

稚内層珪藻頁岩利用畜舎内衛生環境改善

ナノソーヤ ロック



株式会社フロンティアインターナショナル
FRONTIER INTERNATIONAL CO.,LTD.

目次

1. 開発の概要	1
2. 稚内層珪藻頁岩の特長	2
3. 乳房炎の原因と課題	3
4. 農場における現状	5
5. 稚内層珪藻頁岩の防菌	7
6. 稚内層珪藻頁岩への細菌の吸着	10
7. 稚内層珪藻頁岩の細菌増殖の抑制	23
8. 酪農場における牛床散布実証実験	26
9. 終わりに	29

1. 開発の概要

畜産生産現場においては、子豚の下痢、乳牛の乳房炎多発、産卵率の低下が極めて大きな問題となっています。このことにより畜産農家経営に与える損失を最小限に食い止めることは今後の畜産の発展にとって重要な課題となります。家畜の健康維持の重要な要因の一つとして、子豚分娩舎離乳舎の床、牛床の敷き藁、鶏舎の天井壁床等湿った条件下で繁殖した原因菌が、家畜に付着感染することが考えられます。

従来の畜舎の除菌剤には、石灰などの殺菌性の資材やケイ酸化合物やゼオライト等による吸着等を利用するものが知られています。しかし、殺菌性のものは家畜に与える負荷が大きく、吸着を利用するものではその効果が不十分となります。

私たちは、畜舎をドライでクリーンな衛生的管理により家畜を清潔に保つことが重要と考え、試験研究機関の協力を得て菌増殖抑制効果の高い畜舎衛生資材開発を検討してきました。その試みの中で、稚内層珪藻頁岩はその優れた吸着性により、従来の吸着材を大きく超える細菌吸着力を持つことが見い出されました。

本開発研究では稚内層珪藻頁岩を中核成分とする、除菌性に優れ、家畜に負荷を与えない安全な畜舎内の衛生を維持するための資材を開発することを目的としました。

2. 稚内層珪藻頁岩の特徴

稚内層珪藻頁岩は、日本の誕生と同じ時期に生まれたと云われています。

約1000万年前にプランクトンが大量発生し、海底盆地に大量の死骸が蓄積し、柔らかい泥状の珪藻土が、海水、圧力、熱により多孔状の頁岩に変化したものです。稚内層珪藻頁岩は他の珪藻頁岩に無い、メゾスケール（数十nmレベル）の細孔を持っています。そのため稚内層珪藻頁岩は、優れた吸湿、放湿性能（自律性自然呼吸調湿機能）を持ち、また湿度が60%以上になると急速に湿気を吸収し、また湿度が下がると湿気を放出するため、湿度を常に60%前後に調整することが出来るという高度に機能的な性質を持っています。また優れたアンモニア吸着機能があることも知られています。この他にも、熱伝導率が低く、酸に浸されにくいといった特徴や、通常の住環境の下において（遠）赤外線を放出することも現在明らかになっています。

非晶質シリカが支配的な鉱物資源であり、比表面積は、100 m²/gとなり一般的な珪藻土の約4倍になっています。細孔容積も約4倍と云われ化学物質の吸着性にも優れ、各方面で商品化が図られています。資源としての稚内層珪藻頁岩は、宗谷地方全域に堆積し、埋蔵量も極めて多く道産資源としては有望な資源であり、今後の活用が期待されています。

3. 乳房炎の原因と課題

乳房炎の原因は、原因菌が乳牛の乳房内に感染し、乳腺組織を破壊して炎症を起こしてしまいます。この原因菌の種類によって、乳房炎は伝染性乳房炎と環境性乳房炎に分類されます。

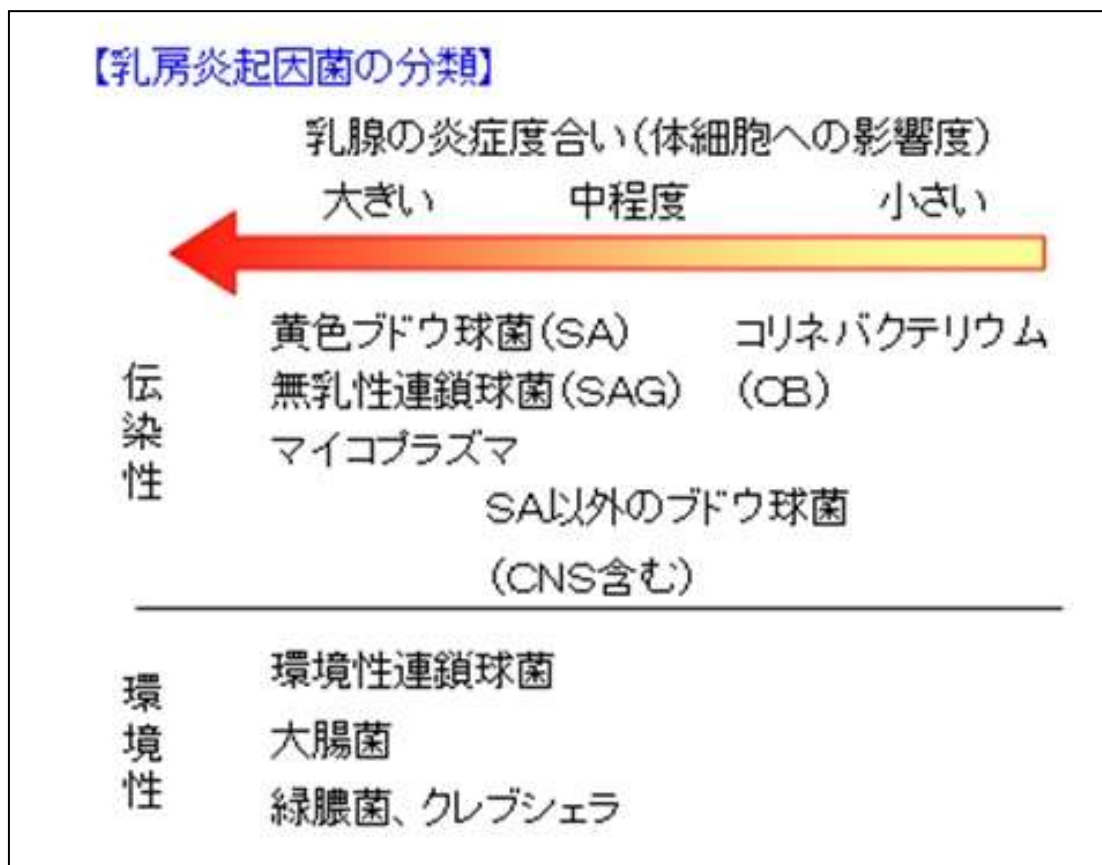
伝染性乳房炎は、感染力が強く、主に搾乳中に牛から牛へ、手や搾乳器具を介して伝染します。その原因菌は乳房内、乳頭付近、牛床に落ちた漏乳、湿った牛床に繁殖生存し、またその菌の数が少なくなっても条件が整うといとも簡単に増殖し感染を広げてしまいます。



主に搾乳中に伝染する事が多く、搾乳者の注意力、搾乳機の性能などのかかわりも多いため、乳房洗浄タオル、ミルカーなど洗浄、殺菌、乾燥といった日々の作業に注意を払う事が必要となってきます。代表的な菌として、レンサ球菌（無乳性、減乳性）、黄色ブドウ球菌があげられます。

環境性乳房炎は、伝染力は弱く、日々の搾乳時における日常行動の中で感染します。その原因菌は牧場内のあらゆる所に生存しており、湿度の高い牛舎内の牛床、通路、飼料庫、保育房、飼槽、腐敗した敷料、パトックの出入り口など湿った状況下では細菌の増殖源になっています。環境性乳房炎は一気に数頭に感染する事が多く、牛群の中でも体細胞が少なく産乳量が多い乳牛が罹りやすく、原因菌の種類によっては症状も重く、経済的損出額も多くなっています。

代表的な菌に、大腸菌、環境性レンサ球菌、真菌、緑膿菌、クレブシラ菌があります。



4. 農場における現状

乳房炎による経済的損出について、北海道東部地域の5農協の年間乳代損出だけで、およそ10億円、一牧場当たりの平均で100万が現状となっています。

乳房炎による乳量と乳代の損失試算

農協	出荷乳量 t	販売額百万	体細胞数万ml	乳量損失率%	乳代損失額百万	1戸当損失額千円
A	56.590	4.238	26.0	3.08	135	1.095
B	90.168	6.700	27.6	2.81	194	783
C	97.457	7.337	21.5	3.16	239	1.092
D	152.772	11.408	26.9	3.15	371	1.125
E	48.309	3.602	27.7	3.42	128	966
合計	445.296	33.285	25.6	3.08	1.067	1.014

(根室農業普及センター)

また、1頭当たり年間87,112円(重伸隆夫:しゃくなげ会報)、1戸当たり200万、北海道全体で300億とも言われています。(安里 章:生産獣医療システム)。

乳質悪化による損失

- ① 乳房炎による乳量による損失分
- ② 診療、治療費
- ③ 淘汰とそれに伴う乳牛改良の遅れ
- ④ 乳価の低下
- ⑤ 廃用売却益の低減
- ⑥ 搾乳時間に要する過剰労賃

このような現状で乳牛の更新や増頭計画に影響を与え、健全なる酪農経営の躍進に歯止めが掛かり、長引けば離農せざるを得ない経済的現状を生み出しています。酪農経営を大きく圧迫している乳房炎を低減、撲滅させることは乳房炎発生の過程から振り返って、原因菌が感染源から乳頭、乳頭孔に付着、乳頭

管を通して乳房内に侵入し感染が成立、この後乳腺細胞内で炎症反応が起こり乳房炎発症となることを踏まえ、人間の目には見えない原因菌に対する予防対策や予防技術が、発生によって損出する経済的ダメージを最小限に抑える事につながり、収益に寄与できる事となります。乳質を改善するとした試算一例として、毎年単純に乳汁中の体細胞が、25万/m¹から15万/m¹に改善されただけで、平均規模なら70万円の所得増になり、乳質改善のための効果は3倍とも5倍とも言われています。(根室農業普及センター)



(牛床に乳頭、乳頭孔を付着させている事例)

乳牛を取り巻く環境の中で乳房周辺の環境は、常時乳房炎の発生と大きく関係しています。それは乳牛が寝起きをする牛床、特に後肢部分は糞尿が撒き散らされる場所であり、常時湿った環境の中で原因菌に汚染されています。更に牛床全体に使用されている藁、大鋸屑などの敷料に増殖源を求める原因菌の住み処となっています。

5. 稚内層珪藻頁岩の除菌による衛生環境改善

本開発研究の基礎となる実験研究は、平成 21 年及び 22 年に北海道立畜産試験場（現地方独立行政法人北海道立総合研究機構）に依頼して実施しました、稚内層珪藻頁岩資材による黄色ブドウ球菌、および乳牛直腸便に存在する細菌の除去増殖防止の実験結果です。

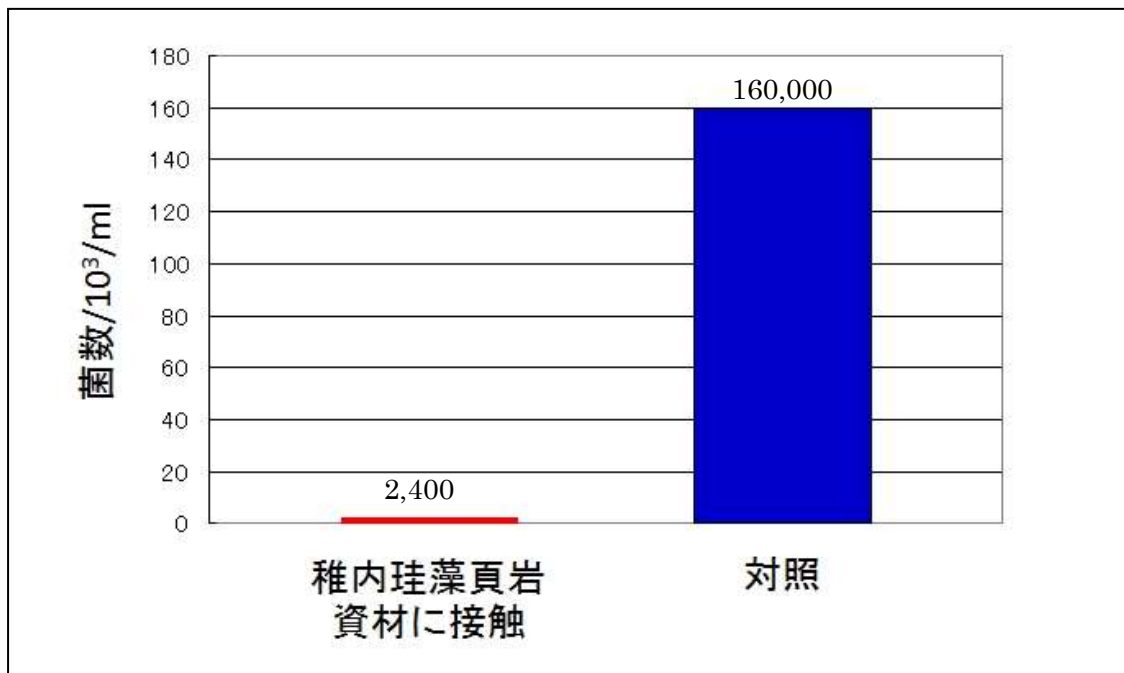
5-1. ブドウ球菌に対する除去増殖防止

〈実験方法〉

- ①珪藻頁岩 3g と PBS27ml を混合した懸濁液に黄色ブドウ球菌を最終濃度 1.0×10^5 CFU/ml になるように加える
- ②10 分間転倒混和後 15 分間静置
- ③1000 rpm 1 秒遠心、上清中の菌数を血液寒天培地を用いて 10 倍段階希釈培養のコロニー数から菌数を計測

〈結果〉

試験資材	上清中に含まれる菌数
対照	1.6×10^5 CFU/ml
稚内珪藻頁岩処理	2.4×10^3 CFU/ml



稚内層珪藻頁岩のブドウ球菌に対する効果

〈考察〉

上清に含まれる菌数は1/67に減少したことから、稚内層珪藻頁岩が黄色ブドウ球菌を吸着することにより除菌能力を持つことが示されました。

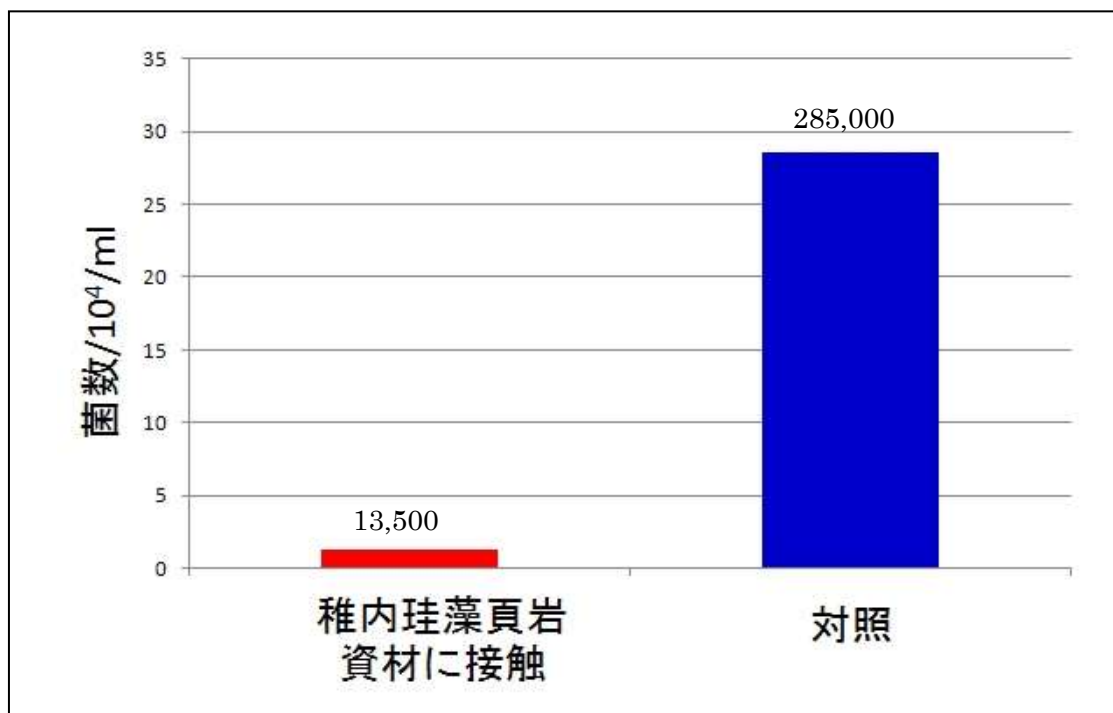
5-2. 乳牛直腸便に存在する菌（大腸菌が主となる）

〈実験〉

- ①乳牛2頭の直腸便各10gを混合
- ②180mlリン酸バッファーに加え10%乳剤を調整
- ③乳剤0.5mlを器に取る
- ④稚内珪藻頁岩資材を十分量加えて資料を吸着させる
- ⑤余った資材（乳剤を吸着していないもの）を捨てる
- ⑥乳剤を吸着した資材にリン酸バッファーを加え、30mlにする
(0.5ml乳剤にリン酸バッファーを加え、30mlとしたものを対照とする)
- ⑦1000回転/分で1秒遠心し、上澄みを移し替えて3000回転/分で10分間遠心する
- ⑧上記の沈殿部にリン酸バッファー0.95ml加え、再懸濁液を調整
- ⑨再懸濁液を10倍希釈し、希釈液の100 μ lを5%トリプトソイ寒天培地に塗布
- ⑩好気条件で37 $^{\circ}$ C、一晚培養してコロニー数を計測
(2本ずつ処理して平均値を用いる)

〈結果〉

試験資材	再懸濁液中の菌数 (CFU/ml)
対照	2.85×10^5
稚内珪藻頁岩処理	1.35×10^4



稚内珪藻頁岩の乳牛直腸便由来菌に対する効果

〈考察〉

本実験においても、稚内層珪藻頁岩資材に接触させた群は、培養後のコロニー数が対照に比較して大きく減少しています。これは稚内層珪藻頁岩が大腸菌も吸着し、除菌能力を持つことを示しています。

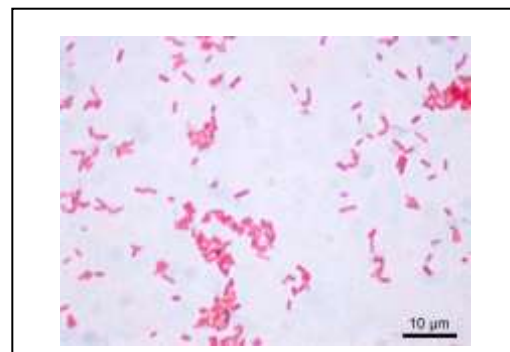
6. 稚内層珪藻頁岩への細菌の吸着

0.5g 程度の珪藻頁岩資材に $50\ \mu\text{l}$ の細菌懸濁液（菌数約 10^6CFU/ml ）を浸潤させ、ごく微小の浸潤粉末をスライドグラスに取り、PBS $50\ \mu\text{l}$ を加えて顕微鏡観察しました。

顕微鏡観察は 100 倍の対物レンズを使用していますが、珪藻頁岩粉末がスライドグラスとカバーグラスの間に存在するため、十分なフォーカスを得ることは困難でありましたが、細菌および微細な稚内層珪藻頁岩の運動や流動を観察でき、細菌の稚内層珪藻頁岩への吸着状況を観察する上では十分な結果を得ることができました。

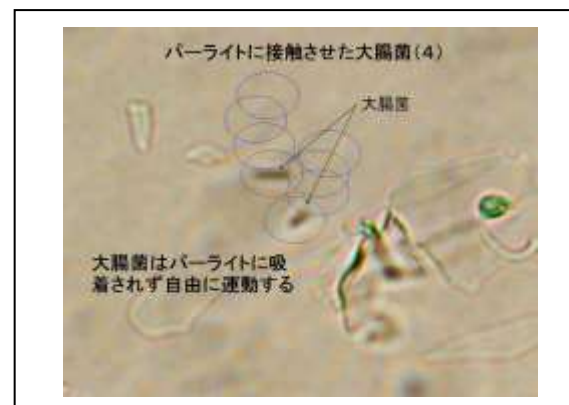
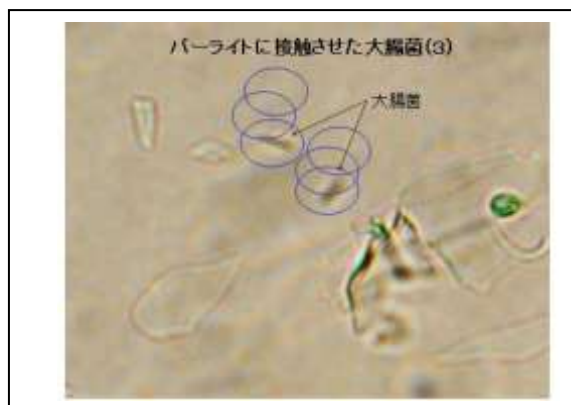
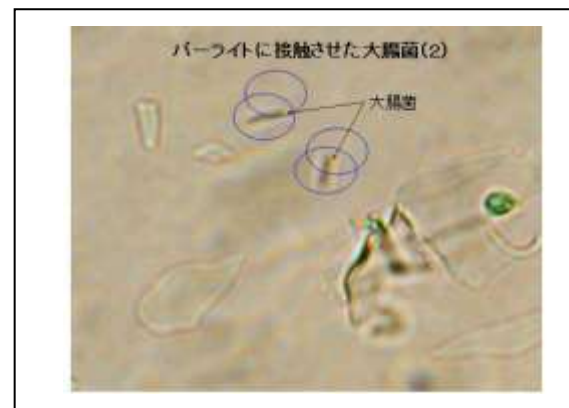
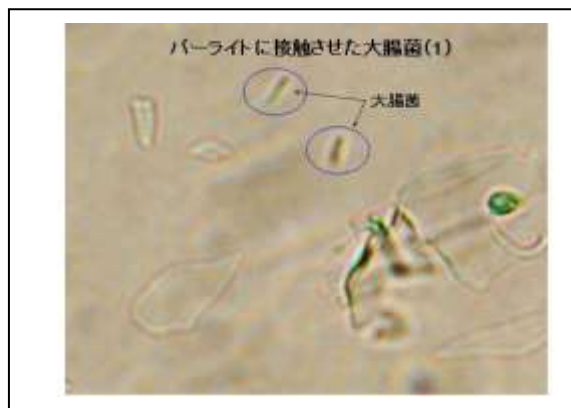
a) 大腸菌

大腸菌は右図に示すような、直径 $0.5\ \mu\text{m}$ 、長さ $1\sim 2\ \mu\text{m}$ の桿菌です。



〈パーライトに接触させた大腸菌〉

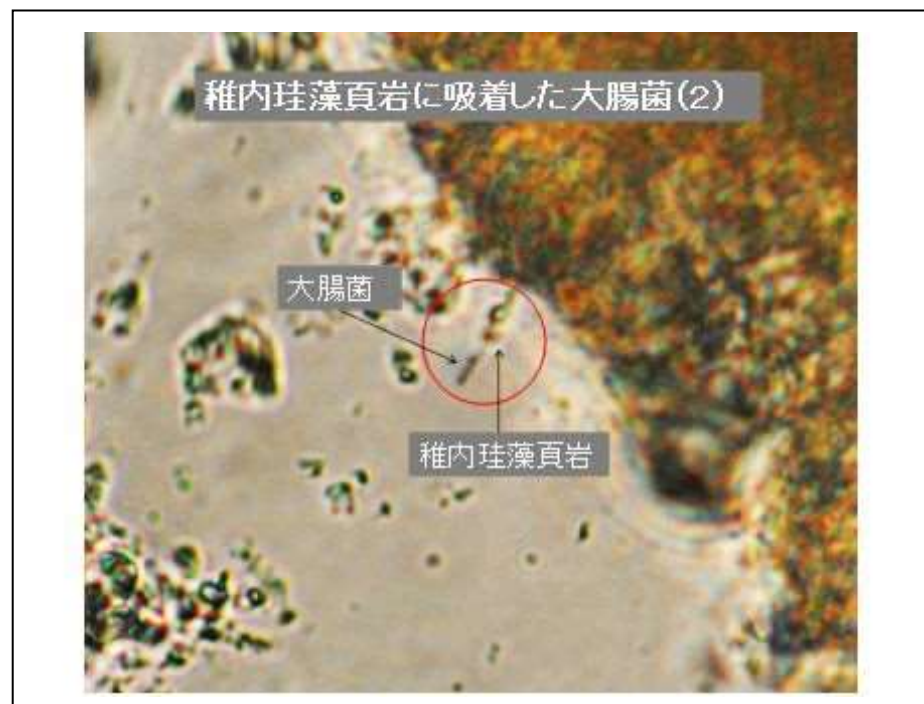
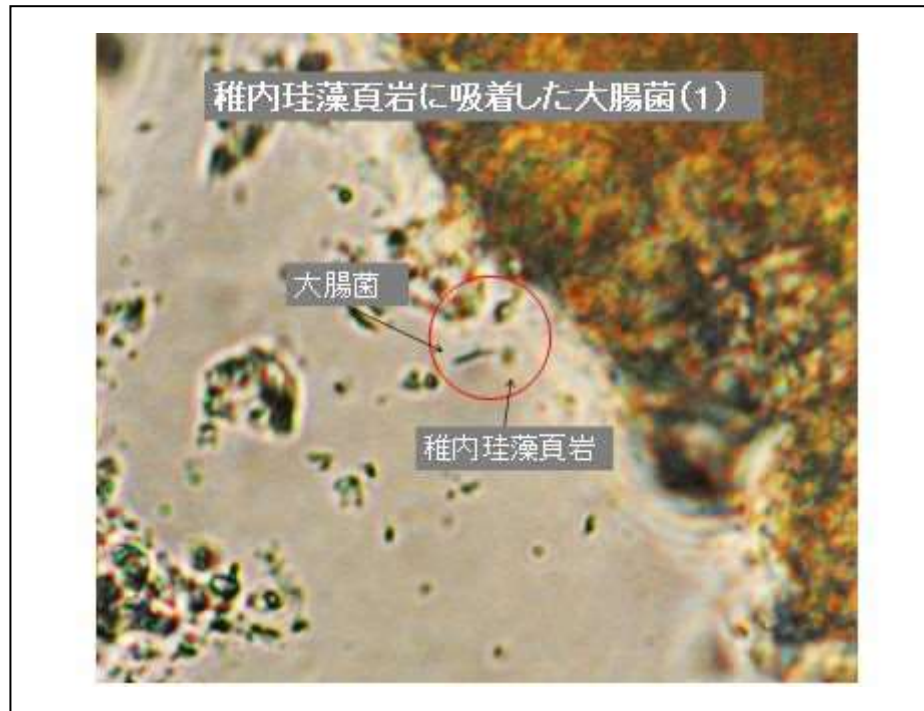
下図に示すように、大腸菌はパーライトに接触させても吸着されることはなく、PBS 添加によりパーライト表面から離脱して自由に運動をすることができることが明らかとなりました。



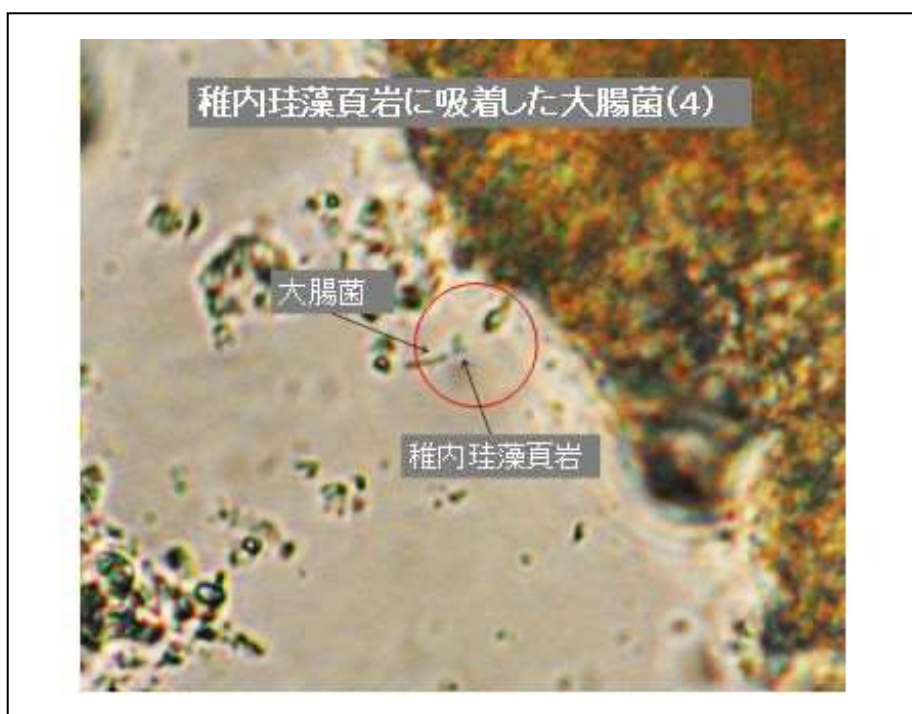
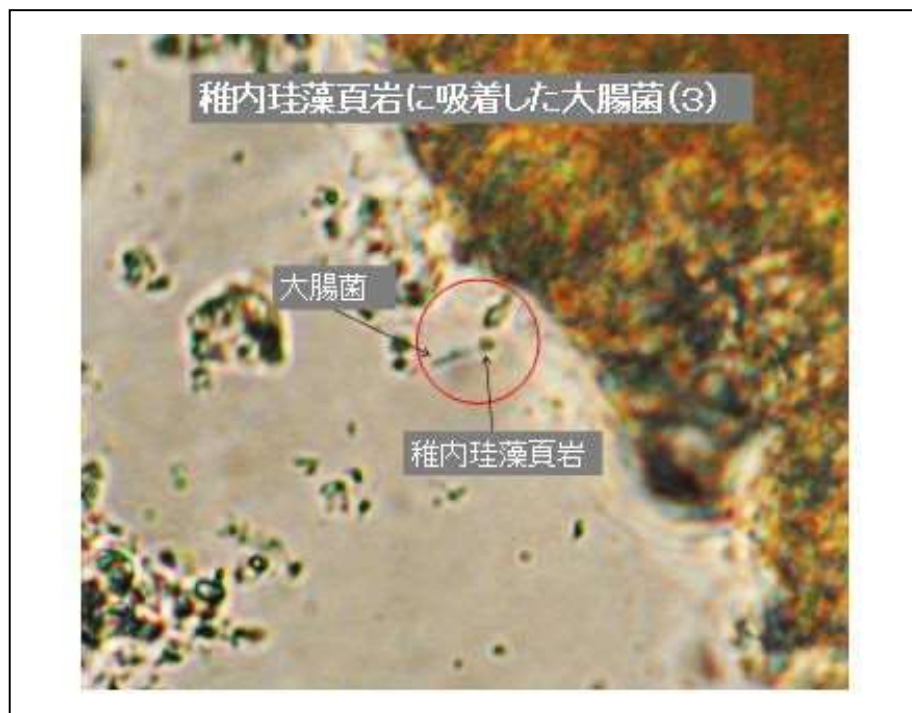
(顕微鏡写真は、2.5 秒間隔で撮影したものです。)

〈稚内層珪藻頁岩への大腸菌の吸着〉

稚内層珪藻頁岩は大腸菌を吸着します。下図に示すように、流動する状況で大腸菌は稚内層珪藻頁岩資材から離脱することはありません。



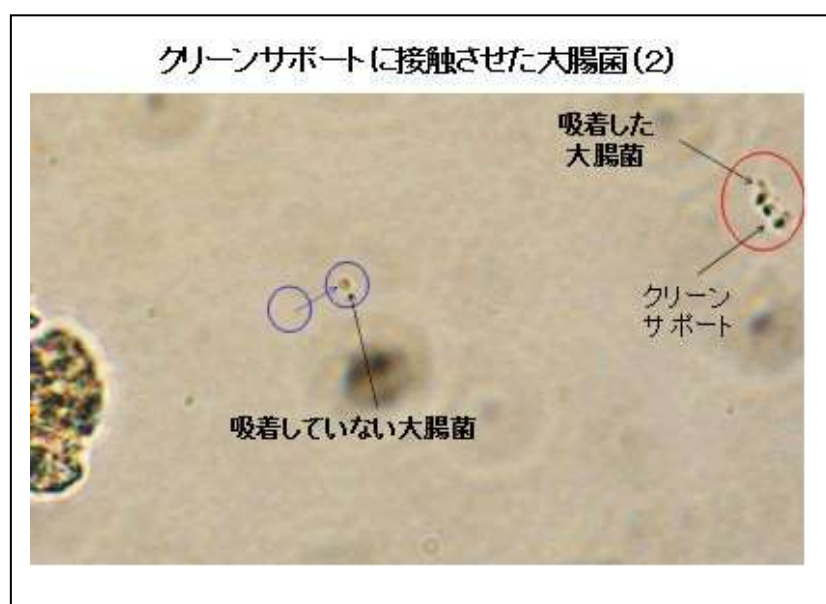
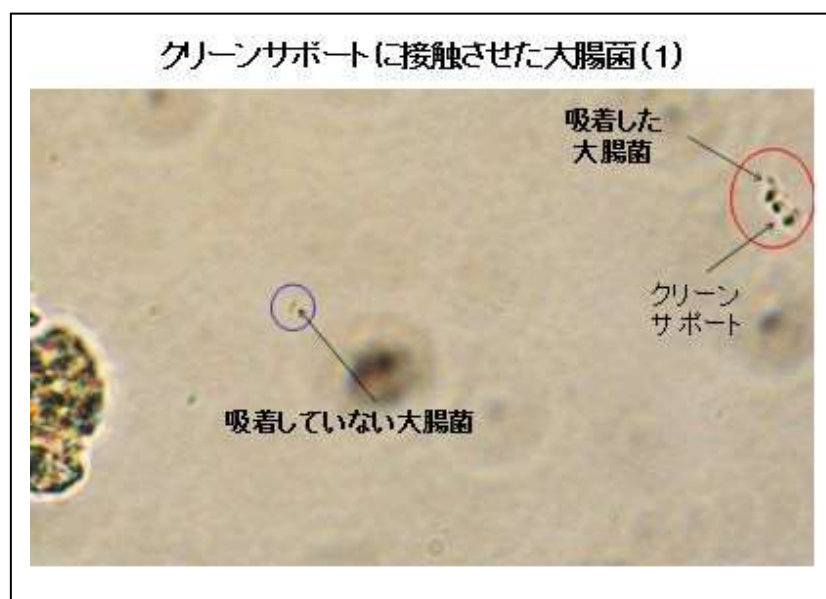
(顕微鏡写真は、2.5秒間隔で撮影したものです。)



〈クリーンサポートに接触させた大腸菌〉

クリーンサポートは市販されている牛床除菌剤で二酸化ケイ素水和化合物を主成分としています。上図の赤い楕円で囲んだ部分では、大腸菌が吸着している状態が観察されますが、青で囲んだ部分では離脱した大腸菌が自由に運動しています。

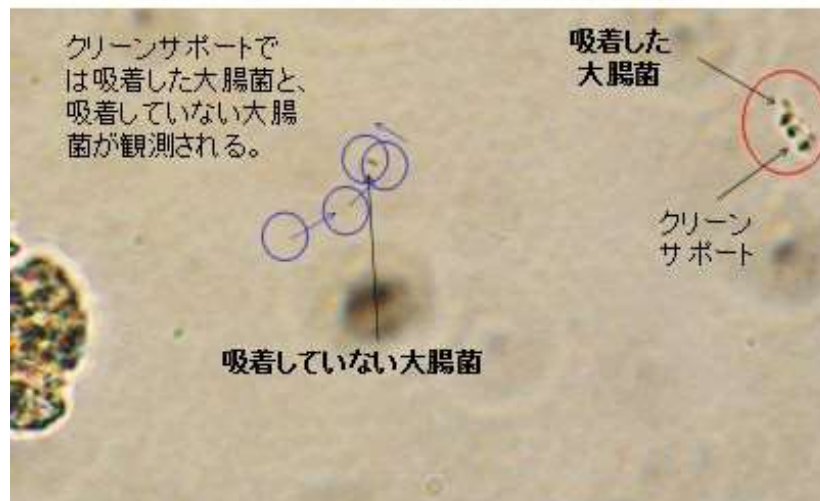
(顕微鏡写真は、2.5秒間隔で撮影したものです。)



グリーンサポートに接触させた大腸菌(3)



グリーンサポートに接触させた大腸菌(4)



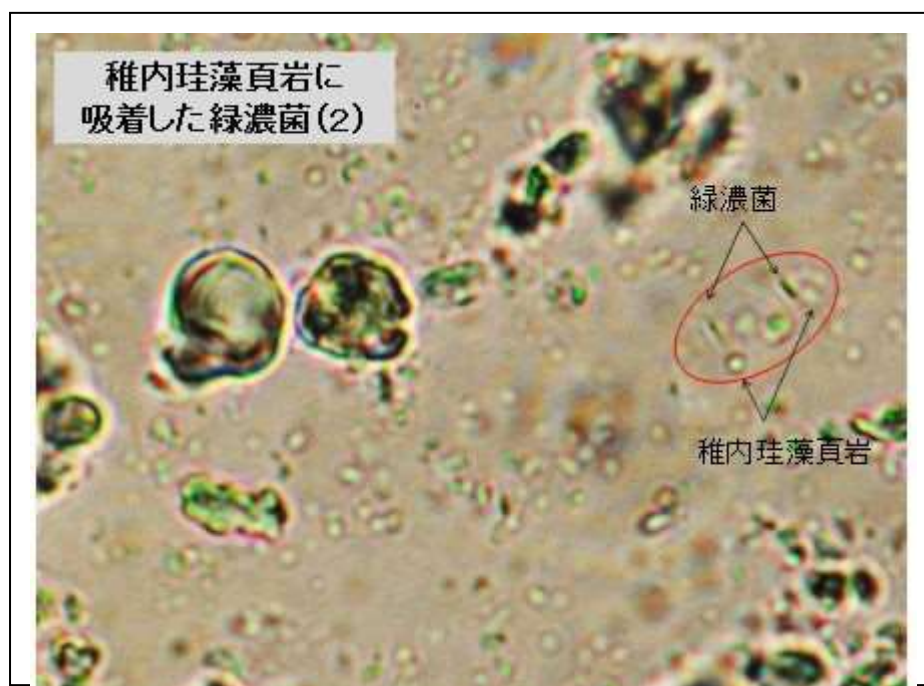
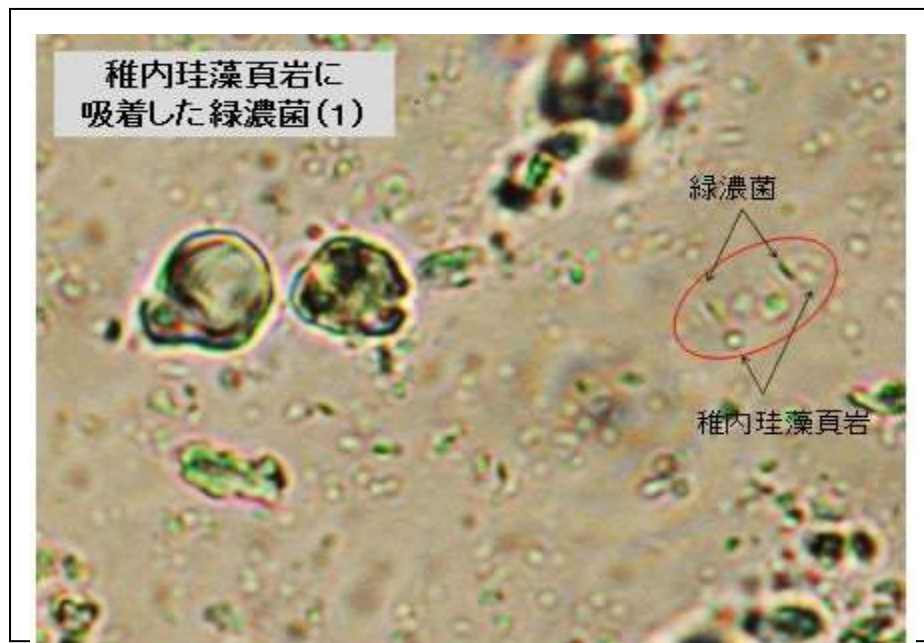
大腸菌をパーライト、稚内層珪藻頁岩、グリーンサポートに接触させ、吸着や離脱の有無を観察した結果、パーライトとグリーンサポートでは大腸菌の離脱が見られました。稚内層珪藻頁岩についての観察は5回独立に行いそれぞれ

各部位について詳細に観察したが離脱した大腸菌は観察の範囲では見られませんでした。

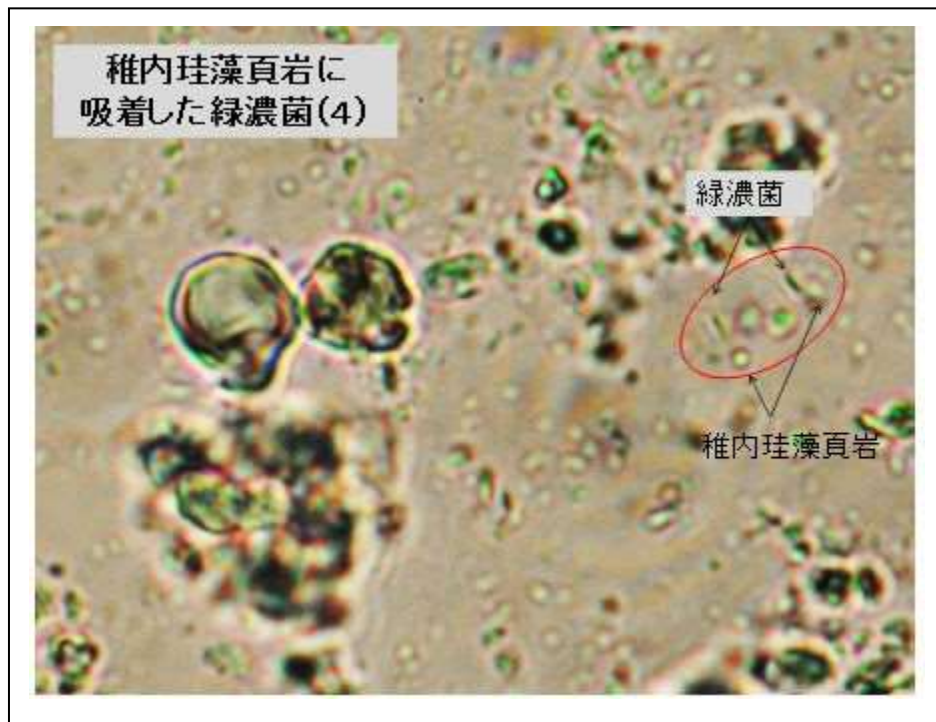
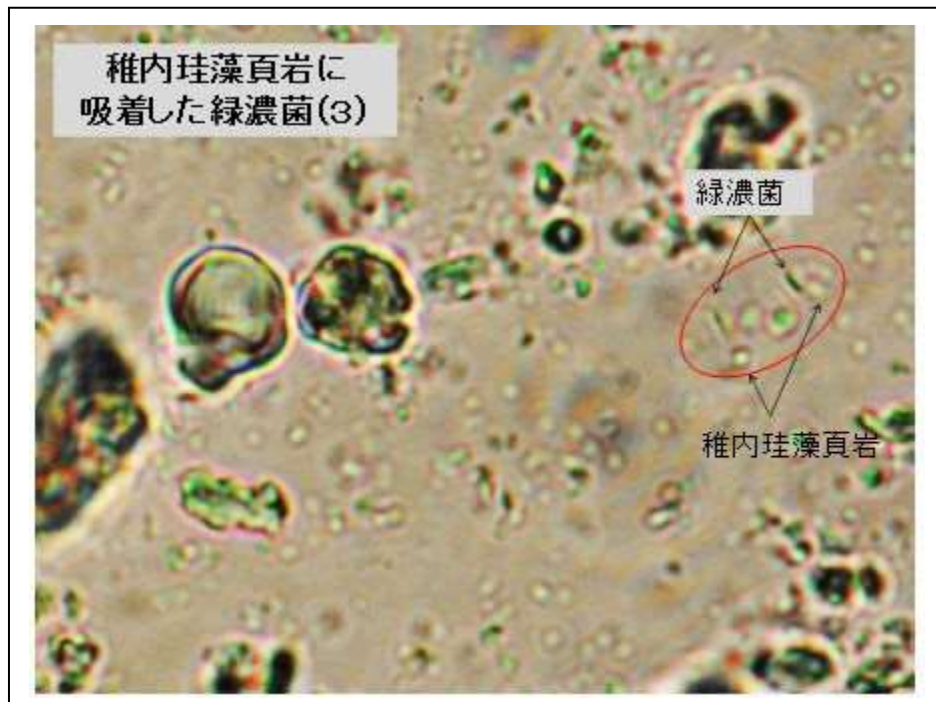
b) 緑濃菌

緑濃菌は直径 $0.7\mu\text{m}$ 、長さ $2\mu\text{m}$ の桿菌で、土壌や敷料で繁殖します。

〈稚内珪藻頁岩に吸着した緑濃菌〉

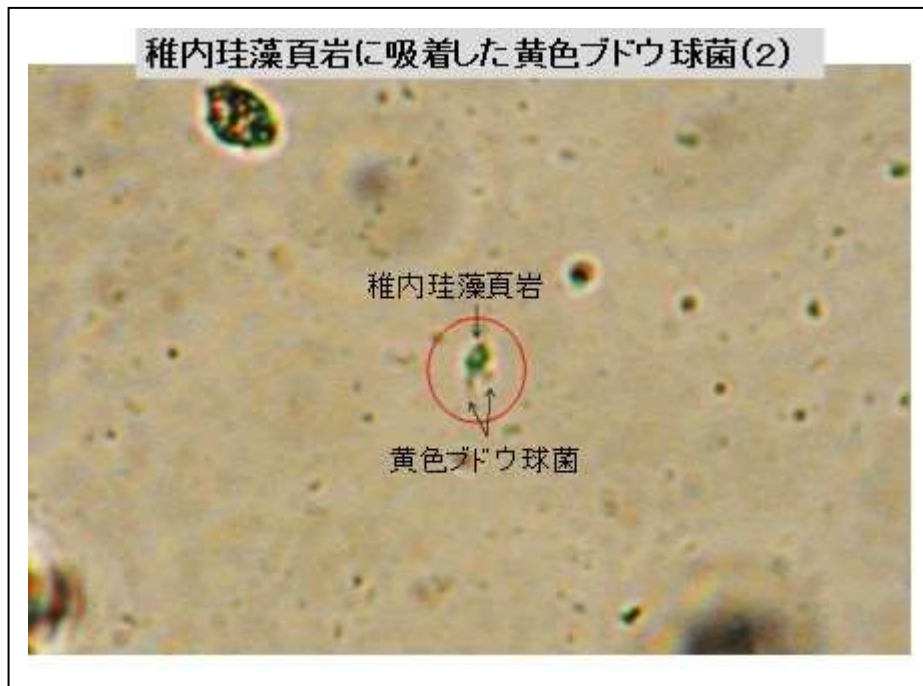
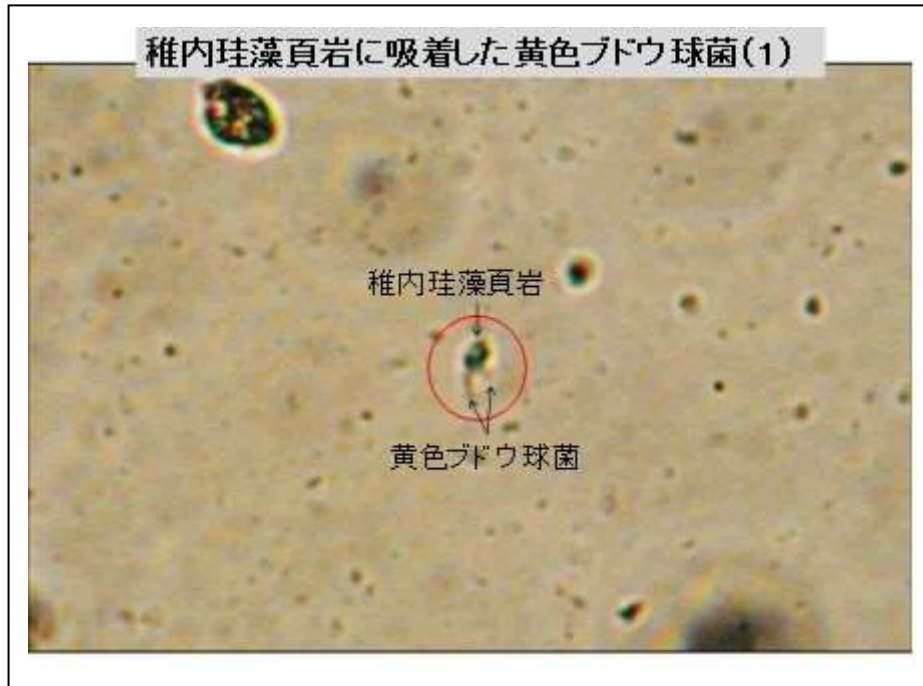


赤い楕円で囲んだ部分に、稚内層珪藻頁岩に末端が吸着している緑濃菌が2個観察できます。上方への流動があり、2個の吸着した緑濃菌も動いていますが吸着状態は変わりません。

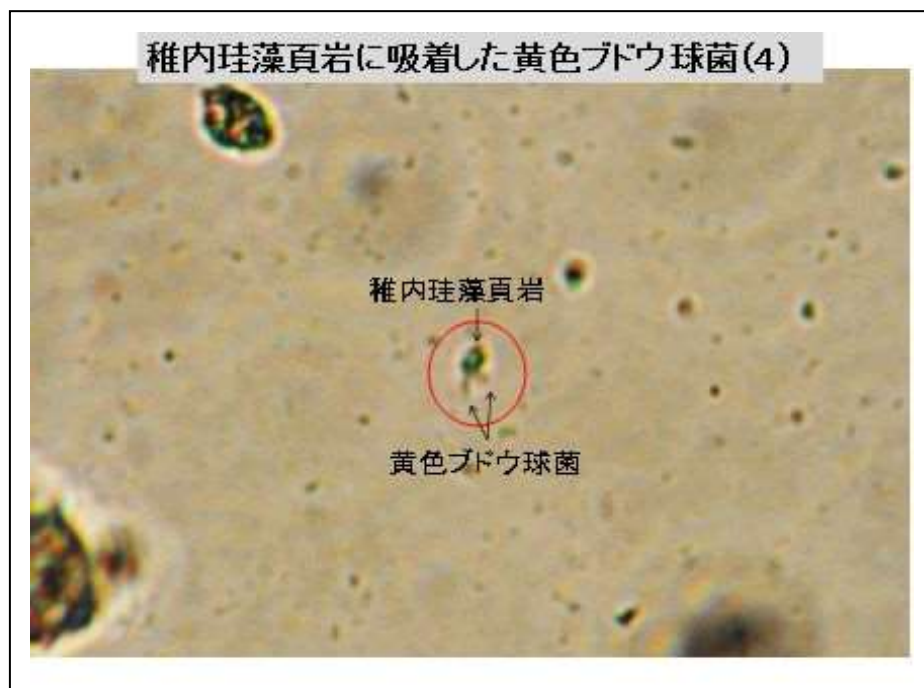
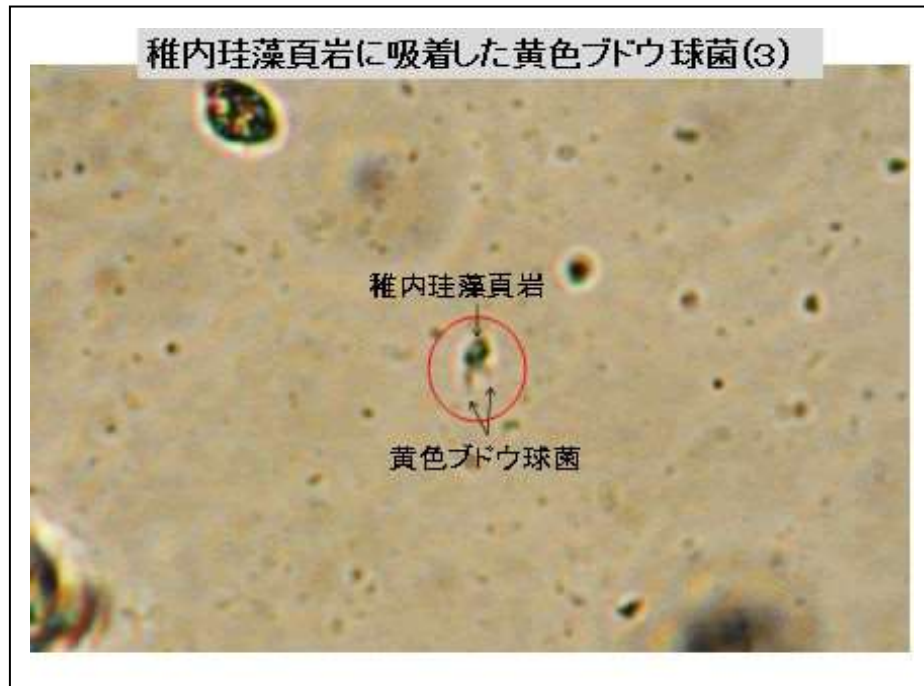


c) 黄色ブドウ球菌 (直径約 $1\mu\text{m}$)

〈稚内珪藻頁岩に吸着した黄色ブドウ球菌〉

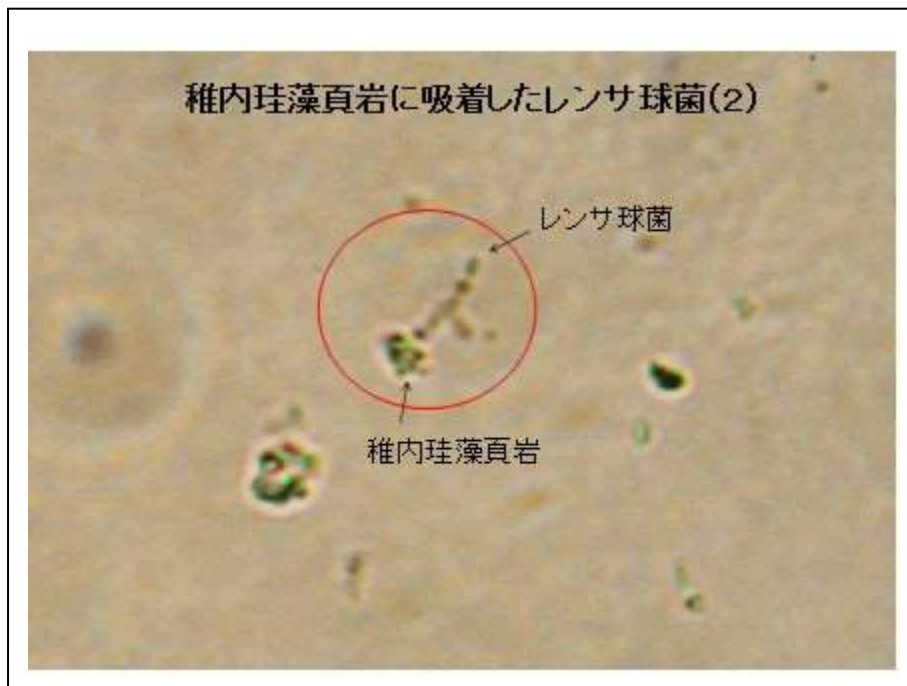
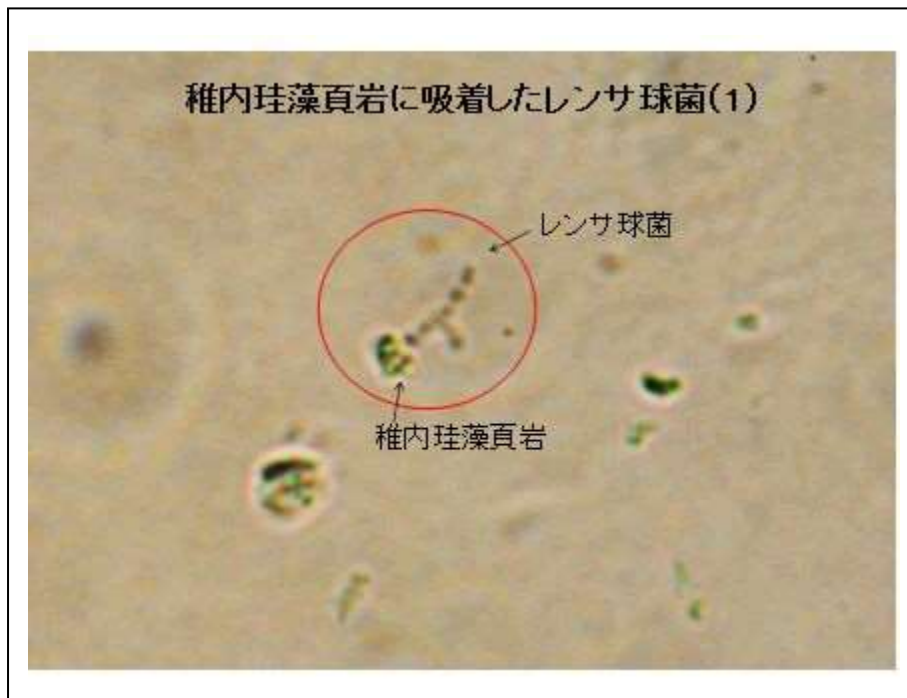


これらの写真では1個の稚内珪藻頁岩に2~3個の黄色ブドウ球菌が吸着しています。流動により、多少形が変化しますが、吸着状態は維持され菌の離脱は見られません。

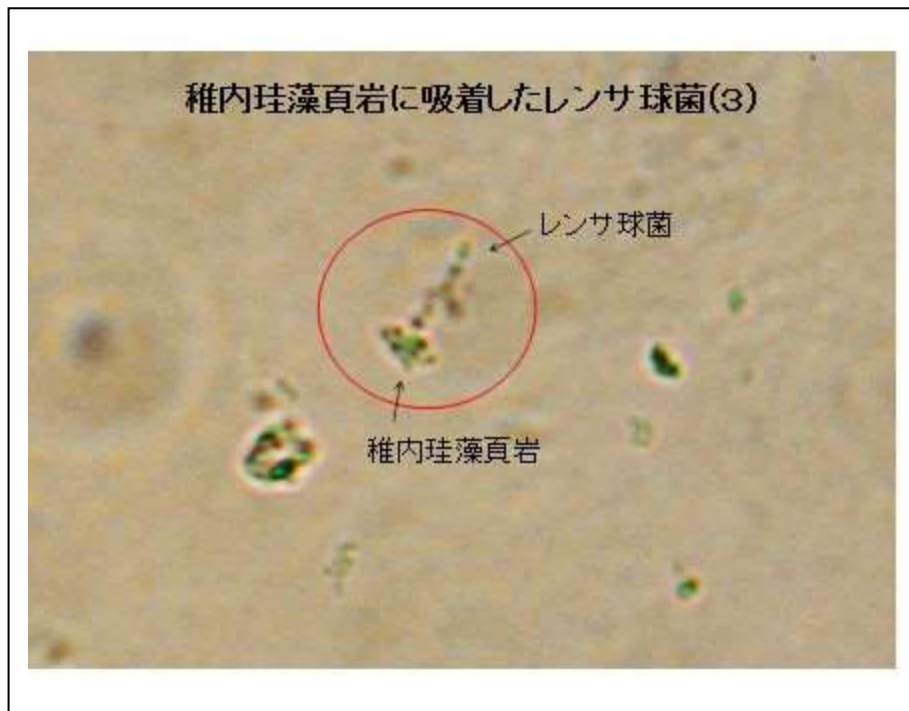


d) レンサ球菌 (直径約 $1\mu\text{m}$)

〈稚内珪藻頁岩に吸着したレンサ球菌〉



赤い楕円で示した部分に稚内層珪藻頁岩に吸着したレンサ球菌が観察されます。上方流動に伴い、レンサ球菌の回転による形状変化が見られますが、吸着状態は変わりません。



吸着性のまとめ

稚内層珪藻頁岩による大腸菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、レンサ球菌の吸着状態を直接観察しました。この吸着作用は極めて強く、吸着状態にある細菌は希釈によってもほぼ離脱することはありません。このことは菌が吸着した珪藻頁岩資材を除去することにより、除菌することが可能であることを示しています。

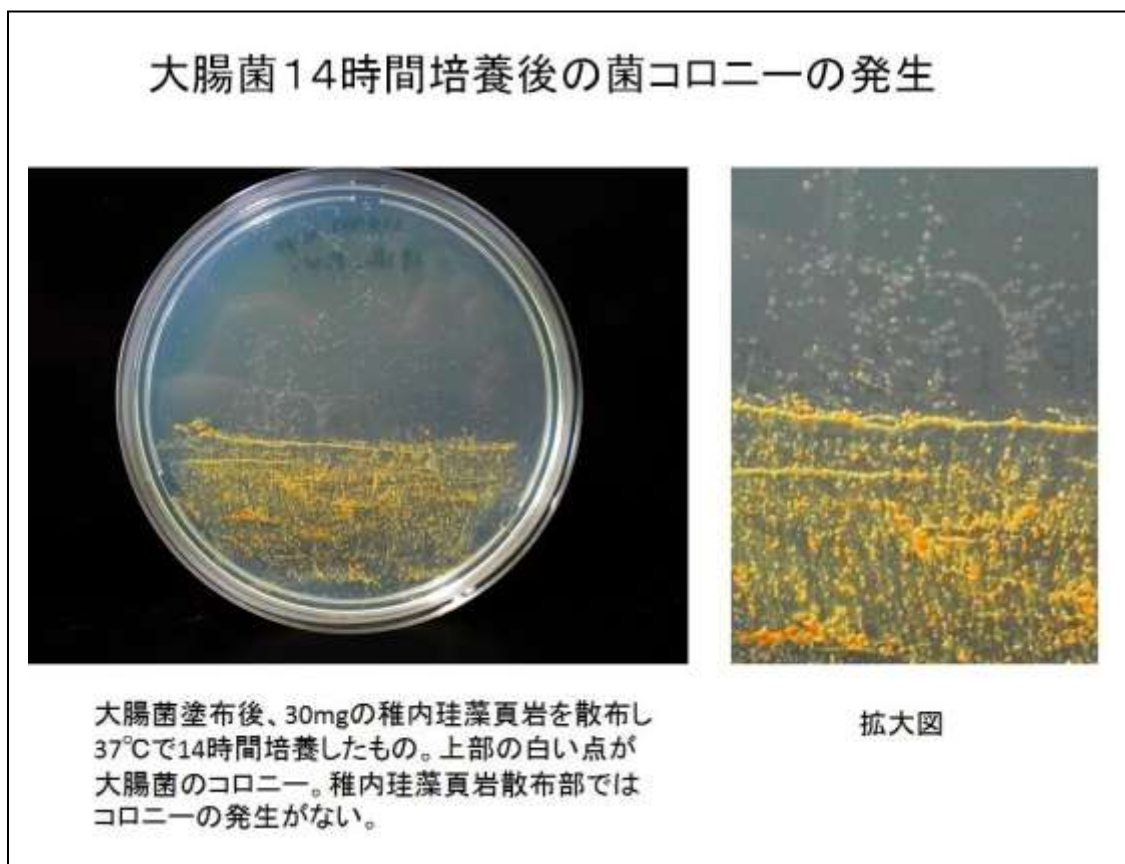


7. 稚内層珪藻頁岩の細菌増殖抑制効果

前章で稚内層珪藻頁岩は細菌を吸着することを見ました。次に吸着した大腸菌が増殖できるかが問題となります。そこで大腸菌を寒天培地で培養する際の稚内層珪藻頁岩の作用を検討しました。

《実験》

大腸菌を寒天培地に塗布し、その後、塗布面の一部（シャーレの約半分）に少量の稚内層珪藻頁岩粉末を散布して 37℃で培養しました。培養 14 時間後では稚内層珪藻頁岩を塗布していない部分で大腸菌のコロニー発生が認められましたが、稚内層珪藻頁岩散布面ではコロニー発生が肉眼では認められませんでした。実験結果を下図に示します。



さらに培養を継続し、26 時間後では稚内層珪藻頁岩塗布部分でもコロニーを目視できましたが、コロニーは小さく、稚内層珪藻頁岩を散布していない部分でのコロニー総面積と比較すると 5%程度でありました。実験結果を下図に示します。

大腸菌26時間培養後の菌コロニーの発生



拡大図

大腸菌塗布後、30mgの稚内珪藻頁岩を散布し、37℃で26時間培養したもの。上部の白い点が大きくなり大腸菌が増殖している。稚内珪藻頁岩散布部でもコロニーが発生するが、増殖は95%抑制されている。

この結果から、稚内層珪藻頁岩は大腸菌の増殖を抑制する大きな効果を持つことが確認されました。

さらに、同様の実験で稚内層珪藻頁岩の量を増やしたものでは大腸菌の増殖は全く見られませんでした。結果を次図に示します。



これらの実験結果から、稚内層珪藻頁岩は大腸菌の増殖を抑制する大きな効果を持つことが確認されました。

8. 酪農場における牛床散布実証実験

2011年7月、開発した牛床衛生剤を実際の酪農家の牛床に適用して、その効果を検証しました。実証実験の内容を以下に示します。

稚内珪藻頁岩を利用した牛舎衛生剤の実証実験

《乳頭付着菌に対する牛床への資材散布の効果》

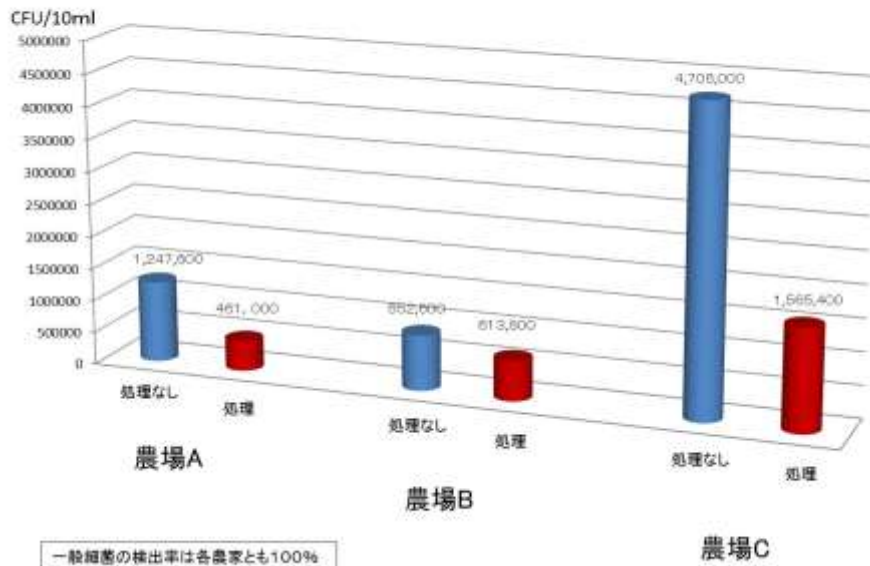
実験:

- ◆3戸の酪農場を選定し、資材を牛床に散布する牛群(処理群)と散布しない牛群(無処理群)それぞれ10頭について、一定の方法で乳頭表面から菌を採取し、一般細菌、大腸菌、ウベリス、フェーカリスの菌数を計測した。
- ◆資材散布は、30頭の乳牛に対し3日間で70kgの資材を分割して適宜散布することにより行った。
- ◆乳頭菌の採取は、処理群と無処理群からそれぞれ10頭を選定し、乳頭表面を予め緩衝液で浸潤させた綿棒を用いて拭き取ることにより行い、採取後速やかに冷蔵保存した。
- ◆保存されたサンプルは24時間以内に、菌の測定を依頼した北海道立総合研究機構・畜産試験場へ冷蔵状態で搬送され、所定の方法により菌数を測定した。

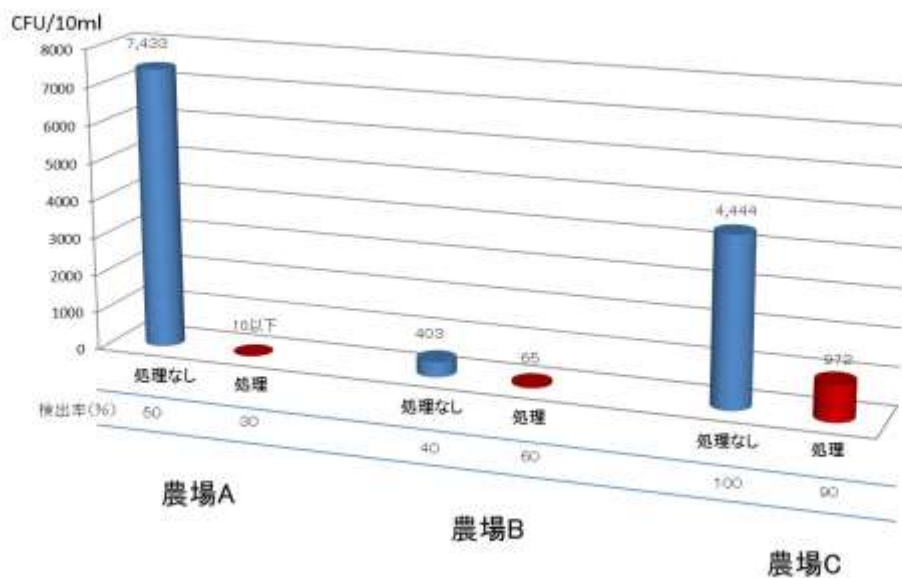
酪農家の戸数は3戸ですが、それぞれの牛舎で30頭の実験群と同じく30頭の対照群を設定し、それらの群から無作為に10頭選び乳頭の各種菌数を計測しました。検体数として十分信頼性を持つものと考えられます。

測定された菌数を①一般細菌、②大腸菌、③ウベリス菌、フェーカリス菌に分けて以下に図示します。10頭からの各菌の検出率も併せて表記しています。

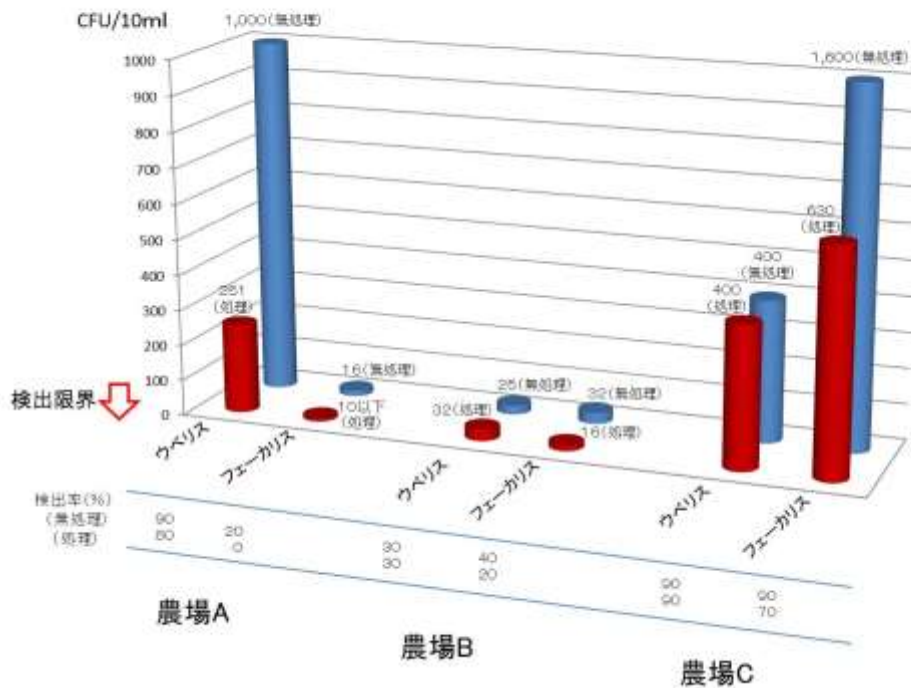
一般細菌



大腸菌



環境性乳房炎起因菌（ウベリス、フェーカリス）



酪農場により、資材散布前の菌数に大きなバラつきがありましたが、一般細菌、大腸菌、ウベリス菌、フェーカリス菌すべてについて、3戸の酪農場で資材の効果が確認されました（検出精度の範囲内）。

これらの実証実験によって、開発した本資材は牛舎の衛生状態を向上させる効果を持つことが証明されました。

9. 終わりに

本研究開発では、北海道の特産である稚内層珪藻頁岩を用いて、安全に畜舎の衛生状態を向上させる資材を開発しました。

開発研究は、資材の除菌効果の測定を始めとして、資材が菌を吸着している状態の観察、吸着した菌の増殖能力の検討、最後に実際の酪農場における実証実験におよび、それぞれ開発資材の独自で確実な効果を見出すことができました。さらに本開発研究の結果に基づき、新たに特許出願も行いました。

日本の牛乳、豚肉、卵は味と品質できわめてすぐれたものを持っています。しかし畜産全体は厳しい国際競争等に晒され、安価で高収量を維持できる方策に対する要請は強く、その一つとして乳房炎を減少させ収量を増加させる、一母豚当たりの産肉能力、産卵数の新たな方法が切実に求められています。

本開発研究による畜舎の衛生状態を安全に向上させる資材の開発は、そのような要請に対し大きな効果を持つものと確信しています。

