

## 鶏卵成分に与える光合成細菌体飼料の効果

平山 修\*・石垣勝俊\*

Effects of Photosynthetic Bacteria Feeding on the  
Components of Hen's Eggs  
Osamu HIRAYAMA and Kastutoshi ISHIGAKI

The cell suspension of photosynthetic bacteria was fed to hens, and its effects on the components in eggs were investigated. In the eggs from the bacteria-fed hens (PBS-fed eggs), it was observed that a considerable increase in the proportion of the yolk and a slight increase in the shell proportion occurred. With the increase of yolk weight, the total fat content was significantly increased, while the content of cholesterol was rather decreased. It was noted that there were clear increases in the contents of fat-soluble and water-soluble vitamins (E, K<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>6</sub>) and accumulation of ubiquinone in the PSB-fed eggs. In these eggs, the total protein content in the white was almost unchanged, but lysozyme content tended to decrease.

### 緒 言

光合成細菌は多種類の有機物を分解し嫌気明・好気暗の両条件でよく生育するため、高濃度の有機廃水処理に有用であることがわかってきた<sup>1)</sup>。この廃水処理への利用と共に、副産物として多量得られる光合成細菌体自体の利用研究も進められ、菌体が良質なタンパク質、ビタミン、ユビキノンを豊富に含む<sup>2)</sup>ことから、菌体の水産飼料および畜産飼料としての利用試験が行われ、成果を上げている<sup>3,4)</sup>。

産卵鶏の飼料に光合成細菌体を添加利用する実験はすでに2, 3行われ、産卵率が向上し卵黄が紅色化することなどが報告されている<sup>4)</sup>。しかし、卵の成分等に与える影響を詳しく調べた研究はない。本研究は光合成細菌体の有効利用に関する研究の一環として、光合成細菌体を飲料水と共に産卵鶏に摂取させ、卵成分とくにタンパク質、脂質、ビタミン等の含量および組成にどのような影響を与えるかを調べ、光合成細菌体の飼料としての効果を検討した。

### 材料および方法

#### 1. 実験動物の飼料および光合成細菌

\* 食品化学研究室

鶏は15ヶ月齢のハイセックスを用い、西部化学工業株式会社製の成鶏飼育用配合飼料 (Table 1) で飼育した。光合成細菌は小林環境科学研究所 (群馬県) で培養調製した紅色非イオウ細菌 (*Rhodospseudomonas* 属) を用い、原菌体懸濁液 (菌体濃度5,000ppm) を水で2倍および4倍に希釈し、飲料水の代りとして与えた。鶏は10羽づつの3つの試験区に分け、第1試験区 (コントロール) には配合飼料と飲料水、第2試験区 (1250ppm PSB\*食) および第3試験区 (2,500ppm PSB食) には飲料水の代りにそれぞれ菌体原液の4倍希釈液 (1250ppm) および2倍希釈液 (2,500ppm) を与え (Table 1), 3週

Table 1. Compositions of experimental diets

Group No.	Diets	compositions
1	Control	Basal diet*, water
2	1250 ppm PSB	Basal diet*, photosynthetic bacterial cell suspension (1250 ppm)
3	2500 ppm PSB	Basal diet*, photosynthetic bacterial cell suspension (2500 ppm)

\* Assorted feed prepared at Seibu Chemical Industry Ltd. (crude protein 17.0%, crude fat 3.0%, crude fiber 5.0%, crude ash 13%, Ca 2.8%, P 0.55%, and others).

間飼育し、最後の1週間に産卵した卵を試料卵として用いた。

## 2. 分析方法

### (1) 分析試料の調製

各試験区からそれぞれ全合計重量が等しくなるように5ヶの卵を選び、ついで各試験区ごとに卵を破碎し常法通り卵殻、卵黄、卵白の3画分に分離して秤量し、3画分の平均重量%を述べた。次に、卵黄、卵白はそれぞれ混合均一化し、各試験区ごとの平均的成分組成をもつ卵黄画分、卵白画分を調製した。また、平均組成をもつ全卵(卵白・卵黄を含む)試料は上記卵黄、卵白画分をそれぞれ秤量を取り混合して調製した。

### (2) 卵白中のタンパク質およびリゾチーム

卵白画分の秤量を5mM リン酸緩衝液(pH 7.0, 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を含む)に溶解して200mlにし、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。カラムはShin-Pack Diol 150 (7.9×500mm)とShin-Pack Diol 300 (7.9×500mm)を連結して用い、移動相は10mM リン酸緩衝液(pH 7.0, 0.1 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を含む)を使用して235nmの紫外部吸収で検出定量した\*。リゾチームは標準物のRtから同定し定量した。

### (3) 脂質

卵黄画分の秤量にクロロホルム/メタノール(1:2, v/v)混液を加え超音波処理したのち遠心し、得られる上清にクロロホルムおよび水を加えて分層させた。脂質を含む下層のクロロホルム層を分取し、クロロホルムで100mlにして以下の分析に用いた。脂肪酸組成の分析は、抽出脂質を5%塩酸-メタノール液でメタノリシスしたのち、ガスクロマトグラフィーで分析した。カラムはThermon 1000 (3mm×2m)を用いた。コレステリンは抽出脂質から常法に従って不ケン化物を調製したのち、0.7% OV-17カラム(3mm×1m)を付したガスクロマトグラフ装置で分離定量した。

### (3) 脂溶性ビタミンおよびユビキノ

抽出脂質から不ケン化物を調製し、これを試料として、Palmer等の方法<sup>5)</sup>を改良してHPLCで分析した。カラムはZorbax CN (4.6×250mm)を用い、移動相は0.3%イソプロパノール/n-ヘキサンを使用した。ビタミンE(α-トコフェロール)は291nm、ビタミンK<sub>1</sub>は243nm、ユビキノンは275nmの吸収で検出し定量した。

### (4) 水溶性ビタミン

全卵試料に蒸留水30ml、70%過塩素酸48ml(最終濃度1N)を加えてホモジナイズし、2,000xgで10分間遠

心して得られる上清を苛性ソーダ液でpH 4.5-5.0に調整し、水で100mlにして水溶性ビタミンの試料液とした。

a. ビタミンB<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> およびB<sub>6</sub><sup>6,7)</sup> 上記抽出液1mlに0.1N塩酸6mlを加えてオートクレーブ(120°C, 30分)にかけ、反応液を中和したのちHPLCで分析した。カラムはLichrosorb RP-18(4×250mm)を用い、移動相はメタノール/25mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(3:7, v/v)に0.1%ペンタンスルホン酸ナトリウムを含ませた液を使用した。B<sub>1</sub>(チアミン)は261nm, B<sub>2</sub>(リボフラビン)は265nm, B<sub>6</sub>(ピリドキサミン)は291nmで検出定量した。

b. ナリアシン<sup>8)</sup> 上記抽出液1mlに1N苛性ソーダ液8mlを加え、100°Cで1時間加熱したのち、20,000xgで10分間遠心し、得られる上清を塩酸溶液でpH 4.0-5.0に調整してHPLCの試料液とした。HPLCの分析条件はa項と同じ、ただし検出定量は254nmの吸収で行った。

c. ビオチン<sup>9)</sup> 上記抽出液1mlに2N硫酸5mlを加えて120°C, 30分間オートクレーブにかけ、冷却後1N苛性ソーダ液で中和し、真空乾燥する。残渣にメタノール5mlを加えて溶解し遠心する。得られるメタノール抽出液にカチオン交換樹脂IR 120を加えて過剰の苛性ソーダを除去し、抽出液を濃縮乾固する。残渣に0.5mlのメタノールを加えて溶解し、この液25μlに等容のADAM液\*\*を加えて室温で60分間反応させ、HPLCで分析した。カラムはLichrosorb RP-18(4×250mm)を用い、移動相はアセトニトリル/水(6:4, v/v)を使用し、254nmの吸収で検出定量した。

## 実験結果

光合成細菌の懸濁液を飲料水の代りとして鶏に与えると、鶏は飲料水と同様に菌体懸濁液をよく摂取した。光合成細菌体を摂取したことによる産卵率の上昇ならびに卵の平均重の変化には有意差は認められなかった。しかし、光合成細菌体を摂取した鶏の卵(菌体摂取卵)の卵黄は明らかに黄橙色になり、卵成分の組成変化を示した。

まず、卵殻、卵白および卵黄の構成比を調べると、Table 2に示すように、菌体摂取卵はコントロールの卵に比し卵殻がやや多く、また相対的に卵白が減少し卵黄が増加した。

卵の脂質成分は殆どが卵黄に局在している。卵黄中の総脂質含量およびコレステリン含量の分析結果をTable 3に示す。菌体摂取卵の卵黄における脂質含量は明らかに増加した。しかし、卵黄中のコレステリン含量は逆に

\* 島津アブリケーションニュース 高速クロマトグラフィー 96

\*\* 9-anthryldiazomethane 10mg を2mlの酢酸エチルに溶解。

Table 2. Egg compositions

Diets	Shell	White		Yolk
		%		
Control	10.9	61.3	27.8	
1250 ppm PSB	12.4	57.9	29.7	
2500 ppm PSB	11.0	57.5	31.4	

Table 4. Fatty acid compositions in eggs

Fatty acids	Diets		
	Control	1250 ppm PSB	2500 ppm PSB
		%	
14:0	0.3	0.2	0.3
16:0	35.1	32.5	29.6
18:0	7.2	8.7	8.9
18:1	37.2	37.7	39.4
18:2	15.3	15.3	13.1
unknown	4.8	5.5	3.8
saturated	42.6	41.4	38.8
unsaturated	52.5	53.0	52.5

減少し、全卵含量として計算しても 2500ppm PSB 食の卵では大きく減少していた。次に、卵黄の脂肪酸組成の分析結果を Table 4 に示す。菌体摂取による脂肪酸組成への大きな影響はみられないが、16:0 酸が減少し、全飽和酸含有比率も減少する傾向が認められた。

Table 5 には脂溶性ビタミンおよびユビキノンの含量の分析結果を示す。ビタミン E ( $\alpha$ -トコフェロール) は菌体摂取卵で明らかに大きく増加し、コントロールの 2 倍ないし 3 倍の値を示した。また、ビタミン K<sub>1</sub> は 1250 ppm PSB 食の卵ではコントロールの 3 倍以上の高含量を示した。ユビキノンはコントロールの卵には検出されないが、菌体摂取卵には明らかにその存在が認められ、光合成細菌体の摂取量に沿って増加する傾向がみられた。

光合成細菌体摂取による水溶性ビタミン含量への影響

Table 3. Lipid contents in eggs

Diets	Total lipids		Cholesterol	
	A*	B**	A*	B**
Control	3.669	11.76	0.487	1.561
1250 ppm PSB	5.584	16.47	0.506	1.492
2500 ppm PSB	5.323	15.20	0.370	1.050

\* A, g/100g of whole egg.

\*\* B, g/100g of yolk.

を Table 6 に示す。ビタミン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> はそれぞれチアミン、リボフラビン、ピリドキサミンとして定量しているが、何れもコントロール卵に比して菌体摂取卵が高い含量を示した。ただし、ナイアシン含量は減少し、ビオチン含量には影響が認められなかった。

Table 7 は HPLC で分析した卵白中の総タンパク質含量およびリゾチーム含量を示す。菌体摂取による総タンパク質含量への影響は殆ど認められないが、リゾチーム量は減少する傾向を示した。

## 考 察

本実験では、光合成細菌体の摂取による産卵率、卵重等への影響はとくに認められなかった。しかし、卵成分の組成に対しては明確な影響を示し、卵黄は明らかに黄橙色化すると共に量的にも増加した。これに伴って総脂質含量が大きく増加したが、栄養学的にしばしば問題にされるコレステリン含量はむしろ減少する傾向にあり、また脂肪酸組成も飽和酸が減少する傾向を示した。これに対し、脂溶性ビタミン E および K<sub>1</sub> は共に大きく増加し、コントロール卵にはみられないユビキノンの比較的多量含有されるようになった。これは、光合成細菌の菌体中に多量のユビキノンの含まれているため、これが卵黄中に移行し蓄積したものと推測される。また、水溶性ビタミン B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> も明らかに光合成細菌摂取卵で含量が増加した。このように、光合成細菌体を飲料水と共に

Table 5. Contents of fat-soluble vitamins and ubiquinone in eggs

Diets	Vitamin E		Vitamin K <sub>1</sub>		Ubiquinone	
	A*	B**	A*	B**	A*	B**
Control	0.55	1.75	4.52	14.5	0	0
1250 ppm PBS	0.92	2.72	15.05	44.4	2.44	7.2
2500 ppm PBS	1.63	4.62	7.70	21.8	4.29	12.2

\* A, mg/100g of whole egg.

\*\* B, mg/100g of yolk.

Table 6. Contents of water-soluble vitamins in eggs

Vitamins	Diets	
	Control	1250 ppm PSB
	mg/100g of whole egg	
B <sub>1</sub> (thiamine)	0.13	0.22
B <sub>2</sub> (riboflavin)	0.70	0.87
B <sub>6</sub> (pyridoxamine)	0.18	0.31
Niacin	4.49	4.00
Biotin	trace	trace

鶏に与えると、卵の脂溶性ならびに水溶性ビタミンおよびユビキノンを増加させる効果のあることがわかった。なお、菌体摂取によって卵白中のリゾチーム含量が減少する傾向が認められるが、これが卵の保存性等に影響を与えるかどうかは明確でない。

### 要 約

光合成細菌体を飲料水と共に鶏に摂取させ、卵成分に与える影響を調べた。菌体を摂取した鶏の卵は、卵黄が黄橙色化すると共にその量が増加し、総脂質含量も大きく増加した。しかし、コレステリン含量はむしろ減少する傾向がみられた。卵白中のタンパク質含量は変化しないが、リゾチーム量は減少する傾向を示した。一方、脂溶性および水溶性ビタミン (E, K<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> および B<sub>6</sub>) 含量は明らかに増加し、またコントロール卵には検出されないユビキノンを菌体摂取卵には比較的少量存在することが認められた。このように、光合成細菌体は鶏卵中のビタミンおよびユビキノンを高める効果のあることがわかった。

Table 7. Contents of proteins in egg white

Diets	Total protein (g/100g white)	Lysozyme (mg/100g white)
Control	10.5	800
1250 ppm PSB	10.5	741
2500 ppm PSB	9.9	625

謝辞 本研究を行うにあたり「光合成細菌体を提供していただいた小林環境科学研究所長 小林正泰氏、ならびに鶏の飼育をしていただいた西部工業株式会社に深甚の謝意を表します。

### 文 献

1. 北村 博・黒沢慶二・小林正泰：光合成細菌，学会出版センター 東京，1984，p. 112-121.
2. 金森正雄：光合成細菌，学会出版センター 東京，1984，p. 329-338.
3. 荻野珍吉：光合成細菌，発酵工業協会 東京，1978，p. 73-78.
4. 小林達治：用水と廃水，27，40-45 (1985).
5. PALMER, D. N., ANDERSON, M. A. and JOLLY, R. D.: Anal. Chem., 140, 315-319(1984).
6. 川崎 尚：ビタミン学実験法Ⅱ，東京化学同人 東京，1985，p. 71-84.
7. 山田良平：ビタミン学実験法，東京化学同人 東京，1984，p. 181-186.
8. 田口 寛：ビタミン学実験法Ⅱ，東京化学同人 東京，1985，p. 356-365.
9. 金沢良昭・中野貴彦・田中英樹：日化，1984，434-438.