

罐詰牛馬肉鑑別試験

志	賀	岩	雄
岡	屋	忠	治
岩	本	喜	伴
宮	田	晶	子

ON SEROLOGICAL DETECTION OF HORSE MEAT IN CANNED BEEF

Iwao Shiga, Chuji Okaya, Yoshitomo Iwamoto and Akiko Miyata

Generally beef and horse meat can not be distinguished from each other organoleptically and by the conventional serological method after they have been cooked together. The reason why cooked meats failed to be identified by the conventional method such as precipitation test lies in the fact that a specific protein from animal organ is easily denatured by heat, and that its antigenic properties of protein are so severely influenced at boiling temperature that they become entirely lost.

In 1932, Morita successfully applied Forssman's antigen, that is thermalresistant, in serological differentiation of cooked meats.

In our investigation, we proved Morita's method to be reliable enough for detecting admixed horse meat in canned beef, and then tested a considerable number of canned beef which M. Ikeno, a chief inspector of canned goods in this district, presented for the identification.

1 序 言

罐詰牛馬肉の鑑別は、其の検査の立場より必要事項として、早くより問題となっていたのであるが、これらの肉が罐詰に製造せられると肉組織の収縮、色沢の変化が著しく且つ調味液に依って味付けられる場合、其の判別は肉眼的には殆んど不可能な状態になる。依ってこの鑑別の方法としては、専ら科学的方法による外はない。従来この方法として、組織学的に馬のエオジン嗜好白血球を認めること、肉繊維の切断面の検鏡的検査、或は生肉に於ける沈澱素血清の応用等の方面より研究せられて来たのであるが、何れも罐詰肉の判別には利用出来ない。然るに森田（1932年）①やSachs u. Georgi ②は Forssman抗原（Forssman's heterophile antigen）（F抗原）の耐熱性に

着目し、これを煮沸肉の鑑別に応用して成功に近い成績をあげたのである。然しこのF抗原は、種属特異性 (species-specificity) がないので、牛又は馬と種別的に明確に判別することは出来ないが、牛肉に非らざる肉が混在しているということははっきり判る。所で実際問題として、牛肉罐詰の中に牛肉に非らざる肉が混在しているとすれば、これは馬肉だということになるので現在に於いては、この判定法は先づ成功といえよう。しかも異肉の混合率は、森田の指摘している如く、今回の我々の実験結果に於いても、其 $\frac{1}{16}$ にあっても正確に判るのである。

(第二表参照)

今回の試験は、森田法に対する興味と、今一つは日本罐詰協会関西検査所の要請によって行ったものである。先づ最初に森田の方法を追試し、次いで池野の検品に就いて、馬肉混在の有無を判定した。

2 理 論

F抗原は、他の臓器蛋白と異なり、一種の類脂肪体性、特異性抗原で、対熱性があるので、罐詰殺菌の際に於ける加熱程度ではその抗原性を失はない。種属特異性を有しないが抗原と抗体間に於ける結合に特異性 (Antigen-specificity) を有しているのでF抗原を有する動物肉とこれを有しない動物肉との区別判定が可能である。

動物界に於ける分布は下記の通りである。

a. F抗原を有する動物 (モルモット型)

モルモット、馬、犬、猫、ねづみ、にわとり等

b. F抗原を有せざる動物 (家兔型)

家兔、人、牛、豚、緬羊、はと、うなぎ、かへる、たい等

この分布より見て、馬はモルモット型に属してF抗原を有するが牛は家兔型に属してこれを有しない。従つて、検肉中のF抗原の有無を証明することによって、理論上牛馬肉の鑑別が出来る訳である。F抗体血清を以つて検肉と作用させた際に、検肉がF抗原を有する動物肉 (例えば馬肉) であれば、抗体と抗原との間に特異的な結合が行はれる。然るに抗原と抗体と一致して結合が行はれる際には、補体の吸収が行はれるのが一般則であるので、抗原と抗体間の結合を検するには、補体の吸収が行はれたか否かを検すればよく、補体の吸収の有無は添加した血球の溶血現象によって肉眼的に判定可能である。蓋し溶血作用には遊離の補体を必要とするからである。それ故に溶血現象の見られた際にはF抗体と結合すべきF抗原の存在しない事を示す事となるので、結局馬肉 (一般的にいつてモルモット型に属する動物肉) の存在を否定する事になるのである。以上は本試験の拠所とする血清学的理論である。

3 方 法

a. F抗体血清 (Forssman's antibody serum) の作製

健康なるモルモットの腎臓又は肝臓の10%乳剤10cc.を2000g以上の健康な家兔に唯一回の腹腔注射を行い、10—14日後に採血して得た血清である。この際唯一回の注射に止めるのは、数回の注射

では Wasserman 反応体が同時に出来るのでこれを極力避ける為である。次にこの血清を常法の如く 56°C 、30 分加温して非動性とし、これの 10 倍稀釈液を作り、更にこの血清を順次倍数稀釈し、補体として新鮮なモルモットの血清(出来る丈多数のモルモットの血清を混合したものがよい)の 10 倍稀釈液 0.5cc、血球浮游液としては綿羊の洗滌沈澱血球を作り、この血球の 3% 液の 0.5cc. に対する溶血価を求めて免疫家兎血清の力価を決定するのである。

b. 試料肉の処理 (肉沈澱の作製)

罐詰肉全体を細切し良く混合(荒目のチョツパーに掛ける)しその一部の約 10g をビーカー (50 0cc) に取り、300cc の水を注ぎ金網上で 10 分煮沸する。これは肉より調味液を脱出せしめ、肉繊維を膨潤させる目的で行う。次に生理的食塩水を加へ、乳鉢で磨り碎き肉乳剤を作る。これをガーゼで濾過する。次にこの濾液を軽く遠心分離し上層の混濁液をすてる。かく遠心分離を行いつつ 4 回洗滌する。最後に 2000—2500 RPM にて約 10 分遠心分離して上層液が大体透明になればこの操作を止め上層液をすてる。かうして残ったものが肉沈澱である。

c. 吸 收 操 作

先づ力価の決定した F 抗体血清を食塩水で稀釈して其 1cc 中に大体 8—10 M. H. D. (minimal hemolytic dose) (最小溶血量) を含むように稀釈する。次に 10cc の沈澱管にこの稀釈血清 4cc を取り肉沈澱を加へて液面を 5cc の目盛に合せる。即ち血清と肉沈澱との比を容積的に 4:1 とする。これを良く攪拌混和して 37°C の孵卵器に入れて 60 分間感作 (抗原と抗体を結合させる) させる。

この間 15 分毎に攪拌して感作を充分にする。この際同時に対照として、既知牛肉及馬肉沈澱に就いても同様に操作すると共に、肉沈澱を入れない血清 4cc を別管にとって同時間同温度で処理する。感作操作が終ったら、遠心分離して上層液約 4cc をとる。この上層液は時として混濁することがあるが、適当なる濾紙で、略透明になる迄数回濾過する。液の混濁がひどいと溶血反応が不明瞭になる。

d. 異性抗羊溶血反応

前述の上澄液に就いてこの反応を行う。

小試験管 6 本をとり、第 1 管及第 2 管に上澄液 1cc 宛をとり、第 3 管—第 6 管迄は第 2 管より順次倍数に稀釈し、これに血球浮游液 0.5cc、補体 0.5cc、更に食塩水 0.5cc を各管に加へて全量を 2.5cc とする。各管にゴム栓を施し、良く振盪して 37°C の孵卵器に 60 分間置いて其の結果を観察する。この間 20 分毎に各管を良く振盪して反応を充分にする。この際更に 2 管を同時に用いて、一管に補体なきもの他の一管には抗体なきもの作ってブランクテストを行う。この二管は常に溶血反応がマイナスでなければならない。

e. 判 定

家兎型に属する動物肉のみをとりたるものは、溶血反応はプラスで、モルモット型に属するもの又は家兎型及モルモット型の 2 型の動物肉が混合している場合は反応がマイナスとなる。然し M. H. D. が非常に高いときは マイナス となるべきものが プラス になることがあるから、完全溶血が最小幾

M.H.D.にあるかが間違のない判定のポイントとなるのである。森田及我々の実験結果によると、最小M.H.D.が2.0附近にある場合が最も正しい結果の様である。

4 試 験 結 果

試験の結果は第一、第二、第三表に示す通りである。

第 一 表 池野の検品に就ての試験結果

試験管番号	1	2	3	4	5	6	血 清 : 肉 沈	摘 要
M H D	4	2	1	0.5	0.25	0.125		
試 料 No. 1	—	—	—	—	—	—	4:1	牛 肉 味 付
2	—	—	—	—	—	—	"	"
3	—	—	—	—	—	—	"	"
対照(吸収せず)	卅	卅	卅	+	±	—		
対 照 牛 肉	卅	卅	卅	±	—	—		
対 照 馬 肉	—	—	—	—	—	—		

(卅) 印は完全溶血 (—) 印は不溶血

第 二 表 既知醃詰牛肉を用い任意に其混合率を変更して行った試験の結果

試験管番号	1	2	3	4	5	6	馬 肉 : 牛 肉	血 清 : 肉 沈
M H D	4	2	1	0.5	0.25	0.125		
No. 1	—	—	—	—	—	—	1:2	4:1
2	—	—	—	—	—	—	1:4	"
3	—	—	—	—	—	—	1:8	"
4	—	—	—	—	—	—	1:16	"
対照(吸収せず)	卅	卅	卅	+	±	—		
対 照 牛 肉	卅	卅	卅	±	—	—		
対 照 馬 肉	—	—	—	—	—	—		

牛肉と馬肉との混合比率は実験室に於いて任意に作製せるもの

1:16以下の比率に於いて馬肉が混合せられることは實際上考えられないのでこれ以下の比率での試験は省略した。

第 三 表 池野の検品についての試験結果

試験管番号	1	2	3	4	5	6	血清:肉 沈	摘 要
M H D	8	4	2	1	0.5	0.25		
試 料 No.1	—	—	—	—	—	—	4:1	牛 肉 味 付
2	卅	卅	卅	卅	+	—	〃	〃
3	—	—	—	—	—	—	〃	〃
4	—	—	—	—	—	—	〃	〃
5	—	—	—	—	—	—	〃	〃
6	—	—	—	—	—	—	〃	〃
7	—	—	—	—	—	—	〃	〃
8	—	—	—	—	—	—	〃	〃
9	—	—	—	—	—	—	〃	〃
10	—	—	—	—	—	—	〃	〃
11	±	—	—	—	—	—	〃	コンビーフ
12	—	—	—	—	—	—	〃	牛肉野菜混合煮
13	卅	卅	卅	±	±	—	〃	牛 肉 味 付
14	—	—	—	—	—	—	〃	牛肉味付(すき焼)
15	卅	卅	卅	卅	+	±	〃	牛肉野菜混合煮
16	—	—	—	—	—	—	〃	〃
17	—	—	—	—	—	—	〃	〃
18	—	—	—	—	—	—	〃	〃
19	—	—	—	—	—	—	〃	〃
20	—	—	—	—	—	—	〃	牛 肉 味 付
21	—	—	—	—	—	—	〃	〃
22	—	—	—	—	—	—	〃	〃
23	卅	卅	卅	卅	±	—	〃	〃
24	±	—	—	—	—	—	〃	コンビーフ
25	—	—	—	—	—	—	〃	〃
対照(吸収せず)	卅	卅	卅	卅	+	±	〃	
対 照 牛 肉	卅	卅	卅	卅	±	—	〃	
対 照 馬 肉	—	—	—	—	—	—	〃	

5 要 約

a. 森田の方法を追試して、牛馬肉混合の罐詰に於て、馬肉混在の判定が出来、馬肉の混合割合は森田の結果と同様其 1/6 に於いても判定の可能なことを認めた。

b. 池野の検品牛肉罐詰28点中牛肉のみと認められるものが僅かに4点即ち14%で、他は全部馬肉混合の罐詰であるとの判定結果が出た。

本試験実施に当り、浪速大学農学部森田平治郎氏よりは、氏の貴重なる研究報告の御恵与に預ると同時に、懇篤なる御指導を賜り、大阪府衛生研究所獣医部長青木龍身氏は、本試験に使用したるモルモット血清、緬羊血球の全部を供与せられ余等の試験を懇切に御援助下された。日本罐詰協会関西検査所長池野真澄氏は多数の検品を提供し支援して下さい。又免疫家兎の採血は大阪純系試験動物研究所の手を煩した。以上を列記して深甚なる感謝の意を表する次第である。

文 献

- (1) 森田平治郎：煮沸肉類の鑑別に関する研究 実験医学雑誌第16巻第4号（昭和7年4月20日）
- (2) Handbuch der Lebensmittel Chemie, 2Bd., S. 703. Berlin, J. Springer, 1935.
- (3) 進藤宙二：血清学の新しい見方と考え方