

津山市で市販される絹ごし豆腐から的大豆組換え遺伝子の検出状況

杉山 芳宏・田中 美帆・矢部かおり・宮本 泰子
上岡 香・村上 智美・和田 昌子・中川 京子

美作大学・美作大学短期大学部紀要（通巻第52号抜刷）

論 文

津山市で市販される絹ごし豆腐から的大豆組換え遺伝子の検出状況

A surveillance of the transgene of genetically modified soy beans from marketing silky textured soybean curds in Tsuyama city area.

杉山 芳宏、田中 美帆、矢部かおり、宮本 泰子
上岡 香、村上 智美、和田 昌子、中川 京子

はじめに (Introduction)

現在、世界的に遺伝子組換え技術を利用して開発された農産物の実用化が進んでいる。遺伝子組換え農作物はアメリカ、アルゼンチン、カナダ、ブラジル、中国をはじめ、南アフリカ、スペイン、ドイツ、ルーマニア、ブルガリア、メキシコ、ホンジュラス、コロンビア、ウルグアイなどの国々で、実際に栽培されている。遺伝子組換え農作物の栽培が本格的に始まった1996年時の栽培面積は、全世界で合計170万haであったが、わずか7年後の2003年には、6770万haへと大幅に増加した¹⁾。このように遺伝子組換え農作物の栽培が増加傾向にある背景には、農薬の減少、労力の軽減、収穫量の増加など多くのメリットがあることから、人手不足の農業従事者にとって、遺伝子組換え農作物の栽培が好まれることが原因となっている。

わが国においても、大豆、トウモロコシ、ジャガイモ、ナタネ、綿実、テンサイの6つの遺伝子組換え作物55種で安全性が確認され、商品化が可能になっており、テンサイを除き、アメリカ、カナダなどから輸入されている。平成12年の農林水産省のデータによると輸入アメリカ産大豆の約50%、トウモロコシの約20~30%、カナダ産ナタネの約50~60%、オーストラリア産綿実の約40%が遺伝子組換え作物であるといわれている。我国では、2001年から食品衛生法の改正により、遺伝子組換え食品の安全性審査およ

びその表示が義務化された。また、厚生労働省から遺伝子組換え食品の検査方法がしめされ、組換え食品の検知、表示内容の検証法が標準化された^{2,3,4)}。

近年、遺伝子組換え作物が多量に海外から輸入され、食品として頻繁に利用されるようになっているが、一部の消費者は、遺伝子組換え食品の摂取に不安を拭いきれずにいる。しかし、このような表示は遺伝子組換えに義務付けられているものの、徹底されていない。そこで、私たちが普段摂食している絹ごし豆腐での大豆の組換え遺伝子の混入について、津山市で市販されている絹ごし豆腐で検討した。

材料および実験方法 (Materials and Methods)

- 1) 市販絹ごし豆腐：2004年、岡山県津山市における9店のスーパーマーケットから85品の絹ごし豆腐を購入した。
- 2) 豆腐からの遺伝子の抽出：既報^{5,6)}を参考に、豆腐約1gを乳鉢でCTAB抽出緩衝液(Cetyl-Trimethyl-Ammonium-Bromide 4g, 1M Tris・HCl (pH8.0) 20ml, 0.5M EDTA・2Na 8ml, 5M NaCl 56ml) 1ml加えて、よく混合し、55℃で30分間の熱処理を加えた。熱処理後、フェノール・クロロホルム処理により除蛋白し、10000rpm, 5分間の遠心分離後、上清を2回エタノール沈殿し、それを遺伝子サンプルとした。
- 3) PCR試験：定性的PCRは大豆における除草剤抵

抗性の組換え遺伝子を検出するための既知のプライマー CaM03-5' と EPSPS01-3' を北海道システム・サイエンス社に作製依頼し、使用した⁵⁾。PCR は、遺伝子増幅用サーマルサークル (PC320 ASTEC) にて、Taq ポリメラーゼ KOD-Dash (TOYOBO) を用いて、95℃ 30 秒、66℃ 30 秒、74℃ 30 秒を 40 サイクルの増幅を実施した。その後、増幅した遺伝子を 2% アガロースの電気泳動により、増幅された 513bp サイズの DNA を確認した。

- 4) 統計処理：各サンプルの比較には χ^2 検定を用い、5 以下のサンプル数を比較する場合は Fisher の直接確率計算法を用いて、解析を行った。

結果と考察 (Results and Discussion)

津山市のスーパーマーケットで販売されている絹ごし豆腐 85 品から、PCR 法により、大豆の除草剤抵抗性の組換え遺伝子の検出を試み、その結果とパッケージに記載されている表示とで比較し、関連性があるか否かを検討した。その結果、以下のことが明らかとなった。

- (1) 表 1 に示されるように、2004 年度に津山市の 9 店のスーパーマーケットで購入した絹ごし豆腐、全 85 品中 13 品 (15.3%) から大豆の除草剤耐性組換え遺伝子が検出された。これは豆腐の製造、大豆の流通、管理において、原料に遺伝子組換え大豆が混入したものと推定された。2001 年に国立医薬品食品衛生検査所において検査した結果では、大豆加工品における組換え遺伝子の検出率は、43 商品中 13 商品 (27.7%) であった。また 2004 年の門間公夫ら⁷⁾ の報告では絹ごし豆腐からの組換え遺伝子の検出率は、16.7% であったことから、我々の成績はこれに相当する検出率であり、2001 年当時よりも検出率は低下傾向にあると考えられる。これは、2001 年よりも近年では大豆の分別管理・流通の徹底が成されてきた可能性も示唆される。

- (2) 「遺伝子組換えでない」と任意表示されていた 78 品の豆腐と、組換え表示の記載がなかった 7 品の豆腐での検出結果の関連性を統計的に検討したが、検出頻度には有意差は認められなかった。津山市で販売される「遺伝子組換えでない」と表示される 15.4% の豆腐からも、組換え遺伝子が検出されることが明らかとなった。2001 年の農林水産消費技術センターの調査報告では、遺伝子組換え義務表示対象品目であって、「遺伝子組換えでない」の表示がある食品 34 品、遺伝子組換えに関する表示がない食品 25 品の合計 59 品を買い上げ、DNA 分析を行ったところ、11 品から組換え遺伝子が検出された。このうち、1 品については組換え遺伝子が 5% 以上の含有であった。また、2001 年にはスナック菓子から安全性が未審査のジャガイモ組換え遺伝子を検出し、自主回収する騒ぎとなった。このように、遺伝子組換え表示制度が施行された現在でも、表示にはまだ徹底不十分なところもある。

- (3) 充填包装の絹ごし豆腐 42 品と浮遊パックの絹ごし豆腐 43 品の比較で、組換え遺伝子の有無を調べたが、検出頻度には有意差は認められなかった。近年、包装内部に豆腐を充填して固化する比較的長い賞味期限をもつ大量生産の豆腐が見られるが、大量生産することから組換え大豆の混入する可能性が高いと考えられたが、今回の成績では、通常にパックされた豆腐と差がなかった。しかし、門間公夫ら⁷⁾ の報告では充填豆腐からは組換え遺伝子が検出できなかったとされているが、我々の成績では充填豆腐からも 11.9% 検出されている。
- (4) 使用大豆の原産地が国産である豆腐 34 品と、原産地の表示のない豆腐 49 品で、組換え遺伝子検出の有無との関連性を検討したところ、有意差は認められなかった。また、「国産大豆使用」と表示された豆腐 34 品中、7 品に組換え遺伝子が検出された。大豆流過程で輸入された組換え大豆が原料に混入した可能性高い。当然、意図的にわ

ずかな外国産大豆や、遺伝子組換え大豆を混ぜたことも否定できないことなどから、国産大豆の表示が遺伝子組換えでないとの表示とは直結しないことが示唆された。

- (5) 使用大豆が有機栽培大豆である豆腐 9 品と、有機栽培大豆の表示がない豆腐 76 品とでは、有意差は認められなかったことから、有機栽培大豆と組換え大豆には関連はないと考えられる。有機農業とは、生産農家が工夫し、手間をかけて土作りを行い、水田や畑が本来持っている生産力を最大限に引き出す栽培方法であり、原則的に化学肥料や化学合成土壌改良資材を用いないことを目指している。平成 11 年の JAS 法改正により、有機農産物および有機農産物加工食品の日本農林規格が制定された。これにより、日本農林規格の統一的な基準に基づいて、生産または製造された食品であって有機 JAS マークが貼られたものにかぎり、「有機」「オーガニック」などの表示を行えるようになった⁸⁾。このような有機農産物であることを示すには、遺伝子組換え植物は使用しないこととなっているが、実験を行った結果、有機栽培大豆と記されている豆腐 1 例から、組換え遺伝子が検出された。有機栽培の表示のない豆腐との比較では有意差は認められなかったが、遺伝子組換え大豆が混入していたと考えられる。遺伝子組換えが大豆の混入量の 5% 以上または、5% 未満であるのかを明らかとするにはさらに詳細な定量的検査が必要であるが、今回の結果では少なくとも遺伝子組換え大豆の混入があったことが確認された。

2002 年、農林水産省が「有機 100%」表示の豆腐や納豆の商品 76 品を調べ、組換え遺伝子の検出を行ったところ、豆腐 20 品、納豆 5 品から確認され、立ち入り検査を行った⁹⁾。そのような食品業界の騒ぎから習ったのか、今回購入した「有機大豆 100 (%)」の表示の豆腐では、組換え遺伝子は検出されていない。これも大豆の産地からの流通過程、また豆腐製造業務内での意図しない混入が考えられる。しかし、原材料の 95% 以上

が有機栽培大豆であれば、残り 5% 以下は有機栽培でなくとも、すなわち遺伝子組換え大豆の混入があっても、有機農産物加工食品と表示できる。したがって、実験結果からも「遺伝子組換えでない」と「有機栽培」の表示は、直結しないことが明らかとなった。使用大豆が無農薬栽培大豆である豆腐 5 品と、無農薬栽培大豆の表示がない豆腐 80 品では、組換え遺伝子の検出頻度に有意差は認められなかったが、無農薬栽培大豆を使用した豆腐から組換え遺伝子は検出されていない。これはサンプル数が少ないことによるものと考えられる。また、大豆の栽培には、さまざまな種類の農薬が目的別に使用されているが、大豆の栽培過程、また流通過程における農薬使用の有無は組換え遺伝子検出とは関連がないものと考えられる。

- (6) 消泡剤無添加である豆腐 15 品と、消泡剤添加のもの 70 品では、組換え遺伝子の検出率に有意差は認められなかった。消泡剤は、大豆の組換え遺伝子とは直接的関連はないが、多量に豆腐を製造する際の手間を省くための手段である。したがって、多量の大豆を使用している製造工場などで使用される傾向があり、それだけ組換え大豆の混入の可能性が高いが、今回の結果では消泡剤の使用も、組換え大豆の混入との関連はないものと考えられる。

その他、データは示さないが、販売者の記載がしてあった豆腐は 38 品あり、組換え遺伝子の検出の有無を、製造者別（岡山県とその他の県）に検討したが、検出率には差が認められなかった。また、製造者の記載があった豆腐は 54 品あり、その中で組換え遺伝子の検出の有無を、製造者別（岡山県とその他の県）に検討したが、検出率には有意差は認められなかった。すなわち販売者及び製造者と遺伝子組換え大豆の混入には、関連性は認められなかった。さらに凝固剤が塩化マグネシウムのみである豆腐と、塩化マグネシウム＋硫酸カルシウムの 2 種類併用の豆腐では、組換え遺伝子の検出率に差は認められなかった。その他、凝固剤の種類に記載のなかったものや硫酸カルシウムのみの

使用があったが、今回の結果では凝固剤に関して、組換え大豆の混入との関連はないと考えられる。

今回の結果では、津山市で販売されている組換えの表示がない絹ごし豆腐から組換え遺伝子が検出された。遺伝子組換え食品の表示義務は原材料の混入率5%以上で、主な原料上位3品目に組換え原料を使用した場合であり、それに該当しなければ表示義務はない。これらの豆腐には組換え大豆が何%使用されていたかは、さらに詳細な検査が必要だが、混入していたのは事実である。我々は認知していないうちに遺伝子組換え大豆を摂取している現状であることが、今回の調査で明白となった。

これに加えて新たに、絹ごし豆腐、木綿豆腐、大豆タンパクを使用したソーセージおよび味噌に関して同様に調査を行った。結果は、表2に示すように、絹ごし豆腐79例中16例(20.3%)、木綿豆腐では、24例中16例(66.7%)より大豆の組換え遺伝子が検出され、絹ごし豆腐よりも有意に高い検出率を得ている。これは、絹ごし豆腐の滅菌包装処理に高温殺菌が使われていることから、DNAの細断が起こり、我々の使用するプライマーでのPCR遺伝子増幅に支障あった可能性がある。また絹ごし豆腐では、2004年度および2005年度の年度間の検出率に、差は認められなかった。また、ソーセージや味噌に関しては、2002年6月厚生労働省の報告にも示されるように、われわれの検査でも、ソーセージで28例中および味噌で31例中に組換え遺伝子の検出される例はなかった。ソーセージや味噌からは、近年、森内ら⁸⁾が報告したように抽出される大豆遺伝子のコピー数が少ないため、われわれが実施しているPCRの実験系では、大豆の組換え遺伝子が検出されていないことが伺える。したがって、今後の展開として、豆腐以外の他の食品からの大豆組換え遺伝子検出感度を高めるため、大量の食材処理による抽出遺伝子の増加を検討したい。また加熱細断された遺伝子のPCR増幅のため、より短い遺伝子の増幅を行うためのプライマーの採用を検討しなければならないと考えている。さらに豆腐からの大豆組換え遺伝子の検査では、個人で販売している豆腐業者

の豆腐からの組換え遺伝子検出を試みることで、さらに検査数を増やして検討をすること、定量的PCRなどを実施して、組換え遺伝子の含有量を計測する必要もある。一方では、原料とする大豆の流通経路をそれぞれ確認し、組換え遺伝子検出の背景をより詳しく調べることにより、新たな知見が得られるかもしれない。

参考文献 (References)

- 1) 社団法人農林水産先端技術産業進行センター編
「遺伝子組み換え農作物」入門プログラム p11, 2004
- 2) 川村和彦 遺伝子組み換え農産物の表示制度
遺伝子組み換え体の検知技術-農産物・食品からの定性・定量的検知法- 農林交流センター発行 p14, 2002
- 3) 竹野洋佑 IPハンドリングによる農産物流通の実態 遺伝子組み換え体の検知技術 -農産物・食品からの定性・定量的検知法- 農林交流センター発行 p27, 2002
- 4) 厚生労働省監修 第5章 遺伝子組換え体 食品衛生指針 理化学編 p277, 2005
- 5) 松岡 猛ら ダイズおよびダイズ加工食品からの組み換え遺伝子の検知法(第1報) 食品衛生学雑誌 第40巻 p149, 1999
- 6) 谷口武利 無敵のバイオテクニカルシリーズ PCR実験方法 羊土社 p13, 1997
- 7) 門間公夫ら 食品からの遺伝子組み換え体の検知状況 食品衛生学雑誌 第45巻 p184, 2004
- 8) 農林水産省発行 食の安全・安心ABC 財団法人日本食生活協会 p23, 2002
- 9) 毎日新聞 記事 2002年8月28日
- 10) 森内理恵ら 大豆加工品を対象とした遺伝子組換え食品検査におけるDNA抽出法の検討
第92回食品衛生学会講演要旨集 p131, 2006

表 1 絹ごし豆腐からの大豆組換え遺伝子の検出状況

	サンプル数	遺伝子検出数	検出率
	85	13	15.3%
表示による内訳＊			
組換えでない	78	12	15.4%
無表示	7	1	14.3%
充填包装	42	5	11.9%
浮遊包装	43	8	18.6%
国産大豆表示	34	7	20.6%
無表示	51	6	11.8%
有機栽培表示	9	1	11.1%
無表示	76	12	15.8%
無農薬栽培表示	5	0	0.0%
無表示	80	13	16.3%
消泡剤使用	70	12	17.1%
不使用	15	1	6.7%

＊表示別による組換え遺伝子の検出に差は認められなかった。

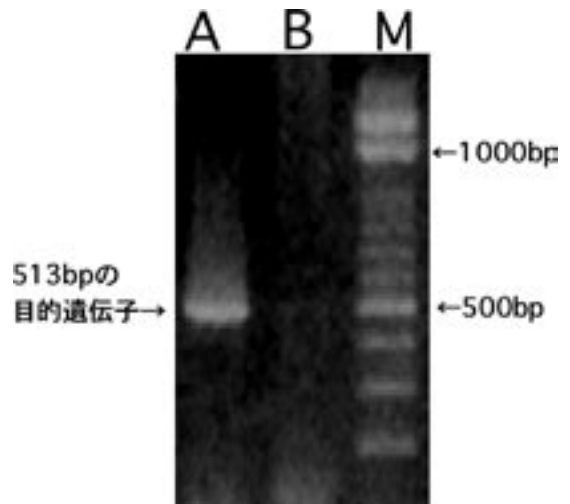


図1 PCRによる豆腐の大豆組換え遺伝子の検出
図は2%アガロースゲル電気泳動像で、Aには増幅された目的の遺伝子の増幅が認められる。
A：PCRで陽性サンプル
B：PCRで目的遺伝子が検出されなかったサンプル
M：分子量マーカー

表 2 絹ごし豆腐、木綿豆腐および2種類の大豆使用食品からの大豆組換え遺伝子の検出状況

調査品目	サンプル数	組換え 遺伝子検出数	検出率
絹ごし豆腐 (2004年調査)	85	13	15.3%
絹ごし豆腐 (2005年調査)	79	16	20.3%
木綿豆腐 (2005年調査)	24	16	66.7%*
魚肉ソーセージ (2006年調査)	28	0	0%
味噌 (2006年調査)	28	0	0%

＊ 木綿豆腐からの大豆組換え遺伝子検出率は、絹ごし豆腐と比較しても有意に高い（P< 0.002）。
絹ごし豆腐では年間で検出率に差はなかった。