いかフライからの表示にないアレルゲン(卵)の検出事例

白川綾乃 高山清子 鈴木郷 木下和昭 恒益知宏 松川浩子 1) 落合克紀

Detection of Egg Allergens in Fried Squid without Labeling Egg Allergen

Shirakawa Ayano, Takayama Kiyoko, Suzuki Go, Kishita Kazuaki, Tsunemasu Tomohiro, Matsukawa Hiroko, Ochiai Katsunori

要旨

本県では、2013 (平成25) 年度から県内で製造、加工又は販売する加工食品に含まれる特定原材料の 検査を実施している.

2022 (令和 4) 年 6 月に収去した惣菜のいかフライについてスクリーニング検査を実施したところ,表示にない「卵」の陽性結果が得られた.これを踏まえ,いかフライのほか,その半製品である中国原産の冷凍イカフライについてもスクリーニング検査及び確認検査を実施したところ,いずれも表示にない「卵」の陽性結果が得られた.

この結果を受けて、県外の自治体に対し冷凍イカフライの製造所等へ調査を依頼したところ、中国の製造施設において卵を使用していることが分かり、自主回収に繋がった.

キーワード:食物アレルギー、食品表示、特定原材料、ELISA法、ウエスタンブロット法

はじめに

食物アレルギーとは、食物を摂取した際、食物に含まれるたんぱく質等(アレルゲン)を異物として認識し、自分の身体を過剰に防御することで不利益な症状を起こすことをいう¹⁾.

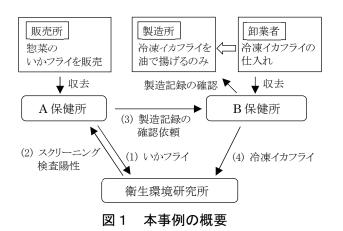
食物アレルギーによる健康危害の発生を防止する観点から、2001 (平成13)年にアレルゲンを含む食品の表示制度が創設された.制度開始からこれまでに、食物アレルギーの実態に合わせた制度の見直しが行われており、現在では、特定原材料として8品目(えび、かに、くるみ、小麦、そば、卵、乳、落花生)の表示が義務化され、特定原材料に準じるものとして20品目の表示が推奨されている20.

こうした背景の下、表示が適切であるかを確認するため、本県では 2013 (平成 25) 年度から県内で製造、加工又は販売する加工食品に含まれる特定原材料の検査を実施してきた.

アレルゲンを含む食品の検査方法は消費者庁の 通知 3)により示されており、まず、ELISA 法によるスクリーニング検査を実施する. 結果が陽性であった場合は、製造記録の確認を行った上で、必要に応じ、ウエスタンブロット法(卵、乳)や PCR 法(えび、かに、小麦、そば、落花生)等により確認検査を実施することとなっている.

2022 (令和 4) 年 6 月に、県内 A 保健所が収去した食品を対象に検査を実施したところ、県内の製造所で製造された惣菜(以下「いかフライ」という。)から、スクリーニング検査で原材料表示にない「卵」の陽性結果が得られた。そのため、当製造所を管轄する県内 B 保健所へ製造記録の確認依頼を行ったところ、当製造所では、加熱前の半製品(以下「冷凍イカフライ」という。)を仕入れて油で揚げているのみであり、当製造所にて卵が混入した可能性は低い、との回答があった。これを踏まえ、いかフライの確認検査を実施し、併せ

て、原因究明のため仕入れた冷凍イカフライのス クリーニング検査及び確認検査を実施したので、 その結果を報告する(図1).



対象

A及びB保健所から収去された,いかフライ1 検体及び冷凍イカフライ1検体を試料とした.

なお,いずれの検体にも原材料表示に「卵」の 記載はなかった.

方法

1 試薬

一連の検査には,以下の試薬を使用した。

- 1) スクリーニング検査(ELISA法)
 - a) ELISA キット: FASTKIT エライザ Ver. Ⅲ卵 (日本ハム株式会社製) (以下「Nキット」)
 - b) ELISA キット: モリナガ FASPEK エライザ II 卵 (卵白アルブミン) (株式会社森永 生科学研究所製) (以下「M キット」)
- 2) 確認検査(ウエスタンブロット法)
 - a) ウエスタンブロットキット: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) (株式会社森永生科学研究 所製) (以下「アルブミンキット」)
 - b) ローディング緩衝液: Laemmli Sample Buffer (バイオ・ラッドラボラトリーズ株 式会社製)
 - c) ポリアクリルアミドゲル: 12%ミニプロティアン TGX^{TM} プレキャストゲル (バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社製)

- d) 分子量スタンダード: DynaMarker Protein MultiColor Stable II (株式会社バ イオダイナミクス研究所製)
- e) 泳動用緩衝液: 10×Tris/Glycine/SDS (バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社製)
- f) 転写膜: Amersham Hybond P PVDF 0.45 (GE ヘルスケア・ジャパン株式会社製)
- g) 転写用ろ紙:ブロットアブソーベントフィルター極厚(バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社製)
- h) 転写用緩衝液: 10×Tris/Glycine (バイオ・ ラッドラボラトリーズ株式会社製)
- i) 洗浄液: 10×TBS (バイオ・ラッドラボラ トリーズ株式会社製)
- j) ブロッキング試薬: ウシ血清由来アルブミン (Sigma-Aldrich Co. LLC 製)
- k) 二次抗体キット: VECTASTAIN ABC-AP Rabbit IgG Kit(VECTOR Laboratories. INC 製)
- l) 検出試薬: Alkaline Phosphatase Substrate Kit IV<BCIP/NBT>(VECTOR Laboratories. INC製)

2 機器

一連の検査には、以下の機器を使用した.

- 1) スクリーニング検査(ELISA 法)
 - a) 粉砕機:グラインドミックス GM200 (株式会社レッチェ製), MK-K61 (パナソニック社製)
 - b) 振とう機:ダブルシェーカーNR-30 (タイ テック株式会社製)
 - c) 恒温器: MIR-153 (三洋電機株式会社製)
 - d) 高速冷却遠心機: KUBOTA5922 (久保田商事株式会社製)
 - e) マイクロプレートウォッシャー:
 WellwashELISA用マイクロプレートウォッシャ(サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社製), ImmunoWash 1575 マイクロプレートウォッシャー(バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社製)
 - f) マイクロプレートリーダー:iMark™マイ クロプレートリーダー(バイオ・ラッドラ ボラトリーズ株式会社製)

- 2) 確認検査(ウエスタンブロット法)
 - a) 電気泳動装置:ミニプロティアン Tetra セル (バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会 社製)
 - b) 電源装置:パワーパック TMHC (バイオ・ ラッドラボラトリーズ株式会社製)
 - c) 転写装置: トランスブロット®SD セミドラ イ電気泳動転写セル (バイオ・ラッドラボ ラトリーズ株式会社製)

3 手順

スクリーニング検査及び確認検査の手順は通知法 3に従った. すなわち, スクリーニング検査は特性の異なる前述の 2 種類のキットを用いて ELISA 法により実施した.

また,確認検査は,前述のキットを用いてウエスタンブロット法により実施した.

4 判定

スクリーニング検査及び確認検査の判定は通知法 3)に従った. すなわち, スクリーニング検査では2種類のキットのうち, どちらか一方または両方のキットで, 卵由来タンパク質を 10 μg/g 以上検出したものを陽性と判定した. 確認検査では, 卵白アルブミンの分子量 (M.W. 50,000) 付近に明瞭なバンドを検出したものを陽性とした.

結果

1 スクリーニング検査(ELISA法)

いかフライ及び冷凍イカフライを対象に、Nキット及びMキットで検査を行ったところ、いずれも卵由来タンパク質が $20~\mu g/g$ 以上検出され、陽性であった(表 1).

表 1 スクリーニング検査(ELISA法)結果

試料 -	卵由来タンパク質(μg/g)		- 判定
	N キット	M キット	刊足
いかフライ	>20	>20	陽性
冷凍イカフライ	>20	>20	陽性

2 確認検査(ウエスタンブロット法) いかフライ及び冷凍イカフライを対象に、アル

ブミンキットで検査を行ったところ,いずれも卵 白アルブミンの分子量付近にバンドが検出され, 陽性であった(図2).

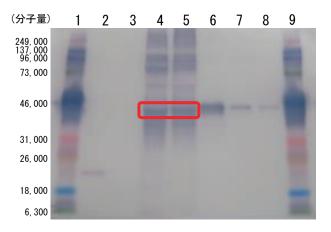


図2 ウエスタンブロット (卵白アルブミン) のポリアクリルアミドゲル電気泳動像

1,9: 分子量マーカー 2: 陰性検体

3: ブランク 4: いかフライ

5: 冷凍イカフライ

6: 標準物質 10 μg/g 7: 標準物質 1.0 μg/g

8: 標準物質 0.5 μg/g

考察

スクリーニング検査及び確認検査の結果,いかフライ及び冷凍イカフライのいずれからも「卵」の陽性結果が確認された.冷凍イカフライから陽性の結果が得られたため,製造の上流工程である冷凍イカフライの製造施設での混入が推測された.食品表示を確認したところ,原産国は中国であり,輸入者が県外であったため,輸入者を管轄する県外の自治体に対し,製造施設等への調査依頼を行った.

調査の結果,冷凍イカフライは中国の製造施設にて製造されており,輸入後に卸業者を経由して B保健所管内の製造所に納入されていた.さらに, 中国の製造施設において卵を使用していたことも 分かった.

表示欠落の原因は、原料に卵を使用する変更がなされていたものの、中国の製造施設の担当者にその変更が伝わっておらず、表示の修正を行っていなかったためであった。その後、全国的に出荷されていた表示未修正の製品は輸入者により自主回収され、消費者が喫食するおそれはなくなった。

まとめ

消費者庁の調査事業によると、全国での即時型食物アレルギーによる健康被害のうち、食品表示ミスによる誤食の割合は、2014年では3.0%4、2017年では2.6%5、2020年では2.5%となっており、食品表示法で食物アレルギーが管理されているにも関わらず、表示ミスによる誤食は経年的に減少していない6、今回の検査からも、本県で製造、販売された食品において、特定原材料表示が適切でない事例があることが明らかとなった、以上のことから、食物アレルギーによる健康危害の発生を防止するため、今後も特定原材料検査を継続的に実施する必要がある.

今回は、最終の製造工程を行う製造所での混入が直接的な原因ではなく、仕入れた半製品の表示ミスによりアレルゲンが陽性となったケースであった。そのため、今後も保健所や関係機関と連携し、適切な検査を行うことで、製造から販売まで一貫した適切な表示制度の運用に繋げたい。

また、今回の事例は確認検査が必要なケースであり、最終的な結果が出るまでに一週間以上の期間を要した。惣菜等の一部の食品は喫食されるまでの期間が短く、速やかに検査結果を出す必要がある。このことから、特定原材料検査の技術向上

に貢献するため、次年度より、LC-MS/MSを用いて、アレルゲン由来のペプチドをターゲットにした、迅速で精度の高い一斉分析の開発に取り組む予定である.

文献

- 1) 消費者庁. 食物アレルギー表示に関する情報. https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_lab eling/food_sanitation/allergy/ (2023 年 6 月 27 日アクセス可能)
- 2) 消費者庁次長通知.「食品表示基準について」 の一部改正について. 令和5年3月9日消食表 第102号.
- 3) 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.
- 4) 消費者庁. 平成 27 年度食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書. 2016
- 5) 独立行政法人国立病院機構相模原病院. 平成 30 年度食物アレルギーに関連する食品表示に 関する調査研究事業報告書.
- 6) 消費者庁. 令和3年度食物アレルギーに関連 する食品表示に関する調査研究事業報告書. 2022