

ノート

電気泳動法による穀物の鑑別

矢ヶ崎 国 秀, 川 端 省 三*

Identification of Cereals by Electrophoresis

Kunihide YAGASAKI and Shozo KAWABATA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance
531, Iwase, Matsudo-Shi, Chiba-Ken, 271 Japan

For the identification of cereals, electrophoresis of cereal proteins was studied using thin-layer gel (1mm thick) of 14% polyacrylamide with SDS and a coomassie brilliant blue R in 50% methanol and 10% acetic acid.

The electrophoretograms were traced by densitometer at 525nm.

Distinct electrophoretic patterns were obtained for cereal and other proteins. In case of mixture of rice or wheat and another cereals and others, by comparison of the electrophoretic patterns of mixture and its components on the same gel, it was possible to identify species of cereals in mixture.

It was shown that this technique was useful for the identification of rice, wheat and several another cereals.

- Received May 29, 1987 -

1 緒 言

輸入される米, 小麦, 大麦, はだか麦及びそれらの調製品は輸入制度上の取扱いが異なっており, 特に穀粉及び穀粉調製品については, 穀物の種類を鑑別することが税関にとって重要な課題の一つである。

穀粉調製品の原料穀粉の鑑別法としては, 穀粉のでん粉を顕微鏡等で観察し, その形状から鑑別する方法が簡易であるが, 穀粉相互の混合物, あるいは加熱処理したものについては鑑別が困難なことがある。

他の方法としては, 穀粉に含有されているたんぱく

質から原料穀粉を鑑別することが考えられる。穀粉等植物たんぱく質の鑑別法としては, たんぱく質に附随する成分分析を行う方法と, 直接たんぱく質を分析する方法がある。前者には, オリゴ糖等の糖分析¹⁾²⁾, フィチン酸分析³⁾等があるが, 製品による変動が大きく, 必ずしも成功していない。後者には主として, 植物たんぱく質の鑑別に電気泳動法が広く用いられており, 一般的電気泳動の他, 尿素^{4)・7)}やSDS⁸⁾⁹⁾などでたんぱく質を可溶化し, 各々のたんぱく質の泳動パターンから鑑別する方法について多くの報告がある。

橋詰⁴⁾⁸⁾ら, 斎尾⁷⁾ら及び小原⁵⁾⁹⁾らは電気泳動によ

*大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

り植物たんぱく質の鑑別に関して詳細な検討を行った。これらの検討には、SDS 系あるいは尿素系のディスク型ポリアクリルアミドゲル電気泳動法が用いられているが、橋詰⁸⁾らは SDS 系のディスク型ポリアクリルアミドゲル電気泳動法では小麦たんぱく質の鑑別ができない旨報告している。また、ディスク法はゲルの調製、染色などが煩雑であり、常に均一なゲルが調製できないので、比較分析法として良好な方法とはいえない。

本報では、主として穀粉の種類を鑑別するために、SDS 系のスラブ型ポリアクリルアミドゲルを用いる電気泳動法について検討した。

2 実 験

2.1 試料及び試料調製

市販品：うるち米、もち米、小麦粉、押麦、ハト麦、アワ、そば粉、小豆、落花生、大豆たんぱく質、卵白
輸入品：大麦（オーストラリア産）、ライ麦（カナダ産）、とうもろこし（中国産）、脱脂粉乳（オーストラリア産）

試料は、粒状のものは粉碎して、たんぱく質量として 10mg になるよう採取し、SDS、メルカプトエタノールを含む試料調製液（後述）2ml に溶解し電気泳動用試料とする。

2.2 試薬及び装置

試薬の調製は鈴木¹⁰⁾の方法によった。また、使用した水はすべて蒸留水またはイオン交換水である。

(1) アクリルアミド溶液

アクリルアミド 44.4g、メチレンビスアクリルアミド 1.2g を水に溶かし 100ml にする。

(2) ゲル調製用緩衝液（1.5 M トリス塩酸緩衝液）

トリス（トリスヒドロキシアミノメタン）18.15g を水に溶かし 6N 塩酸で pH8.8 に調製し、100ml にする。

(3) 10% SDS 溶液

ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）5g を水に溶かして 50ml にする。

(4) 過硫酸アンモニウム溶液

過硫酸アンモニウム 0.2g を水 2ml に溶かす（用時調製）。

(5) 電極槽用緩衝液

トリス 6g、グリシン 28g、SDS1g を水に溶かし 1l にする。

(6) 染色液

クマシーブリリアントブルー R2.5g をメチルアルコール 500ml に溶かし、酢酸 100ml を加え、水で 1l にする。

(7) 脱色液

メチルアルコール 250ml、酢酸 70ml に水を加えて 1l にする。

(8) 試料調製液

SDS1g、メルカプトエタノール 1ml、グリセリン 20ml、トリス 120mg を水に溶かし 6N 塩酸で pH6.8 に調製し、水で 100ml にする。

(9) BPB 溶液

少量のプロムフェノールブルー（BPB）を適量の水に溶かし、グリセリンを 2~3 滴加える。

(10) 3%グリセリン溶液

グリセリン 15ml に水を加えて 500ml にする。

(11) 電気泳動装置

SJ-1060 型・SGD 型スラブゲル電気泳動装置（アトー(株)）

(12) デンシトメーター

CS910 型二波長薄層クロマトスキャナー（島津製作所(株)）

2.3 ゲルの調製

予備実験により、ポリアクリルアミドゲルについてはゲル濃度 14%、厚さ 1mm のものが最適であることが判明したので、以後この条件のゲルを用いた。

アクリルアミド溶液 9.5ml、1.5M トリス塩酸緩衝液（pH8.8）7.5ml、水 12.4ml、10% SDS 溶液 0.3ml、過硫酸アンモニウム溶液 0.3ml を混合し、脱気後、TEMED（N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン）0.03ml を加え、あらかじめゲル調製台上に組立てたガラスプレートの間に流し込み、試料溝用コームを挿入し、明所に静置し重合させる。

2.4 電気泳動操作

2.3 で調製したポリアクリルアミドゲル泳動プレートから試料溝用コームをていねいに引抜き、電極槽用緩衝液で試料溝を洗う。泳動プレートを電気泳動装置

にセットし、2.1で調製した試料の5 μ lをマイクロシリンジで注入する。

電極槽に緩衝液を満たし、29mAの定電流を通ずる。泳動先端(BPBの泳動位置)がゲル下端より10mm位になったとき泳動を終了する。この条件で泳動時間は約3時間である。

2.5 染色及び脱色

泳動を終了したゲルはクマシーブリリアントブルーRの染色液に約30分間浸漬して染色する。脱色は電気脱色(2Aで10分間通電)後、数時間脱色液中で自然脱色し十分に脱色する。脱色後3%グリセリン溶液に約30分間浸漬した後薄層クロマト用ガラス板上にのせる。

2.6 デンシトグラムの作成

染色したゲルはデンシトメーターを用いて、525nmの波長でたんぱく質の分離パターンを記録した。

3 結果及び考察

3.1 穀物たんぱく質等の電気泳動像

穀物類、豆類及び穀粉調製品に混合されることの多

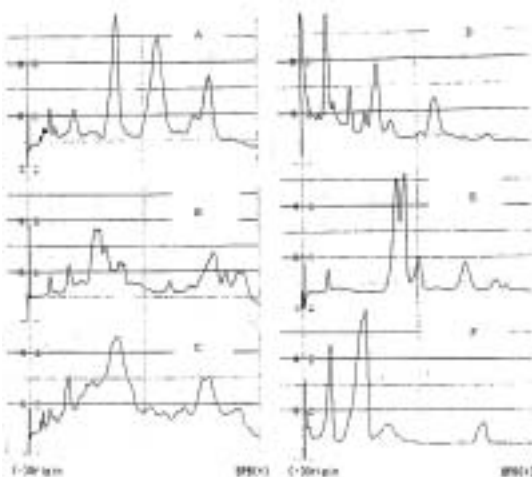


Fig. 1 Densitograms of electrophoretogram of protein

A : Rice , B : Barley , C : Wheat ,
C : Soy protein , E : Skimmed milk ,
F : Egg albumin

い脱脂粉乳、卵白について泳動像を比較した。写真1~4及びFig. 1に示したように、それぞれ特徴的なパターンが認められた。

3.2 米との混合物の電気泳動像

小麦、大麦、とうもろこし、大豆、脱脂粉乳及び卵白と米との混合物について泳動像を比較した。写真5・6及びFig. 2~7は米と他の穀物等及びそれらの混合物の泳動像及びそのデンシトグラムである。

米・小麦混合物のデンシトグラムは、米たんぱく質の最強バンドと小麦たんぱく質の最強バンドが重なっており分離がよくないが、泳動像には最強バンドから原点寄りに連続したバンドが見られ、米と小麦の混合物であることが推定される。

米・とうもろこし混合物は泳動像及びデンシトグラムとも、米のものとはほとんど同じであり両者の混合物であるか否か判別できないが、とうもろこしの配合割合が高くなれば判別は可能になると思われる。

他の混合物では、それぞれの原料たんぱく質による特徴的なバンドが認められ、原料の判別は可能である。

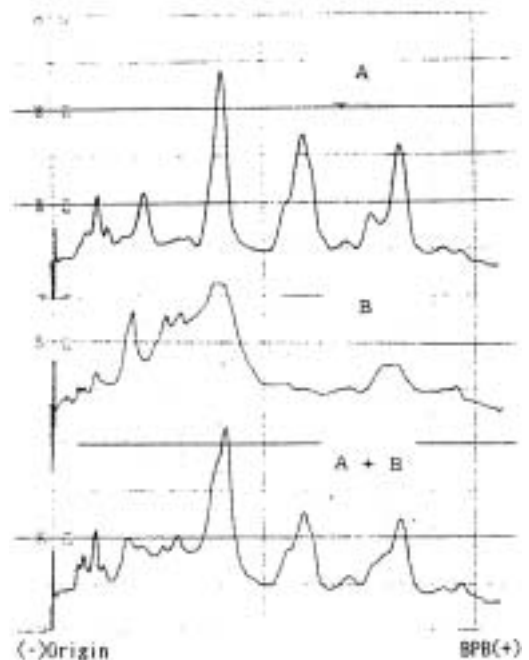


Fig. 2 Densitograms of electrophoretogram of protein

A : Rice , B : Wheat

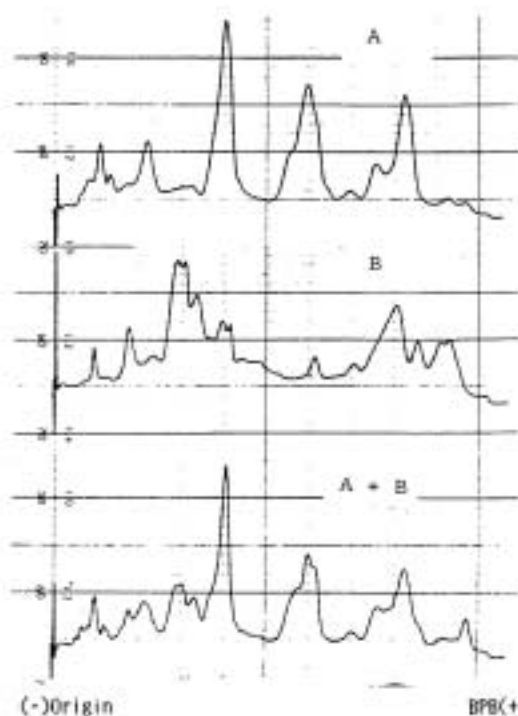


Fig. 3 Densitograms of electrophoretogram of protein
A : Rice, B : Barley

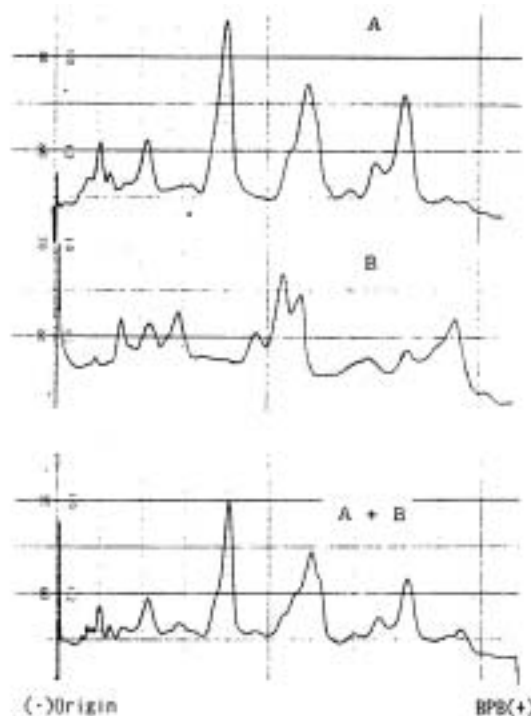


Fig. 4 Densitograms of electrophoretogram of protein
A : Rice, B : Corn

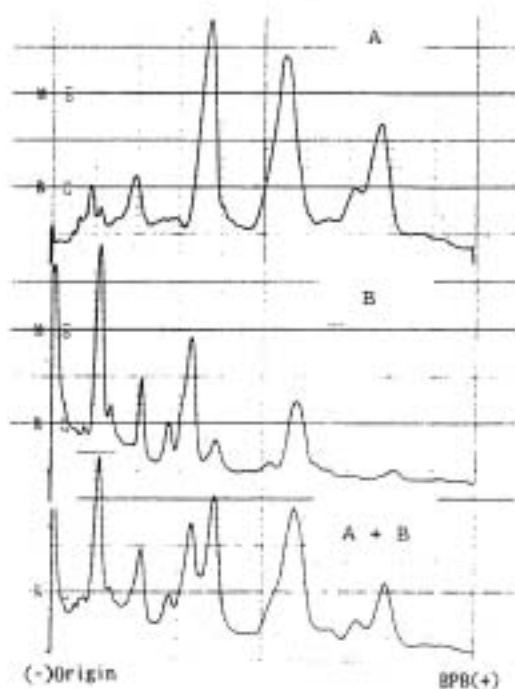


Fig. 5 Densitograms of electrophoretogram of protein
A : Rice, B : Soy protein

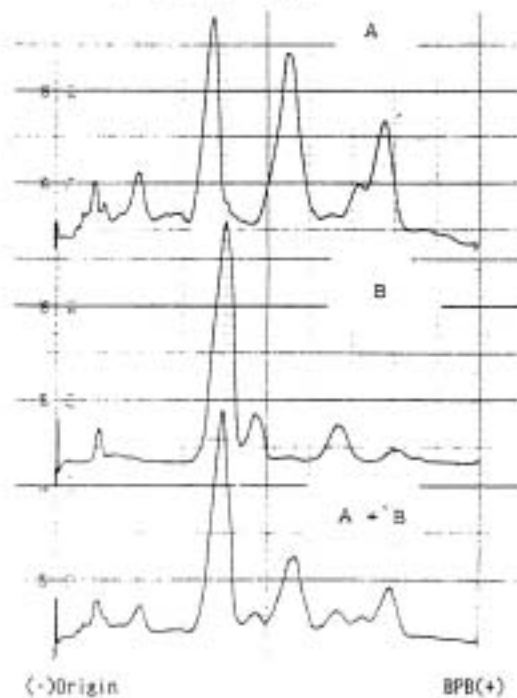


Fig. 6 Densitograms of electrophoretogram of protein
A : Rice, B : Skimmed milk

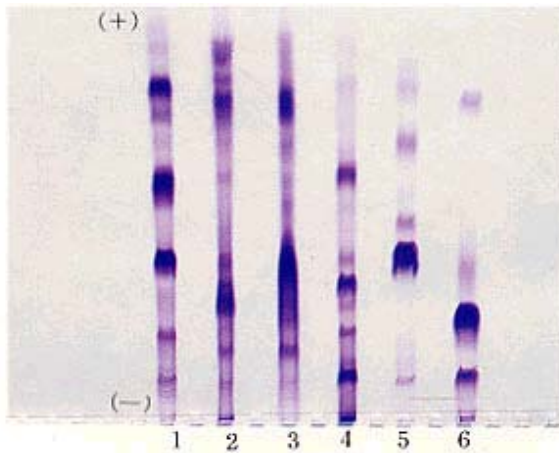


Photo 1 Electrophoretograms of proteins
 (1) Rice, (2) Barley, (3) Wheat
 (4) Soy protein, (5) Skimmed milk
 (6) Egg albumin

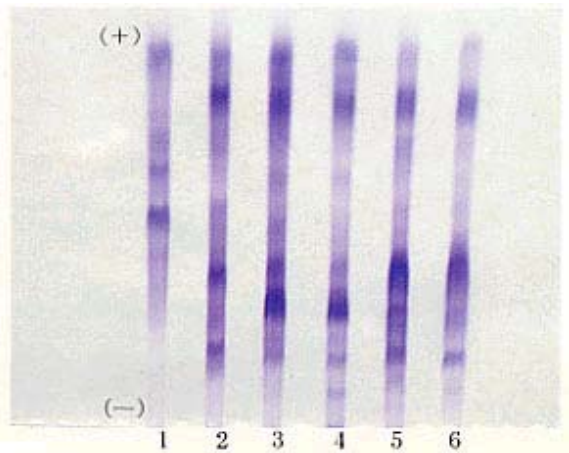


Photo 2 Electrophoretograms of proteins
 (1) Job's tears, (2) Rye, (3) Barley
 (4) Pressed barley, (5) Wheat
 (6) Wheat flour

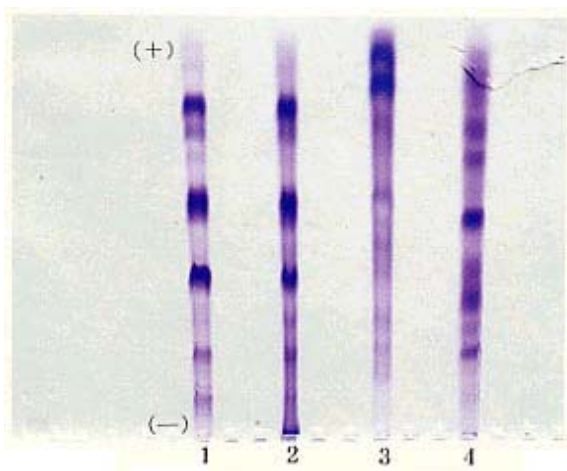


Photo 3 Electrophoretograms of proteins
 (1) Rice (uruchi), (2) Rice (mochi)
 (3) Awa, (4) Buckwheat flour

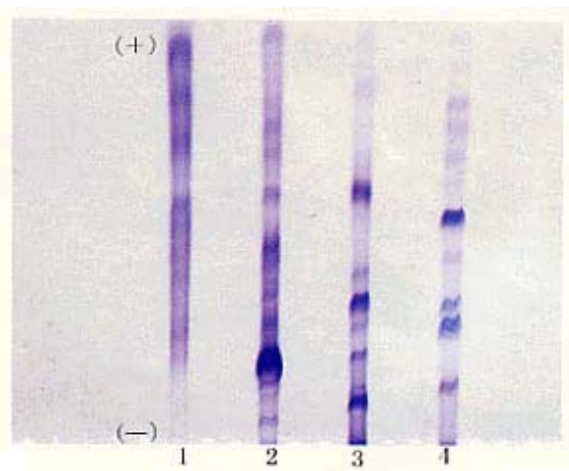


Photo 4 Electrophoretograms of proteins
 (1) Corn, (2) Small red bean
 (3) Soy protein, (4) Ground-nut

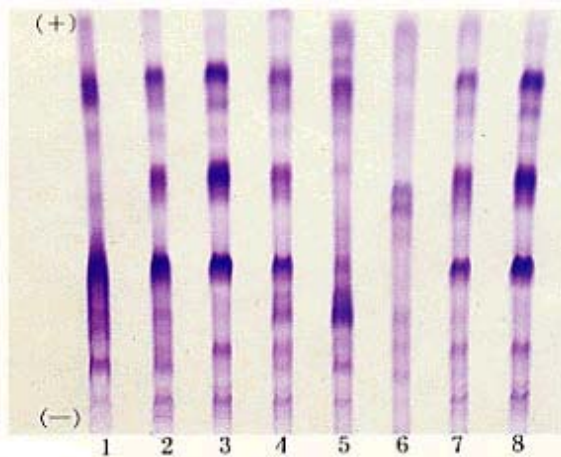


Photo 5 Electrophoretograms of proteins

- (1) Wheat, (2) Rice + Wheat (R : W = 3 : 7)
 (3) Rice, (4) Rice + Barley (R : B = 5 : 5)
 (5) Barley, (6) corn, (7) Rice + corn (R : C = 5 : 5)
 (8) Rice

The mixture ratios were as quantity of crude protein

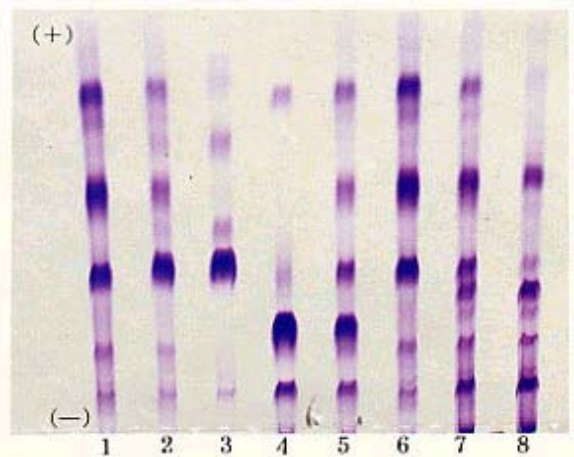


Photo 6 Electrophoretograms of proteins

- (1) Rice, (2) Rice + Skimmed milk (R : M = 6 : 4)
 (3) Skimmed milk, (4) Egg albumin
 (5) Rice + Egg albumin (R : A = 5 : 5)
 (6) Rice, (7) Rice + Soy protein (R : S = 5 : 5)
 (8) Soy protein

The mixture ratios were as quantity of crude protein

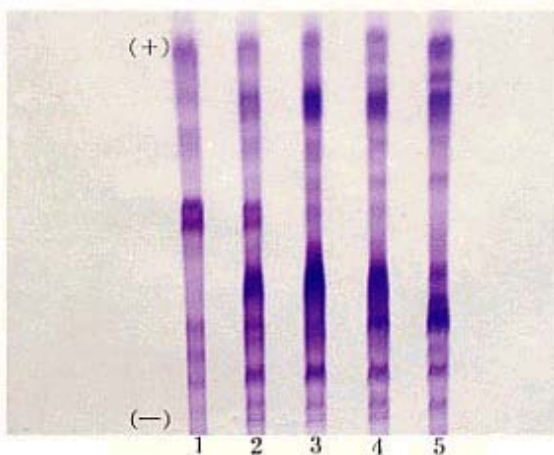


Photo 7 Electrophoretograms of proteins

- (1) Corn, (2) Wheat + Corn (W : C = 5 : 5)
 (3) Wheat, (4) Wheat + Barley (W : B = 5 : 5)
 (5) Barley

The mixture ratios were as quantity of crude Protein

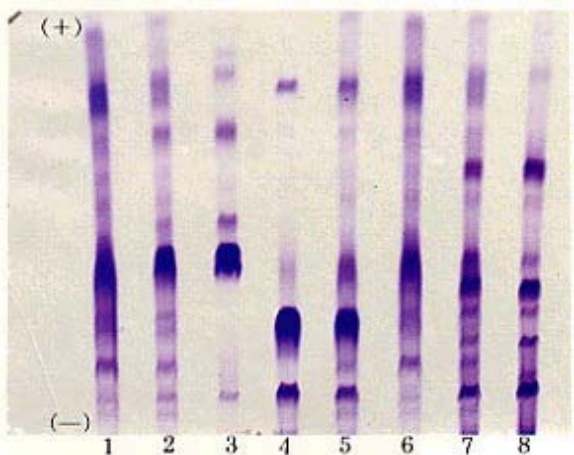


Photo 8 Electrophoretograms of proteins

- (1) Wheat, (2) Wheat + Skimmed milk (W : M = 8 : 2)
 (3) Skimmed milk, (4) Egg albumin
 (5) Wheat + Egg albumin (W : A = 7 : 3)
 (6) Wheat, (7) Wheat + Soy protein (W : S = 5 : 5)
 (8) Soy protein

The mixture ratios were as quantity of crude protein

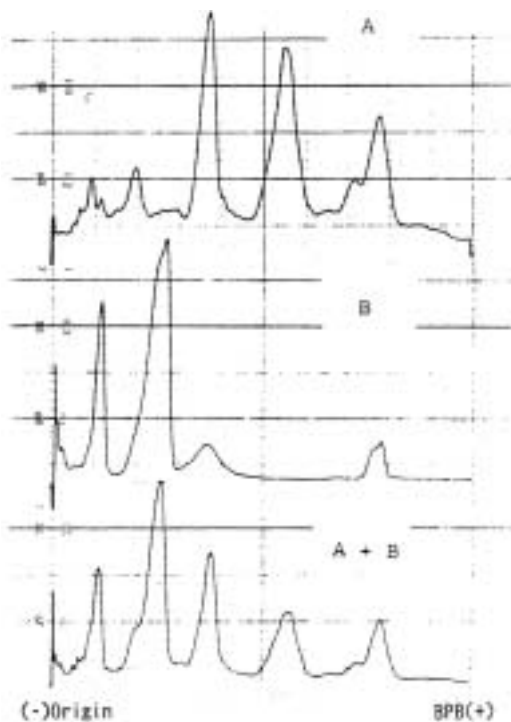


Fig. 7 Densitograms of electrophoretogram of protein
A : Rice, B : Egg albumin

3.3 小麦との混合物の電気泳動像

大麦，とうもろこし，大豆，脱脂粉乳及び卵白と小麦との混合物について，その原料と泳動像を比較した。写真7.8及びFig.8～12は，小麦と他の穀物等及びそれらの混合物の泳動像及びそのデンストグラムである。

小麦と大豆及び脱脂粉乳との混合物のデンストグラムは，米・小麦混合物の場合と同様に最強バンド同士が重なるので，小麦が混合されているか否かの判別は困難であるが，両原料たんぱく質の泳動像と比較すれば判別は可能である。

小麦たんぱく質の泳動像における最強バンドの位置は他の多くのたんぱく質においても，強いバンドの現れる位置であることから，小麦との混合物において配合原料の判別には困難が伴うので，両者の原料と同時に同一ゲル上で泳動することが必要で，これらの泳動像を比較することにより，混合物が否かを推定できる。

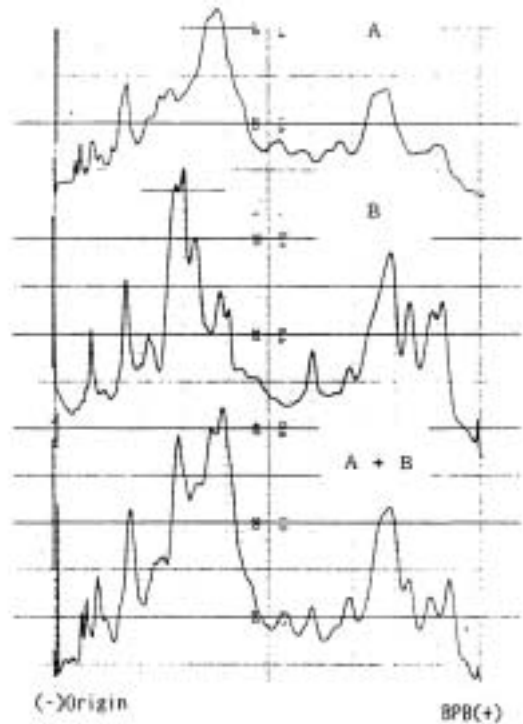


Fig. 8 Densitograms of electrophoretogram of protein
A : Wheat, B : Barley

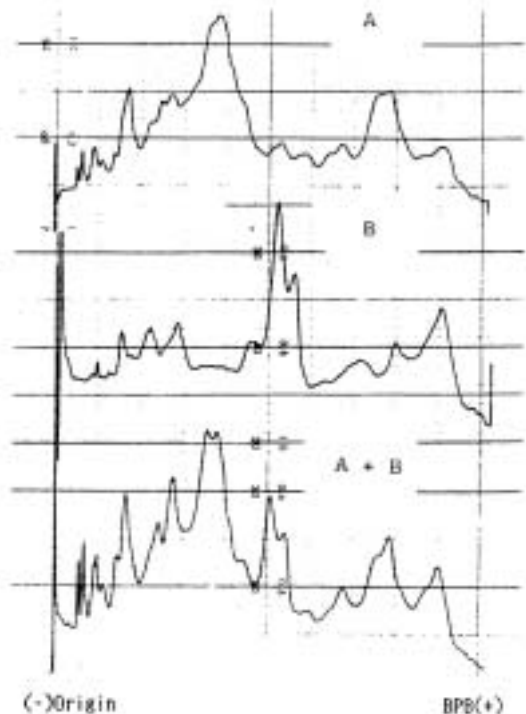


Fig. 9 Densitograms of electrophoretogram of protein
A : Wheat, B : Corn

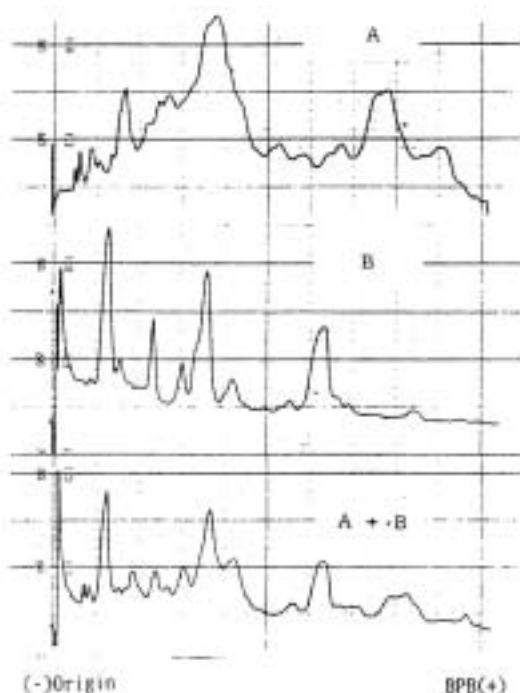


Fig. 10 Densitograms of electrophoretogram of protein

A : Wheat, B : Soy protein

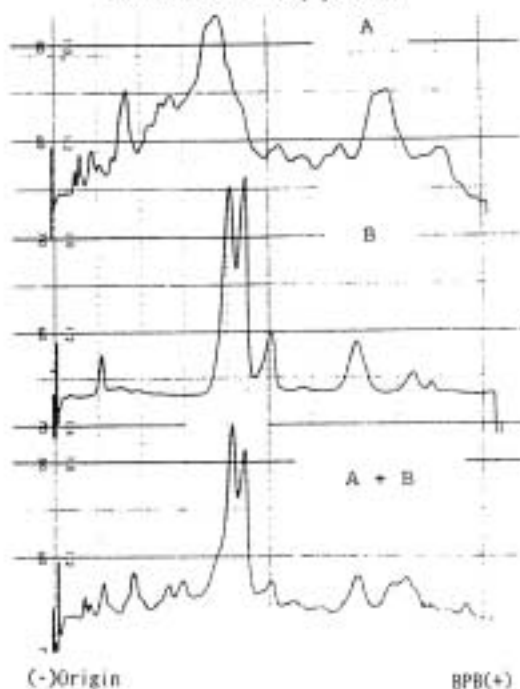


Fig. 11 Densitograms of electrophoretogram of protein

A : Wheat, B : Skimmed milk

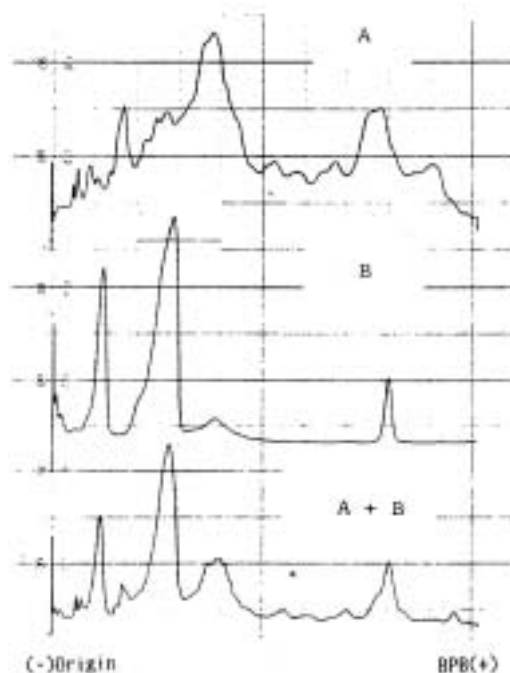


Fig. 12 Densitograms of electrophoretogram of protein

A : Wheat, B : Egg albumin

4 要 約

穀物の種類を簡単に鑑別することを目的としてSDS系のスラブ型ポリアクリルアミドゲルを用いる電気泳動法について検討した。

1mm厚の14%ポリアクリルアミドゲル(SDS使用)を用いて、穀物等のたんぱく質を泳動すると、穀物等の種類によってそれぞれ特徴的なパターンを示し、この方法が穀物の種類を鑑別する手段の一つとして有効であることを示した。

米又は小麦と他の穀物等の二種混合物についても、それらの原料と同時に泳動し、泳動像を比較することにより、混合物が否か判別できることを知った。

文 献

- 1) 飯島淑子：日食工誌，24，516（1977）
- 2) 飯島淑子：日食工誌，24，648（1977）
- 3) 斎尾恭子，本堂正明：食総研報，35，48（1979）
- 4) 橋詰和宗，小原忠彦，安藤洋子：日食工誌，25，635（1978）
- 5) 小原忠彦，米山正ら：日食工誌，26，278（1979）
- 6) 小原忠彦，米山正ら：日食工誌，27，426（1980）
- 7) 斎尾恭子，安藤洋子：日食工誌，27，604（1980）
- 8) 橋詰和宗，野口明德：日食工誌，25，628（1978）
- 9) 矢ヶ崎国秀，加藤時信：本誌，26，107（1986）
- 10) 鈴木勝彦：遺伝，11，43（1977）