

岡山県のアレルギー物質を含む食品調査について（Ⅱ）

肥塚加奈江，北村雅美，田邊英子，山辺真一，今中雅章，西岡博史*（衛生化学科）

*保健福祉部生活衛生課

【調査研究】

岡山県のアレルギー物質を含む食品調査について（Ⅱ）

Survey of Foods containing Allergic Substances in Okayama Prefecture（Ⅱ）

肥塚加奈江, 北村雅美, 田邊英子, 山辺真一, 今中雅章, 西岡博史*（衛生化学科）

*保健福祉部生活衛生課

Kanae Koeduka, Masami Kitamura, Eiko Tanabe, Jun Yamamoto, Shinichi Yamabe,
Masaaki Imanaka and Hiroshi Nisioka

要 旨

岡山県内で購入した各種加工食品20検体について、表示が適正におこな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。検査項目はELISA法の“卵”または“乳”のうち原材料表示のない項目について実施した。検査した20検体のうち2検体が表示に違反して陽性であった。ELISA法陽性検体についてはウエスタンブロット法による確認検査を実施したが、2検体とも陽性が確認された。

また、市販加工品の調査とは別にFASTKIT エライザ Ver.Ⅱ卵用モデル加工食品を使用してELISA法の測定値における変動等を検証したので併せて報告する。

[キーワード：アレルギー物質を含む食品検査, 特定原材料, 乳, 卵, ELISA法（酵素免疫測定法）]

[Key words : Foods containing Allergic Substances, Milk, Egg, ELISA technique]

1 はじめに

我が国における食物アレルギー患者は乳児の5～10%、幼児期に1～5%^{1) 2) 3)}、学童期以降成人で1～2%^{3) 4)}にのぼると考えられている。食物アレルギー患者が原因食品による症状の誘発発症なく食生活を送るには、原因食品を除くことが唯一の予防方法となる³⁾が、アレルギー患者またはその保護者にとって摂取する食品をすべて自炊で食材から作ることは現実には困難であり、加工食品に頼らざるを得ないのが現状である。

こうしたことを踏まえ、アレルギー物質を含む食品については、平成13年3月15日付け食発第79号厚生労働省通知⁵⁾により、消費者の健康危害の発生を防止する観点から、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、特に発症例、重篤度から勘案して必要性の高い5品目のアレルギー物質を含む食品（特定原材料）について、これらを含む旨の表示が義務化された。また、製造ライン上などの混入については、平成15年11月18日付け「アレルギー物質のコンタミネーション防止対策等の徹底について」⁶⁾により、混入防止の徹底を指導するよう促された。さらに、厚生労働省と農林水産省

が共同で設けている「食品の表示に関する共同会議」でまとめられた「アレルギー物質を含む食品に関する表示について 検討報告書」を踏まえ、平成16年12月24日付けで平成13年通知が改正された⁷⁾ところである。

一方、分析法については平成17年10月11日付け通知で「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」が改正され、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22日付けで、さらに同通知は改正され、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⁸⁾。

岡山県では、食の安全・安心事業の一環として平成15年度より県内で製造された製品を中心に、表示が適正におこな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の試買調査を実施している⁹⁾。平成18年度は、改良されたキットを使用し“卵”または“乳”の食品検査を実施したのでその概要を報告する。また、併せてFASTKIT エライザ Ver.Ⅱ卵用モデル加工食品を使用してELISA法の測定における変動等を検証したので併せて報告する。

2 実験方法

2.1 試料

平成18年6月に、岡山県食品衛生監視指導計画¹⁰⁾に則り、岡山県内で購入した20検体を検査した。検査試料の概要は表1に示した。

FASTKIT エライザ Ver. II 卵用モデル加工食品は、FASTKIT エライザ Ver. II 卵キット使用施設で精度管理に使用出来るよう、平成19年2月、日本ハム株式会社中央研究所が作製したもので、予め卵タンパク質を含まない事を確認した豚肉に、10 μ g/gとなるよう、卵タンパク

表1 検査試料の概要

NO.	製品名	表示原材料	検査項目
1	ゼリー	白桃果肉・果汁、糖類（砂糖、果糖ブドウ糖液糖）、トレハロース、洋酒、ゲル化剤（増粘多糖類）酸味料、香料	卵、乳
2	ゼリー	ぶどう果汁、砂糖、トレハロース、洋酒、ゲル化剤（増粘多糖類）、酸味料、香料、着色料（青1、黄4）	卵、乳
3	ゼリー	砂糖、白桃果肉、果汁、果実酒、海藻抽出物、酸味料、香料	卵、乳
4	ゼリー	マスカット果実・果汁、砂糖、トレハロース、果実酒、海藻抽出物、香料、酸味料、クチナシ色素	卵、乳
5	ゼリー	砂糖、梅、梅酒、海藻抽出物、クチナシ色素	卵、乳
6	ベビーフード	昆布だし、野菜（にんじん、ねぎ、キャベツ）、精白米、しらす、コーンスターチ、デキストリン、しょうゆ（小麦を含む）、食酢、食塩	卵、乳
7	ベビーフード	野菜（にんじん、たまねぎ、さやいんげん）、ばれいしょ、鶏肉、かつお昆布だし、コーンスターチ、チキンエキス、しょうゆ、パン粉、ぶどう糖、なたね油、食酢、食塩、野菜エキス（ねぎ、セロリ、にんじん）	卵、乳
8	ベビーフード	野菜（だいこん、にんじん、ごぼう、たまねぎ）、かつお昆布だし、さといも、うどん、こんにゃく、コーンスターチ、しいたけ、豚肉、しょうゆ、パン粉、なたね油、食酢、ばれいしょでん粉、魚介エキス（魚介類）、食塩、デキストリン、酵母エキス	卵、乳
9	ベビーフード	野菜（だいこん、にんじん、さやいんげん、たまねぎ）、だいち、鶏肉、チキンエキス、かつお昆布だし、コーンスターチ、食酢、しょうゆ、ぶどう糖、パン粉、こんぶ、なたね油、野菜エキス（ねぎ、セロリ、にんじん）、食塩	卵、乳
10	ベビーフード	野菜（キャベツ、にんじん、グリンピース、たまねぎ）、豆腐、鶏肉、コーンスターチ、チキンエキス、食酢、ぶどう糖、ポークエキス、ごま油、パン粉、野菜エキス（ねぎ、しょうが、たまねぎ、にんじん）、食塩、酵母エキス、なたね油、豆腐用凝固剤	卵、乳
11	ベビーフード	さといも、野菜（にんじん、ごぼう、たまねぎ）、こんにゃく、かつお昆布だし、鶏肉、しいたけ、コーンスターチ、しょうゆ、なたね油、ぶどう糖、食酢、パン粉、チキンエキス、食塩、野菜エキス（たまねぎ、にんじん、セロリ）	卵、乳
12	ベビーフード	たまねぎ、はくさい、にんじん、ごぼう、ピーマン、チキンエキス、コーンスターチ、鶏肉、しいたけ、いか、なたね油、しょうゆ、パン粉、食塩、食酢、ばれいしょでん粉、野菜エキス（ねぎ、しょうが）	卵、乳
13	レトルト食品	国産和牛肉、たまねぎ、しらたき、ごぼう、しいたけ、醤油、砂糖、さけ、みりん、増粘多糖類（キサンタンガム）（原材料の一部に大豆、小麦を含む）	卵、乳
14	クッキー	卵、小麦粉、砂糖、マーガリン、ココア	乳
15	クッキー	小麦粉、砂糖、なたね油、マーガリン、ごま	卵、乳
16	クッキー	国産小麦、バター、粗製糖	卵
17	かりんと	小麦粉、黒糖、植物油脂、水飴、胡麻、砂糖、イースト、食塩、着色料（アナトー、カラメル）	卵、乳
18	せんべい	赤米、小麦粉、鶏卵、砂糖	乳
19	クラッカー	小麦粉（国産）、マーガリン、ねぎ、人参、乾燥スープ（コンソメ）、食塩、ベーキングパウダー	卵、乳
20	米菓子	餅米、大豆、醤油、唐辛子、食用植物油	卵、乳

質を添加し加工した肉団子を、粉碎して、冷凍した状態で当センターへ搬入されたものを用いた。

2.2 試薬等

FASTKIT エライザ Ver II キット (卵, 乳) : 日本ハム株式会社中央研究所製

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), モリナガ特定原材料ウエスタンプロットキット (カゼイン) : 株式会社森永生科学研究所製
Laemmli Sample Buffer, レディーゲル J 15% 12well, Kaleidoscope Prestained Standards, 10 × Tris/Glycine, 10 × Tris/Glycine/SDS, 10 × TBS : BIO-RAD 社製
2-メルカプトエタノール (鹿特級), メタノール (ペプチド合成用) : 関東化学社製

polyoxyethylene(20) Sorbitan Monolaurate (Tween20 相当), 1M Tris/ 塩酸 (pH9.5) 分子生物学用 : 和光純薬社製

Albumin, bovine serum, minimum 98% : SIGMA 社製
Vectastain ABC-AP Rabbit IgG kit, Alkaline Phosphatase Substrate Kit IV <BCIP/NBT> : VECTOR 社製

Hybond-P (転写膜) 16 × 14cm 0.45 μ m : Amersham Biosciences 社製

2.3 装置

ホモジナイザー : 岩谷産業社製 ミルサー IFN-700

天秤 : sartorius 1409

振とう機 : TAITEC 社製 RECIPRO SHAKER SR-2S
: 東京理化学器械株式会社製 MULTI SHAKER MNS

遠心機 : コクサン製 H501FA

ベックマン製 CPKR CEntrifuse

KUBOTA 製 5930

eppendorf 製 mini spin plus

マイクロプレートウォッシャー : TECAN 製 columbs

マイクロプレートリーダー : BMG Labtechnologies 製
FLUO star OPTIMA

電気泳動装置 : BIO-RAD 社製 ミニプロティアン 3 セルトランスプロット SD セルセミドライプロットティング装置 :
BIO-RAD 社製

パワーサプライ電源装置 : BIO-RAD 社製 パワーパック
HC

2.4 検査方法

ELISA 法・ウエスタンプロット法共に通知⁸⁾, 及び, 添付の説明書に従って検査を行った。

2.4.1 試料調製

粉碎均質混和した試料約 1g を精密にプラスチック製遠心管にはかりとり, キットに添付の説明書に従って調製した検体抽出液を 19ml 加え, ボルテックスで検体を分散し, 遠心管を横にして振とう機で 1 晩振とう抽出した (20 $^{\circ}$ C)。pH 試験紙で抽出液の pH が 6~8 の間にあることを確認した後, 3000 × g, 室温で 20 分間遠心分離し, 上清をろ紙でろ過し試験試料液とした。

2.4.2 ELISA 検査

それぞれの試料液について, 2 種類のキット (FASTKIT エライザ Ver II キット, モリナガ FASPEK 特定原材料測定キット) を用いて, 通知⁸⁾ 及び, 添付の説明書に従って, ELISA 検査を行った。

2.4.3 ウエスタンプロット確認検査

2.4.2 の検査で陽性 (10 μ g/g 以上) のものには, 2.4.1 のとおり調製した試験試料液を用いて, 通知⁸⁾, 添付の説明書に従って, ウエスタンプロット法で確認検査を行った。

3 結果及び考察

3.1 加工食品調査結果

“卵”または“乳”について表示のない加工食品 (岡山県内で製造) を対象に, それぞれ 2 種の ELISA キットを用いて混入の有無を調査した。検体はゼリー 5 検体, ベビーフード 7 検体, レトルト食品 1 検体, クッキー等 7 検体であり (表 1), その検査結果を表 2 に示した。検査項目“卵”については, 19 検体とも陰性であったが, “乳”については, 2 検体が両方のキットで陽性 (10 μ g/g 以上) であった。陽性の 2 検体については, 更にウエスタンプロット法による確認検査を行ったところ, 2 検体とも, 標準品の“カゼイン”と同じ位置にバンドが認められた (表 3)。

この結果を受けて保健所職員が製造者に対して自主回収, 原因究明及び再発防止措置等の指導を行った。

3.2 FASTKIT エライザ Ver. II 卵用モデル加工食品使用による精度管理

モデル加工食品の添付書類によると卵タンパク質の添加量は 10 μ g/g であり, モデル加工食品を作製した日本ハ

表2 ELISA法での検査結果

(μg/g)

NO.	製品名	検査項目			
		卵		乳	
		FASTKIT*1	FASPEK*2	FASTKIT*1	FASPEK*2
1	ゼリー	不検出	不検出	不検出	不検出
2	ゼリー	不検出	不検出	不検出	不検出
3	ゼリー	不検出	不検出	不検出	不検出
4	ゼリー	不検出	不検出	不検出	不検出
5	ゼリー	不検出	不検出	不検出	不検出
6	ベビーフード	不検出	不検出	不検出	不検出
7	ベビーフード	不検出	不検出	不検出	不検出
8	ベビーフード	不検出	不検出	不検出	不検出
9	ベビーフード	不検出	不検出	不検出	不検出
10	ベビーフード	不検出	不検出	不検出	不検出
11	ベビーフード	不検出	不検出	不検出	不検出
12	ベビーフード	不検出	不検出	不検出	不検出
13	レトルト食品	不検出	不検出	不検出	不検出
14	クッキー	—	—	82	89
15	クッキー	不検出	不検出	不検出	不検出
16	クッキー	不検出	不検出	—	—
17	かりんと	不検出	不検出	不検出	不検出
18	せんべい	—	—	不検出	不検出
19	クラッカー	不検出	不検出	58	62
20	米菓子	不検出	不検出	不検出	不検出

検出下限値:1 μg/g

*1FASTKITエライザVer. IIキット

*2モリナガFASPEK特定原材料測定キット

ム株式会社中央研究所で実施した同検体の均一性確認試験では、20サンプルを分析して測定結果平均8.4μg/g変動係数4.0%であった。

モデル加工食品を使用しての分析結果を表4に示した。通知⁸⁾によると、ELISA法の許容される回収率範囲は50～150%であり、前処理を除くELISA分析の変動係数

5%程度となっている。今回著者らが行ったFASTKITエライザVer IIキット法では、測定結果平均値7.9μg/g変動係数2.1%であったことから許容範囲内の結果が得られたと考えられる。一方モリナガFASPEK特定原材料測定キット法で同じ試料を分析したときには、測定結果平均値5.2μg/g、変動係数8.8%の値となった。FASPEKで

表3 ウェスタンブロット法での確認検査結果

NO.	製品名	ELISA法“乳” ($\mu\text{g/g}$)		ウェスタンブロット法“乳”
		FASTKIT ^{*1}	FASPEK ^{*2}	
14	クッキー	82	89	検出
19	クラッカー	58	62	検出

検出下限値: $1\mu\text{g/g}$

^{*1}FASTKITエライザVer. IIキット

^{*2}モリナガFASPEK特定原材料測定キット

表4 モデル加工食品を使用しての分析結果

サンプル数	使用キット	測定結果平均値	変動係数(%)
5	FASTKIT ^{*1}	7.9	2.1
5	FASPEK ^{*2}	5.2	8.8

検出下限値: $1\mu\text{g/g}$

^{*1}FASTKITエライザVer. IIキット

^{*2}モリナガFASPEK特定原材料測定キット

の測定値はFASTKITの測定値より低くなったが、これは、このモデル加工食品が、FASTKITエライザVer IIキット用に開発されたもので、FASTKITが卵の複数の蛋白を対象として作製された抗体を用いているため、添加されている蛋白の量は、複数の蛋白の合計量となるのに対し、FASPEKでは精製された卵白アルブミンのみを対象とした抗体を用いているためと考えられた。

4 まとめ

- 1) 岡山県内で製造された加工食品を対象に、“卵”または“乳”の表示が適切になされているか、それぞれ2種のELISAキットを用いて検査を行った。検査した20検体のうち“卵”表示のなかった18検体については、検査結果は陰性であり正しく表示されていることが確認出来た。一方“乳”表示のなかった19検体のうち2検体の検査結果は陽性であった。
- 2) ウェスタンブロット法で確認検査を実施した。ELISA法陽性検体については2検体ともウェスタンブロット法で陽性が確認された。
- 3) FASTKITエライザVer. II卵用モデル加工食品を使用して精度管理を行った。検査結果は通知の許容範囲内であった。

謝 辞

本件の調査に際してモデル加工品を提供いただきました日本ハム株式会社中央研究所の担当者の方、並びに、検体採取にご協力いただいた県下保健所担当者の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) 杉崎千寿子, 池田有希子, 田地本寛, 海老澤元宏: 乳児期食物アレルギーの有病率に関する疫学調査—第2報 8か月時調査結果について, アレルギー, 52, 913, 2003
- 2) 杉崎千寿子, 池田有希子, 田地本寛, 海老澤元宏: 乳児期食物アレルギーの有病率に関する疫学調査—第3報, アレルギー, 53, 953, 2004
- 3) 今井孝成: 国際的なアレルギー表示の規制, 食品衛生学雑誌, 46, J-315-J-326, 2005
- 4) 今井孝成: 学校給食における食物アレルギーの実態, 日本小児科学会雑誌, 109, 1117-1122, 2005
- 5) 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
- 6) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査・監視安

- 全課長連名通知“アレルギー物質のコンタミネーション防止対策の徹底について”平成15年11月18日食安基発第1118001号・食安監発第1118001号, 2003
- 7) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知“アレルギー物質を含む食品の表示について”平成16年12月24日食安発第1224002号, 2004
- 8) 厚生労働省医薬食品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)
- 9) 岡山県ホームページ保健福祉部生活衛生課食の安全推進班 “アレルギー物質の検査結果” <http://www.pref.okayama.jp/hoken/seiei/allergykekka.htm>
- 10) 岡山県ホームページ保健福祉部生活衛生課食の安全推進班 “岡山県食品衛生監視指導計画・結果” <http://www.pref.okayama.jp/hoken/seiei/kanshisidou.htm>