高純度ドコサヘキサエン酸含有飼料投与による鶏卵卵黄脂質組成の変化

Alterations of the lipid constitution in egg yolk of layers administered feed contained highly purified docosahexaenoic acid

関谷美喜子[1)]・山本雅子[2)]・花川容子[3)]・藤原夏樹[3)]・
Mikiko SEKIYA[1)]・Masako YAMAMOTO[2)]・Yoshiko HANAKAWA[3)]・Natsuki FUJIWARA[3)]・
三澤嘉久[3)]・高山房子[4)]・大塚舞奈[5)]・佐藤紀代美[5)]・
Yoshihisa MISAWA[3)]・Fusako TAKAYAMA[4)]・Maina OHTSUKA[5)]・Kiyomi SATOH[5)]・
万倉三正[5)]
Mitsumasa MANKURA[5)]

Abstract

This study gives a knowledge on the conversion and deposition in egg yolk of highly purified docosahexaenoic acid(DHA) of the glyceride form or the ethyl ester(EE) fed orally for laying hens. Three wards of A(basic feed dosage), B(containing glyceride type DHA) and C(comprehending EE type DHA) were instituted for laying hens(Boris Brown) of 50 weeks of age. Rearing period for each ward was for 43 days. Those of both B and C wards were given DHA of 1.0g/day.

Though α-linolenic acid was not detected in resulted egg yolk fatty acids from each ward, it was found 0.72% DHA from the ward A, 4.36% from B, and 4.26% from C. Concerning lipid class compositions, triacylglycerols(TG), free cholesterol, diacylglycerols, monoacylglycerols and polar lipids (mainly phospholipids, PL) were confirmed qualitatively as main constitutions from all wards, but the spots of free fatty acids and EE were not found. As for the laying egg rates and the egg quality of examination ward C, significant differences were not recognized in comparison with examination ward A. But the DHA content in egg yolk lipids was neally equal to examination ward B. The EE given was completely converted to PL and TG and did not detect in egg yolk lipids.

We intend to clarify a sensuality evaluation in a following article from a view point of nutritional or cooking properteies.

Keywords : layer，fishy odor，docosahexaenoic acid，egg yolk，deposition

1. 緒言

エイコサペンタエン酸【C20:5（オメガ（ω）3），EPA】やドコサヘキサエン酸【C22:6（ω3），DHA】などのω3系高度不飽和脂肪酸（ω3系PUFA）は血中脂質低下作用、血圧上昇抑制作用、抗血栓作用、抗炎症作用（抗アレルギー作用）、網膜反射向上作用等の多彩な機能[1)]の他に、脳機能の維持向上に有効であるとする報告[2)]もある。これらの機能に関して生体膜におけるDHAの構造的な特徴、DHAの多様な酸化的代謝物（Docosanoids）の面からも考察がなされている[3)]。DHAはサプリメント[4)]としてだけでなく、特定保健用食品[5)]や機能性表示食品[6)]の素材として、更に、一般加工食品[7)]や育児粉乳[8)]など

1）近畿大学　農学部食品栄養学科　Department of Food Science and Nutrition，Faculty of Agriculture，Kindai University
2）株式会社のだ初　経営管理部　Administration Dept.，Nodahatsu Co.，Ltd.
3）備前化成株式会社　油脂事業部油脂開発課　Research and Development Dept.，Oleo Fine Chemical Div.，Bizen Chemical Co.，Ltd.
4）岡山大学大学院　医歯薬学総合研究科（薬学系）　Graduate School of Medicine，Dentistry and Pharmaceutical Sciences，Okayama University
5）くらしき作陽大学　食文化学部現代食文化学科　Faculty of Food Culture，Kurashiki Sakuyo University

への栄養成分として広範に用いられている。また、DHAを用いたスポーツフーズの開発[9]等も進められており、その機能性を高めるための時間栄養学的観点からの研究[10]も見られる。また、ω3系PUFA、特にDHAによる酸化ストレス抑制に関する報告が多数行われており[11]、特に肝臓中における酸化ストレスの亢進に起因するとされる非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）の発症抑制、改善効果が認められている[12, 13]。

一般に、鶏卵の成分組成は飼料の影響を受け易いとされ[14]、この性質を利用してα-リノレン酸【C18:3（ω3），ALA】、EPA、DHA、トコフェロール等の脂溶性栄養素を多く含む特殊卵が生産されている[15, 16]。飼料を介して卵黄脂質中に移行したω3系PUFAの多くは主にリン脂質（phospholipids、PL）画分、特にホスファチジルコリン（PC）に取り込まれる[17]。このような特性を利用して、ω3系PUFA、特にDHAを約10%含む魚油[15-21]や藻類[22, 23]を飼料に混合して1から2カ月間程度経口投与し、DHA含有卵を作出する試みが広範に行われてきた。また、構成脂質中にDHAの前駆体となるALAを約17%含有する麻実油を投与し、魚臭成分の鶏卵への移行を最小限に抑える試みも報告されている[24]。しかし、いずれの報告もDHA純度10から15%程度の魚油を用いており、共存するその他の脂肪酸の影響を排除できない。また、エチルエステル（EE）型のDHAを投与した時の卵黄脂質中の脂質組成に関する報告も見当たらない。

ALA、EPA、DHA等のω3系PUFAは不飽和結合をそれぞれ3、5、6個有しており、酸化速度が大きく[25]、酸化の進行に伴うアルデヒド類、カルボニル化合物の生成による魚臭様の不快臭を発生する[1, 25-27]。しかし、ω3系PUFAは水系において不飽和度が大きくなるほど酸化安定性が向上するとされており[28]、リン脂質そのものの抗酸化性[29, 30]に鑑みると、卵黄中のリン脂質に取り込まれたω3系PUFAの酸化安定性は高く、魚臭様の不快臭の発生も抑制される[31]と期待される。それ故に、DHA含有卵は酸化や魚臭様の不快臭の発生をそれ自体の特性により抑えることの出来る天然の食品素材と考えられる。

掛かる背景下、栄養的により優れたDHA含有鶏卵を作出し、機能性の付与、官能評価上の特徴把握、調理特性の改善等を検討することは意義のあることと考える。本研究では採卵用鶏に対し、高純度グリセリド型又はEE型のDHAを経口投与し、卵黄脂質組成の変化、酸化ストレスと官能評価上の特徴を見ることを目的とした。本論文においては卵黄脂質組成の変化に関する分析的な評価結果を扱っている。

2. 実験材料および方法

試験区はA（基本飼料投与）、B（DHA70BAPT投与）、C（BNC-RES投与）の3区とし、各区とも50週令の5羽の赤玉採卵鶏ボリスブラウン（Boris Brown）を用いた。試験期間は2020年11月2日から12月14日までの43日間とし、40から42日目の3日間に採卵された卵を脂質分析用試料として用いた。

2-1　飼育方法と卵質検査

株式会社のだ初の養鶏施設にて、投与飼料以外のすべての飼育条件を他の産卵鶏と同一にして、バタリーケージで飼育した。卵質検査は試験開始1日目と43日目に産卵された卵を用いた。卵質検査項目は卵重、卵白高、ハウユニット、卵黄色度、卵殻厚、卵殻強度とし、卵質測定装置（DET6000，ナベル）により採卵後24時間以内に測定した。

2-2　実験材料

1）DHA含有油脂組成物

DHA70BAPT（備前化成株式会社）は国産のマグロ油及びカツオ油を出発原料としてDHA70%に濃縮したトリアシルグリセロール型（食品グレード）で、DHAを73.5%（67.1wt%）含む。BNC-RES（備前化成株式会社）は魚油のEEのDHA濃縮品で、DHAを40.8%含む。それぞれの脂肪酸組成および脂質クラスを表1、2に、TLCクロマトグラムを図1に示す。

表1　DHA70BAPTおよびBNC-RESの性状と脂肪酸組成

試料(品名) 分析項目	DHA70BAPT	BNC-RES
外観・性状	淡黄色透明	淡黄色透明
酸価(AV)　mgKOH/g	0.1	0.2
過酸化物価(PV)　meq/Kg	0.1	0.3
アニシジン価(AnV)	4.0	43.6
脂肪酸組成(GC area%)		
C14:0	n.d.	1.0
C15:0	n.d.	0.1
C16:0	0.2	3.8
C16:1(ω7)	n.d.	2.1
C16:2(ω4)	n.d.	0.4
C18:0	0.7	0.8
C18:1(ω9)	1.1	0.8
C18:1(ω7)	n.d.	0.2
C18:2(ω6)	0.2	0.1
C18:3(ω3)	0.1	0.2
C18:4(ω3)	n.d.	0.6
C20:1(ω15, 12)	1.0	0.1
C20:4(ω6)	1.7	n.d.
C20:4(ω3)	0.4	0.6
C20:5(ω3)　【C20:5(ω3)wt%】	5.2【4.6%】	9.5
C22:1(ω9, 11)	1.1	1.3
C21:5(ω3)	0.4	1.1
C22:5(ω6)	6.2	1.3
C22:5(ω3)	3.0	13.3
C22:6(ω3)　【C22:6(ω3)wt%】	73.5【67.1%】	40.8
C24:0	0.2	0.2
C24:1	1.2	3.3
その他	3.8	18.4

表2　DHA70BAPT及びBNC-RESの脂質クラス組成（%）

試料 脂質クラス	DHA70BAPT	BNC-RES
EE	n.d.	80.9
TG	94.9	0.4
F.Cho	n.d.	8.1
DG	4.5	1.8
MG	n.d.	8.3
PL	n.d.	0.5
その他	0.6	―

脂質クラス測定はTLC/FID法によって行った。
展開溶媒：n-ヘキサン－ジエチルエーテル－氷酢酸(80:20:1).
略号：PL, Polar Lipids；MG, Monoacylglycerols；DG, Diacylglycerols；F.Cho, Free Cholesterol；FFA, Free Fatty Acids；TG, Triacylglycerols；EE, Ethyl Esters；CE, Cholesterol Esters；Hyd, Hydrocarbons.

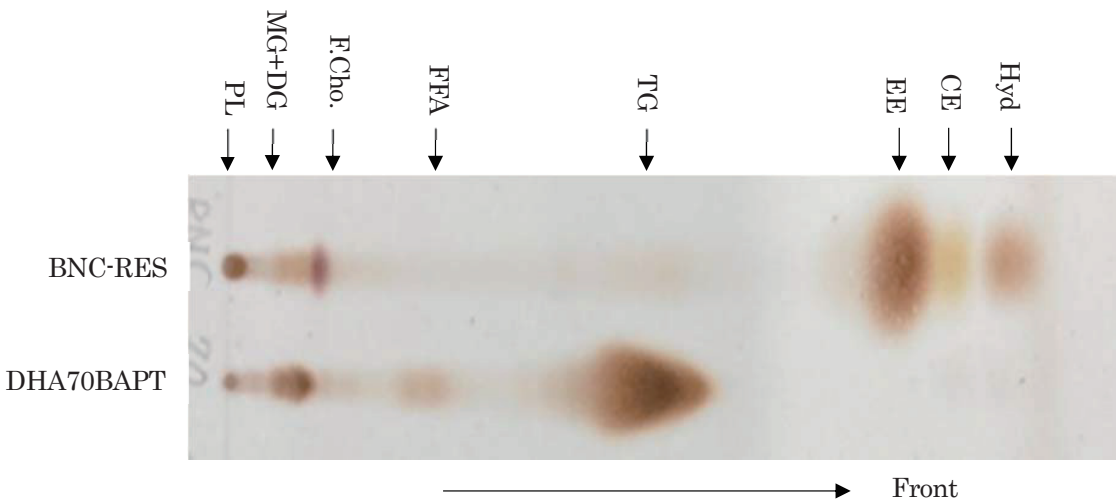
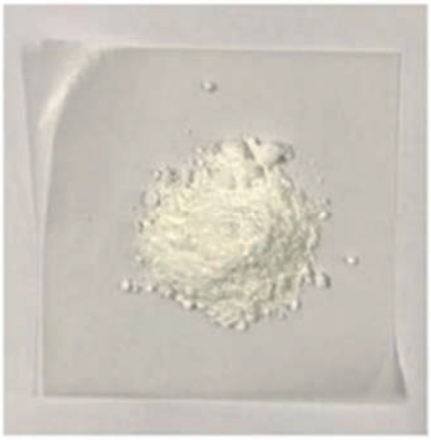


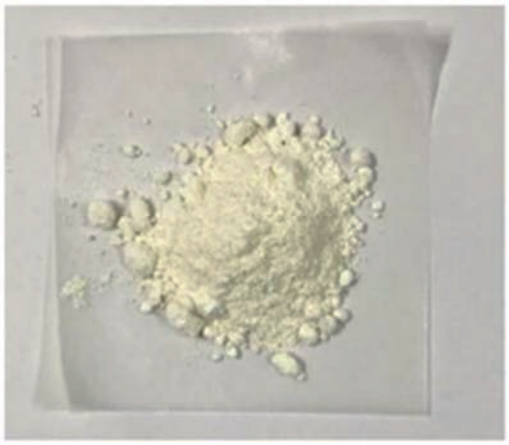
図1　BNC-RESおよびDHA70BARTのTLCクロマトグラム
展開溶媒：n-ヘキサン－ジエチルエーテル－酢酸(80:20:1)、焦化：70%硫酸噴霧後焦化
略号：表2に示してある通り.

2)DHA含有油脂組成物の粉末化

DHA70BAPTまたはBNC-RES 2重量部と、二酸化ケイ素を主成分とするサイロページ720(商品名,富士シリシア化学株式会社)1重量部とを混合、粉末化した後、脱酸素剤とともに使用時まで－20℃で保管した。粉末化されたDHA70BAPT及びBNC-RESの状態は図2に示す通りである。



サイロページ 720:DHA70BAPT＝1:2



サイロページ 720：BNC-RKS＝1:2

図2　粉末化されたDHA70BAPT及びBNC-RESの状態

3)飼料の調製と投与方法

基本飼料は表3に示すノダハツ16(商品名，JA西日本くみあい飼料株式会社)を用いた。全試験区において、一羽あたり摂食量を100g/日とした。

試験区Aは基本飼料のみを一羽あたり100g/日投与した。

試験区Bは基本飼料100gに、DHAとして1.0ｇ、即ちDHA70BAPT粉末品2.14ｇを添加して投与した。

試験区Cは基本飼料100gに、DHAとして1.0ｇ、即ちDHA-RES粉末品3.75ｇを添加して投与した。

表3　基本飼料の組成

区分	配合割合(%)	原材料名
穀類	61	トウモロコシ，精白米
植物性油かす類	22	大豆油かす，ごま油かす，コーンジャームミール，コーングルテンミール，なたね油かす
そうこう類	2	米ぬか，米ぬか油かす，とうもろこしジスチラーズグレインソリュブル，コーングルテンフィード
動物質性飼料	1	ポーク・チキン混合ミール
その他	14	炭酸カルシウム，動物性油脂，コーンスチープリカー，リン酸カルシウム，食塩，無水ケイ酸，パプリカ抽出処理物，発酵乳粉末

2-3　分析方法

1)総脂質の抽出

基本飼料からの総脂質抽出はクロロホルム－メタノール系溶媒により行った[32)]。

卵黄からの総脂質抽出は、採卵後卵黄を分離し、凍結乾燥法(FD)により水分を除去後、クロロホルム－メタノール系溶媒により行った[32)]。

2)脂肪酸分析

全脂質中の脂肪酸組成はガスクロマトグラフィー(GC)により分析した。検出器はFID、使用カラムはDB-WAX(φ0.25mm×30m，アジレントテクノロジー)、メチル化は2013年度版基準油脂分析試験法(日本油化学会編)に準拠し三フッ化ホウ素－メタノール法により行った。

GC(area)%測定のためのGC分析条件は、注入量：1.5μl、気化室温度：250.0℃、FID検出温度：260.0℃、カラム温度：210.0℃(昇温なし)、スプリット比：50.0とした。

EPAおよびDHAの重量比(wt%)測定に際しては、内部標準物質としてトリコサン酸(C23:0)を用いた。GC分析条件は、注入量：1.5μl、気化室温度：250.0℃、FID検出温度：270.0℃、カラム温度：170.0℃→225.0℃(昇温，1℃/min)、スプリット比：50.0とした。

脂質の酸価(AV)、過酸化物価(PV)及びアニシジン価(AnV)は2013年度版基準油脂分析試験法(日本油化学会編)に準拠して測定した。

3)脂質クラス

卵黄中の総脂質の脂質クラスの定量のためにはTLC/FID法を用いた[33)]。展開溶媒はn-ヘキサン－ジエチルエーテル－酢酸(80:20:1)を用いた。

卵黄中の総脂質の脂質クラスの定性的確認のためには薄層クロマトグラフィーを用いた。プレートはTLCガラスプレートシリカゲル60(Merk)を用い、n-ヘキサン－ジエチルエーテル－酢酸(80:20:1)で展開後、70%硫酸を噴霧し焦化した。

3. 結果

各試験区における産卵率、卵質、卵黄脂質組成の変化を測定した。

3-1　産卵率と卵質の変化

表4に示す通り、試験開始から43日目までの期間中における正常卵の産卵率を比較したところ、試験区Aの産卵率93.2%に対して、試験区Bは77.8%、試験区Cは89.5%となり、DHA70BAPT、BNC-RES投与により産卵率の低下がみられた。また、試験区A及びCにおいて異常卵は観察されなかったが、

試験区Bにおいては無黄卵、軟卵などの異常卵が5.1%認められた。試験期間中における卵重、卵白高、ハウユニット、卵黄色度、卵殻厚、卵殻強度等の卵質に関しては、試験区Aは有意な変化は認められなかったが、試験区BおよびCは共に低下傾向が認められ、低下の割合は試験区Bの方が大きかった。

試験開始26日目に採卵された各試験区の鶏卵を割卵し、外観を観察したところ図3に示す通り明確な違いは観察されなかった。

3-2　卵黄脂質の脂質クラスおよび脂肪酸組成の変化

基本飼料および40日目から42日目の3日間に採卵された卵の卵黄脂質脂肪酸組成を表5に示す。

基本飼料は総脂質として4.0%を含有しており、主要な構成脂肪酸はオレイン酸【C18:1（ω9）】36.5%及びリノール酸【C18:2（ω6）】35.5%であり、ω3系脂肪酸としてALAを2.1%含有していたが、炭素数20以上の高度不飽和脂肪酸は検出されなかった。図4に示す通り、主な構成脂質クラスとしてトリアシルグリセロール（TG）、フリー・コレステロール（F.Cho.，フリー・ステロール含む）、ジアシルグリセロール（DG）、モノアシルグリセロール（MG）、原点脂質（Polar Lipids，PL）が定性的に確認されたが、EEのスポットは不検出であった。

表4　各試験区における卵質の変化　　平均値±SD(n＝5)

試験区 / 検査項目	A		B		C	
	1 日目	43 日目	1 日目	43 日目	1 日目	43 日目
卵重(g)	59.2±3.7	59.5±2.6	62.1±5.0	60.6±3.5	58.8±1.9	58.3±2.2
卵白高(mm)	8.1±0.7	7.9±0.6	9.3±0.8	6.1±1.7	7.3±1.1	6.5±1.2
ハウユニット	90.3±3.3	88.7±3.0	95.2±3.3	74.4±15.4	85.1±7.1	80.1±8.1
卵黄色度	12.4±0.5	13.2±0.9	12.9±1.4	12.5±0.2	12.5±0.4	11.8±0.4
卵殻厚(mm)	0.37±0.04	0.40±0.05	0.40±0.02	0.36±0.03	0.41±0.04	0.39±0.02
卵殻強度	4.38±0.8	4.76±1.4	3.85±0.4	2.99±1.5	5.20±1.3	4.39±1.8
pH	8.6	8.2	8.5	8.4	8.6	8.5
産卵率(%)	93.2		77.8		89.5	

産卵率は試験開始 1 日目から 43 日目(終了日)までの期間中の採卵数から計算した。

図3　試験開始26日後に採卵された鶏卵の外観写真

表5　基本飼料（ノダハツ16）及び各試験区にて40～42日目に採卵された卵黄中全脂質の脂肪酸組成

平均±SD

試料 / 分析項目	平均±標準偏差(n=3)			飼料 (ノダハツ 16)
	A，鶏卵 (コントロール)	B，鶏卵 (DHA70 BAPT)	C，鶏卵 (BNC-RES)	
脂肪酸組成(GCarea%)				
C14:0	0.26±0.01	0.24±0.01	0.30±0.02	n.d.
C15:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C16:0	24.23±0.44	24.36±0.87	24.52±1.87	15.38
C16:1(ω7)	2.51±0.17	1.82±0.16	1.90±0.46	1.21
16:2(ω4)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:0	8.52±0.22	7.51±0.70	8.04±0.74	4.82
C18:1(ω9)	45.38±0.88	43.48±0.98	41.26±0.62	36.46
C18:1(ω7)	1.93±0.05	2.49±1.58	1.47±0.21	1.51
C18:2(ω6)	11.49±0.13	12.81±1.58	13.65±1.40	35.45
C18:3(ω3)	n.d.	n.d.	n.d.	2.11
C18:4(ω3)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1(ω15,12)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:2ω6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3ω6	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3ω3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:4(ω6)	1.75±0.06	0.53±0.11	0.56±0.10	n.d.
C20:4(ω3)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:5(ω3)	n.d.	0.22±0.06	0.44±0.10	n.d.
【C20:5(ω3)wt%】	0.01±0.00	0.17±0.05	0.39±0.08	n.d.
C22:1(ω9,11)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C21:5(ω3)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:5(ω6)	0.40±0.13	0.09±0.01	n.d.	n.d.
C22:5(ω3)	0.10±0.01	0.23±0.04	0.48±0.02	n.d.
C22:6(ω3)	0.72±0.12	4.36±0.43	4.26±0.51	n.d.
【C22:6(ω3)wt%】	0.55±0.05	3.69±0.39	3.72±0.23	n.d.
C24:0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C24:1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
脂質量(g)　/ 卵黄重量(g)	4.55/15.75	4.36/15.44	4.84/16.90	-
卵黄中の脂質含有率(%)	28.85	28.24	28.71	-
卵黄(g) / 卵白(g)　比	32.6/67.4	33.7/66.3	38.7/61.3	-

試験区A、B、Cの卵黄脂質脂肪酸組成および脂質クラス組成は表5、図4に示す通りであった。各区とも異常卵の産卵有無や摂食状況などの親鶏の状態、卵質の状態から見て、それぞれの区の平均と思われる3個の卵を選別して分析に供した。

試験区A、B、Cの卵黄脂質含有率は各区とも28～29%、卵黄比率は32～38%であり、概ね文献値と一致していた[15, 34, 35]。

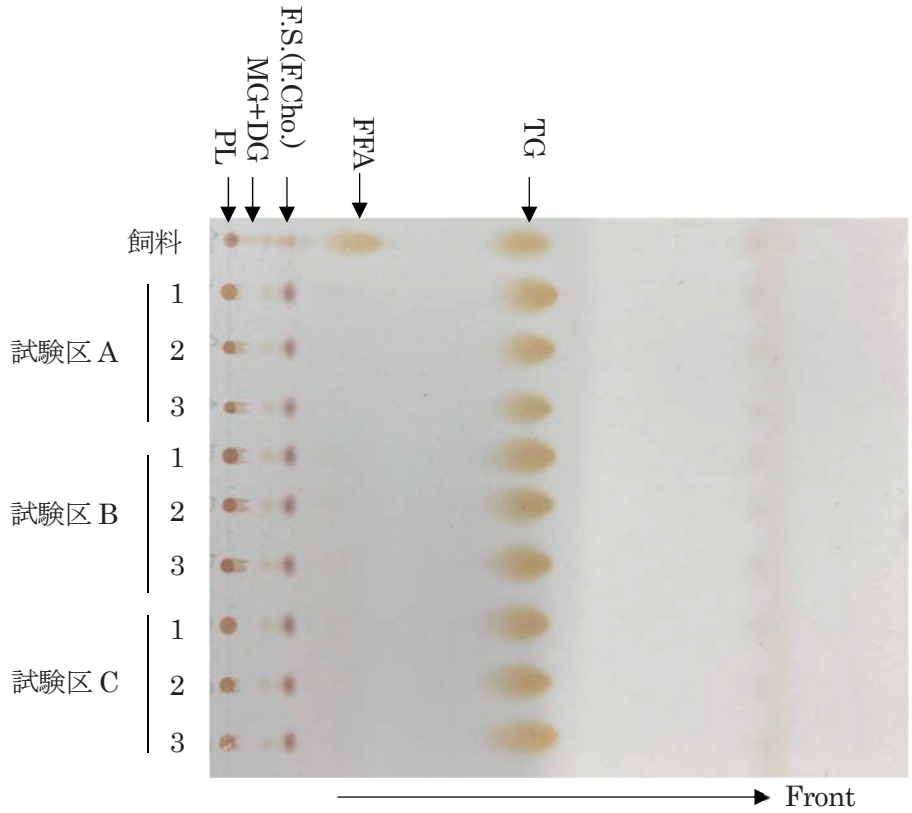


図4　飼料（ノダハツ16）並びに、試験区A、B及びCの卵黄脂質のTLCクロマトグラム
展開溶媒、焦化方法及び略号は図1と同一.

試験区A、B、Cの卵黄脂質脂肪酸組成は、基本飼料と同様にオレイン酸、リノール酸が認められた。高度不飽和脂肪酸に関しては、試験区AにおいてはEPA 不検出、DHA 0.72%、試験区BにおいてはEPA 0.22%、DHA 4.36%、試験区CにおいてはEPA 0.44%、DHA 4.26%であった。また、アラキドン酸【C20:4（ω6），AA】に関しては、試験区Aは1.75%に対して、試験区B、Cはそれぞれ0.53%、0.56%であり、有意に低下していた。

図4に示す通り、試験区A、B、Cの卵黄脂質の主な構成脂質クラスとしてTG、F.Cho.、DG、MG、PLが定性的に確認されたが、遊離脂肪酸（FFA）およびEEのスポットは不検出であった。特に、飼料としてDHA-EEを投与された試験区Cにおいて、卵黄中にはTLC的にはEEが検出されなかったことについて、より高感度のガスクロマトグラフィー（GC）により再確認試験を行い図5の結果を得た。通常GCによる脂肪酸分析に際しては全脂肪酸をメチル化して気化温度を落とした後、分析に供する。脂肪酸のEE体は改めてメチル化操作しないでそのままGC分析に供することができる。そこで、試験区Cから得られた卵黄全脂質をそのままGC分析に供した場合のチャート（B）並びに卵黄全脂質をメチル化した後GC分析に供した場合のチャート（A）を比較したところ、チャート（B）からはFID検出器に反応するピークは不検出となり、EEは検出されなかった。

4. 考察

一般に、卵黄脂質中のEPA含量は0.01%以下、DHA含量は0.1から1.0%程度である[15-19]。飼料中にEPA、DHA等のω3系PUFAを5から15%含む魚油を5から10%混合し、14から60日間産卵鶏に投与した場合、卵黄脂質中のEPA含量は0.5%前後まで、DHAは5.0%程度まで増加することが知られており[15-19, 31]、特殊卵として特許出願も行われている[20]。また、鶏は脂質代謝が活発であり、飼料中に混合する脂質含量は30%を超えても成長に問題はないとされている[36]。一方、魚油由来のω3系PUFA含有脂質を飼料として与えた場合、魚臭成分の鶏卵への移行が懸念されるため[16]、藻類由来のω3系

PUFA含有油脂[22, 23]やALAを含む麻実油[24, 37]、亜麻仁油[38]を与え鶏の体内でDHAに変換させることによる魚臭の抑制されたDHA含有特殊卵作出の可能性が報告されている。また、DHAを総脂肪酸組成中に41.4%有する海産藻類、Schizochytrium、粉末2%を含む飼料にコリンを添加して与えると、卵黄脂質中のDHA含量が上昇するとの報告[39]がある。

本研究においては、DHA70BAPTおよびBNC-RESをDHA純品換算で1.0ｇ/羽/日、40から42日間投与した場合、表5に示す通りそれぞれの卵黄脂質中DHA含量はコントロール0.72%以下に対して、それぞれ4.36%、4.26%となり、既報値とほぼ一致した[15-19, 31]。興味深いことに、筆者らの知る限り大量のEPA、DHA等のω3系PUFAを長期間投与した場合でも、卵黄中のEPA、DHA等のω3系PUFAの総量は一定量以上増加しない。一方、DHA含有特殊卵においては卵黄脂質中のEPA、DHA等のω3系PUFA含量は増加するものの、同時にAAは減少するとする報告[15, 16, 23]と同様に、本研究においても減少が認められた。

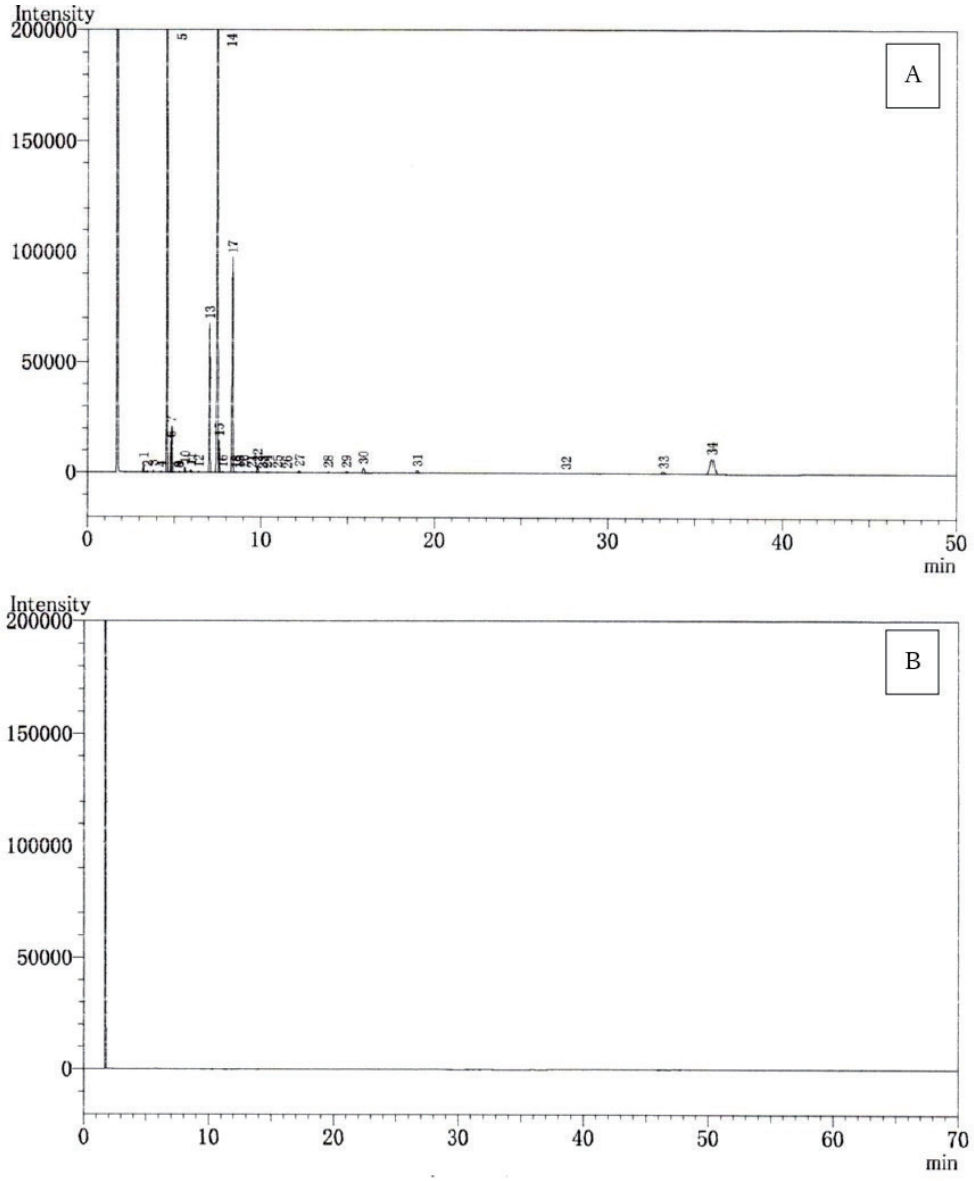


図5　試験区Cから採卵された卵の卵黄脂質脂肪酸のGCクロマトグラム

試料：A，卵黄脂質脂肪酸メチルエステル；B，卵黄脂質（メチル化処理をしていない）
検出器：FID；カラム，DB-WAX（0.25mmID×30.0m）；注入量，1.5μl；気化室温度，250.0℃；FID検出温度，260.0℃；カラム温度，210.0℃（昇温なし）；スプリット比，50.0

本結果を脂質代謝の面から生化学的に説明することは現段階ではできないが、筆者らは卵黄の構造維持という物理的な要求及び過大な酸化ストレス発生の抑制のための適応ではないかと考えている。即ち、二重結合数の多いPUFAの割合が過剰になれば、卵黄の構造維持に重要な役割を果たしているPCやホスファチジルエタノールアミン(PE)に選択的に取り込まれたEPA、DHA等のω3系PUFAにより軟弱となり構造維持は困難となる可能性がある。また、一般に卵は発生学的にも活性酸素の産生を抑制する必要がある[40, 41]。しかし、一定量以上のPUFAが存在すれば生体中の酸化ストレス抑制システムでは充分には対処出来なくなるかも知れない。このために、一定量以上のEPA、DHA等のω3系PUFAを卵黄中に蓄えず、相対的に代謝速度の大きいAAを先に減少させることにより、酸化ストレスの負荷増大を抑制している可能性がある。

グリセリド型DHAとして用いたDHA70BAPTはDHA純度73.5%品であり、表2に示す通りTGを94.9%、DGを4.5%含む。これほどの高純度DHAグリセリドを産卵鶏に投与した研究例はない。共存する他の脂肪酸の影響を少なくしている点で精度の高い結果が期待される。

一般に、未加工のDHAはTGの2位に多く分布しているとされる[25]。DHA純度が70%を超えるTGの場合、1位、3位に結合したDHAも相当量存在している筈で、このようなDHAは吸収速度が遅く[42]、また、酸化されやすい[43]と考えられる。表4に示す通り、試験区Bにおいて産卵率が低下し、ハウユニットが有意に低下したことは飼育条件、投与量(dose)などが関連している可能性が示唆されるが、高純度DHAが産卵鶏の代謝系に何らかの負荷を与えた可能性もあり今後の検討課題であると考える。

試験区C(BNC-RES投与区)の産卵率、卵質等は試験区A(コントロール)と比較して大差は認められなかったが、卵黄脂質中のEPA、DHA含量は試験区B(DHA70BAPT投与区)と同等であった。また、投与されたEEは図4、5に示す通り、ほぼ完全にリン脂質及びTGに取り込まれており、卵黄脂質中には残存していなかった。摂取されたEPA、DHA等の脂肪酸EEは腸管内で加水分解された後遊離脂肪酸として吸収され、一部はEEのままで吸収されると考えられる。一般に、吸収された遊離脂肪酸や脂肪酸EEは消化管壁の小腸粘膜上皮細胞に取り込まれてmonoglyceride経路又はα-glycerophosphate経路を介してTGに再合成される[36]。再合成されたTGは門脈を経由して超低密度リポタンパク質(VLDL)として輸送され蓄積される。従って、脂肪酸EEは腸内吸収とTGへの再合成の過程で殆どがグリセリドに変換されると考えられる。このことは、ラットに14C-EPA-EEを経口投与後リンパ液中に出現した放射能の90%以上がTG画分中で検出された、とする報告[44]とも一致する。ALAのような炭素数18以下の脂肪酸は卵黄においてTGに取り込まれるが、EPAやDHAはPEに取り込まれるとする報告がある[16]。PC、PEのどちらにより選択的に多く取り込まれるかは、投与開始直後と数日間継続投与された後では異なると考えられるが、そのメカニズム等は今後の課題である。いずれにしても、EE型DHAはDHA含有特殊卵生産の優れた原料として利用可能であることが証明された。

本研究はDHAを含む特殊卵に関する生物学的、脂質生化学的な理解を深めるだけでなく、引き続き、試験区A、B、Cの官能評価と酸化ストレスとの関係などを明らかにすることを目的としており、食品学的に重要な知見を与えると考える。本研究に続く論文で報告したい。

倫理的配慮

本研究は、作陽学園「人を対象とする研究」倫理基準に基づく、学内倫理委員会において、備前化成株式会社、株式会社のだ初、作陽学園において利益相反は認められない旨を確認した。

なお、本研究においては産卵鶏そのものに何らかの苦痛を与える可能性は想定しがたく、更に、実験期間終了後は産業用産卵鶏として通常の状態に戻すことを前提としているため、飼育担当の株式会社のだ初において「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年文部科学省告示第71号)に該当しないと判断された。

謝辞

本研究の実施に当たり、実験動物の飼育管理を担当された株式会社のだ初の関係各位に心より御礼申し上げます。

要約

本研究は採卵用鶏に対し、高純度グリセリド型又はエチルエステル(EE)型のドコサヘキサエン酸(DHA)を経口投与し、卵黄脂質組成の変化及び官能評価に与える酸化ストレスの影響を見ることを目的としている。本論文では卵黄脂質組成の変化を扱っている。

試験区はA(基本飼料投与)、B(グリセリド型DHA)、C(EE型DHA) の3区とし、各区とも50週令の5羽の赤玉採卵鶏、ボリスブラウン(Boris Brown)に対し、DHAを1.0 g/日、43日間投与した。試験区A、B、Cの卵黄脂質含有率は各区とも28～29%、卵黄比率は32～38%であり、卵黄脂質脂肪酸組成は、基本飼料と同様にオレイン酸及びリノール酸を構成脂肪酸として含んでいた。高度不飽和脂肪酸に関しては、各区とも α-リノレン酸(ALA)は不検出であったが、試験区Aにおいてはエイコサペンタエン酸(EPA)不検出、DHA 0.72%、試験区BにおいてはEPA 0.22%、DHA 4.36%、試験区CにおいてはEPA 0.44%、DHA 4.26%であった。試験区A、B、Cの卵黄脂質の主な構成脂質クラスとして、トリアシルグリセロール(TG)、フリー・コレステロール、ジアシルグリセロール、モノアシルグリセロール、原点脂質(リン脂質、PL)が定性的に確認されたが、遊離脂肪酸およびEEのスポットは不検出であった。すなわち、投与されたEEはほぼ完全にPL及びTGに取り込まれており、卵黄脂質中には残存していなかった。EE型DHAはDHA含有特殊卵生産の原料として利用可能であることが示唆された。

参考文献

1)万倉三正，鹿山光：“AA，EPA，DHAの生理機能と利用”，AA，EPA，DHA-高度不飽和脂肪酸，鹿山光編，恒星社厚生閣，東京，p207-224(1995).
2)鈴木平光：魚油の健康機能，日本油化学会誌，48(10)，1017-1024(1999).
3)吉田敏：DHAの構造的意味，脂質栄養学，26(1)，9-25(1999).
4)松本侑也，小竹直樹，山本義久，甫喜本憲：消費者の意識調査に基づいたDHAサプリメントの顧客層の特質に関する研究，J. National Fisheries Uni.，68(4)，107-114(2020).
5)林浩孝，大野智，新井隆成，鈴木信孝：特定保健用食品「食後の血中脂肪が上昇しにくいまたは身体に脂肪がつきにくい」表示をした食品について，日本補完代替医療学会誌，5(3)，197-208(2008)
6)西川正純，保科由智恵，木村優輝：脳機能系(記憶)DHA，Functional food，14(1)，10-17(2020).
7)金子佳代子，畑結樹：DHA等添加食品および市販水産加工食品等の脂肪酸組成と食事のn-6/n-3PUFA改善効果について，家政誌，52(4)，325-334(2001).
8)高橋毅：育児用調製粉乳の新素材，Milk Science，55(4)，263-276(2007).
9)Thielecke F.，Blannin A.：Omega-3 Fatty Acids for Sport Performance-Are They Equally Benefical for Athletes and Amateurs? Nutrients，2020，12(12)，3712(PMID：33266318 PMCID：PMC7760705 DOI：10.3390/nu12123712).
10)大石勝隆:生活習慣病の予防や改善を目指した時間栄養学，オレオサイエンス，21(4)，121-127(2021)
11)Suzumura A.，Terao R.，Kaneko H.：Protective Effects and Molecular Signaling of n-3 Fatty Acids on Oxidative Stress and Inflammation in Retinal Deseases，Antioxidants，2020，9，920(PMID：32993153 PMCID：PMC7600094 DOI：10.3390/antiox9100920).
12)Takayama F.，Nakamoto K.，Totani N.，Yamanushi T.，Kabuto H.，Kaneyuki T.，Mankura M.：Effects of Docosahexaenoic Acid in an Experimental Rat Model of Nonalcoholic Steatohepatitis，J.Oleo Sci.，59(8)，407-414(2010).
13)Suzuki-Kemuriyama N.，Matsuzaka T.，Kuba M.，Ohno H.，Han S.，Takeuchi Y.，Isaka M.，

Kobayashi K., Iwasaki H., Yatoh S., Suzuki H., Miyajima K., Nakae D., Yahagi N., Nakagawa Y., Sone H., Yamada N., Shimano H：Different Effects of Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids on Atherogenic High-Fat Diet-Induced Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Mice, PLOS ONE, 2016, 11(6), e0157580(PMID：27333187 PMCID：PMC4917109 DOI：10.1371/journal pone.0157580.).

14)Goldberg Erin M, Ryland Donna, Gibson Robert A, Aliani Michel, House James D：Designer Laying Hen Diets to Improve Egg Fatty Acids Profile and Maintain Sensory Quality, Food Sci. & Nutr., 1(4), 324-335(2013).

15)渡辺泰邦，村井秀夫：鶏の卵黄脂質とその脂肪酸組成におよぼす飼料脂肪酸組成の影響，信州大学農学部紀要，5巻特別号，155-164(1968).

16)田中桂一：高レベルn-3系高度不飽和脂肪酸含有鶏卵・鶏肉の生産について，北畜会報，41，10-22(1999).

17)Zhao Y-C, Shi H-H, Wang C-C, Yang J-Y, Xue C-Hu, Jiang X-M, Chen G-D, Zhang T-T, Wang Y-M：The Enrichment of Eggs with Docosahexaenoic Acid and Eicosapentaenoic Acid through Supplementation of the Laying Hen Diet, Food Chem., 2021, 346：128958(DOI：10.1016/j.foodchem.2020.128958.Epub128958).

18)一川ゆか里，田辺勉，松谷隆広，水口智越：サバ油の添加給与が鶏卵のDHA含量に及ぼす影響，福井県畜産試験場研究報告，20，27-34(2007).

19)Omidi M., Rahimi S., Torshizi M.A.K.：Modification of Egg Yolk Fatty Acids Profile by Using Different Oil Sources, Vet Res Forum, 6(2), 137-141(2015).

20)イセ食品株式会社：特開2004-65002(出願日2002年8月1日，公開日2004年3月4日).

21)デペニッシュ　ニュートリション　リミテッド：特開2019-521684(出願日2017年6月30日，公開日2019年8月8日).

22)Park J. H., Upadhaya S.D., Kim I.H.：Effect of Dietary Marine Microalgae (Schizochytrium) Powder on Egg Production, Blood Lipid Profiles, Egg Quality, and Fatty Acid Composition of Egg Yolk in Layers, Asian Australas J.Anim.Sci., 28(3), 391-397(2015).

23)Liu B, Jiang J, Yu D, Lin G, Xiong L：Effects of Supplementation of Microalgae(Aurantiochytrium sp.) to Laying Hen Diets on Fatty Acid Content, Health Lipid Indices, Oxidative Stability, and Quality Attributes of Meat, Foods, 2020, 9, 1271(PMID:32927865 PMCID:PMC7555786 DOI：10.3390/foods9091271).

24)Goldberg E M, Gakhar N, Ryland D, Aliani M, Gibson R A, House D：Fatty Acid Profile and Sensory Characteristics of Table Eggs from Laying Hens Fed Hempseed and Hempseed Oil, J.Food Sci., 77(4), S153-160(2012).

25)高橋是太郎：魚油の利用，日本油化学会誌，40(10)，931-941(1991).

26)木村友紀，宮下和夫：イワシ油の酸化により生成する過酸化物とアルデヒド含量の関係，北海道大学水産科学研究彙報，54(3)，53-57(2003).

27)Rohfritsch Z., Schafer O., Giuffrida F.：Analysis of Oxidative Carbonyl Compounds by UPLC-High Resolution Mass Spectometry in Milk Powder, J Agric. Food Chem., 67(12), 3511-3520(2019).

28)宮下和夫：水系での不飽和脂質の酸化安定性に関する研究，オレオサイエンス，6(12)，585-591(2006)

29)石原健司：リン脂質の抗酸化能の発現機構，中央水産研究所研究報告，8，139-146(1996).

30)戸谷洋一郎：機能性高度不飽和脂質の調製と酸化防止，日本油化学会誌，48 (11)，1233-1245(1999).

31)奥恒行，加藤秀夫，国重(田口)智子，服部道世，和田圭子，東美登里：EPA及びDHA高含有鶏卵のn-3系多価不飽和脂肪酸等脂溶性成分並びに物理化学的性状の安定性，栄養学雑誌，54(2)，109-119(1996).

32)新間弥一郎：“水産物脂質実験法”，水産生物化学・食品学実験書，斎藤恒行他編，恒星社厚生閣，東京，80-102(1974).
33)金子弘：TLC/FID法の油脂及び脂質分析への応用，日本油化学会誌，32(10)，505-573(1983).
34)日本食品成分表2021，医歯薬出版編，八訂，医歯薬出版，東京，158-159(2021).
35)伊藤敬恵，山中なつみ，小川宣子：異なる鶏種の鶏が産卵した卵の卵黄中のホスファチジルコリン含量の比較，岐阜女子大学紀要，37，15-18(2008).
36)秋葉征夫：鶏における脂質代謝の制御，日畜会報，53(7)，449-461(1982).
37)Neijat M.，Suh M.，Neufeld J.，House J.D.：Increasing Levels of Dietary Hempseed Products Leads to Differential Responses in the Fatty Acid Profiles of Egg Yolk，Liver and Plasma of Laying Hens，Lipids，51(5)，615-633(2016).
38)Nein S.，Renema R.A.，Korver D.R.，Zuidhof M.J.：Characterization of the n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Enrichment in Laying Hens Fed an Extruded Flax Enrichment Source，Poultly Science，91(7)，1720-1732(2012).
39)Wang H.，Zhang H.J.，Wang X.C.，Wu S.G.，Wang J.，Xu L.，Qi G.H.：Dietary Choline and Phosphorlipid Supplementation Enhanced Docosahexaenoic Acid Enrichment in Egg Yolk of Laying Hens Fed a 2% Schizochytrium Powder-added Diet，Poultly Science，96，2786-2794(2017)
40)星宏良：哺乳動物胚の酸化ストレス障害とその制御，化学と生物，38(2)，99-104(1998).
41)Zhou L，Ding X，Wang J，Bai S，Zeng Q，Su Z，Xuan Y，Wu A，Zhang K：Oxidized Oils and Oxidized Proteins Induce Apotosis in Granulosa Cells by Increasing Oxidative Stress in Ovaries of Laying Hens，Oxid Med Cell Longev.，2020，Volume 2020，Article ID2685310，11pages(http://doi.org/10.1155/2020/2685310.).
42)遠藤泰志：構造脂質とその機能性，日本食品科学工学会誌，43(11)，1163-1169(1996).
43)藤本健四郎：油脂および油脂食品の酸化的劣化とその評価法に関する研究，日本油化学会誌，46(3)，249-259(1997).
44)荻原琢男，秦野泰子：エイコサペンタエン酸エチル（EPA-E）の生体内動態，脂質栄養学，24(1)，21-32(2015).