

欄外注意喚起表記されている市販加工食品中 特定原材料タンパク質の含有量調査

杉本理恵*・栗原聡美*・宮川さゆり*・望月康代*・荻野愛美*
加藤麻奈*・八木愛子*・豊田正武*・森下直樹**・松本貴之**

* 実践女子大学 食生活科学科 生活基礎化学研究室

** 日本ハム株式会社中央研究所

Survey of Allergenic Food Proteins Marginally Labeled on Commercial Food Products

Rie SUGIMOTO*, Satomi KURIHARA*, Sayuri MIYAGAWA*, Yasuyo MOCHIZUKI*,
Manami OGINO*, Mana KATOU*, Aiko YAGI*, Masatake TOYODA*,
Naoki MORISHITA** and Takashi MATUMOTO**

* *Department of Food and Health Sciences, Jissen Women's University*

** *R & D Center, Nippon Meat Packers, Inc.*

Food containing allergen proteins such as egg, wheat, milk, peanut, buckwheat, shrimp and crab at greater than 10mg/kg must be mandatorily labeled on food products in Japan since 2002 and/or 2008. To protect the health and safety of food-allergic people, a marginal labeling system is recommended for labeling them voluntarily on food products when minute amounts unintentionally contaminated the final product during manufacturing process without using any allergen proteins as raw materials. In this survey from this point, the content of seven food allergenic proteins in 76 food products was investigated using immunochromatography assay and ELISA. Positive results were obtained from 10 food samples (13%) by using immunochromatography, and wheat proteins were most frequently detected from 6 samples (60%). Allergen proteins of 1.2ppm~48.5ppm were detected from 5 samples (7%) using ELISA, all of which showed positive results by immunochromatography. When 15 samples containing <1 ppm of any kinds of allergen proteins were included, 21 from 76 samples (27%) were detected. Our results showed that in spite of low detection rate of about thirty % in food products labeled with any allergen proteins voluntary, several food products contained more than 10ppm of egg, crustacean or wheat proteins. It was found that the alert system was useful for allergenic subjects.

Key words : food allergy (食物アレルギー), specific raw materials (特定原材料),
marginal notation (注意喚起表記), immunochromatography (イムノクロマト),
alert system (ELISA、注意喚起)

1. はじめに

食物アレルギーとは、原因物質の含有量が極微量であっても、発症する可能性を否定できないという疾患である。そこで、食物アレルギー原因物質の表示については、対象品目が省令で規定され法令で義務づけられている。「特定原材料」と「特定原材料に準じるもの」

に分かれており、特定原材料は特に症例数の多い卵、乳、小麦、えび・かに（甲殻類）、症状が重篤なそば及び落花生がある。これらの含有量は微量であっても、省略せずに原材料として表示することが必要とされている^{1) 2) 3) 4)}。

海外の食物アレルギー原因物質表示では、「may

contain」、すなわち「入っているかもしれない」の表示が未だ許可されているが、そのような表示は消費者の選択の幅を狭めることになるため、我が国では認められていない^{2) 4)}。しかしながら、加工食品を生産する過程で、その食品を構成する原材料として使用されていないにもかかわらず、特定原材料等が製造ライン（主に製造に用いる機械、器具等）からの混入などによって極微量混入し、最終加工食品に含まれてしまう場合がある。特定原材料等を用いた食品と同じ製造ラインで製造した場合、特定原材料を用いていない食品にも特定原材料が常に混入すると確実に考えられるときはアレルギー表示を行うこととし、混入する可能性が否定できないが、製造ラインの洗浄処理により、微量以上の特定原材料は混入しないと判断される場合には、表示の義務はないこととなっている。しかし、そのような製造ラインが重複する場合でも、同じ製造ラインで特定原材料等を使用した食品を製造していることの情報提供として、「本品製造工場では〇〇（特定原材料等の名称）を含む製品を製造しています。」等の表記により注意喚起を行うことは許されている²⁾。

市販加工食品において、注意喚起表記されたアレルギーの表記と実際の含量についての調査はこれまで報告例がないことから、本研究ではイムノクロマト及びELISAのキット⁵⁾を使用し、初めて欄外の注意喚起表記と特定原材料の含有量について調査することにした。

2. 実験方法

1) 検体

試料は欄外表記のある市販加工食品 76 試料を東京都内のスーパーマーケットで購入し使用した。

2) 装置

- ・試料調製：「粉碎機・グラインドミックス GM200」レッチェ
- ・抽出：「オートマチックミキサー・S-100（ボルテックスミキサー）」タイテック㈱、「食物アレルギー物質残留検査用振とう機・MMS-3011 型」東京理化機器㈱、「ウォーターバス・LS220」ADVANTEC、「遠心分離機・ユニバーサル冷却遠心機 C70095」㈱久保田製作所、「TUBE MIXER TRIO・TM-1」アズワン㈱

- ・吸光度測定：「AUTO MINI WASHER・AMW-8」バイオテック㈱、「Emax」日本モレキュラーデバイス㈱

3) キット

特定原材料の卵、乳、小麦、落花生、えび、かに、そばの7品目を調べるため、イムノクロマト法には日本ハム㈱製「FASTKIT スリムシリーズ」、日水製薬㈱製「FA テスト イムノクロマトシリーズ」を、ELISA 法には日本ハム㈱製「FASTKIT エライザ Ver. II シリーズ」を使用した。

4) 試料調製、抽出及び測定法

加工食品を一包単位ごとに粉碎機、フードカッター等により十分に粉碎し、均質混和したものを調製試料とした。

(1) イムノクロマト法

抽出：調製試料 2 g に対して精製水を用いて 10 倍希釈した抽出用緩衝液 38mL を加え、ホモジナイザーで 30 ～ 60 秒の抽出操作を 3 回繰り返した。この試料を低温（4℃）3,000 × g の条件で 20 分間遠心分離を行い、上清をろ過した。ろ液を希釈用緩衝液にて 10 倍希釈したものを試料溶液とした。

試験操作：アルミ包装ごと室温に戻したテストストリップを使用直前に取り出し、試料滴下部に試料溶液 100 μL 滴下した。試験開始 15 分後、テストライン出現位置及びコントロールライン出現位置に赤紫のラインが観察される場合には、陽性と判定した。

(2) ELISA 法

抽出：調製試料 1 g をプラスチック製遠沈管に量りとり、検体抽出液 19mL を加えよく混合し固形分を均等に分散させ、振とう機にて室温で一晩（12 時間以上）振とうしたものを抽出試料とした。この抽出試料を 3,000 × g、室温で 20 分間遠心分離させ、上清をろ過し、希釈用緩衝液で 20 倍希釈したものを測定溶液とした。

測定操作：室温に戻した抗体固相化プレートの各ウェルに希釈した標準溶液および測定溶液 100 μL を加え軽く攪拌した後、室温（20 ～ 25℃）で 1 時間静置して反応させた。反応終了後、標準溶液および測定溶液を捨て、各ウェルにあらかじめ希釈した洗浄液 250 μL を加え、これを捨てる操作を 5 回繰り返した。

各ウェルに調製したビオチン結合抗体溶液 100 μ L を加え、軽く攪拌した後、室温 (20 ~ 25 $^{\circ}$ C) で 1 時間静置して反応させた。反応終了後、ビオチン結合抗体溶液を捨て、洗浄を同様に行った。各ウェルに調製した酵素-ストレプトアビジン結合物溶液 100 μ L を加え、軽く攪拌した後、室温で 30 分静置して反応させ、同様に洗浄した。各ウェルに発色剤 100 μ L を加え軽く攪拌した後、室温、遮光条件下で 20 分静置して発色させた。発色後、反応停止液を 100 μ L 加え軽く攪拌し、反応を停止させ、プレートリーダーにて主波長 450nm、副波長 650nm の吸光度を測定した。

全試料をイムノクロマトで定性試験し、そのうち陽性試料及び一部の試料については、ELISA で定量実験を行った。

3. 実験結果

表 1 及び 2 に使用した試料の欄外注意喚起表記、並びにイムノクロマトの結果及び ELISA の結果を示した。76 試料の内訳は、菓子類 61 試料、その他加工食品 15 試料であった。菓子類の内訳は、チョコレート類 10 試料、せんべい類 32 試料、クッキー類 11 試料、その他菓子類 8 試料であった。欄外表記の特定原材料別内訳は、卵 52 試料、乳 28 試料、小麦 18 試料、落花生 24 試料、甲殻類 30 試料、そば 4 試料で、卵の表記が最も多かった。

イムノクロマト法で検出されたのは 10 試料 (13%) で、小麦 6 試料が最も多く、次いで乳 4 試料、甲殻類 3 試料、卵 1 試料の順であった。落花生及びそばは検出された試料はなかった。ELISA 法で定量実験した結果、検出されたのは 5 試料 (7%) で、内訳は菓子類 1 試料、その他加工食品 4 試料であった。特定原材料別内訳は、卵 1 試料、小麦 2 試料、甲殻類 3 試料であり、乳、落花生、そばは検出された試料はなかった。検出量を見ると、卵 11.2ppm、小麦 2.2ppm ~ 48.5ppm と広範囲で検出され、甲殻類は 1.2ppm ~ 13.7ppm 検出された。

以上の結果、イムノクロマト法及び ELISA 法で検出されたのは菓子類 1 / 61 (2%) であったのに比べ、その他加工食品では 4 / 15 (27%) と多く検出され、さらに 2.2ppm ~ 48.5ppm と広範囲で検出された。なおイムノクロマト法において、後日薄いバンドが観察されるケースがあり、このような試料では ELISA 法

で平均 0.4ppm と極微量検出されるか、定量限界以下となる事が多かった。イムノクロマト法で濃いバンドが見えたものは、ELISA 法で最大 48.5ppm、平均 21.5ppm 検出されたが、定量限界以下となるものもあった。

4. 考察

小麦が 2.2ppm ~ 48.5ppm と広範囲で検出されたのは、小麦は粉末状のため周囲に飛散しやすく、また水に不溶性のタンパク質が多いことであるため、製造時に混入されたのではないかと考えられる。一方、そばは本研究で使用した 76 試料中、欄外に注意喚起表記されたのは 4 試料のみであった。これは、本研究で多く使用した菓子類には一般的にそばを使用することが考えにくいこともあるが、特定原材料の中でも特に重篤な症状を引き起こすため、混入しないよう製造ラインを別にする等、製造側の十分な配慮によるものと考えられる。

アレルギー症状を誘発する特定原材料タンパク質の表示の閾値として、数 ppm と規定している“微量の定義”がある。しかし消費者庁から示されている検査法^{4) 5)}において、ELISA 法による検査から判断される表示の閾値を 10ppm としているため、実質上 10ppm が特定原材料タンパク質の表示の閾値になっている⁴⁾。しかし、アレルギー症状の発症には個人差があり、10ppm 以下でも人によっては舐める程度でアナフィラキシーショックが引き起こされるなど、極微量のアレルギー物質によって発症する場合がある。さらに本研究結果から、注意喚起表記はあるが、原材料がない加工食品で特定原材料タンパク質が 10ppm を超える加工食品が 76 試料中 3 試料あり、そのうち、1 加工食品には小麦タンパク質が 48.5ppm も含まれていたことが判明した。

なお、ELISA 法による定量実験で 1.0ppm 未満の検出があった試料は 16 試料あり、これを含めると全体で 21 試料 (27%) から検出された。乳の検出が 8 試料と他の原材料より多かった。

以上の結果を踏まえ、特定原材料が原材料として使用されている場合や、原材料でなくても常時コンタミネーションが起こる場合には必ず表示する必要がある。また製造ラインが重複するケースにおいて、洗浄処理をしたとしても微量混入の可能性のある加工食品

表 1 菓子類に関するイムノクロマト及び ELISA の分析結果

試料No.	分類	分析結果						注意喚起表記	
		卵	乳	小麦	落花生	甲殻類	そば	共通設備(ライン)で製造	同じ工場内で製造
1	チョコレート類	—	—	—	—	—	—	卵、小麦	
2		—	—	—	—	—	—	卵、落花生	
3		—	—	—	—	—	—	卵、落花生	
4		—	—	—	—	—	—	卵、落花生	
5		—	—	—	—	—	—		卵、落花生
6		—	—	—	—	—	—		卵
7		—	—	—	—	—	—	卵、落花生	
8		— /<1.0ppm*	—	—	—	—	—		卵
9		—	—	—	—	—	—	卵、落花生	
10		— /<1.0ppm	—	—	—	—	—	卵、落花生	
11	せんべい類	—	— /<1.0ppm	—	—	—	—	卵、乳、小麦、落花生	
12		—	—	—	—	—	—	卵、甲殻類 (えび)	
13		—	—	—	—	—	—	卵、乳、落花生	
14		—	—	—	—	—	—	卵、乳、甲殻類 (えび・かに)	
15		—	—	—	—	—	—	卵、乳	
16		—	—	—	—	—	—		卵
17		—	—	—	—	—	—	卵、甲殻類 (えび)	
18		—	—	—	—	—	—	卵、乳、小麦	
19		—	—	—	—	—	—	卵、落花生、甲殻類 (えび・かに)、そば	
20 ²		—	—	—	—	—	—		
21		—	—	—	—	—	—	卵、甲殻類 (えび)	
22		—	+ /<1.0ppm	+ /ND	—	—	—	乳、小麦	
23		—	—	—	—	—	—	卵、甲殻類 (えび)	
24		—	+ /<1.0ppm	—	—	—	—		卵、乳、落花生、甲殻類 (えび・かに)
25		—	+ /<1.0ppm	—	—	—	—	卵、乳、甲殻類 (えび・かに)	
26		—	—	— /<1.0ppm	—	—	—		卵、小麦、落花生、甲殻類 (えび)
27		—	—	—	—	—	—	卵	
28		—	—	—	—	—	—		卵、甲殻類 (えび)
29		—	— /<1.0ppm	—	—	— /<1.0ppm	—		乳、卵、甲殻類 (えび)
30		—	—	—	—	—	—	卵、甲殻類 (えび・かに)	
31	—	—	—	—	—	—		甲殻類 (えび)	
32	—	—	—	—	—	—		卵、甲殻類 (えび)	
33 ³	—	—	—	—	—	—		甲殻類 (えび)	
34 ⁴	—	—	—	—	—	—		乳、卵、小麦	
35	—	—	—	—	—	—		乳、落花生、甲殻類 (えび)	
36	—	—	—	— /<1.0ppm	—	—			
37	—	—	—	—	—	—	卵		
38	—	—	—	—	—	—		落花生	
39	—	—	—	—	— /1.2ppm	—		乳、甲殻類 (えび)	
40	— /<1.0ppm	—	—	—	—	—		卵、落花生	
41	—	—	—	—	—	—	卵、乳、甲殻類 (えび・かに)		
42	—	—	—	—	—	—	卵、甲殻類 (えび・かに)		
43	—	—	—	—	—	—		卵	
44	—	—	—	—	—	—	卵		
45	—	—	—	—	—	—	乳		
46	—	—	—	—	—	—		卵、乳、落花生	
47	—	—	—	—	—	—	卵、落花生		
48	—	—	—	—	—	—	卵		
49	—	—	—	—	—	—		卵、乳、落花生、そば	
50	—	—	—	—	—	—		落花生	
51	— /<1.0ppm	—	—	—	—	—	卵		
52	—	—	— /<1.0ppm	—	—	—	小麦		
53	— /<1.0ppm	—	—	—	—	—	卵、乳		
54-1	その他	—	—	—	—	—	乳		
54-2		—	—	—	—	—	—	乳	
54-3		—	—	—	—	—	—	乳	
54-4		—	—	—	—	—	—	乳	
55		—	—	—	—	—	—		卵、乳
56		—	— /<1.0ppm	—	—	—	—	乳、卵	
57		—	—	—	—	—	—	小麦	
58		—	+ /<1.0ppm	—	—	—	—		乳、落花生、そば
59		—	—	+ /ND	—	—	—		小麦、落花生
60		—	—	—	—	—	—	卵	
61	—	—	—	—	—	—	卵、乳		

*1 イムノクロマトの判定結果／ELISA 測定結果

*2 本品で使用している魚介エキスパウダーは、えびやかにが混ざる漁法で採取した魚介を使用しています。

*3 本品で使用しているアオサは、えびやかにが混ざる漁法で採取しています。

*4 本品に使用しているいかと魚肉すり身の原料の魚介類はえび、かにを食べています。

ND: < 0.1ppm

表 2 その他の加工食品に関するイムノクロマト及び ELISA の分析結果

試料No.	試料名	分析結果					注意喚起表記		
		卵	乳	小麦	落花生	甲殻類	そば	共通設備(ライン)で製造	同じ工場内で製造
62	ちくわ		—	+ /ND* ¹		+ /13.7ppm			乳、小麦、甲殻類 (えび・かに)
63	じゃこ			—	—	+ /11.5ppm			小麦、落花生、甲殻類 (えび)、そば
64	カップヌードル	—					卵		
65	ハム		—	—		—		乳、小麦、甲殻類 (えび・かに)	
66* ²	魚肉ソーセージ	+ /11.2ppm	—	+ /48.5ppm		- /<1.0ppm			卵、乳、小麦
67	サラミ			—					小麦
68	ポタージュ	—					卵		
69	ココナッツ		—						乳
70* ³	かまぼこ		—	+ /2.2ppm		+ /<1.0ppm		乳、小麦	
71	スープ①	—	- /<1.0ppm	+ /ND				卵、乳、小麦	
72	スープ②	—				—		卵、甲殻類 (えび)	
73	たこ焼き					—			甲殻類 (えび・かに)
74	ベーコン			—	—	—			小麦
75	パン				—			落花生	
76	レモン飲料	—						卵	

*¹ イムノクロマトの判定結果 / ELISA 測定結果

*² 本品の原材料に使用している魚は、えび・かにを食べている場合があります。

*³ 原材料の魚はえび、かにを食べています。

ND:<0.1ppm

については欄外表記による注意喚起を徹底し、消費者に情報提供することが健康危害防止に重要であると思われる。さらに完全に含まれていないことが社会的あるいは科学的に判断可能な場合には、原材料表示はしないことが、アレルギー患者にとって安全かつ安心して食品を選択することにつながると考えられる。

5. まとめ

欄外注意喚起表記のある市販加工食品 76 試料を購入し、イムノクロマトのキットを用い、特定原材料 7 種の含有の有無を定性的に判定した。さらに ELISA のキットを用いて定量を行い、欄外注意喚起表記アレルゲンについて表記と実際の含量について調査した。76 試料の内、イムノクロマト法で陽性の判定がみられたのは 10 試料 (13%) で、小麦が 6 試料と最も多く検出された。ELISA 法で検出されたのは 5 試料 (7%) で 1.2ppm ~ 48.5ppm と広範囲検出された。なお、1 ppm 未満検出試料の 16 試料を含めると 21 試料 (27%) から検出された。

本研究により、欄外注意喚起表記のある食品の約 1 割以上から食物アレルゲンが検出され、最大 48.5ppm と多量含まれているものもであると判明した。これらのことから、欄外注意喚起表記による食物アレルゲンの注意喚起はアレルギー患者の健康危害防止の情報として有効であると考えられた。

謝辞

本論文の作成に当たりご校閲頂きました、国立医薬品食品衛生研究所の穂山浩部長に深謝いたします。

引用文献

- 1) 垣田達哉 (2005) : わかる食品表示 [基礎と Q & A]、(株)商業会。
- 2) 消費者庁のアレルギー表示行政関係の通知。
<http://www.caa.go.jp/foods/index8.html>
- 3) 厚生労働省ホームページ : アレルギー物質を含む食品の表示に関する表示について。
<http://www.mhlw.go.jp/topics/0103/tp0329-2b.html#b2>
- 4) Akiyama, H. Imai, T. Ebisawa, M. Japan Food Allergen Labeling Regulation-History and Evaluation, Adv.Food Nutr, Res, 62, 139-171 (2011).
- 5) 穂山浩、安達玲子、手島玲子、アレルゲン解析と検知法、ぶんせき、8, 397-404 (2010)。