

[資料]

そば（特定原材料）検査における簡易迅速な DNA 抽出法の検討

後藤 操^{1*} 川元 達彦¹ 赤松 成基¹ 竹中 麻希子²
服部 涼子¹ 稲田 忠明¹

A Simple and Rapid DNA Extraction Method for Screening Allergic Substances such as Buckwheat

Misao GOTOU^{1*}, Tatsuhiko KAWAMOTO¹, Shigeki AKAMATSU¹,
Makiko TAKENAKA², Ryoko HATTORI¹ and Tadaaki INADA¹

Life Science Division, Public Health Science Research Center, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Consumer Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan

The applicability of a Genomic DNA Extraction Kit for Cereal Food (Extra method), by polymerase chain reaction (PCR) for rapid DNA extraction, for screening allergic substances (buckwheat) was evaluated. The Extra method was used to extract DNA from processed food models adjusted to contain buckwheat protein at concentrations of 1.0, 2.5, 5.0, and 10 µg/g. Buckwheat DNA was detectable by PCR in the DNA extracted from the food models containing ≥ 2.5 µg/g of buckwheat. Moreover, the Extra method was used to extract DNA from heat-processed food models. DNA could be extracted from 3 sample types (boiled, baked, and fried food models), and buckwheat DNA could be detected by PCR. In addition, the monitoring of commercial food products was performed using the Extra method and 2 other DNA extraction methods. For noodles, baked snacks, arrowroot starch gruel, and bean-starch vermicelli, the results of DNA extraction using the Extra method were identical to those using the other methods. The Extra method appeared to be useful for extraction/purification of buckwheat DNA from food products produced with wheat and starch.

I はじめに

食物アレルギーは、じんましん、腹痛、呼吸困難など全身に多様な症状を引き起こし、重症化すると意識障害などショック症状で生命にかかわることもある^{1,2)}。このような健康被害の発生を防止するため、平成14年4月、厚生労働省はアレルギー物質を含む食品の表示を義務化し^{3,4)}、表示が適正かを検証する目的で検査法が通知され^{5,6)}、平成16年度から、兵庫県においてもモニタリング

検査を実施している。

検査法は、スクリーニング検査としてELISA法による定量試験を行い、基準値超過の場合など、必要に応じてPCR法などの定性試験による確認検査を行うこととなっている。このPCR法に用いるDNAの抽出・精製方法には、シリカゲル膜タイプキット法⁷⁾とイオン交換樹脂タイプキット法⁸⁾が採用されている。両方法は対象食品の加工度の程度により使い分けられ、多くの種類の食品に対応可能であるが、検査工程に数時間を要する。このため、スクリーニング検査後の確認検査では、健康被害を防ぐ観点から、より迅速な判定が望まれる。また近年、DNAを短時間で抽出できる簡便なキットが数多く開発され⁹⁾、適応対象も血液、細菌、動物、植物、土壌等へと拡充してきている。

¹健康科学部 ²元 健康科学部

*別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町 2-1-29
兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学研究センター
健康科学部 後藤 操

食物アレルギーで、表示義務のあるものは下記の7種類である。発生件数が多いものは小麦、乳および卵で、発生件数は少ないが、症状が重篤で死亡例もあるものには、そばおよび落花生がある。最近（平成20年6月3日）指定されたものにはエビおよびカニがある。そこで今回、そばを対象とすることにした。検査工程を簡便化し、検査時間を短縮するため、DNAの抽出・精製において、農産物から加工食品まで幅広い加工度に対応した簡易DNA抽出キットの確認検査への適応性についても検討した。ここでは、試験試料として、そばの夾雑物が問題となる小麦加工品に⁸⁾、そばを混和した陽性検体モデル食品を作製した。モデル食品を加熱加工したものを試料として用い、DNAの抽出・精製を検討した結果、有用な情報が得られた。また、市販品を対象に通知法記載のDNA抽出法⁹⁾と比較検討したので併せて報告する。

II 方法

1. 試料

①めん類、菓子類（焼き菓子）、その他の加工品（くず湯粉末、韓国春雨、そば茶）およびモデル食品の原材料は全て市販品を用いた。モデル食品作製に使用したそば粉は、ELISAキット（モリナガFASPEK特定原材料測定キット〔そば〕（森永生化学研究所製；以下、FASPEKとする））でそばタンパク質濃度を測定し、122.4 mg/gであった。

②そばタンパク質濃度調整モデル食品および加熱加工モデル食品は、以下のように作製した。

そばタンパク質濃度調整モデル食品：あらかじめそばを含有していないことを確認したそうめんを用いた。ミルサーで粉砕したそうめんの一部に、そば粉を添加し混和した（そばタンパク質濃度；2 mg/g）。さらにこの均質試料をそうめん希釈混合し、そばタンパク質濃度が1.0 μg/g、2.5 μg/g、5.0 μg/g、10 μg/gのモデル食品を作製した。

③加熱加工モデル食品：うどんを想定した生めんを作製した。配合は小麦粉、塩、水、さらにそば粉を添加し、均質に混和後20 g単位に小分けした。この生めんはそばタンパク質濃度はFASPEKにより51.1 μg/gであった。加熱加工モデル食品としては、生めんからゆでめん、焼きめん（ゆで+焼き）、揚げめん（ゆで+揚げ）、オートクレーブめん（ゆで+オートクレーブ）を作製した。ゆでめんは試料重量の10倍量の沸騰水で7分間ゆでた。さらに、焼きめんはオーブン（180 °C）で8分間、揚げめんは食用油（170 °C）で2分間、オートクレーブめんはオートクレーブ（121 °C）で4分間あるいは15分間、それぞれ

加熱処理し作製した。

2. 試薬

2.1 PCR法

2.1.1 DNA抽出

DNA抽出には、Genomic DNA Extraction Kit for Cereal Food（FAVORGEN製；以下、Extra法とする）、通知法⁶⁾に記載のシリカゲル膜タイプキット：QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit（QIAGEN製；以下、DNeasy法とする）、イオン交換樹脂タイプキット：Genomic-Tip 20/G（QIAGEN製；以下、G-tip法とする）を用いた。またイソプロピルアルコール（株）関東化学社製、エタノール（和光純薬（株）製）、Protease K（QIAGEN製）、RNase A（株）ニッポンジーン製）を使用した。

2.1.2 PCRおよび電気泳動に用いた標準試薬等

植物DNA検出用プライマーセット、そば検出用プライマーセットおよび陽性コントロールテンプレートは、アレルギーチェッカー「そば」（オリエンタル酵母工業（株）製）を用いた。また、PCR反応にはAmpli Taq GOLD & 10×PCR buffer II/MgCl₂ with dNTPs（ライフテクノロジーズジャパン（株）製）およびTE 緩衝液（株）ニッポンジーン製）を使用した。電気泳動では、20bp 分子量マーカー（タカラバイオ（株）製）、Agarose 3 : 1 HRB（アムレスコ製）、50×TAE緩衝液（株）ニッポンジーン製）、エチジウムブロミド（和光純薬工業（株）製）を用いた。

3. 測定機器類

粉砕器：GM200（株）レッチェ製）、遠心器：CF16RX、CF15R（日立工機（株）製）、分光光度計：UV-2400PC（株）島津製作所製）、サーマルサイクラー：GeneAmp PCR System9700（ライフテクノロジーズジャパン（株）製）、電気泳動装置：Mupid α（株）アドバンス製）、恒温器：IN602W（ヤマト科学（株）製）、プレートリーダー：MultiskanJX（サーモフィッシュャーサイエンティフィック（株）製）を用いた。

4. 測定条件

4.1 PCR法および電気泳動

PCR反応は通知法⁶⁾に従い、以下に概略を示した。電気泳動は、Agarose 3 : 1 HRBおよびTAE緩衝液で作製した4%濃度のアガロースゲルを用いた。PCR反応試料溶液は100 Vで25分間電気泳動を行った。泳動後のゲルは0.5 μg/mLのエチジウムブロミドを含んだTAE緩衝液で35分間染色し、TAE緩衝液で15分間脱色した。UV 312 nmを照射し、増幅バンドの写真を撮影した。増幅バ

ンドは、陽性コントロールの植物DNA検出用では124 bp、そばDNA検出用では127 bpのバンドと比較し確認した。

4.2 ELISA

FASPEKを用い、既報⁹⁾に従い、そばタンパク質濃度を測定した。加熱加工モデル食品では試料の重量変化を補正して算出した。

5. DNAの抽出および精製

Extra法：均一粉碎した試料50 mgを1.5 mLチューブに採り、キット付属のFAFG緩衝液600 μ Lを添加し、ミキサーで混和した。14,000 rpm, 15分間で遠心分離し、上清400 μ Lを2.0 mLチューブに採取した。イソプロピルアルコール400 μ Lを混和後、FABGカラムに負荷した。10,000 rpm, 1分間で遠心分離し、溶出液を廃棄後、70%エタノール750 μ Lをカラムに添加した。10,000 rpm, 1分間で遠心分離し、溶出液は廃棄した。TE緩衝液50 μ Lを添加後1分間静置し、10,000 rpm, 30秒間で遠心分離してDNA試料溶液を得た。これらの作業工程時間は約25分間であった。

DNeasy法およびG-tip法：通知法⁶⁾に従い、DNAを抽出した。

DNA濃度は260 nmの吸光度から算出し、またDNAの精製度は通知法⁶⁾に従い、260 nm/280 nmおよび260 nm/230 nmの吸光度比で確認した。

III 結果および考察

1. そば含有モデル食品からのそばDNAの検知法

そばタンパク質を含有するそうめんをモデル食品として、Extra法¹⁰⁾によって抽出したDNAの濃度および精製度をTable 1に示した。抽出DNAの濃度は54.3 ng/ μ L、精製度は260 nm/280 nm比で1.70、260 nm/230 nm比で2.40であった。通知法⁶⁾ではPCR反応に適した精製度は260 nm/280 nm比で1.2から2.5の範囲、260 nm/230 nm比で2.0以上とされ、PCR増幅のため抽出DNAを20 ng/ μ Lに調製することとなっており、Extra法¹⁰⁾により抽出されたDNAは濃度、精製度とも良好であることが確認できた。

抽出したDNAのPCR測定結果をTable 2に示した。植物DNA検出用プライマー対（通知法⁶⁾で、PCR増幅は、まず、植物DNA検出用プライマー対を用いて行うこととなっており、このプライマー対は広く植物DNAを検知することを目的としている。）では、全てのそばタンパク質濃度の試料でPCRの増幅が認められた。また、そば検出用プライマー対では、2.5 μ g/g以上の濃度でそばのDNAを検知することが可能であった。通知法⁶⁾によるPCRの

Table 1 Concentrations and purity of DNA extracted from processed food models adjusted for buckwheat protein concentrations

DNA concentration (ng/ μ L)	Ratio	
	260 nm /280 nm	260 nm /230 nm
AV \pm S.D.	AV \pm S.D.	AV \pm S.D.
54.3 \pm 19.7	1.70 \pm 0.10	2.40 \pm 0.60

n = 10

Table 2 Detection of DNA extracted from processed food models and amplified by PCR

Buckwheat protein concentration (μ g/g)	PCR ^{a)}	
	Plant	Buckwheat
0.0	+	-
1.0	+	-
2.5	+	+
5.0	+	+
10.0	+	+

a) PCR was performed separately with primer pairs for the detection of plant and buckwheat DNA according to the official Japanese identification test by the Ministry of Welfare, Labour and Health.
+ : positive, - : negative

感度は、小麦粉にそば粉を混和した試料による検討で、10 μ g/gは検知でき、1.0 μ g/gは検知できなかったと報告されており¹¹⁾、ELISA法による定量で表示義務の生じる10 μ g/gを超えた場合、確認試験としてPCR法を実施することから、Extra法¹⁰⁾は表示の検証が可能な品質のDNAを抽出できることが分かった。

2. 加熱加工モデル食品からのDNA抽出の検討

2.1 加熱加工モデル食品からのDNA抽出の検討

食品は加熱により、タンパク質などの変性、分解、重合およびDNAの断片化などが生じ、DNAの抽出あるいはPCRに妨害を及ぼす可能性がある¹²⁾。そこで、スクリーニング検査に用いるそば陽性検体モデルを作製し、さらにその検体に加熱加工を施したモデル食品を用いてExtra法¹⁰⁾によるDNAの抽出を試みた。各加熱加工モデル食品から抽出されたDNAの濃度および精製度をTable 3に示した。抽出DNAの濃度は、26.0 ng/ μ Lから44.5 ng/ μ Lの範囲であり、PCRに適した濃度を得ることができた。また、精製度は260nm/280nm比では加熱加工品が生めん に比べ低い傾向であったが、全ての試料が1.2から2.5の範囲で良好であった。280nmの吸光度値はタンパ

Table 3 Concentrations and purity of DNA extracted from heat-processed food models of noodles

Sample	DNA concentration (ng/ μ L)	Ratio	
		260 nm /280 nm	260 nm /230 nm
Raw noodles	32.0	1.67	1.46
Boiled noodles	31.8	1.46	1.23
Baked noodles	28.8	1.58	1.88
Fried noodles	26.0	1.48	1.70
Autoclaved noodle A ^{a)}	44.5	1.46	0.73
Autoclaved noodle B ^{b)}	33.0	1.32	0.75

Values are indicated as means, n = 2

a) Boiled noodles were autoclaved at 121°C for 4 min.

b) Boiled noodles were autoclaved at 121°C for 15 min.

Table 4 Detection of buckwheat protein and DNA in heat-processed food models

Sample	ELISA ^{a)} (μ g/g)	PCR ^{b)}	
		Plant	Buckwheat
Raw noodles	51.1	+	+
Boiled noodles	50.3	+	+
Baked noodles	49.9	+	+
Fried noodles	21.7	+	+
Autoclaved noodle A ^{c)}	44.4	+	+
Autoclaved noodle B ^{d)}	34.4	+	-

a) ELISA was performed using a Morinaga FASPEK allergic substance measurement kit (buckwheat).

b) PCR was performed separately with primer pairs for the detection of plant and buckwheat DNA according to the official Japanese identification test by the Ministry of Welfare, Labour and Health. +: positive, -: negative

c) Boiled noodles were autoclaved at 121°C for 4 min.

d) Boiled noodles were autoclaved at 121°C for 15 min.

ク質などの不純物由来とされていることから⁶⁾, 加熱によりタンパク質が分解, 溶出し, DNA抽出溶液に残存したものと考えられた. 260nm/230nm比では焼きめんおよび揚げめんが比較的良好的な値であったが, 全ての加熱加工モデル食品が2.0を下回った. 230nmの吸光度値は糖などの低分子化合物由来とされ⁶⁾, 加熱加工によりデンプンなどの夾雑物が増加したものと考えられた. 特にオートクレーブめんでは明らかに低値となり, 加圧も加わったため, より多くの夾雑物がDNA抽出溶液に溶出したものと推察された.

各加熱加工モデル食品のELISAによるそばタンパク質濃度および抽出DNAのPCR測定結果をTable 4に示した. そばタンパク質濃度は加熱加工により減少したが,

Table 5 Concentrations and purity of DNA extracted from commercial food products by the Extra, DNeasy, and G-Tip methods

Sample	DNA extraction method	DNA concentration (ng/ μ L)	Ratio	
			260 nm /280 nm	260 nm /230 nm
Korean cold noodle A	Extra	19.3	1.36	0.81
	DNeasy	29.5	1.62	1.24
Korean cold noodle B	Extra	31.3	1.40	0.77
	DNeasy	24.0	1.57	1.08
Cold noodles	Extra	22.0	1.51	2.76
	DNeasy	19.3	1.50	0.84
Wheat noodle A	Extra	84.8	1.62	2.20
	DNeasy	197.5	1.78	2.15
Wheat noodle B	Extra	73.5	1.61	2.30
	DNeasy	365.0	1.81	2.17
Buckwheat-containing baked snack A	Extra	69.5	1.80	1.60
	G-tip	133.5	1.84	1.57
Buckwheat-containing baked snack B	Extra	253.0	1.75	1.23
	G-tip	202.3	1.84	2.20
Buckwheat tea	Extra	43.0	1.16	0.81
	G-tip	60.0	0.97	0.33
Arrowroot starch powder	Extra	18.0	1.31	2.39
	G-tip	< 5	- ^{a)}	-
Korean bean-starch vermicelli	Extra	8.5	1.18	4.88
	G-tip	< 5	-	-

Values are indicated as means, n = 2

a) The ratio could not be calculated because the absorbance was 0.

全てのモデル食品は陽性の範囲であった. 植物DNA検出用プライマー対による抽出DNAのPCRでは, 全てのモデル食品でPCR増幅を確認できた. また, そば検出用プライマー対では試行した4種類の加熱方法で加工した試料においてそばDNAを検知できた. しかし, オートクレーブで15分間加熱したオートクレーブめんBは, 揚げめんと比較して高濃度にそばタンパク質を含有していたが, そばDNAを検知できなかった. Table 3で示したように, 260nm/230nm比は明らかに低値であり, オートクレーブめんA (4分間加熱) と比べ, DNA濃度は低下した. この原因として, 長時間のオートクレーブ処理でDNAの低分子化^{13,14)}が進んだこと, および低分子化したタンパク質などがPCRを妨害した可能性が考えられた.

2.2 市販食品からのDNA抽出の検討

めん類, そばを含む焼き菓子, デンプン含有量の多い春雨など10種類の市販食品を対象に, Extra法¹⁰⁾の適用性についてDNeasy法⁶⁾およびG-tip法⁶⁾と比較検討した.

通知法⁶⁾において, 加工度の低い食品に対応しているDNeasy法⁶⁾はめん類5品, 加工度の高い食品に対応しているG-tip法⁶⁾は焼き菓子など5品からそれぞれDNAの抽

出・精製を行った。抽出したDNAの濃度および精製度はTable 5に示した。

加工度の低い食品から両方法で抽出したDNAの濃度は、韓国冷めんAおよび冷めんにおいて20 ng/μL前後の濃度となった試料が認められたが、その他の食品からは良好な濃度が得られた。精製度は260nm/280nm比ではExtra法¹⁰⁾が1.36から1.62、DNeasy法⁶⁾が1.50から1.81の範囲でDNeasy法⁶⁾の精製度が高い傾向であったが、いずれも良好な範囲であった。また260nm/230nm比においては、うどんでは両方法とも良好で、韓国冷めんでは両方法ともに低値を示した。冷めんについては片栗粉が原料として使用されており、DNeasy法⁶⁾における精製度の低下の一因と考えられた。

加工度の高い食品において、そば焼き菓子およびそば茶では両方法とも抽出DNAの濃度は良好であった。そば焼き菓子の精製度は、そば焼き菓子Bにおける260nm/230nm比でExtra法¹⁰⁾に比べG-tip法⁶⁾が高値であったが、その他の精製度の指標は同程度であった。また、そば茶の精製度は、いずれも低値で夾雑物が多いと考えられた。くず湯粉末および韓国春雨では両方法とも得られたDNA濃度は低値で、特にG-tip法⁶⁾では痕跡程度しかDNAを採取できなかった。Extra法¹⁰⁾の精製度は260nm/280nm比では適合ライン付近であったが、260nm/230nm比は良好であった。ここで用いたくず湯粉末は芋類のデンプンを含む製品であり、春雨は主に緑豆あるいは芋類のデンプンで作られている。従って、Extra法¹⁰⁾はデンプンの豊富な食品からのDNA抽出に適応可能と考えられた。なお、G-tip法⁶⁾では測定した吸光度が0または0付近であったため、精製度を算出できなかった。

ELISAによるそばタンパク質濃度および各抽出法で得たDNAのPCR測定結果をTable 6に示した。10種類の食品のそばタンパク質濃度は、冷めん、うどんAおよび韓国春雨を除く7種類が陽性検体であり、このうちうどんBおよびくず湯粉末は微量混入であった。植物DNA検出用プライマー対を用いたPCR法では、いずれの抽出法で得たDNAにおいても全ての食品についてPCRの増幅が認められた。そば検出用プライマー対では9種類の食品において、いずれの抽出法で得たDNAのPCRもELISAの結果と一致した。しかし、そば茶ではExtra法¹⁰⁾により抽出したDNAでそばを検知できなかった。そば茶は、一度蒸した後に焙煎されることから、焼き菓子と比較し加工度が高いと考えられる¹²⁾。加熱加工モデル食品における検討で、長時間のオートクレーブ加工を施した食品ではそばを検知できなかったことから、そば茶は蒸し工程に加え、長時間の加熱工程で食品由来成分の分解あるいは

Table 6 Detection of DNA that was extracted from commercial food products by the Extra, DNeasy, and G-Tip methods and amplified by PCR

Sample	ELISA ^{a)} (μg/g)	DNA extraction method	PCR ^{b)}	
			Plant	Buckwheat
Korean cold noodle A	> 20	Extra	+	+
		DNeasy	+	+
Korean cold noodle B	> 20	Extra	+	+
		DNeasy	+	+
Cold noodles	< 1	Extra	+	-
		DNeasy	+	-
Wheat noodle A	< 1	Extra	+	-
		DNeasy	+	-
Wheat noodle B	12.4	Extra	+	+
		DNeasy	+	+
Buckwheat-containing baked snack A	> 20	Extra	+	+
		G-tip	+	+
Buckwheat-containing baked snack B	> 20	Extra	+	+
		G-tip	+	+
Buckwheat tea	> 20	Extra	+	-
		G-tip	+	+
Arrowroot starch powder	20.0	Extra	+	+
		G-tip	+	+
Korean bean starch vermicelli	< 1	Extra	+	-
		G-tip	+	-

a) ELISA was performed using a Morinaga FASPEK allergic substance measurement kit (buckwheat).

b) PCR was performed separately with primer pairs for the detection of plant and buckwheat DNA according to the official Japanese identification test by the Ministry of Welfare, Labour and Health.
+ : positive, - : negative

反応などが進み、PCR反応が阻害された可能性が考えられた。

また、G-tip法⁶⁾はα-アミラーゼを用いており、デンプンの多い食品に対応可能となっている。一方、Extra法¹⁰⁾は酵素を用いていないが、くず湯粉末、韓国春雨、冷めんといったデンプンを比較的多く溶出すると考えられる食品からDNAを抽出することができた。

以上の結果から、室温条件で30分以内にDNAの抽出・精製が可能でExtra法¹⁰⁾は、加工度の低いめん類、加熱加工された菓子類および主原料がデンプンの加工食品においてPCRに適用可能なDNAを抽出・精製することができた。この方法は、対象となる食品によっては、より迅速にスクリーニング検査の確認が可能と考えられ、健康被害の予防に貢献できるものと考えられた。今後は、その他の加工食品に対しても適用範囲の拡大のため検討を続ける必要があると考えられた。

IV 結論

特定原材料（そば）の検査において、PCR法に用いる

DNAを短時間で抽出が可能な Genomic DNA Extraction Kit Cereal Food (Extra法)の適用を検討した。そばタンパク質濃度を1.0, 2.5, 5.0, 10 µg/gに調整したモデル食品からExtra法により抽出したDNAを用いたPCRで、2.5 µg/g以上(陽性判断ライン: 10 µg/g)のそばを検知可能であった。また、めん類で加熱加工を施したモデル食品においてExtra法によるDNAの抽出を行った結果、ゆでめん、焼きめん、揚げめんからDNAを抽出可能であることを確認でき、PCR法によりそばDNAを検知できた。さらに、Extra法と通知法で採用されているDNeasy Plant Mini KitおよびGenomic-Tip 20/Gを用い、市販品を対象にモニタリング検査を行った。その結果、Extra法で抽出したDNAは、めん類、焼き菓子、くず湯、春雨で通知法と同じ結果を得ることができた。Extra法は特定原材料(そば)の検査で小麦およびデンプンを原材料とする食品を対象とする確認検査において、DNA抽出・精製法として有用であると考えられた。

文 献

- 1) 海老澤元宏:食物アレルギー関連の最近のガイドラインの進歩(食物アレルギー患者への対応). アレルギー, 60, 551-558 (2011)
- 2) 小俣戸貴嗣, 宿谷明紀, 海老澤元宏:アレルギー診断と対応(食物アレルギー—乳幼児期). 小児科診療, 77, 1297-1303 (2014)
- 3) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知:食品衛生法施行規則及び乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令等の施行について,平成13年3月15日,食発第79号(2001)
- 4) 消費者庁次長通知:アレルギー物質を含む食品に関する表示について.平成25年9月20日,消食表第257号(2013)
- 5) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知:アレルギー物質を含む食品の検査方法について.平成14年11月6日,食安発第1106001号(2002)
- 6) 消費者庁次長通知:「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」の一部改正について.平成26年3月26日,消食表第236号(2014)
- 7) Minegishi, Y., Mano, J., Kato, Y., Kitta, K., Akiyama, H., Teshima, R., : Development and evaluation of a novel DNA extraction method suitable for processed foods. Jpn. J. Food Chem. Safety, 20, 96-104 (2013)
- 8) 小泉充正, 高橋智樹, 松木諭和, 濟田清隆, 池野恵美, 櫻井有里子, 渡部健二郎:食品製造施設におけるアレルギー物質のコンタミネーションに関する一考察. 食品衛生研究, 57, 67-71 (2007)
- 9) 後藤操, 藤田昌民, 三橋隆夫:アレルギー発症の可能性のある加工食品原料についての前処理法の検討—凍結乾燥の適用性—. 兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告, 4, 31-34 (2013)
- 10) 後藤操ら:第48回全国衛生化学技術協議会年会講演集, p.90-91, 長野(2011)
- 11) Yamakawa, H., Akiyama, H., Endo, Y., Miyatake, K., Sakai, S., Kondo, K., Toyoda, M., Urisu, A., Teshima, R. : Specific Detection of Buckwheat Residues in Processed Foods by Polymerase Chain Reaction. Biosci. Biotechnol. Biochem., 72, 2228-2231 (2008)
- 12) 大坪研一, 中村澄子, 原口和朋:PCR法による醸造酒の原料判別技術. 新大農研報, 61, 1-9 (2008)
- 13) 高橋邦彦, 石井里枝, 松本隆二, 堀江正一:加工モデル実験によるコメ内在性DNAが検出されなかったビーフンに関する一考察. 食衛誌, 51, 37-42 (2010)
- 14) 橋本博之, 眞壁祐樹, 長谷川康行, 佐二木順子, 宮本文夫:ネステッドPCR法を用いた食品中の特定原材料(小麦)の検出. 食衛誌, 49, 23-30 (2008)

[平成27年5月14日受理]

