

4. 群馬県に流通する加工食品に含まれるアレルギー「くるみ」の実態調査

- 永井裕美 (群馬県食品安全検査センター)
- 大島裕之 (群馬県食品安全検査センター)
- 齋藤美香 (旧所属：群馬県食品安全検査センター 現所属：利根沼田保健福祉事務所)
- 茂木芳美 (群馬県食品安全検査センター)
- 中村泰三 (群馬県食品安全検査センター)
- 丸山章代 (旧所属：群馬県食品安全検査センター 現所属：利根沼田保健福祉事務所)

【研究目的】

近年、食物アレルギーのある人の増加が報告されており、その中でも「くるみ」アレルギーの著しい増加が指摘されている¹⁾。群馬県では食物アレルギー対策を重点課題とし、食品によるアレルギー事故を防止するため、アレルギー検査（特定原材料）に加え、検査拡充の検討（特定原材料に準ずるもの）等を実施している。そこで、本研究では県内で流通する加工食品に含まれるアレルギー「くるみ」の実態を明らかにすることを目的とする。

【研究の必要性】

群馬県では、本県の食品安全基本計画において食物アレルギー対策を重点課題としている。当所では特定原材料 7 品目の取去によるアレルギー検査実施だけでなく、特定原材料に準ずる 21 品目についても検査に対応できるよう、検査項目数の拡充を目指している。

平成 29 年の消費者庁による調査¹⁾では、食物アレルギーのある人が前回調査（平成 27 年）より増加していることが示されているが、その中でも特に「くるみ」アレルギーの著しい増加が指摘されている。「くるみ」は特定原材料に準ずるものであり、アレルギー表示は義務ではないが、近年の「くるみ」アレルギー急増に伴い、消費者庁において表示義務化が検討されている²⁾（「くるみ」は令和 5 年 3 月 9 日の食品表示基準改正で特定原材料に追加され、アレルギー表示が義務化された³⁾）。

そこで、本研究では、群馬県における食物アレルギー対策の強化を図るため、県内に流通する加工食品に含まれるアレルギー「くるみ」の実態を調査する。

【研究計画】

1. 検査に供する加工食品

「くるみ」アレルギーに関する文献等を参考に対象食品を選定し、群馬県内の販売店で、「くるみ」のアレルギー表示のない検体、「くるみ」の注意喚起表示のある検体及び「くるみ」の原材料表示のある検体を購入する。

2. アレルゲン検査

食品から DNA を抽出し、食品に含まれるアレルゲン「くるみ」を定性 PCR 法で検出する。アレルゲン「くるみ」の検出に使用するプライマー対は、オリエンタル酵母工業株式会社から市販されているアレルゲン「くるみ」特異的プライマー対（アレルゲンチェッカー®「くるみ」）及び「植物共通」プライマー対（アレルゲンチェッカー®「植物共通」）とする。

3. まとめ

「くるみ」を含む加工食品や混入のある加工食品を把握し、消費者や製造業者への啓発や、経過措置期間以降に実施予定である収去検査のための参考データとする。

【実施内容・結果】

1. 検査に供する加工食品

令和4年11月から令和5年8月にかけて、群馬県内の販売店で「くるみ」のアレルギー表示のない加工食品（21検体）、注意喚起表示のある加工食品（10検体）、原材料表示のある加工食品（5検体）を購入した。購入品目の内訳は、クッキー9検体、シリアル6検体、焼き菓子13検体、チョコレート7検体、和菓子1検体であった。輸入品は5検体で、注意喚起4検体（焼き菓子2検体、シリアル・チョコレート各1検体）、表示なし1検体（チョコレート）であり、輸出元はイギリス、フランス、ベルギー、ポーランドのくるみ（ナッツ類）のアレルギー表示が義務化されている国であった⁴⁾。

2. アレルゲン検査

購入した加工食品を1包装全量粉碎し、イオン交換樹脂タイプキット（QIAGEN社製 Genomic-Tip 20/G）を用いて各検体2併行でDNAの抽出を行った。オリエンタル酵母工業（株）製「植物共通」及び「くるみ」特異的プライマー（アレルゲンチェッカー®「植物共通」及び「くるみ」）を用いてPCR増幅を行い、「植物共通」（124 bp）及び「くるみ」（120 bp）の両方でバンドが確認できた検体を陽性とした。PCR増幅はプライマーの添付文書記載の反応条件で実施し、PCR増幅装置はTaKaRa PCR Thermal Cycler Dice TP650（タカラバイオ（株）製）を使用した。PCR反応試薬は「植物共通」プライマーではAmpliTaq Gold&10×PCR Buffer II（アプライドバイオシステム社製）を用いた。当初、「植物共通」プライマーと同様の試薬で「くるみ」特異的プライマーのPCR増幅を実施したが、プライマー付属陽性テンプレートのバンドが検出できなかった。製造元であるオリエンタル酵母工業（株）に相談しTaKaRa ExTaq（タカラバイオ（株）製）に変更したが、プライマーダイマーの形成が認められたため、ホットスタートPCR酵素であるTaKaRa ExTaq HotStart Version（タカラバイオ（株）

製)に変更した。TaKaRa ExTaq HotStart Version を用いて実施した結果、陽性テンプレートの増幅バンドを検出し、プライマーダイマーの形成も認められなかったので(図1)、「くるみ」特異的プライマーは TaKaRa ExTaq HotStart Version を用いて検体のPCR増幅を行うこととした。

3. 結果

群馬県内で購入した加工食品を定性PCR法にて検査した結果を表1に示した。「くるみ」の原材料表示のある5検体で「くるみ」陽性であった。「くるみ」の注意喚起表示のある10検体及び「くるみ」の表示のない21検体は全て陰性であった。

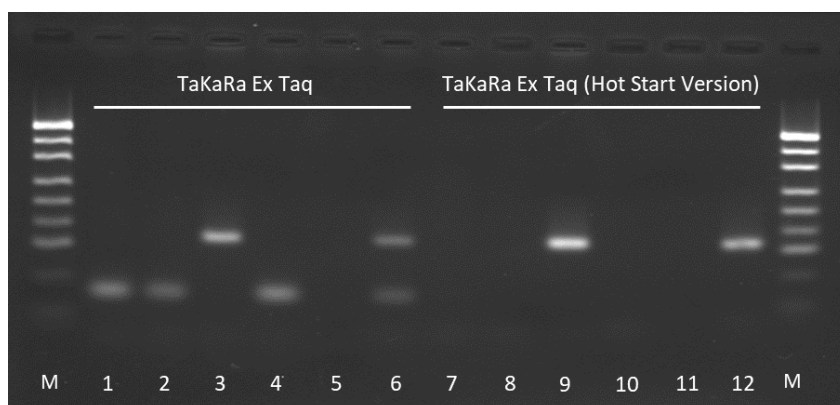


図1. アレルゲンチェッカー®「くるみ」(「くるみ」特異的プライマー対)を用いたPCRにおけるTaKaRa Ex TaqとTaKaRa Ex Taq HotStart Versionの比較。

M: 分子量マーカー (pUC19/Mspl digest)、1・2・7・8: 「くるみ」表示なし検体、3・9: くるみ、4・10: 陰性コントロール (テンプレートなし)、5・11: 陰性コントロール (プライマー対なし)、6・12: くるみ陽性コントロールテンプレート

表1. 群馬県内の販売店で購入した加工食品(36検体)のアレルゲンチェッカー®「くるみ」(「くるみ」特異的プライマー対)を用いたPCR結果

検査検体	検体数	結果
<i>「くるみ」の原材料表示あり</i>		
クッキー	2	+
シリアル	1	+
焼き菓子	1	+
和菓子	1	+
<i>「くるみ」の注意喚起表示あり</i>		
クッキー	2	-
シリアル	3	-
焼き菓子	3	-
チョコレート	2	-
<i>「くるみ」の表示なし</i>		
クッキー	5	-
シリアル	2	-
焼き菓子	9	-
チョコレート	5	-

【考察と今後の課題】

1. 考察

今回の実態調査では、くるみが菓子類に多く使われていることからクッキーやチョコレートなどの菓子類を対象として調査を行った。検体はくるみが特定原材料に追加される前に購入した食品もあったが、国内産の食品にはくるみの注意喚起表示などアレルギー表示のある食品は少なく、注意喚起表示はナッツ類（くるみを含む）のアレルギー表示が義務化されている EU 各国からの輸入品に多くみられた。日本では、令和 5 年 3 月 9 日の食品表示基準の改正でくるみが特定原材料に追加され、アレルギー表示が義務化された。令和 7 年 3 月までが経過措置期間であり、今後くるみのアレルギー表示がされた食品が増えてくると考えている。

群馬県内に販売されていた加工食品 36 検体中のアレルゲン「くるみ」の混入について調査したが、原材料表示のある 5 検体のみ陽性だった。陽性となった原材料表示のある 5 検体は全てくるみが塊のまま使用され、目視でくるみが見られていることがわかる食品だった。くるみのアレルギー表示が義務化される前に購入した検体もあり、表示のない検体からくるみが検出される可能性を考えていたが、本実態調査では全て表示どおりの結果となった。また、注意喚起表示は意図しない混入の恐れのある場合に表示することが望ましいとされているが⁵⁾、今回調査した注意喚起表示ありの 10 検体は全て陰性であった。陰性だった理由として、製造過程でのくるみの混入がなかったことや混入した量が定性 PCR 法の検出下限以下の微量であったことが考えられるが、加工処理による DNA 分解や加工食品中のほかの成分による PCR 阻害が指摘されており⁶⁾、食品の加工度や使用されている原材料によって DNA 収量や PCR 効率に影響し、正確にくるみの混入を検出できなかった可能性も考えられる。

2. 今後の課題

本実態調査は、くるみが特定原材料に追加される前に計画、開始したため消費者庁事務連絡「アレルゲンを含む食品の検査方法について（参考）」（令和 5 年 3 月 9 日）に記載されている検査方法（以下「通知法」）ではなく、通知法が制定される前に市販されていたオリエンタル酵母工業株式会社製のアレルゲンチェッカー®「くるみ」（「くるみ」特異的プライマー）を用いた定性 PCR 法で調査を行った。通知法では、ELISA 法でのスクリーニング検査と、定性リアルタイム PCR 法又は PCR-核酸クロマト法での確認検査を行い、判定することになっている。上述のとおり今回実施した定性 PCR 法の結果だけでは偽陰性の検体がある可能性は否定できない。今後は今回調査した検体を通知法でも検査し、定性 PCR 法では検出できなかったくるみの混入の可能性をさらに調査することを検討したい。

当県では、これまで加工食品のアレルゲン「くるみ」に関する検査は未実施だったため、本実態調査で得られた結果は食物アレルギー対策に係る部署と共有し、経過措置期間後に実施予定の収去検査の参考とするなど県内の食物アレルギー対策の強化に努めることとする。

【参考文献】

- 1) 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. 消費者庁. 2019年5月.
- 2) 第2回食物アレルギー表示に関するアドバイザー会議議事録. 消費者庁. 2021年12月.
- 3) 令和5年3月9日内閣府令第15号.
- 4) Food Allergens - International Regulatory Chart. 2023年9月6日時点. Institute of Agriculture and Natural Resources.
- 5) 加工食品の食物アレルギー表示ハンドブック. 2023年3月. 消費者庁.
- 6) Inés María López-Calleja, Silvia de la Cruz, Isabel González, Teresa García, Rosario Martín. Market analysis of food products for detection of allergenic walnut (*Juglans regia*) and pecan (*Carya illinoensis*) by real-time PCR. Food Chem. 2015; 177: 111-119.

【経費使途明細】

使 途	金 額
食品	12,076 円
プライマー (アレルギーチェッカー®「植物共通」、「くるみ」)	209,000 円
PCR 試薬 (AmpliTaq Gold&Buffer II /MgCl ₂ /dNTP, 250U)	26,994 円
DNA 抽出試薬 (QIAGEN Genomic-Tip20/G、2-プロパノールなど)	51,183 円
振込手数料	792 円
合 計	300,045 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円