

報 文

混合生鮮肉の肉種の鑑別と分離定量*

加 藤 時 信 , 川 端 省 三 ** , 出 来 三 男 ***

ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法により、混合された生鮮肉中の肉種鑑別とその混合割合の定量について検討した。

混合肉の試料としては牛肉に馬肉、豚肉、マトンまたは七面鳥肉を混合したものを用いた。電気泳動用の検体は試料から水抽出によって調製した。電気泳動法の支持体としては、厚さ1mmの5%のポリアクリルアミドゲルを用いた。泳動終了後のゲルはアミドブラック10Bで染色し、デンシトメーターにより記録し、デンシトグラム上のたんぱく質による各ピーク強度は積算計を用いて求めた。

混合肉のデンシトグラムは牛肉に由来するたんぱく質のピークのほか、牛肉に添加した異種動物肉に特徴的なピークまたはピーク強度関係を示しており、牛肉に添加された異種動物肉の確認が可能であった。混合肉のデンシトグラムの各ピークのうち牛肉に特徴的なピークと、添加した肉に特徴的なピークとのピーク強度比は混合肉の割合との間に良い直線関係があり、本法が混合肉の分離定量法として有効であることを知った。

1 緒 言

輸入制度上、生鮮な牛の肉（くず肉を含む）は非自由化品目であり、他の生鮮な畜肉類と取扱いを異にしている。したがって、これらの新鮮畜肉類が混合されたものでは、関税率表分類上混合肉の割合を知る必要がある。また、牛肉または豚肉（くず肉を含む）の調製品であって、牛肉または豚肉が主成分となっているものも非自由化品目であるため、肉種の鑑別及び混合肉の割合を知ることは、関税率表分類にあたって重要な問題となっている。

肉種の鑑別及び混合肉の定量法については、いくつかの報告がある。A.R.Hayden¹⁾は免疫学的な方法を用いて、牛肉に混合された鶏肉¹⁾及び異種動物の血液²⁾の検出を行っている。また、肉に混合された植物たんぱく質の分析法として、Y.B.LeeらのSDS-ポリア

クリルアミドゲルディスク電気泳動法³⁾、その他種々の手段を用いた方法^{4)~8)}が報告されている。しかし、畜肉相互を混合した肉製品の肉種鑑別及びその分離定量法についての報告はほとんど見当らない。

著者らは既に、ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法による単一の生鮮肉⁹⁾及び加熱処理した肉¹⁰⁾の種類鑑別について報告した。

ここでは、ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法により、生鮮な牛肉に混合された異種の肉の鑑別及び混合肉種の分離定量について検討し、迅速な鑑別手段として有用であり、さらに、この方法により混合肉の割合を推定できることを知ったので報告する。

2 実 験

2・1 試料及び試料の調製

実験に用いた肉は牛、馬、豚、羊及び七面鳥の生肉で、いずれも冷凍したものを用いた。

これらの肉はそれぞれ別々に細断し、肉種ごとに約10gを正確に秤り取り、正確に2倍量の脱イオン水を加えてシルバーソン万能形ホモグナイザーを用いて磨

* 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3報とする。

** 大蔵省關稅中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

*** 大蔵省關稅局企画課 100 東京都千代田区霞ヶ関3-1-1

碎し、粥状にした。粥状の牛肉の一定量に、同様に処理した馬 豚 羊または七面鳥肉の一定量を加え、Table 1に示した混合割合に試料を調製した。

これらの混合肉は再びホモゲナイズし、3050×Gで15分間遠心分離し、上澄液はさらにろ過してろ液を電気泳動用の検体とした。

Table 1 Mixed ratio of beef and other meat

Meat mixtures	Beef content of each samples (%)						
	A	B	C	D	E	F	G
Beef + Horse meat	100	80	65	50	35	20	0
Beef + Pork	100	78	70	51	30	22	0
Beef + Mutton	100	79	69	50	31	22	0
Beef + Turkey meat	100	77	68	51	32	23	0

2・2 操作

泳動条件、たんぱく質像の染色、脱色及びデンシトグラムの作成などの諸条件並びに実験方法はほぼ前報に準じて行った。⁹なお、ポリアクリルアミドゲルの濃度は5%のものを用いた。

すなわち、厚さ1mmのゲル板の試料溝に検体を注入し、ゲル巾の1cm当たり1mAの定電流を通じて泳動を行った。泳動を終了したゲル板はアミドブラック10Bで染色し、過剰の色素は酢酸水溶液を用いて除いた。ゲル中の染色されたたんぱく質像は、島津製作所製CS910S型二波長薄層クロマトスキャナを用いてデンシトグラムとして記録した。また、デンシトグラム上の各たんぱく質像によるピーク強度は、島津製作所製クロマトパックE1A型積算計を用いて測定した。

3 結果と考察

3・1 牛肉と馬肉の混合肉

牛肉、馬肉及びこれらの混合肉から水抽出して得た検体の電気泳動像のデンシトグラムはFig. 1に示した。牛肉と馬肉のデンシトグラムのピークパターンを比較すると、牛肉で最強ピークとなっているピーク5は、馬肉では非常に弱くプロードなピークとなってしまっており、牛肉でのピーク4及び3に相当するピークは、馬肉ではほとんど認められない。一方、馬肉の最強ピークであるピーク6は、牛肉ではほとんど認められず、

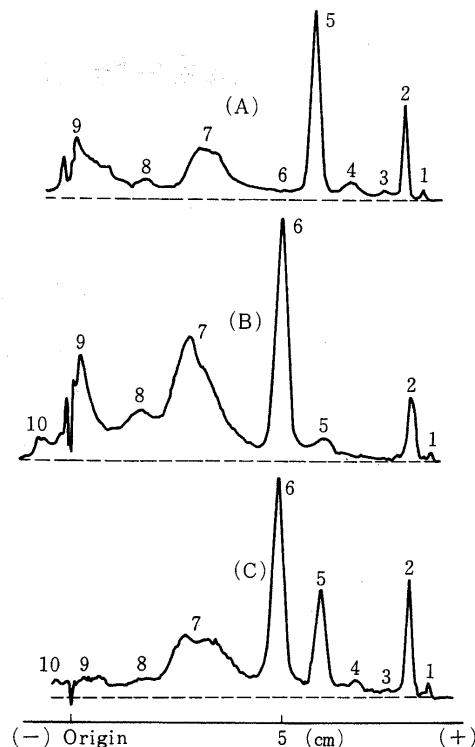


Fig. 1 Densitograms of electrophoretogram of meat protein extracted with water from beef, horse meat and beef-horse meat mixture
(A) : Beef, (B) : Horse meat, (C) : Beef + Horse meat (65%)

また、馬肉で原点より陰極側に泳動しているピーク10の成分は、牛肉では検出されない。このような両者の泳動パターンの特徴は、両者を混合した試料の泳動パターンによく反映されており、その泳動像から牛肉と馬肉の存在が確認できる。すなわち、両者の混合肉の泳動像には、牛肉に認められるピークのほか、馬肉に特徴的なピーク6及び10が新たに現われる。

牛肉と馬肉の混合肉の泳動像のうち、牛肉に強く現われるピーク5と、馬肉に強く現われるピーク6などのピーク強度比は、両者の肉の混合割合と相関性がある。混合割合の異なる各試料について、それぞれ、ピーク6に対するピーク5の強度比(4回の平均)

値)と肉の混合比との関係をプロットした結果はFig. 2に示した。牛肉20%から65%を含む4種類の混合肉で得られた結果について、分散分析による直線性の検定を行った。Table 2に示したように、F検定の結果5%の危険率において、ピーク強度比と肉の混合比と

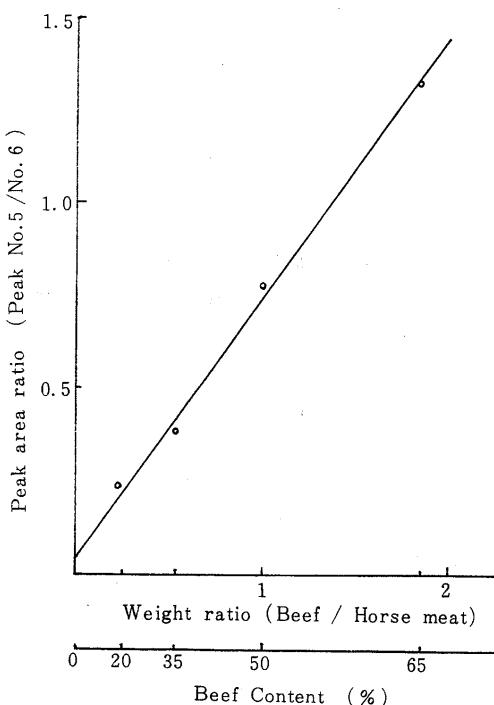


Fig. 2 Relationship between the peak area ratio and weight ratio of meat mixed

の間には直線関係があり、その回帰直線は、 $y = 0.692x + 0.05$ ($r = 0.9951$, 相関係数)である。ここで y はピーク5 / ピーク6(面積比)、 x は牛肉 / 馬肉(重量比)である。この直線関係から混合肉の割合を定量できるが、同一動物種でも飼育条件によって泳動像のピーク強度に若干の固体差があるので、この条件では、混合割合の推定手段として利用した。

つぎに、牛肉に馬肉を20%から65%の割合で混合した4種類の混合肉について、ピーク6 / ピーク5の比と混合肉の割合(馬肉 / 牛肉)との間には直線関係があり、回帰直線 $y = 1.33x - 0.034$ ($r = 0.9931$)が得られた。ここで、 x は馬肉 / 牛肉の重量比であり、 y はピーク6 / ピーク5の面積比である。

Table 2 Regression analysis for results

	Degree of freedom	Sum of square	Mean of square
Total	15	2.85841	
Within class	12	0.01642	0.001368
Regress	1	2.79497	
Residual	2	0.0047005	0.0023500
$F_{12}^2 = 3.89$ ($P=0.05$)			$F=1.72$

3・2 牛肉と豚肉の混合肉

Fig. 3に牛肉、豚肉及びこれらの混合肉のデンシト

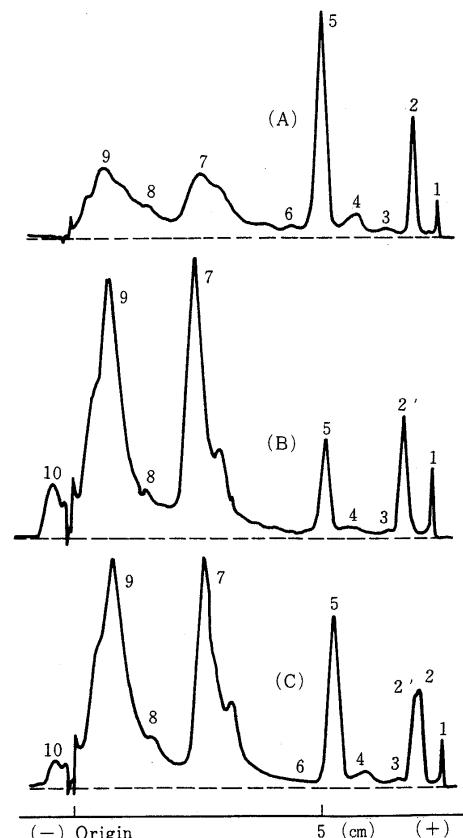


Fig. 3 Densitograms of electrophoretogram of meat protein extracted with water from beef, pork and beef-pork mixture

(A) : Beef, (B) : Pork, (C) : Beef + Pork (70%)

グラムを示した。牛肉と豚肉のピークパターンを比較すると、豚肉のピーク 2 は牛肉のピーク 2 よりわずかに原点寄りに現われ、豚肉のピーク 7 及び 9 は牛肉のそれよりシャープで強いピークとなっており、また、豚肉のピーク 10 は牛肉には認められないなどの相違がある。牛肉と豚肉の混合肉のデンシトグラムは豚肉によるピーク 2 が牛肉のピーク 2 の肩となって現われ、牛肉によるピーク 4 及び豚肉によるピーク 10 も認められる。このほか、ピーク 5、7 及び 9 などの強度関係を比較して、混合肉であるとの確認が可能である。

牛肉と豚肉の混合肉について、ピーク 7 / 5 比と牛肉と豚肉の混合比（豚肉 / 牛肉）の関係を Table 3 に示した。この関係から求めた回帰直線は、 $y = 0.628x + 1.065$ ($r = 0.9676$) であった。ここで、y はピーク 7 / 5 (面積比)、x は豚肉 / 牛肉 (重量比) である。

3・3 牛肉とマトンの混合肉

Fig. 4 には牛肉、マトン及びこれらの混合肉のデンシトグラムを示した。牛肉とマトンのたんぱく質組成はよく類似しており、両者の泳動像も近似しているが、

しかし、デンシトグラムでは、ピーク 2 と 5 の強度関係及びピーク 7 ~ 9 付近のピークの形状に違いが認められる。これらのピークパターンから牛肉とマトンの存在が推定される。

牛肉とマトンの混合肉について、ピーク 5 / ピーク 2 比と混合肉の割合（マトン / 牛肉）との関係を Table 4 に示した。回帰直線は、 $y = -0.262x + 2.947$ ($r = -0.6529$) であった。ここで、y はピーク 5 / 2 (面積比)、x はマトン / 牛肉 (重量比) である。この場合の相関性は悪く、この条件で両者の混合割合を求めるには、さらに検討を要する。

3・4 牛肉と七面鳥肉の混合肉

Fig. 5 に牛肉、七面鳥肉及びこれらの混合肉のデンシトグラムを示した。牛肉と七面鳥肉のピークパターンを比較すると、牛肉のピーク 2、4 及び 5 に相当するたんぱく質像は七面鳥肉にほとんど存在せず、ピーク 7 附近のピーク形状の違いは特徴的である。両者の混合肉のデンシトグラムでは、牛肉に由来するピークのほか、ピーク 3 及びピーク 7 附近に七面鳥に特徴的なピークが現われることなどから、両者の肉が混合されていることを確認できる。

Table 3 Relationship between peak area ratio (peak No.7 / No.5) and beef-pork weight ratio (pork / beef)

Beef (%)	100	78	70	51	30	22	0
Pork / Beef	0	0.282	0.429	0.961	2.333	3.545	∞
Weight ratio							
Peak No. 7 / No. 5	0.93	1.21	1.30	1.77	2.91	3.03	5.19
Peak area ratio*							

* Average of three times

Table 4 Relationship between peak area ratio (peak No.5 / No.2) and beef-mutton weight ratio (mutton / beef)

Beef (%)	100	79	69	50	31	22	0
Mutton / Beef	0	0.266	0.449	1.000	2.226	3.545	∞
Weight ratio							
Peak No. 5 / No. 2	3.44	2.85	2.52	2.37	2.16	2.10	1.69
Peak area ratio*							

* Average of three times

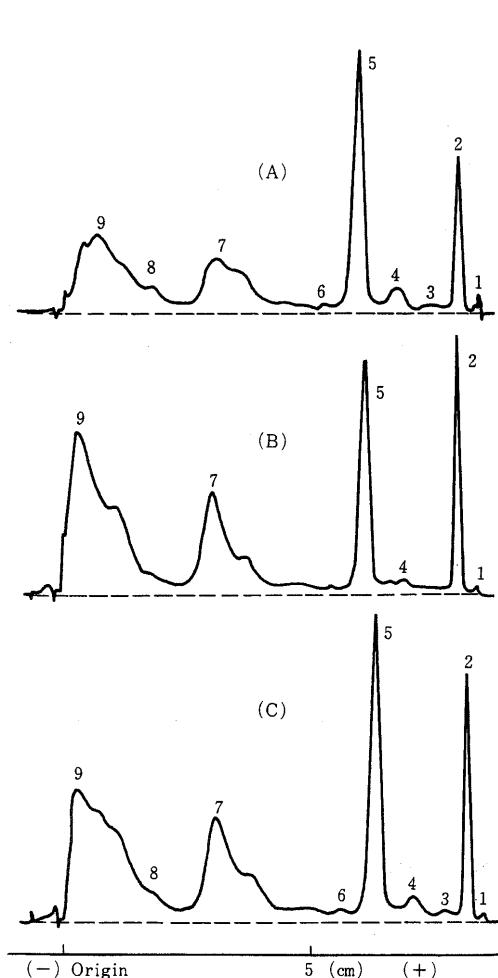


Fig. 4 Densitograms of electrophoretogram of meat protein extracted with water from beef, mutton and beef - mutton mixture
 (A) : Beef, (B) : Mutton, (C) : Beef + Mutton (50%)

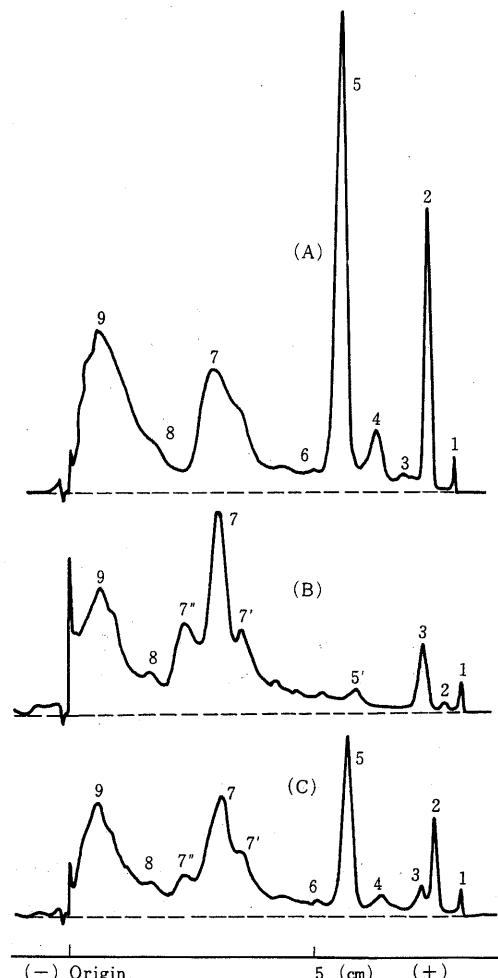


Fig. 5 Densitograms of electrophoretogram of meat protein extracted with water from beef, turkey meat and beef - turkey meat mixture
 (A) : Beef, (B) : Turkey meat, (C) : Beef + Turkey meat (49%)

Table 5 Relationship between peak area ratio (peak No.7 ~ 7 / No.5) and beef-turkey meat weight ratio(turkey meat / beef)

Beef (%)	100	77	68	51	32	23	0
Turkey meat / Beef, Weight ratio	0	0.299	0.471	0.961	2.125	3.348	∞
Peak No. 7' ~ 7'' / No. 5, Peak area ratio*	0.97	1.43	1.81	2.52	4.10	5.42	13.58

* Average of three times

デンシトグラムにおけるピーク面積強度比(ピーク
7 ~7 / 5)と混合肉の割合(七面鳥/牛肉)
との関係をTable 5に示した。回帰直線は, $y = 1.304x + 1.122$ ($r = 0.9815$)であった。ここで, y はピーク
7 ~7 / 5(面積比), x は七面鳥肉/牛肉(重量比)
である。

4 まとめ

ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法により, 生鮮の混合肉の肉種鑑別とその混合割合の定量について検討した。混合肉として, 牛肉に馬, 豚, マトンまたは七面鳥の肉を混合したものを試料とした。電気泳動の支持体には, 5%のポリアクリルアミドゲルを用い,

諸条件は前報⁹⁾に従った。

混合肉のデンシトグラムでは, 牛肉に由来するたんぱく質のピークのほか牛肉に添加された異種動物に特徴的なピークが観察され, 牛肉に添加された異種動物肉の確認が可能であった。

また, 混合肉のデンシトグラムの各ピークの中から, 牛肉に特徴的なピークと牛肉に添加された異種動物肉に特徴的なピークを選択し, これらのピーク強度比と肉の混合割合との間には良い直線関係が得られ, この方法が混合肉の分離定量法としても有効な手段であることがわかった。しかし, 同一動物種でも飼育条件によって泳動像に差があることも考えられるので, 混合割合の定量にあたっては, 混合に使用した原料肉を標準試料として分析する必要がある。

文 献

- 1) A. R. Hayden : *J. Food Sci.*, **42**, 1189 (1977).
- 2) A. R. Hayden : *J. Food Sci.*, **43**, 476 (1978).
- 3) Y. B. Lee, D. A. Rickansrud, E. C. Hagberg and E. J. Briskey : *J. Food Sci.*, **40**, 380 (1975).
- 4) 飯島淑子 : 日本食品工業学会誌, **24**, 516 (1977).
- 5) 飯島淑子 : 日本食品工業学会誌, **24**, 648 (1977).
- 6) A. W. Khan and D. C. Cowen : *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 236 (1977).
- 7) F. J. Bailey : *J. Sci. Food Agric.*, **27**, 827 (1976).
- 8) J. W. Llewellyn and B. Flaherty : *J. Food Technol.*, **11**, 555 (1976).
- 9) 加藤時信, 出来三男 : 本誌, **17**, 17 (1977).
- 10) 加藤時信, 出来三男 : 本誌, **18**, 59 (1978).

Identification of Meat Species by Polyacrylamide Gel Electrophoresis (3)

Identification and Quantitative Determination of Meat Species in Fresh Meat Mixture

Tokinobu KATO, Shozo KAWABATA* and Mitsuo DEKI**

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

** Planning and Duty Section of Customs and Tariff Bureau,
3 - 1 - 1 Kasumigaseki, Chiyoda - ku, Tokyo, 100 Japan

The identification of species and quantitative determination of the meat added to fresh beef by thin-layer electrophoresis using polyacrylamide gel were investigated.

For the separation of proteins extracted with water from the sample, five per cent polyacrylamide gel

(1 mm thickness) was used. Electrophoretogram of meat proteins were recorded by densitometer.

The present methods for identifying species in meat mixture based on the characteristic distribution of proteins separated of mixed meat.

The quantities of adulterant in beef may be calculated by using the proportion of characteristic individual peak pattern from electrophoretogram.

This method can be used to detect the species of horse meat, pork, mutton or turkey meat added to beef, and to the quantification of meat added to beef.

- Received Sept. 4, 1978 -