

ノート

等電点電気泳動法による肉種の鑑別（第2報）

鈴木 稔，早野 弘道*

Identification of Meat Species by Isoelectric Focusing (2)

Minoru SUZUKI, Hiromichi HAYANO*

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

The previous paper¹⁾ indicated that isoelectric focusing (IEF) of proteins of fresh meat was effective to differentiate beef from pork.

It was found that the IEF method was also useful for identification of these meats boiled at 60 - 95° for 10 min. Blended ratios of mixtures of beef and pork boiled at 75° for 10 min could be determined by peak height ratios obtained from densitograms of IEF gels. Rapid and reproducible analysis was possible by using 0.35 mm - thick, 5% polyacrylamide gels of pI 3 - 9.

- Received April 28, 1990 -

1 緒言

肉種の鑑別法は、種々の方法が研究され、生鮮肉（冷蔵及び冷凍品を含む。）については、免疫学的な方法及びポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法^{(2), (3)}による報告が、また、加熱処理した肉については、SDS - ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法⁽⁴⁾による報告がある。

著者らは、前報⁽¹⁾において等電点電気泳動法は生鮮肉の肉種の鑑別に有効であることを報告したが、今回、新たな電気泳動装置を用い、等電点電気泳動法による迅速かつ再現性の高い肉種の鑑別法及び肉種の混合割合の定量法の確立を目的として加熱処理した肉について検討したので報告する。

2 実験

2.1 試薬及び装置

- (1) ゲル：5%ポリアクリルアミドゲル（約2%両性担体pH3~9を含む。）
幅43mm、長さ50mm（分離帯37mm），
厚さ0.35mm（Pharmacia）
- (2) 固定液：20%トリクロロ酢酸水溶液
- (3) 染色液：0.02%クマシーブリリアントブルーR
及び0.1%硫酸銅を含む脱色液
- (4) 脱色液：メタノール：酢酸：水=3:1:6
- (5) 電気泳動装置：PhastSystem™（Pharmacia）
- (6) クロマトスキヤナ：二波長薄層クロマトスキヤナCS910型（島津製作所）

*大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

2.2 試料の調製

- (1) 生肉 ; A : 牛肉, B : 豚肉
 (2) 加熱処理した肉(牛肉及び豚肉各々約1cm角に切ったものを約100mlの加熱水[加熱温度]に10分間入れたもの)
 C : 牛肉 [95], D : 牛肉 [75],
 E : 牛肉 [60]
 F : 豚肉 [95], G : 豚肉 [75],
 H : 豚肉 [60]
 (3) 加熱処理した肉の混合物(上記加熱処理したものうち, 75及び95の条件で加熱処理した牛肉及び豚肉を次の重量%で混合したもの);
 I : 牛肉 [70%] + 豚肉 [30%], J : 牛肉 [50%] + 豚肉 [50%], K : 牛肉 [30%] + 豚肉 [70%]

2.3 試料の調製

試料(A~K)各々10gに水10mlに加え, ミキサーで細かく粉碎し, 粥状にした後, 10000r.p.m.で20分間遠心分離し, 上澄液をろ過した。95で加熱したもの(C及びF)は, 更にろ液を凍結乾燥器で濃縮したものを検体とし, その他のものは, ろ液を検体とした。

2.4 電気泳動

2.4.1 電気泳動条件

2.3で調製した各々の検体(1μl)をサンプルアブリケーター用い, ゲルにセットした後, 次に示す

泳動条件で泳動した。泳動時間は, 約30分間である。

予備泳動	2000V	2.5mA	3.5W	15
	75Vhr			
サンプル添加	2000V	2.5mA	3.5W	15
	15Vhr			
本泳動	2000V	2.5mA	3.5W	15
	410Vhr			

2.4.2 固定, 染色及び脱色

泳動後のゲルを染色・脱色槽に移し, 固定液, 染色液及び脱色液を順次入れ, 固定, 染色及び脱色操作を行った。

固定	20	5分
染色	50	10分
脱色	50	10分

脱色終了後, ゲルを染色・脱色槽から取り出し, 乾燥した。

3 結果及び考察

実際に用いた市販のゲルが, 前報で用いたもの(132mm×111mm×1mm)より, 薄くかつ小さいことから, 泳動, 染色及び脱色に要する時間は, 約10分の1から20分の1に短縮された。また, 泳動像も明確で再現性も良好であった。

牛肉及び豚肉の泳動像は, すでに報告したとおり, 明らかに相違する泳動パターンが認められる(Photo.)。

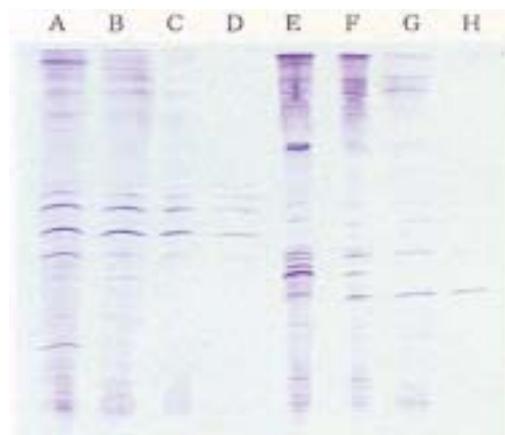


Photo. 1 A : beef, B : 60, 10min. boiled beef, C : 75, 10min. boiled beef,
 D : 95, 10min. boiled beef, E : pork, F : 60, 10min. boiled pork,
 G : 75, 10min. boiled pork, H : 95, 10min. boiled pork

等電点電気泳動法による肉種の鑑別（第2報）

1, A, E) また、加熱処理した泳動像は、温度が高くなるに従い、細かいバンドがほとんど消失してくる。このことは、加熱処理の程度により牛肉及び豚肉の水溶性たんぱく質の量が相当量減少したためと考えられる（Photo. 1）。

加熱した豚肉及び牛肉の混合物の泳動像は、Photo. 2 (75, 10分加熱) 及び Photo. 3 (95 10分加熱) に示すとおりである。

Photo. 2 のデンシトグラム (Fig. 1) のピークパターンを比較すると、ピーク No. 1 及び 3 は牛肉に、

ピーク No. 2, 4 及び 5 は豚肉に由来するものと考えられる。ピーク No. 3 及び 5 の強度比と肉の混合割合の相関性をもとめると、牛肉に豚肉を 0% から 70% の割合で混合したものについて直線関係があり、その回帰直線は、 $y = 0.612x \times 0.160$ ($r = 0.992$ 相関係数) である (Table. 1 及び Fig. 2)。ここで、y はピーク No. 3 / ピーク No. 5 (ピークの高さの比), x は牛肉 / 豚肉 (重量 %) である。

また、豚肉に牛肉を 0% から 70% の割合で混合したものについても直線関係があり、その回帰直線は、

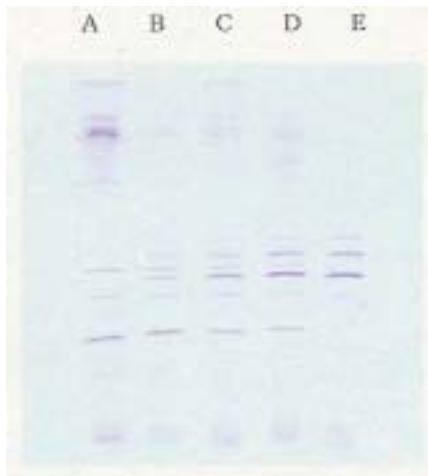


Photo. 2 75, 10min, Boiled Beef, Pork and Blended Meats

A : beef, B : beef + pork (30%), C : beef + pork (50%), D : beef + pork (70%), E : pork

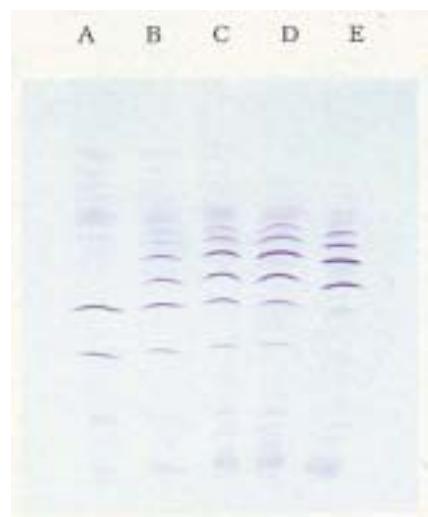


Photo. 3 95, 10min, Boiled Beef, Pork and Blended Meat

A : beef, B : beef + pork (30%), C : beef + pork (50%), D : beef + pork (70%), E : pork

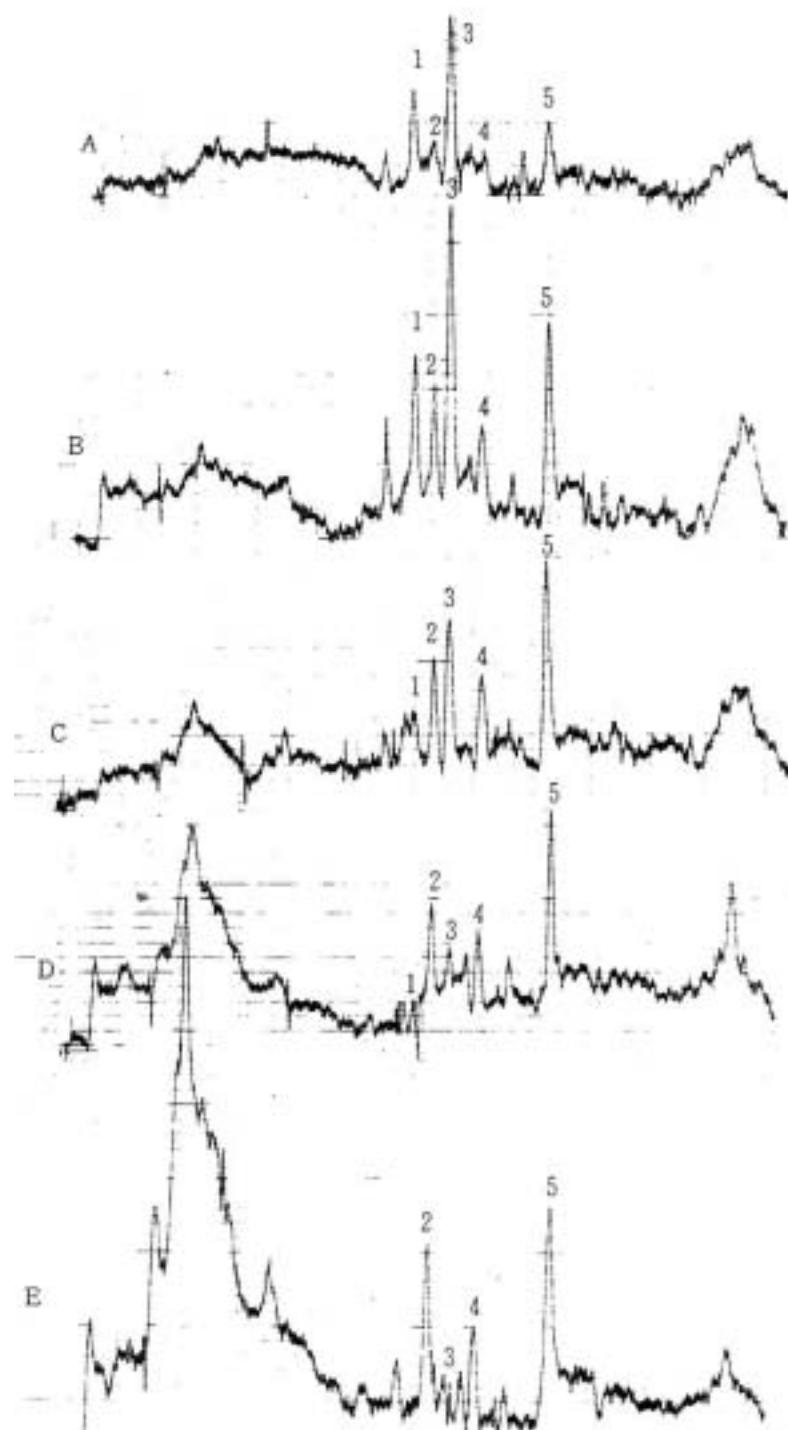


Fig. 1 Densitograms of Isoelectric Focusing of Meat Proteins Extracted with Water from Beef,

Pork and Blended Meat Boiled at 75° for 10min

A : beef, B : beef + pork (30%), C : beef + pork(50%), D : beef + pork (70%), E : pork

等電点電気泳動法による肉種の鑑別(第2報)

Table. 1 Relationship between Peak Height Ratio
(peak No.3 / No.5) and Beef - Pork
Weight Ratio (beef / pork)

Beef(W/W%)	100	70	50	30	0
Beef/Pork Weight ratio	∞	2.3	1	0.43	0
Peak No.3/No.5					
Peak height ratio	2.4	1.6	0.73	0.34	0.25

Table. 2 Relationship between Peak Height Ratio
(peak No.5 / No.3) and Beef - Pork
Weight Ratio(beef / pork)

Pork(W/W%)	100	70	50	30	0
Pork/Beef Weight ratio	∞	2.3	1	0.43	0
Peak No.5/No.3					
Peak height ratio	4.0	2.9	1.4	0.64	0.42

$y = 1.22x \times 0.298$ ($r = 0.995$) である (Table. 2 及び Fig. 3)。ここで, y はピーク No. 5 / ピーク No. 3, x は豚肉 / 牛肉である。

なお, Photo. 3 (95 10 分加熱) のデンシットグラムから, 同様に混合割合の定量を試みたが良好な結果は得られなかった。加熱処理の程度により, 水溶性た

んぱく質の量が少なり, キーバンドを用いた混合割合の定量は困難になると考えられる。

したがって, 75, 10 分またはそれ以下の条件で加熱した豚肉及び牛肉の混合物については, その水抽出物の等電点電気泳動法により, 混合割合を求めるこ

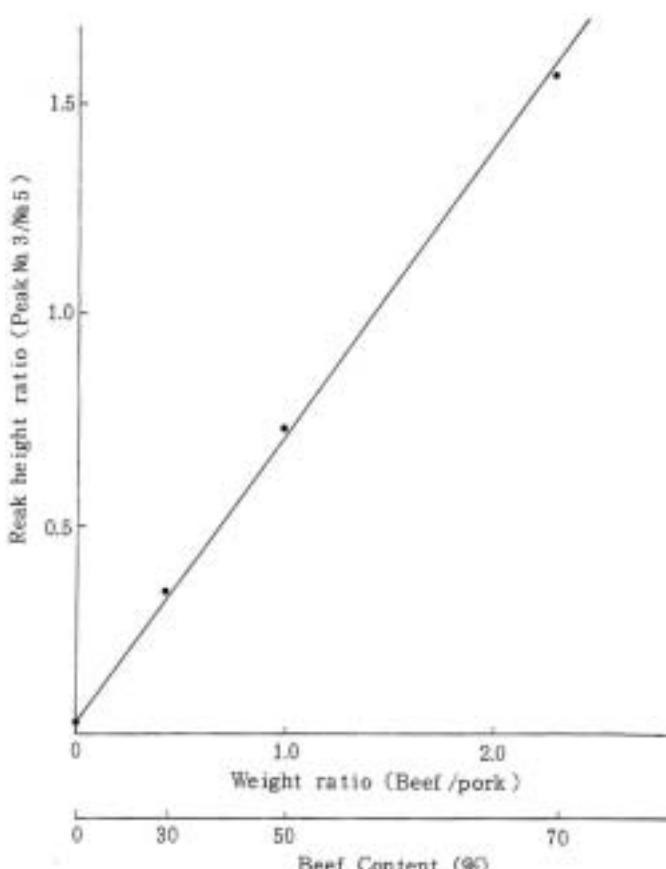


Fig. 2 Relationship between Peak Height Ratio
and Weight Ratio of Blended Meat

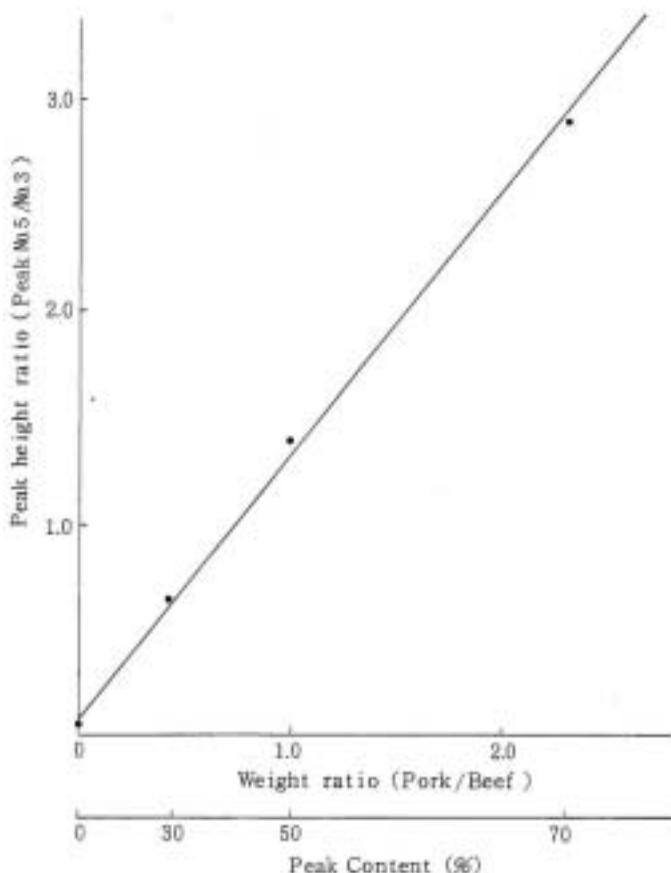


Fig. 3 Relationship between Peak Height Ratio
and Weight Ratio of Blended Meat

4 要 約

加熱(60, 75, 95; 10分)処理した牛肉及び豚肉の肉種の鑑別は、水抽出物の等電点電気泳動法により可能と考えられる。さらに、加熱(75:10分)処理した牛肉及び豚肉の混合割合はこの方法により得られた泳動像のデンシトグラムから求めることが

できた。

なお、市販の5% - ポリアクリルアミドゲル[幅43mm, 長さ50mm(分離帯37mm), 厚さ0.35mm(Pharmacia)]を用いれば、前報で用いたものより、泳動、染色及び脱色に要する時間が約10分の1から20分の1に短縮され、泳動像が明確で再現性の高い分析が行えることがわかった。

文 献

- 1) 鈴木 稔, 川端省三:本誌, 29, 45 (1989)
- 2) 加藤時信, 出来三男:本誌, 17, 17 (1977)
- 3) 加藤時信, 川端省三, 出来三男:本誌, 19, 57 (1979)
- 4) 加藤時信, 出来三男:本誌, 18, 17 (1978)