

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：44101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K02266

研究課題名（和文）給食施設での粉体食物アレルギーの飛散特性の解析と混入防止対策

研究課題名（英文）Analysis of dispersal characteristics of powdered food allergens in food service facilities and measures to prevent contamination

研究代表者

橋本 博行 (hashimoto, hiroyuki)

三重短期大学・その他部局等・教授

研究者番号：70442291

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、食物アレルギーの原因となる粉体食品のスキムミルク、粉ミルク、小麦粉、きな粉、そば粉について、シャーレ・イムノクロマト法による落下飛散実験を行った。その結果、スキムミルクの飛散性が最も高く、そば粉、粉ミルク、小麦粉、そしてきな粉の順であった。レーザー光による飛散粒子の可視化によっても同様な飛散パターンが確認された。粉体工学的な特性値である真密度、粒子径分布、走査電子顕微鏡画像、分散度、通気指標の各データと、落下飛散実験における飛散特性の結果との関連性を解析した結果、分散度の値が粒子の飛散特性を予測するために重要な指標になると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、食物アレルギーの調理時の混入防止において、ほとんど報告がない飛散性を有する食物アレルギーである粉体食品の飛散特性について、著者が2017年に報告した小麦粉以外のスキムミルク、粉ミルク、小麦粉、きな粉、そば粉について明らかにすることができた。また、同時に測定した各粉体食品の粉体工学的な特性値のうち、分散度の測定により、新規の粉体アレルギーの飛散性のリスクを予想することが可能であると考えられる。したがって、給食施設等での食物アレルギーの衛生管理において、飛散性を有する食物アレルギーのリスク評価に関する重要な知見が得られたと考えている。

研究成果の概要（英文）：This study conducted drop-scattering experiments using the Petri dish immunochromatography method on skim milk, powdered milk, wheat flour, soybean flour, and buckwheat flour, which are powdered foods that cause food allergies. The results showed that skim milk had the highest dispersibility, followed by buckwheat flour, powdered milk, wheat flour, and soybean flour. Visualization of the dispersed particles by laser light also confirmed a similar dispersal pattern. Analysis of the relationship between the powder engineering characteristic values of true density, particle size distribution, scanning electron microscope image, degree of dispersion, and airflow index, and the results of the dispersal characteristics in the drop dispersal experiments suggested that the value of dispersion is an important indicator for predicting particle dispersal characteristics.

研究分野：食品学、食品衛生学

キーワード：食物アレルギー 粉体食品 飛散性 給食施設 可視化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

学校給食等の集団給食施設において、食物アレルギーを有する児童や生徒のために、食物アレルギー対応食として除去食や代替食の提供が行われている。しかし、食物アレルギー対応食に除去対象の食物アレルゲンの混入が起これば、食物アレルギーの事故が発生するリスクが生じる。これまで、学校給食等の食物アレルギー事故の発生を防止するため、各自治体の教育委員会等より、食物アレルギーの事故防止のための対応マニュアルが作成され整備されている。

しかし、それらのマニュアルでは、児童や生徒の食物アレルギーの確認作業、給食施設での除去食等の管理方法、そして提供時の間違い防止等のヒューマンエラー防止の観点からの記載が中心である。一方、給食提供における食物アレルゲンの混入に関する具体的な知見を示した論文はほとんど発表されていない。調理過程等における食物アレルゲンの意図しない混入の要因の一つとして、小麦粉等の食品の飛散による混入が挙げられ、筆者らは、これまでに、食物アレルギーの原因となる小麦粉のふるい操作の調理過程において、小麦粉粒子の飛散特性を明らかにし、飛散防止のための対策の提案を行った。本研究は、小麦粉を含めた飛散性のある粉体食品(スキムミルク、粉ミルク、小麦粉、きな粉、そば粉)の食物アレルゲンが、どのように飛散するか、また飛散性にかかわる粉体工学的な指標はなにかということに関する研究である。

### 2. 研究の目的

本研究は、食物アレルギーの原因となる粉体食品(スキムミルク、粉ミルク、小麦粉、きな粉、そば粉)について、明らかになっていない各粉体食品の食物アレルゲンの飛散特性について、落下・飛散法によりシャーレを使用して各アレルゲンの飛散距離を測定する。また、レーザー光による飛散している各粒子を可視化することにより飛散の状況を確認する。落下時の各粉体食品の飛散性と各食品の粉体工学的な特性値との関連性を解析し、粉体アレルゲンのアレルギー対応食への混入リスクを評価することを目的としている。

### 3. 研究の方法

- (1) 試料：スキムミルク、粉ミルク、小麦粉、きな粉、そば粉は市販品を賞味期限内に用いた。
- (2) 各粉体食品のアレルゲンの飛散距離の測定：落下実験の室内条件は風速は 0.10 m/s 以下になるように、室内の通気口をすべて締め切り、温度 20~25、相対湿度 40~60%の範囲内に調整した実験室で行った。各粉体食品の落下飛散実験は、各粉体食品を円筒形のアルミカップ(内径 77 mm、深さ 77 mm)に 50g 入れ、カップの底面を平板(910×30×9 mm)の先端部に両面テープで固定した。粉体の落下は、高さ 1.2 m の高さに上げ、1~2 秒でカップを反転させ実験台の指定の位置に落下させた。飛散した各アレルゲンの捕集方法は、2 mL の 0.9%塩化ナトリウム水溶液を加え、蓋をしたプラスチックシャーレを、落下の中心点から 0.5、1、2、3、4、5 m の位置に設置した。各シャーレの蓋の開閉は、落下の直前に開けて、5 分経過後閉ることによりシャーレ中に落下した各アレルゲンを捕集した。
- (3) アレルゲンのシャーレ-イムノクロマト法ならびに ELISA 法による検出：シャーレから回収した塩化ナトリウム水溶液に対して、FASTKIT スリム乳(日本ハム株式会社)等を使用して乳、小麦、大豆、そばのアレルゲンの有無を定性的に確認した。結果の判定は、テストラインについて、目視できないものを陰性(-)、コントロールラインの濃さよりも薄いものを弱陽性(+W; +weak)、同程度の濃さのものを陽性(+)と判定した。ELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)法によるシャーレ捕集液から各タンパク質の検出は、複合抗原認識抗体を用いた日本ハム(株)製の「FASTKIT エライザ Ver. 小麦」を使用して定量した(測定範囲は 0.78~50 ng/mL)。
- (4) 落下飛散粒子の追跡：各粉体食品の飛散状況の追跡については粉体食品の可視化レーザー光の照射と撮影を行った。可視化用レーザーシート光源は、PIV Laser G2000(レーザー発振部 LD 励起 YVO 4 レーザー、発振波長 532 nm, 2W)を使用して、照射位置に 45 度のシート状レーザー光を照射した。散乱光の撮影は、レーザーシート面に対して垂直方向の約 7 m 先から、CCD 高速ビデオカメラ(フレームレート 15 fps、画素数 1280×1024 pixels)で、1 秒間に 15 枚の画像を 60 秒間撮影した。落下試験の画像データ処理については、撮影した画像を 10 秒ごとに分けてデータ処理後、軌跡表示を行った。
- (5) 形状確認：各粉体の粒子形状は、未開封の試料を開封後、走査電子顕微鏡 S-3400N(株式会社日立ハイテクノロジーズ)にて撮影した。粒子形状は、マイクロトラック PartAn SI により、試料循環器で分散させた試料をフルフレームカメラ(高速 CCD カメラ)でとらえ、画像解析により粒子径および粒子形状を測定 5~1,500 μm の範囲で測定した。
- (6) 粉体工学的な特性値：各粉体食品の特性値については、粒子径分布、真密度、そして分散度の 3 項目を測定した。粒子径分布の測定は、粒子径解析装置マイクロトラック MT3300 Ex(マイクロトラック・ベル株式会社)レーザー回析・散乱法にて測定を行った。湿式測定については、分散溶媒として特級エタノールを使用して試料循環器を使用して行い、乾式測定は吸引分散式ターボトラックドライフィーダーを装着して、圧縮空気の分散圧を 0.2 MPa に設定して測定した。真密度の測定は、BELPycno(マイクロトラックベル社)を使用し、25 でヘリウムガスによる気相置換法にて測定した。平衡判断圧力は 60Pa、平衡判断時間は 30sec とした。分散度の測

定については、Carr の流動性指数および噴流性指数の一つである分散度について測定した。測定は、相対湿度 24.6%、室温 24.5 の条件下にて、パウダテスタ PT-X(ホソカワミクロン(株))を使用して、直径 100mm で中心部が窪んだ形状のガラス円盤上(ウォッチグラス)に、高さ 600mm から内径 100mm のアクリル製円筒を通して約 10g の試料を落下させ、ウォッチグラス上に乗った試料の重量を測定し、次式から各測定の分散度を計算した。測定値は各試料について 5 回行った平均値を使用した。

$$\text{分散度}(\%) = (\text{試料投入重量} - \text{ウォッチグラス上の試料重量}) / \text{試料投入重量} \times 100$$

分散度が大きいほど噴流性が大きくなるとされ、また発塵性が強くなるとされる。

(7)栄養成分：栄養成分の分析は、栄養成分表示に使用する手法により、一般財団法人 日本食品分析センターにて行った。

#### 4. 研究成果

##### (1)粉体食品の飛散性の確認

5 種類の粉体食品の落下・飛散性について、各粉体食品を 50g カップに入れ 1.2m の高さより落下させた落下・飛散実験において、0.5~5m の位置のシャーレ中の各アレルギーのイムノクロマト法による訂正結果、ならびに 5~7 回目についての ELISA 法による定量結果について表 1 に示した。

表 1 0.5~5m に置いたシャーレ中の各アレルギー検出

スキムミルク										
m\time	1	2	3	4	5	ELISA	6	ELISA	7	ELISA
0.5	+W	+	+	+W	+W	50<	+	50<	+W	50<
1	-	+	+	+	+	50<	+Ww	8.9	+	50<
2	+Ww	+W	+W	+Ww	+	50<	+Ww	6.0	+	50<
3	-	+W	+W	-	+W	4.1	+Ww	13.0	+W	50<
4	+Ww	+W	+Ww	-	+W	1.5	+Ww	7.8	-	6.8
5	+Ww	+Ww	+W	-	-	3.4	-	2.8	-	1.6
positive	4	6	6	3	5		5		4	33/42

きな粉											
m\time	1	2	3	4	5	ELISA	6	ELISA	7	ELISA	
0.5	-	+W	-	-	-	+Ww	10.8	+W	28.9	+W	13.3
1	-	-	-	-	-	0.78>	-	0.78>	-	0.78>	
2	-	-	-	-	-	0.78>	-	0.78>	-	0.78>	
3	-	-	-	-	-	0.78>	-	0.78>	-	0.78>	
4	-	-	-	-	-	0.78>	-	0.78>	-	0.78>	
5	-	-	-	-	-	0.78>	-	0.78>	-	0.78>	
positive	0	1	0	0	1		1		1	4/42	

粉ミルク(調製粉乳)										
m\time	1	2	3	4	5	ELISA	6	ELISA	7	ELISA
0.5m	+	+	+	+	+	43.3	+	37.6	+	50<
1	-	+W	+W	+W	+Ww	4.3	+W	2.4	+W	13.6
2	-	-	-	-	+Ww	0.5	+Ww	1.4	-	0.5
3	-	-	-	-	-	0.6	-	1.6	-	2.7
4	-	-	-	-	-	0.8	-	0.7	-	2.1
5	-	-	-	-	-	1.3	-	0.7	-	1.0
positive	1	2	2	2	3		3		2	15/42

そば粉										
m\time	1	2	3	4	5	ELISA	6	ELISA	7	ELISA
0.5m	+	+	+	+Ww	+	50<	+	50<	+	50<
1	+	+Ww	+W	+Ww	+W	50<	+	50<	+Ww	6.1
2	+Ww	-	+W	+Ww	+Ww	0.9	-	0.4	-	7.5
3	+Ww	-	+Ww	-	+W	0.5	-	1.2	-	1.3
4	-	+Ww	+Ww	-	+Ww	1.0	-	0.4	-	0.4
5	-	-	-	-	+Ww	2.3	+Ww	0.7	-	0.5
positive	4	3	3	3	6		3		2	24/42

小麦粉										
m\time	1	2	3	4	5	ELISA	6	ELISA	7	ELISA
0.5m	+	+	+	+W	+	50<	+	50<	+	50<
1	+W	-	-	+Ww	+W	13.7	+	26.8	+Ww	6.9
2	-	-	-	-	-	1.0	-	0.78>	+Ww	3.5
3	-	-	-	-	-	1.2	-	1.1	-	3.7
4	-	-	-	-	-	0.78>	-	0.78>	-	0.78>
5	-	-	-	-	-	0.78>	-	0.78>	-	0.78>
positive	2	1	1	2	2		2		3	13/42

スキムミルクについては、7 試行中 3 回は 5m まで飛散しており、7 回、0.5~5m の 6 枚のシャーレ、計 42 枚のシャーレ中、33 枚が +W もしくは + の陽性の結果となり、飛散性が高いことがわかった。そば粉についても 24 枚/42 で、スキムミルクと同様に高い飛散性があると考えられた。一方、きな粉については、陽性結果が検出されたのは 0.5m のシャーレのみで、1m 以上の位置で検出されず、粉体落下時の飛散性は低いということがわかった。以上のことから、スキムミルク(33/42)とそば粉(24/42)が高い飛散性を示し、粉ミルク(15/42)と小麦粉(13/42)は中程度の飛散性、そして、きな粉(4/42)については最も飛散性が低いことがわかった。

上記のシャーレ中に落下した粉体アレルギーの測定結果について、各粉体食品の飛散状況を追跡し確認した。落下・飛散している粉体食品の粒子の確認を、可視化レーザー光の照射と撮影により行った結果を図 1 に示した。その結果、シャーレ法による各飛散アレルギーの測定結果により、飛散性が最も低かったきな粉については、粉体粒子の落下後、実験台の上でほとんど周辺に飛散していないことがわかった。一方、飛散性の高かったスキムミルクは、粉体粒子の落下後、実験台の上で飛散の幅と高さが大きく、周辺に飛散していることがわかった。中程度の飛散性を示した粉ミルクはスキムミルクよりも飛散して舞い上がる粒子が少なかった。そば粉については、画像から粉ミルクと同程度の飛散性で、スキムミルクと比較して飛散の程度が低いと考えらるが、そば粉については粒子径分布の測定結果で 1μm 前後の微細粒子を含むことから、可視化レーザー光により飛散粒子の可視化が困難であった可能性が考えられた。以上の結果より、粉体食品の飛散は、落下後、実験台の上で幅広く飛散する場合に飛散性が高くなることがわかった。

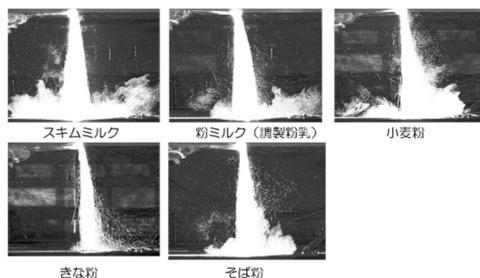


図1 粉体食品の10秒間の落下軌跡

##### (2) 粉体食品の粉体工学的な特性値

粉体食品の粉体工学的な特性値を把握するために、真密度、粒子径分布、走査電子顕微鏡画像、分散度、通気指標、栄養成分の測定を行った。図1に各粉体食品の粒子の形状を示す走査電子顕微鏡画像を示した。スキムミルク、粉ミルクとも液状のミルクをスプレードライで乾燥させて製造させるため、球形の構造が集合した形状であった。粉ミルクは造粒加工を行っているため、スキムミルクと比較して、粒子の大草が大きかった。小麦粉、きな粉、そば粉についてはそれぞれ小麦、大豆、そばの種子を粉砕して製造しているため、大小の穀物片が混在した状態であった。次に各粉体食品の粒子径分布を測定した結果、スキムミルクの粒子径のピークは100 $\mu\text{m}$ であり粉ミルクは約200 $\mu\text{m}$ であった。小麦粉とそば粉の粒子径のピークは100 $\mu\text{m}$ であったが、数 $\mu\text{m}$ の粒子径まで分布していた。きな粉については、乾式測定法と湿式測定で粒子径分布のパターンが異なり乾式測定時に粒子間相互作用により粒子同士が凝集している可能性が示唆された。

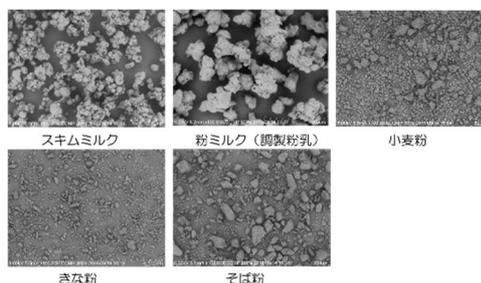


図2 粉体食品の走査電子顕微鏡画像

粉体工学的な挙動の要因を調べる目的で、真密度( $\text{g}/\text{cm}^3$ )と分散度(%)の測定結果を表2に示した。真密度とは、粒子自身の体積(一定容積の容器に粉体を充填した時、容器の体積から隙間部分を除いた体積)から算出した密度であり、穀物の小麦粉やそば粉の密度が約1.4と高かった。一方、スキムミルクと粉ミルクについては、類似の乳成分であるにもかかわらずスキムミルクの数値が1.32高く、粉ミルクが1.11と5種類の粉体食品の中でも最も低かった。真密度の測定結果からは、各粉体の飛散傾向と関連した情報は得られなかった。分散度については、粉体粒子の噴流性を評価する測定値の一つで、粉体を600mmの高さから落下させたときに周辺に広がる程度を評価する測定値である。したがって、今回の落下・飛散実験と測定方法が類似していると考えられ実施した。測定の結果、スキムミルクの値が13.2と最も高く、続いてそば粉7.7、小麦粉7.5、そしてきな粉4.6の順であった。この結果は、前述の落下・飛散実験でシャーレ法により測定した各種粉体食品の飛散性と同様な順であった。したがって、粉体食品の飛散性を評価する場合、落下・飛散実験でシャーレ法により各種粉体食品の飛散性を測定する手法と比較して、機器測定が可能である分散度の測定により、粉体食品の飛散性を評価できる可能性があることが示唆された。

表2 粉体食品の粉体工学的な特性値

試料名	スキムミルク	粉ミルク	小麦粉	きな粉	そば粉
真密度( $\text{g}/\text{cm}^3$ )	1.34	1.11	1.46	1.28	1.44
分散度(%)	13.2	6.5	7.5	4.6	7.7

粒子形状や粉体工学的な測定値が、きな粉について、他の穀物由来の粉体食品と大きな差異がないにもかかわらず、飛散性が低かった要因を明らかにする目的で、各粉体食品の栄養成分の測定を行った結果を表3に示した。きな粉は他の粉体と比較してタンパク質と脂質の含量が高いことがわかった。そのような成分が粒子間の相互作用に影響した可能性が推察された。このことは、きな粉の粒子径分布の測定時にも推定された。したがって、きな粉の飛散性の低さと、タンパク質や脂質等の含有成分との関連について、さらなる検討が必要であると考えられた。

表3 粉体食品の一般成分

一般成分 <sup>a</sup>	スキムミルク	調製粉乳	小麦粉	きな粉	そば粉
水分	3.7	2.5	13.7	3.4	14.9
タンパク質	37.1	11.4	9.0	35.6	13.8
脂質	0.7 <sup>b</sup>	25.6 <sup>b</sup>	1.3 <sup>c</sup>	26.1 <sup>d</sup>	3.6 <sup>c</sup>
灰分	7.7	2.5	0.4	5.1	2.2

以上の結果をまとめると、スキムミルクとそば粉は高い飛散性を示し、粉ミルクと小麦粉は中程度の飛散性、きな粉については最も飛散性が低いことが明らかとなった。また、粉体食品の飛散性を評価する場合、分散度の測定により、粉体食品の飛散性を評価できる可能性があると考えられた。さらに、給食施設等において食物アレルギー対応食の調理等でスキムミルクやそば粉を使用する際は、それらの粉体食品の飛散性が高いことを念頭におき、袋から容器に取り出す際には細心の注意を払う必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 橋本博行, 吉光真人, 清田恭平.	4. 巻 70
2. 論文標題 ボウルの材質3種類における小麦アレルゲン残留性の比較	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本家政学会誌	6. 最初と最後の頁 756-761
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11428/jhej.70.756	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 橋本博行, 池田達哉, 吉光真人, 清田恭平.	4. 巻 63
2. 論文標題 スポンジたわしを介した調理用ボウル間的小麦アレルゲンの二次汚染	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本食品衛生学雑誌.	6. 最初と最後の頁 70-78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3358/shokueishi.63.70	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉光 真人  (yoshimitsu masato)  (70321940)	地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・衛生化学部・ 主幹研究員  (84407)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------