

SDS ゲル電気泳動における肉製品中の 大豆タンパク質の検出

山本克博*・小林直樹*・鮫島邦彦*

Detection of Soybean Protein in Meat Product
by SDS Gel Electrophoresis

Katsuhiro YAMAMOTO, Naoki KOBAYASHI
and Kunihiko SAMEJIMA

(May, 1982)

緒 論

大豆タンパク質の肉製品への添加は、製造コストの低減を目的とする増量剤としての使用法と、肉製品の保水性や結着性の改良あるいは脂肪の分離防止といった品質改良剤的使用法の二面を有しており、それ故に近年大豆タンパク質は食肉加工品に広く利用されるようになった。このような傾向にともない、肉製品中の大豆タンパク質の混入率を求める方法が要求されるようになり、これまで幾つかの方法が報告されている。それらが大別すると、電気泳動によりタンパク質の移動度の差を利用して大豆タンパク質の検出を行なう方法^{1),2),3)}、食肉中に含まれるクレアチン含量を測定する方法³⁾、オリゴ糖分析による検出法⁴⁾等がある。これらの中でオリゴ糖分析による方法は精製度の高い大豆タンパク質では糖類が除去されるため、その使用が限定される。一方電気泳動による検出法は試料タンパク質の溶解性を高めるため変性剤の存在下で行なう方法が一般的で、変性剤として尿素⁵⁾やラウリル硫酸ナトリウム(以下 SDS と略す)が用いられる。SDS 存在下での電気泳動による大豆タンパク質の検出については、リン酸緩衝液系による連続性ゲルを用いた手法が一般的であるが、今回筆者らが報告する方法はトリス緩衝液を用いた非連続性ゲル電気泳動法⁶⁾によるものである。この方法はリン酸系を用いたものに比べてよりタンパク質の分離能に優れ、肉製品中の大豆タンパク質の定性は勿論のこと、数%以下の添加量でも定量が可能であった。

* 酪農学科, 肉製品製造学研究室

Laboratory of Meat Research, Department of Dairy Science, The College of Dairying,
Ebetsu, Hokkaido 069-01, Japan.

実験材料および方法

実験材料

大豆タンパク質は、プロトン（味の素株式会社製）を用い、肉は豚、牛、鶏を用いた。

モデルソーセージの製造

チョッパーで肉を挽いた後、肉重量の 2.5% の食塩と 0.01% の亜硝酸ナトリウムを加えて混合し、4°C で一晩塩漬を行なった。塩漬肉 100 g に水を 10~30 ml、ピロリン酸ナトリウム 0.2 g を加え、更に大豆タンパク質を肉重量に対して 0~30% 加えて混合し、直径 3 cm のケーシングに充填し、72°C で 40 分間ボイルし、冷却後供試した。

電気泳動用試料の調製

細切した試料 1 g に 5 ml の抽出溶液 (0.25 M トリス・ホウ酸緩衝液 (pH 8.2), 2% SDS, および 5 mM DTT (dithiothreitol)) を加え、100°C で 20 分間保持した後、室温で一晩放置し、遠心分離 (14,000 rpm, 10 分間, 室温) して上清部を回収した。この抽出液を 10 mM Tris-HCl (pH 6.8), 0.1% SDS および 0.1% β -メルカプトエタノール溶液中で一晩透析し泳動用の試料とした。

電気泳動

電気泳動は Laemmli の方法⁷⁾ により行なった。なお、分離ゲルのアクリルアミド濃度は 10%, ガラス管のサイズは 5 mm × 10 cm である。脱色後のゲルをデンスitomーター (ISCO 社, モデル 1310) にかき、タンパク質の定量はチャートのピーク部分を切り取り、重量を測定することにより行なった。

結果および考察

大豆タンパク質

供試した大豆タンパク質の電気泳動パターンを Fig. 1 a に示した。b は *n*-ヘキサンで脱脂した大豆粉を泳動用試料調製液で処理し、泳動させたものであるが、両者を比較すると低分子成分に若干の違いが見られるものの他の染色バンドは同じであり、供試大豆タンパク質は本来大豆に存在するタンパク質が分解したり修飾されることなく抽出されたものであることが分かる。なお、矢印で示した成分は後述の筋肉タンパク質の染色バンドと移動度が重複しない成分であり、この二本のバンドを肉中の大豆タンパク質の定性、定量に用いた。

肉タンパク質

豚肉のタンパク質の電気泳動パターンを Fig. 2 に示した。a の未加熱の肉と b の加熱 (70°C) 後の肉のタンパク質を比較すると両者には差が見られず、加熱凝固させた後でも泳

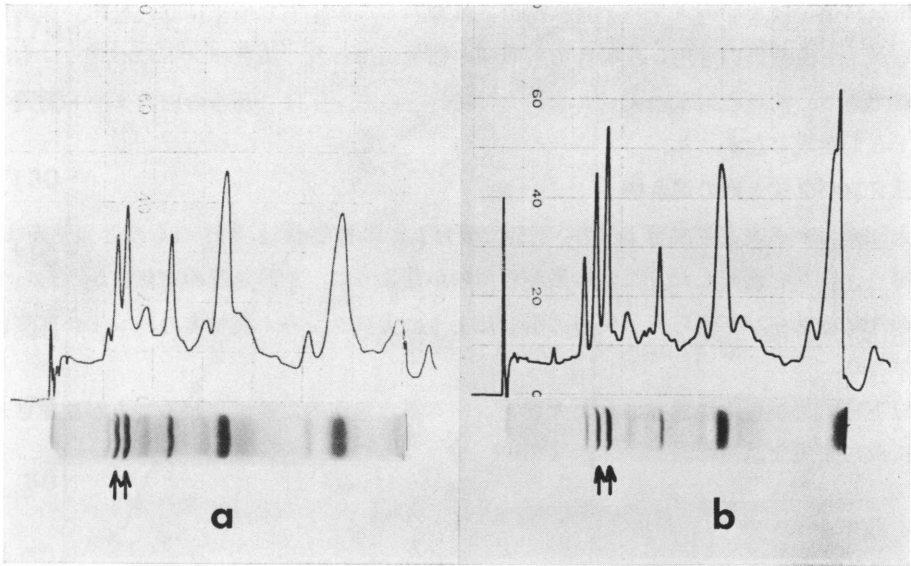


Fig. 1. SDS electrophoretogram of commercial soybean protein (a) and defatted soy flour (b).

The amount of protein was 20 μ g each. Destained gel was scanned by ISCO gel scanner (Model 1310) with 580 nm filter. Arrows indicate characteristic bands in soybean protein, which were used to identify soybean protein in meat product.

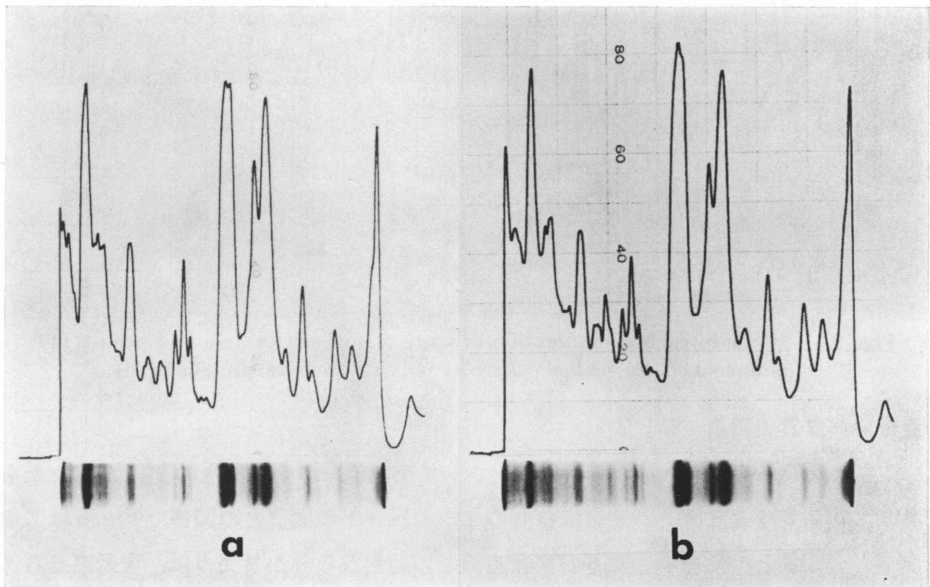


Fig. 2. SDS electrophoretogram of uncooked (a) and cooked (b) pork.

動用試料抽出液で筋肉タンパク質は抽出された。ここに示した結果は豚肉を用いた場合であるが、牛肉や鶏肉を用いた場合でも同様の結果が得られ、染色バンドのパターンもほぼ同様であり、前述の二本の大豆タンパク質に特有のバンドはこれらの肉のタンパク質のバンドとも重複しなかった。

大豆タンパク質と肉の混合物

大豆タンパク質と豚肉を1:10の割合で混合し、未加熱 (Fig. 3 a) のものと加熱後 (b) の泳動パターンを比較した。この結果から明らかなように、加熱処理の有無にかかわらず同様の泳動パターンが得られ、矢印に示したように大豆タンパク質特有のバンドが明瞭に識別された。

以上の結果から肉に添加された大豆タンパク質は定性的に検出されることが確認されたので次に定量を試みた。

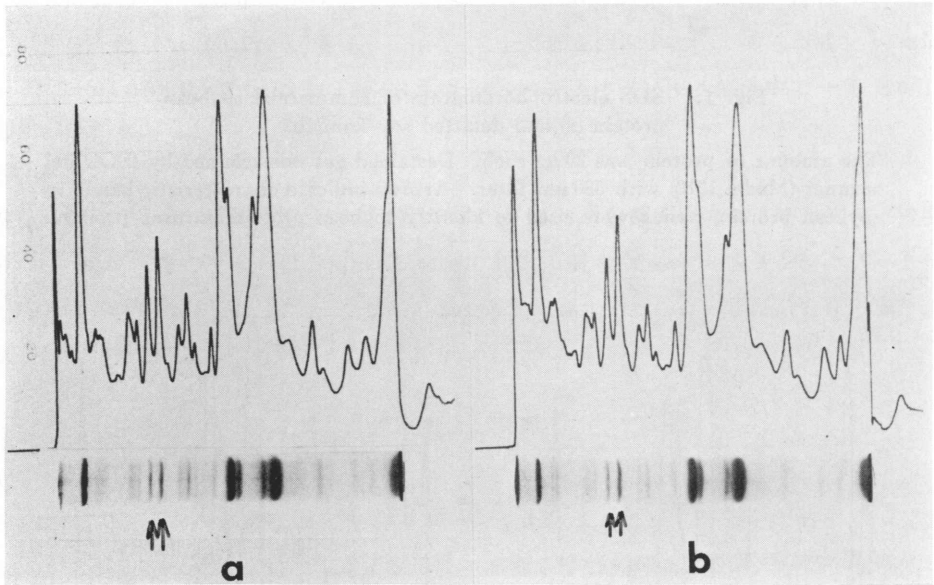


Fig. 3. SDS electrophoretogram of a mixture of soybean protein and pork (1:10). (a) uncooked, (b) cooked. Arrows indicate soybean protein bands.

大豆タンパク質の定量

Fig. 4は泳動させるタンパク質量を変化させて染色部分の全面積との関係を示したものであり、Fig. 5は大豆タンパク質に特有の二本のバンドの面積との関係、Fig. 6は二本のバンドと全面積との比を示したものである。この結果から分かるように、泳動させるタンパク質量が30 μg 以下であればタンパク質量と面積はほぼ比例関係にあり、二本のバンドの全面積に占める割合も一定であった。

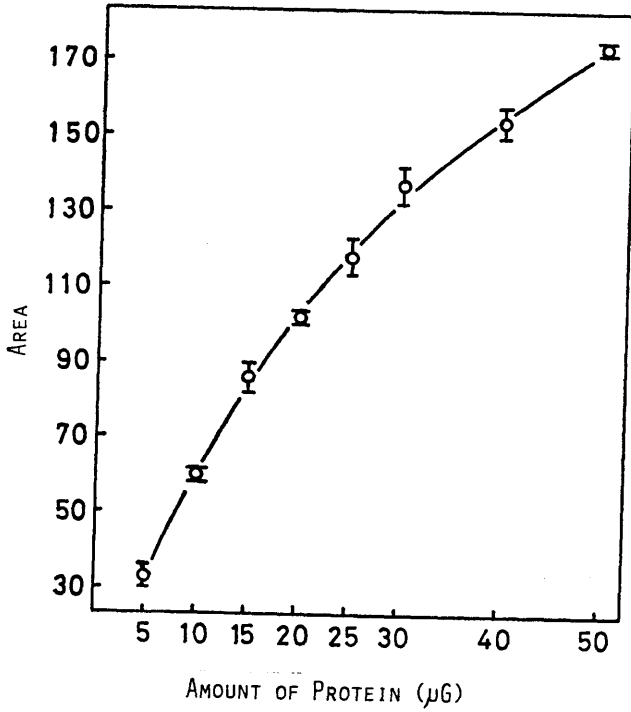


Fig. 4. Relation between applied soybean protein amount to the gel and stained area. Bar indicates standard deviation.

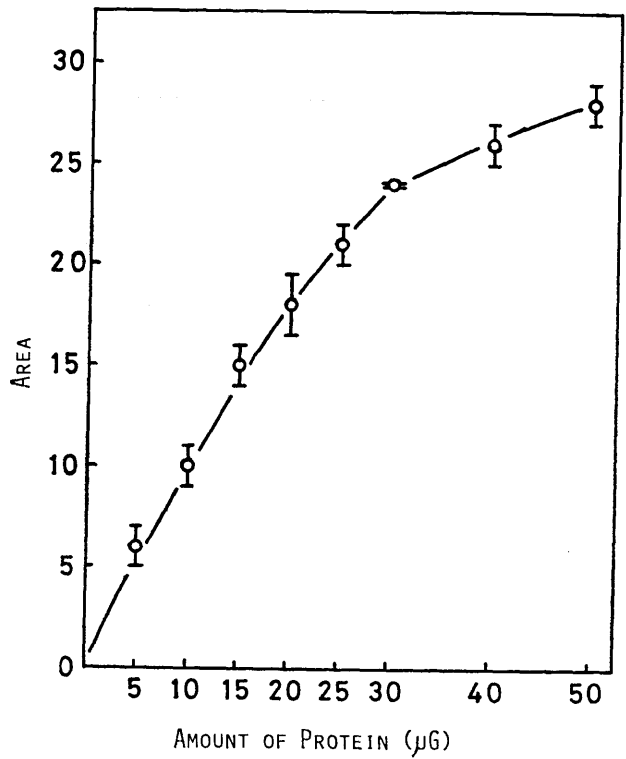


Fig. 5. Relation between soybean protein amount and the area of two characteristic bands.

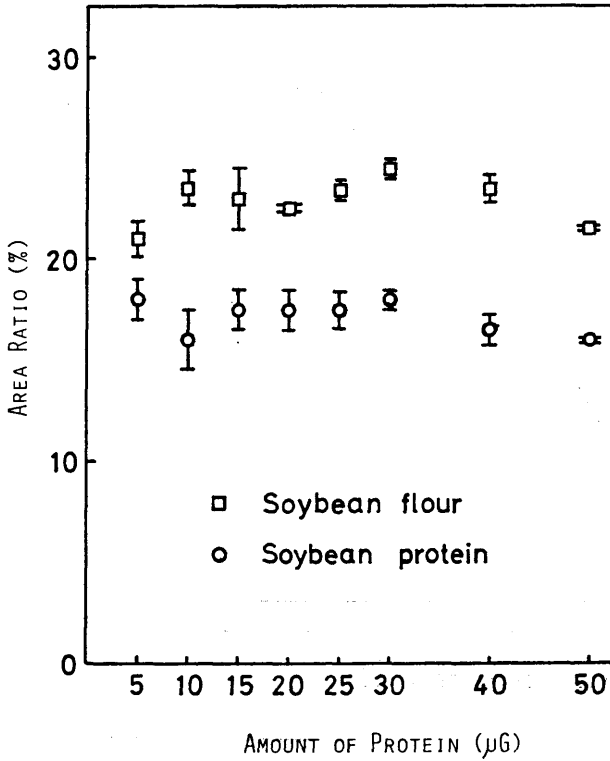


Fig. 6. The ratio of two characteristic bands/total protein at various protein amounts.

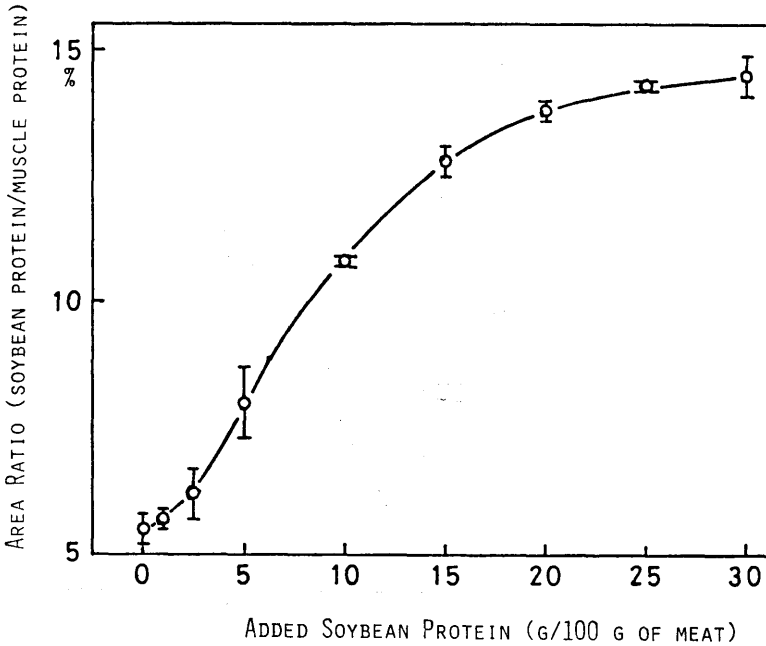


Fig. 7. Standard curve for soybean protein content in meat product.

次に添加大豆タンパク質量を変化させてモデルソーセージを作り検量線の作製を試みた。Fig. 7 にその結果を示したが大豆タンパク質の添加量が肉重量の 15% 以下であれば添加大豆タンパク質量が増えるにともない面積比も直線的に増加した。しかし添加量が 15% を超えると面積比の勾配は緩くなり定量することが困難であった。

市販肉製品について本法を適用し大豆タンパク質の定量を試みたところ、0~6.5% という数値が得られ、ほぼ妥当な値と考えられる。本実験では大豆タンパク質のみに着目しているが、市販肉製品には大豆タンパク質以外にも乳タンパク質や小麦タンパク質が添加しているものもあり、これらのタンパク質の電気泳動パターンについての検討も今後必要となろう。

要 約

SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により肉製品に添加された大豆タンパク質の検出を試みた。大豆タンパク質と筋肉タンパク質の泳動パターンから移動度の異なる成分に着目し添加大豆タンパク質の定性・定量を行ない、添加量が 15% 以下であれば定量が可能であった。

文 献

- 1) Guy, R. C. E., R. Jayaram and C. J. Willcox, 1973. Analysis of commercial soya additives in meat products. *J. Sci. Fd. Agric.* **24**: 1551-1563.
- 2) 橋詰和宗・野口明德, 1978. 動物蛋白食品に加えられた植物蛋白質の鑑別法として SDS ゲル電気泳動法の検討. *日本食品工業学会誌* **25**: 628-634.
- 3) 橋詰和宗・小原忠彦・安藤洋子, 1978. 尿素系ポリアクリルアミド電気泳動による動物蛋白食品に加えられた植物蛋白質の鑑別. *日本食品工業学会誌* **25**: 635-640.
- 4) Hofmann, K. and I. F. Penny, 1971. Identifizierung von Soja- und Fleischeiweiß mittels Dodecylsulfat-Polyacrylamidgel-Elektrophorese. *Die Fleischwirtschaft* Nr. 4: 577-578.
- 5) 飯島淑子, 1977. ひき肉中の植物蛋白製品の簡易分析法. *日本食品工業学会誌* **24**: 516-520.
- 6) Khan, A. W. and D. C. Cowen, 1977. Rapid estimation of muscle proteins in beef-vegetable protein mixtures. *Agr. Food Chem.* **25**: 236-238.
- 7) Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685.

Summary

Detection of soybean protein added to meat product was carried out by SDS polyacrylamide gel electrophoresis. The characteristic bands in electrophoretogram of soybean protein were used to identify and quantify soybean protein in meat product. It was possible to quantify soybean protein even when the added content was less than 15% in meat.