

高純度ドコサヘキサエン酸含有飼料投与による 鶏卵の嗜好性及び調理的特性の変化

Alterations of the sensory properties and cooking characteristics of layers egg
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 SEKIYA¹⁾・Masako YAMAMOTO²⁾・Yoshiko HANAKAWA³⁾・Natsuki FUJIWARA³⁾・

三澤嘉久³⁾・高山房子⁴⁾・高見樹里⁴⁾・大塚舞奈⁵⁾・
Yoshihisa MISAWA³⁾・Fusako TAKAYAMA⁴⁾・Jyuri TAKAMI⁴⁾・Maina OHTSUKA⁵⁾・

佐藤紀代美⁵⁾・河村 敦⁵⁾・万倉三正⁵⁾
Kiyomi SATOH⁵⁾・Atsushi KAWAMURA⁵⁾・Mitsumasa MANKURA⁵⁾

Abstract

This study gives a knowledge on alterations of the sensory properties and cooking characteristics of layers egg administered feed contained 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 triacylglycerol, TG, type DHA) and C(comprehending ethyl ester, EE, type DHA) were instituted for laying hens(Boris Brown) of 50 weeks age. Those of both B and C wards were given DHA of 1.0g/day. All eggs were collected during periods from the examination start 15th day to the 40th day.

As a result, a remarkable difference was not recognized about the fishy odor of raw egg from each examination ward either. After cooking boiled egg, scotch egg and coddled egg employed the eggs from each examination ward, the odor and taste were evaluated sensually. Remarkable differences were detected in neither case, but there were multiple panels that the odor of examination ward B and C was more remarkable than ward A. The meaningful change of trimethylamine(TMA)-N density during refrigeration storage was not observed, but a rise in examination ward B and C was found in the oxidation stress markers such as 2-thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) and the chemiluminescence strength brought by the luminol oxidation light emission.

From the above-mentioned results, both the TG and EE type DHA dosage is less likely to contribute to onset of the raw egg odor, but the increase of fishy odor is possible in boiled egg, scotch egg, and coddled egg which had passed through cooking processes as heating or mixing, and this suggests a possibility derived from DHA itself or the oxidation decomposition products of the DHA not the difference of TMA levels.

Keywords : docosahexaenoic acid, layer, oxidative stress, fishy odor

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

1. 緒言

産卵鶏は飼育環境によって熱性ストレス(heat stress)¹³⁾、飼育密度⁴⁾やケージ内の自由度(free range)⁵⁻⁷⁾に伴う種々のストレスに晒されている。一般に、酸化ストレスの亢進に伴い飼料消費量、産卵率、卵重、卵質(ハウユニット、卵黄係数、卵黄色、卵殻色、卵殻強度など)、ヘマトクリット値、血漿の生化学的マーカー等の変化が観察され⁸⁾、例えば熱性ストレスを加えられたブロイラーの血漿中チオバルビツール酸反応物質(TBARS)や8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG)濃度の増加、ヒジロキシラジカル消去能の低下、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)活性の上昇、グルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-Px)活性低下などが報告されている⁹⁾。また、官能的評価を含む卵質向上や産卵率向上のため、産卵鶏用飼料に酸化ストレス抑制物質としてカテキン類¹⁰⁾、ライストリエノール¹¹⁾、ワイン製造絞り粕¹²⁾、アスタキサンチン¹³⁾等を混合する試みも報告されている。

一方、栄養強化卵の一つとしてドコサヘキサエン酸(DHA)含有卵が注目されている^{14, 15)}。DHA強化卵作出のため、DHA含有魚油¹⁶⁾だけでなく、DHAの生体内生合成に際しその前駆体となる α -リノレン酸に富む亜麻^{17, 18)}や麻の実¹⁹⁾を産卵鶏に投与し、卵黄中のDHA含有量を高めるとする報告もある。いずれの場合も卵黄脂質中のオメガ(ω)3系脂肪酸の総量は増加がみられているが、TBARS値やSOD活性には顕著な変化は観察されていない。また、魚臭などの生臭さに関しては一般消費者は官能的に検知しない(又は、気にならない)程度の変化であったとされている²⁰⁾。卵の魚臭などの生臭さは飼料として投与される菜種粕由来のコリンが腸内細菌によりトリメチルアミン(TMA)-N-オキシドに変換され²¹⁾、卵黄に移行する^{22, 23)}と考えられているので、DHA含有卵の生臭さが ω 3系脂肪酸又はTMA由来なのかは関心が持たれる。これらの報告に鑑みて、DHAは酸化ストレスを抑制^{9, 24, 25)}するので産卵鶏の飼育中に発生する各種ストレスにより増大する魚臭などの生臭さを含む卵質低下をDHA投与によって官能評価的に低減できるか否かに関しては我々の知る限りでは明確な報告は見当たらない。

本報告においては、産卵鶏への高純度DHA投与後の鶏卵の魚臭などの生臭さや調理特性等の変化と酸化ストレスとの関係を明らかにするため、高純度に精製されたトリアシルグリセロール(TG)型DHA又はエチルエステル(EE)型DHAを産卵鶏に投与し、産卵された卵の官能評価、酸化ストレスマーカーとしてTBARSやケミルミネッセンス(chemiluminescence)法による脂質過酸化物の測定、並びに調理特性の変化を検討し、産卵鶏への高純度DHA投与の影響を評価することを目的としている。

2. 実験材料および方法

試験区はA(基本飼料投与)、B(TG型DHA, 1gDHA/日投与)、C(EE型DHA, 1gDHA/日投与)の3区とし、各試験区とも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、15から30日目に採卵された卵を官能評価及び分析用試料として用いた。

2-1 飼育方法及び卵の管理

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。各試験に供するまで全ての卵は冷蔵保存(4℃)し、官能検査及び調理特性検討は試験開始15日目から30日目に産卵された卵を産卵後3日以内に用いた。TMA測定²²⁾及び酸化ストレスマーカーとしてTBARS測定²⁶⁾並びにケミルミネッセンス(chemiluminescence)法²⁷⁾による脂質過酸化物の測定は、試験開始35日目から40日目に採卵された卵を卵黄と卵白に分離後、各容器のヘッドスペース部分を窒素ガスで置換後-30℃以下で試験に供するまで保管した。

2-2 実験材料(DHA含有油脂組成物)

DHA70BAPT(備前化成株式会社)はマグロ油及びカツオ油を出発原料としてDHA70%に濃縮した

TG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型のDHA濃縮品で、DHAを40.8%含む。

DHA含有油脂組成物の粉末化、飼料の調製と投与方法は前報²⁸⁾と同一である。従って、試験区B及びCは一羽当たりDHA(100%換算)1.0g/日投与したことになる。

2-3 官能評価

官能評価は株式会社のだ初社員、備前化成株式会社社員及びくらしき作陽大学学生、教員の20歳代から60歳代の合計37名(男性16名、女性21名)とし、作陽学園「人を対象とする研究」倫理基準に基づき、試験日時に参加可能なメンバーのみ任意でパネルとして参加した。

1)生卵に関しては「生臭さ」を評価した。各パネル自身で生卵を卵黄と卵白に分離し、それぞれ別々の紙コップに入れ、それぞれのにおいを嗅ぎ、続けてよくかき混ぜ、ティースプーン1杯分を口に含み、においの官能評価を行った。評価基準は5段階とし、それぞれ、強い(+2)、やや強い(+1)、普通(0)、やや弱い(-1)、弱い(-2)、とし、各評価をした人数によって判断した。なお、試験終了後各パネルの任意で自身が用いた卵の同じ種類同士の卵黄と卵白を合わせ、それぞれ白飯と醤油で卵かけご飯にし、味の感想を聞き取った。

2)ゆで卵に関しては「生臭さ」と「おいしさ」を評価した。常温に戻した卵を沸騰水中に入れ、12分間加熱後、流水中で20分間冷却し、ゆで卵を作成した。殻は試験前にむいておき、1人分は1/2個とし、試験開始までラップで包んで保管した。卵黄と卵白に分けて評価を行った。評価基準は5段階とし、それぞれ、おいしい(+2)、ややおいしい(+1)、普通(0)、ややまずい(-1)、まずい(-2)、とし、各評価をした人数によって判断した。

3)調理特性に関しては、くらしき作陽大学食文化学部現代食文化学科3年生の選択科目「商品開発実習Ⅱ」を選択した学生の中から希望する7名(上記倫理基準に従っている)によって、卵を用いたスコッチエッグ及びコドルドエッグを試作し、生臭さ、おいしさ、硬さや弾力などのテクスチャー等を評価した。

2-4 TMA-N測定²²⁾

試料の調製

試験開始(DHA投与開始)から35日目から40日目に採卵された卵から各試験区5個ずつを任意に選別し、生卵から卵黄と卵白を分離後均質化した。卵黄と卵白とも5個分を混合して1サンプルとし、それぞれに約10gを20ml容のサンプル瓶に分取し、ヘッドスペース部分を窒素置換後4℃にて冷蔵保存し、各試験区の0、7、22、36、42、50日目のTMA-Nを測定し、経日的な変化を測定した。

測定操作

それぞれに5%トリクロロ酢酸10mlを加えて混和した後遠心分離(10,000rpm, 10分間)し上清を分取した。30分間室温に静置後濾過(Toyo濾紙No.2)し、濾液2.0mlを試験管にとった。各試験官に50%ホルマリン溶液0.5mlを加えて混和した後、トルエン5.0ml及び45%水酸化カリウム溶液1.5mlを加えて室温で10分間静置した。続けて、トルエン層4.0mlを分取し無水硫酸ナトリウムで脱水後、トルエン層3mlを採取し、0.02%ピクリン酸トルエン溶液3mlと混和し、410nmで比色定量した。検量線作成、計算法は参考文献²²⁾に準拠して行った。

2-5 酸化ストレスマーカーの測定

1)TBARS測定²⁶⁾

試料の調製

試験開始(DHA投与開始)から35日目から40日目に採卵された卵から各試験区5個ずつを任意に選別し、生卵から卵黄と卵白を分離後均質化した。各試験区とも5個分を混合して1サンプルとしたものを試料として用いた。

測定操作

ネジ付き試験管に試料0.3gをとり、0.05N塩酸3.0ml及びTBA試薬(0.67% 2-thiobarbituric acid)1.0mlを加えて混合し、沸騰水浴中で30分間加熱後速やかに室温まで冷却し、15%メタノール含有ブタノール溶液4.0mlを加え振盪抽出した。遠心分離(2500rpm, 10分間)後上層(ブタノール層)を採取し、535nmで比色測定した。標準試料調整、計算法などは参考文献²⁶⁾に準拠して行った。

2)ケミルミネッセンス法による脂質過酸化物の測定²⁷⁾

試料の調製

試験開始(DHA投与開始)から35日目から40日目に採卵された卵から各試験区5個ずつを任意に選別し、個別に生卵から卵黄と卵白を分離後均質化し、ヘッドスペース部分を窒素置換後、 -30°C 以下で保存した。従って、試験区A、B、Cとも卵黄卵白試料が各5検体ずつある。

続けて、卵白に関しては氷冷下にて卵白に対して3倍量の水を加えて均質化後、遠心分離(2,000rpm, 10分間)し、上清を測定試料とした。測定までの期間は -30°C で保管した。

卵黄に関しては氷冷下にて卵黄に対して4倍量の水を加えて均質化後、遠心分離(3,000rpm, 10分間)し、上清を測定試料とした。測定までの期間は -30°C で保管した。解凍後には試料が白濁するため、使用前に再度遠心分離(9,000rpm, 10分間)して沈殿物を除いて測定試料とした。

測定操作

チトクロームc(馬心臓由来, Sigma-Aldrich)は水で $25\mu\text{g}/\text{mL}$ に調整し、ルミノール(luminol, 和光純薬工業)は120mM塩化カリウム・30mMリン酸緩衝液(pH7.4)で $125\mu\text{g}/\text{mL}$ に調整した。

超純水(blank)または測定用試料を $50\mu\text{L}$ 、Cytochrome c溶液を $100\mu\text{L}$ (最終 $250\mu\text{L}$ 中濃度 $10\mu\text{g}/\text{mL}$)、ルミノールを $20\mu\text{L}$ (最終 $250\mu\text{L}$ 中濃度 $10\mu\text{L}/\text{mL}$)96穴測定用プレートに添加し、 37°C にて5分間インキュベートしベース発光値を得た。ターシャリー-ブチルヒドロペルオキシド(tert-butyl hydroperoxide, t-BuOOH, Sigma-Aldrich)を $20\mu\text{L}/10\text{mL}$ になるように水で希釈したものを $80\mu\text{L}$ (最終 $250\mu\text{L}$ 中濃度 $6.4\mu\text{L}/\text{mL}$)測定用プレートに添加して酸化反応を開始させ、 37°C 、120分間のルミノール酸化発光による化学発光を測定した。得られた結果は、t-BuOOH添加後の発光値から添加前の発光値を差し引くことにより真の発光値を求め、化学発光積算値(Accumulated(Chemiluminescence) counts / 120min)として定量化した。また、測定用試料についてタンパク定量を実施し、化学発光値を最終 $250\mu\text{L}$ 中の試料のタンパク濃度で割ることで補正を行った。化学発光測定には、Assay Plate (White) (IWAKI 3600-096;旭硝子株式会社, 東京, 日本)、マルチモードマイクロプレートリーダー TriStar LB941 (ベルトールドジャパン株式会社, 東京, 日本)を用いた。

3. 結果

試験区A(基本飼料投与)、B(TG型DHA, 1gDHA/日投与)及びC(EE型DHA, 1gDHA/日投与)の3区の産卵鶏から試験開始15日目以降に産卵された卵を卵黄と卵白に分離し、それぞれの生臭さの強さを官能評価すると共に、TMA、TBARS、ケミルミネッセンス法による脂質過酸化物量を測定した。また、スコッチエッグ及びコドルドエッグを試作して調理特性を評価した。ゆで卵を作成し卵黄部分と卵白部分の生臭さ、おいしさを官能評価した。

3-1 生卵の官能評価

試験開始15日目から30日目に産卵された生卵を卵黄と卵白に分離し、それぞれの生臭さの強さを官能評価し、図1の結果を得た。試験区Aと比較したとき、試験区B、Cの生臭さの方が強い又は弱いなどの明白な差は認められず、DHA投与が生卵の生臭さに影響していなかった。

3-2 ゆで卵の官能評価

試験開始15日目から30日目に産卵された生卵をゆで卵にし、卵黄と卵白に分離し、それぞれの生臭さの強さおよびおいしさを官能評価し、図2、3の結果を得た。

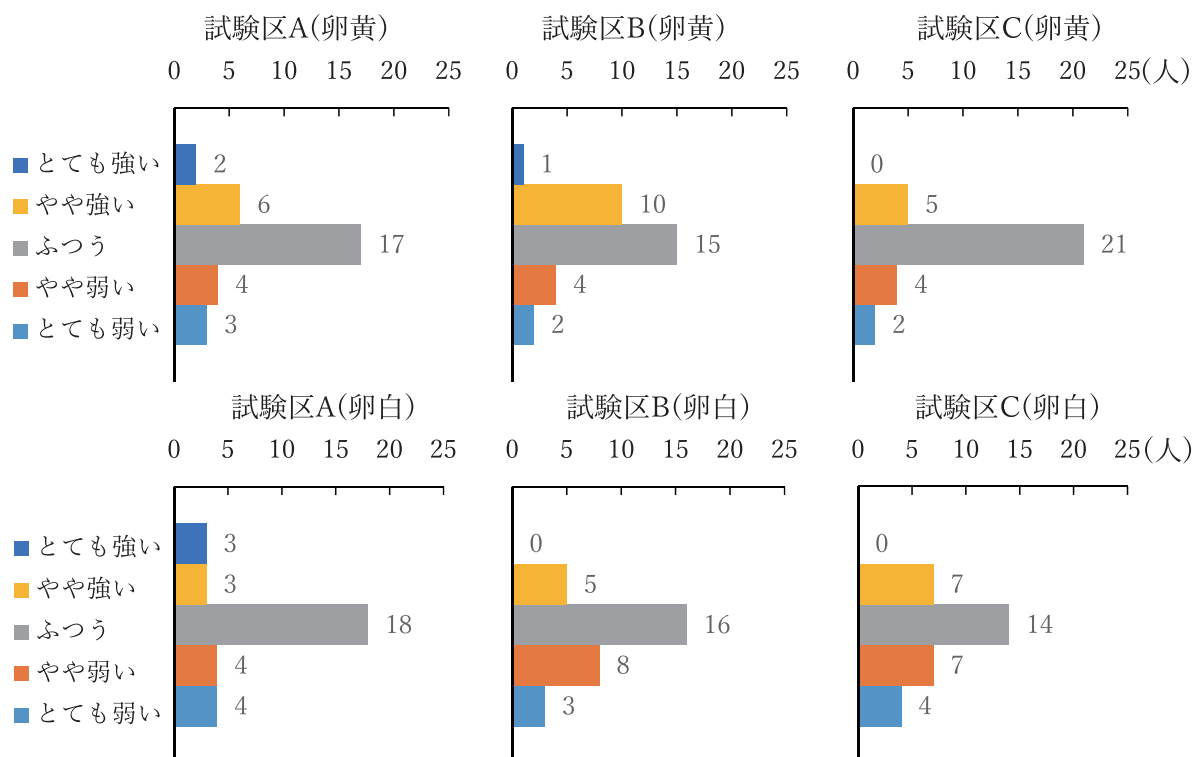


図1 生卵の卵黄及び卵白部分の生臭さの官能評価 (n=32)

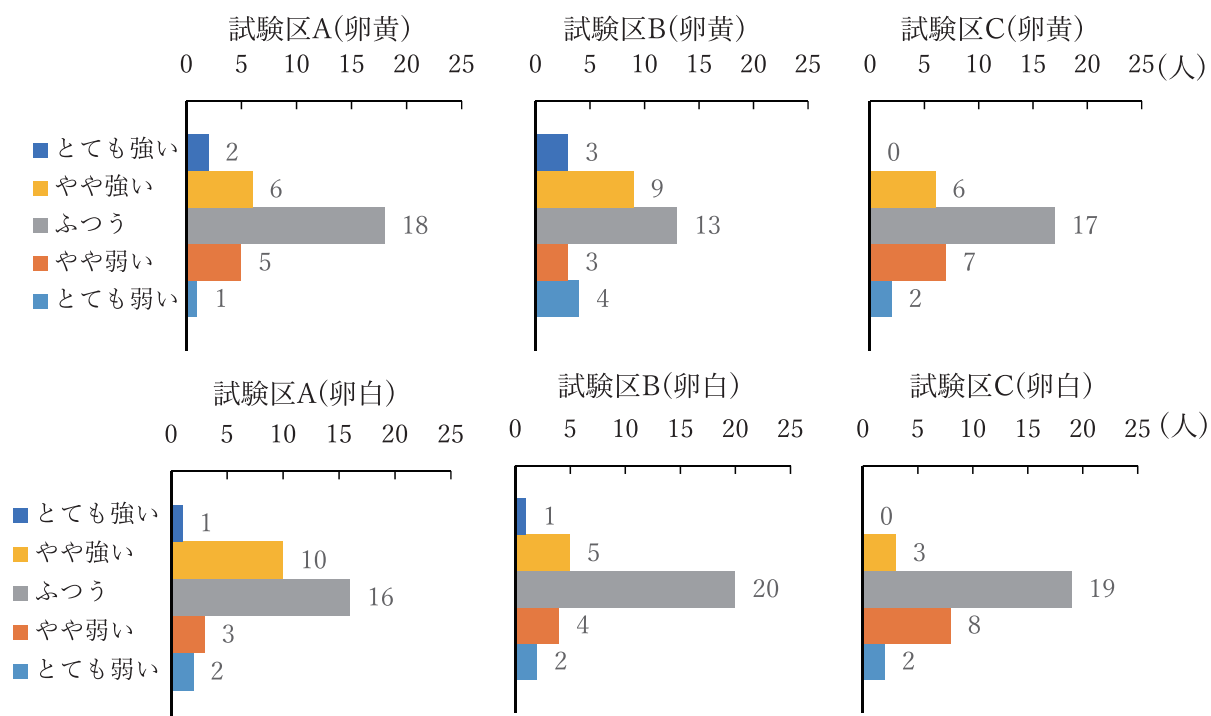


図2 ゆで卵の卵黄及び卵白部分の生臭さの官能評価 (n=32)

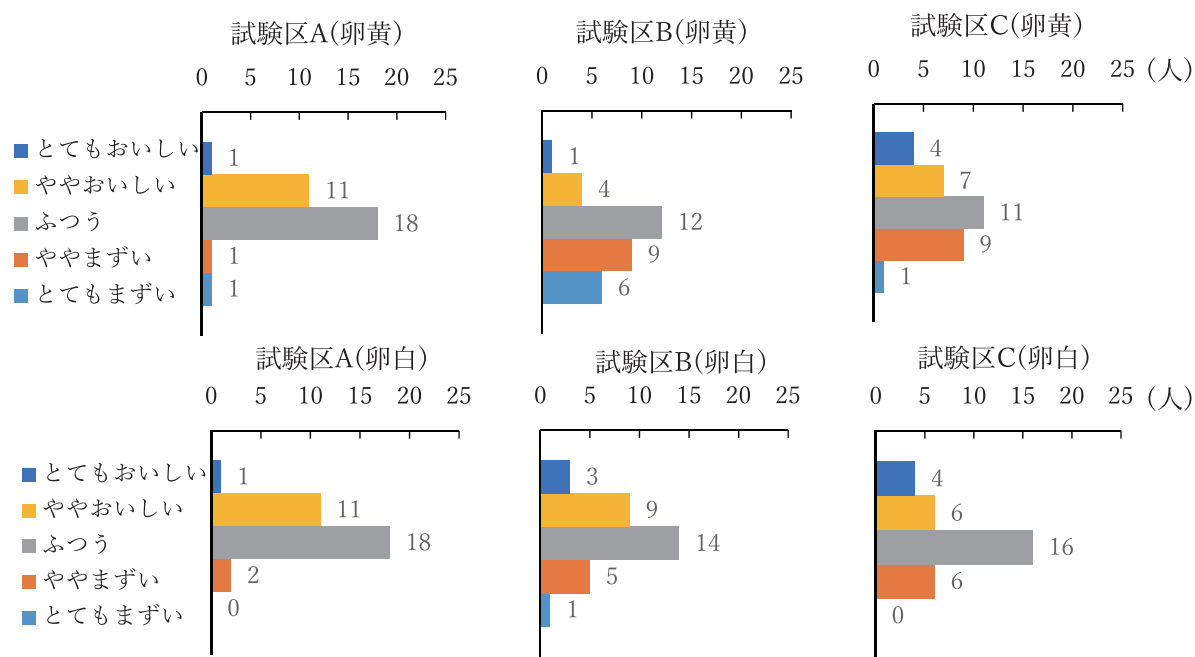


図3 ゆで卵の卵黄及び卵白部分のおいしさの官能評価(n=32)

生臭さに関しては、卵黄は試験区Aと比較したとき、試験区B、Cの生臭さの方が強い又は弱いなどの明白な差は認められず、DHA投与がゆで卵の生臭さ発現に影響していなかった。しかし、卵白の試験区Aのみは生臭さがやや強いとするパネル数が生卵の場合の2倍あった。

おいしさに関しては、試験区Aと比較したとき、試験区B、Cの方が卵白、卵黄共にややまずい、とてもまずいと評価するパネル数が独立性の検定では有意に増加しており、卵黄でより顕著な差がみられた。

3-3 調理特性の変化

各試験区の全卵を用いてスコッチエッグ及びコドルドエッグを試作し、生臭さ、おいしさ、硬さや弾力などのテクスチャー等を評価した。

1) スコッチエッグ

スコッチエッグ試作に当たり利用した原料組成を表1に、完成した試作品の写真を図4に示す。

表1 スコッチエッグ試作に用いた原料組成

肉だね		衣		ソース	
原料名	使用量	原料名	使用量	原料名	使用量
鶏ひき肉	90g	卵	40g	みそ	27g
卵	60g	薄力粉	18g	酒	19g
青唐辛子	12.5g	パン粉	20g	みりん	18g
ケチャップ	18g			しょうゆ	3g
塩	3g			ラー油	4g
ジョロキア	少々			青唐辛子	40g
パウダー				ジョロキア	少々
ナツメグ	少々			パウダー	
ブラック	少々				
ペッパー					



図4 官能評価に用いたスコッチエッグ試作品

担当学生7名によって官能評価したところ図5に示す結果が得られた。

生臭さに関しては試験区B及びCの生臭さがやや強いとするパネルが1名あったが、これ以外は試験区A、B、Cとも同一となり、DHA投与の影響は認められなかった。

おいしさに関しては、試験区Aはややおいしいとしたパネルが2名、試験区Bはとてもおいしいとしたパネルが1名であったのに対して、試験区Cはややおいしいが2名、とてもおいしいが2名あり、DHAを投与した試験区B、Cともによりおいしくなっている傾向が認められた。特に、試験区B(TG型DHA, 1gDHA/日投与)と比較して試験区C(EE型DHA, 1gDHA/日投与)の評価が高いことは注目される。

試食した際の硬さ、弾力に関しては各試験区とも大きな差異は認められなかった。

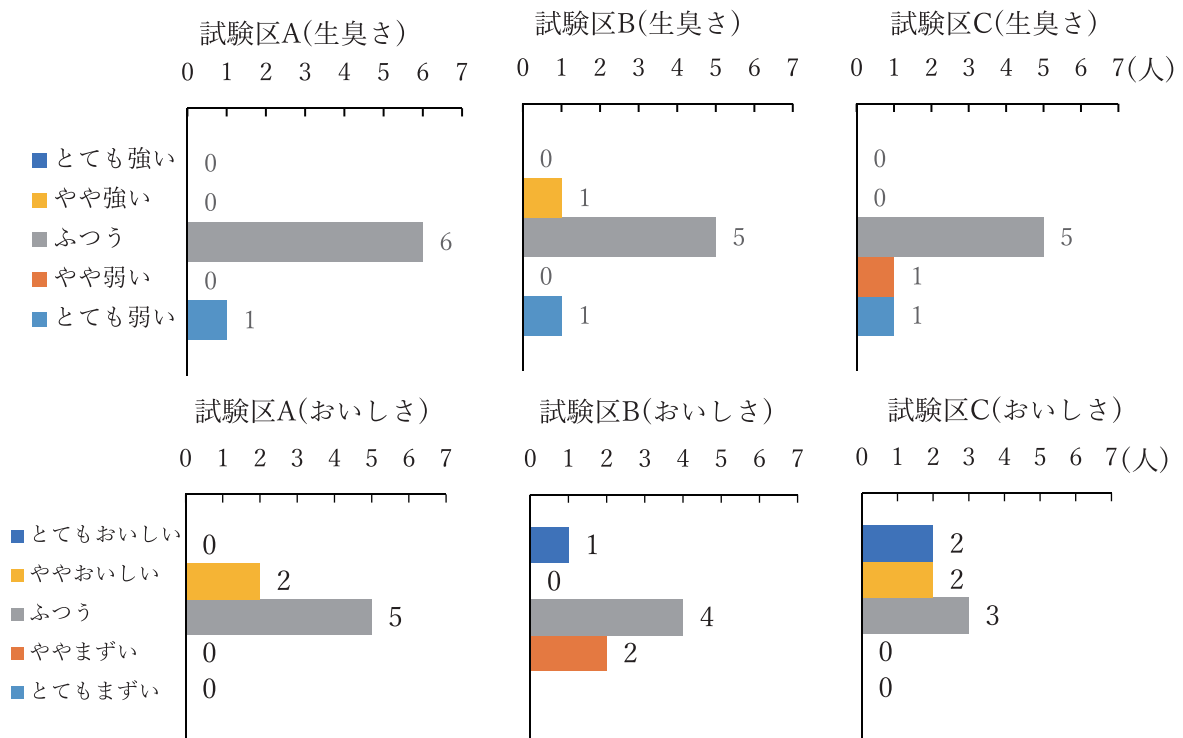


図5 スコッチエッグの生臭さ及びおいしさの官能評価 (n=7)

2) コドルドエッグ

コドルドエッグ試作に当たり利用した原料組成を表2に、完成した試作品の写真を図6に示す。担当学生7名によって官能評価したところ図7に示す結果が得られた。

生臭さに関しては試験区Bの生臭さがやや弱いとするパネルが1名あったが、これ以外は試験区A、B、Cとも同一となり、DHA投与の影響は認められなかった。

おいしさに関しては、試験区Aと比較して、試験区Bはややまずいと評価したパネルが3名であったのに対して、試験区Cはややおいしいが3名、とてもおいしいが3名あり、EE型DHAを投与した試験区Cが、独立性の検定により有意においしくなっている傾向が認められた。特に、試験区B(TG型DHA, 1gDHA/日投与)と比較して試験区C(EE型DHA, 1gDHA/日投与)の評価が高いことは注目される。

試食した際の硬さ、弾力に関しては各試験区とも大きな差異は認められなかった。

表2 コドルドエッグ試作に用いた原料組成

原料名	使用量
さつまいも	50 g
グラニュー糖	15 g
卵	50 g
牛乳	13 g
さつまいもパウダー	2 g



図6 官能評価に用いたコドルドエッグ試作品

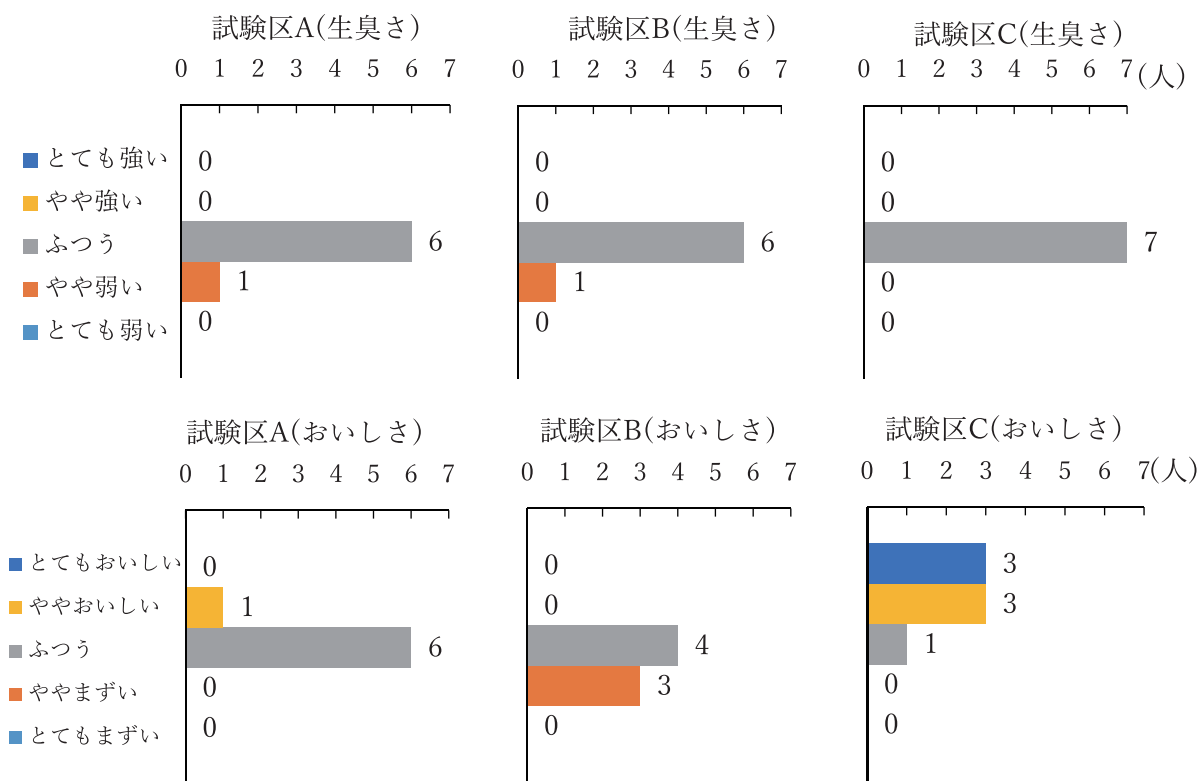


図7 コドルドエッグの生臭さ及びおいしさの官能評価(n=7)

3-4 卵黄、卵白中TMN-N濃度の経日変化

試験開始23日目から25日目に採卵された各試験区の卵を卵黄と卵白に分離し、4℃で保管した時のTMA-N濃度の経日変化を見たところ、図8(卵黄)及び図9(卵白)に示す結果が得られた。

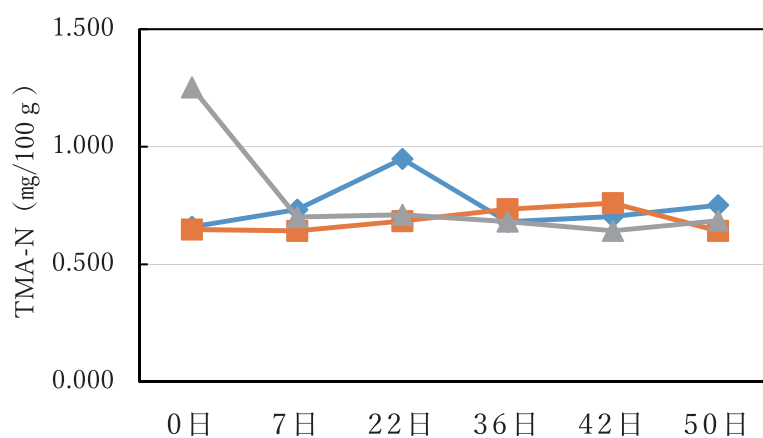


図8 卵黄中TMA-N濃度の経日変化

A, —◆— ; B, —■— ; C, —▲—

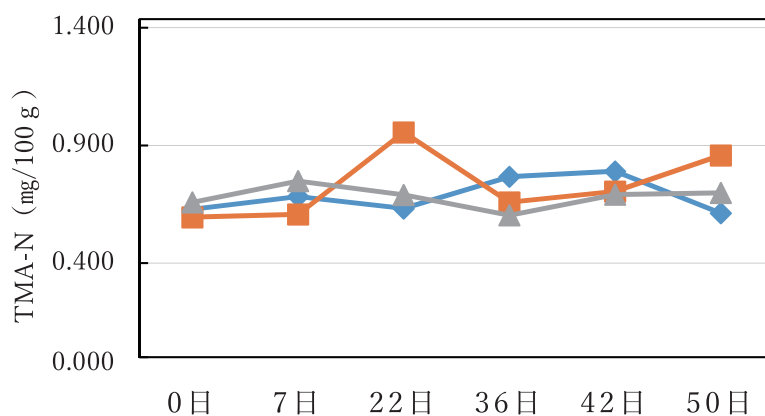


図9 卵白中TMA - N濃度の経日変化

A, —◆— ; B, —■— ; C, —▲—

卵黄、卵白とも貯蔵期間中におけるTMA - N濃度の経日変化は認められず、また、試験区A、B、Cの相互間の差異も認められなかった。

3-5 酸化ストレスマーカーの測定

1) 各試験区の卵黄、卵白中TBARS濃度の比較

試験開始(DHA投与開始)から35日目から40日目に採卵された各試験区の卵5個分を卵黄、卵白に分離し、それぞれを纏めて均質化しTBARS濃度を測定したところ、図10に示す結果が得られた。卵黄に関しては、試験区Aと比較して、DHA投与区の試験区B、CにおいてTBARS濃度が高くなっており、試験区C(EE型DHA, 1gDHA/日投与)が最も高くなった。卵白に関しては、各試験区とも明らかな差異は認められなかった。

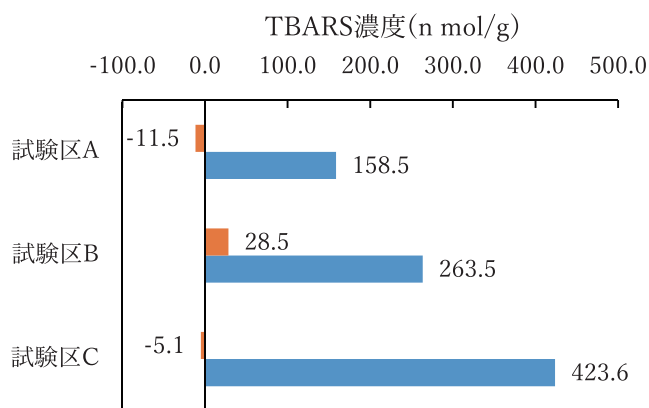


図10 各試験区の卵黄、卵白中TBARS濃度の比較

■卵黄；■卵白

2) ケミルミネッセンス法による脂質過酸化物の測定

試験開始(DHA投与開始)から35日目から40日目に採卵された卵から各試験区5個ずつを任意に選別し、個別に生卵から卵黄と卵白を分離後均質化し、それぞれの試料に関してルミノール酸化発光による化学発光を開始から120分間測定したところ、図11(卵黄)、図12(卵白)に示す結果が得られた。卵黄の場合、試験開始約10分後に極大ピークが認められ、試験区Aと比較して、試験区B、Cの発光値が高いことが確認された。卵白の場合も試験開始約10分後に極大ピークが認められ、発光値は試験区C、A、Bの順であった。

更に、各試験区別の測定時間120分間分の発光値の積算値を求めたところ、図13(卵黄)、図14(卵白)に示す結果が得られた。卵黄の場合、試験区Aと比較して、試験区B、Cの発光値が高いことが明瞭に確認された。卵白の場合、試験区Cの値が最も高く、試験区Bが最も低い結果となったが、卵黄の結果と比較すると明瞭な差が認められなかった。

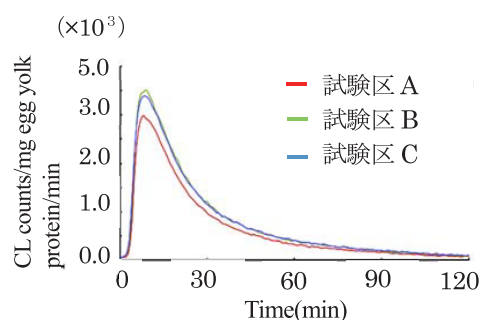


図11 卵黄のルミノール酸化発光による化学発光の経時変化

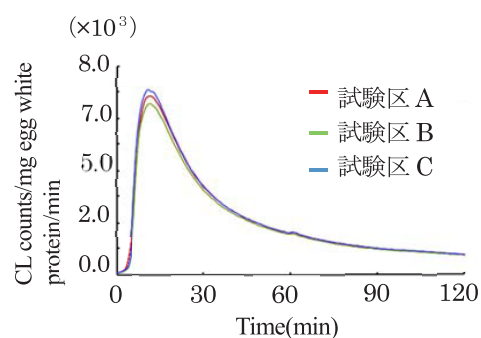


図12 卵白のルミノール酸化発光による化学発光の経時変化

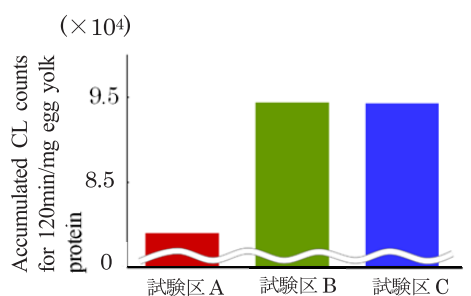


図13 卵黄の化学発光値の積算値

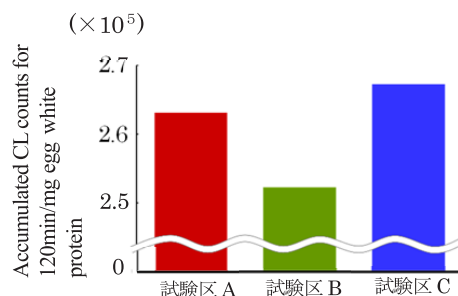


図14 卵白の化学発光値の積算値

4. 考察

産卵鶏の卵の生臭い魚臭はTMAに由来する^{22, 29, 30)}とされているが、①DHAを含む飼料を与えられた場合、その臭いは強くなるか否か、②その場合、酸化ストレスマーカーの変化は関係するか否か、について検討した。

図1に示すように、試験区A、B、Cに関し試験開始15日目から30日目に産卵された生卵を卵黄と卵白に分離し、それぞれの生臭さの強さを官能評価したところTG型DHA又はEE型DHA投与は生卵の生臭さの強弱に影響していなかった。このことは、エイコサペンタエン酸(EPA)とDHAなどの ω 3系脂肪酸を1重量%含有する飼料を産卵鶏に2週間以上投与して、可食部100g中のEPAを0.03g以上、DHAを0.3g以上とすることを目的とした出願特許¹⁵⁾の商業的目標とも一致している。また、脱臭処理済又は未脱臭処理のメンハーデン油を産卵鶏に投与した場合、卵黄中の魚臭などの生臭さを含む官能評価では両者に有意な差は認められなかったとする報告³¹⁾があり、上記結果とも一致する。過去の研究では、TMAや脂質過酸化物を含むDHA含有量20重量%以下の未精製油脂が使用されているが、本研究で用いたDHA70BAPTやBNC-RESはTMAや脂質過酸化物をほとんど含まないDHA含有量40～70重量%の高度精製油脂を用いており、DHAそのものの影響は高い精度で評価されたと考えている。即ち、DHAなどの ω 3系脂肪酸を1重量%含有する飼料を産卵鶏に投与した場合、生卵の生臭い魚臭の強弱には影響は及ばないと考えられる。

一方、ゆで卵にした後の官能評価結果は図2に示す通り、生卵の場合とは異なっていた。すなわち、各試験区の卵白部分の生臭さに関しては、試験区Aが試験区B、Cよりも強いとするパネルが約2倍に達した。おいしさに関しては、卵黄、卵白共、試験区Aよりも試験区B、Cの方がまずいとするパネルが数倍も多かった。原因としては、ゆで卵にする際のタンパク変性に伴う脂質成分の分離状態、分離した脂質成分の酸化、官能評価を実施するまでの時間や保存状態の相違などが考えられる。また、アラキドン酸などの高度不飽和脂肪酸由来の微量の水溶性酸化物がコク味の増加に効果があるとする報告³²⁾もあり、鶏卵の生臭さとの関係も含めて更なる検討が必要である。

DHA強化卵の調理特性の変化を見るため、各試験区から得られた卵を用いてスコッチエッグ(図5)、コルドエッグ(図7)を試作し官能評価するとともに、試食の際の硬さ、弾力等のテクスチャーを評価した。各試験区の比較では、生臭さ、おいしさに若干の違いが認められているが、顕著な差異は認められなかった。また、試食時のテクスチャーについても各試験区の差異は認められなかった。このような変化の有無は調理工程におけるタンパク質、脂質などの変性に伴う立体構造の変化とも関連しており、嗜好に合致した加工技術の構築が必要と思われる。 α -リノレン酸を投与された産卵鶏から得られた卵の卵黄は卵黄ゲル凝集性が大きくなり、生卵黄では粘性が高くなった、とする報告³³⁾があり、DHA卵との比較にも興味を持たれる。

普通食を与えられた産卵鶏からの鶏卵の生臭い魚臭はTMAとされているが、DHAやその前駆体を投与された卵の臭いがTMA由来なのか、それともDHAそのものか又はDHAの酸化分解生成物由来なのかは知られていない。また、DHAそのものの酸化ストレス抑制作用によって生臭さが抑制される可能性の有無も知られていない。これらのことに見通しを得るため、本研究においては図7に示す通り、各試験区から得られた卵黄と卵白中の保存期間中におけるTMA-N測定を行った。その結果、共に保存期間中におけるTMA-Nの増加は認められなかった。カツオ血合い肉³⁴⁾やサンマ肉³⁵⁾では冷凍保管中にTMA-Nの増加が認められており、魚類のようなトリメチルアミノオキサイド(TMAO)の還元によって発生するTMAとコリンに由来する卵のTMAの違いが原因の可能性はある。いずれにしても、今回の各種の官能評価の結果からみて、試験区Aよりも試験区B、Cの方が生臭さが強いと評価したパネルも複数あり、これはTMA濃度の違いではなくてDHAそのものか又は加熱や混合工程の過程で発生したDHAの酸化分解生成物由来である可能性を示唆している。

上記推論は各試験区の卵黄、卵白のTBARS測定結果(図10)からも裏付けられる。すなわち、卵黄中のTBARS濃度は試験区B、CのDHA投与区で高くなっており、DHA生合成の前駆体となる α -リノレン酸を含む麻の実を与えられた産卵鶏の卵黄中のTBARS濃度は上昇したとの報告¹⁸⁾とも一致する。

また、卵黄のルミノール酸化発光による化学発光の経時変化をみた結果(図11, 13)とも一致する。熱性ストレスを加えられた産卵鶏に麻の実を投与した時、卵黄中のマロンジアルデヒド(MDA)やSOD活性は変化しなかったとする報告¹⁹⁾もあることに鑑みて、DHAを含む ω 3系脂肪酸は産卵鶏に対して酸化ストレス抑制的に働くとしても、卵の酸化ストレスマーカー低減に関係するか否かは結論できない。そして、DHA高含有卵の場合、脂質成分の酸化速度は普通卵よりも大きいので、本来、酸化安定性の高い卵黄中³⁶⁾においても保存中や調理加工の過程での微量の過酸化物やその分解生成物が生じ、生臭い魚臭の発現に関わっている可能性がある。また、その量³²⁾や他の食品成分との相互作用で官能的に美味しいと評価されることも有り得るであろう。

倫理的配慮

本研究は、作陽学園「人を対象とする研究」倫理基準に基づき、学内倫理委員会において、「人を対象とする研究」に係る研究計画等審査(2020年10月29日付け)を経て承認されたものである。各対象者に対して試験の目的、方法、予想される副作用の可能性などについて説明を行い、内容を理解した上で自発的に試験参加に同意する旨を同意書への署名によって確認した。また同時に、同委員会に置いて、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

官能評価に際し御協力戴いた株式会社のだ初、備前化成株式会社、くらしき作陽大学の関係者の皆様に心より御礼申し上げます。

要約

本研究は産卵鶏への高純度ドコサヘキサエン酸(DHA)投与後の鶏卵の魚臭などの生臭さや調理特性等の変化と酸化ストレスとの関係を明らかにすることを目的としている。産卵鶏を試験区A(基本飼料投与)、試験区B(TG型DHA, 1gDHA/日投与)、試験区C(EE型DHA, 1gDHA/日投与)に分け、15日から40日目の期間中に採卵された生卵及び加工後の生臭さの官能評価、生卵の冷蔵保管中におけるトリメチルアミン(TMA-N)濃度の変化、TBARSやケミルミネッセンス(chemiluminescence)法による脂質過酸化物の測定を行った。その結果、生卵の生臭さに関しては各試験区とも顕著な差が認められなかった。各試験区の卵を用いて、ゆで卵、スコッチエッグ、コドルドエッグを試作し、生臭さ、おいしさを比較したところ、いずれの場合も顕著な差異は認められなかったが、試験区Aよりも試験区B、Cの方が生臭さが強いと評価したパネルも複数あった。冷蔵保管中のTMA-N濃度の変化は認められなかったが、卵黄中のTBARSとルミノール酸化発光による化学発光強度などの酸化ストレスマーカーは試験区B、CのDHA投与区で上昇が認められた。

以上の結果から、産卵鶏に対するTG型及びEE型DHA投与は生卵の生臭さ発現に寄与している可能性は低いが、加熱や混合等の工程を経たゆで卵、スコッチエッグ、コドルドエッグ等では生臭さの増大の可能性があり、これはTMA濃度の違いではなくてDHAそのものか又はDHAの酸化分解生成物由来である可能性を示唆している。

参考文献

- 1) Panda A K, Ramarao S V, Raju M V L N, Chatterjee R N : Effect of dietary supplementation with vitamins E and C on production performance, immune responses and antioxidant status of White Leghorn layers under tropical summer conditions, Br Poult Sci, 49(5), 592-599(2008).

- 2)Barrett NW, Rowland K, Schmidt CJ, Lamont SJ, Rothschild MF, Ashwell CM, Persia ME. : Effects of acute and chronic heat stress on the performance, egg quality, body temperature, and blood gas parameters of laying hens, *Poult Sci*, 98(12), 6684-6692(2019).
- 3)Emami N. K, Jung U, Voy B, Dridi S : Radical Response : Effects of Heat Stress-Induced Oxidative Stress on Lipid Metabolism in the Avian Liver, *Antioxidants*, 10, 35(2021).
- 4)Yilmaz Dikmen B., Şahan A. : Egg production and welfare of laying hens kept in different housing systems(conventional, enriched cage, and free range), *Poult Sci*, 95(7), 1564-1572(2016).
- 5)Campbell D. L. M., Lee C., Hinch G. N., Roberts J. R. : Egg production and egg quality in free-range laying hens housed at different outdoor stocking densities, *Poult Sci*, 96(9), 3128-3137(2017).
- 6)Abo Ghanima MM, Elsadek MF, Taha AE, Abd El-Hack ME, Alagawany M, Ahmed BM, Elshafie MM, El-Sabrouk K : Effect of Housing System and Rosemary and Cinnamon Essential Oils on Layers Performance, Egg Quality, Haematological Traits, Blood Chemistry, Immunity, and Antioxidant, *Animals(Basel)*, 10(2), 245(2020).
- 7)Mench J A, Tienhoven A van, Marsh J A, McCormick C C, Cunningham D L, Baker R C : Effects of cage and floor pen management on behavior, production, and physiological stress responses of laying hens, *Poult Sci*, 65(6), 1058-1069(1986).
- 8)出雲章久, 安松谷恵子, 高見怜子 : 人為的ストレスに対する産卵鶏の反応, 日本産業動物獣医学会(近畿)・日本小動物獣医学会(近畿)・日本獣医公衆衛生学会(近畿), 獣医学術近畿地区学会講演要旨集, 2009, 44(2009).
- 9)Huang C, Jiao H, Song Z, Zhao J, Wang X, Lin H : Heat stress impairs mitochondria functions and induces oxidative injury in broiler chickens, *J Anim Sci*, 93(5), 2144-2153(2015).
- 10)山根哲夫, 後藤尚也, 高橋大三, 武田英嗣, 乙脇研仁, 土田孝雄 : 産卵鶏に対する緑茶温湯抽出物給与の影響, 日本家禽学会誌, 36(1), 31-37(1999).
- 11)前田恵助, 山本里美, 小林千洋, 石井浩子, 上田雅彦, 築野卓夫, 入江正和 : 採卵鶏へのライストリエノールTM飼料添加が生産性, 鶏卵中のコレステロールとビタミンE濃度ならびに過酸化脂質の生成に与える影響, 日本畜産学会報, 78(2), 179-187(2007).
- 12)河合宏美, 中村良一 : 採卵鶏に対するワイン製造搾り滓給与効果, 東北農業研究, 68, 83-84(2015).
- 13)丸谷永一, 清水正明, 藤本武, 吉岡正二, 佐達美佐 : 暑熱下におけるアスタキサンチン含有ファフィア酵母給与が「阿波尾鶏」種卵の生産性に及ぼす影響, 徳島畜研報, 16, 27-32(2017).
- 14)Sparks N H C(前田文子, 福永淑子, 戸塚耕二, 信津敏一 共訳) : 鶏卵—食品栄養におけるその役割は変化しつつあるか?, 畜産の研究, 62(11), 1163-1168(2008).
- 15)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).
- 16)Ebeid T, Eid Y, Saleh A, Abd El-Hamid H : Ovarian follicular development, lipid peroxidation, antioxidative status and immune response in laying hens fed fish oil-supplemented diets to produce n-3-enriched eggs, *Animal*, 2(1), 84-91(2008).
- 17)Aymond W M and Elswyk M E Van : Yolk thiobarbituric acid reactive substances and n-3 fatty acids in response to whole and ground flaxseed, *Poult Sci*, 74(8), 1388-1394(1995).
- 18)Hayat Z, Cherian G, Pasha T N, Khattak F M, Jabbar M A : Oxidative stability and lipid components of eggs from flax-fed hens: effect of dietary antioxidants and storage, *Poult Sci*, 89(6), 1285-1292(2010).
- 19)Konca Y, Yuksel T, Yalcin H, Buyukkilic Beyzi S, Kaliber M : Effects of heat-treated hempseed supplementation on performance, egg quality, sensory evaluation and antioxidant activity of laying hens, *Br Poult Sci*, 60(1), 39-46(2019).
- 20)Hayat Z, Cherian G, Pasha T N, Khattak F M, Jabbar M A : Sensory evaluation and

- consumer acceptance of eggs from hens fed flax seed and 2 different antioxidants, *Poult Sci*, 89 (10), 2293-2298(2010).
- 21) 菅野道廣: コリンの生理機能の一側面, トリメチルアミン-N-オキサイド, オレオサイエンス, 17(5), 217-222(2017).
 - 22) 堀口恵子, 清水恵太, 石橋晃: 魚臭原因物質トリメチルアミンの鶏卵への移行に関する研究, 家畜衛生研究会報, 49, 7-14(1999).
 - 23) Dänicke S, Ueberschär KH, Reese K, Weigend S: Investigations on the effects of rape oil quality, choline and methionine concentration in diets for laying hens on the trimethylamine content of the eggs, on trimethylamine metabolism and on laying performance, *Arch Anim Nutr*, 60(1), 57-79(2006).
 - 24) 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).
 - 25) 西尾善彦: DHAによる酸化ストレスの抑制, 内分泌・糖尿病・代謝内科, 36(6), 524-529(2013).
 - 26) 島崎弘幸: 生体内過酸化脂質の測定, 過酸化脂質実験法(金田尚志・植田伸夫編), 医歯薬出版(東京), 80-89(1966).
 - 27) Pak W, Takayama F, Mine M, Nakamoto K, Kodo Y, Mankura M, Egashira T, Kawasaki H, Mori A: Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of spirulina on rat model of non-alcoholic steatohepatitis, *J Clin Biochem Nutr*, 51(3), 227-234(2012).
 - 28) 関谷美喜子, 山本雅子, 花川容子, 藤原夏樹, 三澤嘉久, 高山房子, 大塚舞奈, 佐藤紀代美, 万倉三正: 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, ぐらしき作陽大学・作陽音楽短期大学研究紀要, 55(1), 【印刷中】(2022).
 - 29) 篠原啓子, 富久章子, 笠原毅, 白田英樹, 三船和恵, 澤則之: 卵へのトリメチルアミンの移行と鶏種, 飼料の影響及びガスクロマトグラフィー質量スペクトル法(GC/MS)を利用した卵黄のにおい成分の分析, 徳島県立農林水産総合技術センター畜産研究所研究報告, No.1, 71-78(2001).
 - 30) Li X, Yuan G, Chen X, Guo Y, Yang N, Pi J, Zhang H, Zheng J: Fishy Odor and TMA Content Levels in Duck Egg Yolks, *J Food Sci*, 83(1), 39-45(2018).
 - 31) Gonzalez-Esquerria R, Leeson S: Effect of Feeding Hens Regular or Deodorized Menhaden Oil on Production Parameters, Yolk Fatty Acid Profile, and Sensory Quality of Eggs, *Poult Sci*, 79(11), 1597-1602(2000).
 - 32) 清原玲子, 山口進, 潮秀樹, 下村道子, 市川朝子: アラキドン酸の油脂調理食品への添加効果, 42(5), 294-299(2009).
 - 33) 小川宜子, 峯木真知子: 異なる飼料を給与した鶏が産卵した卵の調理特性, 日本調理科学会誌, 32(4), 317-322(1999).
 - 34) 平塚聖一, 青島秀治, 小泉鏡子, 加藤登: カツオ血合肉の貯蔵中における揮発性成分の変化, 77(6), 1089-1094(2011).
 - 35) 木村メイコ, 平岡芳信, 木宮隆, 今村伸太郎, 鈴木道子, 岡崎恵美子, 木村郁夫: サンマ肉のトリメチルアミン生成に及ぼす凍結貯蔵の影響, 日本水産学会誌, 76(6), 1073-1079(2010).
 - 36) 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).