

調査・資料

輸入食品中の4種特定原材料の含有調査における
2種イムノクロマトキットの応用

(平成19年4月19日受理)

廣田雅光^{1,*} 澤田千尋¹ 鈴木 剛¹ 上田千尋² 古山睦子²
西條陽子² 内藤万祐子² 広瀬 桂² 佐藤真理² 豊田正武²Application of Two Immunochromatographic Test Kits to Screening of
Four Kinds of Allergic Substances in Imported FoodsMasamitsu HIROTA^{1,*}, Chihiro SAWADA¹, Tsuyoshi SUZUKI¹, Chihiro UEDA²,
Mutsuko FURUYAMA², Yoko SAIJO², Mayuko NAITO², Katsura HIROSE²,
Mari SATO² and Masatake TOYODA²¹ Yokohama Inspection Station, Japan Frozen Foods Inspection Corporation: 2-13-45
Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236-0004, Japan; ² Faculty of Human
Life Science, Jissen Women's University: 1-1 Oosakaue 4-chome,
Hino, Tokyo 191-8510, Japan; * Corresponding author

We tested for four kinds of allergic substances (egg, milk, wheat and peanuts) in 52 imported processed foods using immunochromatographic test kits (ITK). ELISA was also employed to confirm the effectiveness of the ITK. Among 92 data from 23 samples, allergic substances were detected in 9 cases with one kind of ITK, but not with the ELISA test. Among 116 data from 29 samples, 6 were negative with one kind of ITK and but positive with the other ITK. These results suggested that these 4 kinds of allergic substances in imported foods can be detected by using a double-check method with two kinds of ITK.

(Received April 19, 2007)

Key words: 特定原材料 allergic substance; イムノクロマト法 immunochromatographic test; 酵素免疫測定法 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA); 輸入食品 imported food; 卵 egg; 牛乳 milk; 小麦 wheat; 落花生 peanut

緒 言

近年、アレルギー物質を含む食品に起因する健康危害を防止するため、表示による情報提供が求められている。平成13年4月の食品衛生法関連法令の改定に伴って、平成14年4月からアレルギー物質を含む食品の表示が義務づけられた。特定原材料のうち、発症数、アレルギー症状の重篤度などから卵、牛乳、小麦、落花生、そばの5種類について、流通段階のすべてにおいて表示を義務づけ、平成17年の関連法案の改正を含めると、そのほかに20種類の特定原材料（あわび、いか、いくら、えび、オレンジ、かに、牛肉、くるみ、さけ、さば、大豆、キウイフルーツ、鶏肉、豚肉、まつたけ、もも、やまいも、りんご、ゼラチン、バナナ）についても、表示することが推奨

されている^{*1}。

アレルギー反応を誘発するタンパク質量を考える際には、アレルギーを引き起こす特定タンパク質の量ではなく食品中に含まれる特定原材料の総タンパク質量で考えることが好ましいとされている。総タンパク質量として、10 $\mu\text{g/g}$ もしくは10 $\mu\text{g/mL}$ 以上の濃度を含有する食品に関しては表示が必要とされている¹⁾。したがって、特定原材料の試験法としては、食品中に含まれる10 $\mu\text{g/g}$ もしくは10 $\mu\text{g/mL}$ 濃度以下の量まで測定できることが必要である。

現在、この目的で5種類の特定原材料については厚生労働省の通知により試験法が指定されている。この試験法（通知法）では、一次スクリーニングとして酵素免疫測定法（ELISA法）で定量し^{5), 7)}、特定原材料が検出されたものに関しては、ウェスタンブロットまたはPCR法により確認することになっている^{2), 4)}。

* 連絡先

¹ (財)日本冷凍食品検査協会横浜試験センター、〒236-0004 横浜市金沢区福浦 2-13-45² 実践女子大学生活科学部、〒191-8510 東京都日野市大阪上 4-1-1^{*1} 厚生労働省、食発第1106001号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」

工場内での原材料の受け入れ検査や製造ラインでの汚染のチェック、また製品のスクリーニング検査などにおける使用を目的に、ELISA法より簡便に測定できるイムノクロマト法が開発され^{8),9)}、測定キットが市販されている。ELISA法が測定に約2時間必要なのに対し、イムノクロマト法は約15分で定性分析が可能である。

われわれは以前、輸入食品10検体を対象として、イムノクロマト法のスクリーニング結果とELISA法による定量結果との比較分析を行い、イムノクロマト法の有用性を示した¹⁰⁾。森下ら¹¹⁾も同様にモデル加工食品においてイムノクロマト法とELISA法の分析結果が高い一致率を示すことを報告した。しかしながら、輸入加工食品をイムノクロマト法で検査した報告例は少ない。本研究は、以前のわれわれの報告¹⁰⁾より、さらに多くの市販の輸入加工食品について調査を行った。このうち市販輸入食品23検体については以前の報告¹⁰⁾と同様に1種類のイムノクロマトキットによる調査を実施し、さらに29検体については2種類のイムノクロマトキットを併用し測定を実施した。そして2種類のキットで異なる結果が得られたときELISA法による評価を行い、また表示との関連性も調べた。これらの調査によってイムノクロマト法の市販食品検査への適用性を検証した。

方 法

1. 検 体

試料は主として東京都および神奈川県のスーパーマーケットおよび小売店で2004年4月から2006年10月までの2年間に購入した輸入加工食品52検体を用いた。

2. 装置

試料調製：粉碎機、レッチェ社製（グラインドミックス GM200）

抽出：ホモジナイザー、(株)岩谷産業製（ミルサー IFM-700G）および(株)日本精機製作所製（エースホモジナイザー AM3-50）；遠心分離機、(株)久保田製作所製（ユニバーサル冷却遠心機 5922）およびBECKMAN社製（Allegra X-22R）

ELISA分析：プレートウォッシャー、BIO-RAD（MODEL 1575 Immuno Wash）；マイクロプレートリーダー、BIO-RAD（Model 550）

器具洗浄：超音波洗浄機、(株)ヤマト科学製（卓上型超音波洗浄機 B2200）

器具・装置付属品の洗浄は通知法に従って行った。

3. キ ッ ト

イムノクロマト法には(株)ロート製薬の「ナノトラップーアレルゲン検出シリーズ」（以下「ナノトラップ」）および日本ハム製「FASTKIT イムノクロマトシリーズ」を、ELISA法には(株)森永生科学研究所製ELISAキット「特定原材料測定キット」^{6),7)}および(株)日本ハム製「FASTKIT エライザシリーズ」を使用した。

4. 試料調製、抽出および測定法

(1) 「ナノトラップ」および「FASTKIT イムノクロマトキット」

抽出には、「ナノトラップ」については森永製ELISAキットの20倍濃縮検体希釈液を20倍に希釈して使用した。(株)日本ハム製「FASTKIT イムノクロマト」については(株)日本ハム製「FASTKIT エライザ」の濃縮抽出用緩衝液を10倍に希釈して使用した。キットの説明書に従って食品抽出液を作製した。

判定には、「ナノトラップ」については、食品抽出液200 μ Lをキットの滴下部に滴下し、測定した。「FASTKIT イムノクロマト」については、食品抽出液をキットに付属の希釈用緩衝液で、牛乳キットは5倍、それ以外のキットは10倍にそれぞれ希釈し、抽出液中の100 μ Lをキットの滴下部に滴下した。両キットとも15分後に判定部分を観察し判定した。この時反応確認部が赤く着色していれば試験が正しく行われたことを示している。本研究では、判定部に明らかに赤紫色のラインが見えるものを+、ラインが見えないものを-、若干ラインがみえるものを+wと判定した。このとき+および+wと判定されたものを陽性、-と判定されたものを陰性とした。

(2) (株)森永生科学研究所製ELISAキット「特定原材料測定キット」および(株)日本ハム製ELISAキット「FASTKIT エライザ」

両キットとも通知法に従って、抽出および測定を行った。マイクロプレートリーダーによる測定では、主波長450 nm、副波長630 nmの条件を用いた。各濃度の標準溶液に対して得られる測定値から検量線を作成し、食品抽出液中に含まれる特定原材料由来のタンパク質濃度を求めた。なお、同一の測定を3ウェル並行で行い、各ウェルから得られた値を平均し、測定値とした。

結果と考察

今回用いた2種類のイムノクロマトキットおよび2種類のELISAキットのうち、ロート製薬製のイムノクロマトキット「ナノトラップ」と森永製ELISAキット「特定原材料測定キット」は同じ抗体を用いて作製されている。これらに使われている抗体は落花生用のキットを除き、特定原材料に含まれる単一のタンパク質（卵についてはオボアルブミン、牛乳については α -カゼイン、小麦についてはグリアジン）を認識する抗体となっている^{6),7)}。一方、日本ハム製の2つのキット「FASTKIT イムノクロマト」と「FASTKIT エライザ」も同じ抗体を用いて作られているが、これらのキットは特定原材料の複数のタンパク質を認識する抗体が用いられている⁹⁾。

試験品は全部で52検体を2年間にわたり調査し、卵、牛乳、落花生、小麦の4項目、それぞれについて208測定を行った。

試料1-1から1-23までの23検体については初年度に実施し、既報¹⁰⁾と同様に単一のタンパク質を認識する

Table 1. Detection of four kinds of allergic substances in imported foods with immunochromatographic tests and ELISA

No.	Food	Allergic substances	Labeling	Immunochromatography*	ELISA** ($\mu\text{g/g}$)
1-1	Cookie (Apple pie)	Egg	○	+	< 0.2
		Milk		—	< 0.2
		Peanuts		—	< 0.2
		Wheat		+w	7.10×10^3
1-2	Corn chips (Avocado)	Egg	○	—	< 0.2
		Milk		+	1.01×10^3
		Peanuts		—	< 0.2
		Wheat		—	< 0.2
1-3	Rice noodles	Egg		+	< 0.2
		Milk		—	< 0.2
		Peanuts		+w	< 0.2
		Wheat		—	< 0.2
1-4	Tortilla chips (Cheese)	Egg	○	—	< 0.2
		Milk		+w	1.13×10^4
		Peanuts	○	—	< 0.2
		Wheat		+	4.07
1-5	Dried bacon	Egg	○	—	< 0.2
		Milk		—	< 0.2
		Peanuts		—	< 0.2
		Wheat		—	< 0.2
1-6	Vienna sausage	Egg	○	—	< 0.2
		Milk		—	< 0.2
		Peanuts		—	< 0.2
		Wheat		—	< 0.2
1-7	Chocolate biscuits	Egg	○	—	< 0.2
		Milk		+	1.88×10^3
		Peanuts	○	—	< 0.2
		Wheat		+	5.75×10^3
1-8	Wafer (Lemon)	Egg	○	+	< 0.2
		Milk	○	+	1.74×10^4
		Peanuts	○	—	< 0.2
		Wheat		+	4.73×10^3
1-9	Wafer (Coconut)	Egg	○	—	< 0.2
		Milk		+	1.48×10^4
		Peanuts	○	—	< 0.2
		Wheat	○	+w	1.34×10^3
1-10	Sugar rusk	Egg	○	+	4.3
		Milk	○	+	32.3
		Peanuts	○	—	< 0.2
		Wheat		+	4.34×10^3
1-11	Gummy candy	Egg		—	< 0.2
		Milk		—	< 0.2
		Peanuts		—	< 0.2
		Wheat		—	< 0.2
1-12	Curry (Vegetable)	Egg		—	< 0.2
		Milk		—	< 0.2
		Peanuts		—	< 0.2
		Wheat		—	< 0.2
1-13	Curry (Chicken)	Egg		—	< 0.2
		Milk		—	< 0.2
		Peanuts		—	< 0.2
		Wheat		—	< 0.2

Table 1. (continued)

No.	Food	Allergic substances	Labeling	Immunochromatography*	ELISA** ($\mu\text{g/g}$)
1-14	Clam chowder	Egg		—	<0.2
		Milk	○	+	1.3
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat	○	+w	48.9
1-15	Red kidney beans	Egg		—	<0.2
		Milk		—	<0.2
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat		—	<0.2
1-16	Potato chips	Egg		—	<0.2
		Milk	△	+w	0.2
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat		+w	<0.2
1-17	Pretzel	Egg		—	<0.2
		Milk	○	+	1.59×10^3
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat	○	+	1.52×10^4
1-18	Biscuits	Egg	○	+	2.11×10^3
		Milk		+	17.4
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat	○	+	6.46×10^3
1-19	Crisp bread (Garlic)	Egg	○	+	<0.2
		Milk		+	<0.2
		Peanuts		+w	<0.2
		Wheat	○	+	9.84×10^2
1-20	Stick bread (Pizza)	Egg		—	<0.2
		Milk		—	<0.2
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat	○	+	1.10×10^4
1-21	Stick bread (Olive Oil)	Egg		—	<0.2
		Milk		+w	<0.2
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat	○	+	5.80×10^3
1-22	Belli coffee Cantuccini	Egg	○	+	3.94×10^2
		Milk	○	+	81.5
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat	○	+	5.80×10^3
1-23	Fruity gels	Egg		—	<0.2
		Milk		—	<0.2
		Peanuts		—	<0.2
		Wheat		—	<0.2

○: containing allergic substance according to ingredient labels, △: indicates possibility of allergic substances according to ingredient labels, +: positive, +w: weakly positive, —: negative.

*: Nanotorappu arerugen kenshutu kitto (Rohto Pharmaceutical Co., Ltd.)

***: Tokuteigenzairyou sokutei kitto (Morinaga Institute of Biological Science Inc.)

ロート製薬製イムノクロマトキット「ナノトラップ」と森永製 ELISA キット「特定原材料測定キット」を用いて試験を行った。

試料 2-1 から 2-29 までは、次年度に実施し、「ナノトラップ」に加え、抗体の異なる日本ハム製イムノクロマトキット「FASTKIT イムノクロマト」を用いて測定した。このとき原材料表示に記載がない成分について、双方のキットで異なった結果を示した場合、「FASTKIT イムノクロマト」と同じ抗体を用いて作られている日本ハム製

「FASTKIT エライザ」、および「ナノトラップ」と同じ抗体を用いて作られている森永製「特定原材料測定キット」の2つのキットを用いて、ELISA 法の測定を実施した。

試料 1-1 から 1-23 の 23 検体について4項目を測定した結果を Table 1 に示した。全 92 データのうち、イムノクロマト法と ELISA 法の結果が一致したものが 83 データであり、イムノクロマト法と ELISA 法の結果が一致しなかったものは 9 データであった。また表示していな

かったにもかかわらずイムノクロマト法の判定が陽性となったものは9データであった。

試料 1-1 クッキー中の卵については、森永の ELISA キットでは検出されなかったが、イムノクロマトキットの「ナノトラップ」では陽性となった。また原材料表示もなかった。

試料 1-3 ビーフン中の卵、落花生においてもイムノクロマト法においては陽性となったが、ELISA 法では検出されなかった。

試料 1-5 ドライベーコンは、小麦の表示があったがイムノクロマト法でも ELISA 法でも検出されなかった。

試料 1-6 ウィンナーソーセージの牛乳については原材料表示がされていたが、イムノクロマト法でも ELISA 法でも検出されなかった。

試料 1-7 チョコビスケット中の卵はイムノクロマト法でも ELISA 法でも検出されなかったが、表示には卵成分が記載されていた。

試料 1-8 ウェハース中の卵において、イムノクロマト法では反応が出ており、原材料表示にも記載があるが、ELISA 法では検出されなかった。ただし卵白オボムコイドを抗原とした抗体を用いた森永製 ELISA キットで確認したところ、微量であるが検出された。

試料 1-16 ポテトチップスの牛乳は原材料表示には記載されていないが、注意喚起表記があり、「ナノトラップ」と ELISA 法の両方で微量ながらも検出された。小麦においては「ナノトラップ」で微量な反応が見られているが、ELISA 法においては検出されなかった。

試料 1-18 ビスケットの牛乳において、原材料表示はなかったが、「ナノトラップ」、ELISA 法とも検出された。したがって、原材料表示にはない牛乳成分の混入が考えられる。この牛乳タンパク質の混入は製造者によれば同一ラインでの製造による微量の混入の結果であり、検出されたのは本ロットのみであり、その後のロットからは検出されていない。

試料 1-19 クリスピーブレッドにおいては、イムノクロマト法と ELISA 法の結果が一致しない項目が多かった。卵は原材料表示があり、「ナノトラップ」では反応が見られたが、ELISA 法では検出されなかった。牛乳では原材料表示はなく ELISA 法でも検出されなかったが、「ナノトラップ」では反応が見られた。落花生においても「ナノトラップ」でのみ微弱な反応が見られた。

試料 1-21 スティックブレッドの牛乳は「ナノトラップ」で微弱な反応が見られたが、ELISA 法では検出されなかった。原材料表示に牛乳成分の記載はなかった。

以上、1 種類のイムノクロマトキットを用いた 23 検体の検査結果を ELISA 法の検査結果と比較したところ、イムノクロマト法では陽性となったが、ELISA 法では <0.2 ppm となったデータが 9 データ認められた。これら 9 データは、ELISA 法の結果を正しいとみなした場合には、イムノクロマト法の結果は偽陽性を示すことにな

る。逆にイムノクロマト法では陰性で、ELISA 法では >0.2 ppm を示す場合はイムノクロマト法による判定は偽陰性となるが、今回はこのような偽陰性を示すデータは見られなかった。

本研究では、イムノクロマト法で偽陰性を示す結果は見られず、これら 4 種の特定原材料検出の簡易で有用なスクリーニング法として期待された。そこで、認識する抗原の異なるイムノクロマトキットをもう 1 種類加え、計 2 種類のキットで 29 検体の測定を行った。

その結果、29 検体のうち、13 検体の 52 データは「FASTKIT イムノクロマト」と「ナノトラップ」による判定結果が一致した。これらの結果を Table 2 に試料 2-1 から 2-13 として示す。この 52 データ中、陽性判定の出たものは 8 データあったが、これらの判定結果は表示と一致した。

一方、他の 16 検体（試料 2-14 から 2-29）については、両イムノクロマトキットのどちらかのキットで検出がみられた検体のうち、明らかに主成分であると思われるものを除いたもの、また、2 つのイムノクロマトキットの判定結果が不一致になった検体について、それぞれ ELISA 法による検査を行った (Table 3)。全 64 データのうち、2 種類のイムノクロマト法の結果が一致したものは 48 データであり、不一致だったものは、16 データであった。さらに 16 データ中、少なくとも一方の ELISA キットによって検出されたものが 6 データ、両 ELISA キットで検出されなかったものが 10 データあった。

試料 2-14 のハーブティーについては卵、牛乳、落花生、小麦の 4 項目において、表示のある小麦では「FASTKIT イムノクロマト」のみ弱い陽性となった。卵、牛乳、落花生に関しては「ナノトラップ」に反応が見られた。しかし、これらのいずれについても ELISA 法では検出されなかった。原因は明らかではない。

試料 2-16 の小エビロールは、牛乳のイムノクロマト法において「FASTKIT イムノクロマト」では反応が見られなかったが、「ナノトラップ」では反応が認められた。ELISA 法では、日本ハムキットに比べ森永キットのほうが 10 倍近く高い値を示し、イムノクロマト法と ELISA 法で似た傾向の結果が得られた。「ナノトラップ」は森永の ELISA 法と同じ抗体を用いて作られていることから、「ナノトラップ」と森永の ELISA キットは、強く反応したものであると思われる。なお、牛乳の陽性反応については、製造者の説明では微量のカゼインを含むことが判明し、同一ロットの製品は回収したとのことであった。

試料 2-17 のマッシュドポテトミックスは卵、落花生、小麦において「ナノトラップ」のみに反応が見られた。これら 3 種の原材料は ELISA 法においては 2 種類のキットともに検出されず、原材料表示の記載と一致した。「ナノトラップ」で検出されたことは、使われている抗体と食品中のきょう雑物との交差反応による偽陽性反応かもしれない。

Table 2. Detection of four kinds of allergic substances with immunochromatographic tests in imported foods

No.	Foods	Allergic substances	Labeling	Immunochromatography	
				FASTKIT*	Nanotrap**
2-1	Strawberry jam	Egg		—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		—	—
2-2	Cassis soda gummy	Egg	○	—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		—	—
2-3	Fried noodle (Thailand taste)	Egg	○	—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		+	+
2-4	Beef stew	Egg		—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		—	—
2-5	Chicken paste	Egg		—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		—	—
2-6	Source of almond jelly	Egg	○	—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		—	—
2-7	Korean noodles	Egg	○	—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		+	+ w
2-8	Ramen snacks	Egg	○	—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		+	+
2-9	Marbor bean curd	Egg		—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		—	—
2-10	Orange sherbet	Egg		—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		wheat		—	—
2-11	Tiramisu-cream wafer	Egg	○	—	—
		Milk	○	+ w	+
		Peanuts		—	—
		Wheat	○	+	+ w
2-12	Marshmallow	Egg		—	—
		Milk		—	—
		Peanuts		—	—
		Wheat		—	—
2-13	Biscuits	Egg	○	+	+
		Milk	○	+	+
		Peanuts		—	—
		Wheat	○	+	+

○: containing allergic substance according to ingredient labels, +: positive, +w: weakly positive, -: negative.

*: FASTKIT imunokromato (Nippon Meat Packers Inc.)

**: Nanotorappu arerugen kenshutu kitto (Rohto Pharmaceutical Co., Ltd.)

Table 3. Detection of four kinds of allergic substances in imported foods with double-check method using immunochromatographic kits and ELISA test

No.	Foods	Allergic substances	Labeling	Immunochromatography		ELISA ($\mu\text{g/g}$)	
				FASTKIT*	Nanotrap**	Nippon Ham kit [#]	Morinaga kit ^{##}
2-14	Herb tea	Egg	○	—	++	<0.2	<0.2
		Milk		—	+	<0.2	<0.2
		Peanuts		—	++	<0.2	<0.2
		Wheat		+w	—	<0.2	<0.2
2-15	Snacks	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		+	+w	NT	NT
		Peanuts		—	—	<0.2	<0.2
		Wheat		—	—	NT	NT
2-16	Shrimp rolls	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		—	+	2.8	20.2
		Peanuts		—	—	NT	NT
		Wheat		+	+w	NT	NT
2-17	Mashed potatoes mix	Egg	○	—	+	<0.2	<0.2
		Milk		+	+	NT	NT
		Peanuts		—	+	<0.2	<0.2
		Wheat		—	+	<0.2	<0.2
2-18	Peanut cookie	Egg	○	—	+	4.1	3.5
		Milk	○	—	—	NT	NT
		Peanuts	○	+	+w	NT	NT
		Wheat	○	+	+w	NT	NT
2-19	Freeze-dried icecream	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		+	+	1.56×10^5	3.80×10^4
		Peanuts		—	—	NT	NT
		Wheat		—	—	NT	NT
2-20	Snacks	Egg		—	—	NT	NT
		Milk		—	—	NT	NT
		Peanuts		—	—	<0.2	<0.2
		Wheat		+w	—	<0.2	<0.2
2-21	Caesar dressing	Egg	○	—	+	<0.2	<0.2
		Milk		+	+	NT	NT
		Peanuts		—	—	NT	NT
		Wheat		+w	+	NT	NT
2-22	Popcorn	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		+w	+w	NT	NT
		Peanuts		+w	—	0.5	<0.2
		Wheat		—	—	NT	NT
2-23	Banana chips (Pizza taste)	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		+	—	919	996
		Peanuts		—	—	NT	NT
		Wheat		—	+	<0.2	<0.2
2-24	Salmon patty	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		—	+	<0.2	2
		Peanuts		—	—	NT	NT
		Wheat		—	—	NT	NT
2-25	White sauce	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		+	+	1.57×10^5	7.28×10^3
		Peanuts		—	—	NT	NT
		Wheat		+w	+w	NT	NT
2-26	Chocolate cookie	Egg	○	+	+	NT	NT
		Milk	○	+	+w	1.59×10^2	1.57×10^2
		Peanuts	○	—	—	NT	NT
		Wheat	○	+	+w	NT	NT

Table 3. (continued)

No.	Foods	Allergic substances	Labeling	Immunochromatography		ELISA ($\mu\text{g/g}$)	
				FASTKIT*	Nanotrap**	Nippon Ham kit [#]	Morinaga kit ^{##}
2-27	Strawberry jam cookie	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		+w	+w	<0.2	<0.2
		Peanuts	○	—	—	NT	NT
		Wheat		+	+	NT	NT
2-28	Source of pasta and cheese sauce	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		+w	+	1.19×10^5	1.59×10^4
		Peanuts	○	—	—	NT	NT
		Wheat		+	+w	NT	NT
2-29	Oats biscuits	Egg	○	—	—	NT	NT
		Milk		—	+w	2.8	13.1
		Peanuts	○	—	—	NT	NT
		Wheat		+	+w	NT	NT

○: containing allergic substance according to ingredient labels, +: positive, +w: weakly positive, —: negative.

*: FASTKIT imunokromato (Nippon Meat Packers Inc.)

** : Nanotorappu arerugen kenshuto kitto (Rohto Pharmaceutical Co., Ltd.)

[#]: FASTKIT eraiza (Nippon Meat Packers Inc.)

^{##}: Tokuteigenzairyou sokutei kitto (Morinaga Institute of Biological Science Inc.)

NT: Not tested

試料 2-18 のピーナツクッキーは、卵において「ナノトラップ」では反応が見られたが、「FASTKIT イムノクロマト」では反応が見られなかった。ELISA 法では2種類のキットとも検出されており、表示と一致していた。「FASTKIT イムノクロマト」の不検出は抗体の特性の違いに由来するのかもしれない。

試料 2-21 のシーザードレッシングについては、卵において「ナノトラップ」で反応が見られたが、「FASTKIT イムノクロマト」および ELISA 法では検出されず、表示もまた卵成分の使用について記載されていなかった。

試料 2-22 のポップコーンについては、落花生で表示されていなかったが、「FASTKIT イムノクロマト」では弱い反応が見られ、「FASTKIT エライザ」でも微量の検出が認められた。表示には落花生の使用が記載されていないが、カシューナッツの使用が表示されている。日本ハム社の Web サイトによると落花生のキットはカシューナッツに偽陽性を呈することが示されており、これによるものと思われる。一方、「ナノトラップ」および「森永」の ELISA キットでは落花生は検出されなかった。

試料 2-23 のバナナチップスは、原材料表示で牛乳の使用が明記されており、また2種類の ELISA キットでも検出されている。しかし、「ナノトラップ」でのみ反応が見られなかった。「ナノトラップ」の検出範囲は 200～10,000 ng/mL (食品サンプル中に換算すると 4～200 ppm)*² とされているが、ELISA 法で比較的高濃度で検出されていることから、イムノクロマト法で高濃度の抗原が存在すると陰性の結果が得られる「プロゾーン反応」が起こった可能性と、試料中の油脂含量が多いため不検出と

なった可能性とが原因として考えられる。また、小麦については「ナノトラップ」だけ反応を示し、2種類の ELISA キットおよび「FASTKIT イムノクロマト」では反応を示さなかった。

試料 2-24 サーモンパテでは、牛乳において日本ハム製のイムノクロマトキットと ELISA キットでは検出されていないが、「ナノトラップ」と森永製の ELISA キットでは微量の検出が見られた。なお、表示には原材料として牛乳成分の使用が記載されていた。

試料 2-27 ストロベリークッキーは原材料表示に牛乳成分が記載されており、2種類のイムノクロマトキットの両方で弱い反応が見られたが、ELISA 法においては検出されなかった。

試料 2-29 オーツビスケットの牛乳において、日本ハム製の「FASTKIT エライザ」キットで、森永製キットより少ない量の牛乳成分が検出された。イムノクロマト法においても「ナノトラップ」は反応を示しているにもかかわらず、「FASTKIT イムノクロマト」では反応を示さず、ELISA 法の測定値に対応する傾向を示した。

試料 2-14 から 2-29 の検体のうち2種類もしくは1種類の ELISA キットで検出されたが、どちらか1種類のイムノクロマトキットの結果が陰性となった6データは、2-16 の牛乳、2-18 の卵、2-22 の落花生、2-23 の牛乳、2-24 の牛乳、2-29 の牛乳であった。この6データは、いずれも陽性となったイムノクロマトキットと同様の抗体を用いて作られている ELISA キットでは検出が見られていた。したがって、イムノクロマトキットによる反応結果の相違は、キットに使用されている抗体の特性の違いに基づくものと考えられる。これら6データにおいても、ELISA 法による検出が正しいとすると、イムノクロマト

*² http://www.seikagaku.co.jp/bio/02tech/b07_toku/03nano/pc01.htm#I-2Q

キットの一方は偽陰性を示すことになる。しかし、もう一方のイムノクロマトキットでは検出されていた。このことは、偽陰性判定はイムノクロマトキットを2種類併用することで防ぐことができることを示唆する。

52食品を用いた調査においてELISA法を実施した食品 (Table 1, Table 3) については、いずれかのELISA法で特定原材料の含有が認められた場合、どちらかのイムノクロマトキットが陽性になった。このことから2種類のイムノクロマトキットを併用する方法はスクリーニング法として有用であることが確認された。

なお、特定原材料のうち、そばについては、うどん以外の加工食品で混入例が少ないこと、さらにキットによっては偽陽性も見られることから調査を実施していない。また、本研究で用いたイムノクロマトキットは、いずれも平成17年のELISA法の試験法改良以前の抽出法を用いている。その理由は新しい改良抽出法を用いたイムノクロマトキットがいまだに開発されていないためである。より信頼性のあるデータを得るために、改良抽出法に対応したイムノクロマトキットの開発が望まれる。

文 献

- 1) Poms, R. E., Klein, C. L., Ankam, E., Methods for allergen analysis in food, a review. Food Addit. Contam., **21**, 1-31 (2004).
- 2) Akiyama, H., Toyoda, M., Outline of detection methods of allergic substances. Shokuhin Eisei Kenkyu (Food Sanitation Research), **52**(6), 65-73 (2002).
- 3) Akiyama, H., Notified detection methods for allergic substances. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **44**, 168-177 (2003).
- 4) Futo, S., PCR testing for food allergens in food products. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **43**, 280-282 (2002).
- 5) Honjoh, T., Muraoka, S., Mamegoshi, S., Sakai, S., Detection methods for allergic substances in foods by enzyme linked immunosorbent assay. Foods & Food Ingredients Journal of Japan, **206**, 13-22 (2002).
- 6) Mamegoshi, S., Detection methods for allergic substances in foods by enzyme linked immunosorbent assay (2). Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **43**, 277-279 (2002).
- 7) Takahata, Y., Detection methods for allergic substances in foods by enzyme linked immunosorbent assay (1). Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **43**, 275-277 (2002).
- 8) Tatewaki, M., Nonaka, I., Shokuhin Arerugi Bussitu Jin-soku Kenshutsu Kitto 「FASTKIT™ Immunokurumato Sirizu」 (The Rapid Detection Kit for Food Allergic Substances; 「FASTKIT™ Immunochromatographic Test Kit Series」), Japan Food Science, 2004, p. 70-76.
- 9) Takahata, Y., Morimatsu, F., A food-allergen screening kit, FASTKIT™, as a novel and reliable QA tool. Foods & Food Ingredients Journal of Japan, **206**, 23-32 (2002).
- 10) Suzuki, T., Matsuura, K., Maeda, M., Nagasaki, T., Segami, S., Watanabe, M., Watanabe, K., Shiroyanagi, R., Nishida, K., Toyoda, M., Screening of five specified raw materials in several imported commercially available processed foods using immunochromatography. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, **50**, 694-697 (2004).
- 11) Morishita, N., Akiyama, E., Arikawa, N., Iida, T., Tase, K., Hamaji, M., Hiraoka, S., Shiroyanagi, R., Kamijou, S., Matsumoto, T., Takahata, Y., Morimatsu, F., Toyoda, M., Evaluation of immunochromatographic test kits for food allergens using processed food models. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **47**, 66-75 (2006).