanone, ethanol, 2,3-butanedione, (R)-2-butanolの5種の揮発性成分は基礎飼料群の1.5倍程増加していることが確認されている。これらは不快臭を与えるものではないことから、その増加は糞排泄物の臭気改善に寄与する可能性が高いと考えられた。

表3 遊離酵素及びカプセル化酵素による臭気改善効果

化 合 物	相 対 面 積 減 少 率(%)	
	大豆飼料+遊離酵素	大豆飼料+カプセル酵素
1 Acetaldehyde	64	62
2 Dimethylsulfide	96	90
3 Acetone	-	-
4 2-Butanone	-	-
5 2-Propanol	-	62
6 Ethanol	-	-
7 2,3-Butanedione	-	-
8 (R)-2-Butanol	-	-
9 1-PrOpanol	14	7
10 Dimethyl disulfide	-	40
11 2-Methyl-1-propanol	56	52
12 1-Butanol	36	20
13 2-Methyl-1-butanol	66	68
14 1-Pentanol	22	5
15 Octanal	-	50
16 Hexanol	81	79
17 Nonanal	80	80
18 Acetic acid	56	63
19 2-Ethyl-4-methylpentanol	89	66
20 Propanoic acid	70	72
21 Isobutanoic acid	18	7
22 Butanoic acid	40	65
23 Isovaleric acid	56	82
24 Valeric acid	74	55

- :コントロールより増加した化合物

4. まとめ

以上の知見は、アスペラーゼをマイクロカプセル化(アスペラーゼの発現部位を腸管内に限定)することにより、豚の糞排泄物が減量すること並びに糞臭気が改善することを明らかにしているだけでなく、各種栄養素の消化性が改善することも明示しており、有孔デン粉-噴霧乾燥法の有効性が確認された。

5. 今後の課題

実験の都合上、実施できなかったより多くの肥育豚を用いた摂食実験により(今回は3頭のスイッチ・バック法を実施)家畜排泄物処理技術としてのカプセル化酵素の有用性を確認することが必要である。また、遊離酵素活性の1/4の添加量にも拘わらず、本カプセル化酵素が十分な糞排泄物の減量効果を有していたことから、最適添加量(効果が認められる最小量)を把握することにより更なるランニングコストの低減化が可能になると考えられる。