

[ノート]

## アレルギー発症の可能性のある加工食品原料についての前処理法の検討 —凍結乾燥の適用性—

後藤 操<sup>1\*</sup> 藤田 昌民<sup>2</sup> 三橋 隆夫<sup>1</sup>

### Study on Pretreatment of Potentially Allergenic Ingredients in Processed Food Products —Application of Freeze-Drying—

Misao GOTOU<sup>1\*</sup>, Masatami FUJITA<sup>2</sup> and Takao MITSUHASHI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Life Science Division, Public Health Science Research Center, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Consumer Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan, <sup>2</sup>Kato Health and welfare Office*

Because the processed foods (soba-meshi and sweet rolls) containing wheat as an ingredient could not be homogenized with a food processor in the screening test for allergenic substances, we considered the application of freeze-drying as pretreatment for homogenization of samples. The application of freeze-drying facilitated homogenization of the processed food models of soba-meshi and sweet rolls that contained egg as an allergenic substance. Moreover, 2 types of enzyme-linked immunoassay (ELISA) were used to measure concentrations of egg protein in freeze-dried and non-freeze-dried samples. The analytical results of egg protein concentration in the freeze-dried samples ranged from 85% to 119% of those in the non-freeze-dried samples. ELISA appeared to be minimally affected by the freeze-drying process. Furthermore, the efficiency of homogenization after freeze-drying was examined in 9 commercially available processed foods. The application of freeze-drying facilitated homogenization of commercial foods containing wheat or rice as an ingredient. Freeze-drying may be a useful procedure for homogenization of processed foods with viscoelastic properties.

#### I はじめに

食物アレルギーの患者は乳幼児から成人まで年代が幅広く、また症状は皮膚における湿疹、結膜充血、嘔吐、呼吸困難など多様であり、重症化するとアナフィラキシーショックにより死に至る場合もある<sup>1)</sup>。このような健

康危害を未然に防ぐため、厚生労働省は平成14年4月に、加工食品等に対し全ての流通段階で、卵、小麦、乳、そば、落花生の特定原材料5項目の表示を義務化し<sup>2)</sup>、平成20年6月には、えび、かこの2項目を追加した<sup>3)</sup>。これらに伴い、表示が適正かを検証する目的で検査法が通知され<sup>4,5)</sup>、兵庫県においても監視指導を目的に、平成16年から毎年、継続して検査を実施している。

厚生労働省が示した検査法では、特定原材料のタンパク質量を定量しており、ELISA法を採用し、あらゆる食品を対象としている。ただし、加工食品では、その種類が膨大であるため、前処理による均質化が困難なケース

<sup>1</sup>健康科学部 <sup>2</sup>現加東健康福祉事務所

\*別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29  
兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学研究センター  
健康科学部 後藤 操

もあり<sup>6)</sup>、対応が課題となっている。その一例として、我々は市販品の検査において、複合食品である「そばめし」など一部の食品で粉砕器による均質化が困難な経験をした。「そばめし」の場合、主原材料である小麦成分から生成されるグルテンの粘弾性が原因の一つと考えられ、脱水により均質化が容易になると想定された。しかし、加熱による脱水はタンパク質の構造変化などを引き起こし、ELISA法による測定値を大きく変化させる可能性がある<sup>6,8)</sup>。

そこで今回、均質化が困難であった「そばめし」および同じく小麦製品の菓子パンのモデル品を試作し、脱水方法としては食品へのダメージが比較的少ないと考えられる、凍結乾燥を前処理に利用することを検討した<sup>9)</sup>。また、弾性あるいは粘性の特徴を持ち、均質化が困難と想定された市販品を対象に、粉砕および混和における凍結乾燥の効果を検討したので併せて報告する。

## II 方法

### 1. 試料

1.1 モデル加工食品の原材料および凍結乾燥による均質化の検討に用いた加工食品は市販品を使用した。

1.2 特定原材料として卵を指標とし市販品を用いた。卵は凍結乾燥して粉体とし（以下、卵粉末とする）、小分け分注後、使用時まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。

1.3 モデル加工食品は以下のように調製した。

中華めん：小麦粉、かん水、塩および水に卵粉末を添加し中華めんを調製した。卵粉末は中華めん750gに対し51mg添加した。

そばめし：上記の中華めんを沸騰水で5分間茹でた、茹で中華めん30gに白飯、豚肉、野菜（キャベツ、ニンジン、ネギ）を加えてそばめし150gを調製した。

菓子パン：小麦粉、砂糖、水、バター、ショートニング、脱脂粉乳、塩、イースト、シロップ、ジャム、オレンジおよびドライフルーツ（レーズン）に卵粉末を添加し、オーブンで $210^{\circ}\text{C}$ 、14分間焼成し菓子パン（スイートパン）を調製した。原材料845gに対し卵粉末103mgを添加した。

### 2. 試薬

卵タンパク質の定量には、(株)森永生科学研究所製FASPEK特定原材料測定キット[卵白アルブミン]（以下、M法とする）および日本ハム(株)製FASTKITエライザVer. II[卵キット]（以下、N法とする）を用いた。

両キットは、バリデーション結果が通知に示された「アレルギー物質を含む食品の検査方法を評価するガイドライン」の基準を満たしていた<sup>5)</sup>。

### 3. 機器

粉砕器：GM200（(株)レッチェ製）、恒温器：IN602W（ヤマト科学株式会社製）、振とう器：NR-30（タイテック株式会社製）、凍結乾燥器：MBM-6（宮川科学資材株式会社製）、遠心器：CF16RX（日立工機株式会社製）、プレートリーダー：MultiskanJX（サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社製）を用いた。

### 4. 試料の凍結乾燥条件

各試料の全量をそれぞれステンレス容器に秤取し、冷凍庫において $-23^{\circ}\text{C}$ で予備凍結した後、 $-50^{\circ}\text{C}$ で凍結乾燥を行った。

### 5. 試料の粉砕条件および混和

試料の粉砕・混和は、粉砕器を用いて5,000rpmから7,000rpm、10秒から20秒の動作条件の範囲で行った。

### 6. ELISAの測定条件

ELISAは各キットのマニュアルに従って行い、吸光度はプレートリーダーを用いて主波長450nm、副波長630nmで測定した。

### 7. 測定用試料溶液の調製

均質試料1gをポリプロピレン製50mL遠心管に分取し、キット付属の濃縮抽出用緩衝液から希釈調製した抽出用緩衝液19mLを加え、ミキサーで試料を分散させた後、 $23^{\circ}\text{C}$ に設定した恒温器内で振とう器により16時間振とうした。混合液を $3,000\times\text{g}$ で20分間( $25^{\circ}\text{C}$ )遠心分離し、上清を5A濾紙で濾過し測定用試料溶液とした。なお、凍結乾燥試料については、凍結乾燥前の重量が1gに相当する量を供した。

## III 結果および考察

### 1. モデル加工食品における凍結乾燥の効果

モデル加工食品である「そばめし」および菓子パン、さらに、「そばめし」の基本材料である茹で中華めんについて粉砕器を用いて均質化を試みた。その結果、凍結乾燥を行わなかった場合に、茹で中華めんは粉砕の初期段階で粉砕器の壁に付着したが、容易に分散し混和できた。菓子パンは団子状となり分散および混和は困難であったが、粉砕の動作条件を変えることで均質化できた。しか

し、「そばめし」は粉碎を開始して数秒程度で一つの塊となり、機器に大きな負荷があり、粉碎を継続することができなかった。一方、凍結乾燥を行った場合には、いずれの試料も粘弾性が消失し、短時間で容易に粉碎でき均質化が可能であった。

Table 1 The analytical results of egg protein content in the boil-noodles

Samples	ELISA <sup>b)</sup> methods	Protein content <sup>a)</sup>		
		Non-freeze-drying	Freeze-drying	Ratio <sup>c)</sup>
		(μg/g)		(%)
Boil-noodles	M	6.7	6.7	100
	N	7.8	7.9	102

a) n=1~4

b) M: Morinaga FASPEK ELISA kit (ovalbumin),  
N: Nihonhamu FASTKIT ELISA Ver. II kit (egg)

c) (Freeze-drying/Non-freeze-drying)×100

Table 2 The analytical results of egg protein content in the Soba-meshi models

Samples	ELISA methods	Protein content <sup>a)</sup>		
		Calculation value	Actual measurement value	Ratio <sup>b)</sup>
		(μg/g)		(%)
Soba-meshi	M	1.3	1.3	100
	N	1.6	1.9	119

a) n=4

b) (Actual measurement value/Calculation value)×100

Table 3 The analytical results of egg protein content in the sweet roll models

Samples	ELISA methods	Protein content <sup>a)</sup>		
		Non-freeze-drying	Freeze-drying	Ratio <sup>b)</sup>
		(μg/g)		(%)
Sweet roll	M	33.6	30.6	91.1
	N	45.5	38.8	85.3

a) n=2~3

b) (Freeze-drying/Non-freeze-drying)×100

## 2. 卵タンパク質測定値に対する凍結乾燥の影響

ELISA は測定対象のタンパク質の構造が変化すると不溶化による抽出効率の低下などが原因で、測定値も低下することがある。凍結乾燥は、物理化学的に比較的安定であるが、タンパク質の凝集により酵素活性が低下することも知られており<sup>10)</sup>、ELISA の測定値に影響を及ぼす可能性が考えられた。そこで、既知の卵粉末を添加した茹で中華めん、「そばめし」および菓子パンのモデル加工食品について、M 法および N 法の 2 種類の ELISA キットを用いて、凍結乾燥の有無により試料の卵タンパク質濃度を比較した。ただし、凍結乾燥を行わなかった「そばめし」は均質化できなかったため、基本材料である茹で中華めんの測定値から計算した理論値を用いた。

茹で中華めんでは、M 法および N 法による卵タンパク質濃度の測定値に凍結乾燥の有無による大きな差は認められなかった (Table 1)。「そばめし」は、茹で中華めんを全重量の 1/5 含んでいることから、「そばめし」の M 法における卵タンパク質濃度は、茹で中華めんの測定値が 6.7μg/g であることから 1.3μg/g と算出された。同様に N 法では茹で中華めんの測定値 7.9μg/g から計算し「そばめし」の理論値は 1.6μg/g となった (Table 2)。茹でめんの測定値から算出した「そばめし」の M 法および N 法の理論値は、凍結乾燥後の「そばめし」の測定値と同程度であり、凍結乾燥は ELISA による測定に影響を与えないことが確認できた。菓子パンについても両方法の測定値はほぼ同レベルであった (Table 3)。特定原材料検査で粉碎器による均質化が困難な加工食品に対しては、粉碎前に凍結する方法あるいは複合食品では各食品に分別して個々に測定するなど様々な対応がとられている<sup>11,12)</sup>。今回の検討結果から、凍結乾燥も均質な試料調製の手段の一つとして有用であると考えられる。

## 3. 市販加工食品の均質化における凍結乾燥の効果

弾性あるいは粘性の特徴を持ち均質化が困難と想定された市販の加工食品 9 品について、凍結乾燥による均質化を検討した (Table 4)。その結果、おかきや餅類など 8 品については、凍結乾燥処理により粉碎が容易となり均質化できた。

一方、キャンディの一種で弾性のあるグミについては、凍結乾燥を行った場合は、5mm 角程度のサイズまで細切できたが、さらなる粉碎作業にもかかわらず形状は変化せず均質な状態に至らなかった。検討に供したグミは、比較的水分値の低いハードタイプであった。そのため、凍結乾燥による脱水の効果が少なかったと考えられるが、均質化に至らなかったことについては、シロップ、ゼラチンなど配合成分が影響している可能性も考えられた。

Table 4 Effects of freeze-drying on homogenization for commercial foods

Samples		Homogenizing <sup>a)</sup>
Bread and bun	Sweet roll	+
Noodle	Korean cold noodles	+
Composite foods	Soba-meshi	+
Rice-cake sweets	Daifuku	+
	Monaka	+
	Gyuhi with Anko	+
Rice cracker	Yubeshi	+
	Nure-mochi	+
Candy	Gummi candy	-

a) +: possible, -: impossible

以上の結果から、凍結乾燥は弾性および粘性の特徴を持つ市販の加工食品に対し、その脱水作用により均質化を容易にした。一方、凍結乾燥の効果が認められないケース（グミ）もあり、さらなる検討が必要と考えられた。

#### IV 結論

小麦が主原材料で均質化できなかった加工食品のモデル品を作製し、前処理に凍結乾燥の適用性を検討した。その結果、均質化が容易となり ELISA の測定に影響しないと考えられた。

また、均質化が困難と想定された市販品を対象に凍結乾燥を試みたところ、小麦および米を主原材料とする 8 品目には、粉碎および混和が容易となった。

多種多様な加工食品が特定原材料検査の対象とされている中で、検査法が、より多くの食品に適応できることが重要であることから、さらなるデータ蓄積が必要であると考えられる。

#### 文 献

- 1) 海老澤元宏:食物アレルギー関連の最近のガイドラインの進歩(食物アレルギー患者への対応). アレルギー, **60**, 551-558 (2011)
- 2) 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
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:食品衛生法施行規則の一部を改正する省令の施行について,平成20年6月3日,食安発第0603001号
- 4) 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,食安発第1106001号
- 5) 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
- 6) 穂山浩:食品中のアレルギー物質検出試験法について(特定原材料検出法について).日本小児アレルギー学会誌, **17**, 23-30 (2003)
- 7) 渡邊裕子,赤星千絵,濟田清隆,関戸晴子,橋口成喜,渡部健二郎,田中幸生:特定原材料検査(卵・乳)における新・旧検査方法の比較.食衛誌, **52**, 71-77 (2011)
- 8) 伊藤節子:調理・加熱による食品中のアレルゲンの変化.臨床免疫・アレルギー科, **51**, 383-389 (2009)
- 9) 百瀬孝夫:食品の凍結乾燥と新素材.食品素材の開発, p.250-269, (株)シーエムシー,東京 (1987)
- 10) 伊豆津健一:凍結乾燥によるタンパク質の構造変化と添加剤による安定化.低温生物工学会誌, **49**, 47-53 (2003)
- 11) 松本ひろ子,荻野賀世,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.東京健安研七報, **55**, 127-132 (2004)
- 12) 下井俊子,観公子,井部明広:食品中の特定原材料検査(卵,乳,小麦)検査事例—平成18年度—.東京健安研七報, **58**, 205-208 (2007)

[平成25年3月21日受理]