

イムノクロマト法を用いたカシューナッツ検出試薬の開発

島津ダイアグノスティクス株式会社 ○奥村友梨, 大山莉央, 柴原裕亮, 櫻木直也

目的

令和5年3月より特定原材料に追加されたくるみと同様に、カシューナッツにおいても食物アレルギー症例数の増加傾向が確認されたことから、今後のアレルギー表示義務化に向けた検査法の早期開発が求められている。適正なアレルギー表示を行うには、通知に定められるスクリーニング検査法や確認検査法だけでなく、自主検査法の整備も必要であると考え、加工食品に含まれるカシューナッツの自主検査法として、カシューナッツ2Sアルブミンを測定対象タンパク質としたイムノクロマト法の開発を試みた。

測定原理

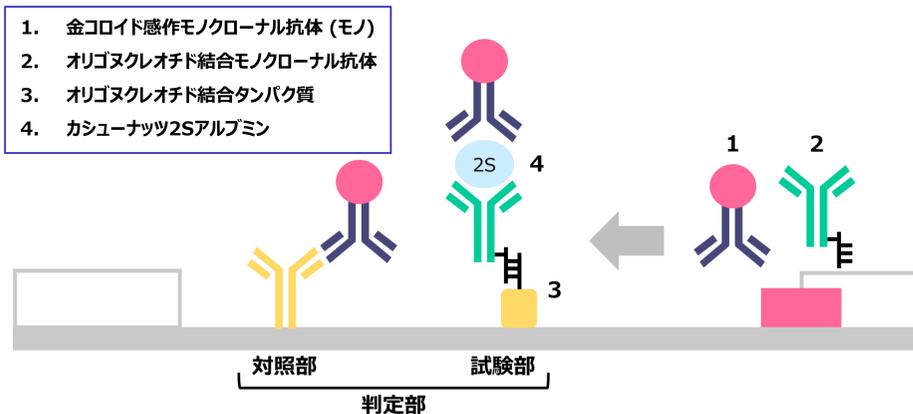


図1. カシューナッツイムノクロマト法の測定原理 (モノ/モノ系)

操作方法

<抽出操作>

1. 粉碎機等により均一化した食品検体 1 gに対し、検体抽出液を19 mL加えて混合
2. 室温で12時間以上往復振盪
3. 3000 xg, 20分室温で遠心分離後、上清を濾過→抽出検体液

<測定操作>

1. 抽出検体液を検体希釈液を用いて10倍希釈→測定溶液
2. アルミ袋からテストプレートを取り出す
3. マイクロピペットで測定溶液100 μLを分取
4. テストプレートの検体添加部に滴下
5. 室温, 20分間静置して反応
6. 判定部のラインの有無を目視で確認

結果

検出感度：最小検出感度は10 ng/mL (表1).

(食品に含まれるカシューナッツタンパク質濃度換算：2 μg/g)

表1. 検出感度試験結果

カシューナッツ標準品濃度	食品中換算濃度	判定結果
0 ng/mL	0 μg/g	-
5 ng/mL	1 μg/g	-
10 ng/mL	2 μg/g	+
20 ng/mL	4 μg/g	+
50 ng/mL	10 μg/g	+
100 ng/mL	20 μg/g	+

判定例



対照部 試験部

図2. 判定例

特異性 (原材料食品)：加熱や産地に関係なくすべてのカシューナッツ (4/4種) に反応し、松の実を除く食品検体 (111/112種) にすべて未反応 (表2).

特異性 (加工食品)：すべてのカシューナッツ含有加工食品および10 μg/gのモデル加工食品 (12種) に反応し、松の実含有加工食品には未反応 (表3, 表4).

ふき取り検査への適用性：ふき取り液 (PBS) に1/10量の検体抽出液を添加することで、既存キットと同等の反応性を達成 (表5).

表2. 特異性試験 (原材料食品)

Sample	判定結果	Sample	判定結果	
カシューナッツ	ベトナム産・加熱	+	穀類 コムギ , タカキビ, アワ, ヒエ, ソバ , オオムギ, オーツムギ, ライムギ, ハトムギ, トウモロコシ, ゲンマイ	-
	ベトナム産・非加熱	+	いも類 ヤマモ , サツマイモ	-
	インド産・加熱	+	野菜類 ニンニク	-
	インド産・非加熱	+	果実類 オレンジ , キウイフルーツ, モモ (白桃) , リンゴ, バナナ, レモン	-
	ピスタチオ (アメリカ産)	-	きのこ類 マツタケ, シイタケ, マイタケ, マッシュルーム	-
近縁種	ピスタチオ (イラン産)	-	藻類 ワカメ, コンブ, ヒジキ	-
	マンゴー	-	魚類 ヘニザケ , マサバ , マダイ, マダラ, カツオ, アブラツノサメ, カラフトシヤモ, インドマグロ, バンガシウス, フリ	-
	ピンクペッパー	-	甲殻類 クルマエビ , ブラックタイガー , ズワイガニ , ガザミ , タラバガニ , シヤコ, カメノテ	-
	スマック	-	イカ・タコ類 マダコ, ヤリイカ , スルメイカ	-
	松の実	+	貝類 マガキ, アサリ, ホタテガイ, ヤマトシジミ, クロアワビ , アカアワビ , サザエ	-
種類別	落花生	-	その他 イクラ , タラコ, シシヤモ卵, ホヤ, ナマコ	-
	くるみ	-	肉類 鶏ささみ , 鶏むね肉 , 牛肉 , 豚肉 , ラム肉, 合鴨肉	-
	アーモンド	-	茶類 紅茶, 緑茶, ウーロン茶, コーヒー	-
	マカダミアナッツ	-	調味料及び香辛料類 ブラックペッパー, ホワイトペッパー, カレーパウダー, クミン, ローズマリー, パプリカ, シナモン, ナツメグ, タイム, 味噌	-
	ヘーゼルナッツ	-	増粘多糖類 キサンタンガム (×1000), グアーガム (×1000), アルギニン酸Na (×1000), タマリンドガム (×1000), タラガム (×1000), ローカストビーンガム (×1000), ベクチン (×100), l カラギーナン (×1000), k カラギーナン (×1000), λ カラギーナン (×1000), ジェランガム (×1000)	-
	ブラジルナッツ	-	その他 ゼラチン	-
	ピンクペッパー	-		
	ゴマ	-		
	豆類 大豆 , 小豆, 豆乳	-		
	卵類 鶏卵 , 温泉卵	-		
乳類 牛乳 , ヤギ乳, スキムミルク	-			

赤字: 表示義務品目 青字: 推奨品目

表3. 特異性試験 (加工食品)

Sample	測定値 (μg/g)
カシューナッツペースト	+
スナック菓子①	+
スナック菓子②	+
ごまだれ	+
チョコレート	+
加工食品 担々麺	+
チキンカレー	+
ビーフカレー	+
ジェノベーゼ	+
ラムキーマカレー	+
ベジタブルカレー	+
松の実加工食品 バジルソース	-

表4. モデル加工食品に対する反応性

Sample	測定値 (μg/g)
つみれ (10 μg/g)	+
つみれ (0 μg/g)	-

表5. ふき取り検査への適用性検討

ふき取り液	PBS + 抽出液
カシューナッツ粉末 (1 g)*	+

*10 cm四方に粉末を添加し、粉末を完全に除去した後、ふき取り検査を実施. (n=2)

まとめ

- 最小検出感度は食品に含まれるカシューナッツタンパク質濃度で2 μg/g. →アレルギー表示基準である10 μg/g以下の感度を達成.
- すべてのカシューナッツ含有加工食品に反応し、カシューナッツを含まない食品では松の実を除いてすべて陰性.

➡ 操作法が簡便で迅速に結果が得られることから、本キットはカシューナッツの自主検査法として有用であると考えられた.