

甲殻類原材料簡易・迅速検出キット

えびかにキャッチャー 「マルハニチロ」



MARUHA NICHIRO

マルハニチロ食品化成食品事業部

マルハニチロホールディングス中央研究所

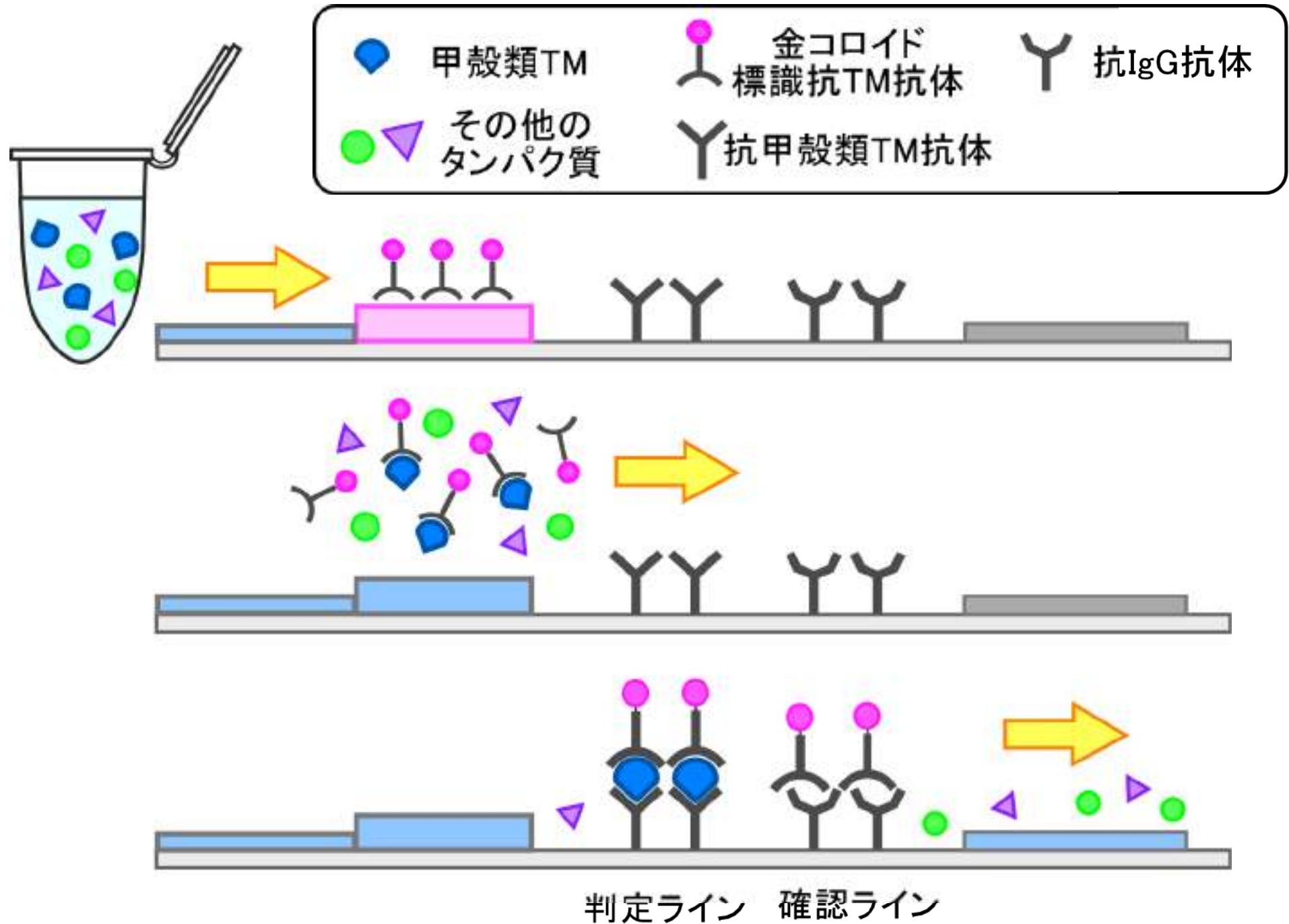
背景

- えび・かにの表示義務化(2010年6月より完全施行)
 - ⇒ タンパク質検出ELISAキットの開発¹⁾
 - 定量検査法として厚生労働省の通知に収載²⁾
- ELISA法は、定量的な測定が可能
 - ⇔ 製造現場でのアレルギー管理には不向きな面も
- より迅速かつ簡便な検出キットの開発
 - ⇒ ELISAキット(甲殻類キット「マルハ」と同じ抗体を使用
(ブラックタイガーのトロポミオシン(TM)に対する抗体2種類)

1) Seiki K. *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 9345-9350 (2007)

2) アレルギー物質を含む食品の検査方法について(別添1)

イムノクロマト法の測定原理

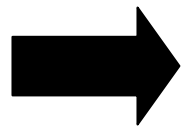


操作スキーム



<均一化>

食品試料
1 g



抽出液
39 mL



<抽出>

30秒間 × 3回



<遠心分離>

3000 × g、20分間

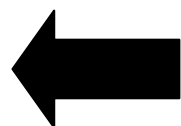


上清

陰性 陽性
┌ ┌
└ └
(-) (±) (+)



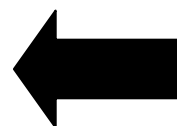
<判定>



20分間
静置



<測定>



ろ液



<ろ過>

操作法(1)

検査溶液の調製

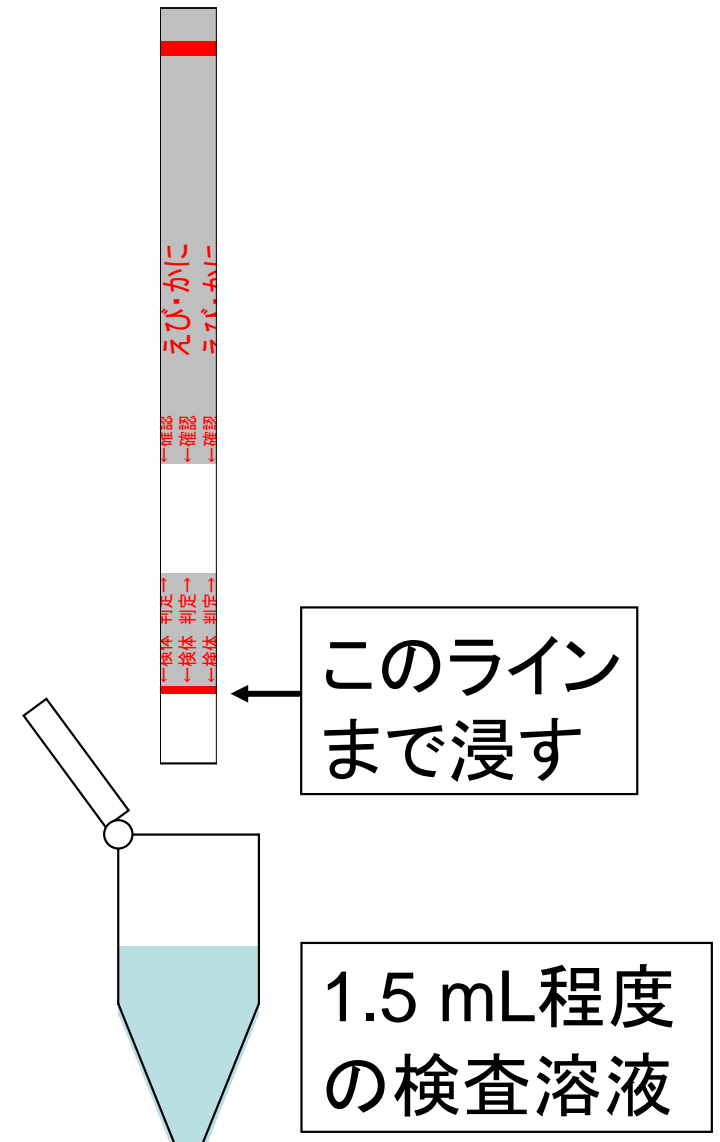


- (1) 食品試料をフードカッター等で均一になるまで粉砕、混合します。
- (2) 粉砕した検体1 gを秤量し、39 mLの抽出液を加えます。
- (3) ホモジナイザーやミキサー等で30秒間×3回攪拌します。
- (4) $3,000 \times g$ で20分間遠心分離し、上清を回収します。
- (5) 上清をろ紙でろ過し、検査溶液とします。

操作法(2)

検査

- (1) テストストリップを、アルミ袋ごと室温に戻します。
- (2) サンプルチューブに1.5 mL程度の検査溶液を分注します(推奨)。
- (3) テストストリップを袋から取り出し、検体ラインまで検査溶液に浸します(3秒間)。
- (4) テストストリップを水平な場所に置き、20分間静置します。
- (5) 20分経過後、目視で判定します。



操作法(3)

判定

(1) 陽性



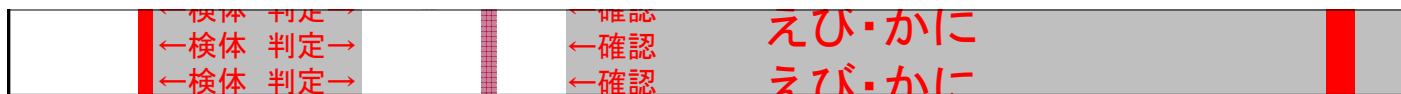
判定
ライン

+

確認
ライン

+

(2) 陰性



-

+

(3) 判定保留



-

-



+

-

イムノクロマトキットの性能について

- 感度（標準品）
- 特異性（甲殻類）
（軟体動物）
（その他の原材料）
- モデル加工食品
- ELISA法との相関性（市販加工食品）

標準品を用いた感度の確認

測定溶液中濃度 (ng/mL)	0	12.5	25	50	125	250
食品中換算濃度 (ppm)	0	0.5	1.0	2.0	5.0	10
判定	—	—	±	+	+	+

<判定基準>

＋：明らかなラインが認められる

±：薄いもののラインが認められる

—：ラインが認められない

甲殻類の分類

系統学的分類				例		
節足動物	甲殻綱	フジツボ下綱	フジツボ目		フジツボ	
					カメノテ	
		シャコ下綱	シャコ目		シャコ	
		フクロエビ上目	ヨコエビ目		ワレカラ	
			アミ目		アミ	
		本エビ上目	オキアミ目		オキアミ	
			十脚目	根鰓亜目	クルマエビ下目	ブラックタイガー、ギアナピンク
				抱卵亜目	コエビ下目	ホッコクアカエビ、サクラエビ、スキャンピー
					イセエビ下目	イセエビ、ウチワエビ
					ザリガニ下目	キューバロブスター
					異尾下目	タラバガニ
短尾下目	ガザミ、ズワイガニ					

甲殻類における反応性

十脚目	判定
ブラックタイガー	+
ギアナピンク	+
ホッコクアカエビ	+
サクラエビ	+
スキャンピー	+
ウチワエビ	+
キューバロブスター	+
タラバガニ	+
ガザミ	+
ズワイガニ	+

十脚目以外	判定
フジツボ	-
カメノテ	+
シャコ	+
ワレカラ	+
アミ	+
オキアミ	+

軟体動物における反応性

頭足類	判定
マダコ	—
イイダコ*	—
ミズダコ	—
スルメイカ	—
ヤリイカ	—
モンコウイカ	—
ホタルイカ	+
ホタルイカ (内臓抜き)	—

貝類	判定
アワビ	—
サザエ	—
バイ	—
エゾバイ	—
タニシ	—
シジミ	—
アサリ	—
ハマグリ	—
ホッキガイ	—
イガイ	—
ホタテガイ	—
マガキ	—
アカガイ	—

* : イイダコは甲殻類を捕食していることが知られているため、内臓を除去したものを測定。

各種原材料における反応性

原材料	判定	原材料	判定	原材料	判定	原材料	判定
牛肉	—	バナナ	—	タケノコ	—	タラコ	—
豚肉	—	リンゴ	—	ショウガ	—	サバ	—
豚レバー	—	キウイ	—	ニンニク	—	サケ	—
鶏肉	—	オレンジ	—	シイタケ	—	イトヨリ	—
鶏レバー	—	モモ	—	マツタケ	—	イシモチ	—
牛乳	—	落花生	—	ジャガイモ	—	グチ	—
ゼラチン	—	くるみ	—	サツマイモ	—	スケトウダラ	—
鶏卵	—	アーモンド	—	山芋	—	マダラ	—
ウズラ卵	—	カシューナッツ	—	昆布	—	タチウオ	—
米	—	ゴマ	—	ワカメ	—	エソ	—
小麦	—	コショウ	—	テングサ	—	キンメダイ	—
蕎麦	—	ワサビ	—	アオサ	—	パシフィックホワイト	—
大豆	—	ナス	—	ヒジキ	—	アジ	—
小豆	—	カボチャ	—	スサビノリ	—	イワシ	—
コーヒー豆	—	タマネギ	—	イクラ	—	トビウオ	—

赤:特定原材料 青:表示推奨品目

モデル加工食品の測定

●魚肉ソーセージ (ELISA: 8.6 ppm)

濃度 (ppm)	0	1.0	2.0	5.0	10
希釈率	—	1/10	1/5	1/2	原液
判定	—	—	±	+	+

●フリーズドライ(FD)卵スープ (ELISA: 11.9 ppm)

濃度 (ppm)	0	1.2	2.4	6.0	11.9
希釈率	—	1/10	1/5	1/2	原液
判定	—	±	+	+	+

●トマトジュース (ELISA: 10.6 ppm)

濃度 (ppm)	0	1.0	2.0	5.0	10
希釈率	—	1/10	1/5	1/2	原液
判定	—	±	+	+	+

加工食品の測定（ELISA法との比較）

		イムノクロマト法判定			一致率
		陰性	陽性	合計	
ELISA法 測定値	1.0 ppm未満	48	1	49	98%
	1.0～10 ppm	3	23	26	88%
	10 ppm以上	1	30	31	97%
	合計	52	54	106	95%
					(101/106)

※一致率は、ELISA法（甲殻類キット「マルハ」）で1 ppm以上、
およびイムノクロマト法で「+」、「±」を陽性として算出

総括

- ELISAキット(甲殻類キット「マルハ」)と同じ組み合わせのブラックタイガーのトロポミオシン(TM)に対する抗体2種類を組み合わせ、テストストリップを構築した。
- 本キットは甲殻類TMを特異的かつ高感度に検出でき、製造現場を中心とした自主管理に有用であると考えられる。