

加熱処理した肉種の鑑別*

加 藤 時 信, 出 来 三 男**

ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法を用いて加熱処理した肉種を鑑別する方法について検討した。加熱処理した肉からのたんぱく質の溶出には, SDS を含んだりん酸緩衝液を用いた。電気泳動法の支持体としては, 厚さ 1mm で 9% のポリアクリルアミドゲルの薄層を用いた。泳動終了後のポリアクリルアミドゲルはアミドブラック 10B で染色し, 得られたたんぱく質の泳動像はデンストメーターにより記録した。加熱処理した牛, 豚, 馬, 羊, 鶏, 七面鳥及び鯨の肉の泳動像はそれぞれ異っており, 各肉種間に特徴的な差異が認められた。この泳動像を比較することによって加熱処理した肉種の鑑別が可能であった。

1 緒 言

加熱等の処理をされた肉の調製品は, 動物種によって関税率及び輸入制度が異っているため輸入品については, 肉種の鑑別が必要になる。

著者らは前報¹⁾で, ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法により生鮮肉を迅速かつ, 簡便に鑑別する方法について報告した。生鮮肉の鑑別手段としては, ディスク電気泳動法や免疫学的な方法など多くの手段が報告されている。しかし, これらの方法のうち免疫学的な方法は, 加熱調理した肉種の鑑別には適用できないことが知られている。^{2), 3)} また, Mackie ら^{4), 5)} 及び関⁶⁾ はディスク電気泳動法を用いて加熱調理した魚肉の種類を鑑別を行っているが, 電気泳動法によって加熱処理した畜肉の種類鑑別についての報告はない。

ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法は, ディスク電気泳動法に比較して, 操作が簡単であり, 迅速に多数の試料を同時に処理できる利点を有している。本報ではこの方法を加熱処理した肉種の鑑別に応用し, 二, 三検討した結果について報告する。

2 実 験

2・1 試料及び試料の調製

実験に用いた肉は牛, 豚, 羊, 馬, 鶏, 七面鳥及び鯨の生鮮肉で, いずれも冷凍したものを原料とした。加熱処理した肉は, これらの冷凍肉を一边が約 5mm のサイコロ状に切り, 室温で解凍したのち, 沸騰水浴上でそれぞれ 1 分, 5 分及び 10 分間加熱して調製し, これを実験に用いた。

加熱による肉質中の温度変化は Fig.1 に示した。す

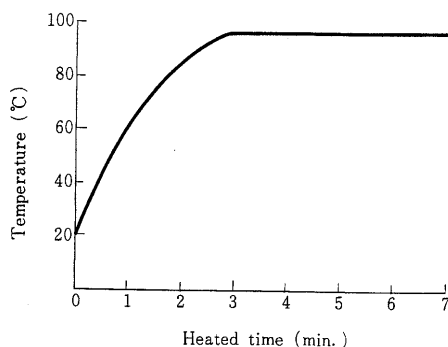


Fig.1 Relation between heated time and temperature of meat

* 本報を「ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法による肉種の鑑別」の第 2 報とする。

** 大蔵省関税中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

なわち 1 分間の加熱で肉質中の温度は約 60 になり、3 分間以後は約 98 で一定の温度に保たれていた。1 分間加熱処理した肉には部分的に赤身の肉が残っていた。

加熱処理した肉からの電気泳動用検体の調製は次のように行った。すなわち、肉をさらに細断し、その肉 3g に 2・2 に記載したいずれかの抽出溶剤 9ml を加え、氷冷しながらガラスホモゲナイザーを用いて磨碎し、粥状にした。粥状になった試料は、“ただちに”又は“40 の水浴中に 3 時間保持後”あるいは“沸騰水浴中に 10 分間保持後”，3050G で 15 分間冷却下で遠心分離した。この上澄液をさらにろ過してろ液を電気泳動用の検体とした。

2・2 検体の抽出溶剤

つぎの各種水溶液を用いてたんぱく質の抽出を行った。溶液調製に使用した水はすべてイオン交換水である。

1. 水
2. 生理食塩水 (0.85%NaCl)
3. pH9.7 トリス緩衝液 (0.05M トリス, 0.25M シュ糖, 1mM2NaEDTA)
4. pH12 ほう酸緩衝液 (0.05M ほう酸ナトリウム, 0.12MNaCl)

5. pH12SDS - ほう酸緩衝液(pH12 ほう酸緩衝液, 1%SDS)

6. pH7.0SDS - リン酸緩衝液(0.01M リン酸ナトリウム, 1%メルカプトエタノール, 1%SDS)

2・3 電気泳動の条件

ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法の諸条件及び実験方法は前報¹⁾に準じて行った。なお、ゲルの濃度は、5%、7%及び9%とした。

3 結果と考察

3・1 検体抽出溶剤の選択

加熱処理した肉からたんぱく質を抽出するための溶剤として、2・2 に示した 6 種の溶剤について検討した。

水を抽出溶剤として用いると、前報¹⁾で示したように生鮮肉からは多量のたんぱく質が抽出され、良好な泳動像が得られたが、5 分及び 10 分間加熱処理した肉の場合、溶出するたんぱく質が極めて少いため、これらの泳動像のバンドは弱く、Fig.2 に示したように肉種間の差異はほとんどなかった。一方、1 分間加熱処理した肉では、泳動像は比較的明瞭に現われており、肉種間に特徴的な差異が認められた。このような泳動像

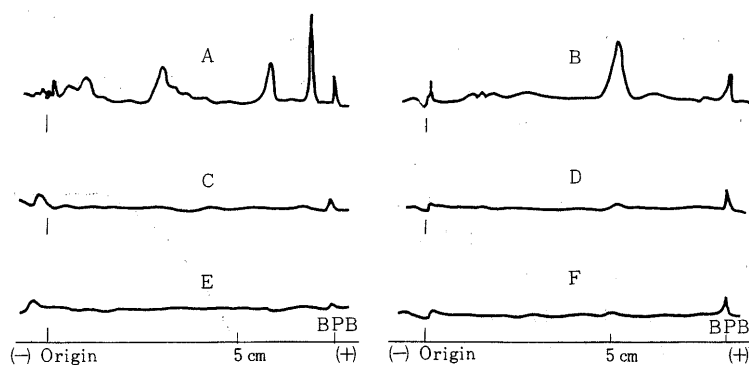


Fig.2 Densitograms of heat processed meat protein extracted with water using 5% polyacrylamide gel

Preparation of sample : Homogenize stand for 3 hr. at 40 centrifuge

- A : Pork heated for 1 min., B : Horse meat heated for 1 min.,
 C : Pork heated for 5 min., D : Horse meat heated for 5 min.,
 E : Pork heated for 10 min., F : Horse meat heated for 10 min.

の変化は、短時間(1分間)の加熱処理では未変性のたんぱく質が容易に水で抽出されるが、5分間以上の加熱処理を行うとたんぱく質はほとんど変性し、水溶性たんぱく質が減少することによるものと考えられる。しかし、1分間前後の熱処理は、肉質中への熱の浸透に再現性がなく、つねに一定した泳動像は得られなかった。

生理食塩水を抽出溶剤としても、水の場合とほとんど同じ結果であった。

トリス緩衝液、ほう酸緩衝液、SDS-ほう酸緩衝液及び SDS-りん酸緩衝液を用いて抽出した豚肉の泳動像は Fig.3 に示したとおりであり、いずれも水抽出物の場合 (Fig.2) に比較して多種類のバンドが現われている。とくに、SDS-りん酸緩衝液では、他の緩衝液に比較してピーク No.1, 2 及び 5 が明瞭に現われており、この緩衝液は加熱処理した肉のたんぱく質の抽出に最も適しているものと考えられる。ほう酸緩衝液では比較的たんぱく質の溶解性は弱い、SDS を添加した SDS-ほう酸緩衝液は、SDS 無添加の緩衝液に比較してたんぱく質の溶解性が高い。

3・2 抽出温度と時間

2・1 で記載したように、肉をホモゲナイズし、粥状になった試料を だだちに、40 で3時間保持後及び 沸騰水浴中で 10 分間保持後に、それぞれ遠心分離して得られた検体について泳動像を比較した。

の“だだちに”遠心分離して得た検体の泳動像のたんぱく質によるバンドは非常に弱く、この条件は肉種の鑑別には不適當であった。

の“40 で3時間保持後”に遠心分離した場合は、Fig.3 で示したように、SDS-りん酸緩衝液を抽出溶剤とした場合など、かなり明瞭なたんぱく質によるバンドが観察された。

の“沸騰水浴中で 10 分間保持後”に遠心分離した場合は、Fig.4 に示したように、4種の緩衝液とも条件より良好な泳動像が得られた。

これらの結果は各種の肉について同様な傾向が認められ、上記の3つの条件の中では肉種の鑑別に最適であった。

3・3 支持体の濃度と泳動像

3・1 及び 3・2 で検討したように、加熱処理した肉から電気泳動用検体の調製には、抽出溶剤として pH 7.0 の SDS-りん酸緩衝液を用い、ホモゲナイズした

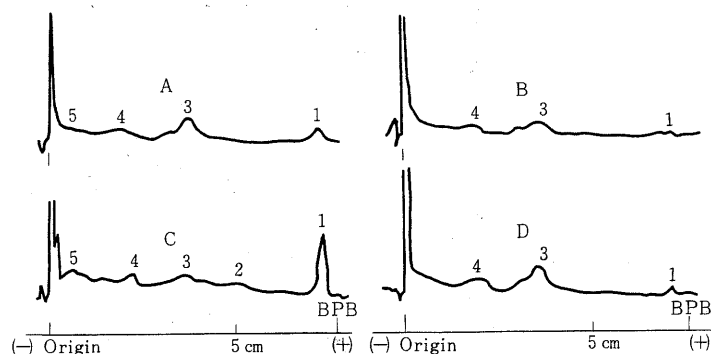


Fig.3 Densitograms of protein extracted with buffer solution from pork heated for 5 min. using 9% polyacrylamide gel
Preparation of sample : Homogenize stand for 3 hr. at 40 centrifuge

A : Extract by pH9.7 tris buffer, B : Extract by pH12 borate duffer,

C : Extract by pH7.0 SDS-phosphate buffer,

D : Extract by pH12 SDS-borate buffer

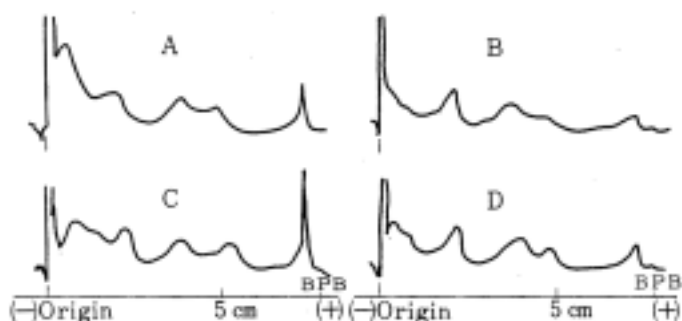


Fig.4 Densitograms of protein extracted with buffer solution from pork heated for 5 min. using 9% polyacrylamide gel

Preparation of sample : Homogenize stand for 10 min. in
boiling bath centrifuge

A : Extract by pH9.7 tris buffer, B : Extract by pH12 borate buffer,

C : Extract by pH7.0 SDS-phosphate buffer, D : Extract by pH12 SDS-borate buffer

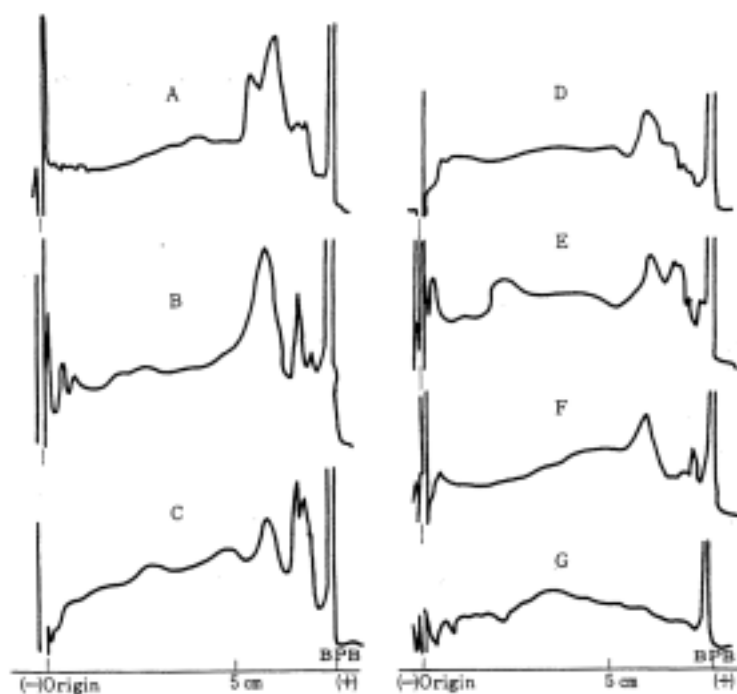


Fig.5 Densitograms of protein extracted with pH7.0 SDS-phosphate buffer from meat heated for 5 min. using 5% polyacrylamide gel

Preparation of sample : Homogenize stand for 10 min. in
boiling bath centrifuge

A : Beef, B : Pork, C : Mutton, D : Horse meat, E : chicken, F : Turkey meat,

G : Whale meat

試料を沸騰水浴中で 10 分間保持後、遠心分離して得られる上澄液を検体とする方法が適していることを知ったので、以下この条件を用いて検体を調製した。

ここでは、支持体としてのポリアクリルアミドゲルの濃度と、各種の加熱処理した肉から調製した検体の泳動像との関係について検討した。

) 5%の支持体を用いたときの泳動像

前報¹⁾の生鮮肉の鑑別に適していた5%ポリアクリルアミドゲルを支持体として、各種の加熱処理した肉から調製した検体を電気泳動法により分離した結果は Fig.5 に示した。

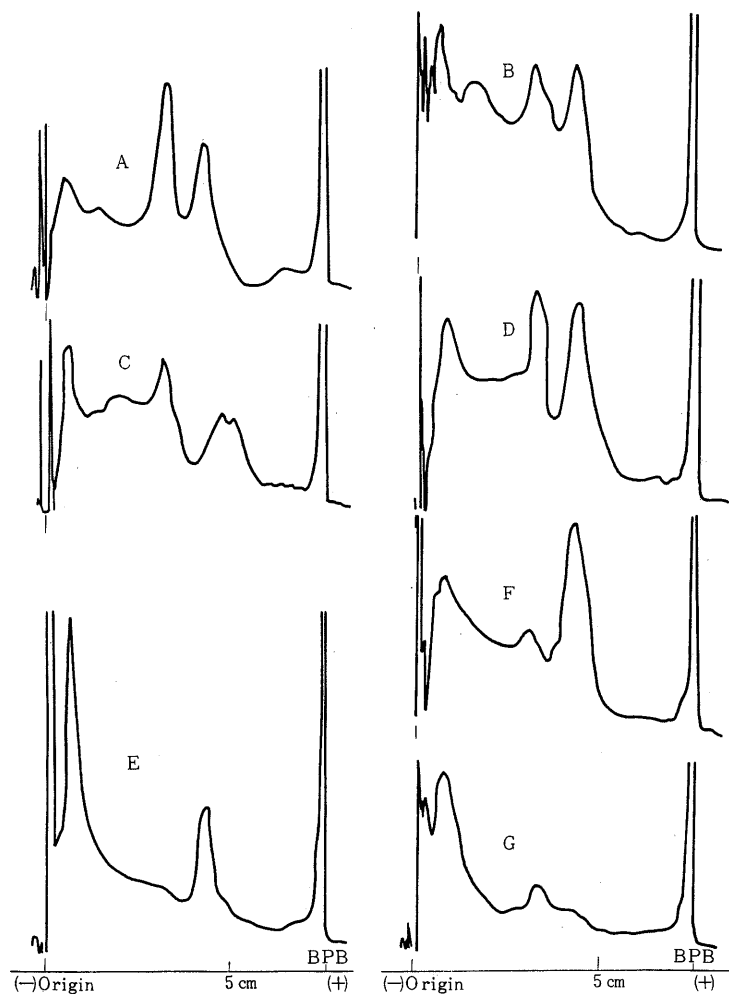


Fig.6 Densitograms of protein extracted with pH7.0 SDS-phosphate buffer from meat heated for 5 min. using 7% polyacrylamide gel

Preparation of sample : Homogenize stand for 10 min. in
boiling bath centrifuge

A : Beef, B : Mutton, C : Pork, D : Horse meat, E : chicken, F : Turkey meat,
G : Whale meat

Fig.5 に示したように、7 種の肉では、いずれも BPB 泳動先端に強いバンドが現われており、他のたんぱく質画分も大部分が泳動先端近くまで泳動している。これらのデンシトグラムでは、肉種間にそれぞれ特徴的な差異が観察されるが、デンシトグラムの各ピーク強度に再現性がなく、とくに、牛、豚、羊及び馬の各肉種間相互の鑑別は困難であった。

7%の支持体を用いたときの泳動像

7%のポリアクリルアミドゲルを支持体としたときの泳動像は Fig.6 に示した。

これらのデンシトグラムでは、いずれの試料も BPB 泳動先端に強いピークが認められるほか、数本に分離したたんぱく質画分によるピークが観察され、比較的良好な泳動像が得られた。しかし、牛、羊及び馬肉

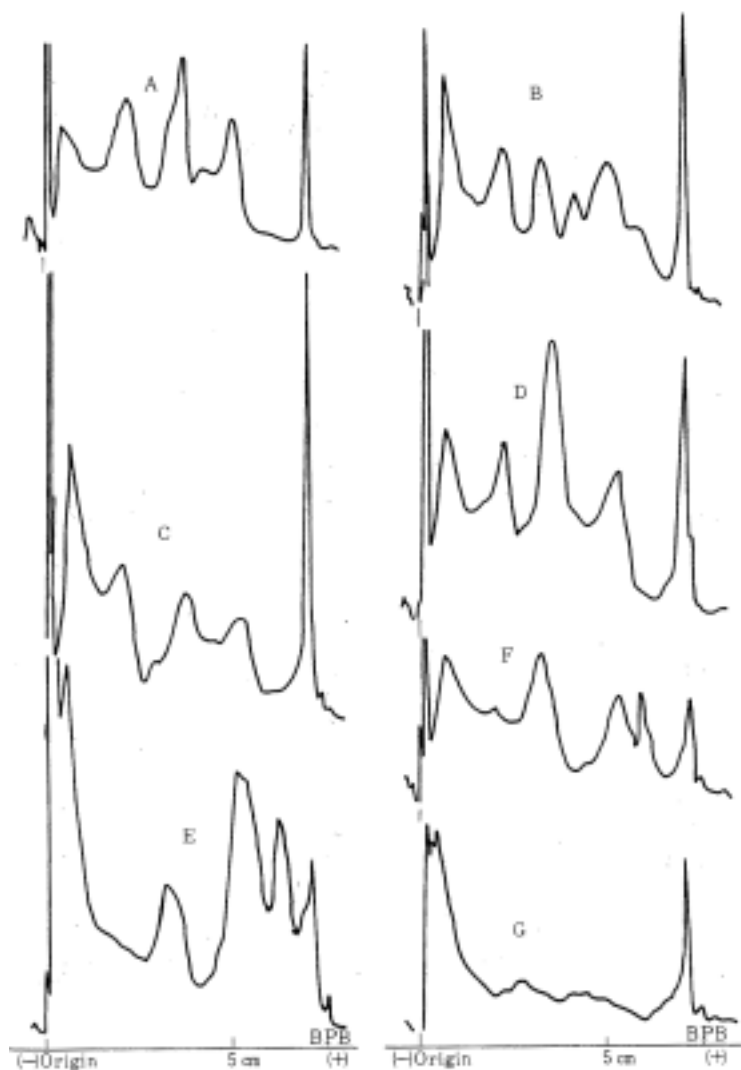


Fig.7 Densitograms of protein extracted with pH7.0 SDS-phosphate buffer from meat heated for 5 min. using 9% polyacrylamide gel

Preparation of sample : Homogenize stand for 10 min. in
boiling bath centrifuge

A : Beef, B : Mutton, C : Pork, D : Horse meat, E : Chicken, F : Turkey meat,
G : Whale meat

の泳動像は比較的類似しており、これらの肉種間相互の鑑別にはこの条件は適していない。

) 9%の支持体を用いたときの泳動像

9%のポリアクリルアミドゲルを支持体とした場合の泳動像は Fig.7 に示した。

すなわち、各種肉のデンストグラムは、5%及び7%のポリアクリルアミドゲルを支持体とした場合のデンストグラムとは異なっており、BPB 泳動先端にはシャープで弱いピークが現われ、原点から泳動先端まで、分子量の異なる各たんぱく質画分の泳動像が良好な分離を示して現われており、比較的テーリングも少ない。さらに、肉の種類によってそれぞれ特徴的なパターンを示している。したがって、この泳動パターンの違い

を比較することによって加熱処理した肉種の鑑別が可能であると考えられる。

5 分間加熱処理した各種肉の泳動像は Fig.7 に示した。この泳動条件では、肉の加熱時間の違いによる各泳動像に著しい差はなかった。

支持体としてのポリアクリルアミドゲル濃度により、たんぱく質の分離性が変わることはよく知られているところであるが、加熱処理した肉を SDS 含有の緩衝液で抽出した検体について泳動する場合、9%ポリアクリルアミドゲルが最も適していることを知った。

なお、混合肉及び種々の添加物を含む肉の調製品への応用については今後さらに検討を続けたい。

文 献

- 1) 加藤時信，出来三男：本誌，第 17 号，17 (1977) .
- 2) 村上一，神崎政子，梅木富士郎，春田三佐夫，辺野喜正夫：都立衛研研究年報，22，79 (1970) .
- 3) 村上一，神崎政子，梅木富士郎，春田三佐夫，辺野喜正夫：都立衛研研究年報，22，83 (1970) .
- 4) I. M. Mackie : *Analyst* , 93 , 458 (1968) .
- 5) I. M. Mackie : and T. Taylor : *Analyst* , 97 , 609 (1972) .
- 6) 関伸夫：日本水産学会誌，42，1169 (1976) .

Identification of Meat Species by Polyacrylamide Gel Electrophoresis(2)

Identification of Heat Processed Meat Species

Tokinobu KATO and Mitsuo DEKI*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance,
531, Iwase, Matsudo - shi, Chiba - ken, 271 Japan

The identification of heat processed meat from different animal species, employing polyacrylamide gel thin-layer electrophoresis, was investigated. For the extracting solvent of proteins from heat processed meat, phosphate buffer containing SDS(1%) was used. The electrophoretic procedure was that described previously,¹⁾ involving the use of 9% polyacrylamide gel thin-layer. The present methods of identifying meat species were based on the species-specific protein-separation patterns obtained by electrophoresis of the buffer-soluble proteins from heat processed meat. This technique can be used to detect the meat species of beef, pork, horse meat, mutton, whale meat, chicken and turkey meat, respectively.

Received Sept. 30. 1977