アスタキサンチン含有赤色酵母給与による卵黄色の強化

秋葉征夫¹・佐藤 幹¹・高橋和昭¹・豊水正昭¹・高橋洋子¹・小梨 茂¹・
西田浩志¹・恒川 博²・早坂 豊²・長尾秀則²

¹ 東北大学大学院農学研究科, 仙台市青葉区 981-8555

² メルシャン株式会社, 東京都中央区 104-8305

トウモロコシ・大豆粕主体の慣用飼料を給与した産卵鶏を供試し、カロチノイドの一種であるアスタキサンチン (Ax) を高濃度に含む赤色酵母の卵黄色強化効果を検討した。飼料中のアスタキサンチン濃度が 0 から 6 ppm になるように赤色酵母を段階的に添加した飼料, 赤色酵母からアセトンで抽出した Ax 3 ppm 添加飼料, 市販 Ax 製剤 3 ppm 添加飼料, 市販カンタキサンチン (Cx) 製剤 1 ppm 添加飼料, 試薬用 Cx 1 ppm 添加飼料を 2-4 週間給与した。

赤色酵母, Ax および Cx 給与では産卵鶏の増体量, 飼料摂取量, 産卵率および卵重に変化は見られなかった。ロッシュカラーファンスコアおよび Chroma Meter による赤色度 (a* 値) はいずれの Ax および Cx 添加でも有意に上昇した。また, カラーファンスコア, a* 値および卵黄中の Ax 濃度のいずれもが飼料中 Ax の添加濃度にしたがって有意に上昇した。抽出 Ax は赤色酵母中 Ax に比較して, 卵黄色強化効果では 8 倍以上, 卵黄への Ax 移行率では約 3 倍高く, 赤色酵母中の Ax の利用性を高めるためには酵母の細胞壁破砕などの処理により消化性 (酵母の分解性) を高めることが有効であると推定された。試薬用 Cx の卵黄着色効果は市販 Cx 製剤よりも小さいことが示された。

以上のことから, 産卵鶏の実用的飼育条件下でも, 赤色酵母は天然の卵黄色強化用の飼料原料として有用であること, そして, その利用性は酵母細胞壁の破砕処理などにより大きく改善可能であることが示唆された。

(家禽会誌, 37: 162-170, 2000)

キーワード: 赤色酵母, アスタキサンチン, カンタキサンチン, 卵黄色, 産卵鶏

緒 言

鶏卵の卵黄色は消費者の購買意欲を左右する重要な要素であるとともに, 卵黄を用いる加工食品の品質を肉眼的に判断する要素としても重要である。植物源飼料に含まれるβ-カロチンはそのほとんどがビタミンAに変換されるために, 卵黄中に移行するのは1%以下にすぎない(NRC, 1994)。したがって, 卵黄の色調は飼料中のキサントフィルによるところが大きく(KARUNAJEEWA *et al.*, 1984), トウモロコシ, コーングルテンミール, アルファルファミールなどはキサントフィル含量の高い飼料原料として一般的に用いられてきた。また近年, 消費者はやや卵黄色の強い鶏卵を好む傾向にあり, カプサンチンなどのカロチノイドを高濃度に含むパプリカやマリゴールドなどの抽出物が天然の卵黄色強化剤として広く用いられている。

アスタキサンチン (Astaxanthin, Ax) は鳥類, 魚介類, そして藻類などに含まれる赤色を呈するカロチノイドである (SCHIDT *et al.*, 1985; BERNHARD, 1990)。アスタキサンチンを高濃度に含む酵母, すなわち赤色酵母 (Phaffia rhodozyma) が MILLER *et al.* (1976) により発見されて以来, 赤色酵母は魚や甲殻類の色揚げ飼料原料として広く用いられてきた (ANDREWES *et al.*, 1976; JOHNSON *et al.*, 1977; JOHNSON and LEWIS, 1979)。JOHNSON *et al.* (1980) は赤色酵母が産卵鶏の卵黄着色効果を持つことを報告し, DIKE *et al.* (1992) は 0.3% の赤色酵母給与により鶏卵のロッシュカラーファンスコアが 1 ポイント上昇することを認めた。著者らは低カロチノイド飼料で飼育した産卵鶏に, Ax を高濃度に含有する方向で育種された赤色酵母を給与すると, 赤色酵母の給与レベルにしたがってロッシュカラーファンスコアと赤色度 (a* 値) が上昇し, また, 卵黄中の Ax 濃度が上昇することを明らかにし, 赤色酵母は天然の卵黄色強化飼料として

1999 年 10 月 28 日受付 1999 年 11 月 15 日受理

有用であることを報告した (AKIBA *et al.*, 1999)。

本報告では天然の卵黄色強化用の飼料原料としての赤色酵母の有効性を実用性の面から明らかにするために、慣用飼料を給与した産卵鶏を用いて赤色酵母給与による卵黄色の変化を検討し、さらに、合成の卵黄色強化剤であるカンタキサンチン (Canthaxanthin, Cx) 製剤および Ax 製剤とその効果を比較検討した。

材料と方法

鶏と飼料

白色レグホーン種産卵鶏を供試し、ウインドレス鶏舎 (照明時間は 14 時間) の産卵用ケージに 1 羽づつ飼育した。各試験ともに、供試鶏は平均体重がほぼ一定になるように 16 羽づつの 6 試験区に割り当てた。各試験区には 8 羽を 1 ロットとする 2 ロットを設けた。トウモロコシと大豆粕を主体とする慣用飼料、グレインソルガム、小麦そして大豆粕を主体とする低カロチノイド飼料をそれぞれ調製し (表 1)、試験期間中自由に摂食させた。飲水は自由とした。なお、試験開始前 30 日間は低カロチノイド飼料をすべての鶏に給与した。

試験 1

273 日齢の産卵鶏 96 羽を供試し、4 週間の試験を行っ

た。6 試験区のうち 1 試験区には低カロチノイド飼料を給与し、他の 5 試験区には慣用飼料を給与した。慣用飼料給与鶏には対照区、赤色酵母を Ax 換算で 1.5, 3.0, 6.0 ppm 含む飼料の給与区、そして市販 Cx 製剤 1.0 ppm 含む飼料の給与区を設けた。

試験 2

332 日齢の産卵鶏 96 羽を供試し、慣用飼料を用いて 2 週間の試験を行った。6 試験区のうち 1 試験区を対照区として、赤色酵母を Ax 換算で 3 ppm 含む飼料給与区、赤色酵母から抽出した Ax を 3 ppm 添加した区、市販 Ax 製剤 3 ppm 添加区、市販 Cx 製剤 1 ppm 添加区、そして試薬用 Cx 1 ppm 添加区を設けた。

供試カロチノイド

赤色酵母 (*Phaffia rhodozyma*) として、22.4% 粗タンパク質、26.9% 粗脂肪、3.6% 粗灰分、4.7% 水分、および 4.58 mg/g リンの成分値を持つ凍結乾燥品を用いた。その総カロチノイド含量と Ax 含量は、それぞれ 3,521 ppm および 2,408 ppm であった。したがって、Ax を 1.5, 3 および 6 ppm 含む試験飼料は、赤色酵母をそれぞれ 0.0625, 0.125 および 0.25% 添加して調製した。市販 Ax 製剤 (カロフィルピンク®) および市販 Cx 製剤 (カロフィルレッド®) は日本ロッシュ株式会社 (東京) 製品

表 1. 試験飼料の組成 (%)

Table 1. Composition of experimental diet (%)

原料	Ingredient	慣用飼料 Practical diet	低カロチノイド飼料 Low-carotenoid diet
黄色トウモロコシ	Corn, yellow	58.01	10.00
グレインソルガム	Grain sorghum	4.00	20.00
小麦	Wheat	—	39.83
脱脂米ヌカ	Defatted rice bran	5.87	3.00
大豆粕 (CP 46%)	Soybean meal (46% protein)	8.79	11.88
魚粕 (CP 60%)	Fish meal (60% protein)	1.50	3.71
アルファルファミール	Dehydrated alfalfa meal	10.50	—
イエローグリース	Yellow grease	2.00	2.50
DL-メチオニン	DL-Methionine	0.14	0.14
第三リン酸カルシウム	Calcium phosphate (tribasic)	0.96	1.03
炭酸カルシウム	Calcium carbonate	7.89	7.58
食塩	NaCl	0.16	0.16
ビタミンミックス ¹	Vitamin mixture ¹	0.20	0.20
成分値 (計算値)	Calculated analysis		
代謝エネルギー, kcal/g	Metabolizable energy	2.80	2.80
粗タンパク質, %	Protein	16.0	16.0
カルシウム, %	Calcium	3.50	3.50
リン, %	Phosphorus	0.65	0.65

¹ AKIBA *et al.* (1999).

を用い、試薬用 Cx は Sigma Chemical Company (St. Louis, MO) 製品を用いた。抽出 Ax は赤色酵母をアセトンで抽出し、低温で濃縮した。アセトン抽出濃縮物の Ax 濃度を測定後、飼料に混合し、アセトンを乾燥蒸発させて供試した。

測定

体重および飼料摂取量は 1 週間ごとに測定した。鶏卵は毎日採取し、卵重を測定した。試験 (2 週間および 4 週間) 終了前 3 日間に採取した鶏卵を 1 個体当たり 2 個供試し、卵黄色の測定を行った。試験終了時に鶏の翼下静脈から血液凝固防止剤としてヘパリンを用いて採血した。血液は $1,500 \times g$ で 15 分間遠心分離し、得られた血漿は $-20^{\circ}C$ で保存した。

鶏卵は割卵後、卵黄を 60×15 mm のシャーレに採取し、Minolta CR-200 Chroma Meter (ミノルタ株式会社、東京) を用いて、明度 (L^* 値)、赤色度 (a^* 値)、黄色度 (b^* 値) を測定した。また、ロッシュカラーファンを用いて、卵黄色を肉眼的に測定した (VUILLEUMIER, 1969)。

血漿および卵黄中の総カロチノイド濃度、Ax 濃度および Cx 濃度は前報告に従って測定した (AKIBA *et al.*, 1999)。

統計分析

得られたデータについて SAS による ANOVA 解析を行い、Duncan の多重比較検定法により各試験区間の有意差 ($P < 0.05$) 検定を行った (SAS, 1982)。また、飼料中 Ax 濃度と卵黄着色度に関する一次式は飼料中 Ax 濃度を自然対数に変換後、SAS の REG Procedure で計算した (SAS, 1982)。

結 果

試験 1

試験期間 (28 日間) の増体量および飼料摂取量には処理による差異は認められなかった (表 2)。産卵率は平均で 93.6%、平均卵重は 61.7 g で、処理区間に有意差は認められず、いずれも良好な産卵成績を示した。

ロッシュカラーファンによる卵黄カラスコアは 2 および 4 週間給与ともに、低カロチノイド飼料給与に比べて慣用飼料給与区で有意に (3-4 ポイント) 上昇した。また、飼料中 Ax レベルの上昇にしたがってカラスコアは有意にしかも濃度依存的に上昇した。Cx 1 ppm 給与でもカラスコアは有意に上昇し、そのスコアは Ax 1.5-3 ppm の間に相当した。

Chroma Meter で測定した赤色度 (a^* 値) は 2 および 4 週間給与ともに、低カロチノイド飼料給与に比べて慣用飼料給与区で有意に上昇し、また、飼料中 Ax レベル

の上昇にしたがって上昇した。Cx 製剤 1 ppm 給与区の a^* 値はほぼ Ax 3 ppm に相当した。黄色度 (b^* 値) は慣用飼料区では低カロチノイド飼料区よりも有意に高かったが、飼料中 Ax レベルにしたがった一定の変動は見られなかった。Cx 製剤給与区の b^* 値は対照区に比べて有意に上昇した。

卵黄中のトランス型 Ax 濃度は 2 および 4 週間給与ともに飼料中 Ax レベルの上昇にしたがって直線的に上昇し、Ax 6 ppm 給与では卵黄中トランス型 Ax 濃度は $1.9 \mu g/g$ となった (表 3)。卵黄中総カロチノイド濃度は、4 週間給与では低カロチノイド飼料給与に比べて慣用飼料給与で有意に上昇した。しかし、飼料中 Ax レベルによる変動は認められなかった。

試験 2

試験期間 (14 日間) の増体量、飼料摂取量、産卵率 (平均で 91.2%)、卵重 (平均で 62.5 g) には処理区間の有意差は認められなかった (表 4)。

ロッシュカラーファンによる卵黄カラスコアは Ax あるいは Cx 給与区で有意に上昇した。Ax 給与グループでは抽出 Ax 区のカラスコアが最も高く、次いで Ax 製剤区となり、赤色酵母 Ax 区は最も低かった。Cx 製剤区に比べると試薬用 Cx 区の卵黄カラスコアは有意に低かった。Chroma Meter で測定した卵黄の明度 (L^* 値) は抽出 Ax および Ax 製剤給与区で低下したが、その他の処理による変動は見られなかった。卵黄の赤色度 (a^* 値) はカラスコアとほぼ同じ変動を示した。

血漿中のトランス型 Ax 濃度は Ax 製剤給与区、抽出 Ax 給与区そして赤色酵母 Ax 給与区の順で高くなった (表 5)。一方、卵黄中のトランス型 Ax 濃度は抽出 Ax 給与区と Ax 製剤給与区でほぼ等しく、赤色酵母給与区ではそれらの約 1/3 の濃度を示した。Cx 製剤給与区の花漿中 Cx 濃度と卵黄中 Cx 濃度は、それぞれ試薬用 Cx 給与区の約 3.8 倍の濃度であった。卵黄中の総カロチノイド濃度は試験区間に有意差は見られたものの、大きな変動ではなかった。

考 察

産卵鶏に実用飼料を給与した本試験において、赤色酵母、各種の Ax および Cx 給与による増体量、飼料摂取量そして産卵成績に変動は見られなかった。本試験では赤色酵母を最大で 0.25% 添加した。また、前報告 (AKIBA *et al.*, 1999) では低カロチノイド飼料に赤色酵母を最大で 0.68% 添加して給与しても生産性には影響しないことを認めている。これらのことから、赤色酵母は飼料中 0.7% の範囲内の配合給与であれば、産卵成績に影響することなく利用できるものと判断できる。

表 2. 産卵鶏の生産性と卵黄色に及ぼす赤色酵母とカンタキサンチン給与の影響¹⁾ (試験 1)Table 2. Effects of feeding of *Phaffia* yeast and canthaxanthin on performance and pigmentation of egg yolk in laying hens (Experiment 1)

	低カロチノイド飼料 Low-carotenoid diet	慣用飼料 Practical diet				
		対照区 Control	赤色酵母 (アスタキサンチン, ppm) <i>Phaffia</i> yeast (Astaxanthin, ppm)			カンタキサンチン 1 ppm Canthaxanthin 1 ppm (市販製剤) (Feed additive)
			1.5	3.0	6.0	
増体重 ² (g/28 日) Body weight gain (g/28days)	62±14	-13±18	12±22	78±55	-13±19	20±49
飼料摂取量 ³ (g/ 日) Feed intake(g/day)	108	128	114	114	102	103
産卵率 ² (%) Laying performance	96.3±1.5	93.8±1.4	93.8±2.7	95.1±1.6	90.3±2.1	92.4±3.6
卵重 (g) Egg weight	61.0±0.8	62.2±0.7	61.1±0.7	61.1±0.8	62.9±1.1	61.8±0.9
卵黄カラスコア ^{4,5} Yolk color score						
2 週間給与 2 weeks feeding	4.9±0.2 ^e	8.8±0.2 ^d	10.6±0.1 ^c	11.6±0.1 ^b	12.8±0.1 ^a	11.4±0.2 ^b
4 週間給与 4 weeks feeding	7.0±0.2 ^f	10.0±0.1 ^e	10.4±0.1 ^d	12.0±0.1 ^b	12.4±0.1 ^a	11.0±0.1 ^{ac}
卵黄の赤色度 (a* 値) ^{5,6} Redness of yolk (a* value)						
2 週間給与 2 weeks feeding	-3.3±0.1 ^e	0.5±0.1 ^d	3.3±0.2 ^c	4.8±0.2 ^b	6.8±0.3 ^a	4.8±0.3 ^b
4 週間給与 4 weeks feeding	-2.0±0.2 ^e	2.4±0.2 ^d	4.8±0.2 ^c	6.8±0.2 ^b	9.2±0.2 ^a	6.9±0.3 ^b
卵黄の黄色度 (b* 値) ^{5,6} Yellowness of yolk (b* value)						
2 週間給与 2 weeks feeding	26.1±0.4 ^c	36.7±0.8 ^{ab}	38.7±0.7 ^a	36.9±0.5 ^{ab}	35.3±1.0 ^b	37.6±1.2 ^{ab}
4 週間給与 4 weeks feeding	34.8±1.1 ^b	40.7±0.8 ^a	39.6±0.8 ^a	40.0±0.7 ^a	39.3±0.8 ^a	40.6±1.0 ^a

¹ 試験開始時の体重は 1.80±0.05 kg. Body weight at commencement of the experiment was 1.80±0.05 kg.² 平均値±標準偏差 (16 観測値). Mean±SD with 16 observations.³ 2 反復の平均値. Mean value with 2 replications.⁴ 卵黄カラスコアはロッシュカラーファンで評価した. Yolk color score was estimated with aid of Roche color fan.⁵ 平均値±標準偏差 (32 観測値). Mean±SD with 32 observations.⁶ 卵黄の赤色度および黄色度は色差計 (Chroma Meter) で測定した. Yolk color value was determined by Chroma Meter.

異符号間に 5% 水準の危険率で有意差あり. Means with different superscripts in row are significantly different (P<0.05).

前報告では、赤色酵母の卵黄色強化作用を実験的に観察するために、小麦とグレインソルガムを主体とした低カロチノイド飼料を用い、赤色酵母 (Ax 含量として 0-16 ppm) 添加により卵黄のロッシュカラスコアと a* 値が添加濃度に依存して上昇することを明らかにした (AKIBA *et al.*, 1999)。本報告はトウモロコシと大豆粕を主体とする実用的飼料 (慣用飼料) を用いた場合でも、赤色酵母の卵黄色強化作用がその添加量に比例して増大することを証明したものである。これまで、産卵鶏への

赤色酵母給与により卵黄色の主波長が 572 nm から 592 nm にシフトすること (JOHNSON *et al.*, 1980), 0.3% の赤色酵母の添加により卵黄のロッシュカラスコアがわずか 1 ポイント上昇したことが報告されている (DIKE *et al.*, 1992)。本実験では低レベル、すなわち 0.125% の赤色酵母の添加によりカラスコアが 2-3 ポイント上昇することが明らかになった。これらの結果は、高 Ax 濃度の方向で赤色酵母を育種選抜してきた効果が大きく現れていることを示している。また、本試験でも赤色酵母給与

表 3. 産卵鶏の卵黄中のカロチノイド濃度に及ぼす赤色酵母とカンタキサンチン給与の影響 (試験 1)

Table 3. Effects of feeding of *Phaffia* yeast and canthaxanthin on carotenoid concentration in egg yolk in laying hens (Experiment 1)

低カロチノイド飼料 Low-carotenoid diet		慣用飼料 Practical diet				
		対照区 Control	赤色酵母（アスタキサンチン，ppm） Phaffia yeast (Astaxanthin, ppm)			カンタキサンチン 1ppm Canthaxanthin 1 ppm (市販製剤) (Feed additive)
			1.5	3.0	6.0	
卵黄アスタキサンチン ^{1,2} (μg/g) Yolk astaxanthin						
2 週間給与 2 weeks feeding	—	—	0.71±0.53 ^b	1.19±0.53 ^{ab}	1.93±0.61 ^a	—
4 週間給与 4 weeks feeding	—	—	0.59±0.48 ^{bc}	1.07±0.21 ^b	1.94±0.18 ^a	—
卵黄総カロチノイド ² (μg/g) Yolk total carotenoid						
4 週間給与 4 weeks feeding	9.3±2.1 ^b	28.8±2.7 ^a	28.3±4.5 ^a	31.0±3.1 ^a	32.8±3.0 ^a	29.7±3.4 ^a

—: 測定せず。Not determined.

¹ トランス型アスタキサンチン, trans-Astaxanthin.² 平均値 $\pm$ 標準偏差 (6 観測値)。Mean $\pm$ SD with 6 observations.異符号間に 5% 水準の危険率で有意差あり。Means with different superscripts in row are significantly different ($P < 0.05$).

による生産性の変化が認められなかったことも考慮に入
れると、卵黄色強化用の飼料原料として赤色酵母を実用
的に利用することが可能であることを示唆している。

前報告 (AKIBA *et al.*, 1999) と同様に、本実験でも飼料
中 Ax 含量 (自然対数値) とロッシュカラスコアおよび a^* 値の間に直線関係が認められた。秋葉ら (1999) は
産卵鶏に赤色酵母を給与後約 11 日目には卵黄の中心部
まで Ax が移行し、卵黄全体が赤色を示すことを明示し
た。そこで、試験 1 の成績から給与 2 週間後における飼
料中 Ax 含量とロッシュカラスコアおよび a^* 値の間
の一次回帰式を求めた。カラスコア (Y) と飼料中 Ax
含量 (X, 自然対数変換) との関係では、 $Y = 3.65X + 9.92$
($r = 0.998$, $P < 0.001$), a^* 値 (Y) と飼料中 Ax 含量 (X,
自然対数変換) との関係では、 $Y = 5.81X + 2.19$ ($r =$
 0.996 , $P < 0.001$) の回帰式が得られた。この回帰式を適用
すると、試験 1 における Cx 製剤 1 ppm の力価はカラス
コアでは赤色酵母 Ax 2.5 ppm に相当し、 a^* 値では
Ax 2.8 ppm と同等の作用力価を持つものと計算され
た。この結果は前報告 (AKIBA *et al.*, 1999) において低カ
ロチノイド飼料給与条件下で求めた力価 (すなわち Cx
製剤 1 ppm は赤色酵母 Ax 4-5 ppm に相当する) に比
べて小さい。これは、低カロチノイド飼料給与に比べて
慣用飼料給与ではカラーファンスコアと a^* 値が高く、
しかも飼料中 Ax に対するカラーファンスコアの反応は
低カロチノイド飼料給与に比べて慣用飼料給与では若干

鈍いことが関与しているものと考えられる。

さらに、試験 2 のデータに二つの回帰式を適用して、
赤色酵母 Ax 1 ppm の卵黄色強化力価を 1 とし、それ
ぞれの Ax または Cx 1 ppm の卵黄色強化の力価を表 6
に示した。抽出 Ax の力価は 8.4-16.6, Ax 製剤の力価は
2.9-7.5 と算出された。このように、抽出 Ax の卵黄色強
化作用は赤色酵母 Ax の 8 倍以上高い結果が得られた。
一方で、抽出 Ax 区における卵黄中の Ax 濃度は赤色酵
母 Ax 区の約 3 倍であったこと (表 5) を考慮に入れる
と、抽出 Ax の卵黄色強化作用は赤色酵母 Ax の約 3 倍
以上高いと考えるのが妥当であろう。前報告で述べたよ
うに、一般に酵母の細胞壁は堅くて消化性が劣ると考え
られている。したがって、赤色酵母中の Ax の利用性を
高めるために、細胞壁を破碎するなどの処理を行うこと
が今後の課題として要求されよう。一方、Ax 製剤の卵
黄色強化効果は抽出 Ax よりも小さい。しかし、血漿中
Ax 濃度は抽出 Ax 区よりも Ax 製剤区で高く、卵黄中
の Ax の濃度は両区で等しい (表 5)。これには、Ax 製
剤に含まれる吸着基材や他の成分の影響、生体内での
Ax 動態の差異などが関与することが推定されるが、両
Ax の卵黄色強化効果の差異については本実験からは説
明はできない。

表 6 に明らかなように、試薬用 Cx の卵黄色強化効果
は Cx 製剤の約 1/3 と算出された。また、血漿中および
卵黄中 Cx 濃度の点からも試薬用 Cx は Cx 製剤の約

表 4. 慣用飼料を給与した産卵鶏の生産性と卵黄色に及ぼす赤色酵母, アスタキサンチンおよびカンタキサンチン給与の影響 (試験 2)

Table 4. Effects of feeding *Phaffia* yeast, astaxanthin and canthaxanthin on performance and pigmentation of egg yolk in laying hens fed on a practical diet (Experiment 2)¹

	対照区 Control	赤色酵母 <i>Phaffia</i> yeast Ax 3 ppm	アスタキサンチン Astaxanthin (抽出物) (Extracted) 3 ppm	アスタキサンチン Astaxanthin (市販製剤) (Feed additive) 3 ppm	カンタキサンチン Canthaxanthin (市販製剤) (Feed additive) 1 ppm	カンタキサンチン Canthaxanthin (試薬用) (Reagent grade) 1 ppm
増体重 ² (g/14 日) Body weight gain (g/14 days)	-37±18	7±8	-24±13	-26±18	-18±15	-20±15
飼料摂取量 ³ (g/ 日) Feed intake (g/day)	104	102	116	98	105	98
産卵率 ² (%) Laying performance	89.3±2.4	92.4±2.1	91.1±1.8	94.2±3.0	87.9±5.2	92.4±2.2
卵重 (g) Egg weight	62.3±0.9 ^{ab}	64.7±1.1 ^a	62.2±0.7 ^{ab}	62.0±0.7 ^{ab}	62.3±0.9 ^{ab}	61.4±0.7 ^b
卵黄カラスコア ^{4,5} Yolk color score	8.4±0.1 ^f	11.2±0.1 ^c	14.6±0.1 ^a	12.9±0.2 ^b	10.7±0.1 ^d	8.9±0.1 ^e
卵黄の色調 ^{5,6} Yolk color value						
明度 Lightness (L*)	55.0±0.6 ^a	54.1±0.7 ^a	50.3±0.6 ^b	51.1±0.5 ^b	55.3±0.5 ^a	54.8±0.5 ^a
赤色度 Redness (a*)	1.4±0.4 ^e	4.4±0.2 ^c	11.5±0.3 ^a	9.5±0.3 ^b	4.6±0.2 ^c	2.4±0.2 ^d
黄色度 Yellowness (b*)	40.8±0.8 ^a	36.9±1.0 ^b	33.3±0.7 ^c	37.1±0.8 ^b	40.3±0.7 ^a	41.5±0.8 ^a

¹ 試験開始時の体重は 1.91±0.05 kg. Body weight at commencement of the experiment was 1.91±0.05 kg.² 平均値±標準偏差 (16 観測値). Mean±SD with 16 observations.³ 2 反復の平均値. Mean value with 2 replications.⁴ 卵黄カラスコアはロッシュカラーファンで評価した. Yolk color score was estimated with aid of Roche color fan.⁵ 平均値±標準偏差 (32 観測値). Mean±SD with 32 observations.⁶ 卵黄の明度 (L*), 赤色度 (a*) および黄色度 (b*) は色差計 (Chroma Meter) で測定した.

Lightness (L*), redness (a*) and yellowness (b*) were determined by Chroma Meter.

異符号間に 5% 水準の危険率で有意差あり. Means with different superscripts in row are significantly different (P<0.05).

1/3 であった。このように試薬用 Cx の卵黄色強化効果が極めて悪いことが示されたが、これには試薬用 Cx の利用性、たとえば溶解性など、が関与しているものと推定される。

飼料中 Ax および Cx の卵黄への移行率を、卵黄重量は卵重の 30% と仮定して算出すると、赤色酵母 Ax の卵黄への移行率は 3.0%、抽出 Ax では 8.1%、Ax 製剤は 8.0%、Cx 製剤では 11.1%、そして試薬用 Cx では 3.6% であった。このように、卵黄への Ax の移行率の点からも、抽出 Ax は赤色酵母 Ax よりも約 3 倍効率がよいことが証明された。JOHNSON *et al.* (1980) は赤色酵母中のカロチノイドの利用率は 3-4% であったと述べており、前報告での利用率 3.6% とよく一致している。しかし、HENCKEN (1992) は卵黄への移行率はそれぞれ、Cx で 30-40%、Ax で 14%、ゼアキサンチンで 25% と報告し、BALNAVE and BIRD (1996) は Cx 製剤の卵黄への移行率

は 38% と述べている。これらの報告はいずれも今回の移行率の成績よりも高い。今後の検討が必要であろう。

これまで、卵黄色を強める飼料原料としてトウモロコシ、コーングルテンミール、アルファルファミール (KARUNAJEEWA *et al.*, 1984)、マリーゴールドやパブリカ (BELYAVIN and MARANGOS, 1987; LAI *et al.*, 1996)、バーミューダグラス (CHEN and BAILY, 1988)、藻類 (HERBER-McNEILL and Van ELSWYK, 1998) などが用いられてきた。本報告の結果から、新たに、天然の卵黄色強化飼料原料として赤色酵母を実用的に利用可能であること、そして、その有用性は赤色酵母の細胞壁を処理することにより約 3 倍以上高めることが可能であることが明らかになった。

謝 辞

本実験の遂行にご協力いただいた、原田通成、森裕史、

表 5. 慣用飼料を給与した産卵鶏の血漿と卵黄中のカロチノイド濃度に及ぼす赤色酵母, アスタキサンチンおよびカンタキサンチン給与の影響 (試験 2)

Table 5. Effects of feeding *Phaffia* yeast, astaxanthin and canthaxanthin on carotenoid concentration in plasma and egg yolk in laying hens fed on a practical diet (Experiment 2)

	対照区 Control	赤色酵母 <i>Phaffia</i> yeast Ax 3 ppm	アスタキサンチン Astaxanthin (抽出物) (Extracted) 3 ppm	アスタキサンチン Astaxanthin (市販製剤) (Feed additive) 3 ppm	カンタキサンチン Canthaxanthin (市販製剤) (Feed additive) 1 ppm	カンタキサンチン Canthaxanthin (試薬用) (Reagent grade) 1 ppm
血漿 ¹ (μg/ml) Plasma						
アスタキサンチン ² Astaxanthin	0.008±0.013 ^d	0.180±0.054 ^b	0.298±0.082 ^{ab}	0.414±0.216 ^a	0.040±0.016 ^c	0.050±0.014 ^c
カンタキサンチン Canthaxanthin	ND	0.033±0.020 ^c	0.035±0.020 ^c	0.016±0.013 ^c	0.684±0.269 ^a	0.181±0.030 ^b
卵黄 ¹ (μg/g) Yolk						
アスタキサンチン ² Astaxanthin	ND	1.32±0.24 ^b	4.02±0.62 ^a	4.01±0.99 ^a	ND	ND
カンタキサンチン Canthaxanthin	ND	ND	ND	ND	2.14±0.49 ^a	0.62±0.10 ^b
総カロチノイド Total carotenoids	28.4±2.7 ^{ab}	25.5±5.1 ^{ab}	32.3±2.7 ^a	27.8±1.4 ^b	26.6±3.0 ^b	28.4±2.2 ^{ab}

ND: 検出できず, Not detected.

¹ 平均値±標準偏差 (6 観測値). Mean±SD with 6 observations.

² トランス型アスタキサンチン, trans-Astaxanthin.

異符号間に 5% 水準の危険率で有意差あり. Means with different superscripts in row are significantly different (P<0.05).

表 6. アスタキサンチンおよびカンタキサンチンの卵黄色強化効果の比較¹ (試験 2)

Table 6. Comparison of egg yolk-pigmentation activity of astaxanthin and canthaxanthin (Experiment 2)

指標 Index	赤色酵母 <i>Phaffia</i> yeast	アスタキサンチン Astaxanthin (抽出) (Extracted)	アスタキサンチン Astaxanthin (市販製剤) (Feed additive)	カンタキサンチン Canthaxanthin (市販製剤) (Feed additive)	カンタキサンチン Canthaxanthin (試薬用) (Reagent-grade)
卵黄カラースコア Yolk color score	1.0	8.4	2.9	2.2	0.7
卵黄 a* 値 Yolk a* value	1.0	16.6	7.5	3.2	1.4

¹ アスタキサンチンおよびカンタキサンチンの卵黄色強化力価は赤色酵母中アスタキサンチンの活性に対する比として示した。

Egg yolk-pigmentation activity of astaxanthin and canthaxanthin was expressed as ratio of the activity of *Phaffia* yeast astaxanthin.

鈴木克己, 高橋俊浩, 千田ゆみ, 山平聡子, 三宅則郎氏に感謝する。

参 考 文 献

AKIBA, Y., K. SATO, K. TAKAHASHI, Y. TAKAHASHI, A. FURUKI, S. KONASHI, H. NISHIDA, H. TSUNEKAWA, Y. HAYASAKA and H. NAGAO (2000) Pigmentation of egg yolk with yeast *Phaffia rhodozyma* containing

high concentration of astaxanthin in laying hens fed on a low-carotenoid diet. Japanese Poultry Science, **37** : 77-85.

秋葉征夫・佐藤 幹・高橋和昭・高橋洋子・小梨 茂・西田浩志 (2000) 赤色酵母給与後および給与中止後における鶏卵の卵黄色の推移. 日本家禽学会誌 **37** : 113-115.

ANDREWES, A.G., H.J. PHAFF and M.P. STARR (1976) Carotenoids of *Phaffia rhodozyma*, a red-

- pigmented fermentation yeast. *Phytochemistry*, **15** : 1003-1007.
- BALNAVE, D. and J.N. BIRD (1996) Relative efficiency of yellow carotenoids for egg yolk pigmentation. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, **9** : 515-517.
- BELYAVIN, C.G. and A.G. MARANGOS (1987) Natural products for egg yolk pigmentation. In *Recent Advances in Animal Nutrition* (Haresign, W. and Cole D.J.A. eds.), pp. 47-68. Butterworths, London.
- BERNHARD, K. (1990) Synthetic astaxanthin. The route of a carotenoid from research to commercialization. In *Carotenoids: Chemistry and Biology* (Krinsky N.I. ed.) pp. 337-363. Plenum Press, NY.
- CHEN, B.H. and C.A. BAILEY (1988) Effect of turf bermudagrass meal on egg production, feed utilization, yolk color and egg weight. *Poultry Science*, **67** : 1154-1156.
- DIKE, A.O., F. LETTNER and W. ZOLLITSCH (1992) The supplementation of layers feed with the yeast-*Phaffia rhodozyma*-as pigment carrier. *Archiv für Geflügelkunde*, **56** : 205-209.
- HENCKEN, H. (1992) Chemical and physiological behavior of feed carotenoids and their effects on pigmentation. *Poultry Science*, **71** : 711-717.
- HERBER-MCNEILL, S.M. and M.E. VAN ELSWYK (1998) Dietary marine algae maintains egg consumer acceptability while enhancing yolk color. *Poultry Science*, **77** : 493-496.
- JOHNSON, E.A., D.E. CONKLIN and M.J. LEWIS (1977) The yeast *Phaffia rhodozyma* as a dietary pigment source for salmonoids and crustaceans. *Journal of Fish and Research Board, Canada*, **34** : 2417-2421.
- JOHNSON, E.A. and M.J. LEWIS (1979) Astaxanthin formation by the yeast *Phaffia rhodozyma*. *Journal of General Microbiology*, **115** : 173-183.
- JOHNSON, E.A., M.J. LEWIS and C.R. GRAU (1980) Pigmentation of egg yolks with astaxanthin from the yeast *Phaffia rhodozyma*. *Poultry Science*, **59** : 1777-1782.
- KARUNAJEEWA, H., J.H. HUGHES, M.W. McDONALD and F.S. SHENSTONE (1984) A review of factors influencing pigmentation of egg yolks. *World's Poultry Science Journal*, **40** : 52-65.
- LAI, S-M., J.I. GRAY and C.J. FLEGAL (1996) Deposition of carotenoids in eggs from hens fed diets containing saponified and unsaponified oleoresin paprika. *Journal of Science, Food and Agriculture*, **72** : 166-170.
- MILLER, M.W., M. YONEYAMA and M. SONEDA (1976) *Phaffia*, a new yeast genus in the Deuteromycotina (Blastomycetes). *International Journal of Systematic Bacteriology*, **26** : 286-291.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1994) *Nutrient requirements of poultry*. 9th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- SCHIDT, K., F.J. LEUENBERGER, M. VECCHI and E. GLINZ (1985) Absorption, retention and metabolic transformations of carotenoids in rainbow trout, salmon and chicken. *Pure and Applied Chemistry*, **57** : 686-692.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (1982) *SAS User's guide : statistics* (SAS Institute Inc., ed.). Cary, NC.
- VUILLEUMIER, J.P. (1969) The Roche color fan'-An instrument for measuring yolk colour. *Poultry Science*, **48** : 767-779.

Improved Pigmentation of Egg Yolk by Feeding of Yeast *Phaffia rhodozyma* Containing High Concentration of Astaxanthin in Laying Hens

Yukio AKIBA¹, Kan SATO¹, Kazuaki TAKAHASHI¹, Masaaki TOYOMIZU¹,
Yoko TAKAHASHI¹, Shigeru KONASHI¹, Hiroshi NISHIDA¹, Hiroshi TSUNEKAWA²,
Yutaka HAYASAKA² and Hidenori NAGAO²

¹ Laboratory of Animal Nutrition, Graduate School of Agricultural Science,
Tohoku University, Sendai-shi 981-8555

² Mercian Corporation, Tokyo 104-8305, Japan

The red-pigmented yeast, *Phaffia rhodozyma*, containing high concentration of astaxanthin (Ax) was evaluated as a dietary pigment source for egg yolk of laying hens fed on a practical diet mainly consisted of corn and soybean meal. In experiment 1, diets supplemented with the yeast to provide 0 to 6 ppm Ax and commercially available canthaxanthin (Cx, Carophyll Red[®]) to provide 1 ppm Cx, respectively, were fed for 2 or 4 weeks. In experiment 2, Ax extracted by acetone from the yeast (3 ppm), commercially available Ax (Carophyll Pink[®]) (3 ppm), or reagent-grade Cx (1 ppm) were fed for 2 weeks.

No differences in laying performance, egg weight and feed intake were observed among all treatments. Roche color fan score and redness (a* value) in Chroma Meter analysis increased by addition of every Ax and Cx supplementation. The color fan score, a* value and yolk Ax concentration were increased linearly with the increase of logarithmic concentration of dietary Ax. Extracted Ax was estimated as more than 8 fold as potent as yeast-Ax in the pigmentation of yolk and as 3 fold as potent in the accumulation of Ax in yolk. It is presumed that the low potency of yeast-Ax in the pigmentation is due to low digestibility (degradability) of the yeast. Reagent-grade Cx was less potent than commercial Cx in the pigmentation of yolk.

These results suggest that *Phaffia* yeast containing high concentration of Ax has the potential as a natural source for egg yolk pigmentation in the poultry industry and the availability of *Phaffia* yeast can be improved by destruction of the cell wall.

(Jpn. Poult. Sci., 37 : 162-170, 2000)

Key words : yeast, astaxanthin, canthaxanthin, pigmentation, egg yolk, laying hens