

## 輸入小麦を使用した小麦加工品の検査法の検討

足立 静香、井伊 悠介、北 佳織

Shizuka Adachi, Yuusuke Ii, Kaori Kita

### 要 約

うどん類及びパン類の原料として使用された輸入小麦を確認するために、その小麦に特有の増幅断片を検出する SSR マーカーを利用したフラグメント解析の適用性を検討した。これまでに報告のあった国内 41 品種以外の 13 品種について PCR 増幅パターンを調べたところ、輸入小麦銘柄 ASW、DNS 及び 1CW に特有の 217 bp 及び 219 bp の増幅断片は検出されなかった。2008～2012 年に生産された ASW、DNS 及び 1CW については、217 bp 及び 219 bp の増幅断片が検出された。国産小麦粉に輸入小麦粉を混合したモデル試料を作製し、分析したところ、混合割合に応じて 217 bp 及び 219 bp の増幅断片の蛍光強度が変化した。輸入小麦に特有の 217 bp 及び 219 bp の増幅断片を検出することで、原料小麦中に輸入小麦の有無を判別することが可能であり、その増幅断片の蛍光強度を用いて、輸入小麦の混入割合を推定の可能性が示唆された。

### 1. はじめに

近年の我が国の食糧用小麦の需給量は 550 万トンで、平成 23 年度の小麦の国内生産量及び輸入量はそれぞれ 69 万トン及び 562 万トンであり、需要の多くを輸入に依存している<sup>1)</sup>。国産小麦は、生産都道府県及び品種毎に取引されている。一方、輸入小麦は、用途に適した品質に管理するため、複数の品種をブレンドした銘柄として取引されている。主な輸入小麦銘柄は、パン用の No.1 Canada Western Red Spring (1CW) 及び Dark Northern Spring (DNS)、日本めん用の Australian Standard White (ASW)、菓子用の Western White (WW)、及び中華めん用の Hard Red Winter (HRW) である<sup>2)</sup>。これらの銘柄を構成する品種及びブレンド比率は、調製毎に異なっている。国産小麦は、主に中力粉に該当し、うどん類に適した品種が国内生産量の約 80 % を占めているが、その多くは輸入小麦とブレンドして小麦粉に加工されている。一方、パン類の製造に用いられる強力粉の生産量は約 1 % と少ない<sup>2)</sup>。国産の小麦粉を使用した加工品は、「国産小麦使用」や「○○※(国産)使用(※○○は特定の品種名)」等表示され、消費者の関心が高く、人気がある。

食品の産地又は品種の表示方法については、農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律 (JAS 法) により定められており、表示した産地又は品種が 100 % の使用でない場合は、使用した割合を記載することが義務づけられている。しかし、原材料に使用した小麦の産地、品種について、目視や官能で判断することは困難である。このため、原材料の小麦の表示の真正性を科学的に検証するための方法が求められている。

食品の原材料の真正性を確認する方法として、異なる品種を判別する場合には DNA 分析が有効であり、様々な農産物を対象に品種識別技術の開発が進められている。DNA 分析には、RAPD (Random amplified Polymorphic DNA) 法、SSR (Simple Sequence Repeat) 法や CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) 法など種々の方法があり、コメ<sup>3)</sup>、アズキ<sup>4)</sup>、イチゴ<sup>5)</sup>等で報告されている。小麦については、一部の都道府県で種苗管理のために主要品種等について DNA 分析による品種判別法が開発されている<sup>6,7)</sup>。小麦加工品の原料小麦の品種判別については、10 組の SSR マーカーが開発され<sup>8)</sup>、これら 10 組のマーカーを国内 41 品種と国外 17 品種 (オーストラリア、アメリカ及びカナダ) に適用したところ、TaSE3 マーカーを用いた場合には国内 41 品種では検出しない 217 bp 及び 219 bp の増幅断片が、国外 4 品種で検出することを見いだした<sup>8)</sup>。また、主な輸入小麦銘柄に適用したところ、1CW、DNS 及び ASW (以下総称して「輸入小麦 3 銘柄」という) において、国外 4 品種と同様に 217 bp 及び 219 bp の増幅断片を検出した<sup>9)</sup>。したがって、この TaSE3 マーカーは、国産小麦を用いて製造した食品中の輸入小麦を検出するために有効であると報告している<sup>9)</sup>。

本研究では、輸入小麦 3 銘柄の主な加工品であるうどん類及びパン類の原材料に使用された原料小麦中の輸入小麦を検出するために、TaSE3 マーカーについてキャピラリー電気泳動によるフラグメント解析を行った。また、国産小麦粉に輸入小麦粉を混合し、その小麦粉を用いて生うどん、ゆでうどん及び食パンのモデル試料を作製した。モデル試料と市販のうどん類及びパン類の 217 bp 及び 219 bp の増幅断片の蛍光強度を比較して、原料小麦中の輸入小麦の混入割合の推定を検討した。

## 2. 実験方法

### 2. 1 試料

国内 13 品種 (「あおばの恋」及び「ユメシホウ」: (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所, 「あきたっこ」, 「ハルイブキ」及び「もち姫」: (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター, 「きぬあかり」: 愛知県農業総合試験場, 「さぬきの夢 2009」: 香川県農業試験場, 「ハナマンテン」, 「ゆめかおり」及び「ユメセイキ」: 長野県農業試験場, 「はるきらり」: 北海道立総合研究機構中央農業試験場, 「ふくはるか」: (独) 農業・食品産業技術総合研究機構 近畿中国四国農業研究センター, 「きたほなみ」: 株式会社増田製粉所) について、種子又は粉碎試料を入手した。

2008 ~ 2012 年産の輸入小麦 3 銘柄を試験場又は製粉業者から入手した (表 1)。

モデル試料は、国内品種「きたほなみ」及び「春よ恋」、及び輸入小麦 3 銘柄を用いて作製した。使用した小麦粉は、製粉業者から入手した。

市販の小麦加工品として、うどん類 144 件 (乾麺 49 件、ゆでうどん 42 件、生うどん 34 件及び冷凍うどん 19 件)、パン類 122 件 (食パン 53 件、菓子パン 32 件及びテーブルパン等の小型のパン (以下「その他のパン」という) 37 件) を市場から購入した。

また、うどん又はパンの製造に用いられる小麦由来の原材料の小麦でん粉 1 試料、小麦たん白 7 試料、及び酵母 5 試料を市場又は製造業者から入手した。

表 1 調査した輸入小麦 3 銘柄の件数

生産年度	ASW	DNS	1CW
2008	1	1	1
2009	1	1	1
2010	4	1	1
2011	3	3	3
2012	3	—	—

## 2. 2 モデル試料の調製

モデル試料は、ホームベーカリー (SD-BM103、Panasonic) を使用して作製した。うどんは、きたほなみに ASW を 0、10、25、50 及び 100 % (w/w) の割合で混合した小麦粉を用いた。小麦粉 150 g に 6.25 % 塩水 (35 °C) 75 mL を加えて、うどんコース機能によってめん生地を作製した。このめん生地を 10 °C 以下で 2 時間ねかせた後、製麺して生うどんモデル試料とした。さらに、このモデル試料を沸騰水で 10 分間ゆでて、ゆでうどんのモデル試料とした。一方、パンは、春よ恋に 1CW 又は DNS を 0、10、25、50 及び 100 % (w/w) の割合で混合した小麦粉を用いた。小麦粉 280 g に、砂糖 17 g、バター 10 g、スキムミルク 6 g、塩 5 g、水 200 mL 及びドライイースト 4.2 g を加えて、早焼きパンコース機能で食パンモデル試料を作製した。

## 2. 3 DNA 抽出

DNA 抽出は、藤田らの報告<sup>10)</sup>の DNeasy Plant Mini Kit を改変した方法を用いた。小麦粉及び小麦たん白は 50 mg を採取し、BufferAP1 を 400 µL 添加後、ボルテックスで均質化した。小麦粉及び小麦たん白以外の試料は、100 mg を採取し、BufferAP1 を 200 µL 添加後、ペッスル等で均質化してから、さらに BufferAP1 を 200 µL 添加した。均質化した試料に RNase A (キット付属) を 4 µL、 $\alpha$ -Amylase (Sigma-Aldrich) を 10 µL 及び ProteinaseK (20 mg/mL、QIAGEN) を 20 µL を添加して攪拌後、65 °C で 60 分間加温した。次に、Buffer AP2 を 130 µL 添加し、転倒攪拌した後氷上で 5 分間静置した。この全量を QIAshredder Mini Spin Column に負荷し、その後は手順書に従って、洗浄操作を行った。DNA の溶出は、65 °C に温めた Buffer AE 100 µL による操作を 1 回行った。抽出した DNA 溶液は、分光光度計 NanoDrop (ND-1000、Thermo Fisher Scientific) を用いて、濃度を測定し、10 ng/µL となるよう調製して PCR に供試した。

## 2. 4 PCR

プライマーは、フォワードプライマーに 6-FAM で蛍光標識した TaSE3-F (5'-CACCGATCGATCAACAAGTCAAAA-3') 及びリバースプライマーの 5'末端にテール配列を付加した TaSE3-R (5'-CATCATCATCGGTTCTTGGA-3') (Life Technologies)<sup>8)</sup>を用いた。PCR 反応液の組成は、0.5 units の AmpliTaq Gold (Life Technologies)、1×PCR Buffer II、0.2 mmol/L dNTP Mixture、1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、0.2 µmol/L 各プライマーを含む反応液に 2.0 µL の DNA 溶液を加え、滅菌水で全量を 20 µL とした。PCR は、GeneAmp PCR System 9700 (Life Technologies) を使用し、最初の熱変性 94 °C で 9 分、次に 94 °C で 30 秒、60 °C で 30 秒、72 °C で 30 秒を 1 サイクルとして 35 サイクル行った後、72 °C で 7 分

の伸長反応を実施した。

## 2. 5 キャピラリー電気泳動及びフラグメント解析

PCR 増幅産物 1 μL に GeneScan 500 LIZ Size Standard (Life Technologies) 0.25 μL 及び Hi-Di™ Formamide (Life Technologies) 9.75 μL を混合後、95 °C で 5 分加温した後にすぐに 4 °C で 10 分以上に冷却したものをキャピラリー型電気泳動装置 (3130xl Genetic Analyzer、Life Technologies) によって分離及び検出し、遺伝子解析ソフトウェア (GeneMapper、Life Technologies) を用いて解析した。

## 3. 結果及び考察

### 3. 1 国内小麦品種のフラグメント解析

2. 1 の 13 品種について、フラグメント解析を行ったところ、いずれも輸入小麦 3 銘柄に特有の 217 bp 及び 219 bp の増幅断片を検出できなかった (表 2)。したがって、国内 54 品種について、輸入小麦 3 銘柄と区別することができ、これら国内 54 品種を単独又はブレンドした小麦粉を原材料とした加工品は、217 bp 及び 219 bp の増幅断片を指標に輸入小麦の検出が可能であると考えられた。

表 2 調査品種の TaSE3 マーカーの増幅断片長

遺伝子型※1	A	B	C	D	—	E	F	K※2	G	H	I	J	—※3
サイズ※4	183	187	190	193	195	197	198	199	200	203	217	219	—
国産品種※5	タイセツコムギ タクネコムギ チホクコムギ ナンブコムギ ホクシン ゆきちから	あきたつこ キタカミコムギ ハナマテン ユメアサヒ	春よ恋			コユキコムギ ネバリゴシ	きぬあずま さぬきの夢2000 シラネコムギ ダブル8号 チクゴイズミ つるびかり ニシホナミ ふくはるか ふくほのか ユメセイキ	きたほなみ ハルイブキ はるきらり	あおばの恋 アブクマワセ あやひかり イワイノダイチ キタノカオリ きたまえ きぬあかり きぬいろは きぬの波 キヌヒメ さぬきの夢2009 しゆんよう シラサギコムギ	シロガネコムギ ダイチノミノリ タマイズミ ニシノカオリ 農林26号 農林61号 春のかがやき バンドウワセ ふくさやか ホロシロコムギ ミナミノカオリ もち姫 ゆめかおり	ハルユタカ		ユメシホウ
外国産銘柄※1	1CW ASW DNS HRW WW	1CW ASW HRW WW	1CW ASW DNS HRW	WW	WW	ASW DNS	1CW DNS		ASW HRW	ASW WW	ASW	1CW ASW DNS	

※1: 藤田ら<sup>8,9)</sup>の報告より引用

※2: 藤田ら<sup>8,9)</sup>の報告にはない増幅断片長

※3: TaSE3マーカーによる増幅なし

※4: 7塩基テイルドプライマーにより検出されたサイズ。サイズは1bp程ずれることがある。

※5: 赤字の品種は、本研究で種子又は小麦粉を入手し分析した品種。黒字の品種は、藤田らの報告より引用。

### 3. 2 輸入小麦 3 銘柄によるの遺伝子型の違い

表 1 の 2008 ~ 2012 年産の輸入小麦 3 銘柄について分析した結果、全ての試料から 217 bp 及び 219 bp の増幅断片が検出された (図 1)。したがって、これらの増幅断片は、藤田ら<sup>9)</sup>が調査した 2005 ~ 2007 年産以降も輸入小麦の検出の指標として有効であることが確認できた。

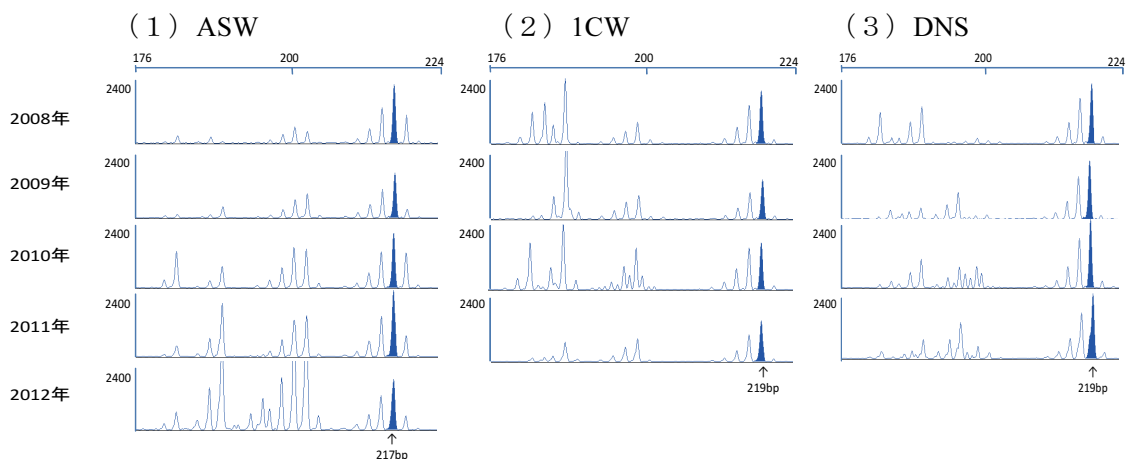


図1 輸入小麦3銘柄における TaSE3 マーカーの増幅パターン (2008 ~ 2012 年)

青印は、輸入小麦3銘柄特有の増幅断片

縦軸：蛍光強度、横軸：塩基サイズ

### 3. 3 蛍光強度のばらつきの確認

フラグメント解析で示される蛍光強度の値は、リアルタイム PCR と異なり、一般には定量には用いない。しかし、本研究は、蛍光強度の値により輸入小麦の混合割合の推定を目的としていることから、測定される蛍光強度のばらつきを確認した。

#### 3. 3. 1 キャピラリー型電気泳動装置によるばらつき

同一の PCR 増幅溶液を1ラン16本のキャピラリーによる分析を9ラン実施し、その測定した値の平均値±標準偏差を図2に示した。全体の平均値±標準偏差の範囲に8本のキャピラリーのそれが収まっていたが、4本のキャピラリーの平均値は、全体の平均値±標準偏差から外れていた。また、ラン毎の測定値のばらつきが大きく、安定していないキャピラリーもあった。これらの結果より、使用するキャピラリーによって測定値のばらつきが大きかったり、偏りが生じていることが確認された。

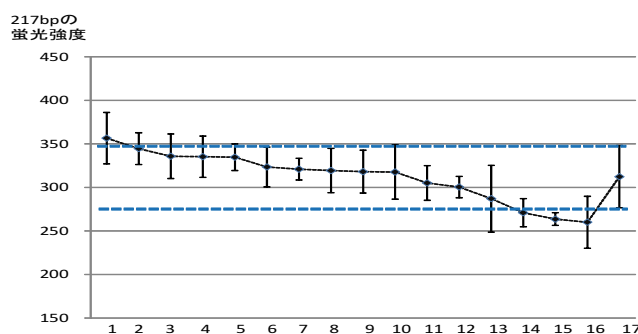


図2 キャピラリーの繰り返し試験で得られた217bpの蛍光強度のばらつき

分析試料：ASW（小麦粉）

1-16：各キャピラリーの値、17：全ての測定値から得た値

16本のキャピラリーで同一PCR産物を9回測定した平均値±標準偏差を示した。

.....は、全ての測定値の平均値±標準偏差

### 3. 3. 2 サーマルサイクラーによるばらつき

一括して調製した PCR 反応液を分注して、3 台のサーマルサイクラーで各 3 点ずつ併行分析を行った。その結果、機器及びサーマルサイクラーに PCR チューブを設置した位置により蛍光強度にばらつきがあったが、同一機器での測定値には、ASW の混合割合と蛍光強度に相関が認められた (図 3)。

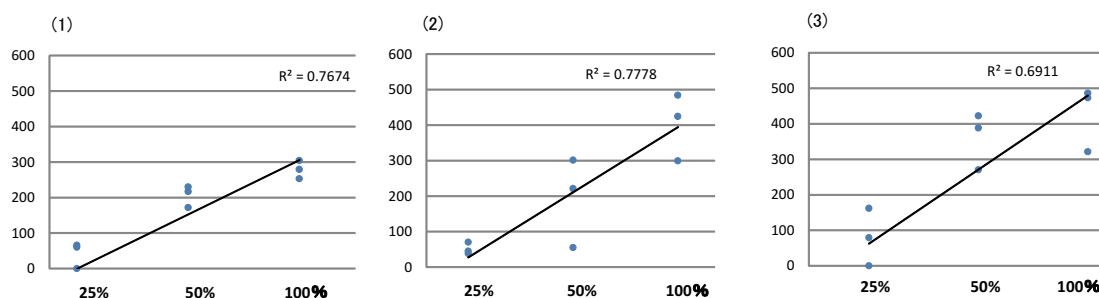


図 3 ゆでうどんモデル試料のASWの混合割合

縦軸：蛍光強度、横軸：ASW の使用割合

分析試料：ゆでうどんのモデル試料

(1) ~ (3) は、異なる GeneAmp PCR System 9700 で分析した結果

以上の結果より、蛍光強度の測定値は、使用する機器や分析ランによるばらつきが避けられないが、輸入小麦の含まれる量を反映することがわかった。測定値のばらつきを少なくするためには、使用するサーマルサイクラー及び PCR 反応液を設置する場所を固定する、また、キャピラリーの性能の異なるものを除外するなど、一連の操作をあらかじめ確認しておくことが必要と思われた。

### 3. 4 モデル試料を用いた蛍光強度の検討

生うどん、ゆでうどん及び食パンのモデル試料の増幅パターンを図 4 に示した。3. 3. 2 と同様に各モデル試料の同一の増幅断片の蛍光強度は、小麦の混合割合により変化があった。ASW、1CW 又は DNS の小麦粉の混合割合が増えるにつれ、217 bp 又は 219 bp の増幅断片の蛍光強度の値が高くなり、きたほなみ又は春よ恋による増幅断片の蛍光強度の値が低くなった (図 4)。このことより、増幅断片の蛍光強度の値は、小麦の混合割合に応じて変化し、217 bp 又は 219 bp の増幅断片の蛍光強度の値は、輸入小麦の含まれる量を反映する傾向にあった。また、生うどんとゆでうどんにおいて、同じ混合割合の蛍光強度を比較すると、生うどんの方が高かった。これは、ゆでの工程により DNA の損傷が生じ、PCR 増幅に違いが生じたためと考えられた<sup>10,11)</sup>。

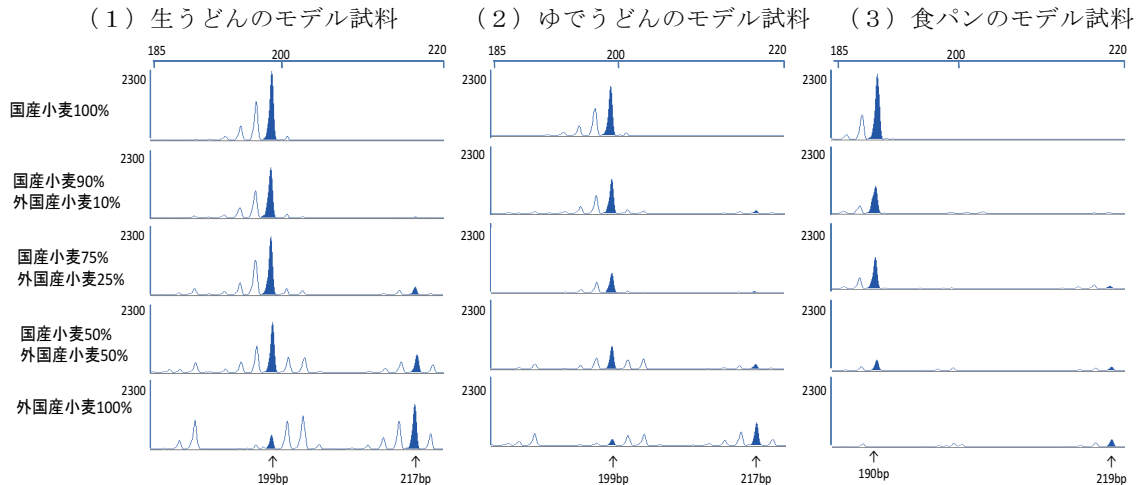


図4 モデル試料の TaSE3 マーカーによる増幅パターン

縦軸：蛍光強度、横軸：塩基サイズ

(1) 及び (2)：国産小麦に「きたほなみ」、輸入小麦銘柄に「ASW」を使用。TaSE3 マーカーによるきたほなみの増幅断片長は 199 bp、ASW の増幅断片長は 217 bp である。

(3)：国産小麦に「春よ恋」、輸入小麦銘柄に「1CW」を使用。TaSE3 マーカーによる春よ恋の増幅断片長は 190 bp、1CW の増幅断片長は 219 bp である。

### 3. 5 市販品による分析結果

市販のうどん類 144 件を分析し、217 bp 又は 219 bp の増幅断片の蛍光強度の分布を図 5 に示した。加熱されたゆでうどん及び冷凍うどんに比べ、非加熱の乾めん及び生うどんがの蛍光強度の分布域が広がったことから、モデル試料の結果と同様に加温により DNA が損傷を受けていることが推察された。小麦の原材料の産地表示が国産のものと表示のない試料を比較したところ、産地表示のない試料の方が、蛍光強度の分布域が広く、蛍光強度 100 以上であった試料が 82 件中 73 件 (89 %) あったのに対して、国産表示の試料は 62 件中 5 件 (8 %) であった。蛍光強度 100 未満の 57 件のうち 29 件は蛍光強度 0 で輸入小麦を検知しなかった。残りの 28 件は、輸入小麦を検知したが、コンタミネーション等の微量の混入を検知したものが含まれると考えられる。

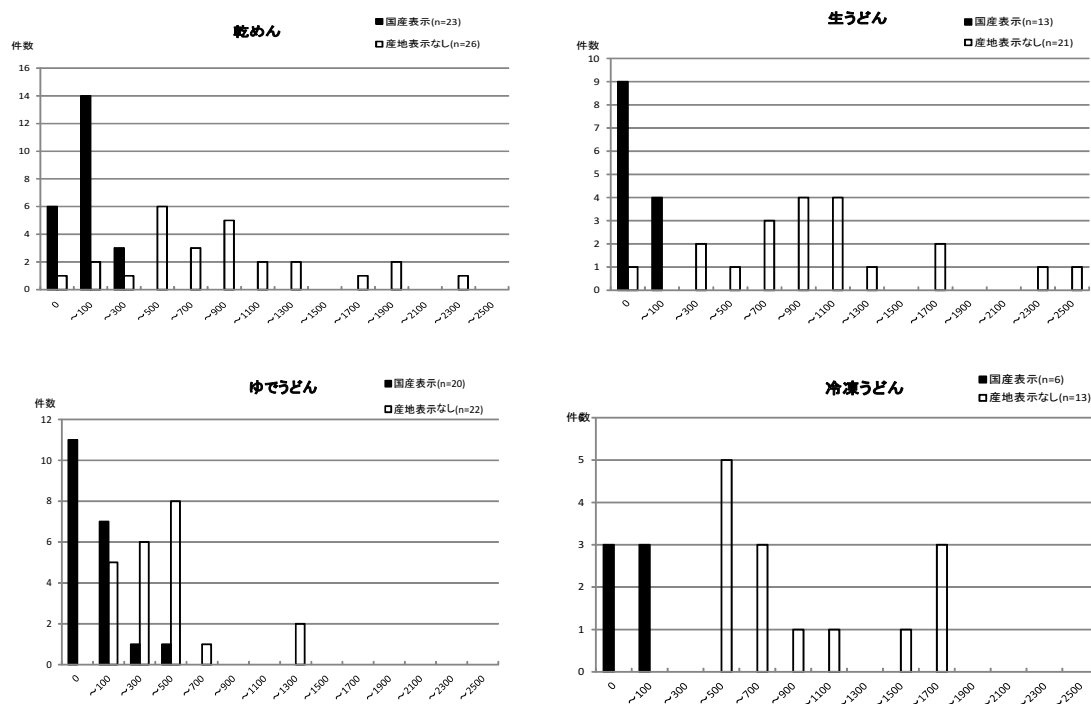


図5 市販うどん類から検出された輸入小麦3銘柄特有の増幅断片の蛍光強度の分布

縦軸：件数、横軸：217 bp 又は 219 bp の増幅断片の蛍光強度

同様に市販パン類 122 件の結果を図 6 に示した。食パンについては、217 bp 及び 219 bp の増幅断片の蛍光強度が 600 未満と分布域が狭かったのに対し、菓子パン及びその他のパン類は分布域が広がった。これは、一般的な食パンの焼成条件が 200 °C、30 分程度に対し、菓子パンやその他のパン類のような小型のパンは 170 °C、15 分程度と条件が緩いため、DNA の損傷の影響が小さいことが要因と考えられた。小麦の原材料の産地表示が国産のものと表示のない試料を比較したところ、産地表示のない試料の蛍光強度の範囲が幅広く、蛍光強度 100 以上あった試料が 67 件中 59 件 (88 %) であったのに対して、国産表示の試料 65 件中 26 件 (30 %) であった。パン類の国産表示の試料は、うどん類のそれと比べると蛍光強度が 100 以上となる試料が多く、1000 超となる試料もあった。蛍光強度の高い試料は、輸入小麦を使用している可能性の他、パン類の原材料には小麦に由来する小麦グルテンや小麦を含む培地で培養したパン酵母を使用することがあり、これらの原材料を検知している可能性も考えられる。



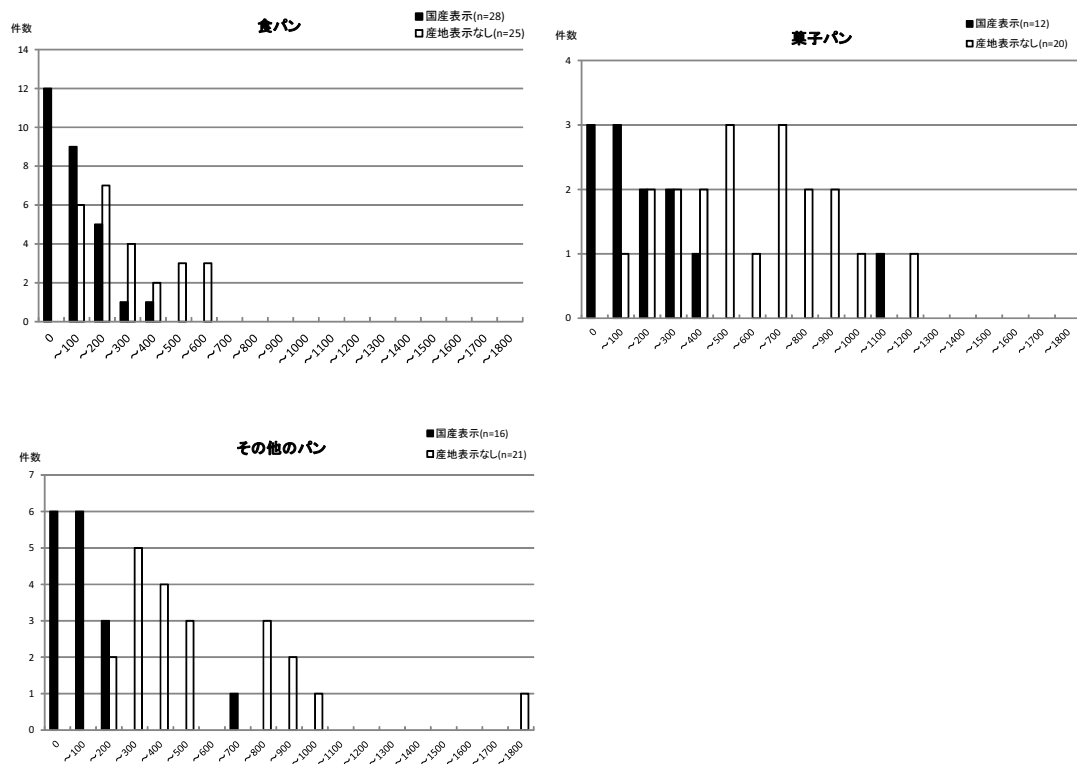


図6 市販パン類から検出された輸入小麦3銘柄特有の増幅断片の蛍光強度の分布

縦軸：件数、横軸：217 bp 又は 219 bp の増幅断片の蛍光強度

217 bp 及び 219 bp の増幅断片の蛍光強度の値は、輸入小麦の使用量が一定であっても、輸入小麦 3 銘柄に含まれる 217 bp 及び 219 bp の増幅断片をもつ品種のブレンド割合が輸入されるロット毎に異なることや、加工工程による DNA の損傷の程度が製造毎に異なるなど、複数の要因が関与しているため、一定の値とならない。このため、市販品について、217 bp 及び 219 bp の増幅断片の蛍光強度から輸入小麦の使用量を特定することは不可能である。しかし、モデル試料と比較することで、モデル試料の混合割合に相当する使用量として推定することは可能と考える。また、フラグメント解析は高感度であるため、製造工程中のコンタミネーションレベルの混入も検出するが、極微量の混入を除外し、実用に即した混入量の推定を行うのに有効と考える。

### 3. 5 小麦由来の原材料の分析

小麦たん白 7 試料を分析した結果、それぞれ 1～4 つの増幅断片を検出し、各試料の増幅断片の蛍光強度の最大値は、いずれも 7000 超であった。217 bp 及び 219 bp の増幅断片の蛍光強度を検出した 3 試料の蛍光強度は 30～256 であった (図 7(1)a))。このことから 217 bp 又は 219 bp の増幅断片を持つ品種は、小麦たん白を製造する品種の主体でないことが推察された。また、小麦でん粉は、増幅断片の蛍光強度の最大値が 87 と低く、コーンスターチ、片栗粉等のでん粉類と同様に PCR 増幅に必要な DNA 量が試料中に十分に含まれていないと考えられた (データ未掲載)。酵母は、製パン用酵母 2 試料からは PCR

増幅が認められなかったが、小麦培地で培養した旨記載された天然酵母に類するパン酵母 3 試料のうち 2 試料に増幅断片が認められた (図 7(2))。使用した小麦品種を記載したものにあっては、その品種特有の増幅断片長であったため、培地に使用した小麦粉に由来する増幅断片を検出していることが確認できた (図 7(2)b)。

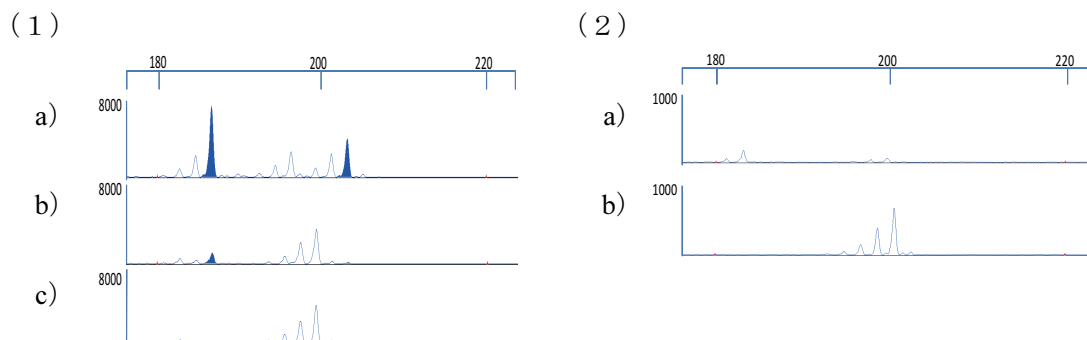


図 7 小麦由来の原材料の TaSE3 マーカーによる増幅パターン

縦軸：蛍光強度、横軸：塩基サイズ

(1) 小麦たん白、きたほなみ及び小麦たん白混合時の増幅パターンの比較

a) 小麦たん白 b) 小麦たん白 2%混合きたほなみ c) きたほなみ

小麦たん白の青色の増幅断片は、混合時に確認できたものを示す。

(2) 酵母の分析パターン

a) 天然酵母 b) パネトーネ種 (検出された増幅断片は培地に使用した小麦品種の増幅断片長と一致)

国産小麦の主流である中力粉は、輸入小麦と比べて、たん白含有率が低く、製パン時の膨らみ、コシが弱い要因となっており、これを補うために、小麦たん白を 2%ほど添加することがある<sup>12,13)</sup>。このため、国産小麦粉 きたほなみに 2%小麦たん白を添加した試料について分析したところ、小麦たん白に由来する増幅断片が認められた (図 7(1))。試料約 50 mg から抽出した DNA 量は、小麦たん白が 20 ~ 40 mg 程度 (n=7)、小麦粉は 2 ~ 6 mg 程度が 70%を占め (n=69、最小量 2 mg、最大量 17 mg)、小麦たん白が 8 倍程度多かった。つまり、2%の小麦たん白を添加してパン等を製造した場合、小麦たん白由来の DNA 量を小麦に換算すると、輸入小麦を 16%相当含有することとなる。調査した小麦たん白では、217 又は 219 bp の増幅断片を持つ品種が主体となっていなかったため、製パン時に影響は低いと考えられるが、使用する小麦たん白の種類によっては、産地表示のないパンの蛍光強度の分布と同等の値を示す可能性があることに留意する必要がある。

酵母は、製パンに必須の原材料であり、大別して自然界から分離した酵母を純粋培養した製パン用酵母と自然界に存在する酵母を独自に種起こしして使用する発酵種がある。前者は、製パンに一般的に使用されており、乾燥タイプ、生タイプがあり、酵母の純粋培養であるため、その原材料に小麦は含まれていない。一方、後者は、主に製パン業者が種起こしを行い、小麦を培地として使用するものと、イーストと同様に取り扱いが容易な天然酵母粉末が市販されている。本研究で分析した市販の天然酵母粉末は、蛍光強度が低く (図 7(2))、一般的な使用量 2 ~ 5%に従えば、製パン後に検出される可能性は

低いと考えられるが、発酵種として酵母の培養液ごと添加する場合、原材料に占める割合が多く、培地由来の小麦を検出する可能性が推察された。

すなわち、国産小麦使用の製品であっても、輸入小麦から製造された小麦たん白や輸入小麦を培地に培養した天然酵母を使用している製品については、217 bp 及び 219 bp の増幅断片を検出する可能性があるため、パン類に本法を適用する際は、使用された原材料に留意する必要がある。

#### 4. まとめ

- (1) 未調査の国内 13 品種を分析した結果、TaSE3 マーカーにより国内 54 品種と輸入小麦 3 銘柄を区別することが可能となった。
- (2) 2008 年～2012 年産の輸入小麦 3 銘柄を分析したところ、TaSE3 マーカーが継続して輸入小麦の検出の指標に有効であることが確認できた。
- (3) モデル試料のフラグメント解析により、TaSE3 マーカーによる 217 bp 及び 219 bp の増幅断片の蛍光強度の値は、輸入小麦の含まれる量を反映することがわかった。
- (4) モデル試料と比較することで、市販のうどん類やパン類に含まれる輸入小麦の大きな混入割合を推定する可能性が示唆された。
- (5) TaSE3 マーカーのフラグメント解析では、小麦粉以外の小麦由来の原材料も検出されるため、小麦由来の原材料を含む試料の分析には留意が必要であることがわかった。

また、フラグメント解析で測定される蛍光強度の値は、使用する機器、試薬によって異なるため<sup>14)</sup>、比較するモデル試料と同時に分析するなど、分析条件の設定には留意が必要である。

#### 5. 謝 辞

本研究を行うにあたり、小麦、小麦粉、又は小麦たん白の試料をご提供くださいました北海道立総合研究機構中央農業試験場、長野県農業試験場、愛知県農業総合試験場、香川県農業試験場、(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター、作物研究所及び近畿中国四国農業研究センター、株式会社増田製粉所、株式会社ファスマック及び長田産業株式会社に深く感謝いたします。また、ご助言・ご協力いただきました(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 近畿中国四国農業研究センター 藤田氏(現 作物研究所)に厚く御礼申し上げます。

#### 6. 文 献

- 1) 小麦需給に関する見通し 農林水産省 平成 25 年 3 月  
[http://www.maff.go.jp/j/seisan/boueki/mugi\\_zyukyuu/index.html](http://www.maff.go.jp/j/seisan/boueki/mugi_zyukyuu/index.html)
- 2) 国内産麦をめぐる状況 農林水産省総合食料局 平成 21 年 1 月  
[http://www.maff.go.jp/j/study/yunyu\\_migirule/06/pdf/data1.pdf](http://www.maff.go.jp/j/study/yunyu_migirule/06/pdf/data1.pdf)
- 3) 大坪研一、中村澄子、雲聡、川上宏智、宮村毅、PCR 法によるコメの DNA 品種判別

- のためのプライマーセットの開発、日本食品科学工学会誌、52、102-106(2005)
- 4) DNA 分析による小豆品種識別 北海道立中央農業試験場、独立行政法人農業生物資源研究所  
[http://www.hinsyu.maff.go.jp/pvr/dna\\_manual/san05.pdf](http://www.hinsyu.maff.go.jp/pvr/dna_manual/san05.pdf)
- 5) DNA マーカー(CAPS 法)によるイチゴ品種識別マニュアル 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所 野菜ゲノム研究チーム 2007年8月  
[http://www.hinsyu.maff.go.jp/pvr/dna\\_manual/san01.pdf](http://www.hinsyu.maff.go.jp/pvr/dna_manual/san01.pdf)
- 6) 小林俊一、吉田智彦、RAPD 分析による栃木県を中心とした関東周辺地域のムギ類優良品種識別、日本作物学会紀事、75、165 - 174 (2006)
- 7) 農産物の DNA 品種識別(麦類)、宮城県農業・園芸総合研究所、普及に移す技術、82、43-44(2007)
- 8) Fujita,Y.,Fukuoka,H.and Yano,H.,wheat cultivars using EST-SSR markers.Breed.Sci.59,159-167(2009)
- 9) 藤田由美子、石川直幸、矢野博、SSR マーカーを用いた国産小麦と輸入小麦銘柄の効率的判別法、DNA 多型、17、110-113(2009)
- 10) 藤田由美子、村上恭子、原口浩幸、市販キットを用いた小麦加工食品からの DNA 抽出法の比較、日本食品科学工学会誌、59、414-421(2012)
- 11) 藤田由美子、池田達也、荒木悦子、矢野博、小麦加工食品からの DNA 抽出法および DNA 断片化程度の評価、DNA 多型、14、154-156
- 12) 小麦粉のおなはし (財)製粉振興協会 HP
- 13) 小麦でん粉及び小麦たん白(改訂版) 全国小麦粉分離加工協会
- 14) DNA 品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン (独)種苗管理センター  
平成20年3月