

〔資料〕

加工食品中に含まれる特定原材料の実態調査

(平成16～28年度)

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 福井 優子・石本 聖・亀井 とし
金戸 恵子

〔和文要旨〕

石川県では、県内で製造された加工食品のうち、特定原材料7品目（小麦、そば、卵、乳、落花生、えび、かに）の表示がないものを対象に、平成16年度から収去検査を実施している。今回、平成28年度までの13年間の検査結果をまとめたので報告する。総検体数は358検体、総品目数は1,181品目であり、ELISA法を用いた定量検査で報告下限値以上が検出されたのは33検体（44品目）で、そのうち基準値以上が検出されたのは9検体（10品目）であった。その9検体のうち、5検体についてウエスタンブロット法またはPCR法を用いた定性検査を実施したところ、全て陽性判定の結果となった。

キーワード：加工食品、特定原材料、ELISA、ウエスタンブロット法、PCR法

1 はじめに

アレルギー物質を含む食品については、特定のアレルギー物質を持つ方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食品のうち、特に発症数、重篤度から表示する必要性の高い7品目（小麦、そば、卵、乳、落花生、えび、かに）を特定原材料として指定し、これらを含む加工食品には、その表示が義務付けられている¹⁾⁻⁷⁾。

食物アレルギーを有する人にとって食品を購入する際の判断基準は表示が全てであり、そのため表示が適正かどうかは非常に重要である。

本県においても、特定原材料が適正に表示されているかを確認するため、検査対象とする特定原材料の表示がない県内製造品について、平成16年度から毎年収去検査を実施している。検査は、「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」（以下「通知法」という。）⁸⁾⁻¹⁰⁾に準拠した検査実施標準作業書（以下「SOP」という）を制定し、実施した。検査品目は、平成16年度および

17年度は小麦、そば、卵、乳、落花生の5品目を、平成18年度から24年度は、健康危害の重篤度が大きいとされているそば、落花生を固定品目とし、残り1品目を年度ごとに変え3品目を対象とした。平成20年度にえび、かにが特定原材料に追加されたことから、平成22年度にSOPに追加し、平成25年度からは7品目全てを対象としている。今回、平成16年度から28年度までの13年間の検査結果をまとめたので報告する。

2 材料と方法

2・1 検体

本県では、収去予定検体の原材料に関する事前調査を行い、定量検査（ELISA法）における偽陽性および偽陰性について、ELISAキット製造会社の公表データを基に確認し、各検体の検査品目を決定している。今回報告する検体についても事前調査後に製造所から収去して検査に供した。

2・2 試薬・機器

超純水は全てMilli-Q（日本ミリポア株）（現メルク株製）

Survey of Allergenic Substances in Processed Foods (2004-2016). by FUKUI Hiroko, ISHIMOTO Takashi, KAMEI Toshi and KANETO Keiko (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Processed Food, Allergenic Substance, ELISA, Western Blotting, PCR

で製造した。検体の均質化にはレッチェ GM200 (㈱レッチェ製), 抽出時の振とう機および恒温チャンバーはEYELA MMS-3011型およびEYELA FMC-1000型 (いずれも東京理化学器械(株)製), 遠心分離機はAllegraTM X-22R Centrifuge (ベックマン・コールター(株)製), ろ紙はNo.5A (アドバンテック東洋(株)製) を用いた。

(1) 定量検査 (ELISA 法)

小麦, そば, 卵, 乳, 落花生は, モリナガFASPEK エライザキットシリーズ (㈱森永生科学研究所製), FASTKIT エライザキットシリーズ (日本ハム(株)製) を用いた。なお, 平成24年度のみアレルギーアイELISA キットシリーズ (プリマハム(株)製) を用いた。えび, かに, FAテストEIA-甲殻類「ニッスイ」(日水製薬(株)製) および甲殻類キット「マルハニチロ」(マルハニチロ(株)製) を用いた。測定にはサンライズリモートPCシステム (テカンジャパン(株)製) を使用した。

(2) 定性検査 (確認検査)

ア ウエスタンブロット法

ウエスタンブロット法では, モリナガFASPEK 卵ウエスタンブロットキット (卵白アルブミンまたはオボムコイド) (㈱森永生科学研究所製) を用いた。

Laemmli Sample Buffer, 2-メルカプトエタノール, 10×Tris/Glycine/SDS, Kaleidoscope Prestained Standards, Extra Thick Blot Paper, 10×Tris/Glycine buffer, 10×TBS (いずれもバイオ・ラッドラボラトリーズ(株)製), 12.5% Q-PAGE mini (テフコ(株)製), Amersham Hybond-P PVDF Membrane (アマシャムバイオサイエンス(株)製), メタノールは試薬特級, 0.05% Tween-20は生化学用, 塩酸は有害金属測定用 (いずれも和光純薬(株)製) を用いた。ウシ血清由来アルブミン, TRIZMA BASE (いずれもSigma-Aldrich Co. LLC製), VECTASTAIN ABC-AP Rabbit IgG Kit, Alkaline Phosphatase Substrate Kit IV (VECTOR Laboratories, INC製) を用いた。泳動槽はセイフティーセルミニSTC-808 (テフコ(株)製) を, パワーサプライはパワーパックHC (バイオ・ラッドラボラトリーズ(株)製) を, 転写装置はトランスブロットSDセル (バイオ・ラッドラボラトリーズ(株)製) を用いた。

イ PCR 法

PCR法では, 既報¹¹⁾で示した試薬・機器を用いた。ただし, 小麦またはそば検出用プライマー及び陽性コントロールテンプレートは, オリエンタル酵母工業(株)製のアレルギーチェッカー「小麦」または「そば」に添付されているものを使用した。Agarose Sは(株)ニッポンジーン製を用いた。

2・3 定量検査 (スクリーニング検査)

定量検査は, 1検査品目につき2種類のELISA キッ

トを用い, 検体1gあたりの特定原材料等由来のタンパク質含量を求めた。なお, これらのキットは, 検査実施時点で入手可能であった各社の最新のものを使用した。また, えびおよびかに検出用の2キットは, 甲殻類に共通するタンパク質を認識するため, えびとかにを区別することはできず, 甲殻類としてまとめて測定した。

2・4 定性検査 (確認検査)

(1) ウエスタンブロット法

卵および乳については, ウエスタンブロット法により特定原材料由来のタンパク質の確認を行った。今回の報告では, 定量試験で検出された卵について, 定性検査を実施した。電気泳動用の試料調製には, Laemmli Sample Bufferおよび2-メルカプトエタノールを19:1 (V/V) の割合で混和したものをローディング緩衝液として用いた。電気泳動用緩衝液には, 10×Tris/Glycine/SDSを超純水で10倍希釈したものを用いた。転写用緩衝液は, 10×Tris/Glycine bufferとメタノールと超純水を1:2:7 (V/V/V) の割合で混合して用いた。免疫染色前のブロッキングには, 洗浄液 (0.05% Tween-20入りTBS) に最終濃度が0.1%となるようにウシ血清由来アルブミンを加えたものを用いた。免疫染色には, 100mM Tris/塩酸 (pH9.5) 溶液 (TRIZMA BASAを超純水に溶かし塩酸でpHを9.5にしたもの) を用いた。

(2) PCR 法

小麦, そば, 落花生, えび, かにについては, 食品からDNAを抽出しPCR法により確認試験を行った。DNAの抽出, 濃度測定および精製度の確認については, 既報¹¹⁾に示した3法 (シリカゲル膜タイプキット法, イオン交換樹脂タイプキット法およびCTAB法) で行った。

3 結果および考察

3・1 検体の種類と検体数並びに検査品目数

食品の製造については, 食品分類ごとに食品衛生法等で施設を設け, 許可等を取得するよう定められている。そのため, 製造施設でコンタミネーションを起こす可能性のある特定原材料は, 取得した許可等の範囲で製造された食品の原材料である可能性が高い。

そこで今回の報告では, 食品衛生法上の営業許可区分に準じて検体を分類, 集計した。その結果, 13年間での総検体数は358検体で, 食品分類別では菓子が最も多く, 次いで弁当・そうざい, 魚肉ねり製品の順であった (表1)。また総品目数は1,181品目で, その内訳はそばが最も多く, 次いで落花生, 乳, 卵, 小麦, えび, かにの順であった (表2)。そば, 落花生については, 症状が重篤であり生命に関わるため, 特に留意が必要とされ

表1 検体の食品分類と定量検査における検出数

食品分類	検体数	※1 検出数		合計	検出率 (%)
		※2 10μg/g以上 10μg/g未満	※2 10μg/g以上		
菓子	137	8	4	12	9
弁当・そうざい	73	7	0	7	10
魚肉ねり製品	44	5	5	10	23
魚介類加工品	37	2	0	2	5
野菜・果実加工品	25	1	0	1	4
漬物	24	1	0	1	4
調味料	9	0	0	0	0
めん類	8	0	0	0	0
その他	1	0	0	0	0
計	358	24	9	33	

※1 使用した2種類のキットのうち、1種類でも1.0μg/g以上であれば検出とした。

※2 1.0μg/gは報告下限値、10μg/gは基準値を示す。

表2 検査品目と定量検査における検出数

検査品目	品目数	※1 検出数		合計
		※2 1.0μg/g以上 10μg/g未満	※2 10μg/g以上	
小麦	118	3	2	5
そば	274	3	1	4
卵	155	6	3	9
乳	168	4	2	6
落花生	266	4	0	4
えび	100	8	1	9
かに	100	6	1	7
計	1,181	34	10	44

※1 使用した2種類のキットのうち、1種類でも1.0μg/g以上であれば検出とした。

※2 1.0μg/gは報告下限値、10μg/gは基準値を示す。

ている。本県では、平成18年度から24年度にそば、落花生を固定品目として検査を実施しているため、これらが総品目数の上位を占めている。なお、本県では、1検体で複数の品目を検査する場合があることから、検体数と品目数は合致しない。

3・2 定量検査（スクリーニング検査）結果

まずスクリーニング検査として、ELISAキットを用い、検体1gあたりの特定原材料等由来のタンパク質含量を求めた。2種類のキットのうち、どちらか一方で基準値の10μg/g以上検出された場合、その検体をスクリーニング検査陽性とした。

なお、検査結果が8～12μg/gの範囲内にある場合には、同一調製試料から再抽出し、1度目と2度目の測定値の平均で判定した。スクリーニング検査における検出数を表1および2に示す。なお、検出数については、使用した2種類のキットのうち1種類でも報告下限値である1.0μg/g以上であれば検出とした。

検出されたのは、358検体中33検体、1,181品目中44品目であった（表1、表2）。そのうち24検体（34品目）が1.0μg/g以上10μg/g未満であった。また検出された

検体の総検体数に対する割合（以下「検出率」という）は、魚肉ねり製品が23%と最も高く、次いで弁当・そうざいの10%、菓子の9%であった。検出された検体ごとの検出品目内訳を図1に示す。菓子および弁当・そうざいについては、製造時に使用される原材料が多岐にわたることから、複数の特定原材料が検出されたと推察される。また、魚肉ねり製品については、検出された10検体（16品目）のうち、5検体（9品目）からえびまたはかに（もしくはその両方）が検出されていた。これについては、魚肉ねり製品の原材料となる魚介類がえびやかにを捕食している場合が考えられ、これが高い検出率の要因の一つと推定される。

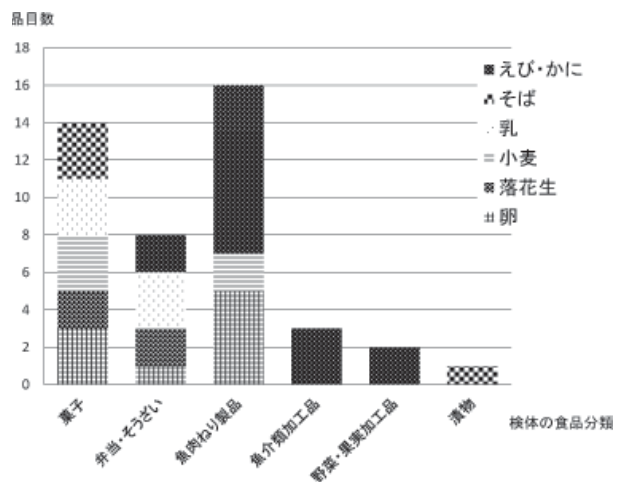


図1 1.0μg/g以上が検出された検体の検出品目内訳

基準値の10μg/g以上が検出されたのは、358検体中9検体、1,181品目中10品目であった。食品分類別では、魚肉ねり製品が5検体、菓子が4検体と検出率の高さが反映されていた（表3）。しかし、同様に検出率の高い弁当・そうざいについては、基準値以上の検出は見られなかった。

3・3 定性検査（確認検査）結果

スクリーニング検査で陽性となった9検体のうち、5検体について確認検査を実施した（表3）。通知法の判断樹によると、原材料表示がなく、スクリーニング検査で陽性かつ製造記録に対象となる特定原材料の記載がない場合には確認検査を行うこととされている。今回の報告の中で、平成16年度のふかしおよび平成17年度のバウムクーヘンについては、定性検査に係るSOP未整備のため、確認検査を実施しなかった。また、平成19年度のクリーム大福については、確認検査実施前に表示もれが判明し、平成27年度のちくわについては注意喚起表示がされていたことから、これらの確認検査は実施しなかった。

スクリーニング検査で卵陽性となった平成17年度のさつまあげについては、卵白アルブミンを対象としてウ

表3 基準値以上が検出された検体一覧

年度	食品分類	検体名	項目	*1 定量検査結果($\mu\text{g/g}$)		注意喚起表示	定性検査結果
				*2 キットA	*2 キットB		
16	魚肉ねり製品	ふかし	小麦	*3 >25	*3 14	なし	-
17	菓子	*4 バウムクーヘン	乳	*3 >25	*3 >20	なし	-
	魚肉ねり製品	*4 さつまあげ	卵	>20	>20	なし	卵白アルブミン(+)
19	菓子	*4 クリーム大福	乳	>20	13.5	なし	-
20	菓子	*4 餅菓子	小麦	>20	>20	なし	PCR(+)
21	菓子	まんじゅう	そば	>20	>20	あり	PCR(+)
25	魚肉ねり製品	かまぼこ-1	卵	>20	>20	なし	卵白アルブミン(+)
	魚肉ねり製品	かまぼこ-2	卵	>20	>20	なし	オボムコイド(+)
27	魚肉ねり製品	ちくわ	えび, かに	>20	14.7	あり	-

※1 定量検査結果については、検量線の上限を超えたものを >25 または >20 と表示

※2 キットA：平成16～25年度は榊森永生科学研究所製，平成27年度はマルハニチロ(株)製

キットB：平成16～25年度は日本ハム(株)製，平成27年度は日本水産(株)製

※3 平成17年10月11日付食安発第1011002号にて改良される前の旧キット

※4 適正表示指導を行った検体

エスタンプロット法による確認検査を実施し、陽性判定となった。同様に卵陽性の平成25年度のかまぼこ-1およびかまぼこ-2については、卵白アルブミンおよびオボムコイドを対象としたウエスタンプロット法による確認検査を実施し、いずれも陽性判定となった。製造所に対する調査の結果、さつまあげは表示もれが判明し、かまぼこ2検体については明確な原因説明には至らなかった。

スクリーニング検査で小麦陽性となった平成20年度の餅菓子については、小麦を対象としたPCRを実施した。DNAの抽出は、既報¹¹⁾で示した3法で実施したところ、シリカゲル膜タイプキット法およびイオン交換樹脂タイプキット法で陽性判定となった。製造所に対する調査の結果、ライン上のコンタミネーションである可能性が大きく、注意喚起表示を指導した。一方、スクリーニング検査でそば陽性となった平成21年度のまんじゅうについては、注意喚起の表示はされていたが、PCRを実施したところ、陽性と判定され、表示が適切であることが確認された。

4 まとめ

- (1) 平成16年度から28年度までに特定原材料の表示がない加工食品358検体、1,181品目について収去検査を行った。
- (2) スクリーニング検査で報告下限値である $1.0\mu\text{g/g}$ 以上が検出されたのは33検体(44品目)、うち基準値である $10\mu\text{g/g}$ 以上が検出されたのは9検体(10品目)であった。
- (3) 基準値以上の9検体のうち5検体について、ウエスタンプロット法またはPCR法にて確認検査を実施したところ、全て陽性判定となった。
- (4) 確認検査で陽性判定となった検体について製造所への調査を行ったところ、表示もれ(3検体)や製造段

階でのコンタミネーションが確認・推定(1検体)され、これらの検査結果を示して適正表示指導につなげた。

文 献

- 1) 食品衛生法施行規則，厚生省令第23号，昭和23年
- 2) 乳及び乳製品の成分規格等に関する省令，厚生省令第52号，昭和26年
- 3) 食品衛生法第19条第1項の規定に基づく表示の基準に関する内閣府令，内閣府令第45号，平成23年
- 4) 食品衛生法第19条第1項の規定に基づく乳及び乳製品並びにこれらを主要原料とする食品の表示の基準に関する内閣府令，内閣府令第46号，平成23年
- 5) 食品表示基準，内閣府令第10号，平成27年
- 6) 厚生労働省医薬局食品保健部企画課・監視安全課長連名通知：アレルギー物質を含む食品に関する表示について，平成13年3月21日食企発第2号・食監発第46号
- 7) 消費者庁次長通知：食品表示基準について，平成27年3月30日，消食表第139号
- 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
- 9) 消費者庁次長通知：アレルギー物質を含む食品の検査方法について，平成22年9月10日，消食表第286号
- 10) 消費者庁次長通知：食品表示基準について アレルギーを含む食品の検査方法，平成27年3月30日，消食表第139号(2015)
- 11) 安田和弘，芹川俊彦，新家薫子：特定原材料検査におけるDNA抽出法の検討(第1報)，石川県保健環境センター研究報告書，47，47-53(2010)