

ノート

魚介類の水溶性たんぱく質と全たんぱく質比 及び組織化学的観察との関係について

三倉健也, 笹原清美*

1 緒 言

輸入食品の加熱処理の有無の鑑別は、関税率表分類上重要であるが、魚介類については、外観上加熱処理の有無の判断が困難なものが多い。

著者ら^{1) - 3)}は、さきに細胞内の化学物質の挙動を染色手段を用いて顕微鏡で観察する組織化学的方法によって、加熱処理の有無を判断してきた。しかし、この方法は、切片作製に熟練と長時間を要するなど、税關分析法としては難点がある。

また、出来ら⁴⁾は、たんぱく質の熱変性現象に着目し、水溶性たんぱく質と全たんぱく質の比及び旋光分散による方法が有効であると報告している。この方法は、分析結果を数値で表現でき、特に前者は、簡単な操作で行える利点がある。

本報では、数種の魚介類の輸入品及び標準品について、水溶性たんぱく質と全たんぱく質の比と組織化学的所見の関連性について検討したので報告する。

2 試 料

2・1 輸入品

ばか貝；11件

とり貝；4件

べた貝；2件

あかにし；5件

さざえ；3件

ぱい；4件

その他の貝類；はまぐり、あかざら貝、ひばり貝
各1件

いか類；8件

魚類；いかなど、にしん、かれい、かわはぎ 各
1件

2・2 標準品

ばか貝；生鮮品、殻付き生鮮品を沸騰水中で1分間、

2分間、5分間及び10分間処理したもの

並びに生鮮品を1日間冷凍したもの

とり貝；生鮮品

あかにし；生鮮品並びに殻付き生鮮品を沸騰水中で1分間、3分間、5分間及び10分間処理したもの

さざえ；生鮮品並びに殻付き生鮮品を沸騰水中で3分間及び10分間処理したもの

いか類；市販のするめ及び裂きいか

魚類；市販の煮干しいわし及び生干しいわし

ただし、貝類は足部、いか類は足部及び体部の筋肉、魚類は体部を実験に供した。

3 実 験 方 法

3・1 水溶性たんぱく質の定量

試料をガラスホモジナイザーを用いて磨碎し、遠心分離(10,000rpm, 10分間)し、その上澄をケルダール法により窒素含有量を求め、これに6.25を乗じて水溶性たんぱく質(以下、WSPと略記する。)の量とした。

3・2 全たんぱく質の定量

試料をケルダール法により窒素含有量を求め、これに6.25を乗じて全たんぱく質(以下、TPと略記する。)の量とした。

3・3 組織化学的観察

組織片は、Carnoy 氏液又は70%アルコール液で固定した。常法により10μのパラフィン切片を作製し、これを脱パラフィンして染色を行った。染色方法は、前報¹⁾と同様に、全般的な組織学的観察のためにMayer's Haema-toxyline-Eosin染色、多糖類のためにPAS反応、たんぱく質のためにNinhydrin-Schiff反応、DNAのためにFeulgen反応、DNA及びRNAのためにThionine染色並

* 門司税關分析室 北九州市門司区西海岸通り

びに組織の粗密を観察するためにMallory染色を行った。
なお、線維組織の観察には、縦断切片を用いた。

4 WSP / TP 及び組織化学的 観察結果

WSP / TP 及び組織化学的観察結果は、Table 1 に記載する。

4・1 標準品 ばか貝

生鮮品のWSP / TPは、0.45である。上皮組織は、先端が平滑でなく、多糖類は陽性で、たんぱく質は陰性、Mallory染色は赤紫色で、核は円形で、DNAが認められる。筋組織では、多糖類、たんぱく質は、組織固有の網状線維状に存在し、Mallory染色はオレンジ色・赤色・青色のモザイク調であり、核は円形ないしだ円形でDNAが存在する(Photo.1)。

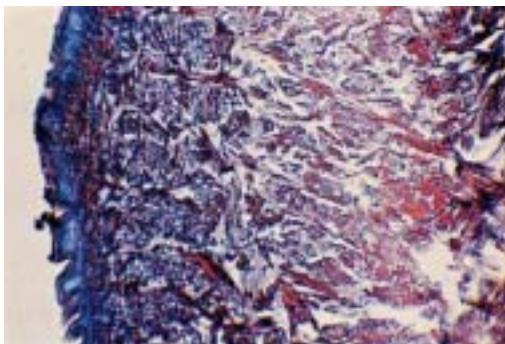


Photo.1 Mallory stain preparation of flesh Bakagai

湯煮品を生鮮品と比較するとWSP / TPは、Table 1に示すように加熱処理時間に比例して減少する。組織構造は、上皮組織の先端が平滑となり、筋組織中に間隙が出現する。また、Mallory染色もTable 1に示すように変化する。すなわち、上皮組織は、青色とオレンジ色の混在から、青色へと変り、筋組織ではオレンジ色と青色の均一な混在から、赤紫色へ、さらにオレンジ色と青色が部分的に偏りをみせる染色に変っていく

(Photo. 2, 3)

冷凍品は、生鮮品と大差はないが、筋組織のMallory染色性がやや平面的である。

とり貝

生鮮品のWSP / TPは、測定しなかった。組織構造

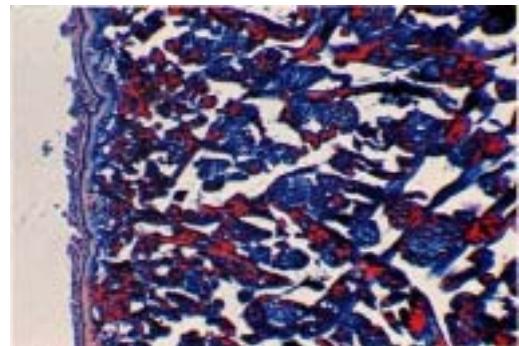


Photo.2 Mallory stain preparation of 1 min. boiled Bakagai

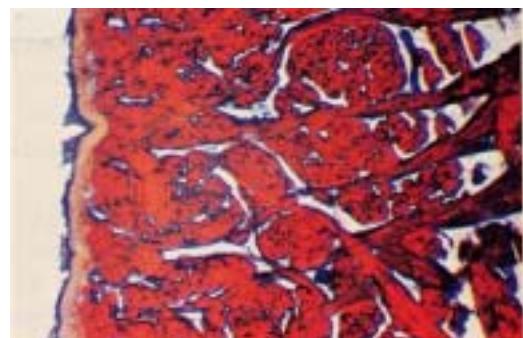


Photo.3 Mallory stain preparation of 5 min. boiled Bakagai

は、ばか貝と類似しているが、とり貝では上皮組織にたんぱく質の存在が認められ、筋組織は荒い線維性を示し、Mallory染色では上皮組織が青色、筋組織が青色でわずかにオレンジ色が混入する等の点が異なっている。

あかにし

生鮮品のWSP / TPは、0.43である。上皮組織は、先端が平滑でなく多糖類、たんぱく質は陽性で、Mallory染色はオレンジ色と青色が混在し、核は不明瞭な紡錘状で、DNAとRNAを含有する。筋組織では、たんぱく質が組織固有の網状線維に存在し、多糖類は平面的な染色を示し、Mallory染色は、青色と赤色のモザイク調で核は円形で、DNAと少量のRNAを含有する(Photo. 4, 5)。

湯煮品を生鮮品と比較するとWSP / TPは、Table 1に示すように加熱処理すると著しく減少するが、この値は加熱処理時間による差がない。また、組織構造は上皮組織に凝縮像及び不染部が出現し、たんぱく質は陰性となり、Mallory染色は、上皮組織では青色へ、筋組織

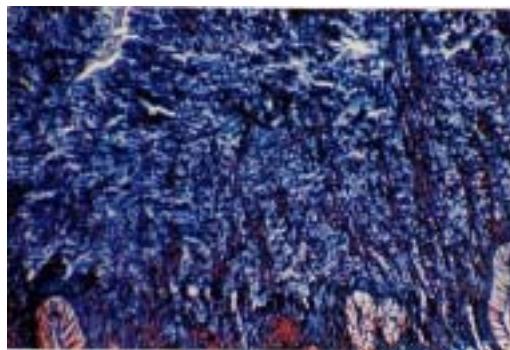


Photo.4 Mallory stain preparation of fresh Akanishi

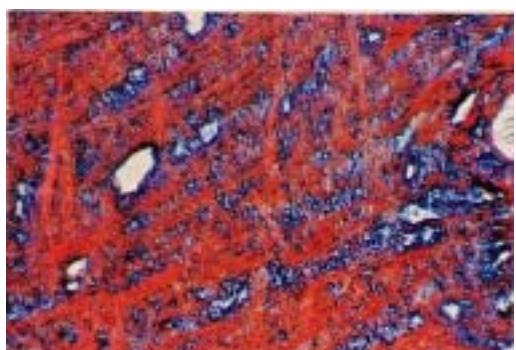


Photo.7 Mallory stain preparation of 10min. boiled Akanishi

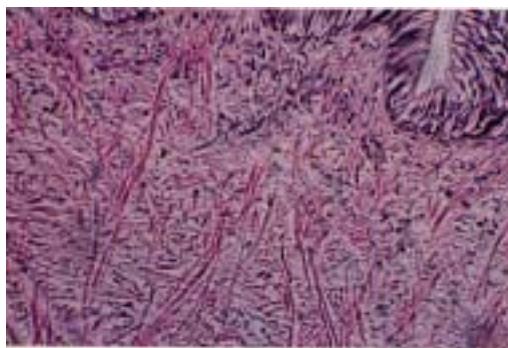


Photo.5 Haematoxyline-eosin preparation of fresh Akanishi

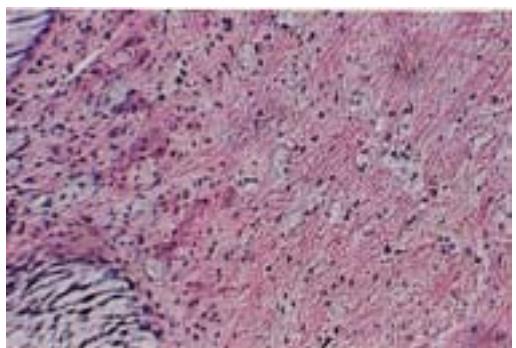


Photo.8 Haematoxyline-eosin preparation of 10 min. boiled Akanishi



Photo.6 Mallory stain preparation of 3 min. boiled Akanishi

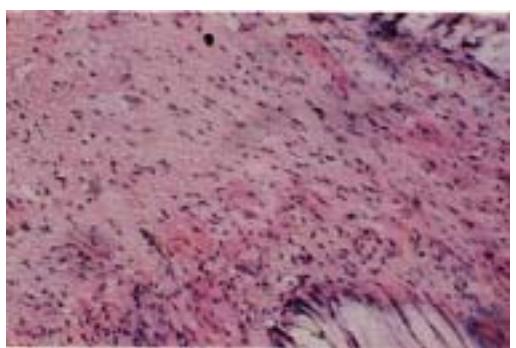


Photo.9 Haematoxyline-eosin preparation of No.35 Akanishi

Table 1 Ratio of water soluble protein and total protein contained in fishery products and their histochemical observation

Muscle tissue		Epithelial tissue		Form		WSP/TP		Histochemical observation		WSP/TP		Histochemical observation	
Mallory stain		Mallory stain		Fresh		R _b		R, O, B [M]		R, O, B		R, O, B [M]	
Solidification		Protein		0.45		#		#		#		#	
Protein		Polysaccharide		0.30		#		#		#		#	
Polysaccharide		Protein		0.21		#		#		#		R _b	
Nucleic acid		Protein		0.20		#		#		#		O, B	
DNA		Protein		0.16		#		#		#		R _b	
Nucleus		Protein		0.23*		#		#		#		O, B	
Fibre		Protein		0.10*		#		#		#		O, B	
Mallory stain		Protein		0.23*		#		#		#		+ O, B	
Protein		Protein		0.22*		#		#		#		R _b	
Polysaccharide		Protein		0.07		#		#		#		R _b	
Nucleic acid		Protein		0.10		#		#		#		R _b	
RNA		Protein		0.15		#		#		#		R _b	
DNA		Protein		0.11		#		#		#		R _b	
Nucleus		Protein		0.06		#		#		#		R _b	
Solidification		Protein		0.10		#		#		#		R _b	
Swelling		Protein		0.09		#		#		#		R _b	
Cavity		Protein		0.09		#		#		#		R _b	
Destruction		Protein		0.09		#		#		#		R _b	
Bakagai (Surf clam)		Fresh		0.45		#		#		#		R _b	
3		1 min. boiled		0.30		#		#		#		R _b	
4		2 "		0.21		#		#		#		R _b	
5		5 "		0.20		#		#		#		R _b	
6		10 "		0.16		#		#		#		R _b	
7		No shell, frozen		0.23*		#		#		#		R _b	
8		10.16 "		0.10*		#		#		#		R _b	
9		11.15 "		0.23*		#		#		#		R _b	
10		11.27 "		0.22*		#		#		#		R _b	
11		48.1.19 "		0.07		#		#		#		R _b	
12		1.23 "		0.10		#		#		#		R _b	
13		2.1 "		0.15		#		#		#		R _b	
14		2.8 "		0.11		#		#		#		R _b	
15		2.8 "		0.06		#		#		#		R _b	
16		2.18 "		0.10		#		#		#		R _b	
17		Fresh		0.09		#		#		#		R _b	
18		47.1.12 No shell, frozen		0.36*		#		#		#		R _b	
19		1.12 "		0.17*		#		#		#		R _b	
20		1.12 "		0.29*		#		#		#		R _b	
21		49.4.2 "		0.25		#		#		#		R _b	
22		48.1.19 No shell, frozen		0.11		#		#		#		R _b	
23		2.19 "		0.07		#		#		#		R _b	
24		47.6.29 No shell, dried		0.29*		#		#		#		R _b	
25		47.9.20 Adductors of shell, frozen		0.32*		#		#		#		R _b	

Hibarigai (Horse mussel)	26	49.4 .2	No shell, frozen	0.28		#	#	#	R,O	#	#	#	#	#	R, _b [M]
Akanishi (Rapanid murex)	27		Fresh	0.43		#	#	#	+ O,B	#	#	#	#	#	R,B[M]
	28		1 min. boiled	0.24		#	#	#	+ B	#	#	#	#	#	R, _b
	29		3 " "	0.23		#	#	#	+ +	#	#	#	#	#	
	30		5 " "	0.19		#	#	#	+ +	#	#	#	#	#	R
	31		10 " "	0.22		#	#	#	+ +	#	#	#	#	#	B, _{ao}
	32	47.6 .29	No shell, frozen	0.30*		#	#	#	+ +	#	#	#	#	#	RO, _b
	33	10.20	"	0.25*		#	#	#	+ +	#	#	#	#	#	R, _b
	34	10.23	"	0.11*		#	#	#	+ +	#	#	#	#	#	R, _b
	35	11.15	"	0.12*		#	#	#	+ +	#	#	#	#	#	R, _b
	36	12.14	"	0.17		#	#	#	+ +	#	#	#	#	#	R, _b
Sazae (Top shell)	37		Fresh			#	#	#	+ +	O		#	#	#	B[M]
	38		3 min. boiled			#	#	#	+ +	O,B		#	#	#	O, _b
	39		10 " "			#	#	#	+ +	O,B		#	#	#	O,B
	40	47.6.29	No shell, frozen	0.29*		#	#	#	+ +	O,B		#	#	#	B, _{ao} [M]
	41	8.2	"	0.25*		#	#	#	+ +	O,B		#	#	#	B, _o [M]
	42	48	2.12	0.15		#	#	#	+ +	O,B		#	#	#	B, _o [M]
Bai (Japanese babylon)	43	3.5	No shell, frozen	0.18*		#	#	#	+ +	B, _o		#	#	#	
	44	3.7	"	0.09*		#	#	#	+ +	B, _o		#	#	#	
	45	3.13	"	0.28*		#	#	#	+ +	B, _o		#	#	#	
	46	49.	6.5	"	0.22		#	#	+ +	B, _o		#	#	#	
Ika (Cuttle fish)	47		Foot, fresh, dried			#	#	#	+ +	B, _o		#	#	#	B, _{r,a}
	48		Body, "			#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R, _{b,b}
	49		" , dried, Sakiika			#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R, _{b,b}
	50	47.11.28	" , frozen	0.36		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	O, _b [M]
	51	48.1.22	" , dried	0.35		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	RO
	52	3 . 6	Body, " , Sakiika	0.27		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	B, _o
	53	9.25	Dried	0.28		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	RO, _b
	54	9.27	Foot, dried	0.24		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	RO, _b
	55	9.27	Dried	0.27		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	RO, _b
	56	49.3 .30	Body, dried, Noshiika	0.28		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R
	57	5.15	" , "	0.31		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R
Iwashi (Sardine)	58		Boiled, dried	0.12		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R
	59		Fresh, dried	0.34		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R
Ikanago (Sand eel)	60	48.7.17	Dried	0.13		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	O
Nishin (Herring)	61	48.8 .20	Chilled, headless	0.09		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R,B
Karei (Flatfish)	62	49.5 .15	Dried	0.48		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R[M]
Kawahagi (File fish)	63	49.5 .15	Dried	0.45		#	#	#	+ +	B, _{bs}		#	#	#	R _b

R : red , O : orange , B : blue , M : mosaic Br_R , R : red tintblue with red spots slightly

では赤紫色、さらに赤色へと変化する (Photo. 6, 7, 8, 9)

さざえ

標準品の WST / TP は、測定しなかった。

生鮮品では、組織構造があかにしと類似しているが、筋組織の線維性が不明瞭であり多糖類、たんぱく質が豊富に存在し、平面的な染色を示している。また、核酸は DNA のみ含有し、Mallory 染色は上皮組織ではオレンジ色、筋組織では青色のモザイク調を示す等の点が異なる。

湯煮品と生鮮品を組織化学的所見から比較すると、核酸は分解しており、Mallory 染色は、上皮組織ではオレンジ色と青色が混在し、筋組織ではオレンジ色にわずかな青色の混在から、さらに青色とオレンジ色が部分的に偏った染色へと変化する。

いか類

標準品の WSP / TP は、測定しなかった。

生鮮品の組織化学的観察は、前報¹⁾で報告した。

するめの足部は、上皮組織では大小多数の空胞が存在し、多糖類が強陽性で Mallory 染色は青色に赤色の粒子が点在し、核が濃縮し、DNA のみが認められる。また、筋組織では、たんぱく質が組織固有の網状線維状に豊富に存在し、多糖類が弱陽性で平面的な染色を示し、Mallory 染色は赤色で、わずかに青色が混入し、核は濃縮し、DNA のみが認められる。

するめの体部は、足部と組織構造は類似しているが、Mallory 染色では、上皮組織は表皮が青色で、内部が赤紫色、筋組織は赤紫色に青色の粒子が点在し、RNA が上皮組織及び筋組織に含有される等が異なる (Photo.10)。



Photo.10 Mallory stain preparation of dried fresh Ika body

裂きいかには上皮組織ではなく、筋組織は線維が分離し

多糖類、たんぱく質は陽性で、後者は著しく融合し、核は不明瞭で、Mallory 染色は赤色に青色が網目状に染色されている (Photo.11)。



Photo.11 Mallory stain preparation of dried Ika body(Noshiika)

魚類

煮干しいわし (Iwashi, boiled and dried) の WSP / TP は、0.12 である。上皮組織の観察は、省略した。筋組織は、間隙が見られ、多糖類、たんぱく質は強陽性で、前者は、平面的な染色を示し、Mallory 染色は濁赤色で、核は筋線維周辺に多数存在し DNA と RNA を含有する。

なお、これを 5 分間湯煮すると WSP / TP は、0.05 となり、組織の間隙は増加し、多糖類が陰性となる。

生干しいわしの WSP / TP は、0.34 である。煮干しいりこと組織構造は、類似しているが、たんぱく質のみが豊富で、平面的な染色を示し、Mallory 染色は、オレンジ色を呈する等が、煮干しいりこと異なる (Photo.12)。



Photo.12 Ninhydrine-Schiff reaction preparation of dried Iwashi

なお、これを 5 分間湯煮したものでは、WSP / TP

は0.21,Mallory染色は、濁オレンジ色となる。

4・2 輸入品

輸入品のはか貝、とり貝、あかにし、さざえ及びいかについて、標準品と比較对照すると、例えば、ばか貝No.12, 13 (Photo.13, 14), いかNo.53(Photo.15, 16), かれいNo.62 (Photo.17), あかにし No.35 (Photo.18) に見られるように、大体WSP / TP と組織化学的観察結果は、一致しているが、ばか貝の No. 7, 11 (Photo.19), 14 (Photo.20), 16 (Photo.21), とり貝 No.19, 21, あかにしの No.33, さざえの No.42 及びいか類の No.51 (Photo.22, 23), 57 では、



Photo.13 Ninhydrine-schiff reaction preparation of No.12 Bakagai

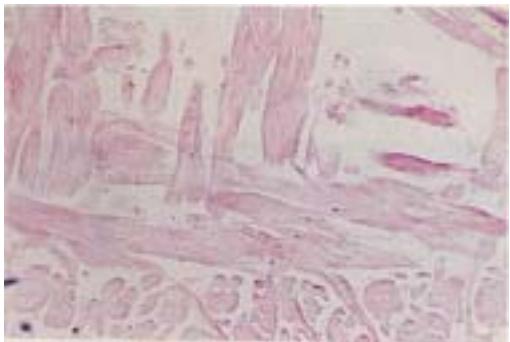


Photo.14 Mallory stain preparation of No.13 Bakagai

WSP / TP と組織化学的観察結果との間に矛盾がある。また、その他の魚介類については、標準品との対比を行っていないが、前記ばか貝等の標準品の加熱による組織変化及びWSP / TP の変化の関係から類推すると、べた貝の No.23, ばいの No.43, 46 及び魚類の No.60, 63

(Photo.24) についても、WSP / TP と組織化学的観察結果との間には矛盾があると思われる。

すなわち、No. 7, 11, 14, 16, 19, 23, 42, 43 及び 60 では、WSP / TP の結果から、十分な加熱処理を行ったものと

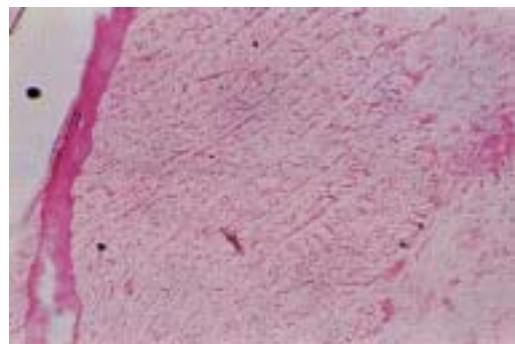


Photo.15 PAS reaction preparation of No.53 Ika

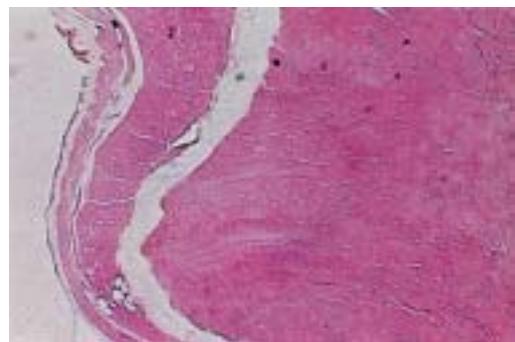


Photo.16 Ninhydrine-schiff reaction preparation of No.53 Ika



Photo.17 Mallory stain preparation of No.62 Karei



Photo.18 Mallory stain preparation of No.35
Akanishi

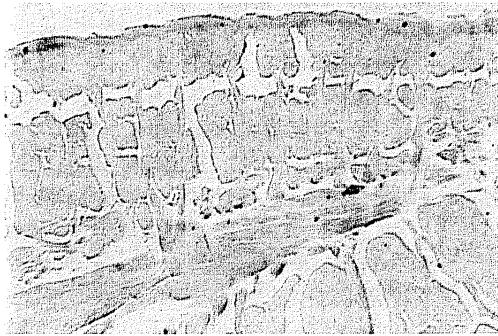


Photo.21 Ninhydrine-Schiff reaction preparation
of No.11 Bakagai

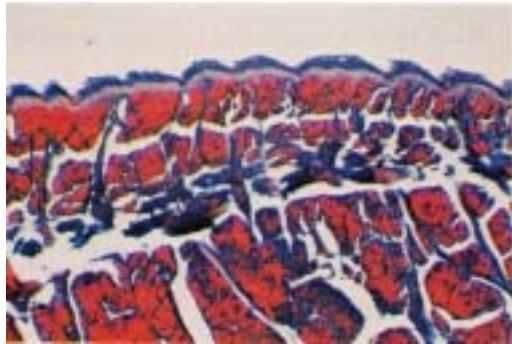


Photo.19 Mallory stain preparation of No.11
Bakagai



Photo.22 Mallory stain preparation of No.51 Ika



Photo.20 Mallory stain preparation of No.14
Bakagai

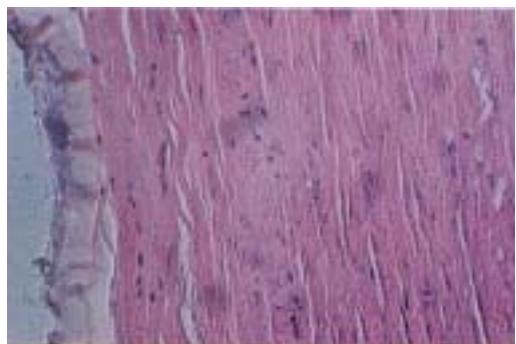


Photo.23 Haematoxyline-eosin preparation of
No.51 Ika



Photo.24 Mallory stain preparation of No.63 Kawahagi

考えられるが、組織化学的観察の結果、特にMallory染色からは、この加熱処理は3～5分間湯煮標準品に及ばないものであろうと推定される。また、魚類のNo.60については、組織が非常に損傷しており、加熱処理が十分に行われているものと推定されるが、核、核酸の存在及びMallory染色の結果からは、3～5分間湯煮標準品に及ばない加熱しか行われていないものと推定される。

一方、No.33, 46, 51, 57及び63については、WSP/TPの結果からは、3～5分間湯煮標準品に及ばない加熱処理しか行われていないことを示しているが、組織化学的観察結果では、特にMallory染色からは、十分な加熱処理が行われているものと推定される。また、魚類のNo.63については、核の不明瞭化及びMallory染色の結果からは、十分な加熱処理が行われたもののように観察されるが、このものが調味液に浸漬されていることから、その影響によるものと思われる。

また、とり貝のNo.21については、WSP/TP及びMallory染色は、わずかな加熱処理を行ったことを示すのに対して形態の損傷、核の不明瞭化は、十分な加熱処理が

行われたと同じ状態を示しているが、このものから塩分が検出されることから、その影響で核の不明瞭化等が起ったものと思われる。

5 考 察

生鮮標準品のWSP/TPは、加熱処理時間の経過とともに低下し、組織化学的観察結果との間に相関性が見られる。輸入品では、WSP/TPから推定した加熱処理時間と組織化学的観察結果から推定した加熱処理時間は一致しない場合があった。

このことは、輸入品では冷凍及び調味液の影響を考慮しなければならないことを示唆している。

一般に、たんぱく質の変性は、たんぱく質の不溶化、すなわち凝固現象を伴う。魚介類のたんぱく質の熱による変性は、ミオシン系たんぱく質及びミオーゲンたんぱく質の凝固であり、冷凍による変性は、ミオシン系たんぱく質の凝固であると考えられている。たんぱく質変性が起こるとWSP/TPは、一般に変性の程度に比例して低くなるが、冷凍処理では高くなる場合がある。また、加熱処理に冷凍処理が加わると、複雑な結果を生じ、WSP/TPと組織化学的観察結果は一致しない場合が生じたものと思われる。従って、WSP/TPの値のみから、加熱処理の有無を判断することはできない。

しかし、魚介類について、WSP/TPは、他の方法と併用することにより、標準品についての結果にも見られるように、加熱処理の有無の判断の有効な指標の一つになる。標準品についての組織化学的観察結果にも見られるように、加熱による変化は、表皮から組織内部にかけて、連続的变化としては観察されず、組織全体にわたって、加熱時間に応じて連続的に変化している。

最後に、この実験に際して、終始御指導を賜った水産大学校増殖学科西川昇平助教授に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 広川裕、水谷清美：本誌、No.7, 63 (1968).
- 2) 水谷清美：ibid., No.9, 67 (1969).
- 3) 水谷清美：ibid., No.10, 43 (1970).
- 4) 出来三男、佐藤宗衛：ibid., No.12, 83 (1972)

**On the Relation between the Ratio of Water Soluble Protein and Total Protein and Histochemical
Observation in Fishery Products**

Kenya MIKURA , Kiyomi SASAHARA

Moji Customs Laboratory , Nishikaigandori , Moji-ku , Kitakyushu-shi , Japan

Received Sep. , 14 , 1974