

## アレルギー物質を含む食品調査について (第2報)

高宮 真美・鎌倉 温子・古田 和美\*<sup>1</sup>

中村 秋香・麻岡 文代\*<sup>2</sup>

宅間 範雄・西森 一誠

### A Survey of Foods containing Allergenic Substances

Masami TAKAMIYA, Atsuko KAMAKURA, Kazumi FURUTA,  
Akika NAKAMURA, Fumiyo ASAOKA,  
Norio TAKUMA, and Kazuo NISHIMORI

**【要旨】**平成20年度から平成21年度に高知県内で製造された加工食品39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」15検体、「乳」19検体、「小麦」16検体、「そば」16検体、「落花生」16検体について実施し、陽性となった「卵」1検体及び「小麦」1検体について、確認検査を行った。そのうち「卵」1検体は、ウエスタンブロット法で陽性を確認した。「小麦」1検体は、PCR法で陰性となり、ELISA法では偽陽性であったと考えられた。

**Key words :** アレルギー物質を含む食品、特定原材料、ELISA法、米粉、大麦麦芽

Foods containing Allergenic Substances, Specific raw material, ELISA technique, rice powder, barley malt

#### I はじめに

食物アレルギーによる健康被害は深刻な問題となっているものの、根本的な治療法が確立されておらず、「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ぎ、自らが摂取可能な食物を選択することが重要である。患者にとっては、特定原材料の表示は食物アレルギーによる危害を未然に防ぐために重要な情報となっている。

このことから、平成13年4月より食品衛生法が改正され、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づけられた<sup>1)</sup>。

発症数や重篤度を勘案し、「卵」、「乳」、「小麦」、「そば」、「落花生」の5品目を原材料に使用している食品について、特定原材料としてその表示を義務づけ、「いか」、「いくら」、「オレンジ」等の特定原材料に準ずるもの19品目を使用している食品については、表示することが推奨された。

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<sup>2)</sup>。

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」(以下従来法)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。平成18年6月には同通知が改正され、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。また、平成21年1月の通知改正では、「えび」、「かに」の検査方法が追加された<sup>3)</sup>。

高知県では、食の安全・安心を確保するため平成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<sup>4)</sup>。

平成20年度は、「乳」を対象に11検体、「卵」「小麦」「そば」「落花生」を対象に各8検体、平成21年

\*1 高知県環境対策課 \*2 高知県中央東福祉保健所

年度には、「卵」を対象に7検体、「乳」「小麦」「そば」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20年5月から平成21年5月に、高知県内で製造された加工食品39検体を県内5保健所が試買して試験品とした。

### 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  
Laemmli Sample Buffer,Extra thick Blot Papar Kleidoscape Prestained Standards,  
×10 Tris/Glicine/SDS, ×10Tris/Glycine, ×10TBS : BIO-RAD 社製  
2-メルカプトエタノール, 1molTris/HCl(pH8.0):ナカライテスク(株)社製  
メタノール,1NNaOH: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)PCR法

アレルゲンチェッカー「小麦」:オリエンタル酵母(株)社製  
DNA 抽出キット(シリカゲル膜タイプキット)  
DNeasy Plant Mini Kit:QIAGEN 社製  
PCR 緩衝液,dTNP,MgCl<sub>2</sub>,および TaqDNA ポリメラーゼ:  
アプライドバイオシステムズ社製  
臭化エチジウム,アガロース:ナカライテスク(株)製  
100bp DNA Ladder:東洋紡績(株)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, コスモ・バイオ(株)社 i-Mupid-J

ブロッティング装置: 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

吸光光度計:(株)島津製作所 UV-2200

PCR 装置:タカラバイオ(株)社製 Thermal Cycler MP

### 4 検査法

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

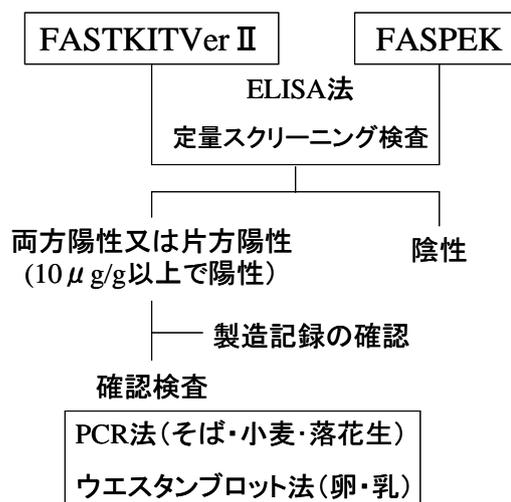


図1. 検査フロー

## III 結果及び考察

### 1 ELISA 法による結果

平成20年度~21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。

「卵」(表1)では、15検体中、平成20年度にゆで焼きそばが両キットで1件陽性(10 μg/g以上)であり、他は陰性であった。

この結果を受けて、保健所の食品衛生監視員が製造者に対して自主回収、原因究明及び再発防止等の指導を行った。

陽性となった原因は、検査品を製造した同じ製麺機で卵白粉を使用するラーメンを製造しており、清掃が不十分だったために卵たんぱく質が混入したものであったことがわかった。この製麺所では、通常ラーメンは注文があった

場合のみ製造しており、卵についての注意喚起表示はなかった。

「乳」(表 2)では、19 検体中「バター」の代替表示があった 3 検体のみが陽性で、表示がない 16 検体はすべて陰性であった。

「小麦」(表 3)では、16 検体中 15 検体は陰性であった。

焼き菓子の 1 検体は、FASPEK で陽性となり、保健所の食品衛生監視員が製造所の立ち入り調査を行った。

当該製造所では、小麦の取り扱いはなく製造所におけるコンタミネーションは考えにくい状況であり、またこの製品の原材料(卵・砂糖・米粉・米飴・白双糖・水・蜂蜜)についても、米粉は自社で製粉されており、小麦の混入も考えにくいことから、偽陽性が疑われた。モリナガ FASPEK 特

定原材料測定キットの偽陽性情報(2008 年 3 月改訂)によると、白米粉は $<0.31-0.67 \mu\text{g/g}$ 、大麦麦芽は $>20 \mu\text{g/g}$ で反応性があり、米粉や米飴に使用される大麦麦芽による偽陽性と推測され、確認試験を行った。

「そば」(表 4)では、16 検体すべて陰性であった。

しかし、卵たんぱく質のコンタミネーションが確認されたゆで焼きそばは、陰性ではあったが、FSATKIT II で $3.9 \mu\text{g/g}$ 、FASPEK で $4.9 \mu\text{g/g}$ のそばたんぱく質を検出しており、このことから製造工程でのコンタミネーションが疑われた。この製品は、そばに関しては、注意喚起表示があるが、製麺機の洗浄等の徹底により混入を減らしていく必要がある。

「落花生」(表 5)では、16 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)

No	年度	製品名				( $\mu\text{g/g}$ )
			FASTKIT II	FASPEK	判定	表示内容
1	H20	ゆでうどん	$<0.5$	$<0.5$	陰性	小麦 (注意喚起: そば)
2	H20	ゆでうどん	0.7	$<0.5$	陰性	小麦 (注意喚起: そば)
3	H20	ゆで焼きそば	$>200$	$>200$	陽性	小麦 (注意喚起: そば)
4	H20	かまぼこ	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
5	H20	菓子	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
6	H20	菓子	2.2	0.5	陰性	小麦
7	H20	焼き菓子	2.1	1.4	陰性	乳・小麦
8	H20	羊羹	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
9	H21	てんぷら	0.5	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
10	H21	てんぷら	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
11	H21	ちくわ	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
12	H21	アイスクリーム	$<0.5$	$<0.5$	陰性	乳
13	H21	氷菓	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
14	H21	氷菓	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
15	H21	氷菓	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし

表 2. 乳たんぱく質検査結果(ELISA法)

No	年度	製品名				( $\mu\text{g/g}$ )
			FASTKIT II	FASPEK	判定	表示内容
1	H20	せんべい	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
2	H20	菓子	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
3	H20	菓子	$<0.5$	$<0.5$	陰性	小麦
4	H20	焼き菓子	$>20$	$>20$	陽性	乳・小麦
5	H20	焼き菓子	$>20$	$>20$	陽性	卵・乳・小麦
6	H20	焼き菓子	$>20$	$>20$	陽性	卵・乳・小麦
7	H20	焼き菓子	2.9	1.7	陰性	卵
8	H20	焼き菓子	$<0.5$	$<0.5$	陰性	卵
9	H20	焼き菓子	$<0.5$	$<0.5$	陰性	卵
10	H20	焼き菓子	$<0.5$	$<0.5$	陰性	卵・小麦
11	H20	焼き菓子	$<0.5$	$<0.5$	陰性	卵・小麦
12	H21	焼き菓子	0.8	$<0.5$	陰性	卵
13	H21	アイスクリーム	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
14	H21	氷菓	0.6	0.7	陰性	アレルギー表示なし
15	H21	氷菓	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
16	H21	氷菓	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
17	H21	氷菓	1.6	2.2	陰性	アレルギー表示なし
18	H21	氷菓	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし
19	H21	ゼリー	$<0.5$	$<0.5$	陰性	アレルギー表示なし

表 3. 小麦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	H20	てんぷら	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
2	H20	かまぼこ	1.5	3.4	陰性	アレルギー表示なし
3	H20	せんべい	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
4	H20	焼き菓子	3.0	3.9	陰性	卵
5	H20	焼き菓子	<0.5	1.0	陰性	卵
6	H20	焼き菓子	4.2	13.4	偽陽性	卵
7	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	乳
8	H20	羊羹	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
9	H21	てんぷら	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
10	H21	てんぷら	3.1	1.5	陰性	アレルギー表示なし
11	H21	てんぷら	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
12	H21	ちくわ	8.5	6.9	陰性	アレルギー表示なし
13	H21	菓子	2.9	5.5	陰性	アレルギー表示なし
14	H21	菓子	<0.5	3.0	陰性	アレルギー表示なし
15	H21	焼き菓子	3.4	2.4	陰性	卵
16	H21	焼き菓子	7.2	7.3	陰性	卵・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	H20	ゆでうどん	<0.5	<0.5	陰性	小麦 (注意喚起: そば)
2	H20	ゆでうどん	<0.5	<0.5	陰性	小麦 (注意喚起: そば)
3	H20	むし焼きそば	0.8	0.6	陰性	小麦 (注意喚起: そば)
4	H20	ゆで焼きそば	3.9	4.9	陰性	小麦 (注意喚起: そば)
5	H20	菓子	<0.5	<0.5	陰性	乳
6	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵・乳・小麦
7	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵・小麦
8	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵・小麦
9	H21	ゆでうどん	<0.5	<0.5	陰性	小麦
10	H21	ゆでうどん	<0.5	<0.5	陰性	小麦
11	H21	菓子	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
12	H21	菓子	<0.5	<0.5	陰性	小麦
13	H21	菓子	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
14	H21	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵
15	H21	焼き菓子	0.5	<0.5	陰性	卵・乳
16	H21	ゼリー	<0.5	<0.5	陰性	卵・小麦

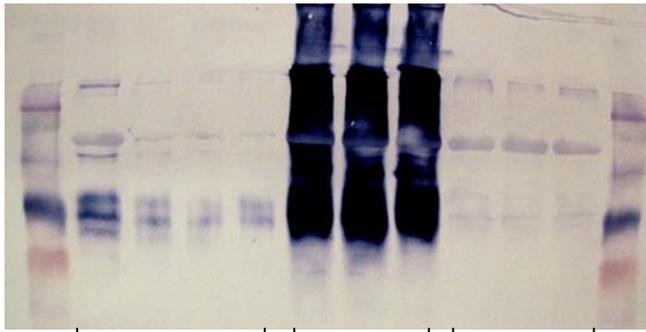
表 5. 落花生たんぱく質検査結果(ELISA法)

No	年度	製品名	FASTKIT II	FASPEK	判定	表示内容
1	H20	菓子	<0.5	<0.5	陰性	アレルギー表示なし
2	H20	菓子	<0.5	<0.5	陰性	乳
3	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	小麦
4	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵・乳・小麦
5	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵・乳・小麦
6	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵
7	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵・乳・小麦
8	H20	焼き菓子	<0.5	<0.5	陰性	卵・小麦

## 2 ウェスタンブロット確認検査

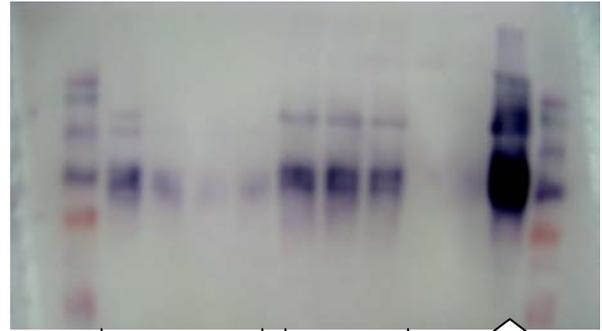
ELISA 法で卵たんぱく質が陽性となった 1 検体について、ウェスタンブロット法による確認検査を行った。(表 6)  
卵白アルブミンは陰性であったが、オボムコイドについて

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 2, 3)



MW      STD      陽性対照      No.11      MW  
 10, 2, 1, 1  
 (μg Protein/mL)

図 2 ウェスタンブロット法による卵の確認検査 (オボムコイド)



MW      STD      No.21      陽性対照      MW  
 10, 2, 1, 1  
 (μg Protein/mL)

図 3 ウェスタンブロット法による卵の確認検査 (オボムコイド)

### 3 PCR 確認検査

ELISA 法で小麦たんぱく質が陽性となった1検体については、PCR 法による確認検査を行った。(表 6)

図 4 に示すとおり、植物遺伝子は検出したが、小麦遺伝子は検出せず、ELISA 法の結果は、偽陽性であったと考えられる。

表 6. 確認試験検査結果

No	年度	製品名	ELISA 法		ウェスタンブロット法		PCR 法
			FASTKIT II	FASPEK	卵白アルブミン	オボムコイド*	
卵 No. 3	H20	ゆで焼きそば	>200	>200	陰性	陽性	—
小麦 No. 6	H20	焼菓子	4.2	13.4	—	—	陰性

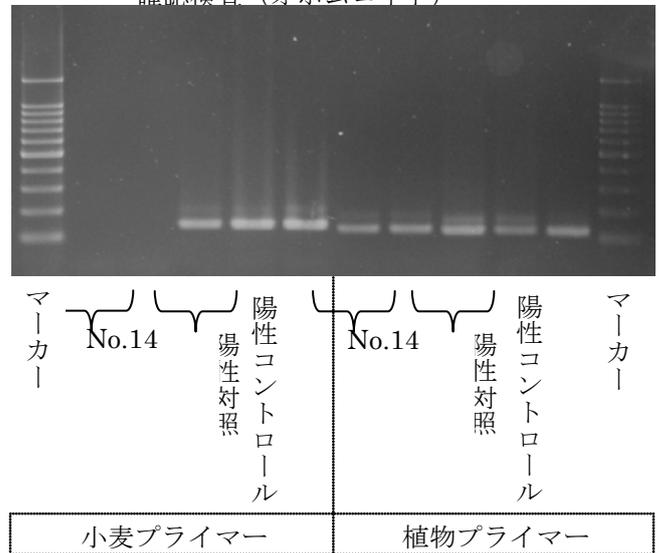


図 4 PCR 法による小麦の確認検査

ゆで焼きそばの事例は、製造ラインでのコンタミネーションであり、同じ検体からは、陰性ではあるがそばたんぱく質も検出されており、そばアレルギーの重篤度から考えても徹底した対策が求められる。

このほか、陰性ではあるが、卵は 0.5~2.2 μg/g の範囲で 4 検体、乳は 0.6~2.9 μg/g の範囲で 4 検体、小麦は 1.5~7.3 μg/g の範囲で 7 検体について、そばは 0.6~4.9 μg/g の範囲で 2 検体から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。

また、米粉を使用した焼菓子の事例では、ELISA 法で偽陽性が疑われる結果となった。ELISA 法は、キットの改良によりたんぱく質の抽出効率が上がり、また

偽陽性反応についても改良が進んでおり、検査する側も常に最新の情報を把握し、迅速かつ正確な検査を実施する必要がある。

今後、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として提供していきたい。

### IV まとめ

1) 平成20年度から21年度に、県内で製造された加工食品の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」16検体「そば」16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。また、「小麦」についても、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、陽性が確認された。

3) ELISA法の「小麦」で陽性となった1検体についてPCR法で確認検査を実施したが、陰性が確認され、製造所立ち入り調査からも当該製品に小麦は使用されていないことがわかり、ELISA法では、偽陽性であったと考えられた。

## 文 献

- 1) 厚生労働省医薬局食品保険部長通知,平成13年3月15日食発第79号
- 2) 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
- 3) 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,平成21年1月22日食安発第0122001号)
- 4) 麻岡文代ら:アレルギー物質を含む食品の検査について(第1報). 高知県衛研報, 54, 2008

