アレルギー物質を含む食品の検査について (第1報)

麻岡 文代・山崎 葉季*¹・荒尾 真砂*² 古田 和美・宅間 範雄

A Survey of Foods containing Allergic Substances

Fumiyo ASAOKA, Hagi YAMASAKI*1, Masa ARAO*2, Kazumi FURUTA, Norio TAKUMA

【要旨】 平成18年度から平成19年度に高知県内で製造された加工食品30検体を購入し、表示が適正に行われているか確認する目的で、アレルギー物質を含む食品検査を実施した。ELISA法で「卵」18検体、「乳」8検体、「小麦」8検体、「そば」8検体、「落花生」8検体について実施し、陽性となった「卵」1検体については、確認検査(ウエスタンブロット法)で陽性を確認した。

Key words:アレルギー物質を含む食品検査、特定原材料、ELISA法 Foods containing Allergic Substances, ELISA technique

I はじめに

生活環境の変化や疾病構造の変化などに伴い、アレルギー疾患は増加傾向にあり、厚生労働省のリウマチ・アレルギー対策委員会の調査結果では、食物アレルギーの有病率は、乳児が10%、3歳児が $4\sim5\%$ 、学童期が $2\sim3\%$ 、成人が $1\sim20\%$ であり、全年齢を通して推定 $1\sim2\%$ となっている $^{1)}$ 。食物アレルギーの患者にとっては、「症状を誘発する原因食物」を除去することで症状の出現を防ぐことができることから、自らが食べることのできる食物を確実に選択することが重要である。

このことから、平成13年4月より食品衛生法に基づき、一定の種類のアレルギー物質を含む食品についてその表示が義務化された²⁾。

食物アレルギーを引き起こすことが明らかになった もののうち、発症例、重篤度等から勘案して必要性の 高い5品目(卵、乳、小麦、そば、落花生)を使用し ている場合は、省令で定める特定原材料としてその表 示を義務づけ、通知で定める特定原材料に準ずるもの (いか、いくら、オレンジ等)19品目を使用している 場合は、それらを含む旨の表示を奨励してきた。 食物アレルギーの原因物質は、時代の変化とともに変わっていく可能性があると考えられることから、実態調査・科学的研究で得られた新しい知見や報告により、対象品目は適宜見直されており、平成16年7月には、表示を奨励する特定原材料に準ずるものに、「バナナ」が追加され20品目となり、平成20年6月には、特定原材料に準ずるものであった「えび」、「かに」が特定原材料に追加された³⁾。

一方、分析法については平成14年11月に「アレルギー物質を含む食品の検査法について」が通知され、平成17年10月の一部改正では加熱加工食品中の抗原タンパク質の抽出率が改善されたELISAキットが採用された。また、平成18年6月に同通知は改正され4)(以下通知法)、同時に参考として"アレルギー物質を含む食品の検査方法を評価するガイドライン"が発表された。

当所では、平成18年度から高知県内で製造された製品を中心に、表示が適正に行われていることを確認する目的で、アレルギー物質を含む食品の試買検査を実施している。

平成18年度は、「卵」を対象に10検体、平成19年度 には、「卵」「乳」「小麦」「そば」「落花生」を対象に 各8検体の検査を実施したのでその概要を報告する。

Ⅱ 方 法

1 試 料

平成18年度から平成19年度にかけて、主に高知県内で製造された加工食品延べ30検体を当所及び県内5保健所が試買して試験品とし、コンタミネーションが疑われる特定原材料を中心に検査した。

2 試薬

1) ELISA法

FASTKITエライザVer II キット (卵, 乳, 小麦, そば, 落花生) : 日本ハム(株)中央研究所製 (以下FASTKIT II)

モリナガFASPEK特定原材料測定キット(卵白アルブミン, カゼイン, グリアジン, そば, 落花生): (株)森永生科学研究所製(以下FASPEK)

2) ウエスタンブロット法

モリナガ卵ウエスタンブロットキット (卵白アルブミン, オボムコイド): (株)森永生科学研究所製×10 Tris/Gricine/SDS,×10Tris/Glycine,×10TBS Extra thick Blot Papar Kleidoscape Prestained Standards, Laemmli Sample Buffer:BIO-RAD社製2-メルカプトエタノール, 1molTris/HC1(pH8.0):ナカライテスク(株)社製

メタノール, 1 NNaOH: 和光純薬工業(株)社製

Tween20:関東化学(株)社製

ウシ由来血清アルブミン:SIGMA社製

SDS-PAGE mini 15% (1.0mm 12well):TEFCO社製 Hybond-P (転写膜) 16×14cm 0.45 μm:Amersham Biosciences社製

Vectastain ABC-AP Rabbit IgG kit, Alkaline Phosphatase Substract kit IV(BCIP/NBT):VECTOR 社製

3 機器

ホモジナイザー:Nissei AM-3-50

遠心機: (株) 久保田製作所製 5100, (株) トミー工業社 製 MC-150

マイクロプレートウォッシャー:Bio Tec社製マイクロプレートリーダー:CORONA ELECTRIC社製MTP-32

電気泳動装置:TEFCO社製 セイフティーセル・ミニ Model STC-808

ブロッチング装置:BIO-RAD社製 Trans-Blot[®] SD Semi-Dry Electrophoretic Transfer Cell 電源装置:BIO-RAD社製 パワーパックHC

4 検査法

ELISA法、ウエスタンブロット法ともに通知法に従って検査を行った。(図1)

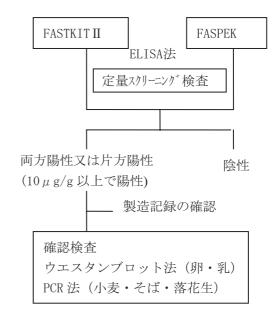


図1 検査フロー

Ⅲ 結果及び考察

1 ELISA法による結果

平成18年度~19年度に実施した特定原材料ごとの試験結果を表1~表5に示した。

検査項目「卵」(表 1)では、18検体中平成19年度 にクッキーがFASTKIT II で 1 件陽性($10 \mu g/g$ 以上) であった。この製品には、卵の表示はなく、卵に関する注意喚起表示もなかった。

この結果を受けて、通知法の判断樹(図2)に従い、保健所職員が製造記録等の確認を行ったところ、製造者は、たまたま卵白液が余り、少量なので影響はないと考え、クッキーに使用したとのことであったため、製造者に対して自主回収及び再発防止等の指導を行った。アレルギー表示に対する認識不足がうかがわれた。検査項目「乳」(表2)、「小麦」(表3)、「そば」(表4)、「落花生」(表5)では、8検体すべて陰性であった。

表1 卵たんぱく質検査結果(ELISA法)

 $(\mu\,\mathrm{g/g})$

No 年度 製品名 FASTKITII FASPEK 判定 表示P 1 H18 ヨーグルト <0.5 <0.5 陰性 乳・2 2 H18 ヨーグルト <0.5 <0.5 陰性 乳・2 3 H18 氷菓 <0.5 <0.5 陰性 アレルギー	- =
2H18ヨーグルト<0.5	习谷
3 H18 氷菓 〈0.5 〈0.5 陰性 アレルギー	
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	麦
	表示なし
4 H18 菓子 1.4 <0.5 陰性 乳(注意喚起:/	、麦・落花生)
5 H18 菓子 0.6 <0.5 陰性 アレルギー	表示なし
6 H18 米菓子 2.4 <0.5 陰性 アレルギー	表示なし
7 H18 ゼリー 〈0.5 〈0.5 陰性 アレルギー	表示なし
8 H18 ゆでうどん 〈0.5 〈0.5 陰性 小麦	Ę
9 H18 ゆでそば 〈0.5 〈0.5 陰性 小麦・	そば
10 H18 食パン 〈0.5 〈0.5 陰性 乳・/	麦
11 H19 クッキー 19.8 8.4 陽性 乳・ノ	麦
12H19米菓子0.6<0.5陰性アレルギー	表示なし
13 H19 せんべい 0.5 <0.5 陰性 小麦	Ę
14 H19 ちくわ 0.5 <0.5 陰性 アレルギー	表示なし
15 H19 てんぷら 〈0.5 〈0.5 陰性 アレルギー	表示なし
16 H19 ゆで焼きそば <0.5 <0.5 陰性 小麦	Ę
17 H19 ゆで焼きそば 1.9 0.9 陰性 小麦(注意喚	起:そば)

表2 乳たんぱく質検査結果(ELISA法)

 $(\mu \, \mathrm{g/g})$

						1, 5 5
No	年度	製品名	FASTKIT II	FASPEK	判定	表示内容
1	H19	かまぼこ	<0.5	<0.5	陰性	卵・小麦
2	H19	米菓子	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
3	H19	せんべい	<0.5	<0.5	陰性	小麦
4	H19	ちくわ	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
5	H19	ちくわ	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
6	H19	ポップコーン	<0.5	<0.5	陰性	(注意喚起:乳)
7	H19	ポップコーン	<0.5	<0.5	陰性	乳 (注意喚起:小麦・落花生)
8	H19	ゆでうどん	<0.5	<0.5	陰性	小麦

表3 小麦たんぱく質検査結果(ELISA法)

 $(\mu \, \mathrm{g/g})$

No	年度	製品名	FASTKIT II	FASPEK	判定	表示内容
1	H19	ちくわ	0.6	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
2	H19	ちくわ	1.8	0.8	陰性	アレルギー表示なし
3	H19	てんぷら	<0.5	4.1	陰性	アレルギー表示なし
4	H19	パウンドケーキ	<0.5	0.8	陰性	到日
5	H19	ポップコーン	<0.5	3.6	陰性	(注意喚起:乳)
6	H19	ポップコーン	1.5	6.4	陰性	乳 (注意喚起:小麦・落花生)
7	H19	ヨーグルト	<0.5	<0.5	陰性	乳
8	H19	ヨーグルト	<0.5	<0.5	陰性	乳

表4 そばたんぱく質検査結果(ELISA法)

No	年度	製品名	FASTKIT II	FASPEK	判定	表示内容
1	H19	クッキー	<0.5	0.6	陰性	卵・乳・小麦
2	H19	ポップコーン	<0.5	<0.5	陰性	乳(注意喚起:小麦・落花生)
3	H19	むし焼きそば	<0.5	<0.5	陰性	小麦
4	H19	ゆでうどん	<0.5	<0.5	陰性	小麦
5	H19	ゆでうどん	<0.5	<0.5	陰性	小麦(注意喚起:そば)
6	H19	ゆでうどん	<0.5	<0.5	陰性	小麦
7	H19	ゆで焼きそば	0.8	0.7	陰性	小麦
8	H19	ゆで焼きそば	<0.5	<0.5	陰性	小麦 (注意喚起:そば)

< 0.5

<0.5

<0.5

年度

H19

H19

H19

H19

H19

H19

H19

H19

No

1

2

3

4

5

6

7

8

製品名

パウンドケーキ

ポップコーン

ポップコーン

落花生たんぱく質検査結果(ELISA法) 表5

<0.5

<0.5

<0.5

2(0 /110		(111/142)		(μ g/g)	
品名	FASTKIT II	FASPEK	判定	表示内容	
クッキー	<0.5	<0.5	陰性	乳・小麦	
クッキー	<0.5	<0.5	陰性	卵・乳・小麦	
クッキー	<0.5	<0.5	陰性	卵・乳・小麦	
米菓子	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし	
せんべい	<0.5	<0.5	陰性	小麦	

卵

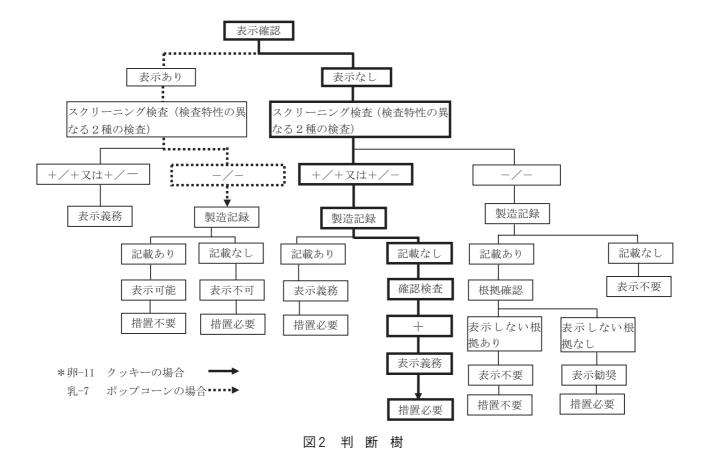
(注意喚起:乳)

乳 (注意喚起:小麦・落花生)

陰性

陰性

陰性



分子量 38,000 MW STD 卵-11 MW10, 1 (μ gProtein/mL)

図3 ウエスタンブロット法による 卵の確認検査(オボムコイド)

表 6 確認試験検査結果

No	年度	製品名	ELIS	A 法	ウエスタンブロッ ト法	
			FASTKIT II	FASPEK	卵白アル ブミン	オホ゛ムコイト゛
斯 -11	H19	クッキー	19.8	8. 4	陰性	陽性

2 ウエスタンブロット確認検査

ELISA法で卵たんぱく質が陽性となった1検体について、ウエスタンブロット法による確認検査を行った。(表6)

確認検査では、卵白アルブミンは陰性であったが、 オボムコイドについては、標準品と同じ位置にバンド が認められ、陽性を確認した。(図3)

このことは、ELISA法で、FIRSTKIT II では陽性であったが、卵白アルブミンのみに反応するFASPEKでは陰性 $(8.4 \mu g/g)$ であったことと一致し、また曽根ら 5 の報告とも一致する。オボムコイドは耐熱性たんぱくであるため、易熱性たんぱくのアルブミンより、変性しにくく、検出できたものと思われる。

また、ELISA法で陰性ではあるが、「卵」は $0.5\sim2.4$ μ g/gの範囲で7検体から卵たんぱく質が、また、「小麦」は $0.6\sim6.4$ μ g/gの範囲で6 検体から小麦たんぱく質が検出され、原材料の段階や製造工程中でのコンタミネーション等の可能性が示唆された。これらの製品のうち、注意喚起表示があったのは、「小麦」の1 検体のみであった。

「乳」で、ELISA法陰性のポップコーン 1 検体については、アレルギー表示があった。この場合、通知法の判断樹(図 2)では、製造記録により、表示の根拠を確認することが必要となっている。製造記録にその根拠が記載されていれば、ELISA法で陰性の場合も表示できるが、根拠がない場合は、表示してはならないことになっている。この事例については、製造記録等についての詳細は不明である。

アレルギー物質を含む食品の検査方法は、ELISA法では、使用抗体の違う2つのキットを使用するため、両キットで判定が違う場合がある。また、キットの改良によりたんぱく質の抽出効率が上がり偽陰性反応が改良され、また偽陽性反応に対する改良や情報提供も進んでおり、常に最新の情報⁶¹を把握する必要がある。さらに、加工食品は様々な調理過程を経ることから、ウエスタンブロット法ではたんぱく変性の問題や、PCR法では遺伝子抽出の問題などがあり、各種検査も完全ではない。また、その結果もわかりにくい面がある。検査する側が、最新の情報とともに検査結果をわかりやすく提示することが必要である。

また、検査結果の判断には、製造者の持つ原材料の表示や製造記録等が重要である。製造者は原材料のトレーサビリティー(追跡管理)の徹底を図り、製造工程での特定原材料との分離・ライン洗浄等コンタミネー

ション防止対策を徹底したうえで、的確に注意喚起表示を行うなど、消費者が適正な判断を下すことができるようなきめ細かい表示を行うことが求められる。

今後はアレルギー表示制度の目的を検査機関、保健 所、製造者が共有し、情報交換や連携を深めることに よって、消費者への有用な情報提供としていきたい。

Ⅳ まとめ

- 1) 平成18年度から19年度に、県内で製造された加工 食品を中心にアレルギー表示が適切になされているか、 ELISAキットを用いて検査を行った。「乳」8 検体、 「小麦」8 検体、「そば」8 検体、「落花生」8 検体は すべて陰性であった。「卵」については、1 検体が陽 性となった。
- 2) ELISA法の「卵」で陽性となった1検体について ウエスタンブロット法で確認検査を実施し、陽性を確 認した。
- 3)「卵」陽性検体は、製造所立ち入り調査で、使用が確認された。
- 4)「乳」陰性検体は、製造記録等についての詳細は 不明であった。

文 献

- 1) 厚生労働省"リウマチ・アレルギー対策委員会報告書"厚生労働省科学審議会疾病対策部会リウマチ・アレルギー対策委員会、2005
- 2) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知,平成13年3月15日食発第79号
- 3) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知, 平成20年6月3日食安発第0603001号
- 4) 厚生労働省医薬局食品保健部長通知,平成14年11 月6日食安発第1106001号,2002(一部改正平成17 年10月11日食安発第1011002号,平成18年3月24日 食安発第0324001号,平成18年6月22日食安発第 0622003号)
- 5) 曽根美千代,福原郁子,佐藤信俊:宮城県保健環境センター年報,第23号,2005
- 6) 日本ハム(株)中央研究所田:http://www.rdc. nipponham.co.jp/fastkit/index_fastkit.html (株)森永生科学研究所田:http://www.miobs. com/tokutei/gijutu/gijutu06 set.html)