

【調査研究】加工食品に含まれるアレルゲンくるみの 実態調査

永井裕美 加藤由訓 関慎太郎 茂木芳美 河田康克¹ 佐藤ゆり恵² 庄司正

くるみによるアレルギー症例数が急増している背景から令和5年3月にくるみは特定原材料に追加された。群馬県では、特定原材料を対象とした収去検査によるアレルゲン検査を実施している。事業者による表示切替のための経過措置期間を経て完全施行となる令和7年4月以降は、くるみも収去検査の対象となる。そのため、くるみを使用されている加工食品や使用される可能性のある加工食品を対象にアレルゲンくるみの実態調査を実施した。ほとんどの試料で表示どおりの結果を得ることができたが、一部の試料で確認検査の結果が得られない試料があった。原因として、加工食品中のPCR阻害物質による影響や、食品の加工過程でのDNAの分解が考えられた。

Key words : 特定原材料 くるみ PCR 阻害物質

はじめに

アレルゲンを含む加工食品に関する表示では、「食品表示基準（平成27年3月20日内閣府令第10号）」及び「食品表示基準について（平成27年3月30日消食表第139号）」により、表示が義務付けられる特定原材料8品目と表示が推奨される特定原材料に準ずるもの20品目が指定されている。消費者庁により食物アレルギー症例数や原因食品の実態調査が3年毎に行われ、食物アレルギー症例数の動向に合わせて義務表示や推奨表示の品目が見直されている。表示が義務付けられている特定原材料については、その表示の適否を検証するための検査方法（以下、通知検査法）が消費者庁より示されている。これを受け、各自治体においては食品表示法に基づく収去検査として、表示の適正性に関する検証が行われている。消費者庁の実態調査¹⁾により、くるみに起因するアレルギー症例数の増加等が明らかになり、くるみは令和5年3月に推奨表示の特定原材料に準ずるものから義務表示の特定原材料に移行され（令和7年3月まで経過措置期間）、通知検査法が示された。

収去検査は、主にくるみの使用表示のない加工食品を対象として、通知検査法により行われる。通知検査法の判断樹（図1）に従い、スクリーニング検査である定量検査（ELISA法）の結果と製造記録の両者を用い、「表示なし」で「ELISA法陽性」かつ「製造記録に記載なし」の場合、定性検査（定性PCR法）による確認検査を行い、表示が適正か検証する。定性検査は、まず1度目に植物DNA検出用プライマー対を用いたPCRを行い、それが陽性になった場合にPCR増幅に必要な品質を有するDNAが抽出されたと判断し、くるみ検出用プライマー対を用いた2度目のPCRを実施する。通知検査法に示されている3種類のDNA抽出法（イオン交換樹脂タイプキット法、シリカゲル膜タイプキット法、CTAB法）を用いても、1度目の植物DNA検出用プライマー対を用いたPCRが陰性の場合、当該検査対象検体からのDNA抽出が不可能であり、PCR法による検知不能と判断する。

通知検査法は、開発時に代表的な加工食品での適用性は検証されているが、アレルゲン検査は幅広い加工食品を検査対象としているため、加工食品中の様々な成分により予期せぬ阻害反応が起こることや、加工過程でDNAが除去又は分解されることがある。

1 渋川保健福祉事務所

2 群馬県衛生環境研究所

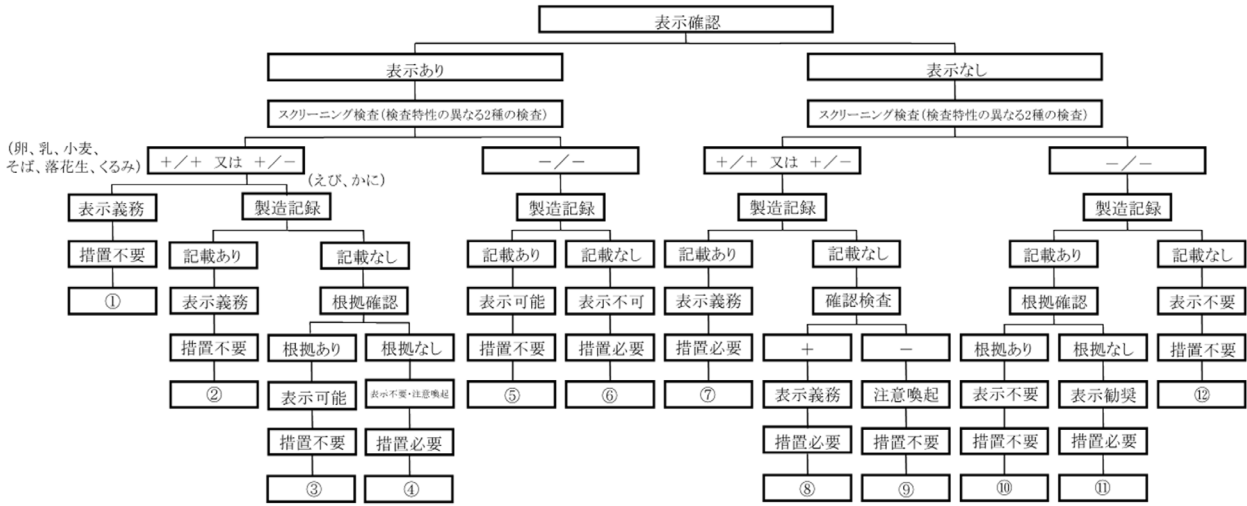


図1 判断樹

くるみのアレルゲン表示が義務化される前に、くるみを使用されることが多い菓子類と朝食シリアルを対象として県内の実態調査を行ったところ、イオン交換樹脂タイプキット法で抽出したDNA試料液で植物DNA検出用プライマー対を用いたPCRが陰性となる試料があった。

そのため、本調査では、経過措置期間終了後の取去検査を見据え、くるみを使用されている加工食品及び使用される可能性のある加工食品を対象に検査を行い、加工食品に含まれるアレルゲンくるみの実態調査を行った。

材料と方法

1 供試試料

(1) 菓子類及び朝食シリアル

令和4年10月から令和7年1月にくるみが使用される加工食品のうち、くるみの使用頻度が高く、くるみアレルギーの初発が多い年齢層が食べる機会の多い菓子類及び朝食シリアルを対象食品として、ELISA法で偽陽性を示すペカンナッツ²⁾、³⁾を使用している菓子(2試料)を含む65試料を購入した。

(2) その他加工食品

菓子類及び朝食シリアル以外のくるみを使用される可能性のある加工食品28試料(ペースト、みそ、しそ巻き、田作り、ふりかけ、ミックスナッツ、焼き肉のたれ、マスタード、うど

ん、ドレッシング、バジルソース、とうふ、オイルなど)を令和6年12月から令和7年1月に追加購入した。

2 ELISA法による定量検査

通知検査法に準じて実施した。ELISAキットはFASPEK エライザIIくるみ(森永生科学研究所)(以下、Mキット)及びFASTKIT エライザ Ver.IIIくるみ(日本ハム)(以下、Nキット)を使用した。マイクロプレートリーダーはSunrise リモート(TECAN)を使用した。

3 PCR法による定性検査

通知検査法に準じて実施した。試料からのDNA抽出はイオン交換樹脂タイプキット法(Genomic-tip 20/G(QIAGEN))で行った。抽出したDNA試料液は分光光度計U-3900H(HITACHI)を用いて吸光度を測定し、DNA濃度及び精製度を確認した。アレルゲンチェッカー「植物共通」(オリエンタル酵母工業)の植物DNA検出プライマー対を用いて定性PCR(以下、PCR(植物))を行った。PCR増幅装置はPCR Thermal Cycler Dice TP650(タカラバイオ)を使用した。くるみ検知用リアルタイムPCR-H法(以下、リアルタイムPCR-H法)は、定性リアルタイムPCRくるみ検出用プライマー&プローブセット(ファスマック)を用い、リアルタイムPCR増幅装置はLight Cycler 480II

表 1 通知検査法を用いた菓子類及び朝食シリアルを検査結果

アレルギー表示群 (試料数)	定量検査 (ELISA法)			定性検査 (定性PCR法)			
	陽性 ≥ 10 µg/g	陰性 検出		イオン交換樹脂タイプキット法 ^{*1}			
		≥ 0.3 µg/g, < 10 µg/g	定量下限未満 < 0.3 µg/g		PCR (植物) ^{*2}		リアルタイムPCR-H法 ^{*3}
				陽性	陰性	陽性	陰性
くるみ使用表示群 (14)	13	0	1	13	1	13	1
注意喚起表示群 (20)	0	2	18	19	1	0	20
くるみ無表示群 (31)	2	3	26	30	1	1	30

^{*1} Genomic-tip 20/G (QIAGEN) を用いたDNA抽出法, ^{*2} 植物DNA検出用プライマー対を用いたPCR法, ^{*3} くるみ検出用プライマー対及びプローブを用いたリアルタイムPCR法.

表 2 定量検査で検出された菓子類及び朝食シリアルの定性検査の結果

アレルギー表示群 および供試試料名	定量検査(ELISA法)		定性検査(定性PCR法)		
	タンパク濃度, µg/g		PCR(植物) ^{*3}	リアルタイムPCR-H法 ^{*4}	
	Mキット ^{*1}	Nキット ^{*2}		ΔCq ^{*5}	
注意喚起表示群					
ミルクチョコレート ^{*6}	<0.3	0.4	+	-0.6	-
			+	-0.8	-
大豆グラノーラ	<0.3	0.4	+	-6.7	-
			+	不検出	-
くるみ無表示群					
オレンジパウンドケーキ	1.0	1.2	+	2.6	+
			+	3.5	+
ハニーバターグラノーラ	<0.3	0.8	+	-2.4	-
			+	-2.6	-
アーモンドクッキー	<0.3	0.4	+	-5.1	-
			+	-5.7	-
ペカンナッツチョコ	1.9	>20	+	不検出	-
			+	不検出	-
ペカンナッツサブレ	1.9	>20	+	-5.8	-
			+	不検出	-

^{*1} FASPEKエライザIIくるみ (森永生科学研究所), ^{*2} FASTKITエライザVer.Ⅲくるみ (日本ハム), ^{*3} 植物DNA検出用プライマー対を用いたPCR法, ^{*4} くるみ検出用プライマー対及びプローブを用いたリアルタイムPCR法, ^{*5} 基準プラスミド平均Cq値-試料のCq値, ^{*6} 試料量を2倍にしてDNA抽出を実施した.

(Roche) を使用した。

4 PCR (植物) が陰性になった加工食品への対応

イオン交換樹脂タイプキット法による DNA 抽出でPCR (植物) が陰性となった試料について、シリカゲル膜タイプキット法 (DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN)) 及び CTAB 法 (CTAB 緩衝液の EDTA 濃度は 20 mM) で DNA 抽出を行い、PCR (植物) 及びリアルタイム PCR-H 法を行った。

また、各 DNA 試料液中の PCR 阻害物質の影響を確認するため、Internal Positive Control (以下、IPC) (ニッポンジーン) を PCR 反応液 25

µL 中に 1 µL 添加し、IPC 検出用プライマー及びプローブを用いて PCR (植物) と同条件でリアルタイム PCR を行った⁴⁾。純水を試料として IPC を添加した場合の増幅曲線と比較して、PCR 阻害の有無を確認した。

結果及び考察

1 検査結果

(1) 菓子類及び朝食シリアル

くるみのアレルギー表示別にくるみ使用表示群 (14 試料)、注意喚起表示群 (20 試料) 及びくるみ無表示群 (31 試料) として菓子類及び朝食シリアルを購入し、通知検査法に従って定

表 3 通知検査法を用いたその他加工食品の検査結果

アレルギー表示群 (試料数)	定量検査 (ELISA法)			定性検査 (定性PCR法)			
	陽性 ≥ 10 µg/g	陰性 検出 ≥ 0.3 µg/g, < 10 µg/g	定量下限未満 < 0.3 µg/g	イオン交換樹脂タイプキット法 ^{*1}			
				PCR (植物) ^{*2}		リアルタイムPCR-H法 ^{*3}	
				陽性	陰性	陽性	陰性
くるみ使用表示群 (15)	14	0	1	14	1	14	1
注意喚起表示群 (3)	0	1	2	2	1	0	3
くるみ無表示群 (10)	0	3	7	10	0	0	10

^{*1} Genomic-tip 20/G (QIAGEN) を用いたDNA抽出法, ^{*2} 植物DNA検出用プライマー対を用いたPCR法, ^{*3} くるみ検出用プライマー対及びプローブを用いたリアルタイムPCR法。

表 4 定量検査で検出されたその他の加工食品の定性検査の結果

アレルギー表示群 および供試試料名	定量検査(ELISA法)		定性検査(定性PCR法)			
	タンパク濃度, µg/g		PCR(植物) ^{*3}	リアルタイムPCR-H法 ^{*4}		
	Mキット ^{*1}	Nキット ^{*2}		ΔCq ^{*5}		
注意喚起表示群						
ミックスナッツ	<0.3	1.7	+	-0.5	-	-
			+	-3.5	-	-
くるみ無表示群						
田作り	0.4	<0.3	+	-1.6	-	-
			+	-1.9	-	-
バジルソース	<0.3	0.3	+	-3.6	-	-
			+	-4.6	-	-
ドレッシング	<0.3	0.4	+	不検出	-	-
			+	-5.2	-	-

^{*1} FASPEKエライザIIくるみ (森永生科学研究所), ^{*2} FASTKITエライザVer.Ⅲくるみ (日本ハム), ^{*3} 植物DNA検出用プライマー対を用いたPCR法, ^{*4} くるみ検出用プライマー対及びプローブを用いたリアルタイムPCR法, ^{*5} 基準プラスミド平均Cq値-試料のCq値。

量及び定性検査を行った (表 1、付録表 1)。

定量検査では、くるみ使用表示群 13 試料が陽性 (≥ 10 µg/g) となった。くるみ使用表示群の 1 試料 (おこし) は、定量検査及び定性検査 (リアルタイム PCR-H 法) のどちらも陰性で、判断樹では製造記録の確認が必須となった。また、注意喚起表示群 2 試料及びくるみ無表示群 3 試料で検出 (≥ 0.3 µg/g) され、製造過程での混入や他の食品による交差反応が疑われた。くるみ無表示群では 2 試料が陽性となったが、2 試料ともペカンナッツを使用している試料であった。

定性検査では、定量検査で検出された 5 試料のうち、くるみ無表示群 1 試料 (オレンジパウンドケーキ) のみリアルタイム PCR-H 法が陽性となり、製造過程での混入が示唆された (表 2)。その他の 4 試料は、リアルタイム PCR-H 法が陰性だったため、他の食品による交差反応により定量検査で検出されたと考えられた。定量検査で陽性となったペカンナッツを使用して

いる 2 試料 (ペカンナッツチョコ、ペカンナッツサブレ) は、N キットで陽性 (≥ 10 µg/g) であった (表 2)。M キットでは検出 (≥ 0.3 µg/g) はあったが、陽性ではなかった。それぞれのキットの反応特性により、定量結果に差があったと考えられた。ペカンナッツを使用している 2 試料はリアルタイム PCR-H 法では陰性であったことから、定量検査は交差反応による偽陽性であり、リアルタイム PCR-H 法で定量検査の偽陽性を確認することができた。

定性検査では、くるみ使用表示群 1 試料 (くるみチョコレート)、注意喚起表示群 1 試料 (チョコレートコーンスナック) 及びくるみ無表示群 1 試料 (コーンフレーク) が PCR (植物) で陰性となり、PCR 増幅を阻害する物質が含まれていることが示唆された。

表 5 PCR（植物）で陰性になった加工食品における DNA 抽出法の比較

供試試料名（アレルギー表示群） 及び3種類のDNA抽出法	定性検査(定性PCR法)	
	PCR(植物) ^{*1}	リアルタイムPCR法 ^{*2}
くるみチョコレート（くるみ使用表示群）		
イオン交換樹脂タイプキット法 ^{*3}	—	+
シリカゲル膜タイプキット法 ^{*4}	—	+
CTAB法	+	+
チョコレートコーンスナック（注意喚起表示群）		
イオン交換樹脂タイプキット法 ^{*3}	—	—
シリカゲル膜タイプキット法 ^{*4}	—	—
CTAB法	+	—
コーンフレーク（くるみ無表示群）		
イオン交換樹脂タイプキット法 ^{*3}	—	—
シリカゲル膜タイプキット法 ^{*4}	—	—
CTAB法	—	—
くるみオイル（くるみ使用表示群）		
イオン交換樹脂タイプキット法 ^{*3}	—	—
シリカゲル膜タイプキット法 ^{*4}	—	—
CTAB法	—	—
ピーナッツオイル（注意喚起表示群）		
イオン交換樹脂タイプキット法 ^{*3}	—	—
シリカゲル膜タイプキット法 ^{*4}	—	—
CTAB法	—	—

*1 植物DNA検出用プライマー対を用いたPCR法、*2 くるみ検出用プライマー対及びプローブを用いたリアルタイムPCR法、*3 Genomic-tip 20/G (QIAGEN) を用いたDNA抽出法、*4 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) を用いたDNA抽出法。

(2) その他の加工食品

菓子類や朝食シリアル以外の加工食品のくるみ使用表示群 15 試料、注意喚起表示群 3 試料及びくるみ無表示群 10 試料を用いて、通知検査法で定量検査及び定性検査を行った（表 3、付録表 2）。

定量検査では、使用表示群 14 試料が陽性だったが、1 試料（くるみオイル）は陰性だった。また、注意喚起表示群 1 試料（ミックスナッツ）及びくるみ無表示群 3 試料（田作り、バジルソース、ドレッシング）で検出（ $\geq 0.3 \mu\text{g/g}$ ）された（表 4）。いずれもどちらか一方のキットのみの検出であり、定性検査は全て陰性だったことから、交差反応により定量検査で検出されたと考えられた。

定性検査では、定量検査が陰性だったくるみ使用表示群の 1 試料（くるみオイル）及び注意

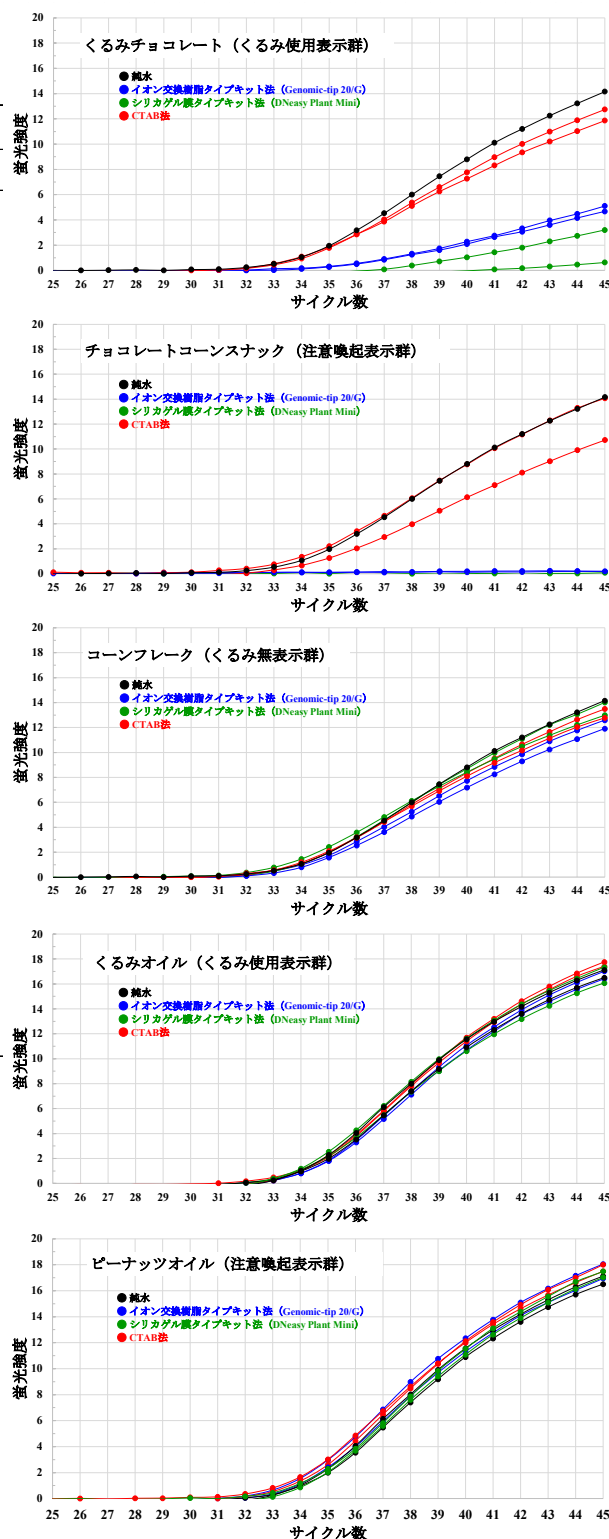


図 2 PCR（植物）で陰性になった加工食品の 3 種類の DNA 抽出法における Internal Positive Control (IPC) を PCR（植物）条件における PCR 阻害物質の比較

喚起表示群 1 試料（ピーナッツオイル）が PCR（植物）で陰性となり、PCR 阻害物質が含まれていることが示唆された。

2 PCR（植物）が陰性になった加工食品への対応

PCR（植物）が陰性となった5試料（くるみチョコレート、チョコレートコーンスナック、コーンフレーク、くるみオイル及びピーナッツオイル）について、イオン交換樹脂タイプキット法のほか、シリカゲル膜タイプキット法及びCTAB法でもDNA抽出を行い、PCR（植物）及びリアルタイムPCR-H法を行った。くるみチョコレート及びチョコレートコーンスナックは、PCR（植物）がCTAB法で陽性となった（表5）。また、リアルタイムPCR-H法は、くるみチョコレートで3種類のDNA抽出法の全てで陽性となった。それぞれのPCRで使用するプライマーの感度やPCR増幅効率が異なるため、PCR（植物）は陰性であったものの、くるみの検出はできたと考えられた。コーンフレーク、くるみオイル及びピーナッツオイルは、3種類のDNA抽出法の全てでPCR（植物）が陰性で検知不能となった。

3種類のDNA抽出法を用いたDNA試料液について、IPCをPCR反応液に添加してDNA試料液中のPCR阻害物質の影響を確認した。くるみチョコレートは、純水と比較してイオン交換樹脂タイプキット法及びシリカゲル膜タイプキット法で抽出したDNA試料液でPCR増幅が遅れ、PCR阻害物質の混入が示唆された（図2）。CTAB法で抽出したDNA試料液のPCR増幅は純水と同程度であり、PCR阻害は生じていないことが確認された。チョコレートコーンスナックは、イオン交換樹脂タイプキット法及びシリカゲル膜タイプキット法ではPCR増幅は認められず、CTAB法でのみ純水と同程度のPCR増幅がみられた。イオン交換樹脂タイプキット法やシリカゲル膜タイプキット法では、食品由来のPCR阻害物質を除去できず、PCR増幅に影響を与える可能性が示唆された。コーンフレーク、くるみオイル及びピーナッツオイルは3種類のDNA抽出法とも純水と同程度のPCR増幅がみられ、PCR阻害がないことが確認された。十分なDNA量が抽出されていないか、加工過程でDNAが断片化されていることが原因で検知不能となったと考えられた⁵⁾。

まとめ

くるみが使われる可能性のある加工食品に含まれるアレルゲンくるみの実態調査を実施したところ、供試したほとんどの試料で定量及び定性検査ともに表示どおりの結果を得ることができた。定量検査で交差反応により偽陽性を示したペカンナッツを使用している菓子は、リアルタイムPCR-H法で陰性となることが確認できた。DNA抽出法のうち、イオン交換樹脂タイプキット法やシリカゲル膜タイプキット法では、PCR（植物）が偽陰性となる加工食品があった。PCR（植物）が陰性となった場合は、PCR阻害物質の影響を考え、CTAB法でDNA抽出を行う必要があることが確認できた。

また、3種類のDNA抽出法を用いてもPCR（植物）が陰性となり、検知不能となる試料があった。いずれの試料においてもPCR阻害は生じていなかったことから、十分な量のDNAが抽出できていないことや食品の加工過程でDNAが断片化により、検知不能となることが示唆された。

謝辞

本調査の一部は、公益財団法人大同生命厚生事業団「大同生命地域保健福祉研究助成」により実施しました。

本調査にあたり、供試試料の選定にご協力いただきました渋川保健福祉事務所 食品監視係の皆様は心より感謝申し上げます。

また、国立医薬品食品衛生研究所の爲廣紀正博士にはDNA抽出法について、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構の真野潤一博士にはInternal Positive Controlを用いたPCR法について、それぞれ貴重なご助言を賜りました。ここに深く感謝申し上げます。

文献

- 1) 消費者庁「平成30年度食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書」、2018.

- 2) 株式会社森永生化学研究所：モリナガ FASPEK エライザIIキットくるみ 食品反応性データ、
https://www.morinaga-biosci.co.jp/dcms_media/other/wl001-1.pdf 、
(参照 2025 年 2 月 10 日) .
- 3) 日本ハム株式会社中央研究所：FASTKIT エライザ Ver.IIIくるみ 食品反応性データ、
https://www.rdc.nipponham.co.jp/fastkit/images/fastkit_elisa3_241001/fastkit_elisa3_kurumi_241001.pdf、(参照 2025 年 2 月 10 日) .
- 4) Mano, J., Hatano, S., Futo, S., Minegishi, Y., Ninomiya, K., Nakamura, K., Kondo, K., Teshima, R., Takabatake, R., Kitta, K.: Development of direct real-time PCR system applicable to a wide range of foods and agricultural products, *Food Hyg. Saf. Sci.* **55**, 25-33, 2014.
- 5) Mano, J., Nishitsuji, Y., Kikuchi, Y., Fukudome, S., Hayashida, T., Kawkami, H., Kurimoto, Y., Noguchi, A., Kondo, K., Teshima, R.: Quantification of DNA fragmentation in processed foods using real-time PCR. *Food. Chem.*, **226**, 149-155, 2017.

付録表 1 定量検査 (ELISA 法) 及び定性検査 (PCR 法及びリアルタイム PCR-H 法) の結果 (菓子類及び朝食シリアル)

供試試料	名称	表示	ELISA法, µg/g		DNA濃度 ng/µL	A 260/A 280	A 260/A 230	PCR (植物)	リアルタイムPCR-H法	
			Mキット	Nキット					ΔCq	
くるみ使用表示群										
チョコレートケーキ	焼菓子	くるみ使用表示	>20	>20	326	1.73	1.20	+	+	13.5
					321	1.73	1.22	+	+	13.6
ナッツクッキー	焼菓子	くるみ使用表示	>20	>20	799	1.83	2.03	+	+	13.3
					803	1.83	2.01	+	+	13.4
ミックスクッキー	手作りクッキー (ミックス)	くるみ使用表示	>20	>20	959	1.86	2.14	+	+	11.4
					1116	1.83	2.15	+	+	11.4
くるみ餅	菓子	くるみ使用表示	>20	>20	51	1.76	1.45	+	+	14.5
					28	1.86	1.51	+	+	14.5
チョコナッツグラノーラ	シリアル (グラノーラ)	くるみ使用表示	>20	>20	1663	1.58	1.99	+	+	10.2
					1636	1.63	2.12	+	+	9.5
くるみチョコレート	チョコレート	くるみ使用表示	>20	>20	67	0.80	0.15	-	+	19.2
					26	0.83	0.17	-	+	20.7
おこし	菓子	くるみ使用表示	<0.3	<0.3	1267	1.77	1.83	+	-	ND
					1799	1.68	1.57	+	-	ND
胡桃まん	焼菓子	くるみ使用表示	>20	>20	593	1.88	1.99	+	+	13.2
					715	1.84	1.80	+	+	13.3
くるみゆべし	和菓子	くるみ使用表示	>20	>20	31	1.89	1.00	+	+	16.1
					19	2.69	0.94	+	+	16.3
くるみ羊羹	和菓子	くるみ使用表示	>20	>20	131	1.83	1.57	+	+	16.0
					135	1.78	1.51	+	+	16.2
月餅	和菓子	くるみ使用表示	>20	>20	378	1.82	1.79	+	+	14.6
					313	1.81	1.80	+	+	14.6
くるみ蒸しパン	和菓子	くるみ使用表示	>20	>20	292	1.87	2.03	+	+	15.1
					280	1.88	1.98	+	+	15.0
シュトーレン	菓子	くるみ使用表示	>20	>20	462	1.86	2.14	+	+	12.5
					454	1.87	2.09	+	+	12.5
くるみ味噌煎餅	米菓	くるみ使用表示	>20	>20	68	1.73	1.37	+	+	17.9
					66	1.80	1.33	+	+	18.0
注意喚起表示群										
ミルクチョコレート	チョコレート	注意喚起表示	<0.3	0.4	99	2.01	2.09	+	-	-0.6
					143	1.63	1.54	+	-	-0.8
大豆グラノーラ	シリアル (グラノーラ)	注意喚起表示	<0.3	0.4	1924	1.95	1.93	+	-	-6.7
					1982	1.93	1.91	+	-	ND
シリアル	有機シリアル加工品	注意喚起表示	<0.3	<0.3	1908	1.90	2.04	+	-	ND
					1884	1.89	2.00	+	-	ND
フルーツグラノーラ	朝食シリアル (グラノーラ)	注意喚起表示	<0.3	<0.3	1968	1.94	2.07	+	-	ND
					2108	1.85	1.96	+	-	ND
有機フルーツグラノーラ	有機シリアル加工品	注意喚起表示	<0.3	<0.3	1260	1.79	2.04	+	-	ND
					1095	1.83	2.13	+	-	ND
バタークッキー	焼菓子 (クッキー)	注意喚起表示	<0.3	<0.3	1893	1.85	2.08	+	-	-3.5
					1815	1.85	2.06	+	-	-3.8
イチゴミルクブラウニー	焼菓子	注意喚起表示	<0.3	<0.3	83	1.76	1.53	+	-	-7.8
					95	1.92	1.63	+	-	-8.7
オーツビスケット	焼菓子	注意喚起表示	<0.3	<0.3	2013	2.10	2.45	+	-	ND
					1759	1.58	1.87	+	-	ND
ビスケット	菓子	注意喚起表示	<0.3	<0.3	1718	1.87	2.03	+	-	ND
					1669	1.85	1.99	+	-	ND
アーモンドクッキー	有機菓子	注意喚起表示	<0.3	<0.3	2368	1.91	2.24	+	-	-6.1
					2158	1.91	2.21	+	-	-9.0
スモークチーズクラッカー	クラッカー	注意喚起表示	<0.3	<0.3	2857	1.64	1.89	+	-	ND
					2506	1.87	2.07	+	-	ND
チョコレートブラウニー	菓子	注意喚起表示	<0.3	<0.3	241	1.75	1.42	+	-	ND
					202	1.71	1.16	+	-	ND
マドレーヌ	洋菓子 (マドレーヌ)	注意喚起表示	<0.3	<0.3	432	1.86	1.69	+	-	ND
					438	1.84	1.67	+	-	ND
クランチチョコレート	チョコレート	注意喚起表示	<0.3	<0.3	61	1.82	1.14	+	-	-1.7
					86	1.83	1.26	+	-	-5.1
オレンジピールチョコレート	チョコレート	注意喚起表示	<0.3	<0.3	68	1.86	0.66	+	-	ND
					59	1.99	0.63	+	-	ND
チョコレートコーンスナック	チョコレート	注意喚起表示	<0.3	<0.3	165	1.51	1.11	-	-	ND
					115	1.52	1.26	-	-	ND
桃山	焼菓子	注意喚起表示	<0.3	<0.3	366	1.81	1.80	+	-	ND
					350	1.86	1.85	+	-	ND
ザラメ味噌揚げ煎餅	揚菓子	注意喚起表示	<0.3	<0.3	47	1.98	1.16	+	-	ND
					35	2.10	1.19	+	-	-3.8
黒糖蒸しまん	和生菓子 (黒糖蒸しまん)	注意喚起表示	<0.3	<0.3	318	1.85	2.00	+	-	ND
					348	1.85	2.02	+	-	ND
月餅	中華菓子	注意喚起表示	<0.3	<0.3	433	1.88	2.08	+	-	-5.6
					384	1.89	2.03	+	-	ND

Mキット: FASPEKエライザII くるみ、Nキット: FASTKITエライザVer.III くるみ、ΔCq: 基準プラスミド平均Cq値-試料の平均Cq値、ND: not detected
 ※: 試料量を2倍にしてDNA抽出精製を実施

付録表 1 定量検査 (ELISA 法) 及び定性検査 (PCR 法及びリアルタイム PCR-H 法) の結果 (菓子類及び朝食シリアル) (続き)

供試試料	名称	表示	ELISA法, µg/g		DNA濃度 ng/µL	A 260/A 280	A 260/A 230	PCR (植物)	リアルタイムPCR-H法	
			Mキット	Nキット					ΔCq	ΔCq
くるみ無表示群										
オレンジパウンドケーキ	オレンジパウンドケーキ	くるみ無表示	1.0	1.2	72	2.72	2.26	+	+	2.6
ハニーバターグラノーラ	シリアル (菓子)	くるみ無表示	<0.3	0.8	36	6.07	1.17	+	+	3.5
アーモンドクッキー	有機菓子	くるみ無表示	<0.3	0.4	1589	1.50	1.81	+	-	-2.4
パウンドケーキ	焼菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1979	1.72	1.75	+	-	-2.6
フレンチラスク	焼菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	222	1.84	2.16	+	-	-5.1
チョコチップスコーン	焼菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	115	1.92	2.12	+	-	-5.7
チョコチップスコーン	焼菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	499	1.90	2.02	+	-	-2.5
ショートブレッド	焼菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	432	1.79	1.82	+	-	-2.6
チョコチップクッキー	焼菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1155	1.86	2.14	+	-	-3.6
チョコインクッキー	焼菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	923	1.96	2.40	+	-	-3.2
オレンジケーキ	焼菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1490	1.37	1.51	+	-	-5.6
バイクドーナツ	焼菓子 プレーン	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1474	1.59	1.93	+	-	-4.5
アーモンドココアクッキー	焼菓子 (アーモンドココアクッキー)	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1016	1.85	2.12	+	-	-5.8
シュガービスケット	ビスケット	くるみ無表示	<0.3	<0.3	877	1.93	2.30	+	-	-4.9
チョコチップクッキー	クッキー	くるみ無表示	<0.3	<0.3	845	1.81	2.19	+	-	ND
バタービスケット	クッキー	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1055	1.81	2.16	+	-	-6.0
ペーカリーワッフル	洋菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	699	1.76	1.80	+	-	-7.1
バナナバウム	洋菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	841	1.90	2.15	+	-	ND
シュガーラスク	ラスク	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1133	1.89	2.28	+	-	ND
ミルクチョコバー	菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1211	1.86	2.25	+	-	ND
チョコチップクッキー	菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	180	1.47	1.00	+	-	ND
フルーツグラノーラ	朝食シリアル	くるみ無表示	<0.3	<0.3	71	1.49	0.96	+	-	ND
チョコレートスナック	準チョコレート	くるみ無表示	<0.3	<0.3	329	1.85	1.75	+	-	ND
クランチチョコレート	準チョコレート	くるみ無表示	<0.3	<0.3	261	1.72	1.57	+	-	ND
チョコレート	チョコレート	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1002	1.76	1.94	+	-	-3.8
ホワイトチョコレート	チョコレート	くるみ無表示	<0.3	<0.3	745	1.85	2.09	+	-	-3.7
コーンフレーク	有機朝食シリアル	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1604	1.71	1.98	+	-	ND
ピーカンナッツチョコ	チョコレート菓子	くるみ無表示	1.9	>20	1484	1.72	2.02	+	-	ND
ピーカンナッツサブレ	サブレ (ピーカンナッツ)	くるみ無表示	1.9	>20	1315	1.66	1.81	+	-	ND
羊羹	和菓子	くるみ無表示	<0.3	<0.3	1487	1.70	1.81	+	-	ND
シュトーレン	パン	くるみ無表示	<0.3	<0.3	2046	1.86	2.15	+	-	ND
					2061	1.83	2.12	+	-	ND
					822	1.85	2.12	+	-	-5.8
					876	1.82	2.07	+	-	-5.2
					361	1.87	2.04	+	-	ND
					347	1.74	1.81	+	-	ND
					332	1.82	2.08	+	-	ND
					270	1.86	2.08	+	-	-8.6
					1582	2.07	2.46	+	-	-8.7
					1493	1.98	2.30	+	-	ND
					802	1.89	2.23	+	-	ND
					451	1.86	2.10	+	-	-9.0
					679	1.85	1.97	+	-	-4.9
					784	1.77	1.88	+	-	-4.7
					55	1.80	1.99	+	-	ND
					57	1.52	1.36	+	-	ND
					598	1.83	2.16	+	-	ND
					583	1.86	2.17	+	-	ND
					125	1.95	1.58	+	-	ND
					138	1.71	1.44	+	-	ND
					79	1.53	1.36	+	-	ND
					45	2.35	1.81	+	-	-6.0
					14	1.47	0.54	-	-	ND
					32	1.00	0.59	-	-	ND
					192	1.68	0.90	+	-	ND
					303	1.72	1.09	+	-	ND
					1618	1.86	1.95	+	-	-5.8
					1854	1.88	1.99	+	-	ND
					65	2.07	0.92	+	-	-5.5
					68	2.05	0.94	+	-	ND
					809	1.88	2.22	+	-	ND
					764	1.88	2.22	+	-	ND

Mキット: FASPEKエライザII くるみ、Nキット: FASTKITエライザVer.III くるみ、ΔCq: 基準プラスミド平均Cq値-試料の平均Cq値、ND: not detected
 ※: 試料量を2倍にしてDNA抽出精製を実施

付録表 2 定量検査 (ELISA 法) 及び定性検査 (PCR 法及びリアルタイム PCR-H 法) の結果 (その他の加工食品)

供試試料	名称	表示	ELISA法, µg/g		DNA濃度 ng/µL	A 260/A 280	A 260/A 230	PCR (植物)	リアルタイムPCR-H法	
			Mキット	Nキット					ΔCq	
くるみ使用表示群										
くるみペースト	くるみペースト	くるみ使用表示	>20	>20	499	1.75	1.29	+	+	16.8
ごま・くるみ味噌	味噌加工品	くるみ使用表示	>20	>20	533	1.54	0.70	+	+	16.7
焼きしそ巻	焼きしそ巻	くるみ使用表示	>20	>20	77	1.77	1.43	+	+	16.7
くるみ入り田作り	つくだ煮	くるみ使用表示	>20	>20	73	1.87	1.55	+	+	16.7
おかかくるみふりかけ	つくだ煮	くるみ使用表示	>20	>20	966	1.78	1.73	+	+	14.3
ミックスナッツ	木の实、豆类子、果実加工品、種実加工品	くるみ使用表示	>20	>20	884	1.79	1.68	+	+	14.2
いちじく・くるみジャム	いちじくジャム	くるみ使用表示	>20	>20	3038	1.90	1.97	+	+	13.5
焼肉のたれ	焼肉のたれ	くるみ使用表示	>20	>20	3264	1.92	1.98	+	+	13.7
くるみマスタード	くるみマスタード	くるみ使用表示	>20	>20	829	1.94	2.25	+	+	12.1
くるみキャラメルクリーム	キャラメルくるみクリーム	くるみ使用表示	>20	>20	923	1.95	2.27	+	+	12.4
うどん	半なまめん	くるみ使用表示	>20	>20	999	1.84	1.78	+	+	14.4
くるみドレッシング	乳化液状ドレッシング	くるみ使用表示	>20	>20	944	1.87	1.76	+	+	14.6
くるみのジェノベーゼ	バジルソース	くるみ使用表示	>20	>20	14	1.44	1.00	+	+	12.9
ウォールナッツオイル	食用くるみ油	くるみ使用表示	<0.3	<0.3	6	2.92	0.93	+	+	12.9
くるみ胡麻どうふ	そうざい	くるみ使用表示	>20	>20	139	1.86	2.03	+	+	8.4
					113	1.90	2.21	+	+	8.4
					226	1.91	2.32	+	+	13.2
					205	1.91	2.30	+	+	13.2
					358	1.51	0.74	+	+	16.6
					365	1.49	0.67	+	+	16.4
					1965	1.95	1.51	+	+	10.7
					2205	1.92	1.59	+	+	10.6
					25	1.50	1.25	+	+	17.9
					25	1.98	1.13	+	+	18.5
					302	1.76	1.35	+	+	17.4
					320	1.75	1.34	+	+	17.4
					13	1.28	0.47	-	-	ND
					2	-1.94	0.07	-	-	ND
					8	-17.78	0.59	+	+	15.2
					5	-9.40	0.34	+	+	15.2
注意喚起表示群										
ナッツ&フルーツミックス	種実加工品、乾燥果実	注意喚起表示	<0.3	1.7	1503	1.91	2.12	+	-	-5.0
金ごま豆腐		注意喚起表示	<0.3	<0.3	1524	1.88	2.02	+	-	-3.5
ピーナッツオイル	食用落花生油	注意喚起表示	<0.3	<0.3	10	1.80	0.52	+	-	ND
					14	1.61	0.56	+	-	ND
					3	5.45	0.21	-	-	ND
					2	-2.69	0.14	-	-	ND
くるみ無表示群										
ピーナッツペースト	ピーナッツペースト	くるみ無表示	<0.3	<0.3	931	1.85	1.64	+	-	ND
いちじくジャム	いちじくジャム	くるみ無表示	<0.3	<0.3	896	1.85	1.66	+	-	ND
田作り	佃煮	くるみ無表示	0.4	<0.3	3	1.05	0.21	+	-	ND
ジェノベーゼペースト	バジルソース	くるみ無表示	<0.3	0.3	2	0.65	0.12	+	-	ND
えごまドレッシング	乳化液状ドレッシング	くるみ無表示	<0.3	0.4	6814	1.93	2.02	+	-	-1.6
粒マスタード	有機マスタード	くるみ無表示	<0.3	<0.3	5090	1.91	1.88	+	-	-1.9
ステーキ・ハンバーグソース	ステーキソース	くるみ無表示	<0.3	<0.3	757	1.79	1.92	+	-	-3.6
おかかこんぶ	昆布加工品	くるみ無表示	<0.3	<0.3	639	1.85	2.09	+	-	-4.6
しそ巻き	そうざい	くるみ無表示	<0.3	<0.3	108	1.86	1.23	+	-	ND
うどん	半生うどん	くるみ無表示	<0.3	<0.3	85	2.00	1.20	+	-	-5.2
					31	1.86	0.67	+	-	ND
					26	2.12	0.66	+	-	ND
					9	12.14	0.24	+	-	-5.1
					0.2	-0.04	0.01	+	-	ND
					1911	1.95	2.15	+	-	ND
					2037	1.94	2.13	+	-	ND
					80	1.88	1.34	+	-	ND
					76	1.80	1.46	+	-	ND
					1576	1.87	2.08	+	-	ND
					2046	1.88	2.16	+	-	ND

Mキット: FASPEKエライザII くるみ、Nキット: FASTKITエライザVer.III くるみ、ΔCq: 基準プラスミド平均Cq値-試料のCq値、ND: not detected