

財団法人伊藤記念財団 保存版

と畜血液高度利用化研究事業報告書

昭和58年3月

財団法人 伊藤記念財団

は し が き

この報告書は、財団法人伊藤記念財団の委託による「と畜血液高度利用化研究事業」の研究結果をとりまとめたものであります。

本会は、昭和57年度に「と畜血液有効利用委員会」を設置して、畜産副生物としてのと畜血液の有効利用を図るための指針ともなるべき「と畜血液有効利用に関する総会プログラム」を作成しました。

本年度は、「と畜血液高度利用化推進専門委員会」により、総会プログラムを基にして、実用化と高度利用の研究が本報告書に記述されているとおり一段と実効のある前進をした成果を上げることが出来ました。この成果は今後期待する所大なるものがあります。

終りに、この研究の実施に当たり、委員会委員、専門委員会委員のたゆまぬ熱意と関係企業、農林水産省畜産局、厚生省環境衛生局の御協力と御指導を高く評価するとともに、ここに深く感謝の意を表すものであります。

昭和58年3月31日

社団法人 日本畜産副生物協会

会 長 阪 部 祐 三

と畜血液高度利用化研究事業報告書

総 目 次

は し が き

総 論

委員長あいさつ

事業の目的

委員会の構成

事業の施行概要

研究結果の概要

I 血液製品の食品加工としての適性

II ヘム及びグロビンの作成

III 血液成分の微生物大量培養への応用

今後の研究課題

各 論

I 血液製品の食品加工としての適性（梅田真男）

I-1	緒 言	19
I-2	パンへの応用	19
2・1	実験材料	19
2・2	実験方法	19
2・3	結 果	20
2・4	プラズマ2%添加実験	22
2・5	考 察	23
2・6	官能評価	24
I-3	水産ねり製品への応用	24
3・1	試験方法	24
3・2	結果と考察	25
3・3	ま と め	26
3・4	製品の官能検査	26
I-4	凍結プラズマの食肉製品への応用	27
4・1	実験方法	28

4・2	結 果	29
4・3	考 察	31
4・4	要 約	32
I-5	添加肉製品の市場適応性について	32
5・1	試 作	32
5・2	官能検査	32
5・3	物性(硬さ)測定	35
I-6	ま と め	36
II ヘム及びグロビンの作成(佐藤 泰)		
II-1	緒 言	49
II-2	使用した原料と実験方法	49
II-3	遠心分離法による脱ヘム効果	50
II-4	吸着剤による脱ヘム効果	52
II-5	アスコルビン酸処理及びCMC処理	54
II-6	脱ヘム後の処理	55
II-7	粗グロビン及び粗ヘムの試作	55
7・1	市販グロビンを原料とした試作	55
7・2	自製ヘモグロビンを原料とした試作	56
7・3	吸着法とCMC法の組合せによるグロビンの試作	57
III 血液成分の微生物大量培養への応用(東洋曹達工業(株) 村山敬一・竹本久雄)		
III-1	緒 言	61
III-2	血液成分による培養の管理システムについて	62
III-3	酵母の培養試験	64
III-4	血液成分による酵母の培養	66
III-5	細菌の培養試験	69
III-6	血液成分による細菌の培養	70
III-7	ま と め	72

参考資料

と畜血液たん白質の有効利用に関する基礎的研究(山内邦男)

序

一昨年来我々は、と畜血液の有効利用のシステム作りに努力を傾けてきた。お陰で近頃各方面でこの問題に対し関心が寄せられるようになってきた。これは一つには時流とはいえ、真に欣快に感ずる次第である。

その一端として、本年はここに食材化利用とさらに高度化した利用方途について進めた研究の概要を取り纏め報告する。

この研究は財団法人伊藤記念財団の委託を受け、社団法人日本畜産副生物協会の事業として、と畜血液有効利用委員会（HPRD）が行ったものである。

ここに、関係各位に深甚なる感謝の意を表すると共に、研究の推進に御苦労下さった専門委員会ならびに関連企業ほか、協力を頂いた方々に厚く御礼申しあげる次第である。

なお、我々は今後これらの成果を徒に無駄にすることなく、と畜血液有効利用総合プログラムの中に如何に関連して組み込むかを考え、所期の目的を達成せんとするものであることを表明し、御挨拶に代える次第である。

1983年3月

と畜血液有効利用委員会

委員長 太田 康 二

総

論

事業の目的

本事業は昨年度（昭和57年度）に行なわれた「と畜血液有効利用に関する総合プログラム作成事業」の一環として、特に食材化ならびに高度利用化部会関連の研究の促進を図るべく推進されたもので、その事業内容はおおむね次のとおりである。

I 事業実施の方針

畜産副生物としてのと畜血液を有効に利用することにより、と畜場の経営合理化を図る観点から、血液のより高度な処理加工による利用を促進するため、「と畜血液有効利用委員会」及び「と畜血液高度利用化推進専門委員会」（名簿別紙）を設置して本事業を実施するものとする。

II 研究項目

- ① 血液製品の食品加工としての適性
- ② ヘム及びグロビンの試作によるコスト及び用途
- ③ プロテアーゼ製造による血液培地の有効性

III 事業実施期間

自 昭和57年8月 1日
至 昭和58年3月31日 8ヵ月間

IV 代表担当者

と畜血液有効利用委員会
委員長 太田 康二

V 研究方法

1. 食品加工研究

血液の血漿を加工食品（ハム・ソーセージ・ハンバーグ・パン・うどん・かまぼこ）に添加することにより、これが製品の品質等に及ぼす影響を分析検討するとともに、製品の官能検査（味覚，受容性）を行なって商品的価値について検討する。

2. ヘム及びグロビン作成

血液の最も高度な利用目的と考えられる医薬品及び食用添加物として血球を分解することによって得られるヘムとグロビンの製造方法及び製造コスト等に関する改良的製造を行なうとともに試作品の分析及び使途等について検討する。

3. プロテアーゼ製造

不良血液（①，②に利用できない血液）を最も簡易にかつ具体的な処理の出来る方法として，微生物培地利用（放線菌を利用する）の可能性とその収益性について検討する。

委 員 会 の 構 成

本事業は9名の委員の下に11名より成る専門委員が委嘱され、施行された。
その氏名、役職等は以下のとおりである。

と畜血液有効利用委員会委員名簿

	氏 名	勤 務 先	役職名
委員長	太 田 康 二	(財)日本食肉流通センター	理事長
委員	石 田 朗	(財)食品産業センター	理事長
”	浦 田 純 一	元厚生省環境衛生局長	医博
”	阪 部 祐 三	(社)日本畜産副生物協会	会長
”	中 村 武 嘉	(株)社会工学研究所	副社長
”	松 井 武 夫	国立公衆衛生院	名誉教授 獣医博
”	真 鍋 常 秋	(社)日本食肉協議会	常務理事
”	矢 野 幸 男	学識経験者	農学博士
”	立 林 英 昭	(株)社会工学研究所	取締役

と畜血液高度利用化推進専門委員会委員名簿

	氏 名	勤 務 先	役職名
委員長	石 田 朗	(財)食品産業センター	理事長
委員	山 内 邦 男	東京大学農学部農芸化学科	教授
”	水 砂 淳 一	(社)日本食肉加工協会	専務理事
”	伊 藤 協 治	伊藤ハム栄養食品(株)	常務取締役 (代)中村豊郎
”	永 井 邦 夫	オルガノ(株)	社長 (代)梅田真男
”	矢 野 幸 男	学識経験者	農学博士
”	佐 藤 泰	名城大学農学部農芸化学科	教授
”	鈴 木 周 一	東京工業大学資源化学研究所	教授
”	足 立 和 生	東洋曹達工業(株)	開発推進部長 (代)鳥巢英樹
”	住 吉 義 通	武田薬品工業(株)	外国事業部貿易部次長
”	中 村 武 嘉	(株)社会工学研究所	副社長

事業の施行概要

昨年度実施されたと畜血液有効利用に関する総合プログラム作成事業の中において、と畜血液の食材化利用並びに高度利用に関しては、近年世界的にも注目を浴びるに至り、いくつかの新用途、新用法の展開が提案されるに至っているけれども、まだ種々な障害から、それらが十分な実用化を見るに至っていないので、今後においてはそれらの実状を踏まえて、新たな利用拡大の途を進展させる必要のあることが提案された。

そこで、本年度はこの提案を踏まえ、と畜血液有効利用委員会の食材化部会と高度利用部会が合同し、本事業を推進することとなった。

研究項目のうち、「血液製品の食品加工としての適性」については昨年度の「と畜血液有効利用に関する総合プログラム作成事業」中の食材化部会（第2部会）の第2作業目標であった「輸入血粉を添加した畜肉製品の試作と市場性に関する検討を進展させるものであり、およそ3部より成る。

その1つは利用範囲の拡大であり、添加食品の種類範囲を拡大し、使用の可能性と添加の意義の検討、確認を目的とした。

その2は利用の経済性の検討である。乾燥プラズマ（血粉）は乾燥に経費を要する。この費用は馬鹿にならない。そこで国産プラズマの場合は敢えて乾燥しなくてもよいのではないかと考えられる。そこで利用の可能性は明らかであるが、取扱いを含めて比較のため利用性の検討を行なった。

その3は市場性の再確認である。残念ながら今までの食品への添加使用の場合、プラズマのどういう機能特性をどのように利用するかということはあまりはっきりしない。〔注：プラズマ自体の機能特性は未だはっきり極め付けられていない。そこで、これを解明するために東京大学の山内教授（当部会専門委員）は別個に基礎的研究を進められている。参考資料参照〕。このような場合においてはその利用効果の判定には主観が入り易い。もちろん、最近の官能検査では方法論的にそのような主観が入る余地は存在しないとの論もあろうが、あまりに差の有無に厳密すぎて専門外の一般消費者の受容性、つまり市場性の適否について、必ずしも十分客観的な判断が与えられているとばかりは言えないようである。そこで、供試品の製造者および評価者の範囲を拡大し、より現実に近い形で市場性を確認することとしたのである。

これらの研究はオルガノ株式会社の梅田真男氏（永井専門委員代理）が中心とな

り、伊藤ハム栄養食品株式会社の中村豊郎氏（伊藤協治専門委員代理）、水砂専門委員の協力を得て遂行された。ここに諸氏の労を犒らうと共に委員会外にあって、この研究の遂行に御協力いただいた全国蒲鉾水産加工業共同組合連合会、昭和産業株式会社、プリマハム株式会社、東急フーズ株式会社の方々に厚く御礼申し上げる。

「ヘム及びグロビン」の試作によるコストおよび用途に関する研究は前回同様佐藤専門委員の労を患らわした。

実験設備の規模の関係から、同専門委員ははなはだ苦勞を重ねられ製造コストの大幅低減を伴う新しい製造法を考案されたものようであるが、そのため時間と労力の大半を割かれ、用途の研究にまで入るには至らなかった。これはいささか残念とは言え、生産コストを前年報告の約10%までに引下げられる見通しをつけていただいたことは誠に有難く、十二分な研究成果が得られたと考える次第である。

「プロテアーゼ製造による血液培地の有効性」については研究の進展上、いささか目標を変更せざるを得なかった。このテーマは大きくわけて2つの目標に分けられる。その1つはプロテアーゼの製造であり、他の1つは血液培地の有効性の検討である。

この研究は初め鈴木専門委員に推進方をお願いするつもりであった。しかし、同専門委員は東京工業大学の資源研究所長になられるなど富に忙しさを増され、俄かに本研究の推進に積極的な御協力を得ることが困難となった。

そこで、新たに本研究を進めるために、日頃このような研究に興味をお持ちの東洋曹達工業株式会社の鳥巢英樹氏（足立専門委員代理）に加わっていただき、同氏の協力を得て研究を進展させることとなった。

このような事情から本研究は着手するのにいささか時日を要し、実際の研究期間がかなり縮減されることになった。

そのため、この研究は2兎を追わず、後半の「血液培地の有効性」についてに目標を絞り、研究を進展させた。結果は報告に示すとおりである。

なお、この研究においては分離血液を含め原料血液の入手のために、株式会社野沢組山村一郎氏に特段の御協力をいただいた。ここに感謝の意を表する次第である。

研究結果の概要

本報告において取纏められた研究結果の概要はおよそ以下のとおりである。

I 血液製品の食品加工としての適性

(1) パンへの応用

輸入プラズマの製パン加工への適応性が利用範囲の拡大の目的で検討された。使用されたプラズマ（血漿）はハリメックス（オランダ製）とプロサン B 7 0（ベルギー製）で、共に豚血より分離・乾燥された粉末たん白である。

本研究の結果、プラズマ粉末は卵白粉と同様にパンの品質に変化を持たせる改良的效果を与えることが明らかとなった。

その中で、プラズマは卵白と異なり、パンの容積増加に効力がある。トースト後の香り、食味、食感に酸臭、粘着を感じさせないなどに特徴がある。

また、プラズマ添加はパンの弾力に硬さと脆さを与え、色がやや暗く、皮が厚くなる傾向のあることおよび通常の配合によって製パンする場合、添加量の限界はプラズマ独特の風味の上から、2%程度と思われることなどがわかった。

なお、輸入プラズマ粉末のメーカーによる品質間の差異については、本試験に用いたものの限りにおいて、多少色調に与える影響については差は認められるものの、ほとんど問題とするに当たらないことが明らかとなった。

(2) 水産ねり製品への応用

前項と同様、血液製品の用途拡大の目的で、輸入プラズマの水産ねり製品への適用性が検討された。

本研究においてはプラズマの種類を限定し（ハリメックス・プラズマ・パウダー：オランダ製）、板付かまぼことケーシング詰めかまぼこの2種類の製品についての応用の可能性が検討された。

その結果、プラズマはスリ身に対し0.5%添加で弾力補強に十分な効果を示すこと、1.0%添加では無坐りでは足を落とすが、坐りを行なうと効果が期待されること、添加量が0.5%を超えると白度、明度、光沢に減少の傾向が認められるようになることなどが明らかとなった。

製品の種類間における添加効果の相違については板付かまぼことケーシング詰めかまぼこ間に関する限りは全く同一であるが、同じ板付かまぼこでは坐り板付よりも坐りなし板付に対する方がより有効な結果を与えることが見出され

た。

(3) 凍結プラズマの食肉製品への応用

将来国内においてプラズマが生産され、利用されるようになると、経費とエネルギーの節減から乾燥粉末よりも凍結ないしは濃縮プラズマの出現が考えられる。そこでこのような事態に対処するため、既に乾燥粉末について利用法が報告されている食肉製品についてその利用の適応性が検討された。

ポロニアソーセージおよびロースハムを用いた試験の結果、凍結プラズマのソーセージへの添加は加水の60%置換したものにおいて最も風味の向上が認められる。ロースハムへの注入においては氷水の30%を置換したものにおいて最も風味の向上が認められる。添加氷水の凍結プラズマによる置換は経済的にはコストアップにつながるものの、製品の風味の向上、テクスチャー補強には大きな効果があり、品質改善のためには十分注目すべき存在であることが明らかにされた。

なお、この報告によれば凍結プラズマは3カ月間の凍結保管中にpH、ゲル強度共に何ら変化しなかったという。

(4) 添加肉製品の市場適応性について

血液製品を食材として利用することについては日本人社会において特に心理的抵抗が大きいことはよく知られている。しかし、同時にと畜血液がその成分上から特有の風味、香気を有することもまた事実である。

そこで、提出されたプラズマ添加製品の市場受容性を検討する場合、その拒否感がこちらの側に大きく影響されているかを知ることは極めて重要と考える。

ところで、この2つの拒否因子のうち後者については専門家と一般消費者の間にはかなり差があるように思われる。

企業を変えて所定の処方によるプラズマ添加肉製品の試作を依頼し、その製品について専門家グループとしてオルガノ株式会社ならびに試作委託先メーカー社員、一般消費者として当委員会専門委員を選び、その受容性について検討した。

その結果、プラズマ1%添加のロースハムとプラズマ2%添加のポロニアソーセージにおいて専門家グループと一般消費家グループにおいて受容傾向のほぼ一致したのはロースハムの味、臭とポロニアソーセージの弾力のみであって、その他は必ずしも一致せず、両者の間には判断にかなりの差のあることが見出された。

これは、添加製品の本質的な受容性については許容範囲にかなりの余裕のあることを示すものであり、この点において心理的要因を除けばこの種の製品は市場性を十分期待しても差支えないように思われることが明らかとなった。

II ヘムおよびグロビンの作成

ヘムとグロビン・経済的な分離・精製はと畜血液の有効な利用システムを完結させる上において極めて重要な役割を果たすものである。

しかし、まだその方法は実用化の域にまで達するに至っていない。そこで、これをプラント規模にまで到達させることを目標に、その製造の基礎的条件を適用したグロビンおよびヘムの試作試験を行なった。

その結果、

- (1) 酸性条件下では遠心分離法によってヘムとグロビンの粗分離が可能なこと。
- (2) その場合、最適 pH はおよそ 1.7 ~ 2.0 の範囲にあると思われること。
- (3) 上記分離効率は介在する塩類によって阻害されるが、その阻害は 0.005 ~ 0.01N 塩濃度であれば問題とするに当たらないこと。
- (4) 遠心分離の能力は強ければ強いほど望ましいが、実用的の範囲は 14,000 ~ 20,000G とと思われること。
- (5) 本条件下では遠心法のほかに濾過法による分離も想定されるが、その効率は本法に比べ一般に低効率と思われること。
- (6) 分離生成されるグロビンの純度は工程中に吸着剤を用いることによって高められること。
- (7) 吸着剤として粉状活性炭、カオリンが有効なこと。
- (8) さらに高純度のグロビンを得るにはアスコルビン酸添加、CMC カラム処理を要すること。
- (9) 各分離区分よりの成分物質の抽出、採取は加熱を避け、逆浸透もしくは限外濾過法で濃縮し、噴霧乾燥、凍結乾燥法などで乾燥することが望ましいこと。
- (10) 上記諸条件を考慮し、市販ヘモグロビンならびに自家製ヘモグロビンを原料に脱ヘムグロビンの製造を試みたところ、市販ヘモグロビンからヘム残留率およそ 20% の粗製グロビンを補正収率 70% の割で、自家製ヘモグロビンからヘム残留率およそ 15% の粗製グロビンを補正収率 70~80%、ヘム残留率 7% の精製グロビンを補正収率 80% の割で、それぞれ製造することができた。などのことが明らかにされた。

Ⅲ 血液成分の微生物大量培養への応用

血液はアルブミン等の種々のたん白質をはじめ多くの有機成分を含み、微生物の栄養源として有効な資源となり得ると考えられる。

そこで、血液を加熱処理して得られた凝固物を用い、代表例として、酵母では *Saccharomyces cerevisial*、好熱性細菌としては *Bacillus stearothermophilus* を選び、微生物を大量培養することが可能であるかどうかについて検討を行なった。

その結果次のようなことが明らかとなった。

- (1) 酵母の培養については、そのまま窒素源として利用することよりも、むしろ酵素などで加水分解処理することにより、窒素源、副炭素源、生育促進物質などとして利用することがより有効であると思われる。

特に種々の生育促進物質を要求すると考えられる酵母の場合、血液成分は非常に有効な資源となり得る。

- (2) 細菌の培養については、一般にたん白質分解能が強いため、血液をそのまま主炭素源、窒素源として有効に利用し得る。また酵母エキス等の生育促進物質の効果は、血液の加水分解物で代替可能である。
- (3) 以上で明らかなように、血液は微生物の大量培養の原料として有効な資源であり、今後、この分野の拡大にともない積極的に利用していくべきものと考えらる。

今 後 の 研 究 課 題

血液の高度有効利用の方法としては、まず単純概念的には食用が考えられる。そこでわれわれは肉製品ばかりでなく、水産ねり製品、パン、うどんなどいろいろな食品についてもその利用性を実験してきた。その結果はプラズマは卵白ないしそれ以上の利用効果のあることが見出された。

今後、このような目的で利用開発の対象を探すとすれば、ビスケット、菓子パンの類が挙げられる。

ところで、この方面の用途開拓の道は在来までの方法ではそろそろ限界にきたように思われる。そこで、今後さらに食材としての利用開発の道を求めるとするなら、それは基礎に立ち戻り、血液構成成分、特にたん白質の食材として利用しうる基本的な諸性状と、それが生ずる原理を明らかにしていく必要があるように思う。

用途開拓を離れては、利用形態、法的規制への対応などの問題がある。

既に述べたように将来国内生産の食用分離血液たんぱく（プラズマ）が利用されるようになってきた場合、その利用形態が必ず問題になってくる。そして凍結ないしは濃縮凍結製品が使用されるようになった時、使用に便利なように冰雪状ないしはフレーク状の製品が要求されるようになることは間違いない。現にヨーロッパの域内利用ではその動きが始まっている。従って、国内生産の血液利用の推進を考えるならば、こうしたことに対する対応も考えておく必要があるだろう。

また、法的規制についてはと畜血液有効利用委員会の担当部会から、自主的規格・基準の素案が提出される段階にきている。そこでこれに対する実用面からの審議、検討が必要になるであろうと思われる。

食用以外の高度利用に関しては化学工業用としての開発が考えられる。現在の日本本としては採血に問題があり、さらには衛生的に束縛が厳し過ぎる。これは貿易摩擦の解消の1つに食品衛生法の改変が挙げられていることから窺われるであろう。したがって、このような事態を回避して、いささかでもより有効な利用法を考慮するならば化学工業用としての用途が考えられる。

こうした1つとして、木材接着剤等に湿度調節剤として血粉が輸入されていると聞く。また、たん白系媒染剤としての可能性も全く無視はできない。これらについて今後の検討を期待したい。

血球の高度利用は再三各方面からの意見の開陳がある。われわれは今までグロビンをそのまま、できるだけ有利にかつ衛生的に分離、取得することを目標に佐藤専

門委員の研究の実現化を支援してきた。その結果ある程度の見通しを得るに至ったが、最終的の実現に至っては経費の問題の他に工業所有権の問題もあり、もはや当委員会の手には負えなくなっている。そこでこれについてはしばらく置くとし、今後これについては別途なるべく経費のかからぬシステムの開発、研究に意を注ぐべきもののように思う。このような研究としては酵素法によるヘモグロビンの分解利用が考えらる。この分解産物の用途は必ずしも食用に限らないかも知れないが、当面は調味料、フレーバー賦与剤としての利用が期待されよう。

医薬用あるいは培地としての用途は決して期待されないわけでない。しかし、これらの用途は今すぐ多くを期待するわけにはゆかないようである。そしてその開発経費も馬鹿にはならないと言われる。そこでこれについては供給側と需要側の接触の場を積極的に作ることはどうかと考える。出来ることなら生産に対して必要な最低共通条件が需要側から示されるような雰囲気を得られればと思う。

以上の結論として、本事業に関する今後の研究課題として、本委員会は次のような諸テーマを掲げておく。

- (1) ビスケット等未利用領域に対するプラズマの利用法の開発
- (2) フレーク状等プラズマの利用形態の検討
- (3) 血球の酵素分解法等による有効利用法の検討
- (4) 食材としての自主規格(案)に対する生産面からの検討
- (5) 工業的有効利用法の開拓
- (6) 医薬ないし培地としての利用開発のシステム化の推進
- (7) 血液たん白質の有効利用に関する理化学的基礎研究の推進

以 上

各 論

I 血液製品の食品加工としての適性

I-1 緒言

血液のより高度な処理加工による利用を促進するという事業方針に基き、血液の血漿（プラズマ）を食肉製品、水産物製品、パンなどに添加することによって、これらの製品の品質などに及ぼす影響を分析検討するとともに、それぞれの製品の官能検査を行なって商品的価値について検討した。

I-2 パンへの応用

昭和57年度の報告書に、めん類への応用を行ない、プラズマ0.5%、1.0%添加のものが対照と比較して歯ざわり、口あたり、粘弾性が良好であった例にも習い、小麦粉製品でもあるパンにも効果があるのではないかとテストを行なった。製パンについては、すでにヨーロッパにおいて卵白の代替品として利用されている。

2・1 実験材料

供試したプラズマは次の2種類であり、併せて卵白粉についても比較を行なった。

(1) Harimex ligos (オランダ)

たん白質 68~70%

10%ゲル強度 約500

(2) Prosan B70 Sterile (ベルギー)

たん白質 67~68%

10%ゲル強度 約180

(3) 乾燥卵白(N) (KK キューピー)

2・2 実験方法

(1) 実験区分

実験区分は表-1のとおりである。

表I-1 試料のわりつけ

実験区	Harimex ligos (%)	Prosan B70 Sterile (%)	乾燥卵白(%)
対照	—	—	—
1	0.2	—	—
2	0.5	—	—
3	—	0.2	—
4	—	0.5	—
5	—	—	2.0

(2) 配合および工程

配合は下記の通りであり、工程は、70%普通中種法に従った。

中種	ネオン印	70%
	イーストフード	0.1%
	イースト	2%
	水	40%
	混捏時間	L-2分 H-1分
	目標生地温度	24°C±0.5°C
	醗酵時間	4時間
生地	ネオン印	30%
	砂糖	4%
	食塩	2%
	ショートニング	2%
	水	25~30%
	混捏時間	L-2分 H-2分
	目標生地温度	28°C±0.5°C
	フロアタイム	20分 28°C
	分割丸目	
	イギリス, プルマン型	240g×8
	ワンローフ	450g×1
	ベンチタイム	15分 28°C
成形	実験用モルダー使用	
	ホイロ (38°C)	プルマン 35~40分 ワンローフ, イギリス 60分
焼成 (215°C)	イギリス, プルマン	30分
	ワンローフ	25分

2・3 結果

(1) 生地の評価

- イ) 吸水性は、プラズマ添加量の約2倍見込める。Harimex ligosとProsan B70との差は認められなかった。
- ロ) 混捏性は、とくに変化はない。
- ハ) 弾力性は、プラズマ添加区がやや硬くなり脆くなる傾向を示した。この

傾向は Prosan B70 に強かったが、乾燥卵白では柔軟な傾向を示し、プラズマとは対照的なものであった。

- ニ) 作業性は、プラズマ添加区がやや硬、脆性はあるものの、0.5%位の添加量ではとくに劣性とは思われない。むしろ、乾燥卵白の弛みは劣性と考えられる。
- ホ) 色相については、プラズマ添加区が暗色を呈し、とくに Harimex ligos の0.5%は暗くくすんだ色相であった。
- ヘ) 臭いは、プラズマ添加区は特有な臭いが感じられ、乾燥卵白も卵白の生臭さを感じた。
- ト) ホイロ（最終醗酵）では差がなかった。
- チ) 焼成では、部分的に差があったが、添加量の違いによる傾向は認められなかった。

(2) パンの評価

- イ) 容積は、プラズマの添加量の多いほど増加しており、表-2のように Harimex ligos と Prosan B70 との差はなかった。卵白は対照とほぼ同じ値を示した。

表I-2 プラズマ添加によるパンの容積

実験区	対 照	1	2	3	4	5
容 積	2,400	2,420	2,470	2,430	2,470	2,390
重 量	376	376	375	376	376	376
容積/重量	6.38	6.44	6.59	6.46	6.57	6.36

- ロ) パンのブルームは差がなかった。
- ハ) 皮質は、対照とプラズマは差がなく、卵白はやや厚目であった。
- ニ) 皮色は、部分的な差はあるが、添加量の違いによる傾向は認められなかった。
- ホ) 内相状態は差がない。
- ヘ) 内色相は、プラズマ添加区が暗くなり、とくに Harimex ligos が暗くなる傾向が強い。卵白は幾分黄色味が増す傾向を示した。
- ト) 香りは、ノン・トーストの状態ではプラズマ0.5%添加と卵白2%添加がやや悪く感じたが、トーストした状態ではプラズマ添加区は差がなかったが、卵白添加は酸臭を感じた。

チ) 食味, 食感は, ノン・トースト, トースト共にプラズマ添加区と対照との差は認められなかったが, 卵白添加区は幾分粘着性を感じた。

2・4 プラズマ2%添加実験

上記実験では, プラズマを0.2, 0.5%添加した製パンテストであるが, さらにプラズマの添加量を採算に関係なく増やした場合のパンへの影響について試みたものを表I-3に示した。その評価をあげれば, 次のようになる。

表I-3 プラズマ添加による製パンテスト

項目	試料	対 照	プラズマ2%添加
吸 水 率 (%)		70.0	70.0
混 捏 時 間 L-H (分)		2-3 ³ / ₄	2-4
パ ン 容 積 (ml)		2600	2615
吸 水 性 (15)		12.0	12.0
醱 酵 状 態 (20)		16.0	16.0
混 捏 状 態 (20)		16.0	16.0
機 械 性 (25)		20.0	19.1
ホイロ・焼成状態 (20)		16.0	16.0
小 計 (A)		80.0	79.1
外 観 (20)		16.0	15.0
容 積 (15)		12.0	12.1
色 相 (15)		12.0	10.7
ス 立 (20)		16.0	15.0
触感・香味・食感 (30)		24.0	23.1
小 計 (B)		80.0	75.9
総合計 (=A×0.6 + B×0.4)		80.0	77.82

- イ) 容積については, プラズマ添加区は対照に比べてやや増加している。
- ロ) 皮質は, 硬目で厚くなっている。
- ハ) 皮色は強く光沢は劣っている。
- ニ) 色相は暗くなる。
- ホ) ス立はやや厚い。
- ヘ) 食感は重く, 香味はやや異っている。総じて, プラズマ添加区は生地の色調が暗くなり, 伸弾性, 作業性にやや脆さを感じさせたが問題になるほどの

ものではなかった。また、パンの内色相，皮色，皮質，食味，食感などにプラズマ独特の特徴が見られた。

2・5 考 察

プラズマを 0.2%，0.5%，2% 添加した場合と通常の配合によって製パンする加工性，品質上の差は 2% 添加のものにやや認められる以外ほとんど認められず，パン製造に使用することは十分可能である。

Harimex ligos（オランダ），Prosan B-70（ベルギー）2種類* のものについて比較した結果では，Prosan B-70 の方が色相の点で違和感が少なく，反対に Harimex ligos は色相が暗い点を利用して商品にある種の特徴付けができる可能性があると思われる。

以上のようなことから，プラズマを添加したパンは，新しいバラエティーブレッドおよび健康志向食品として十分考えられるものである。

以上，一連のテストは昭和産業株式会社総合研究所にお願いして行なったものである。

* Harimex ligos の規格表

水分	7 ~ 8.5 %
粗脂肪	2 %
粗たん白	6.9 ~ 7.1 %
粗たん白（乾物中）	7.5 ~ 7.8 %
灰分	1.2 %
溶解性	9.5 ~ 9.9 %
鉄（Fe）	1.20 mg/kg 以下
一般生菌数	100,000 以下
大腸菌群	10 以下
サルモネラ菌	（-）

Prosan B-70 の分析表

水分 (%)	6.5
pH（10%）	6.8
灰分 (%)	1.8.7.5
たん白質 (%)	6.6.2
ゲル強度（10% 75°C）	1.8.0
ヒ素	0

重金属 (ppm)	18
亜硝酸根 (g/kg)	0.0015
一般生菌数 (g)	300 以下
大腸菌	(-)
黄色ブドウ球菌	(-)
サルモネラ菌	(-)

2・6 官能評価

表I-1の6種類のパンについて、オルガノKK社員および協力会社従業員の計9名にて、①パンの内相のきめの状態、②内相の色、③弾力などを官能的に評価し、最後に総合的判定をした。

総合評価の結果、次のようになった。

P-S 0.5% > P-S 0.2% > H-l 0.5% = H-l 0.2% > 対照 > 卵白

この結果は、前記した考察と同様のもので、Prosan B-70の方がHarimex ligosより色が白いことから表われた現象と思われる。

参考までに内相の色の好みは

対照 > 卵白 > P-S 0.5% > H-l 0.2% = P-S 0.2% > H-l 0.5%

であった。

I-3 水産ねり製品への応用

プラズマの添加による水産ねり製品の物性に及ぼす効果についての検討を蒲鉾研究所(全国蒲鉾水産加工業協同組合連合会)に依頼し、その結果について下記に述べる。

3・1 試験方法

(1) 試料の調整

表I-4の配合割合でフードカッターを用いて、荒ずり5分、塩ずり15分、仕上げずり5分の計25分間カッティングを行い、ケーシング詰かまぼこは、折径48%のケーシング詰用サランフィルムに充填し、90℃で40分間湯煮した。板付かまぼこは、手付けによって成形し90℃で30分間蒸煮した。両者とも放冷ののち試料に供した。また、坐りは10℃の空気浴18時間放置後、90℃で40分間湯煮、放冷後坐り試料とした。

(2) 測定項目および方法

1) 押込み強度および凹みの大きさ、ジェリー強度

試料を厚さ 2.5 mm に輪切りにし、フードチェッカーを用いて球形プランジャー直径 7 mm で測定した。測定値は試料 5 箇所を測定し、その平均値であらわした。なお、ジェリー強度は次式のように求めた。

$$\text{押し込み強度}(g) \times \text{凹みの大きさ}(cm) = \text{ジェリー強度}(g \times cm)$$

ロ) ハンター白度および明度

試料を厚さ 2.0 mm に輪切りにし、日本電色製の測色色差計 (ND-1001 DP) を用いて測定した。白度はハンター白度で示し、明度は L, a, b 系の L 値により示した。また、測定値は試料 4 箇所を測定し、その平均値で示した。

ハ) 光 沢

日本電色製光沢計により測定し、試料は白度および明度を測定した試料と同一のものを使用し、入射角および反射色はともに 45°C とした。

ニ) 官能試験

試料を 5 mm に輪切りにし実際にかんでその足の強さなどの物性を 10 点法により評点した。

ホ) 折曲げ試験

試料を 3 mm に輪切りにし、指で折り曲げた時の状態を下記の判定基準によって判定し 5 点法により評点を行なった。

評 点	基 準
5	4 つ折りにして亀裂なし
4	2 つ折りにして亀裂なし
3	2 つ折りにして徐々に亀裂
2	2 つ折りにして直ぐに亀裂
1	指でつまむと崩れる

3・2 結果と考察

(1) 弾力向上効果について

表 I-5, 図 I-1 に示したとおり、無坐りで 0% 試験区に比べ、0.5, 1.0% 試験区において弾力の向上が認められ、さらに坐りを行なったものでは弾力の向上効果が顕著に認められた。

また、水分量は、0% 試験区で 79.1%, 0.5% 試験区で 78.6%, 1.0% 試験区で 78.5% と三番の差はほとんどなく、水分量のかまほこの弾力に与える影響は無視し得ると考える。

参考までに、現在、水産ねり製品の足補強の目的で使用されている卵白の足補強効果を示せば、図 I-2 のようにプラズマと同様なパターンである。すなわち、成形後直ちに加熱した場合には、弾力向上にあまり顕著な効果は認められないが、坐りを施すことによって顕著な効果が図 I-2 のように認められる。

(2) 食感について

表 I-5 のように 0.5 % 試験区では 0 % 試験区に比べて秀れているようであるが、1.0 % 添加区ではとくに坐りを施さなかった試料について多少硬さが目立ってほそつく傾向にあった。

(3) 色沢（白度，明度，光沢）に及ぼす影響について

表 I-6，図 I-3 に示したとおりプラズマ添加区は無添加のものに比べ淡褐色に着色するが、0.5 % 試験区では、その着色度も薄くあまり問題とはならないが、1.0 % 試験区では、着色度も強く単独でも肉眼で明瞭に判別できる。また、無坐りのものでは、白度，明度，光沢ともに添加量とは反比例的に減少を示していた。

3・3 ま と め

- (1) スリ身に対してプラズマ 0.5 % 添加で、弾力補強に十分な効果が認められ、かつ、坐りを行うとより以上の効果が期待できる。しかし、1.0 % 添加では、無坐りでは足が落ちるが、坐りを行うとかなり効果が期待できる。
- (2) プラズマ添加によって、白度，明度，光沢は添加量に反比例的に減少した。ただし、0.5 % 以下の添加ではあまり製品として問題はない。

以上、プラズマの添加効果をスクリーニング的に検討したが、今後、生プラズマ，冷凍プラズマおよび他のたん白質との比較検討が必要と思われる。

3・4 製品の官能検査

蒲鉾研究所でつくった板付かまぼこおよびケーシング詰かまぼこについて、オルガノ KK 社員および協力会社従業員の計 8 名にて、色の好みの順，足の強い順，総合的な好みの順について官能的に評価を行なったが、その結果は次のようであった。

- (1) 坐りなし板付かまぼこでは、プラズマ添加のものは色の点で好まれないが、総合的には足の強い点などから 0.5 % 添加のものが好まれた。

次の評点法で採点し、その結果を平均した。

+ 1 良い
 0 普通
 - 1 悪い

	総合評価	色	足
対照	- 2	+ 7	- 6
0.5 % 添加	+ 3	0	+ 4
1.0 % 添加	+ 1	- 5	+ 4

(2) 坐り板付かまぼこでは、色および足は坐りなしの板付かまぼこの結果と同じ傾向を示しているが、総合評価では0.5 % 添加と無添加品とはほぼ同じで1.0 % のものはやや劣っていた。

	総合評価	色	足
対照	+ 2	+ 7	- 5
0.5 % 添加	+ 3	+ 1	0
1.0 % 添加	0	- 6	+ 6

(3) ケーシング詰坐りかまぼこでは、プラズマの添加量が多いほど足が補強されるが、色については板付かまぼこと全く同じ傾向であった。総合的な好みは、無添加と0.5 % 添加品がほぼ同一であり、1.0 % 添加品は好まれなかった。

このような結果からして、プラズマの添加量は0.5 % が限度のように思われる。これは蒲鉾研究所の結論と同一である。

I - 4 凍結プラズマの食肉製品への応用

と畜血液の食品への有効利用の一環として、前報で乾燥プラズマの食肉製品への応用について検討した。

プラズマの利用方法には、全血液から分離後のプラズマを乾燥して使用するいわゆる「乾燥プラズマ」と急速凍結後その状態で流通・保管し、使用前に解凍する「凍結プラズマ」とがある。後者の場合は安価な生産コストと既設凍結設備の利用性という点から前者より有利であるばかりでなく、前者は保存、輸送上の利点があるとはいえ、いったん脱水・乾燥したものを使用時に再加水するという省エネルギーに反する利用法であるので、今後わが国の国内生産のプラズマの利用はまず第一に凍結プラズマが主体となって考えるべきであろう。

ところが凍結プラズマの食肉製品への応用については、そのままの形では蛋白

量が7%程度と低く、高水分含量のため用途が限定されており、乾燥プラズマにおけるソーセージのような再加水後原料肉一部置換という方法には無理があり、別途の使用方法を採用する必要がある。しかしこれに関する知見が国内外共に乏しいので本研究を行なった。

すなわち本報では凍結プラズマの3カ月間凍結保管中の品質の変化を調査すると共に、ソーセージ・ロースハムでは製造する際使用する氷水、注射液中の水をそれぞれ凍結プラズマと置換して製造を行ない、製品の品質を分析することにより凍結プラズマの食肉製品への利用適性を検討した。

4・1 実験方法

(1) 実験材料

プラズマ：

試験に供試したプラズマは宮崎県都城市食肉事業協同組合（宮崎県都城市平江36-2番地）において、昭和57年10月9日と殺したランドレースより採血して常法通り処理したものである。すなわち採血後直ちに血液凝固防止剤クエン酸ソーダを添加し、遠心分離してプラズマと血球を分離し、塩化ビニリデン・ケーシングに充填・密封後直ちに急速凍結を行なった。このプラズマの輸送・保管は一貫して -25°C にて行ない、試験に供試する時は一晩冷蔵庫にて解凍し、 2°C とした。

原料肉：

ポロニアソーセージは国内産豚肩肉、米国産牛肩肉、オーストラリア産マトンロース肉を、ロースハムで国内産豚背ロース肉を使用した。

(2) 試料の調整

凍結保管中の品質変化：

-25°C にて凍結保管中のプラズマを約2週間ごとに取り出し、一晩冷蔵庫にて解凍して 2°C とし分析に供した。

ソーセージ製造試験：

ポロニアソーセージの配合割合を表I-7に示す。この中で加水量については表I-8のような割合にて凍結プラズマと置換してソーセージを常法どおり製造分析に供した。

ロースハム製造試験：

ロースハム用注射液の組成を表I-9に示す。この中で氷水については表I-10のような割合にて凍結プラズマと置換してロースハムを常法どおり製造

し分析に供した。

(3) 分析方法

凍結プラズマの衛生検査は以下の方法によった。

一般生菌数	標準寒天培地混釈法
大腸菌群	BGLB培地
サルモネラ	ハーナーテトラチオン酸塩培地
ブドウ球菌	卵黄加マンニット 食塩寒天培地
ウェルシュ菌	ハンドフォード改良培地・パウチ法及びカナマイ シン含有CW寒天培地・ガスバック法

凍結プラズマ及び製品の理化学的性質はすべて前報と同じ方法によった。

pH

水分

粗タンパク質

粗脂肪

残存亜硝酸根

ゲル強度

色調

物性

なお官能検査は以下の方法によった。

研究員9名により、検体の風味について対照と各試験区との比較を行ない、次の5段階評点法で採点し、その結果を平均した。

+2	対照よりかなり良い
+1	対照よりやや良い
0	対照と同じ
-1	対照よりやや劣る
-2	対照よりかなり劣る

4・2 結果

(1) 凍結プラズマの成分分析及び衛生試験成績

表I-11のように衛生試験では病原性細菌は見い出せなかった。

(2) 凍結プラズマの保管中の変化

3カ月保管中の品質変化の分析結果は表I-12のようである。ここに見ら

れるように pH, ゲル強度は多少バラツキが認められるものの, ゲル強度については 100 以下に劣下することはないので品質的变化はないと考えられる。

(3) ソーセージ製造試験成績

凍結プラズマを添加したポロニアソーセージの測定結果を表 I-13 に示す。これらの結果から得られた要点は次のとおりである。

イ) 成分分析

凍結プラズマ自体の pH は血液凝固剤のため弱アルカリ性であるが, ソーセージの pH には影響を与えなかった。また水分, 粗タンパク質についてもほとんど変化がなかった。これはプラズマを置換しても添加量の差による変動が少ないためと考えられる。残存亜硝酸根も変化がなかった。

ロ) 色 調

添加区は対照と比べ, わずかに赤味が強く退色もわずかに遅かった。これは凍結プラズマには多少残存血球があるため赤味を帯びておりその影響と思われる。

ハ) 物 性

各試験をとおして殆んど変化がなかった。これは凍結プラズマのゲル形成温度までポロニアソーセージの加熱温度を上昇すると脂肪分の溶出を生じる。従って通常の加熱温度ではそのゲル形成機能を十分引き出せていないためと考えられる。

ニ) 官能検査

加水の 30% 置換した試験区では対照区と変わらず, 60% 置換した試験区では各パネラー共風味が明確に向上しているとして高く評価した。100% 置換した試験区では風味に生ぐささを感じ, 添加量は過度と判定された。

(4) ロースハム製造試験成績

凍結プラズマを注入したロースハムの諸性状の測定結果を表 1-14 に示す。これらの結果の要点は次の通りである。

イ) 成分分析

pH, 水分, 粗タンパク質, 粗脂肪, 残存亜硝酸根ともソーセージと同様にほとんど変化がなかった。水分は多少バラツキがあるが, これが使用した原料肉によるものか否かは不明である。

ロ) 色 調

添加区は対照と比べ, わずかに赤みが強く退色も遅かった。これは前述

のポロニアソーセージの場合と同様に凍結プラズマに多少残存している血球の影響と思われる。

ハ) 物 性

各試験区をとおして殆んど変化がなかった。これは凍結プラズマのゲル形成温度まで加熱温度を上げると製品の風味が低下するので、それ以下の通常の加熱温度を用いたためと考えられる。

ニ) 官能検査

氷水を10%置換した試験区では対照区と評価が変わらず、30%置換した試験区では風味にこくが出ているとして評価が最も高く、50%置換した試験区では風味が強過ぎるとして対照区より劣ると判定された。

4・3 考 察

ポロニアソーセージ・ロースハムの製造試験では、成分は各試験区間に殆んど差がなく、凍結プラズマの影響はなかった。色調への影響は発色が多少強く退色もわずかに遅くなることが認められたが、これは凍結プラズマ中の残存血球に由来するものであり、副次的効果として評価される。

物性では各試験区間に殆んど差がなく、これは加熱温度が凍結プラズマのゲル形成温度より低かったことで、そのゲル形成機能を十分に引き出していないことと思われた。加熱温度を70~75℃まで上昇すれば差が出るが、その場合は当該食肉製品の品質劣下を生じるものと推定される。

官能検査ではその風味に大きな差が認められたことが特徴的である。しかも前報乾燥プラズマの添加の場合は官能検査の評価は無添加区と同等又はそれ以下ということであり、無添加区を上回る評価は得られなかった。けれども凍結プラズマの場合は適正な添加量においては無添加区を上回る評価が与えられた。これは品質の向上という点から重要なことと言える。

この適正な添加量はソーセージでは10.2%、ロースハムでは5.8%であり、その差異の理由として前者はスパイス等のマスキング効果があり、後者はスパイス等をあまり用いず調味が薄くなるので、プラズマの影響が直接に出るためと考えられる。なお前報乾燥プラズマの官能検査では適正添加量はポークソーセージは2%、ロースハムは1%であり、たん白含量で比較すると凍結プラズマの方がより添加量が少量で有効になっている。これは乾燥プラズマは乾燥工程中に風味に関与する有効成分が熱変性を起こして薄れるため、風味の向上の期待が出来ないのもこのためと思われる。

以上凍結プラズマの食肉製品への応用には加水の置換を行なった場合、コストアップの要素はあるものの製品の風味の向上及びテクスチャーの補強のメリットがある。しかし生産コストは安い一方、低蛋白含量・高水分含量のため用途が限定されているので今後用途拡大のため一層の研究が必要とされる。

4・4 要 約

と畜血液の食品への有効利用の一環として凍結プラズマの食肉製品への応用を検討した結果、以下のことが明らかになった。

- (1) 凍結プラズマの3カ月間の保管中の変化については pH , ゲル強度共に変化は見られなかった。
- (2) 凍結プラズマのソーセージへの添加は加水の60%置換した試験区で風味の向上が認められ、最も高い評価を得た。他の試験項目は殆んど変化はなかった。
- (3) 凍結プラズマのロースハムへの注入は氷水の30%置換した試験区で風味の向上が認められ、最も高い評価を得た。他の試験項目は殆んど変化はなかった。
- (4) 凍結プラズマの食肉製品への応用は加水の置換を行なった場合、コストアップの要素はあるものの製品の風味の向上及びテクスチャー補強のメリットがあり、利用可能と考えられる。

以上は、伊藤ハム栄養食品(株)中央研究所にて行なったものである。

I-5 添加肉製品の市場適応について

5・1 試 作

ブリマハム株式会社中央研究所および株式会社東急フーズ狭山工場に依頼してプラズマ入りロースハム(1%添加品)、ポロニアソーセージ(2%添加品)を試作して貰った。

5・2 官能検査

専門委員ら13名によるAグループとオルガノKK社員および協力会社従業員ら10名によるBグループで官能検査を行なった。

(1) 評価基準項目

色, 味, 臭, 弾力, 総合評価(好み)について、日頃抱いているロースハム、ポロニアソーセージの嗜好イメージを考えに入れて、普通のを評点3として5段階評価を行なった。

- 5 普通よりかなり良い
- 4 普通よりやや良い
- 3 普通
- 2 普通よりやや悪い
- 1 普通よりかなり悪い

(2) 結 果

イ) ロースハム

色

Aグループ

$$T - C > T - P_1 > P - C = P - P_1$$

Bグループ

$$T - P_1 > P - C = T - C > P - P_1$$

味

Aグループ

$$P - P_1 > T - C > P - C = T - P_1$$

Bグループ

$$P - P_1 > T - C \geq P - C > T - P_1$$

臭

Aグループ

$$P - P_1 > P - C = T - C > T - P_1$$

Bグループ

$$P - P_1 > P - C = T - P_1 \geq T - C$$

弾力

Aグループ

$$P - P_1 > T - P_1 = T - C > P - C$$

Bグループ

$$P - C > T - P_1 \geq P - P_1 \geq T - C$$

総合評価(好み)

Aグループ

$$P - P_1 > T - C > T - P_1 > P - C$$

Bグループ

$$T - C > P - P_1 > T - P_1 = P - C$$

② ポロニアソーセージ

色

Aグループ

$$P-C > T-C > P-P_2 > T-P_2$$

Bグループ

$$T-C > P-C = P-P_2 > T-P_2$$

味

Aグループ

$$P-C = T-C > T-P_2 \geq P-P_2$$

Bグループ

$$T-C > T-P_2 = P-P_2 \geq P-C$$

臭

Aグループ

$$P-C > T-P_2 > T-C \geq P-P_2$$

Bグループ

$$P-C \geq T-C > P-P_2 > T-P_2$$

弾力

Aグループ

$$T-C > T-P_2 > P-P_2 > P-C$$

Bグループ

$$T-C > T-P_2 > P-P_2 > P-C$$

総合評価

Aグループ

$$T-C > P-C > P-P_2 > T-P_2$$

Bグループ

$$P-P_2 \geq T-C > T-P_2 > P-C$$

〔註〕

ロースハム

P-C プリマハム株式会社製対照

P-P₁ " プラズマ 1%添加

T-C 株式会社東急フーズ製対照

T-P₁ " プラズマ 1%添加

ポロニアソーセージ

P-C プリマハム株式会社製対照

P-P₂ # プラズマ 2% 添加

T-C 株式会社東急フーズ製対照

T-P₂ # プラズマ 2% 添加

以上の官能検査を考察すれば、プラズマ添加のロースハムは各項目において個人的好みの差があって結論を出せないが、嗜好的面から一般に受け入れられるものと思われる。また、プラズマ添加のポロニアソーセージは色、味、臭いにおいてやや嫌われるように思われ、総合的好みも同様であった。これは添加量が2%であり適量点をさらに検討すれば十分使用できると思う。

(3) メーカー検品結果

イ) プリマハム株式会社中央研究所

プラズマ入りロースハムは標準品と比較して、包装状態、外観状態、断面、食感、ワークマンシップは同一レベルであるが、風味の点で非常に悪い。とくに後味でモツ臭が強烈に感じられ、ロースハムの品質が著しく劣化している。また、プラズマ入りポロニアソーセージは標準品と比較して、包装状態、外観状態、断面、食感、ワークマンシップは同一レベルであるが、風味の点でやや悪い。プラズマ入りロースハムほど風味の劣化が感じられないのは、ポロニアソーセージの脂肪によってプラズマの臭いをマスキングしたためと思われる。

ロ) 株式会社東急フーズ狭山工場

プラズマ1%添加ロースハムは後味でわずかにクセがあるが、味にコクがある。また、プラズマ2%添加ポロニアソーセージは臭みが強く風味が悪い。

5・3 物性（硬さ）測定

(1) 測定法

各サンプルを次の方法で行なった。

サンプル厚み 5～6 mm

クリアランス 3.7 mm

プランジャー 直径10 mm円板状プランジャー

フードレオメーター 2 kg IV

(不動工業製)

テーブル速度	20 cm/min
チャート速度	30 cm/min

(2) 結 果

スライスロースハムおよびスライスポロニアソーセージの硬さを測定し、その結果を表I-15, 16, 図I-4, 5に示すが、前記の弾力と比較した場合、ロースハムは余り一致しないが、ポロニアソーセージの場合には官能検査による弾力とほぼ一致している。

I-6 ま と め

プラズマの実用化について、パン、水産ねり製品、食肉製品などに応用したが、添加量をそれぞれの製品に適合する量に吟味すれば十分使用できるものと思われる。さらに、各種製品への動物たん白質の補強ともなり特長ある製品として打ち出すことも可能である。

プラズマ添加各種製品とも消費者嗜好性を官能検査にて行なった結果、受容価値あるものと思う。

表 I-4 配合割合

	0%		0.5%		1.0%	
	部	%	部	%	部	%
スケトウタラ冷凍スリ身	100	65.9	100	65.7	100	65.5
食塩	2.7	1.8	2.7	1.8	2.7	1.8
砂糖	1.0	0.7	1.0	0.7	1.0	0.7
ミリン	2.0	1.3	2.0	1.3	2.0	1.3
M S G	1.0	0.7	1.0	0.7	1.0	0.7
馬鈴薯澱粉	5.0	3.3	5.0	3.3	5.0	3.3
氷水	40.0	26.4	40.0	26.3	40.0	26.2
粉末血漿蛋白質	0	0	0.5	0.3	1.0	0.7
合計	151.7	100.1	152.2	100.1	152.7	100.2

注：スケトウタラ冷凍スリ身は洋上 S A 級，昭和 56 年 8 月 20 日，大洋漁業(株)天洋丸製造，無塩。 プラズマは Harimex ligos

表 I-5 各試験区における弾力性について

試験区		押し込み強度 (g)	凹みの大きさ (cm)	ジェリー強度 (g×cm)	官能テスト (10点法)	折曲テスト (5点法)
ケーシング詰	0	485	1.46	708	6.5	5
	0S	943	1.75	1650	8.0	5
	0.5	540	1.80	972	7.0	5
	0.5S	1036	1.80	1865	8.3	5
	1.0	493	1.51	744	6.5	5
	1.0S	1078	1.79	1930	8.5	5
むしかまぼこ	0	440	1.58	695	6.5	5
	0S	748	1.64	1234	8.0	5
	0.5	473	1.56	738	6.8	5
	0.5S	839	1.72	1443	8.5	5
	1.0	484	1.65	799	7.0	5
	1.0S	897	1.74	1561	8.5	5

表中の“S”は坐りを行なったもの

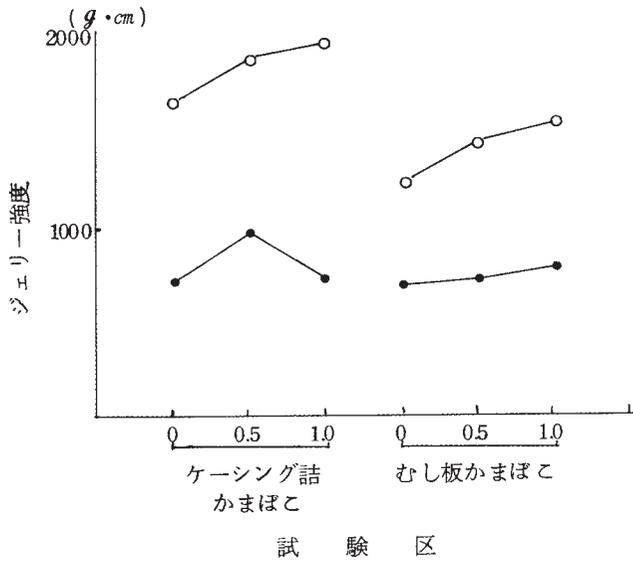


図 I - 1 血漿たん白質添加量によるジェリー強度の変化

- — 無坐り
- — 坐り (10℃, 18 hour)

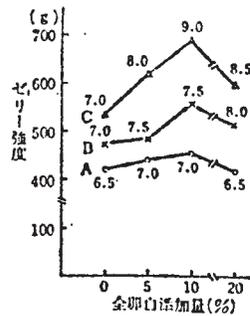


図 I - 2 冷凍全卵白の添加量の影響

A : すぐ加熱, B : 6℃, 21時間坐り, C : 40℃ 60分坐り, 数字は官能検査の得点

注 : 岡田, 横関, 衣巻編 : 魚肉ねり製品理論と応用, 恒星社厚生閣, 昭和49年8月。

表 I-6 各試験区における色沢の変化

試験区		白度 (%)	明度 (%)	光沢
ケ ー シ ン グ 詰	0	48.1	74.1	14.3
	0 S	48.0	74.3	20.0
	0.5	44.8	73.1	13.1
	0.5 S	45.5	73.5	15.5
	1.0	41.9	71.8	11.3
	1.0 S	43.9	73.3	14.6

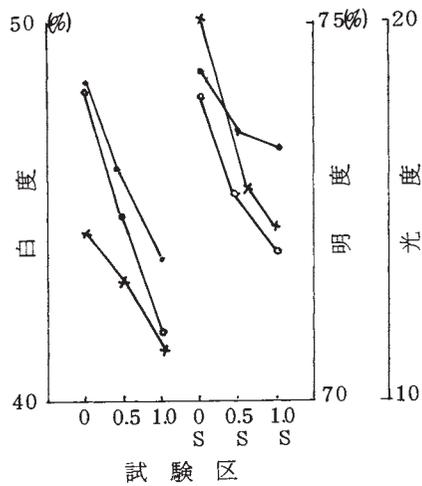


図 I-3 血漿たん白質添加量による色沢の変化

- : 白度
- : 明度
- ×—: 光沢

表I-7 ポロニアソーセージ用材料の配合割合(%)

材 料	配 合 割 合
豚 肉	40
マ ト ン	12.75
牛 肉	12
豚 脂 肪	17
加 水	17.5
植 物 性 蛋 白	0.75
食 塩	2
砂 糖	0.8
香 辛 料	0.4
リ ン 酸 塩	0.2
化 学 調 味 料	0.12
アスコルビン酸Na	0.03
亜 硝 酸 Na	0.01

表I-8 ポロニアソーセージにおける凍結プラズマ置換率

	対 照	試 験 区		
		1	2	3
加 水 の 置 換 率 (%)	0	30	60	100
ソーセージの プラズマ添加量 (%)	0	5.1	10.2	17.0

表I-9 ロースハム用注射液の組成及び注射量(%)

		組 成	備 考*2
水	水	88.04	19.5
食	塩	8.1	1.8
砂	糖	2.0	0.44
香	辛 料	0.02	(44 ppm)
結	着 補 強 剤*1	1.2	0.27
化	学 調 味 料	0.45	0.1
抗	酸 化 剤	0.15	0.03
発	色 剤	0.04	(88 ppm)
注	射 量	25	

*1 複合リン酸塩

*2 予想される肉中の含有量(熱処理歩留りを90%とし、残り10%を水として計算)

表I-10 ロースハムにおける凍結プラズマ置換率

	対 照	試 験 区		
		1	2	3
水水の置換率(%)	0	1.0	3.0	5.0
ロースハムへの プラズマ注入量(%)	0	1.95	5.85	9.75

表I-11 凍結プラズマの成分分析
及び衛生試験

項 目	実 測 結 果
pH	8.3
水 分 (%)	91.5
粗タンパク質 (%)	6.0
粗脂肪 (%)	0.2
一 般 生 菌 数	4.7×10^8
大腸菌群	(-)
サルモネラ	(-)
ブドウ球菌	(-)
ウェルシュ菌	(-)

表I-12 凍結プラズマの保管中の変化

	0	13日	30日	44日	59日	74日	89日	105日
pH	8.7	8.3	8.0	8.5	8.5	8.5	8.7	8.7
ゲル強度 (g/cm^2)	135	105	134	124	134	119	106	110

表I-13 プラズマ添加ボロニアソーセージの諸性状

分析項目	対 照	試 験 区			
		1	2	3	
pH	6.2	6.2	6.3	6.4	
水分 (%)	64.87	62.81	62.98	63.29	
粗タンパク質 (%)	12.5	13.0	13.2	13.5	
粗脂肪 (%)	16.1	18.3	18.2	17.6	
亜硝酸根 (ppm)	10.0	11.2	11.3	12.7	
色 調					
切断直後	L	54.14	53.0	53.84	53.52
	a	15.32	15.99	15.76	15.32
	b	8.71	8.48	8.87	8.82
1時間後	L'	52.14	52.46	53.51	53.49
	a'	13.03	13.91	13.43	13.01
	b'	9.45	9.64	9.45	9.42
ΔE	3.09	2.43	2.39	2.04	
物 性					
硬さ (kg/cm ²)	1.94	1.95	2.23	1.84	
凝 集 性	0.62	0.60	0.59	0.75	
弾 力 性 (%)	94.6	93.10	91.4	92.6	
そしやく性	113.8	114.2	114.3	113.9	
官能検査評点	0	0.22	1.88	-0.88	

表 I-14 プラズマ添加ロースハムの諸性状

分析項目	対 照	試 験 区			
		1	2	3	
pH	6.5	6.6	6.3	6.6	
水分 (%)	70.29	70.32	69.74	67.00	
粗タンパク質 (%)	12.2	12.2	12.2	12.4	
粗脂肪 (%)	13.1	14.5	9.8	11.3	
亜硝酸根 (ppm)	16.1	13.2	16.5	15.1	
色 調					
切断直後	L	51.2	50.5	57.4	58.9
	a	7.3	7.8	7.8	8.5
	b	6.5	7.4	6.1	7.1
1時間後	L'	58.2	60.8	57.7	59.6
	a'	7.2	7.2	7.2	8.3
	b'	8.1	8.4	7.4	7.5
ΔE	4.15	4.76	1.69	1.47	
物 性					
硬さ (kg/cm^2)	2.02	2.09	1.86	2.11	
凝 集 性	0.71	0.77	0.68	0.73	
弾 力 性 (%)	96.1	96.5	96.7	95.9	
そ しゃ く 性	142.5	143.2	122.3	147.7	
官能検査評点	0	0.22	1.11	-1.11	

表I-15 ロースハムの物性

検 体	厚み (mm)	硬さ (g/mm^2)
P-C	6.5	2 2.9 8 ± 1.6 8
T-C	6.5	1 7.9 6 ± 2.2 7
P-P ₁	6.5	2 0.9 6 ± 2.5 7
T-P ₁	6.5	2 0.2 6 ± 2.0 0

表I-16 ボロニアソーセージの物性

検 体	厚み (mm)	硬さ (g/mm^2)
P-C	5.5	7.7 4 ± 0.4 0
T-C	5.4	1 1.6 4 ± 1.0 1
P-P ₂	5.2	1 0.5 2 ± 0.7 7
T-P ₂	5.4	1 3.4 8 ± 0.7 1

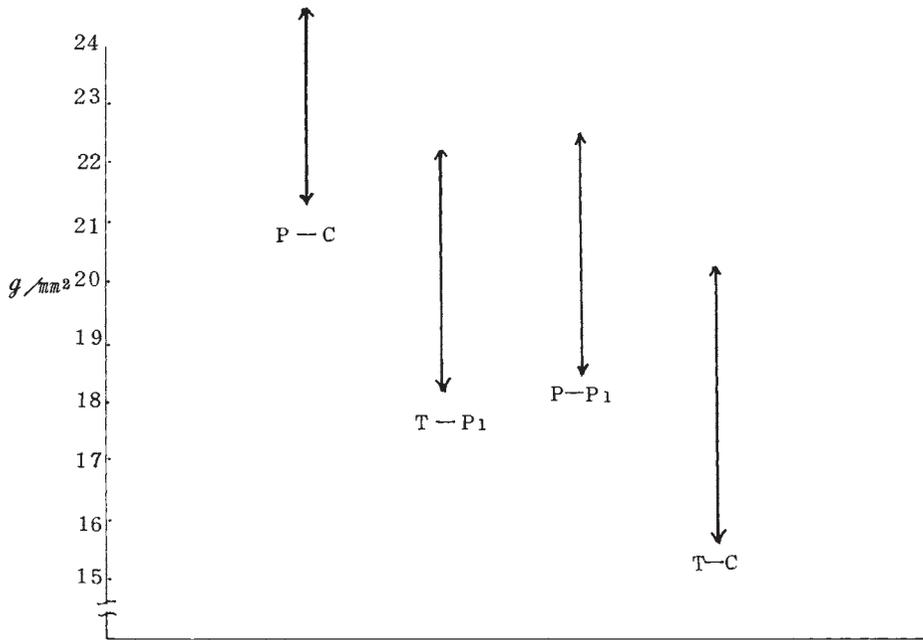


図 I - 4 ロースハムの硬さ

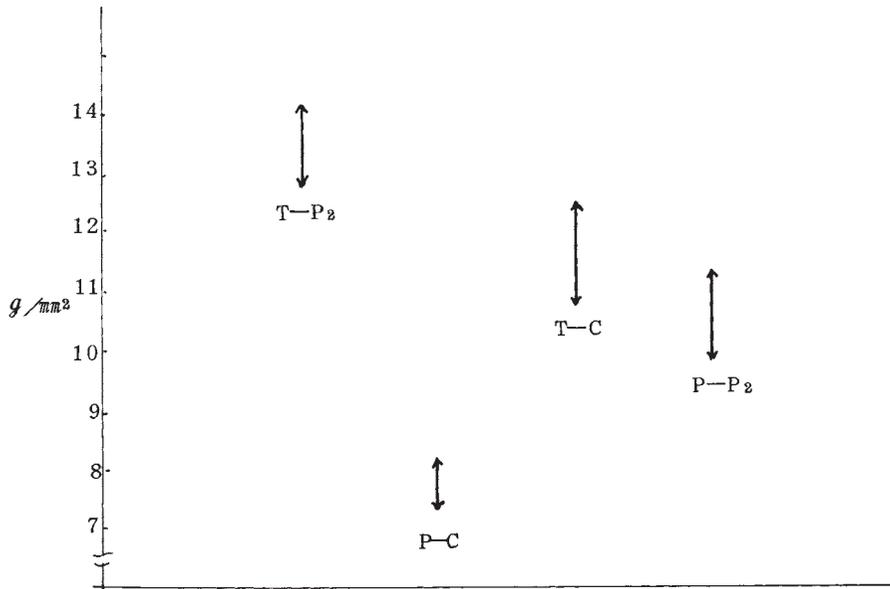


図 I - 5 ポロニアソーセージの硬さ

と畜血液たん白質の有効利用に関する基礎的研究

本事業に関連して本研究委員会の山内専門部会委員には並行して、表記標題の研究を独自に進めていただいている。

参考として、その概要を紹介しておく。

〔研究の目的〕

世界の人口増加に伴う蛋白質食糧の不足が懸念されている現在、畜産の領域でも畜産物の徹底的な利用を考える必要がある。家畜のと殺時に得られる血液は生産される肉の7.5～8.5%に相当する蛋白質を含んでいるが、現在、日本ではその95%が廃棄されている状況であり、血液蛋白質の有効利用法の開発はきわめて重要な課題である。血液蛋白質は鉄分を多く含むなど栄養価値に優れていることから、従来ソーセージ等の食品への増量剤として使用されることが多かった。しかし、そのすぐれた特性をとらえ、附加価値の高いものにすることができれば、保健食品、育児用食品などへの新しい利用の道も開けてくると考えられる。しかしながら血液蛋白質の性質については不明な点が多い。本研究では、血液より各種蛋白質（アルブミン、グロブリン、フィブリノーゲン、グロビン等）を単離し、その機能特性（乳化性、起泡性、脂質吸着性、ゲル化性および酵素による分解性等）を調べることにより、血液蛋白質の食品への新しい利用法を探ることを1つの目的としている。一方、集約化された畜産において高い生産性を維持するためには、動物薬による家畜の予防・治療が必須であるが、抗生物質をはじめとする多くの薬剤には食品への残留等の問題が指摘されている。血液は抗体のような生体防御物質やホルモンのような生体制御関連物質の目的臓器への運搬循環にも重要な役割を担っている。そこで本研究は血液中より有用な生理活性物質、特に感染症原因菌に対する特異抗体を単離し、これを受動免疫に用いる方法について検討することをもう1つの目的としている。これは感染防御因子を付与した初生獣代用乳（milk replacer）の開発や製剤化のための重要な基礎的知見を与えるものと考えられる。

〔研究計画および方法〕

- 1 牛あるいは豚の血液より、血清アルブミン、グロブリン、ヘモグロビンなどのたん白質を分画、単離する。

2. 単離した主要蛋白質の機能特性として、乳化特性、脂質結合性を測定する。乳化は植物性油脂を用い、攪拌式または超音波式乳化機によって行なう。温度、pH、塩濃度等などの要因を変化させ、機能性発現に最も適した条件を選択する。
3. 主要蛋白質を各種プロテアーゼによって分解し、それによる機能特性の変化を観察する。蛋白質の酵素分解による変化の追跡、限定分解ペプチドの同定は高速液体クロマトグラフとアミノ酸分析機を用いて行なう。
4. 血清より分画した免疫グロブリン画分における各種病原菌に対する抗体特異性を調べるとともに、その含有量を明らかにする。特に大腸菌群に対する特異抗体をアフィニティークロマトグラフィーで精製する。

〔研究担当者氏名〕

	氏名	所属研究機関・職	学位	役割分担
代表	山内邦男	東京大学・教授	農学博士	研究の総括
分 担	清水誠	東京大学・助手	農学博士	血液蛋白質の単離とその機能特性食品への利用
	栗崎純一	東京大学・助手	農学博士	血液中の生体制御関連物質の単離とその利用

Ⅱ ヘム及びグロビンの作成

Ⅱ-1 緒言

昭和56年度の研究においては、イオン交換剤であるカルボキシメチルセルロースを用いて、カラムクロマトグラフィー法によるヘモグロビンの脱ヘム法⁽¹⁾のプラント規模での実施条件の設定を行なった⁽²⁾。その結果として現在市販されているカルボキシメチルセルロース(CMC)の能力によるカラム法のみ依存する限り、その使用量が多く、グロビンの製造価格が高くなる欠点を避けられないことを認めざるを得なかった。

またグロビンの使用上の機能⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾に関しては、乳化性⁽³⁾、起泡性⁽³⁾、ゲル化性⁽⁸⁾、沈澱し易いたんぱく質の沈澱阻止性⁽⁸⁾などが見出されており、応用の範囲に期待がもてる。このような目的にグロビンを使用する場合に、どの程度まで脱ヘムをすれば実用に供して差支えないかを知ることが、グロビン製造上の経済性につながることも明らかである。したがってヘモグロビンの脱ヘム法を考える場合には、脱ヘムの度合を製造過程で自由に調節する技術にも考慮を払う必要がある。またヘモグロビンより遊離したヘム部分を経済的に回収し得ることができれば、医療原料としてヘム部分の回収は血液全体の有効利用上極めて重要な問題となる。

これまでに実施した脱ヘム実験中に、遭遇した2、3の現象の観察にもとづき、上記の諸点を配慮しつつ、新たな観点から脱ヘム法を考え、段階的脱ヘム法ともいうべき経済的脱ヘム粗グロビンの製造法に関し基礎的条件を設定した。

そこで本年度は段階的脱ヘム法について求めた基礎的条件の概要を紹介し、プラント規模を配慮して基礎的条件を適用したグロビンとヘムの試作例を報告する。基礎的条件の概要(Ⅱ-2~Ⅱ-5)については特許申請中である。

Ⅱ-2 使用した原料と実験方法

市販ヘモグロビン(T-Hb)と昨年度報告した方法によって調製した自製ヘモグロビン(S-Hb)を用いた。実質ヘモグロビン量はT-Hbでは78.5%、S-Hbでは92.8%である。ヘモグロビンのたんぱく質濃度は主としてLowry法⁽⁹⁾により、たんぱく質に結合するヘム濃度は、Soret帯の吸光度から求めた。

脱ヘム効果の判定はヘム残留率により、ヘム残留率は、ヘモグロビンのたんぱく質単位量あたりのSoret帯吸光度を100とし、脱ヘム処理後の溶液における

たんぱく質単位量あたりの Soret 帯吸光度の比率をもって表示した。グロビン回収率は処理前後におけるたんぱく質量の比率から計算した。

II-3 遠心分離法による脱ヘム効果

ヘモグロビン溶液に塩酸を加えて酸性にすると、ヘムとグロビンとの結合が切れるはずである。この溶液を遠心分離すると遊離したヘムの沈澱が得られる。

この時添加する酸としては、塩酸、硫酸の如き鉱酸が好ましい。酸の添加が適当であると、ヘムの分離が良好となるが、若し酸の添加が不十分か或は過剰に過ぎると、ヘムの分離を困難にしたり、グロビンの回収率が低下するもので、例えば塩酸を添加し、各種 pH のヘモグロビン溶液（食塩含量 0.012%, 0.002N）を調製し、遠心分離（19,700×G）を 15 分間行くと、表 II-1 に示す成績が得られる。

表 II-1

塩酸濃度 (N)	pH	ヘム残留率 (%)	グロビン回収率 (%)
0	7.60	100	100
0.005	4.48	100	100
0.01	2.67	57	98
0.02	1.96	38	97
0.05	1.66	34	96
0.08	1.39	43	90
0.10	1.26	43	91

但し、ヘモグロビンの液中濃度は 0.91%。

即ち、pH は 1.7~2.0 程度が最も好ましく、それ前後では何れもヘムの残留率が高くなり、得られた製品はヘム残留率が高くなるので注意を要する。

血液より調製したヘモグロビン溶液には通常若干の塩類を含む。この場合脱塩すると、ヘモグロビン溶液からヘムの分離が容易となるもので、今その例を示すと、脱塩した約 1% のヘモグロビン溶液と、塩を含む同濃度のヘモグロビン溶液を、塩酸を加えて pH 1.7~1.8 とし、遠心分離機を用いて、19,700×G で 15 分間分離し、ヘムの残留率を調べると表 II-2 のようになる。

表 II-2

条 件			ヘム残留率	グロビン(タンパク質)回収率
食塩濃度(N)	塩酸濃度(N)	タンパク質(%)		
0	0.05	0.79	33%	96%
0.005	0.05	0.79	35	95
0.01	0.05	0.79	36	97
0.05	0.05	0.79	37	98
0.10	0.05	0.79	37	99
0.40	0.05	0.79	34	81

即ち、ヘモグロビン溶液より遠心分離によるヘムの分離は、脱塩すれば若干有効であるが、0.005~0.01 N 程度の塩の存在はそれほど大きな影響がない。しかし0.05 N以上になるとヘムの残留率の上昇がおこり、0.4 Nになるとグロビンの回収率が低下するのでヘモグロビン溶液の塩濃度は0.01 N以下にするのが望ましく、そのために必要に応じイオン交換法又は透析法により脱塩する。

上記酸性とした脱塩ヘモグロビン溶液より脱ヘムを行うに当っては、遠心分離又は吸着による物理的分離を行うことができる。これらの分離手段は分離したヘムとグロビンの利用面により決定すべきで、ヘムが相当量残存してもよく、分離ヘムを利用する場合には単に遠心分離のみでよく、更にヘム残留率を少なくしようとする場合は活性炭等の吸着剤を使用するか、或は前記遠心分離で脱ヘムした溶液に吸着剤を添加し脱ヘムしてもよい。更に脱ヘムの度合いを高めることを希望する場合は、脱塩ヘモグロビンにその量の1/6~1/2のアスコルビン酸を添加し、吸着剤で吸着除去するとか、或はCMCカラムに通液し、精製して脱ヘムを完全ならしめてもよいものである。又ヘムは前記遠心分離により容易に回収することができる。

上記遠心分離により分離する場合は、遠心力が強ければ強い程良いが、実用的には、 $14,000 \times G \sim 20,000 \times G$ が使用される。

今、0.87%ヘモグロビン-0.05 N塩酸溶液(pH 1.7)を24時間おき種々の遠心力($2,500 \sim 32,600 \times G$)で15分間遠心分離した場合の例を表II-3に示す。

表Ⅱ-3

遠心力 (×G)	ヘム残留率 (%)	グロビン回収率 (%)
0	100	100
2,500	65	100
6,400	47	96
10,700	40	95
14,500	35	94
19,700	34	94
25,800	32	93
32,600	31	93

即ち10,700~32,600×Gの遠心力で15分間遠心すれば30~40%のヘム残留率のグロビン溶液が得られるが、上記遠心分離は適当な孔径の濾器による濾過に代えてもよいものである。但しヘムの除去効率は孔径によって異なり、遠心分離法より若干低下する。

また遠心分離の時間を長くすればヘム残留率をさらに減少せしめることができ、例えば14,500×Gの遠心力を与えた時間の長さによるヘムの残留率は表Ⅱ-4の通りである。

表Ⅱ-4

遠心時間 (分)	ヘム残留率 (%)	グロビン回収率 (%)
0	100	100
15	35	97
30	34	96
45	32	96
60	30	96

Ⅱ-4 吸着剤による脱ヘム効果

脱塩したヘモグロビンより、吸着により脱ヘムすることを希望する場合には、吸着剤として粉状又は粒状の活性炭或はカオリンを使用するのが好ましく、粉状活性炭を使用する場合は、酸性とした脱塩ヘモグロビン溶液を0℃~45℃の温度に保持し、1~24時間攪拌してヘムを充分吸着させ、遠心分離するか又は濾

過器で濾過するとよい。

今、脱塩した0.86%のヘモグロビン-0.05N塩酸溶液10mlとり、これに0~500mgの粉状活性炭またはカオリンを添加して10分間攪拌後20時間おき、遠心分離した結果を表II-5に示す。

表II-5

吸着剤		活 性 炭		カ オ リ ン	
添 加 量 (mg/ml)	液中Hbに対 する割合(%)	ヘム残留率 (%)	グロビン回 収率(%)	ヘム残留率 (%)	グロビン回 収率(%)
0(原液)	0	100	100	100	100
0(対照)*	0	37	95	35	96
1	10	31	95	32	96
3	30	27	95	30	96
6	60	25	87	28	95
10	100	23	87	25	95
15	150	20	88	25	94
20	200	18	84	23	94
30	300	16	77	23	89
50	500	13	66	20	84

* 20時間静置し、遠心分離したもの。

上表より判明するように、活性炭又はカオリンの添加量が増大する程ヘム残留率は低下するが、ヘモグロビン量の2倍以上の大量添加しても、大量添加による脱ヘムの著しい効果は期待できないし、グロビンの回収率が低下するので、ヘモグロビン量の2倍以下の量が常用される。

また遠心分離のみによる脱ヘムを行った場合は、ヘムを容易に回収することができる。その場合にはヘムを回収したのち、遠心分離上澄液に吸着剤を添加して、ヘム残留率をさらに減少させてグロビンの調製をすることができる。今、その例を表II-6に示す。但し、試験液としては1%ヘモグロビン-0.05N塩酸溶液を使用し、遠心分離は19,700×Gで20分間行い、吸着剤は上澄液に含まれる脱ヘムしていないタンパク質量の約倍量を添加し、24時間攪拌をつづけたのち遠心分離して吸着剤をのぞいた。

表Ⅱ-6

溶 液 の 処 理	ヘム残留率 (%)	グロビン回収率 (%)
もとの溶液	100	100
1日後遠心分離した上澄液	37	95
上澄液に活性炭を添加し遠心分離	21	88
上澄液にカオリンを添加し遠心分離	22	93
上澄液に酸性白土を添加し遠心分離	26	72
上澄液にペンナイトを添加し遠心分離	20	68
上澄液にアルミナを添加し遠心分離	30	93

上表より判明するように、遠心分離後種々の吸着剤を添加するとヘム残留率は減少する。

Ⅱ-5 アスコルビン酸処理及びCMC処理

上記の如く、酸性下で脱ヘムを行うと、ヘム残留率の少ないグロビンが回収できるものであるが、更に脱ヘムを希望する場合はアスコルビン酸量を1/6~1/2重量添加し、脱ヘムを行うとよい。

添加によりアスコルビン酸がβ-グロビンとヘムの結合を弱めるものと考えられ、例えば脱塩した3%のヘモグロビン水溶液40mlにアスコルビン酸634mgを添加し、更に塩酸を加えてpH2.0となし、これに600mgの活性炭を加えて攪拌吸着させると表Ⅱ-7に示す成績が得られた。

表Ⅱ-7

処 理	液 量 (ml)	蛋白質濃度 (%)	ヘム残留率 (%)	グロビン回収率 (%)
未 処 理	40	3.2	100	100
アスコルビン酸 添 加	49.5	2.4	6.3	92

即ち、ヘム残留率は一層低下するものである。アスコルビン酸を添加し、遠心分離したものを脱塩後CMCカラムで精製するとヘム残留率を2%程度に低下さ

すことも可能である。

II-6 脱ヘム後の処理

上記の如くして所望のヘム残留率としたグロビン溶液は、好ましくは加熱をさけて逆浸透濃縮器又は限外濾過器で濃縮し、10~15%のグロビン濃度となした後、必要に応じて脱塩してpH4.8の溶液とし噴霧乾燥或いは凍結乾燥により乾燥するか、或いは溶液をpH7~7.5まで中和して生ずる沈澱をあつめて乾燥する。得られた製品は白色又は黄褐色の粉末となる。

以上述べたように、ヘモグロビン溶液を酸性条件下におくと、グロビンとヘムを分離回収することが容易にできるもので、作業はすべて低温で実施できるから熱源を必要としない。又、ヘムは遠心分離のみにも50~60%が除去され、ヘムを容易に回収することができ得られたヘムは変性していないので薬品原料として使用することも可能である。又、所望のグロビン純度に応じ遠心分離・吸着・クロマトグラフィーを組合せてヘム残留率を減少させることができる。

II-7 粗グロビン及び粗ヘムの試作

前項までに検討したグロビンとヘムの製造条件を参考とし、市販ヘモグロビンおよび自製ヘモグロビン(純度91.2%)について粗グロビンおよび粗ヘムの試作を行い、また遠心法、吸着法とCMC法を組合せて精製段階を進めた試作を行った。

7・1 市販ヘモグロビンを原料とした試作

表II-8に記載したように市販ヘモグロビンの所定量を採取し、4~5%の濃度で塩酸を加えてpH1.7とした。静置後、12800×Gの遠心力で遠心分離し、分離ヘムを水で洗浄し凍結乾燥した。上澄液にヘモグロビン量の150~200%のカオリンを添加し(1回に全部添加した場合と2回に分けて使用した場合がある)、攪拌後同じ遠心力で遠心分離して吸着剤を分離した。得られた上澄液は水酸化ナトリウム溶液でpH4.8~5.2に中和し、水に対して透析し、存在する塩化ナトリウムを除去した。その後、限外濾過濃縮して凍結乾燥した。表II-8の補正収率は原料の純度から計算した収率である。ヘム残留量はヘム残留率から計算によって求めた。繰返し試作した場合の要項と分析値は、表II-8にまとめて示した。

表Ⅱ-8 市販ヘモグロビンよりの試作

試作番号 (No.)	1	2	3	4	5	6
使用ヘモグロビン量(g)	40	40	40	40	40	50
遠心分離後のヘム残留率(%)	37	36	36	38	45	63
ヘム回収率 (%)	5	5	5	5	4	5
カオリン添加量 (%)	100	150	200	200	200	100
カオリン分離後のヘム残留率	28	25	20	24	25	31
再度吸着剤処理添加量 (%)	カオリン 50	カオリン 50	—	—	—	活性炭 100
備考						アスコルビン酸 30%
処理後のヘム残留率 (%)	21	20				19
中和・透析・濃縮凍結乾燥	No.1, No.2, No.3をあつめて実施			No.4とNo.5をあつめて実施		透析チューブ不全
粗グロビン収率 (%)		57.8		58.8		40.4
同 補正収率 (%)		70		71		51
計算ヘム残留量 (%)		0.75		0.90		0.68
水分 (%)		5.0		4.8		—

回収された粗ヘムは使用ヘモグロビン量から計算したヘム量より多いので、ヘモグロビンが混在しているものと考えられる。

試作番号No.5とNo.6には操作の不手際があったので、それらを除けば、第1段階でヘム残留率は36~38%、第2段階で20~25%で、補正収率は約70%であった。

7・2 自製ヘモグロビンを原料とした試作

本実験に用いたヘモグロビンは、その純度91.2%である。粗グロビン試作法の概要は、市販ヘモグロビンの場合と同じであるが、吸着剤の使用量は、試作番号No.1とNo.4を除いて、ヘモグロビン量の100%に相当し、No.1では活性炭を用い、No.4とNo.7ではカオリンと活性炭を併用した。繰返し試作した場合の要項と分析値は、表Ⅱ-9にまとめて示した。

表Ⅱ-9 自製ヘモグロビンよりの試作

試作番号(№)	1	2	3	4	5	6	7
使用ヘモグロビン量(%)	47	40	40	20	40	20	20
遠心分離後のヘム残留率(%)	49	32	25	26	31	31	31
ヘム回収率(%)	—	7	7	7	6	6	—
活性炭添加量(%)	64	0	0	0	0	0	50
カオリン添加量(%)	0	100	100	100	200	100	100
吸着剤分離後のヘム残留率(%)	27	17	15	15	14	17	14
再度吸着剤処理 添加量	活性炭 64	—	—	活性炭 100	—	—	—
備考				アスコルビン酸 100			
処理後のヘム残留率(%)	19	—	—	9.4	—	—	—
中和・透析・濃縮 凍結乾燥	透析 不完全			中和で 不手際あり			
粗グロビン収率(%)	72	68	76	53	78	78	74
全補正収率(%)	77	70	80	55	80	82	77
計算ヘム残留量(%)	0.71	0.61	0.56	0.55	0.51	0.63	0.53
水分(%)	—	5.0	3.6	—	6.5	4.1	—

本実験で試作番号№2ではカオリン添加前に170Wで7分間の音波処理を、試作番号№5の第1段階でのヘム分離前に150Wで5分間の音波処理を行なって、しないものと比較したが、音波処理の効果は全く認められなかった。

この場合も回収された粗ヘムは使用ヘモグロビン量から計算したヘム量より多いので、ヘモグロビンが混在しているものと考えられる。

試作番号№1は連続ローターによる遠心分離例で第1段階でのヘム残留率は高い。しかし吸着剤を使用した後に最終的にヘム残留率を19%にすることができた。№1を除けば第1段階でのヘム残留率は25~31%、第2段階でのヘム残留率は14~19%で、補正収率は70~82%であった。№4は中和操作で不手際があったため、収率が低下した。

7・3 吸着法とCMC法の組合せによるグロビンの試作

吸着法で脱ヘム後に、著者らの考案したカルボキシメチルセルローズ(CMC)⁽¹⁾によるカラムクロマトグラフィー及び昨年度検討したプラント用CMC法⁽²⁾を実

施して、粗グロビンを精製する段階を組入れて試作実験を行なった。

ヘモグロビンとしては市販品と自製品とを用いた。第1段階で粗ヘム回収を行ない、第2段階でカオリンまたは活性炭によって脱ヘムした。CMC法の効果をあげる意味もあって、第1段階、第2段階あるいは試料液をCMCカラムに入れる前の段階でL-アスコルビン酸をヘモグロビン使用量の50~300%使用した。CMCは安全率を考え、ヘモグロビン使用量に対し120~300%使用した。試料液すべてを1回でCMCカラムに通した場合、試料液とCMCを2~3回に分けて処理した場合を実施した。溶出法は主として実験室的方法⁽¹⁾に準拠した。なお使用したカラムの直径は4cm、流出速度はプラント用CMC法の検討⁽²⁾にもとづき、 36ml/hr cm^2 とした。流出液をあつめた後、溶液は中和、透析、濃縮を行ない凍結乾燥した。実験結果は表II-10にまとめて示した。

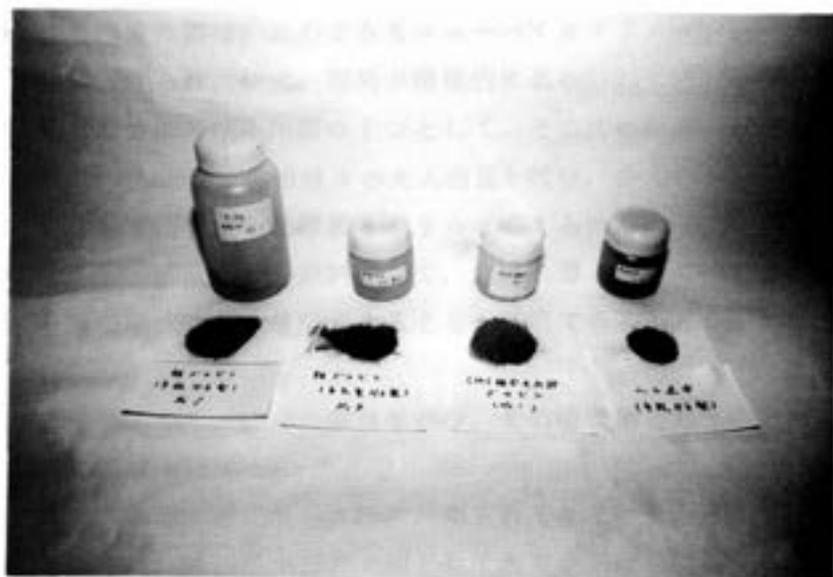
表II-10 吸着剤法とCMC法との組合せによる試作

試作番号 (No)	1	2	3	4
原料ヘモグロビンの種類	市販品	市販品	自製品	自製品
ヘモグロビン使用量 (g)	20	40	15	20
第1段階アスコルビン酸 使用量 (%)	100	0	0	0
遠心後ヘム残留率 (%)	30	33	31	26
吸着剤の種類	カオリン	活性炭	カオリン	カオリン
吸着剤添加量 (%)	150	125	100	100
第2段階アスコルビン酸 使用量 (%)	0	100	0	0
吸着剤分離後ヘム残留率 (%)	15	9.3	14	15
第3段階アスコルビン酸 使用量 (%)	0	0	66	50
CMC使用量 (%)	300	200	125	250
使用方法	3回分割	2回分割	1回	1回
CMC処理後の ヘム残留率 (%)	8.7	8.8	7.3	5.5
中和・透析・濃縮 凍結乾燥				失敗して 全液損失
粗グロビン収率 (%)	36	38	74	—
全補正収率 (%)	46	48	81	—
ヘム残留量計算値 (%)	0.32	0.32	0.27	0.20

CMC法実施後のヘム残留率は4回試作の結果は5.5～8.8%であった。試作番号№2では吸着法後のヘム残留率が低く、CMC法実施後のヘム残留率が低下せず、操作上の失敗があったものと判断した。試作番号№4ではCMC法による脱ヘム効果がよく、ヘム残留率を5.5%まで低下できたが、濃縮中に全液をこぼして製品が得られなかったのは極めて残念であった。CMC法では厳密な条件を厳密に守れば、ヘム残留率を2～3%にすることは可能である。しかし大量処理となると技術上の困難さがともなってくる。したがって大量処理ではグロビン回収率が悪くなり易い。CMCの専門メーカーの期待としては、さらに高能率のCMCを製造することも夢ではないそうである。今回は従米市販されているCMCを用いたが、それでも試作番号3のようによい試作結果を得たのは、大成功であったと言えよう。

なお、写真(図Ⅱ-1)は試作品の1部を示したものである。

図Ⅱ-1 試作ヘム粉末およびグロビン粉末



引用文献

- (1) Sato, Y. et al.: J. Food Technol., 16, 81 (1981)
日本ほか5カ国特許申請中
- (2) と畜血液有効利用に関する総合プログラム作成事業報告書, p.130~150
(1982)
- (3) Jybor, P.T. et al.: J. Food Sci., 40, 155 (1975)
- (4) Crenwelge, D.D. et al.: J. Food Sci., 39, 175 (1974)
- (5) Knapp, F.W. et al.: J. Food Protection, 41, 257 (1978)
- (6) Penteadó, M.D.V.C. et al.: J. Sci. Food Agric., 30, 809 (1979)
- (7) Caldironi, H.A. and Ockerman, H.W., : J. Food Sci., 47, 405
(1982)
- (8) Hayakawa, S. et al.: J. Food Sci., 47, 1415 (1982)
日本特許申請中
- (9) Lowry, O. H. et al.: J. Biol. Chem., 193, 265 (1951)

Ⅲ 血液成分の微生物大量培養への応用

Ⅲ-1 緒 言

将来の食糧問題、さらには現在の大豆粕などの飼料を輸入にたよっている我が国の状況を考えると、微生物たん白（SCP）の生産は、重要な技術である。しかしながら、原油の値上がりにより、炭化水素系の原料からのSCP生産は、経済的に困難となり、また安全性の面でも問題があるとされ、現在は暗礁に乗り上げたかっこうである。

最近、セルロース性資源からのバイオマス生産が各国で盛んになってきているが、資源に乏しい我が国においても、食品工業廃液、都市廃棄物や農産廃棄物の再生利用の検討を強力に推進すべきであろう。

また、最近のバイオテクノロジー技術の著しい発展により、微生物による種々の生理活性物質生産や微生物機能を利用したバイオリクター技術などが注目されている。

微生物の大量培養技術は、このようなニューバイオテクノロジー分野での基盤技術の1つと位置づけられ、研究、開発が積極的に進められている。

微生物の大量培養における問題の1つとして、そのための原料確保が挙げられる。

動物の血液は、アルブミン等の種々のたん白質を始め、多くの有機成分を含み、微生物の栄養源として、有効な資源になりうると考えられる。

以上の考えから、血液成分を原料として、加熱処理を行って得られた血液凝固物を用いて、各種の微生物を大量培養することが可能であるかどうかについて検討を行った。

代表的な微生物として、酵母の細菌を選び、その培養基としての血液成分の利用について種々の検討を行った。

微生物の中で、酵母は古くから人類に利用されてきており、その中でも、サッカロミセス属の酵母は、醸造用や製パン用として古くから食用に供されてきており、安全性の面でも最も信頼がおける。

酵母の工業的利用は、醸造、製パン、飼料および食糧用のみならず、核酸の原料、ビタミンB・ユビキノロン・グルタチオンなど医薬品の生産、酵素の生産など多岐にわたっており、酵母の機能を利用した新しい技術が今後どんどん工業化してくることが考えられる。

また、近年脚光をあびてきた遺伝子組み換え技術による各種物質の生産においても、宿主としての役割りが重要視されている。

これらのことから考えると、血液成分を用いて微生物菌体の生産を検討するにあたって酵母、特にサッカロミセス属の酵母（代表的なものが *Saccharomyces cerevisiae* である）を選ぶことは有意義なことと考えられる。

また、発酵プロセスの操作性の向上や、最近脚光をあびているバイオリクターとしての利用という点で、好熱性細菌が注目されている。

さらに、一般に酵母に比べて細菌は、蛋白質の分解能が高く、血液成分を有効に利用できることが期待される。

そこで、好熱性細菌の代表として、土壌より分離した *Bacillus stearothermophilus* に属する菌を用いて、血液成分の有効利用の可能性を検討した。

Ⅲ-2 血液成分による培養の管理システムについて

微生物の培養による発酵生産においては、微生物の生育状態や発酵の状態及び種々の環境条件の変動を計測・管理する必要がある。

特に菌体生産においては、微生物の生育速度及び菌体の収量が生産の目的であり、増殖速度・菌体量の測定は必須のことである。

菌体量の測定は、乾燥菌体重量（培養液中の固型物の乾燥重量）、濁度、たん白質、DNA量、ATP量の測定等が行われているが、濁度を測定し、乾燥菌体重量に換算する方法が迅速、簡便な方法として広く用いられている。しかしながらこの方法は、固型分や濃色の着色物質を含んだ天然培地には使えない。つまり、血液成分による培養には使えない。そこで、本研究にあたっては、加熱滅菌により変性凝固した血液成分沈澱物を含む培養液中の菌体量及び微生物の増殖速度をどのように評価するかということが重要な問題となる。

微生物の生育と密接に関係している代謝経路による反応を一次代謝と称するが、そのうち分解代謝系いわゆるカタボリズムの反応生成物の生成量を分析することによって、微生物の生育速度を測定しようという考え方がある。その代表的なものに炭酸ガスの分析による生育活性の測定法がある。すなわち炭酸ガスは、糖の主要な分解経路である解糖系とそれに続くTCA回路から発生する代謝物であり、その発生速度は、生育速度と密接な関係にある。それゆえ、炭酸ガスの発生速度及び量を測定することによって微生物の生育速度と菌体量を推算できるとするものである。

炭酸ガスの分析方法としては、赤外吸収を測定する方法、ガスクロマトグラフィーによる方法、炭酸バリウムの沈澱をつくらせその重量を測定する方法、水酸化カリウム等強アルカリと反応させその pH 変化を測定する方法及びマススペクトル分析による方法等が考えられる。マススペクトル分析による方法は、呼気ガスのモニタリングを目的として医療用で使われている例がある。ガス中の炭酸ガス分圧を測定するための非分散赤外吸収法を原理とした炭酸ガスの分析計が開発されているが、従来は水分の妨害が大きく、発酵用には適用が困難であった。しかし最近では、水分の影響をさほど受けない精度のよい分析計が市販されるようになっており、しかも、比較的安価で手に入るようになってきた。

近年、こういう状況を背景として、排ガス中の成分分析による発酵のモニタリング及び制御という考え方や手法が生物化学工学の分野で発展してきた。

パン酵母の培養において、排ガス中の炭酸ガスと酸素濃度をガス分析計で測定し、炭酸ガス発生速度と酸素吸収速度（摂取速度）の比（呼吸商 = RQ ）を計算し、それをもとにして糖の添加速度を制御する方法を始めとして種々の研究が試みられてきている。

米国マサチューセッツ工科大学のワンらは、ミニコンピュータ PDP-11/10 と発酵槽を連結したものをを用い、出口ガス酸素分圧、同炭酸ガス分圧、廃糖密添加速度、アンモニア添加速度、溶存酸素濃度、pH、温度などを読みとり、 RQ による制御さらには、アンモニア添加速度、呼吸速度（ガス分圧より計算）から物質収支にもとづいて増殖速度を推定する実験を行った。微生物の増殖や発酵の状態と密接な関係にある呼吸速度をモニタし、かつデータを処理することにより、微生物の生育状態を推定し、培養の制御に役立てようとするものである。これはいわゆるオンラインリアルタイム計測制御を行おうとするものであり、その実現のためには、安定で正確な分析ができるガス分析計とデータ処理及び制御のためのコンピュータが必要である。

最近のマイクロエレクトロニクス分野の驚異的な発達により、高性能で小型のパーソナルコンピュータといわれる卓上型コンピュータが安価で手に入るようになり、手軽に利用できるようになった。

そこで、我々は、産業用のパーソナルコンピュータを用いた微生物培養計測制御システムの開発を行い、排ガス分析のデータから微生物の生育状態を推定することを試みた。

この方式は、血液成分を培地とした微生物の培養において、きわめて有効な方

式であり、これにより、血液成分が微生物の生育に及ぼす効果を迅速簡便かつ正確に検討することが可能となった。

図Ⅲ-1に本培養システムの概要図を示す。温度・pH・溶存酸素分圧・酸化還元電位・圧力等を各センサーで測定して適当な電圧値に変換した後、それぞれの値をアナログ/デジタル変換装置によりデジタル化を行い、パーソナルコンピュータ(16ビット, 制御用)に入力した。さらに、温度・pH等の環境条件については、それぞれ、ヒーター出力と冷却水電磁弁の開閉、酸・アルカリ添加をコンピュータからの出力により制御できるようにしている。また、従来の制御方法では難しいとされていた溶存酸素分圧についても攪拌速度や通気量(熱伝導式質量流量制御計にて計測・制御)をコンピュータにより制御することにより、精密な制御が可能となった。また、入力したデータ及び出力した値は、カセット磁気テープに保存しておくことができる。入力したデータを演算して、その結果を制御にフィードバックすることもできる(例えば、炭酸ガス分圧と酸素分圧からの呼吸商の算出など)。その他、CRTディスプレイ上への途中経過の表示(特に血液成分による培養管理上重要な菌体量の推定値を時々刻々に表示)や、キーボードや入出力制御装置を利用した設定パラメータの初期設定や途中変更ができるようになっている。なおカセット磁気テープに保存したデータは、実験終了後、X-Yレコーダを使って経時変化等をグラフ化することができる。

Ⅲ-3 酵母の培養試験

酵母の増殖に及ぼす諸条件の影響について知るために酵母を種々の方法、条件で培養した。

ここで用いた酵母はパン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* IFO 2044株である。菌株の培養は、500ml容振盪フラスコおよび2ℓ容ジャーフェーメンタさらには14ℓ容ジャーフェーメンタを用いて行った。ジャーフェーメンタによる通気攪拌培養システムについては先に図Ⅲ-1に示した。

培養方法について述べると、まず表Ⅲ-1に示す培地を調製して、500ml容振盪フラスコに100ml宛分注した。そのフラスコを、120℃、15分間滅菌した。この培地に酵母をスラントより一白金耳接種し、30℃、1日間振盪培養を行ったものを種培養液とした。これを本培養培地に接種するに際しては、まず遠心分離し、菌体を集めてそれを蒸留水に懸濁したものを2%宛接種するという方法をとった。本培養温度は30℃で行い、ジャーフェーメンタによる通気攪拌培養に

ついては、前章で述べたシステムを用い、pH 5.0—5.2 に制御して行った。炭酸ガスの蓄積量、呼吸商等より菌体を推定し、適宜、濁度、乾燥菌体重量、菌数を測定した。

次に、種々の培地条件で、酵母を培養した。まず、グルコースを単一炭素源とした基本培地で培養を行った。培地組成を表Ⅲ—2に示した。その結果は、図Ⅲ—2に示したように、生育は悪かった。

次に、実験室的に酵母の培養基としてよく用いられるMY培地を用いて、培養を行った。この培地組成は、種培養に用いたものと同じで表Ⅲ—1に示したとおりである。培養結果は図Ⅲ—3に示したとおりであり、グルコースを単一炭素源とした基本培地に比べると、生育は著しく良くなった。

以上のことから、この酵母の生育においては、基本培地の組成以外に、ビタミン類や、微量元素が増殖促進作用を示すのではないかと考えられる。フラスコによる振盪培養実験によって、酵母の増殖に及ぼす培地成分の影響について検討した。

因子としてとりあげたものは、グルコース、硫安、リン酸1カリウム及び微量元素、各種ビタミン類の添加量である。微量元素及びビタミン類の種類、量については、Wickerhamの合成培地の組成を参考にした。このように、多くの因子の効果について、少ない実験回数で明確かつ信頼しうる推測を行うために、実験計画法に基づいて実験計画を立て、分散分析法により、結果の統計的な解析を行った。

実験計画については、次に示すとおりである。因子として9種類のものを選び出した（ビタミン類は数が多いので、ふたつを組み合わせると一つの因子とした）。各因子につき3つの水準を定め、量的な効果を検討することにした。こうすると、実験計画法でよく用いられる直交表による割り付けとしては、 $L_{27}(3^3)$ 直交表を用いて実験計画を組み立てることができる。

以上のようにして実験を行い、36時間目の濁度の値（菌体収量を表わす）を求め、解析結果を表Ⅲ—3に示した。それによると、ビオチン及び葉酸の組み合わせについては、著しい増殖促進効果が認められ、パントテン酸・ニコチン酸の組み合わせについても、増殖に影響を及ぼしていると考えられた（以上のことは、表でF値及び寄与率の値から判断した）。ビオチン・葉酸の効果（ビオチンの効果が主と思われる）については、F検定によっても、統計的にはっきりとした効果があると結論され、パントテン酸・ニコチン酸の効果についてもそれに近い値で

ある。ビオチンの量に対する濁度の応答（各水準での平均値を中心としたもの）及び、パントテン酸・ニコチン酸の量に対する応答を図Ⅲ-4, 図Ⅲ-5に示した。

以上の結果をもとにして、合成培地（ビタミン等生育促進因子を含む）の培地組成を決定して、その結果を表Ⅲ-4に示した。この培地組成を用いて、酵母の培養を行ったところ、図Ⅲ-6に示したように基本培地に比べ菌体収量は大きく向上したが、MY培地に比べると少し低かった。

図Ⅲ-7~8から明らかなように、MY培地及び合成培地（ビタミン含有）での酵母の増殖曲線は、どちらの場合でも二本の直線が得られ、二つの増殖相があることが示唆された。比増殖速度（単位菌体当たりの増殖速度で、1g菌体当たり、1時間の菌体増殖量を μ 〔 hr^{-1} 〕で表わすことがよく行われている。 μ の値は、直線の傾きから求められる）は、MY培地での生育については、最初の増殖相が、 0.26 hr^{-1} で、後の増殖相が、 0.08 hr^{-1} であった。合成培地での生育については、それぞれ 0.20 hr^{-1} と 0.08 hr^{-1} であった。さらには、残存グルコース濃度の変化から、増殖曲線の変曲点近辺でグルコースがほぼ消費されていたので、最初の増殖相は、グルコースの消費によるものであると理解された。

これまでの、天然培地及び合成培地での酵母の生育について検討の結果から、グルコースを単一炭素源としたC,N,P, Mgのみの基本培地では、酵母の生育は悪く、ビタミン類等が生育促進効果を有することがわかった。また、ビタミン等を添加した合成培地での生育よりも、天然培地での生育が良かったことから、天然培地には、まだ他の生育促進因子が存在していることが考えられた。血液成分を培養基とした場合、血液成分中にそれらの生育促進因子が含まれている可能性もあり、場合によっては、有効な資源となりうる可能性が示唆された。

Ⅲ-4 血液成分による酵母の培養

血液成分を主体とした培地を調製した。用いたものは、豚の全血液である。これを蒸気滅菌器において、 120°C 、30分間加熱滅菌した。変性凝固してゲル状になったものをホモジナイザーで攪拌混合して、試料とした。

酵母の培養は、前節と同様に500ml容振盪フラスコによる振盪培養およびジャーフェーメンタによる通気攪拌培養法を行った。温度は 30°C で、pHを5.0-5.2に制御した。先に述べたパーソナルコンピュータによる計測制御培養システムにより、排ガス中の炭酸ガスの発生量を求め、増殖及び菌体収量を推定した。適宜、菌数の測定、およびグルコースの測定（グルコースオキシダーゼによる）

を行った。フラスコによる振盪培養の場合には、菌体収量は、希釈平板培養法で菌数を測定することにより算出した。以上のようなシステムで種々条件を変えて酵母の培養を行った。

単に、血液凝固物を蒸留水で希釈した培地では、酵母の増殖は、ほとんどみられなかった。血液凝固沈澱物にグルコースを添加した培地においては、少し増殖がみられた（図9に示した）。

この酵母は、先に示したように、ビオチン等のビタミンが増殖促進作用を持っており、グルコース・硫安の基本合成培地では増殖が悪かった。そこで、グルコースの他、ビタミン等を添加した培地で培養したところ図Ⅲ-10に示したように、基本培地に比べると増殖は良くなり、菌体収量も向上した。しかしながら、グルコース・硫安を主体とした合成培地（Wicherhamの合成培地を参照して、実験計画法等による培養試験で培地組成を決定したもの）での培養結果に比べると、菌体収量は少し低かった。また、1ℓあたりグルコース10g、麦芽エキス3gを添加した培地に血液凝固物を乾物重量に換算して8g相当量を加えたものを培養基として用いると、図Ⅲ-11に示したように単にグルコースを添加した培地よりも、菌体収量は向上した。しかし、ビタミン添加培地に比べると、成績は悪かった。

さらに、フラスコによる振盪培養実験によってグルコース・血液成分培地での全血液凝固物の量を変えて実験を行ってみた。それによると図Ⅲ-12に示したように血液の量を多くすることによって、最終培養液中の菌数は多くなり、消費されたグルコース量が多くなる（残存グルコースの量が少なくなる）ことがわかった。

以上、全血液凝固物を酵母の培養基として用いる場合、それのみを培地成分として用いるというよりも、窒素源あるいは、補助炭素源として用いるべきであるということになる。

酵母は一般に血液たん白を分解し、菌体内にとり込んで利用する能力がないか、あるいは弱いということが考えられる。そこで、血液たん白を酵母に有効に利用されるようにするためにあらかじめ血液を酵素で加水分解したものを培地成分として用いるということ考えた。

酵素としては、膵臓から分泌されるたん白分解酵素トリプシンを主成分とした加水分解酵素である。パンクレアチン（粗酵素標品）を用いた。全血液（場合によっては血漿を用いた）凝固物に、蒸留水を適量加え、pH 8に調製した。それに酵素を加え37°Cで約20時間攪拌しながら反応を行なった。このようにして

得られた血液加水分解物に、グルコース、無機塩（リン、マグネシウム等）を加えた培地を調製して、酵母を培養した。

図Ⅲ-13から明らかなように非常に良好な生育を示し、菌体収量も大きかった。各種ビタミンを添加しなかった場合、添加した場合に比べて、生育速度、および菌体収量は低かった。しかしながら、両者とも、前節で述べた比較のための酵母の培養試験において、最も成績の良いMY培地には及ばなかったが、ビタミンを含んだ合成培地での培養における菌体収量を上まわっていた。つまり、血液を酵素で加水分解したものは、酵母の増殖促進効果という点で、ペプトンや酵母エキスに相当するような効果を有することが示唆された。

血液成分を酵母の培養基として利用する場合、主炭素源としての利用、副炭素源としての利用、窒素源としての利用、ビタミン・アミノ酸等の増殖促進物質としての利用などの各種の形態が考えられる。酵母の菌体生産においては、一般に糖質の原料が使われている。そこで、血液成分が主炭素源あるいは単一炭素源として、糖質原料と同じように利用され得るかについて検討した。

まず、グルコースに対して血液水解物の添加量を変えて培養を行ってみた。1ℓあたり、グルコース10gに対して、血液水解物を血液成分乾物重量換算で、4gから8gに変化させたが、図Ⅲ-14に示したように生育および菌体収量ともほとんど変わらなかった。同様にフラスコによる振盪培養でも、残存グルコース量、菌数ともあまり変わらず、添加量の増加の効果は認められなかった。

次に、血液水解物を主成分とした培地組成で培養を行なったところ、未処理血液凝固物を用いた場合に比べると、生育、菌体収量ともやや良かったが、グルコースを加えた培養基での培養成績に比べると良くなかった（図Ⅲ-15に培養結果を示した）。

一般に、酵母の増殖においては、培地組成中の炭素と窒素の割合（C/N比）が大きく影響しており、窒素成分が過剰になり、C/N比が小さくなりすぎると、生育や菌体収率が悪くなるといわれている。このことと、先に述べた実験結果を考慮すると、血液水解物は糖質にかわる主炭素源、あるいは、単一炭素源としての利用よりも、副炭素源及び窒素源あるいは、増殖促進物質としての利用の方が効果的であるといえる。

また、血液成分として全血液のかわりに血漿を用いた場合について、フラスコによる振盪培養を行なって、全血液の場合と比較検討した。それによると図Ⅲ-16に示したようにグルコースの消費量及び菌数から判断される生育の度合は、全血

液と血漿ではあまり差がないか、あるいは血漿の方がやや上まわる程度であった。

以上、血液成分の酵母菌体生産への利用の可能性について、種々検討を行った結果を総合すると、次のようなことがいえる。

一般に、たん白質分解能が弱く、炭素源として、糖質の原料が主体である酵母（この場合サッカロミセス属の酵母）において、血液成分をそのまま培養基として用いることは、酵母による血液成分の資化能や、固液分離などの後処理プロセスを考えると、あまり好ましくはない。そのため、グルコース等の酵母が利用しやすい糖質原料を加え、血液成分は窒素源あるいは副炭素源として、用いることが望ましいといえる。

血液を酵素などで加水分解することにより、酵母による血液成分の利用性は、大きく向上する。血液の酵素水解物を培養基に加えると、酵母の培養実験によく用いられるペプトン等と同等、または、それに近い生育成績を得ることができた。また、加熱滅菌処理により、変性凝固した血液成分も、酵素処理等により、低粘性の液体となるので、培地として不溶成分を含まず、培地の調製および培養液の後処理（酵母菌体の分離、発酵槽の洗滌等）の操作性も向上すると考えられる。

また、培地組成中のC/N比が低下して、窒素過剰、あるいは、炭素源飢餓の状態にならないように糖を加えてやれば、菌体収量の向上が計れる。

このように、そのままでは酵母の培養基としてあまり有効でない血液成分も、酵素処理等を行なうことにより、窒素源や副炭素源などとして、有効に利用できる資源であると結論される。

Ⅲ-5 細菌の培養試験

土壌より分離した好熱性細菌（*Bacillus stearothermophilus*）の増殖の特性を調べるための実験を行なった。

培養方法は、酵母に準ずるが、培養温度は55℃で、pHは6.8-7.2の範囲で行なった。種培養は、ペプトン・酵母エキス・グルコースの培地で行なった。植菌液の調製は、酵母と同様の方法で行なった。

先に述べたように、微生物の生育および菌体収量の変化というものは、微生物の炭酸ガスの発生量から推定することができる。ここでとりあげた細菌の培養においてもそのことがあてはまるかどうかを検討した。

培養基としてブイヨン培地（肉エキス1%、ペプトン1%、NaCl 0.5%）を用いて細菌を培養した結果を図Ⅲ-17に示した。ここで菌体収量の変化は濁度

を測定することにより追跡した。濁度と乾燥菌体重量との関係を別に求め、濁度の値を乾燥菌体重量に換算した。乾燥菌体重量の値は、培養液より菌体を集菌して洗浄後、110℃で20時間乾燥した後の重量を測定することにより求めた。

炭酸ガス分析計により、排ガス中の炭酸ガス分圧を測定した。その値をパーソナルコンピュータに入力し、通気量の値から単位時間当たりの炭酸ガスの発生量（ l 単位）を計算した。さらに、その値を培養経過時間ごとに積算していくことにより、培養時の炭酸ガスの総発生量（ l 単位）を計算した。その結果により、菌体収量のシミュレーションを行なったものが図Ⅲ-17に示した曲線である。これによると、炭酸ガスの発生量により計算した菌体収量の変化は、先に述べた方法で測定した乾燥菌体重量の値の変化とよく一致した。

以上の結果から、細菌の培養においても、菌体収量は、炭酸ガスの総発生量を計算することによって表わすことができた。

以下この方法により、菌体収量を表示する。次に、培地条件を種々変えて、細菌の増殖特性を検討した結果について述べることにする。

本菌は、炭酸源としてグルコース、窒素源として硫酸、その他リン酸1カリウム、硫酸マグネシウム等、無機塩を添加したいわゆる合成培地では、生育は非常に悪く、菌体収量も低かった。また、炭素源としてでんぷんを主体とした天然培地でも、図Ⅲ-19に示したように植菌後、増殖が立ち上がるまでの時間が長かった。Nutrient broth（ブイヨン培地—肉エキス10g、ペプトン10g、NaCl5g、蒸留水1l）及び、ペプトン—酵母エキスの培地（ペプトン15g、酵母エキス5g、NaCl5g、蒸留水1l）で培養すると、それぞれ図Ⅲ-17、図Ⅲ-18に示したように良く生育した。

Ⅲ-6 血液成分による細菌の培養

酵母の場合と同様に、血液を加熱滅菌した凝固沈澱物、及びたん白分解酵素による加水分解物を培地成分として、細菌の培養を行なった。方法は、ジャーファーマンタによる通気攪拌培養及びフラスコによる振盪培養の各方法で行なった。温度等の条件については、前節で述べたとおりである。血液成分の添加量としては、酵母の場合と同様、乾物重量に換算して添加量を決定した。

ペプトン培地、あるいはブイヨン培地での培養結果と比較するために、血液成分（乾物15g相当）に対して、酵母エキスを5g加えたもの（蒸留水1l当たり）及び血液成分（乾物20g/l相当）に対して、酵母エキスを1g/l加えた

ものを培地として細菌を培養した。これによると、酵母エキスを5g/l加えた培地での生育、菌体収量については、ペプトン・酵母エキスの培地に比べても遜色がなかった。菌体収量については、ブイオン培地を上まわった(図Ⅲ-20)。しかし、酵母エキス1g/l添加の培地については、生育はあまり良くなかった。菌体収量については、5g/l添加の培地での成績に比べて10分の1以下であった(図Ⅲ-21)。

以上のことから、酵母エキス中の成分が、この細菌の増殖を促進させる働きをもち、それにより、ある程度の生育がおこると、血液たん白を分解して菌体にとりこみ、さらに増殖を続けるという増殖機構が推定される。

そのため、血液成分とともにグルコース、グルタミン酸ソーダを添加した培地で培養を行なってみた。グルコース-血液成分の培地では、生育はほとんどみられなかった(本菌はグルコースを炭素源とした合成培地での生育が悪いということは前に述べたとおりである)。しかしながら、グルタミン酸-血液成分の培地では図Ⅲ-22に示したようにある程度の生育がみられた。20時間での菌体収量は、酵母エキス-血液成分の培地に比べると低い値であった。

次に、酵母の培養において、全血液凝固沈澱物をたん白分解酵素で加水分解したものが、生育に良好な効果があったことから、この細菌の培養においても、血液の酵素水解物が、酵母エキス等のかわりに培地成分として、使えるのではないかと考えた。そこで、酵母エキスを酵素水解血液で代替した培地、すなわち全血液(凝固沈澱物)-酵素水解血液混合物を培養基として、細菌の培養を行なった。その結果を図Ⅲ-23に示した。すなわち立ち上がりの増殖速度は、ブイオン培地に比べて遅いが、20時間での菌体収量については、ほとんど同じかやや上まわるほどであった。血液の酵素加水分解物は、この細菌の培養基として酵母エキスの代替として使えるということである。

これまで示したように、細菌の培養においては、一般的な培養基であるブイオン培地、あるいはペプトン-酵母エキス、あるいは血液凝固沈澱物-血液酵素加水分解物等の血液成分を主体とした培養基を用いることができた。

たん白質分解酵素を添加するような、新しい培養系を開発することによって、血液成分をそのままでもより有効に利用することも考えられる。

以上のように、血液成分は、細菌の培養において、主炭素源あるいは窒素源として有効に利用できる資源であることが示された。

Ⅲ-7 ま と め

酵母と細菌を代表例として、血液成分の微生物の大量培養への応用について検討を行なった結果、次のような成果が得られた。

酵母の培養について そのままで窒素源として利用することよりも、むしろ血液を酵素などで加水分解処理することにより、窒素源、副炭素源・生育促進物質などとして利用することがより有効であることがわかった。特に、種々の生育促進物質を要求すると考えられる酵母の場合、血液成分は非常に有効な資源となりうることが示された。

また、一般にたん白質分解能が強いといわれる細菌の場合、主炭素源ならびに窒素源として、血液をそのまま有効し得ることが示された。また、酵母エキス等の生育促進物質の効果は、血液の加水分解物で代替可能であった。

以上のように、血液は微生物の大量培養の原料として有効な資源であり、今後、この分野の拡大にともない積極的に利用していくべきであると考えられる。

表Ⅲ-1 酵母培養用培地組成

(MY培地)

グルコース	10 g
ペプトン	5 g
酵母エキス	3 g
麦芽エキス	3 g
蒸留水	1 l
pH	5.0

表Ⅲ-2 酵母用基本合成培地組成

グルコース	10 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2 g
KH_2PO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 g
蒸留水	1 l
pH	5.0

表 III-3 酵母の増殖に及ぼす培地成分の影響

(分散分析表)

変 動 因	自由度 f	平方和 S	分散 V	分散比 F	寄与率 %
全 体	26	7.25			
グルコース量 C	2	0.53	0.26	3.15	4.96
硫 安 量 N	2	0.17	0.08	1.01	0.03
リン等無機塩量	2	0.45	0.22	2.69	3.89
微量元素量	2	0.09	0.05	0.55	-1.04
イノシトール	2	0.05	0.02	0.27	-1.68
パントテン酸・ニコチン酸	2	1.60	0.80	9.59 [△]	19.81
ビオチン・葉酸	2	3.07	1.54	18.36*	40.07
ピリドキシン・PABA	2	0.25	0.13	1.52	1.20
リボフラビン・チアミン	2	0.37	0.18	2.20	2.77
C×N (交互作用)	4	0.41	0.10	1.20	1.09
誤 差 e			$V_e = 0.0836$		

注：*は1%有意、△は5%有意での検定

平均値：0.78

(O.D. 660の値)

表 III-4 酵母用完全合成培地組成

グ ル コ ー ス	1 0 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2 g
KH_2PO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5 g
NaCl	0.1 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1 g
イノシトール	1 0 0 μg
Ca- γ -シトテン酸	1 0 0 μg
ニコチン酸	1 0 0 μg
ビオチン	5 0 μg
葉 酸	1 0 μg
ピリドキシンHCl	2 0 μg
p-アミノ安息香酸	1 0 μg
リボフラビン	1 0 μg
チアミンHCl	2 0 μg
H_3BO_3	1 0 0 μg
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1 0 μg
KI	1 0 μg
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5 0 μg
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1 0 0 μg
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5 0 μg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5 0 μg
蒸 留 水	1 l
pH	5.0

表Ⅲ-5 実験結果の図表と培地組成との対応表
 (血液成分による酵母の培養)

組成	該当図	9	10	12	13	14	15	16
グルコース	10g	○		○	○	○		○
血液凝固物		4g	4g	任意				任意
血液水解物					4g	8g	10g	
KH ₂ PO ₄	1g	○	○	○	○	○	○	○
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5g	○	○	○	○	○	○	○
NaCl	0.1g		○	○	*○			○
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.1g		○	○	*○			○
微量元素	表Ⅲ-4と同様		○	○	*○			○
各種ビタミン	表Ⅲ-4と同様		○	○	*○			○
蒸留水	1ℓ							
pH	5.2							

* ビタミン添加の場合

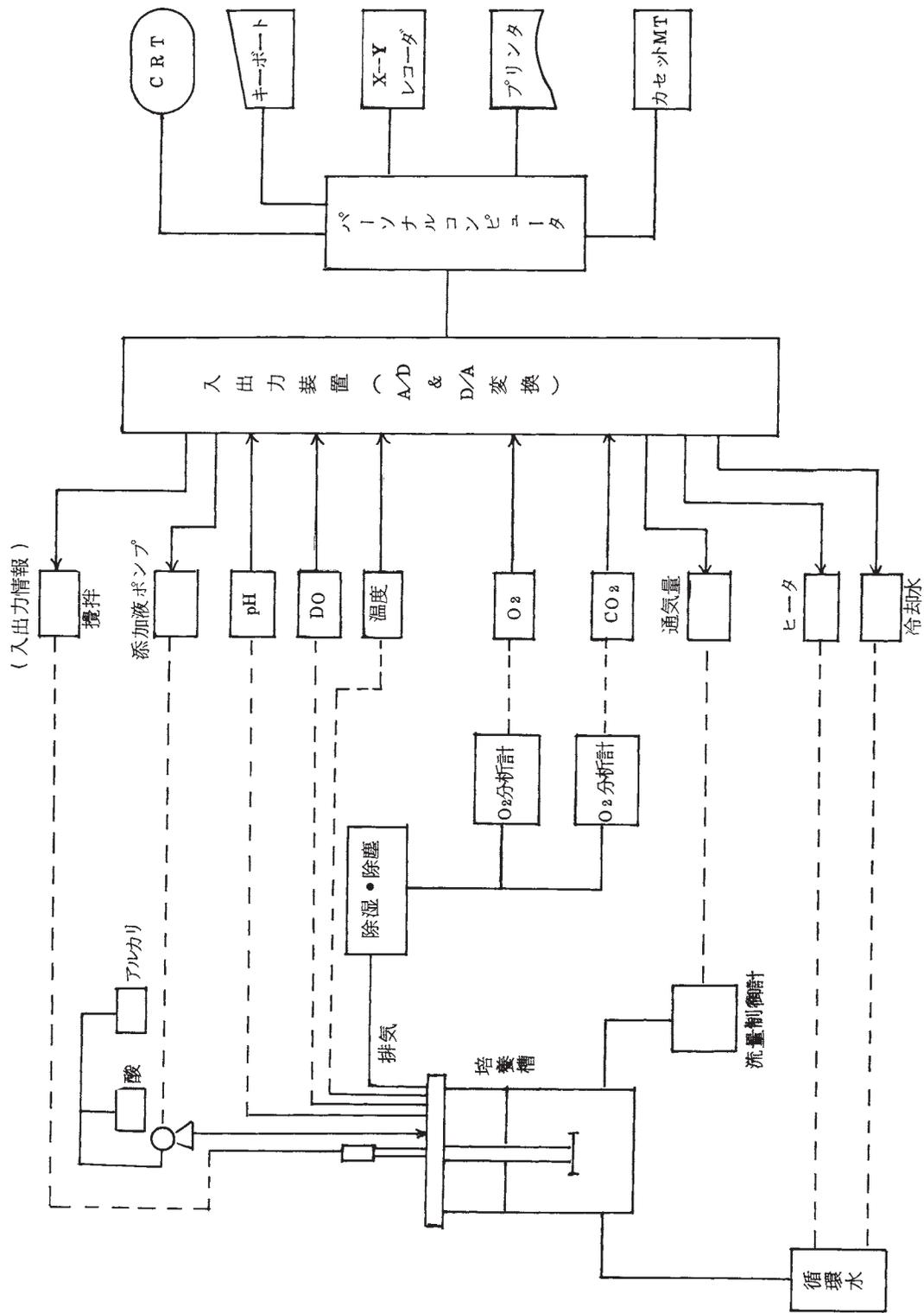
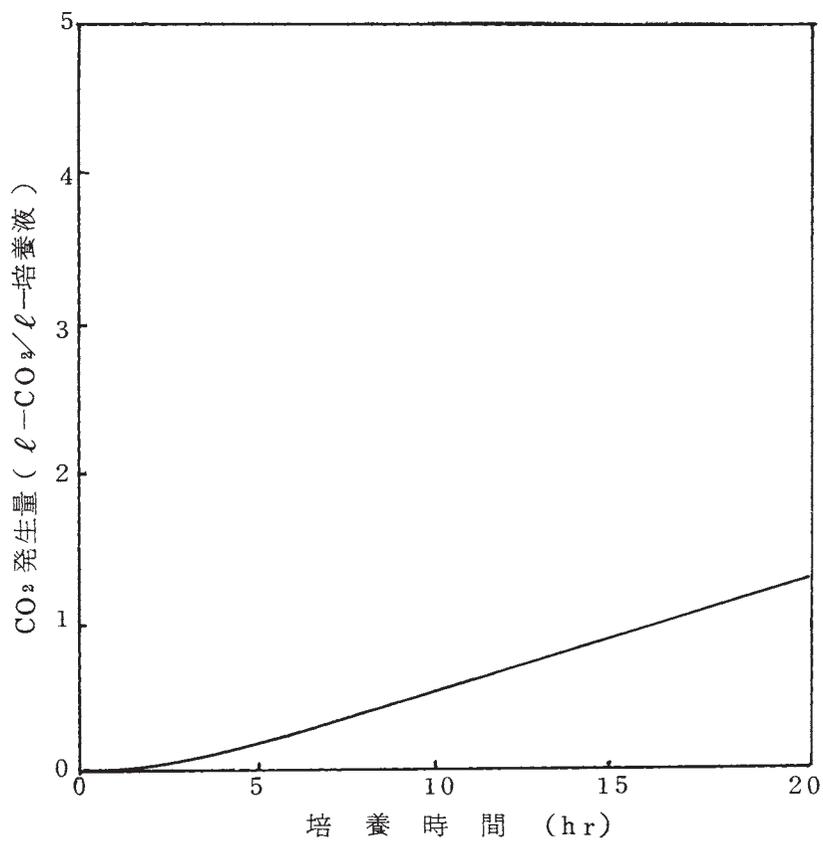
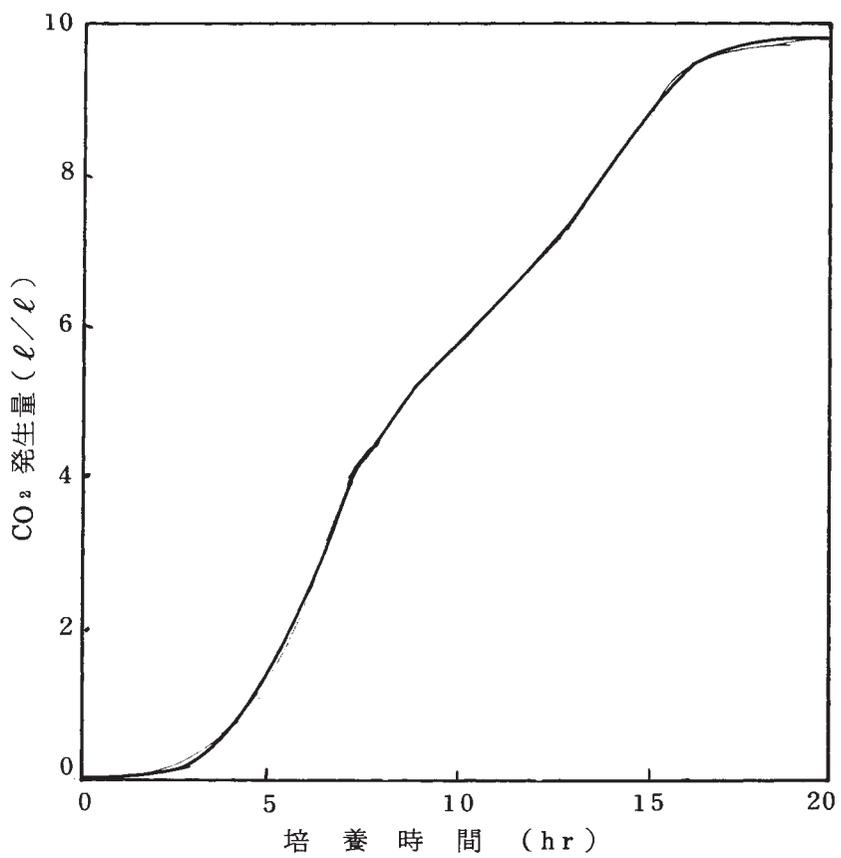


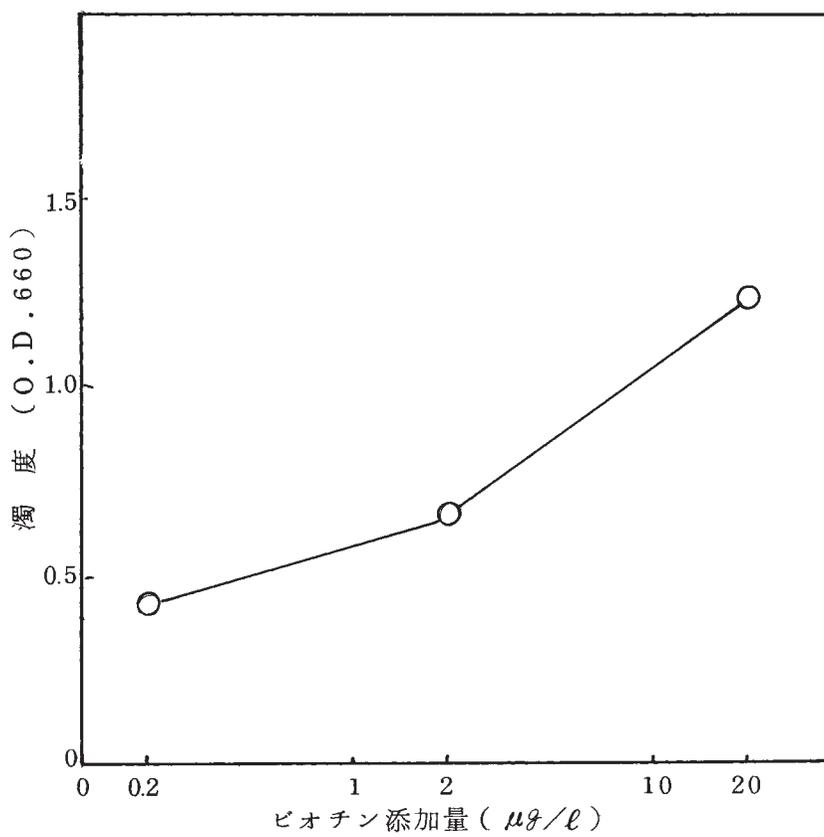
図 III-1 血液成分による微生物培養計制御システム



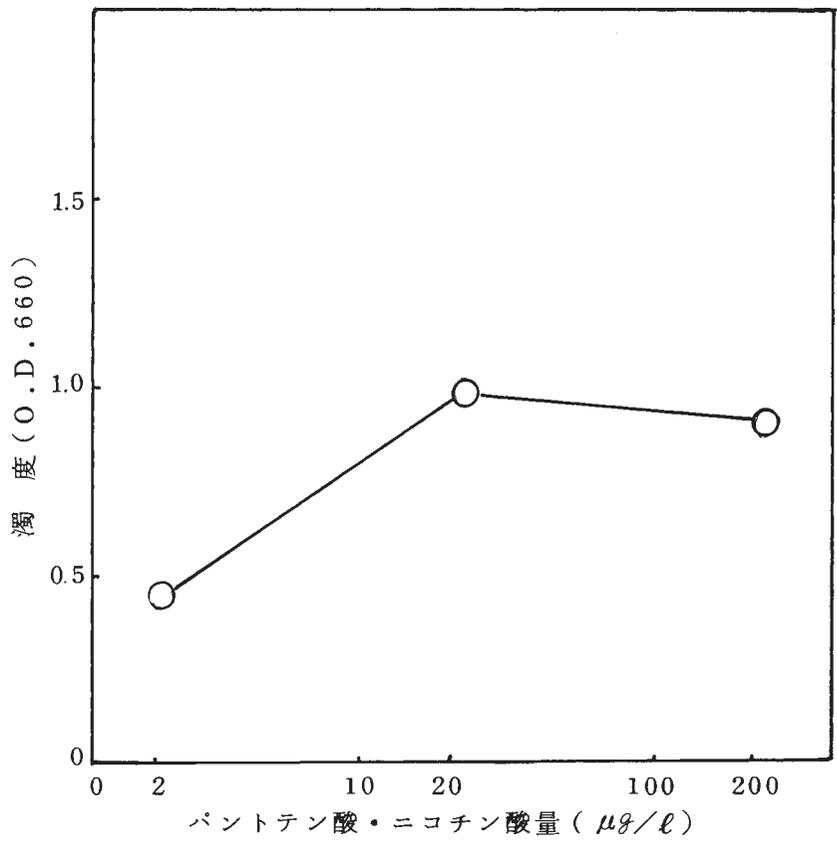
図Ⅲ-2 基本合成培地での酵母の生育



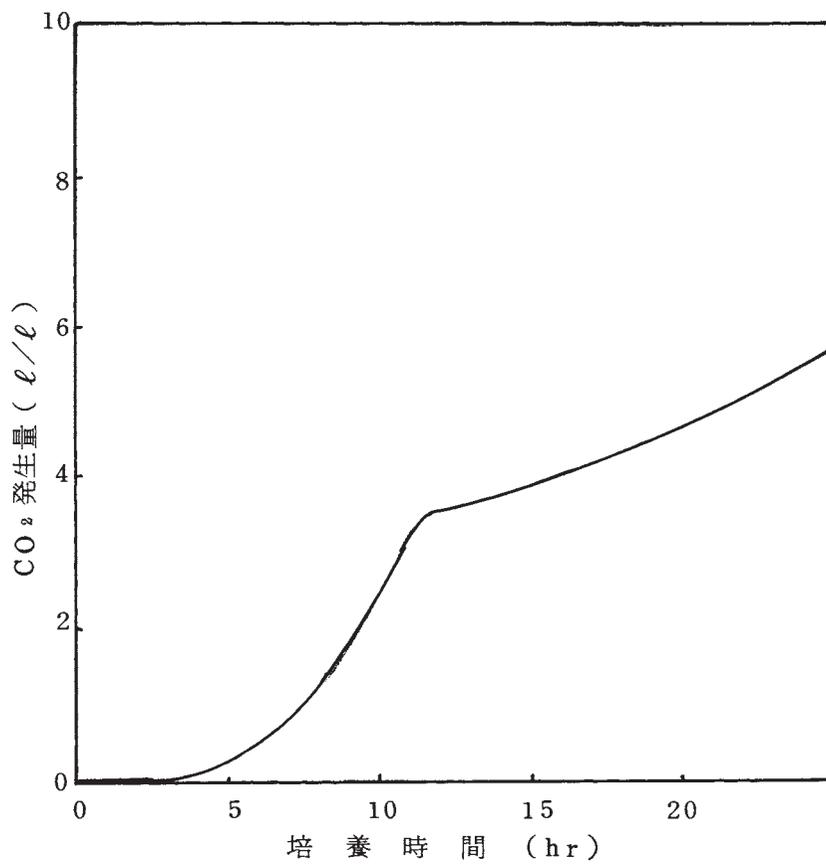
図Ⅲ-3 MY培地での酵母の生育



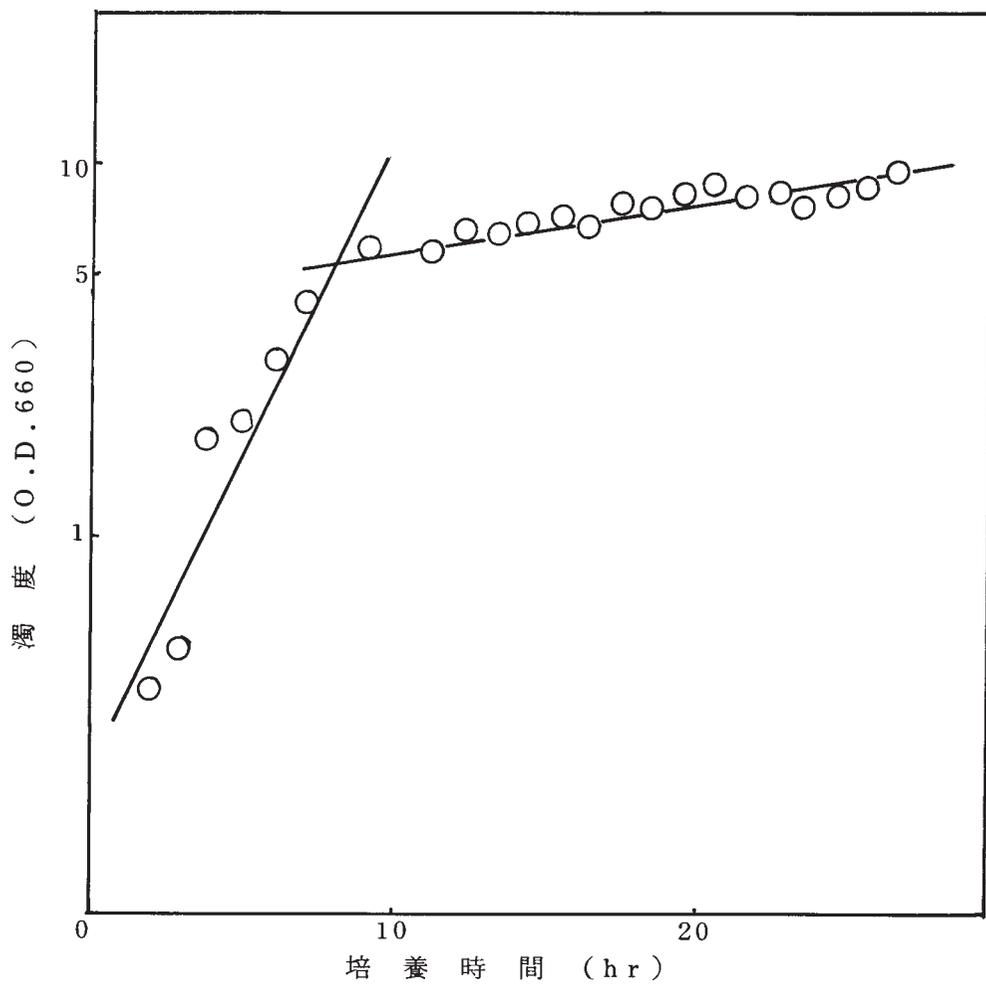
図III-4 酵母の生育へのビオチンの効果



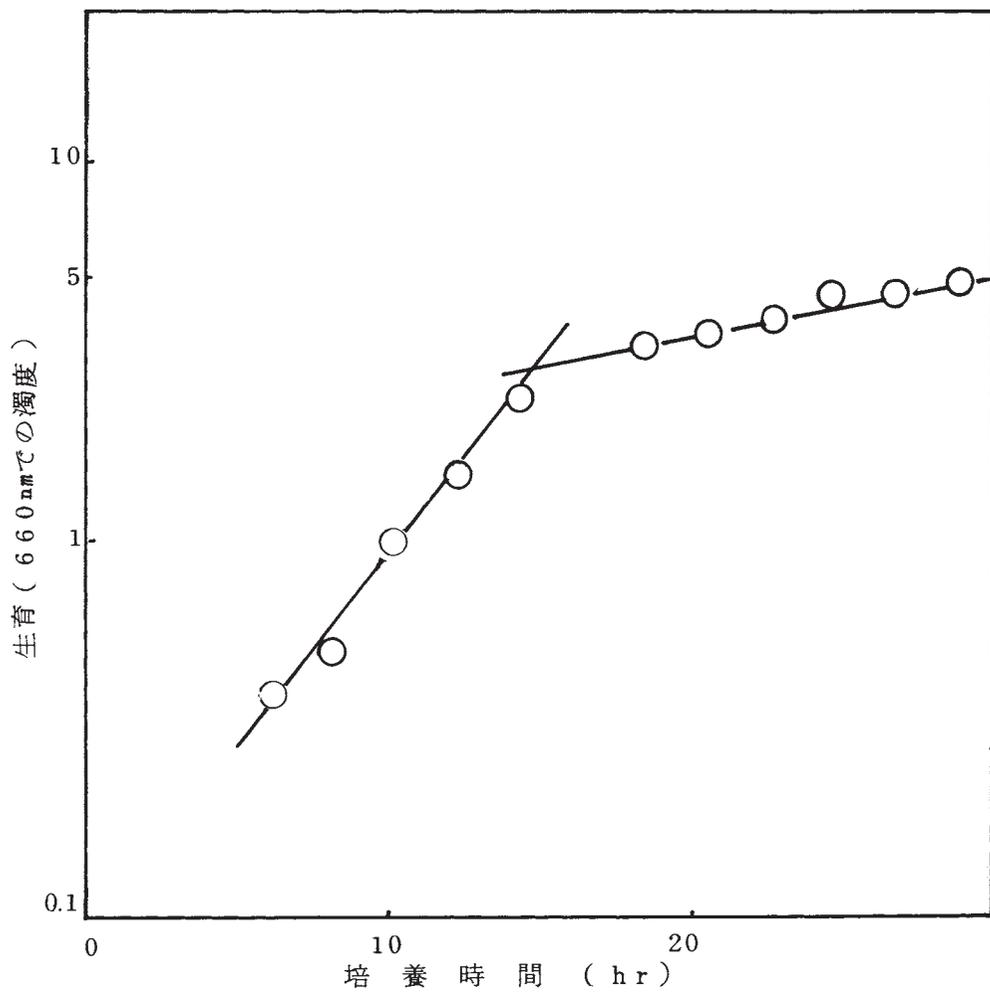
図III-5 酵母の生育へのパントテン酸とニコチン酸の効果



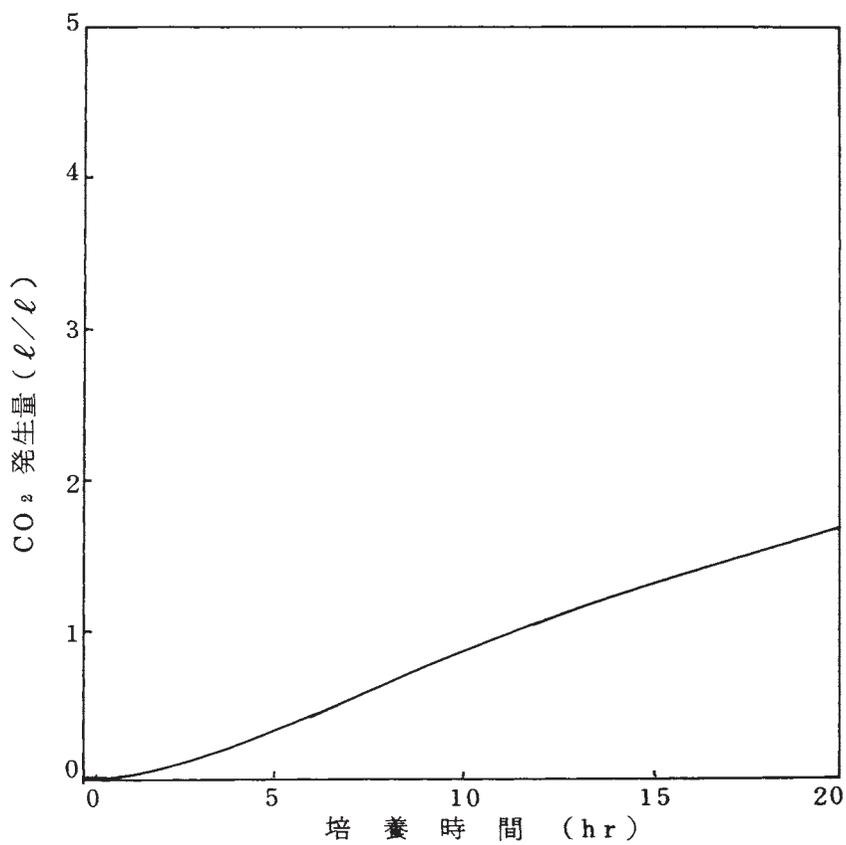
図Ⅲ-6 ビタミン含有合成培地での酵母の生育



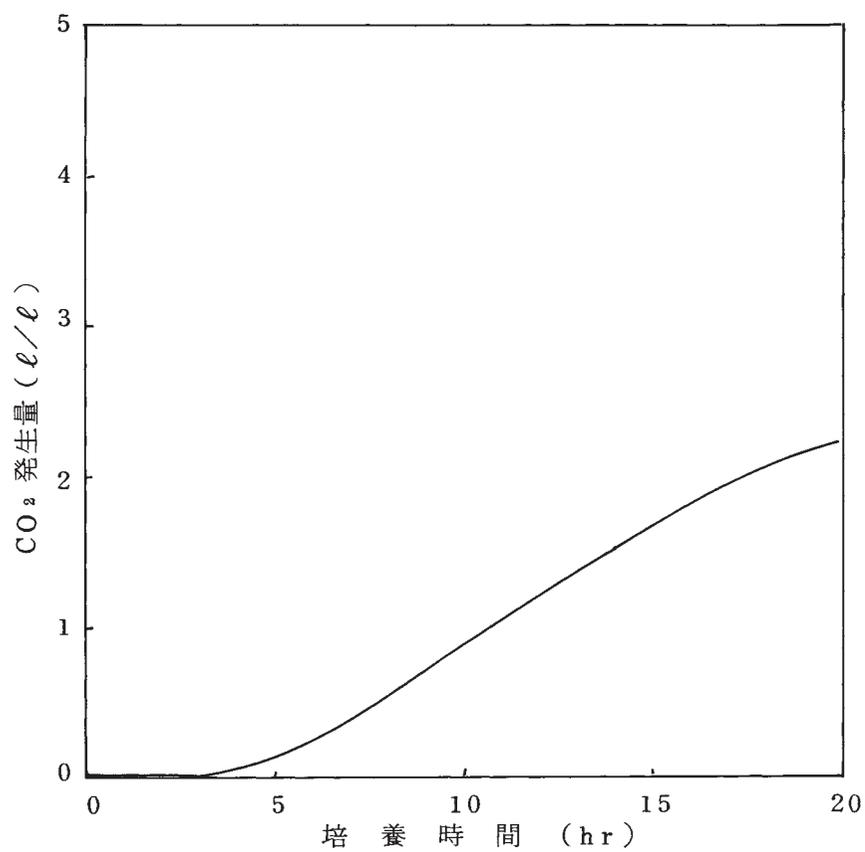
図III-7 MY培地での酵母の生育曲線



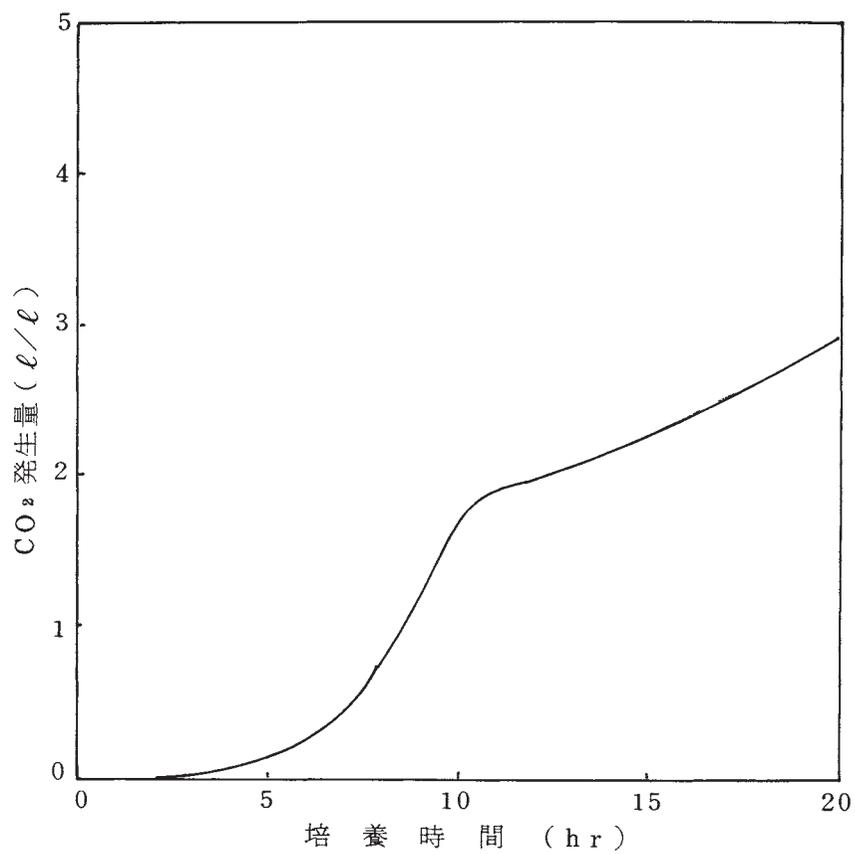
図Ⅲ-8 合成培地での酵母の生育曲線



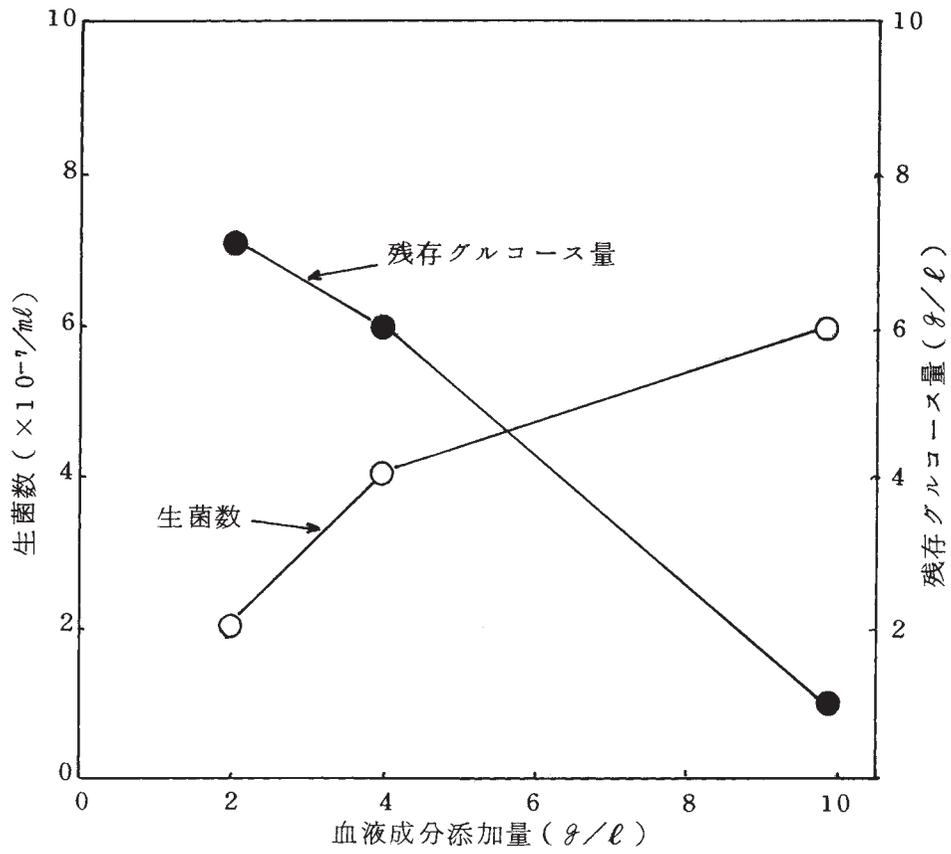
図Ⅲ-9 グルコース-血液成分での酵母の生育



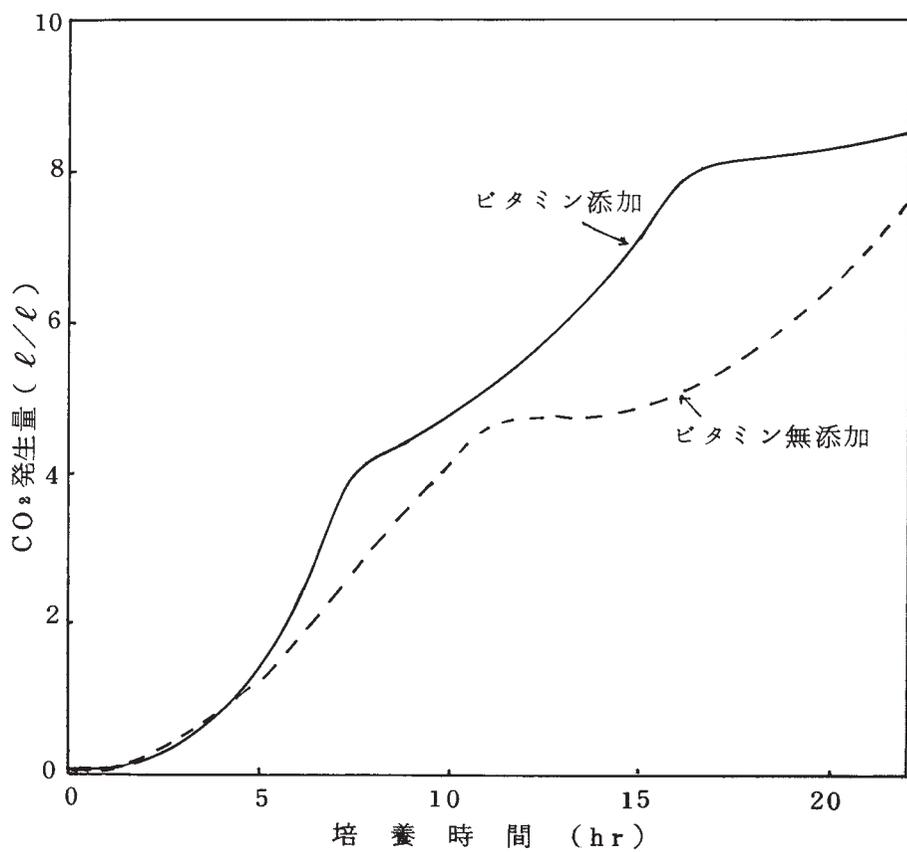
図Ⅲ-10 ビタミン添加血液成分での細菌の生育



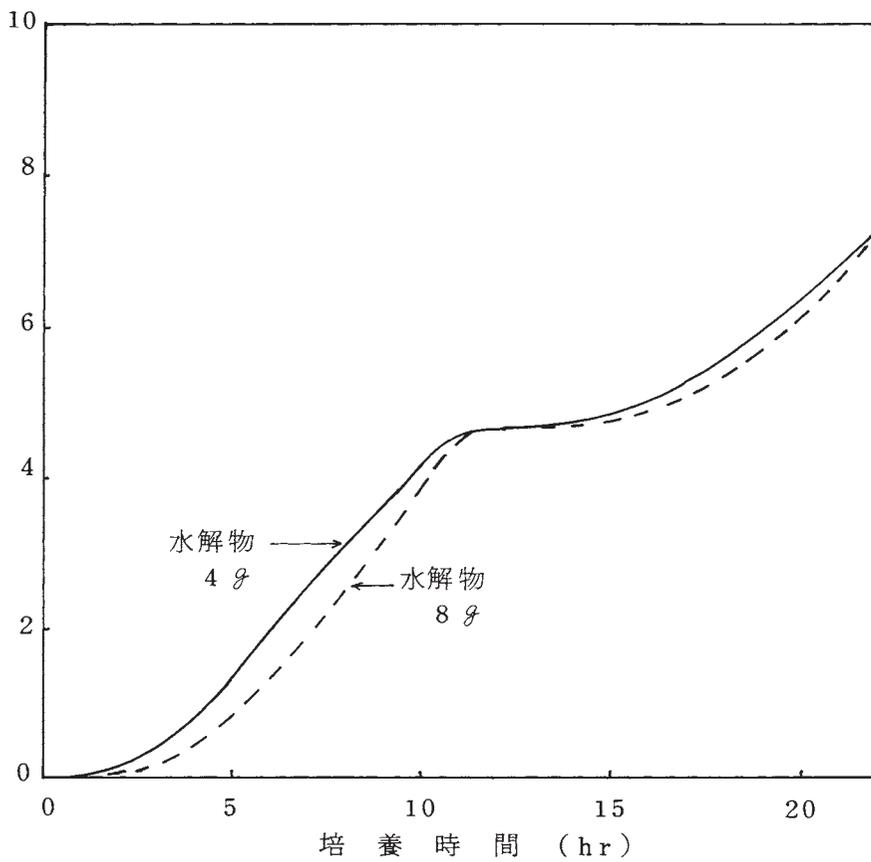
図Ⅲ-11 麦芽エキス-血液成分での酵母の生育



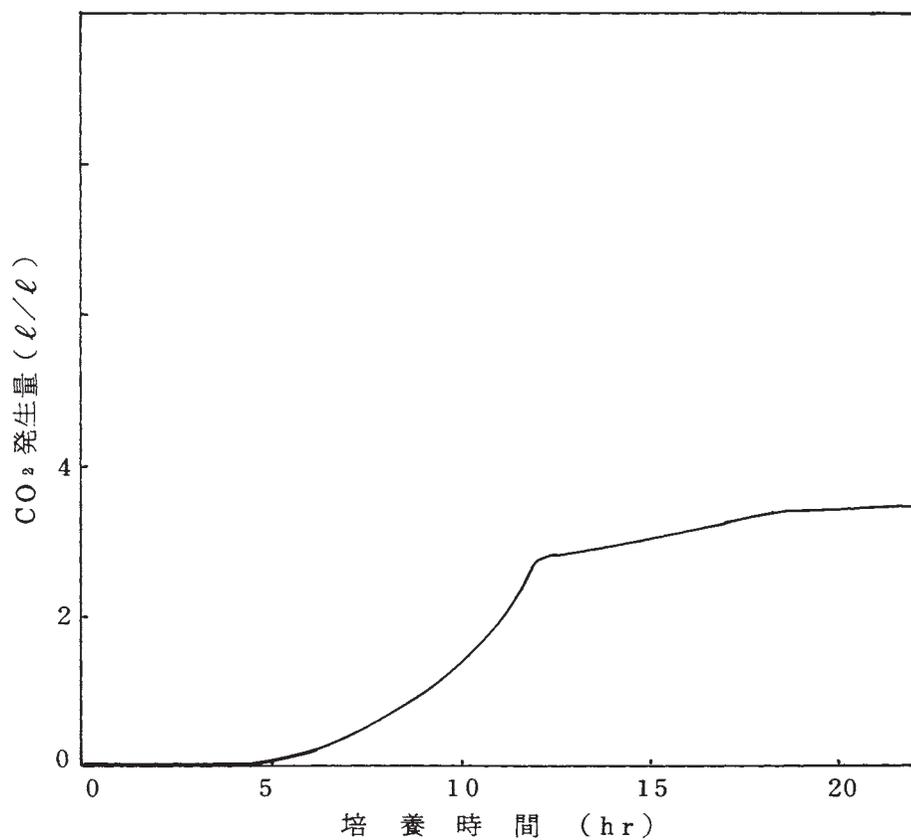
図III-12 酵母の生育と血液添加量の関係



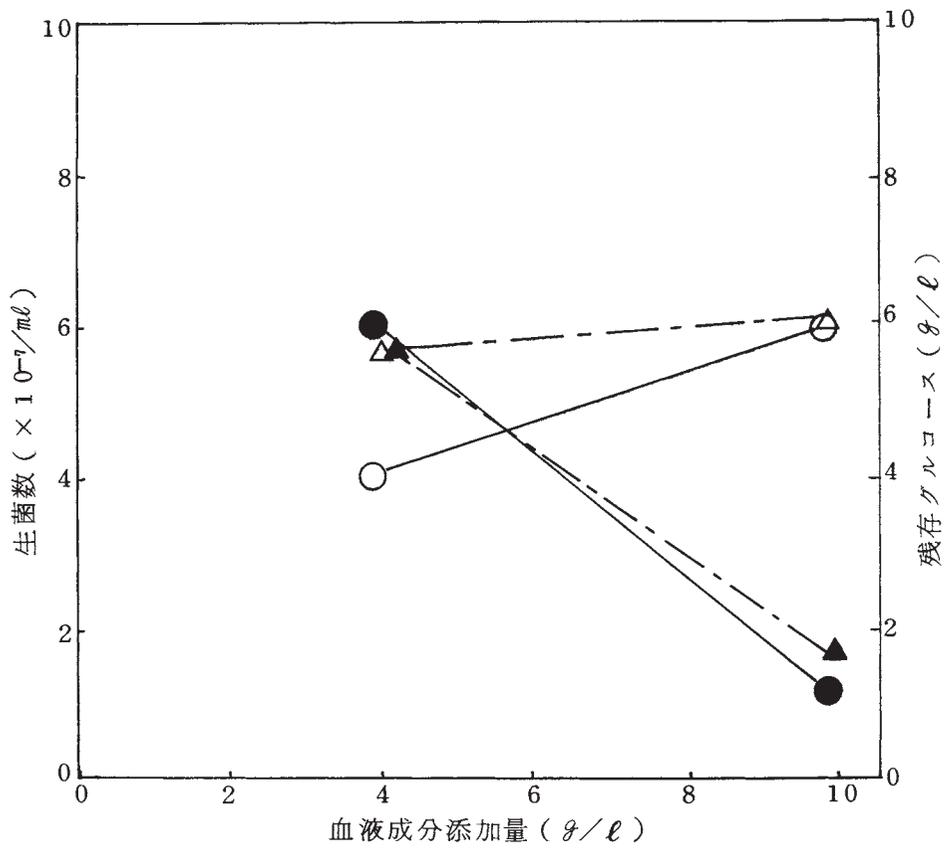
図Ⅲ-13 血液水解物による酵母の生育



図Ⅲ-14 血液水解物による酵母の生育(量的効果)

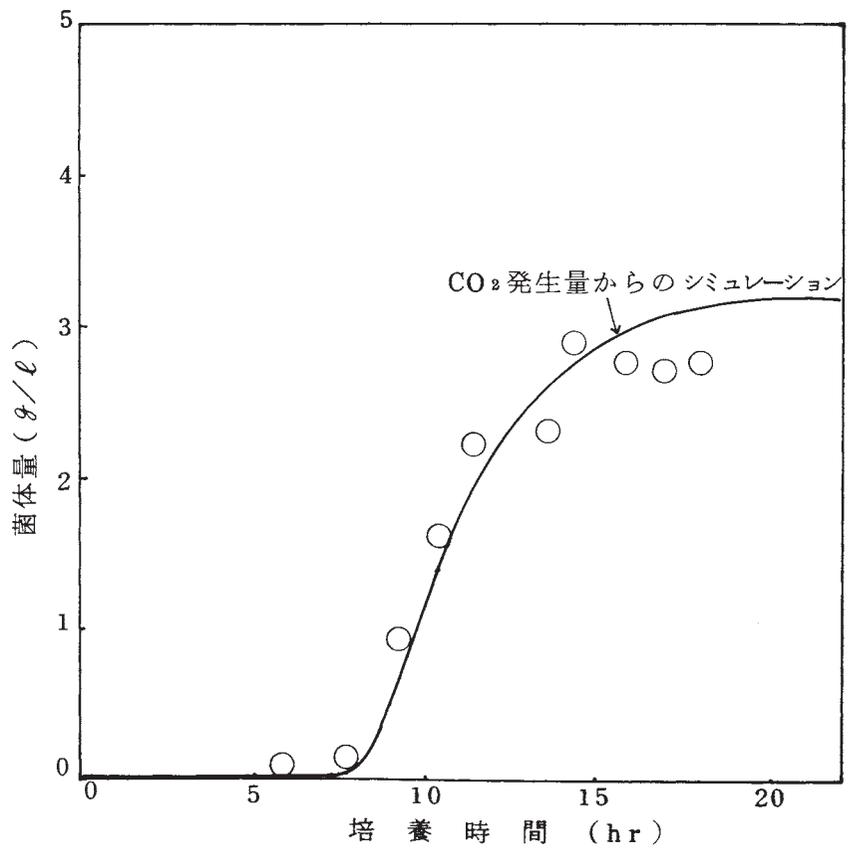


図Ⅲ-15 血液水解物主体培地での酵母の生育

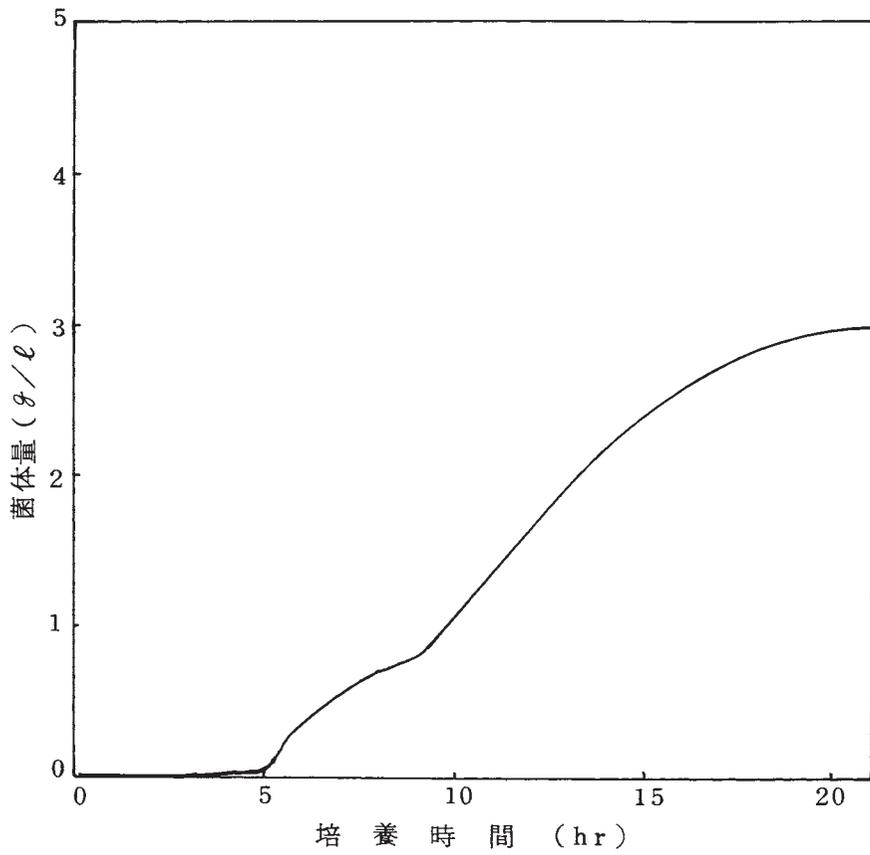


—○— 全血での菌数 —●— 全血での残存グルコース
 —△— 血漿 " —▲— 血漿 "

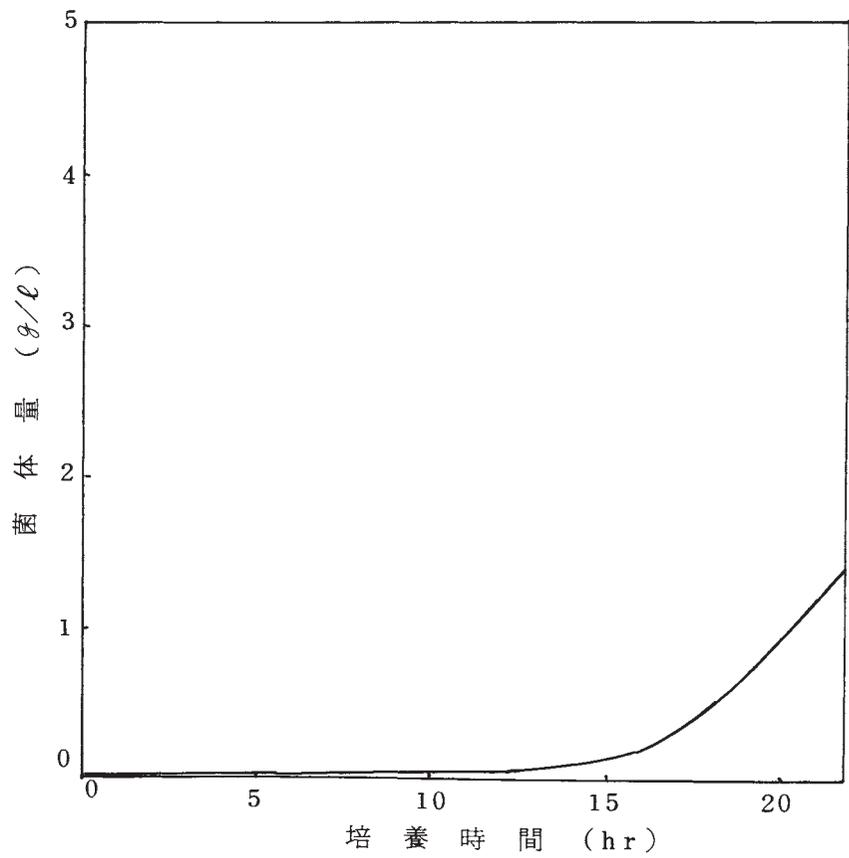
図Ⅲ-16 全血及び血漿での酵母の生育



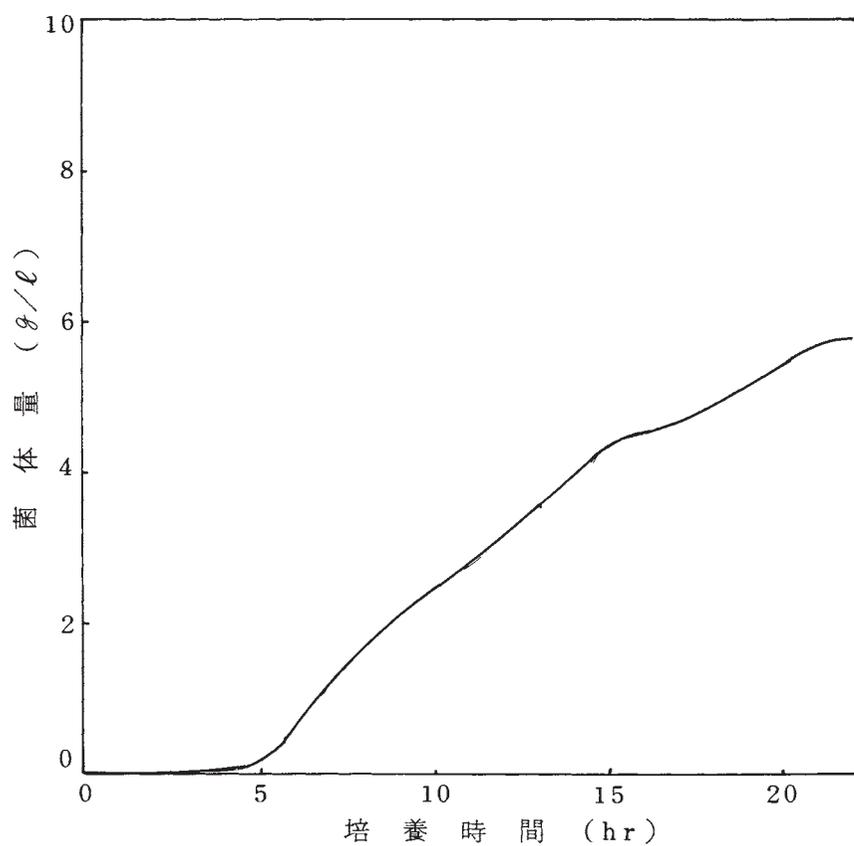
図冊-17 ブイオン培地での細菌の生育



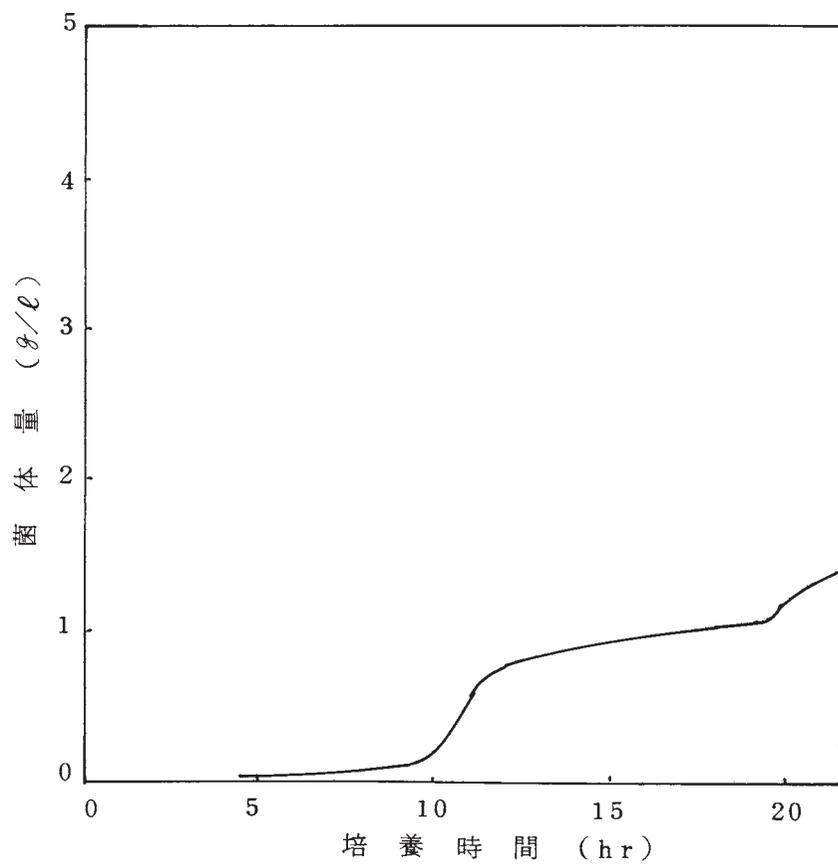
図Ⅲ-18 ペプトン培地での細菌の生育



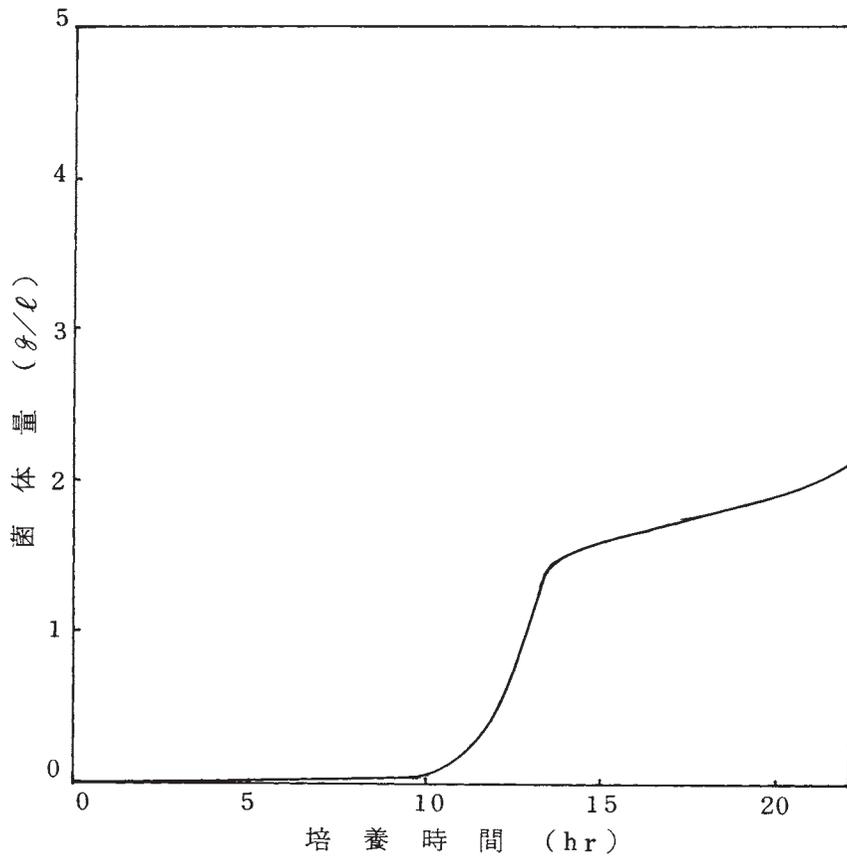
図Ⅲ-19 澱粉培地での細菌の生育



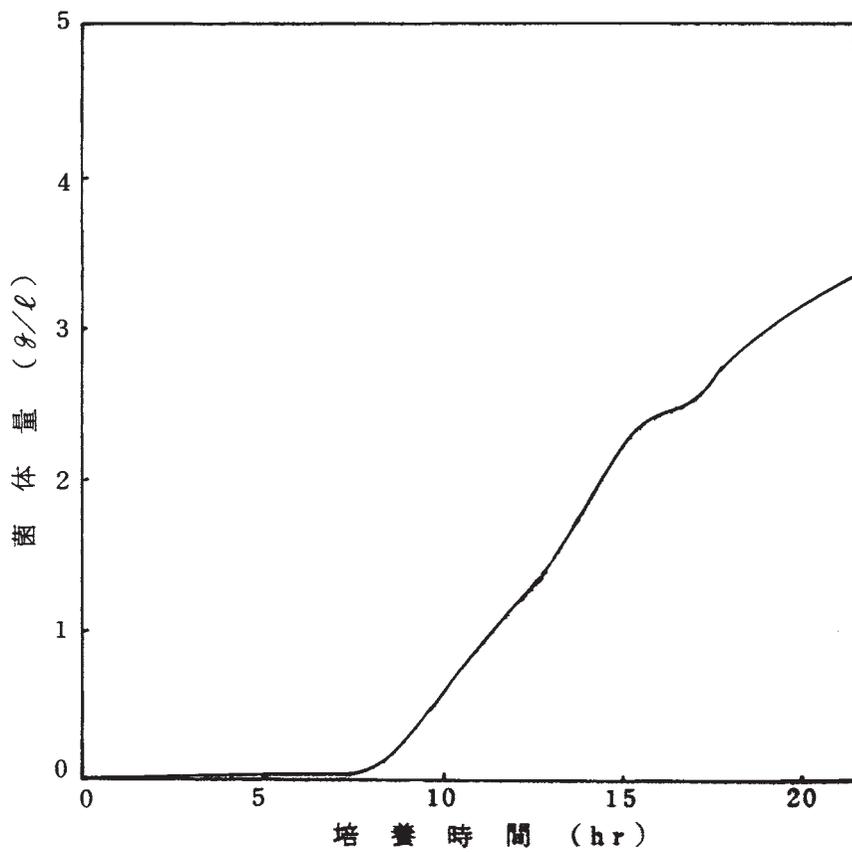
図III-20 血液成分での細菌の生育
(酵母エキス 5 g/l 添加)



図Ⅲ-21 血液成分での細菌の生育
(酵母エキス(g/l)添加)



図Ⅲ-22 血液成分での細菌の生育
(グルタミン酸添加)



図Ⅳ-23 血液成分での細菌の生育
(血液酵素水解物添加)