

生物由来の食品の透過電子顕微鏡観察

キーワード：食品、微細構造、透過電子顕微鏡

はじめに

透過電子顕微鏡は、材料の物性に重要な影響を与える材料内部の微細構造を解析するための強力なツールです。食品の分野においても、構造と物性の関わりを解析するため光学顕微鏡、走査電子顕微鏡等と同様に微細構造解析に活用されており、その分解能の高さから特に超微形態の解析に利用されています。

透過電顕観察においては、電子線が透過可能な 100 nm 程度まで試料を薄くする必要があります。そのため軟弱で水分を多く含む生物材料の場合はまず樹脂を含浸して硬化します。樹脂包埋された試料ブロックを、特殊なナイフを装着したウルトラミクロトームで切削することで薄い試料(超薄切片)が調製可能になります。

本稿では食品試料を透過電顕観察するための固定や脱水、樹脂包埋等の試料前処理と、超薄切片作製とその観察について紹介します。

試料の前処理 1 固定、脱水、包埋

生物組織材料は、まずアルデヒド系固定剤によるタンパク質の架橋、四酸化オスミウムによる生体膜の固定等によって構造を強化します。続いて試料は段階的に濃度を上げたエタノール等の溶剤に浸して水分を溶剤に置換し、次にエポキシ等の樹脂と混合することで溶剤を樹脂に置換します。最後に加熱により硬化することで試料を含んだ樹脂ブロックが得られます。

試料の前処理 2 超薄切片

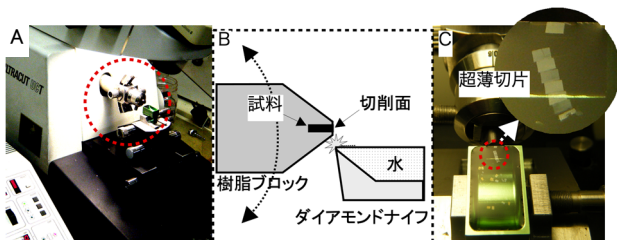


図1 超薄切片の作製方法

(A) ウルトラミクロトーム、(B) 切削模式図、(C) 水に浮いた超薄切片

ウルトラミクロトーム(図 1(A))の上下スイングするアームに装着した試料は、下部に固定したダイヤモンドナイフに擦るように接触させる(図 1(B))ことで鯉節を削るように薄く切削されます。切片はナイフに張った水に順次浮遊してきます(図 1(C))ので、電顕用のグリッドメッシュに付着させて回収します。

切片に含まれる生物組織等の有機物はコントラストが弱いですが、ウラン、鉛などの重金属による染色をすることで、細胞内構造にコントラストが与えられ、透過電顕観察が容易になります。

一例として魚肉の食感解析のための透過電顕観察を示します。点線円内のコラーゲン部分がフグ(図 2、左)では緻密ですが、アジ(図 2、右)では繊維の分散が見られます。これはアジ筋肉中のコラーゲン分解酵素による自己消化を示し、アジ刺身が柔らかい原因です。一方フグは分解酵素が少ないために構造が保たれ、刺身の強い歯ごたえが保持されます。

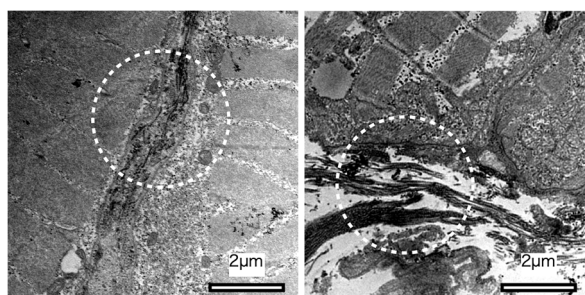


図2 フグ(左)とアジ(右)の透過電顕画像

おわりに

樹脂に包埋した試料は、厚切りしてトルイジンブルー染色を行うことで光学顕微鏡観察に用いることもできます。ウラン等の重金属で染色した超薄切片は、走査電子顕微鏡の反射電子検出器により組成コントラストで観察することも可能です。本文で紹介した以外にも様々な前処理、観察手法がありますので、ご興味をお持ちのかたはお気軽にお問い合わせください。