

岡山県のアレルギー物質を含む食品調査について ( )

Survey of Foods containing Allergic Substances in Okayama Prefecture ( )

肥塚加奈江, 田邊英子, 山本淳, 山辺真一, 今中雅章, 原田卓郎\* (衛生化学科)

\*保健福祉部生活衛生課

Kanae Koeduka , Eiko Tanabe , Jun Yamamoto , Shinichi Yamabe ,  
Masaaki Imanaka , Takuro Harada

【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 (I)

### Survey of Foods containing Allergic Substances in Okayama Prefecture (I)

肥塚加奈江, 田邊英子, 山本淳, 山辺真一, 今中雅章, 原田卓郎\* (衛生化学科)

\*保健福祉部生活衛生課

Kanae Koeduka, Eiko Tanabe, Jun Yamamoto, Shinichi Yamabe,  
Masaaki Imanaka, Takuro Harada

#### 要 旨

製粉穀物またはそれを原材料とする製品を中心に、岡山県内で購入した24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“小麦”または“そば”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24検体のうち4検体が陽性であったが、その原因は、検査品を製造した同じ機械で、そばや小麦を原料とする食品を製造した後の清掃が不十分だったため、検査品に微量のそばや小麦が混入したものであった。ELISA法陽性検体についてはPCR法で確認検査を実施し4検体ともPCR法で確認された。また、陽性検体を中心にELISA従来検査法と改良検査法の比較を行った。今回の検体では、検査項目“小麦”では、改良検査法は従来検査法の1.5～6倍高い検査値となった。一方検査項目“そば”では大きな差異は認められなかった。

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

[Keyword: Foods containing Allergic Substances, ELISA technique, rice powder]

#### 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%<sup>1)2)3)</sup>、学童期以降成人で1～2%<sup>3)4)</sup>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<sup>3)</sup>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<sup>5)</sup>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」<sup>6)</sup>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<sup>7)</sup>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<sup>8)</sup>で「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」が改正された。以前から従来のELISA通知法については、加熱加工食品中の抗原タンパク質の量が実際より少ない測定結果となる場合があることが報告されていた<sup>9-13)</sup>。今回の改良検査法で使用されることになったキットは、この点が改良されている<sup>14)15)</sup>。

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<sup>16)</sup>。平成17年度は製粉穀物またはそれを原材料とする製品を中心

にアレルギー物質を含む食品検査を実施したのでその概要を報告する。また、通知法のうちELISA従来検査法と改良検査法の検査値の比較、ELISA陽性試料のPCR法での確認も行ったので、あわせて報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 試料

平成17年6月～10月に、岡山県食品衛生監視指導計画<sup>17)</sup>に則り、岡山県内で購入した24検体を検査した。検査試料の概要は表1に示した。

### 2.2 試薬等

モリナガ特定原材料測定キット（小麦グリアジン，そば），モリナガFASPEK特定原材料測定キット（小麦グリアジン，そば）：株式会社森永生科学研究所製  
 FASTKITエライザキット（小麦，そば），FASTKITエライザVer IIキット（小麦，そば）：日本ハム株式会社中央研究所製  
 アレルゲンチェッカー「小麦」「そば」：オリエンタル酵母株式会社製  
 プロティナーゼK，RNaseA：QIAGEN社製  
 Amplitaq<sup>TM</sup>Gold，PCR緩衝液，dNTPmix，MgCl<sub>2</sub>：ア

プライドバイオシステムズ社製

1mol/LTris-塩酸：同仁化学研究所製

滅菌水：ニッポンジーン社製

石英砂，塩化ナトリウム（試薬特級），クロロホルム（試薬特級），イソアミルアルコール（試薬特級），イソプロピルアルコール（試薬特級），フェノール（核酸抽出用）：和光純薬工業株式会社製

### 2.3 装置

ホモジナイザー：岩谷産業社製 ミルサーIFN-700

KINEMATICA-AG社製

POLYTRON-PT2100

振とう機：TAITEC社製 RECIPRO SHAKER SR-2S

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

吸光光度計：島津製作所製UV-2200

PCR装置：ABI社製Gene Amp PCR System 9700

表1 検査試料の概要

NO.	製品名	表示原材料	検査項目	備考
1	素麺	小麦粉，食塩，植物油	そば	そばを含む食品製造注意喚起表示あり
2	素麺	小麦粉，食塩，食用植物油	そば	アレルギー表示なし
3	素麺	小麦粉，食塩，コーンサラダ油	そば	アレルギー表示なし
4	素麺	小麦粉，食塩，食用植物油	そば	そばを含む食品製造注意喚起表示あり
5	素麺	小麦粉，食塩，食用植物油	そば	そばを含む食品製造注意喚起表示あり
6	素麺	小麦粉，食塩，食用植物油	そば	そばを含む食品製造注意喚起表示あり
7	素麺	小麦粉，食塩，食用植物油	そば	そばを含む食品製造注意喚起表示あり
8	素麺	小麦粉，食塩，食用植物油	そば	そばを含む食品製造注意喚起表示あり
9	素麺	不明(仮包装のみ)	そば	不明(仮包装のみ)
10	素麺	小麦粉，食塩，紅麹，着色料(カルミン酸)，綿実油	そば	アレルギー表示なし
11	素麺	小麦粉，食塩，食用植物油	そば	アレルギー表示なし
12	せんべい	タピオカでんぶん，トウモロコシでんぶん，塩，砂糖，ほうれん草，かぼちゃ，人参，山椒，米粉	小麦	アレルギー表示なし
13	おかき	ヒメノモチ，あや紫，植物性油脂，食塩，調味料(アミノ酸等)	小麦	アレルギー表示なし
14	おかき	もち米，ごま，青のり，まめ，砂糖，タンサンソーダ	小麦	アレルギー表示なし
15	おかき	もち米，砂糖，食塩	小麦	アレルギー表示なし
16	米粉	うるち米	小麦，そば	アレルギー表示なし
17	米粉	うるち米	小麦	不明(仮包装のみ)
18	米粉	うるち粉	小麦，そば	アレルギー表示なし
19	米粉	うるち米，もち粉	小麦，そば	アレルギー表示なし
20	米粉	うるち米	小麦，そば	アレルギー表示なし
21	小麦粉	小麦粉	そば	不明(仮包装のみ)
22	小麦粉	小麦粉	そば	不明(仮包装のみ)
23	そば粉	そば	小麦	アレルギー表示なし
24	そば粉	純そば粉	小麦	アレルギー表示なし

電気泳動装置：ADVANCE社製Mupid-S

## 2.4 検査方法

ELISA法PCR法共に通知<sup>8)</sup>法に従って検査を行った。

### 2.4.1 ELISA従来検査法の試料調製

粉碎均質混和した試料2gをはかりとり、目的のELISA分析に応じて、FASTKITエライザキットまたはモリナガ特定原材料測定キットに付属の濃縮抽出用緩衝液または20倍濃縮検体希釈液を添付の説明書に従って希釈して作製した溶液38mlを加え、ホモジナイズ抽出後、pH測定を行ってpH6.0-8.0であることを確認し、3000×g、4℃で20分間遠心分離し、上清をろ紙でろ過してELISA用試験試料液とした。

### 2.4.2 ELISA改良検査法の試料調製

粉碎均質混和した試料1gを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℃)。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ELISA用試験試料液とした。

### 2.4.3 ELISA検査

それぞれの試料液について、従来法2種(FASTKITエライザキット、モリナガ特定原材料測定キット)、改良検査法2種(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)ともに通知<sup>8)</sup>法に従い、ELISA検査をおこなった。

### 2.4.4 PCR確認検査

試料は均質化を行った後、通知<sup>8)</sup>のDNA抽出精製法-CTAB法の項に従ってDNAを抽出精製し、試料原液とした。この試料原液について同じく通知<sup>8)</sup>の定性PCR法の項に従って検査を実施した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 ELISA従来検査法による検査結果

製粉穀物またはそれを原材料とする製品を中心にELISA従来検査法による検査を行った。検体は素麺11検体、せんべい及びおかき4検体、米粉5検体、小麦粉2検体、そば粉2検体であり(表1)その検査結果を表

表2 ELISA従来法での検査結果

(μg/g)

NO.	製品名	備考	検査項目			
			小麦		そば	
			FASTKIT*1	モリナガ*2	FASTKIT*1	モリナガ*2
1	素麺	そばを含む食品製造注意喚起表示あり	—	—	5	4
2	素麺	アレルギー表示なし	—	—	不検出	不検出
3	素麺	アレルギー表示なし	—	—	不検出	不検出
4	素麺	そばを含む食品製造注意喚起表示あり	—	—	2	1
5	素麺	そばを含む食品製造注意喚起表示あり	—	—	不検出	不検出
6	素麺	そばを含む食品製造注意喚起表示あり	—	—	不検出	不検出
7	素麺	そばを含む食品製造注意喚起表示あり	—	—	不検出	不検出
8	素麺	そばを含む食品製造注意喚起表示あり	—	—	不検出	不検出
9	素麺	不明(仮包装のみ)	—	—	不検出	不検出
10	素麺	アレルギー表示なし	—	—	不検出	不検出
11	素麺	アレルギー表示なし	—	—	49	37
12	せんべい	アレルギー表示なし	不検出	不検出	—	—
13	おかき	アレルギー表示なし	不検出	不検出	—	—
14	おかき	アレルギー表示なし	不検出	不検出	—	—
15	おかき	アレルギー表示なし	不検出	不検出	—	—
16	米粉	アレルギー表示なし	1300	1700	3	不検出
17	米粉	不明(仮包装のみ)	不検出	不検出	—	—
18	米粉	アレルギー表示なし	不検出	不検出	3	不検出
19	米粉	アレルギー表示なし	2	3	15	5
20	米粉	アレルギー表示なし	不検出	不検出	3	不検出
21	小麦粉	不明(仮包装のみ)	—	—	不検出	不検出
22	小麦粉	不明(仮包装のみ)	—	—	不検出	不検出
23	そば粉	アレルギー表示なし	110	62	—	—
24	そば粉	アレルギー表示なし	不検出	不検出	—	—

検出下限値:1μg/g

\*1 FASTKITエライザキット

\*2 モリナガ特定原材料測定キット

2に示した。検査項目“小麦”については、11検体中、米粉およびそば粉でそれぞれ1検体が両方のキットで陽性(10 $\mu$ g/g以上)であり、他は陰性であった。検査項目“そば”については、17検体中、素麺1検体で陽性、米粉1検体は、FASTKITエライザキットで陽性、モリナガ特定原材料測定キットでは検出されたが10 $\mu$ g/g未満であった。また、他にも素麺2検体について10 $\mu$ g/g未満ではあるが“そば”が検出された。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。また陽性となった原因は、検査品を製造した同じ機械で、そばや小麦を原料とする食品を製造した後の清掃が不十分だったため、検査品に微量のそばや小麦が混入したものであったことがわかった。

また、表2に示すとおりFASTKITエライザキット“そば”の検査結果が3 $\mu$ g/gとなっているがモリナガ特定原材料測定キットでは不検出となっている検体が3検体ある。この3検体はいずれも米粉(原材料：うるち米(表1))であった。FASTKITエライザの製造元である日本ハム中央研究所がホームページで提供している情報<sup>18)</sup>をみると、うるち米はFASTKITエライザキットで偽陽性を示し、参考としての定量値は1.25ppmであるとなっている。このこととモリナガ特定原材料測定キットの検査結果が不検出となっていることから、これら3検体で“そば”の検出かと思われたのは、検体が偽陽性を示したものとされた。このことはさらに、NO.19の米粉(原材料：うるち米、もち粉)についても数値の取扱に注意が必要な事を示唆している。すなわち、NO.19の検体は両キットで定量

され、また表3に示すとおりPCR法でも検出されたので、そばの混入があることは確からしいと言えるが、FASTKITエライザキット“そば”の定量結果15 $\mu$ g/gのうちいくらかはうるち米による影響の可能性を考慮する必要がある。

### 3.2 PCR法による確認検査結果

ELISA法での陽性検体を中心にPCR法による確認検査を実施した(表3)。今回ELISA法で陽性を示した検体はすべてPCR法でも検出された。ELISA法のFASTKITエライザキット“そば”で偽陽性を示したと思われるNO.16の米粉は、PCR法“そば”では不検出であった。

ELISA法“小麦”で若干検出されたNO.19の米粉は、PCR法“小麦”では不検出であった。このことの原因については、検出感度の向上等さらなる検討が必要と思われる。

### 3.3 ELISA従来検査法と改良検査法の比較

陽性検体を中心にELISA法の従来検査法と改良検査法の比較を行った(表4、表5)。

検査項目“小麦”では、改良検査法は従来検査法の1.5~6倍の検査結果となった。逆に検査項目“そば”ではあまり大きな数字の差は見られなかった。しかし、今回FASTKIT従来検査法で偽陽性を示したと思われるものについては、不検出という結果であった。FASTKITエライザの製造元のホームページで提供している情報でも、うるち米はFASTKITエライザVer IIキットで陰性であるとのことで、定量結果はその情報とも合致していた。

表3 PCR法での確認検査結果

( $\mu$ g/g)

NO.	製品名	ELISA法検査項目				PCR確認	
		小麦		そば		小麦	そば
		FASTKIT*1	モリナガ*2	FASTKIT*1	モリナガ*2		
11	素麺	—	—	49	37	—	検出
16	米粉	1300	1700	3	不検出	検出	不検出
19	米粉	2	3	15	5	不検出	検出
23	そば粉	110	62	—	—	検出	—

検出下限値:1 $\mu$ g/g

\*1 FASTKITエライザキット

\*2 モリナガ特定原材料測定キット

表4 ELISA従来法と改良検査法の比較（“小麦”）（ $\mu\text{g/g}$ ）

NO.	製品名	検査項目			
		従来検査法		改良検査法	
		FASTKIT* <sup>1</sup>	モリナガ* <sup>2</sup>	FASTKIT II* <sup>3</sup>	FASPEK* <sup>4</sup>
16	米粉	1300	1700	8000	9600
19	米粉	2	3	3	7
23	そば粉	110	62	650	120

検出下限値:1 $\mu\text{g/g}$   
 \*<sup>1</sup>FASTKITエライザキット  
 \*<sup>2</sup>モリナガ特定原材料測定キット  
 \*<sup>3</sup>FASTKITエライザVer II キット  
 \*<sup>4</sup>モリナガFASPEK特定原材料測定キット

表5 ELISA従来法と改良検査法の比較（“そば”）（ $\mu\text{g/g}$ ）

NO.	製品名	検査項目			
		従来検査法		改良検査法	
		FASTKIT* <sup>1</sup>	モリナガ* <sup>2</sup>	FASTKIT II* <sup>3</sup>	FASPEK* <sup>4</sup>
1	素麺	5	4	3	2
4	素麺	2	1	1	不検出
11	素麺	49	37	33	19
16	米粉	3	不検出	不検出	不検出
18	米粉	3	不検出	不検出	不検出
19	米粉	15	5	6	5
20	米粉	3	不検出	不検出	不検出

検出下限値:1 $\mu\text{g/g}$   
 \*<sup>1</sup>FASTKITエライザキット  
 \*<sup>2</sup>モリナガ特定原材料測定キット  
 \*<sup>3</sup>FASTKITエライザVer II キット  
 \*<sup>4</sup>モリナガFASPEK特定原材料測定キット

#### 4 まとめ

- 1) 製粉穀物またはそれを原材料とする製品を中心にELISA従来検査法による検査を行った。検査した24検体のうち4検体が検査結果が陽性であり、その原因は、検査品を製造した同じ機械で、そばや小麦を原料とする食品を製造した後の清掃が不十分だったため、検査品に微量のそばや小麦が混入したものであった。
- 2) PCR法で確認検査を実施した。ELISA法陽性検体については4検体ともPCR法で確認された。
- 3) 陽性検体を中心にELISA従来検査法と改良検査法の比較を行った。今回の検体では、検査項目“小麦”

では、改良検査法は従来検査法の1.5～6倍高い検査値となった。一方検査項目“そば”では大きな差異は認められなかった。

#### 謝 辞

本件の調査に際して資材提供と貴重なご助言をいただきました株式会社森永生科学研究所の本庄勉先生、渡邊恵理子先生、並びに、貴重な情報を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)
- 9) 渡邊裕子, 張替直輝, 坂田こずえ, 穂山浩, 岸美智子ら: 加工食品におけるELISA法を用いた特定原材料検査の実態, 第39回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 94-95, 2002
- 10) 渡邊裕子, 岸美智子: 幼児・児童用菓子類における特定原材料の検出, 第40回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 92-93, 2003
- 11) 戸谷和男, 竹上晴美, 堀江正一: ELISA法による特定原材料検出検査における陰性例の検討, 第40回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 98-99, 2003
- 12) 中尾朱美, 真子俊博, 藤木喬: 卵たんぱくアレルギー検査の検討と問題点について, 第40回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 102-103, 2003
- 13) 松本ひろ子, 萩野賀世, 坂牧成恵, 中里光男, 安田和男: 加工食品中の特定原材料(そば)の分析, 東京都健康安全研究センター年報, 55, 127-132, 2004
- 14) 油谷賢一, 渡邊由美子, 渡邊恵理子, 本庄勉, 橋爪秀一ら: 高回収率を可能とした特定原材料測定キット(ELISA法)の応用例, 第89回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集, 52, 2005
- 15) 森下直樹, 土岐慎治, 神谷久美子, 松本貴之, 高畑能久ら: 複合抗原認識抗体を用いた新規アレルゲン検査キットの開発と評価, 第89回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集, 53, 2005
- 16) 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>
- 17) 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>
- 18) 日本ハム中央研究所: FASTKITエライザシリーズ, FASTKITエライザVer.IIシリーズ, およびFASTKITイムノクロマトシリーズにおいて偽陽性を示す食品に関するご連絡, <http://www.rdc.nipponham.co.jp/fastkit/index.html>