

血乳検査に関する調査試験

1. 目的

道内で流通するタンクローリー乳で発生する異常乳のうち血乳による廃棄は毎年、年間数件のペースで発生している。

獣医学大辞典¹⁾によると血乳の定義は、乳汁中に血液が混入して血様または微紅色を呈するものとされており、病的血乳と生理的血乳に分類される。前者は乳房炎、あるいは乳房や乳頭の外傷や血腫によるものであり、後者の場合は初乳期にみられ、分娩後の急激な乳腺組織の充血による小血管の破裂によるとされている。

血乳は症状として捉えられ、関係法令上の扱いとしては、農林水産省の病性鑑定指針²⁾に示されている疾病には含まれず、乳等省令において出荷規制の対象とはならない。一方、加工原料乳生産者補給金等暫定措置法（不足払い法）で定める加工原料乳の規格においては、「色沢及び組織」における色沢異常として規格外の扱いとなる。従って、法令上の規格外として血乳を検出する一義的な検査法は、視覚判定による官能評価となる。そして、乳に色沢異常が認められた場合、原因究明の手段として、全国乳質改善協議会が示す血乳検査法³⁾である遠心分離による赤血球の沈殿の確認が行われる。これらの官能評価及び血乳検査と、血液濃度の関係性については明らかにされていないため、今回、人為的に調製した血乳を用い試験を行ったので報告する。

2. 方法

1) 血乳試料の調製

試験用として市販されている牛保存血液（日本バイオテスト研究所）を、生乳に段階的に添加し、血液濃度 0.0001%～1.0%範囲、13 段階の血乳試料を調製した。

2) 官能評価（視覚判定）試験

血乳試料を 100ml 容ガラス製メジウムビンおよび、アルコール検査用ガラスシャーレ（直径 45mm、深さ 15mm）に入れ、官能評価（視覚判定）試験により着色の有無を判定した。なお試験方法は、1 サンプル毎の独立判定と、正常乳（血液無添加）との比較対象試験の 2 通りの試験を、8 名のパネラーにより実施した。

3) ルミノール反応試験

ルミノール実験キット（和光純薬）を用い、血乳試料のルミノール反応試験を行った。15ml 容プラスチック製試験管に、キット付属マニュアルどおりに調整した試薬を 6ml 分注し、血乳試料を 1ml 入れ、数回倒置攪拌後、約 3 分半から 4 分間反応させた後、PCR ゲル撮影装置用の暗室内に入れ、発光の有無を判定した。

4) 血乳検査

15ml 容プラスチック製試験管に、血乳試料を 10ml 分注し、回転半径 9.5cm の卓上小型遠心機（DIGISYSTEM, DSC-154T）で 2,000 回転、5 分間遠心分離を行い、赤血球の沈殿

の有無をみた。

3. 結果および考察

1) 官能評価試験

ガラスシャーレを用いた視覚判定の予備試験として、血液濃度 0.05%の生乳試料をガラスシャーレに 2ml から段階的に増量していき、判定者が着色の有無を検知できる試料の量を検討した。その結果、8ml (ガラスシャーレ容量の約半分の量) で生乳の着色を判定可能であったため、本試験における試料の量は 8ml とした。

官能評価試験の結果を表 1 に示したが、色沢異常を検知できる限界濃度は、100ml 容器で 0.01%、ガラスシャーレでは 0.025%であった。色沢異常の検知率が 100%となった血液濃度は、100ml 容器で 0.075%、ガラスシャーレで 0.1%であり、デンマークの研究報告⁴⁾ とほぼ一致していた。

また、ガラスシャーレでは、正常乳を対象とした比較判定の方が、対象を置かないで判定した結果よりも検知率は高かった。

表1 官能評価(視覚判定)試験
試験者8名による色沢異常の検知割合(%)

試料No	血液濃度	100ml容ガラス容器		ガラスシャーレ	
		対象有	対象なし	対象有	対象なし
		%	%	%	%
1	0.0001%	0	0	0	0
2	0.0005%	0	0	0	0
3	0.001%	0	0	0	0
4	0.010%	13	50	0	0
5	0.025%	88	63	63	25
6	0.050%	88	100	88	50
7	0.075%	100	100	100	88
8	0.1%	100	100	100	100
9	0.2%	100	100	100	100
10	0.3%	100	100	100	100
11	0.4%	100	100	100	100
12	0.5%	100	100	100	100
13	1.0%	100	100	100	100

2) 血乳検査(遠心分離法)

血液濃度と各検査結果の関係を表 2 に示した。

遠心分離による血乳検査では、0.0005%の血液濃度まで肉眼で認められる赤色沈殿がみられ、官能評価およびルミノール反応による検知濃度と乖離していた。

牛血液を一旦-20 で凍結し、室温で解凍後に終末濃度 0.1%になるよう生乳に添加した後、遠心分離を行ったところ、試料は微紅色を呈していたものの赤色沈殿は形成されなかった。これは、凍結による物理的作用により、赤血球が破壊されヘモグロビンが外部へ流出(溶血)したことによるものと考えられた。

表2 血液濃度と各検査結果

試料No	血液濃度	官能評価(検知割合)	血乳検査	ルミノール反応
		%		
1	0.0001%	0	-	-
2	0.0005%	0	± (僅かに沈殿)	-
3	0.001%	0	± (僅かに沈殿)	-
4	0.010%	13	+	± (僅かに発光)
5	0.025%	88	+	± (僅かに発光)
6	0.050%	88	+	± (僅かに発光)
7	0.075%	100	+	± (僅かに発光)
8	0.1%	100	+	+
9	0.2%	100	+	+
10	0.3%	100	+	+
11	0.4%	100	+	+
12	0.5%	100	+	+
13	1.0%	100	+	+

3) ルミノール反応試験

ルミノール反応試験では、0.1%以上の血液濃度で明瞭な青色発光が認められ、濃度の低下とともに徐々に発光量は減衰し、0.01%未満の濃度では発光を確認できなかった。ルミノール反応と官能評価の結果は、概ね一致していた。

EUにおける生乳の衛生的規格において、赤血球により着色された乳は異常乳であるというコンセンサスのもと、搾乳者が搾乳前に視覚的に乳の検査を行い、異常があった乳は出荷してはならないことを定めている⁴⁾。日本においても同様に、血乳は色沢異常として法令上規格外として扱われる。血乳の定義は、血液の混入によって乳が血様または微紅色を呈するものとされているため、血乳を検出するための一義的な検査法は官能評価試験であるといえる。

今回の試験において、官能評価およびルミノール反応試験の結果はほぼ一致していたが、遠心分離による血乳検査では、生乳が着色しない程度の極微量の血液濃度においても赤色沈殿が形成された。従って、遠心分離による血乳試験は、あくまで着色の原因が血液の混入によるものかどうかを確認するための2次的な試験として行うことが重要であると考えられた。

4. 参考文献

- 1) 獣医学大辞典,p.439, (株)チクサン出版社,1989
- 2) 病性鑑定指針,26 消安第 4686 号 平成 27 年 3 月 13 日,農林水産省・安全局
- 3) 生乳の検査理論と実際,血乳検査,p.192, (社)全国乳質改善協会,1979
- 4) Morten D Rasmussen and Martin Bjerring, Visual scoring of milk mixed with blood, Journal of Dairy Research Vol.72:257-263,2005

(小坂英次郎、仁藤百合子)