



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 630 809

(51) Int. CI.:

G01N 33/48 (2006.01) G01N 1/28 (2006.01) G01N 33/02 (2006.01) G01N 33/543 (2006.01) G01N 1/40 G01N 33/538 G01N 33/558 G01N 33/68 (2006.01) A23L 5/20 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

PCT/JP2008/071716 28.11.2008 (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional:

(87) Fecha y número de publicación internacional: 04.06.0009 WO09069779

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 28.11.2008 E 08853849 (1)

19.04.2017 (97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: EP 2224239

(54) Título: Método de inspección de alimentos y kit de inspección de alimentos

(30) Prioridad:

30.11.2007 JP 2007309930

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 24.08.2017

(73) Titular/es:

MORINAGA & CO., LTD. (100.0%) 33-1 SHIBA 5-CHOME, MINATO-KU **TOKYO 108-8403, JP**

(72) Inventor/es:

OYAMA, YURIKO; HONJOH, TSUTOMU; SAKAI, MASATOSHI; WATANABE, ERIKO; ITO, KAORI y TSURUMA, RIEKO

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

DESCRIPCIÓN

Método de inspección de alimentos y kit de inspección de alimentos

5 Campo de la invención

10

15

20

35

40

45

50

55

65

La presente invención se refiere a un método de inspección de alimentos, y un kit de inspección de alimentos cada uno de ellos utilizado para la inspección de la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento.

Antecedentes de la invención

En los últimos años, en respuesta a la creciente preocupación de los consumidores sobre los problemas de alergia a los alimentos, se recomienda proporcionar paquetes de alimentos o similares con etiquetas que indiquen que contienen ingredientes que causan alergia a los alimentos. En particular, en lo que respecta a siete elementos consistentes en trigo, trigo sarraceno, huevos, leche, cacahuetes, camarones y cangrejos, todos ellos que es muy necesario que se indiquen teniendo en cuenta el número de casos de alergia y su gravedad, haciendo por tanto también obligatorio que se requiera a los fabricantes el etiquetado de los alimentos que contienen esos ingredientes bajo la Ley de Saneamiento de Alimentos.

Además, el etiquetado que indica "que contiene un ingrediente especificado", "que no contiene ningún ingrediente especificado", o similar también proporciona un beneficio para los fabricantes debido a que el etiquetado permite que los consumidores reciban sus productos sin ansiedad.

En un alimento procesado a fabricar mediante la mezcla de varios ingredientes, puesto que es complicado el rastreo de registros para los ingredientes individuales, es deseable poder inspeccionar directamente un producto fabricado. Además, en una línea de fabricación se puede producir la contaminación de una sustancia, que no se utiliza como ingrediente. Por lo tanto, desde los puntos de vista operativo y de mantenimiento de un producto y de la prevención de un accidente imprevisto, existe la exigencia de proporcionar un método de inspección de alimentos que se pueda utilizar de manera rápida y sencilla incluso en plantas de fabricación y que se pueda detectar con exactitud si un alimento contiene o no un ingrediente especificado.

En el caso de un alimento procesado, incluso en un componente derivado del mismo ingrediente, existe el problema de que, en algunas condiciones de fabricación, se insolubiliza una sustancia contenida en un ingrediente específico de interés para su inspección y por lo tanto es difícil de extraer. En confitería horneada y similar, apenas se extrae la proteína porque el calentamiento desnaturaliza la proteína y los grupos tiol forman un enlace S-S. Además, también es concebible que una sustancia contenida en un ingrediente específico de interés para su inspección interactúe con otros componentes compuestos en un alimento procesado, y se insolubilice, dando como resultado una pobre eficiencia de extracción.

No se prefiere una pobre eficiencia de extracción durante la preparación de un extracto de un alimento al considerar una demanda para detectar un ingrediente especificado de interés para su inspección con una buena precisión. Además, también es concebible que la pobre eficiencia de extracción genere variaciones en los resultados de la inspección.

Con el fin de hacer frente a los problemas mencionados anteriormente, por ejemplo, el Documento de patente 1 a continuación desvela una invención de un agente de extracción de componentes alimentarios caracterizado por que contiene un agente reductor y un agente solubilizante. Además, el documento de patente describe que la incorporación de un agente reductor para cambiar una estructura proteica y un solubilizante constituido por un tensioactivo, urea y similares en un agente de extracción permite extraer una proteína desnaturalizada y/o no desnaturalizada con mayor eficiencia que nunca.

Además, en inmunocromatografía de métodos de medición inmunológicos, se conoce un fenómeno llamado "fenómeno de prozona" en el que se reduce el valor de una medida cuando una sustancia (antígeno) de interés para su inspección existe en una cantidad excesiva con respecto a la cantidad de un anticuerpo a utilizar. Debido al fenómeno de prozona, ha habido un problema en el sentido de que, cuando una muestra contiene una sustancia (antígeno) de interés para su inspección en gran cantidad, la muestra puede ser evaluada como falso negativo, con el resultado de que la evaluación carece de fiabilidad.

60 Documento de patente 1: JP-A-2006-71509

El documento JP 55 026817 desvela un agente colorante rojo para la coloración de caramelos. El documento US 4.302.200 desvela un proceso para la extracción de un color de tipo antocianina a partir de un producto natural. El documento DE 10 2004 029 887 desvela un suplemento dietético. El documento WO 2004/000032 desvela un proceso para obtener un aislado de proteína de canola más ligero y menos amarillo. El documento JP 2007 278773 desvela un método para detectar la presencia de alérgenos. El documento JP 2006 317226 desvela un reactivo de

detección para detectar la presencia de proteína animal tratada térmicamente en una muestra.

Descripción de la invención

5 Problemas a resolver mediante la invención

Sin embargo, aunque el Documento de patente 1 anterior ejemplifica, como agente reductor, 2-mercaptoetanol, ditiotreitol, o tris (2-carboxietil) fosfina), el 2-mercaptoetanol o el ditiotreitol han sido difíciles de usar en plantas de fabricación de alimentos procesados a causa de su olor irritante. Además, la tris (2-carboxietil) fosfina o su agente reductor análogo, la tris (3-hidroxipropil) fosfina, o similar es un reactivo relativamente caro y por lo tanto es desventajoso en términos de coste. Además, dichos agentes reductores tienen una acción reductora relativamente fuerte, y por lo tanto, la adhesión de una solución altamente concentrada de la misma a la mucosa de la piel provoca inflamación y quemaduras. Por lo tanto, los agentes reductores también han sido difíciles de usar en plantas de fabricación de alimentos procesados desde el punto de vista de la seguridad de los trabajadores.

15

10

Por lo tanto, son objetos de la presente invención proporcionar una técnica de extracción de un componente en un alimento a partir de alimentos usando un agente reductor que es barato y tiene una acción reductora suave, y proporcionar una técnica para suprimir el fenómeno de prozona en la medición de alimentos para la inspección de la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento utilizando inmunocromatografía.

20

25

40

55

Medios para resolver los problemas

Los inventores de la presente invención han estudiado intensamente con el fin de conseguir los objetos anteriormente mencionados. Como resultado, los inventores han centrado su atención en el uso, como agente reductor para extraer un componente de un alimento, de un sulfito tal como sulfito de sodio que es un aditivo alimentario de uso común. Por lo tanto, la presente invención ha sido completada.

Es decir, se proporciona un método de inspección de un componente alimentario de la presente invención.

30 El método de inspección de alimentos de la presente invención es un método de inspección de alimentos para la inspección de la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento, caracterizado porque incluye: poner un alimento en contacto con un agente de extracción que incluye un sulfito para preparar un extracto alimentario en el que se extrae un componente alimentario; a continuación, poner el extracto alimentario en contacto con un anticuerpo específico que reconoce específicamente una sustancia incluida en un ingrediente específico de interés para su inspección; e inspeccionar la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente específicado en un alimento utilizando un método de medición inmunológico usando inmunocromatografía o ELISA.

Según el método de inspección de alimentos de la presente invención, debido a que el agente de extracción contiene un sulfito, incluso en un componente en un alimento fabricado de una proteína o similar, que se ha desnaturalizado mediante cocción o similar para formar un enlace S-S, el sulfito puede aumentar la solubilidad del componente para mejorar la eficiencia de extracción. Además, en el caso de un alimento en forma líquida o en forma de emulsión, se puede promover la solubilización de contenidos sólidos en el alimento. Además, el método se emplea fácilmente incluso en plantas de fabricación de alimentos procesados porque no hay olor.

En el método de inspección de alimentos de la presente invención, el método de medición inmunológico preferentemente es un método que utiliza inmunocromatografía. Por consiguiente, el método de inspección de alimentos de la presente invención se puede emplear muy fácilmente sin necesidad de un dispositivo especial. Además, se prefiere que el anticuerpo específico se marque con un coloide metálico. Por consiguiente, los resultados de las mediciones inmunológicas pueden evaluarse visiblemente mediante el marcador de coloide metálico.

Además, un método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime el fenómeno de prozona, que incluye: poner un alimento en contacto con un agente de extracción para preparar un extracto alimentario en el que se extrae un componente en el alimento; a continuación, poner el extracto alimentario en contacto con un anticuerpo específico que reconoce específicamente una sustancia incluida en un ingrediente específico de interés para su inspección; e inspeccionar la presencia o ausencia y/o la cantidad del ingrediente especificado en el alimento utilizando un método de medición inmunológico, que se caracteriza porque: se usa inmunocromatografía como método de medición inmunológico; y se suprime el fenómeno de prozona durante la medición de inspección de alimentos incorporando dodecilsulfato de sodio y un sulfito en el extracto alimentario.

Según el método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime el fenómeno de prozona, cuando la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento se inspecciona utilizando inmunocromatografía, al incorporar dodecilsulfato de sodio y un sulfito en un extracto alimentario, que se somete a inmunocromatografía, la detectabilidad puede mantenerse en regiones de baja concentración en las que existe una sustancia (antígeno) de interés para su inspección en un extracto alimentario en una cantidad relativamente pequeña, mientras que el fenómeno de prozona puede prevenirse en regiones altamente concentradas en las que existe una sustancia (antígeno) de interés para su inspección en un extracto alimentario en

una cantidad relativamente grande. Esto permite una medición fiable de la inspección de alimentos en un amplio intervalo de regiones de concentración.

Además, en el método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime el fenómeno de prozona, el sulfito es preferentemente al menos un tipo seleccionado entre sulfito de sodio, hidrogenosulfito de sodio, sulfito de potasio, sulfito de amonio, y sulfito de hierro.

Además, en el método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime el fenómeno de prozona, se prefiere que el ingrediente específicado de interés para su inspección sea trigo, y el anticuerpo específico sea un anticuerpo específico para la gliadina. En este caso, el extracto alimentario, que se somete a inmunocromatografía, contiene gliadina en una concentración preferentemente de 10 ng/ml a 100 µg/ml.

Además, en el método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime el fenómeno de prozona, se prefiere que el ingrediente especificado de interés para su inspección sea la leche, y el anticuerpo específico sea un anticuerpo específico para la caseína. En este caso, el extracto alimentario, que se somete a inmunocromatografía, contiene caseína en una concentración preferentemente de 50 ng/ml a 100 µg/ml.

Mientras tanto, un kit de inspección de alimentos de la presente invención es un equipo de inspección de alimentos para la inspección de la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento, y se caracteriza por incluir: (1) un agente de extracción y un sulfito a añadir al agente de extracción o un agente de extracción que incluye un sulfito añadido; y (2) un anticuerpo que reconoce específicamente una sustancia incluida en un ingrediente específico de interés para su inspección.

De acuerdo con el kit de inspección de alimentos de la presente invención, la inspección de alimentos se puede 25 llevar a cabo a un bajo coste usando, como agente reductor, un sulfito que es un aditivo alimentario.

En el kit de inspección de alimentos de la presente invención, se prefiere que el kit incluya, como sulfito, al menos un tipo seleccionado entre sulfito de sodio, hidrogenosulfito de sodio, sulfito de potasio, sulfito de amonio, y sulfito de hierro. Además, se prefiere que el anticuerpo se fije a un inmunocromatógrafo. Además, se prefiere que el kit de inspección de alimentos incluya además dodecilsulfato de sodio como elemento constituyente del kit.

Efectos de la invención

5

10

15

20

30

35

40

45

50

55

60

Según la presente invención, se usa un sulfito tal como sulfito de sodio, que es un aditivo alimentario utilizado comúnmente como agente reductor para extraer un componente de un alimento, y por lo tanto el sulfito es seguro y fácil de utilizar incluso en plantas de fabricación de alimentos procesados. Además, se puede realizar la extracción para la inspección de alimentos a un bajo coste porque el sulfito es un agente reductor barato. Además, incluso si un sulfito contenido en un agente de extracción aún permanece durante la medición de la formación de un complejo inmunitario con un anticuerpo específico, la medida no se ve afectada negativamente. Además, en la medición utilizando inmunocromatografía, la detectabilidad se puede mantener en regiones de baja concentración en las que existe una sustancia (antígeno) de interés para su inspección en una cantidad relativamente pequeña, mientras que puede evitarse un fenómeno de prozona en regiones altamente concentradas en las que existe una sustancia (antígeno) de interés para su inspección en una cantidad relativamente grande. Esto permite una medición fiable en un amplio intervalo de regiones de concentración.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

El método de la presente invención implica la mezcla de un alimento con un agente de extracción que contiene un sulfito, y la extracción de un componente en el alimento. Una sustancia contenida en un ingrediente especificado (en lo sucesivo, denominada "sustancia de interés para su inspección") se transfiere al agente de extracción junto con otros componentes. La forma de un alimento a inspeccionar puede ser cualquiera de una forma sólida, una forma semisólida, una forma de gelatina, una forma líquida y una forma de emulsión. El sulfito en el agente de extracción puede aumentar la solubilidad de un componente en un alimento para mejorar la eficiencia de extracción porque el sulfito puede reducir los enlaces S-S en una proteína o similar para producir un grupo SH libre. Además, en el caso de un alimento en forma líquida o en forma de emulsión, se puede promover la solubilización de contenidos sólidos en el alimento.

Un ejemplo preferido del sulfito a utilizar en el método de la presente invención incluye sulfito de sodio, que es un aditivo alimentario de uso común. El sulfito se puede usar en una combinación de dos o más tipos de los mismos.

La concentración del sulfito a utilizar en el agente de extracción puede ajustarse apropiadamente dependiendo de las características del alimento a inspeccionar o de una "sustancia de interés para su inspección". Por ejemplo, cuando se usa sulfito de sodio como agente reductor, se recomienda ajustar la concentración de aproximadamente 0,0001 a 1 M, preferentemente de 0,005 a 0,5 M, o más preferentemente de 0,05 a 0,2 M.

Además, al agente de extracción anteriormente mencionado puede añadirse un adyuvante de solubilización para ayudar a la solubilización de un componente en un alimento. Ejemplos del adyuvante de solubilización que se puede usar generalmente incluyen adyuvantes de solubilización usados habitualmente tales como dodecilsulfato de sodio (en lo sucesivo, denominado SDS), urea, y un tensioactivo no iónico. El adyuvante de solubilización se puede usar en una combinación de dos o más clases de los mismos.

La concentración del adyuvante de solubilización anteriormente mencionado en el agente de extracción puede ajustarse apropiadamente dependiendo de las características del alimento a inspeccionar o de una "sustancia de interés para su inspección". Por ejemplo, cuando se usa SDS como adyuvante de solubilización, se recomienda ajustar la concentración de aproximadamente el 0,01 al 10% en p/v, preferentemente del 0,03 al 5% en p/v, o más preferentemente del 0,1 al 1% en p/v.

10

15

35

40

45

50

55

60

El agente de extracción anteriormente mencionado se puede preparar mediante la disolución del sulfito anteriormente mencionado o tanto el sulfito anteriormente mencionado como el adyuvante de solubilización anteriormente mencionado en un disolvente acuoso. Para un medio acuoso, se puede usar, por ejemplo, tampón de Tris-HCl, agua o un tampón fosfato de uso general. Además, teniendo en cuenta la facilitación de las operaciones después de la extracción, el pH del agente de extracción anteriormente mencionado generalmente se ajusta preferentemente a un pH de 6 a 8,5.

Por ejemplo, medios bien conocidos, tales como agitación, mezcla, centrifugación y filtración se pueden usar adecuadamente para la extracción para preparar un extracto alimentario. En este caso, se desea que un alimento se pulverice o se forme en una pasta para aumentar el área de contacto con el agente de extracción, y la mezcla se llevará a cabo en un estado de contacto. Esto permite aumentar la eficiencia de la extracción. Además, en este caso, la relación de masa de un alimento a un agente de extracción preferentemente es de 10 a 100 del agente de extracción con respecto a 1 del alimento. Esto permite preparar un extracto alimentario altamente concentrado. En el extracto alimentario extraído como se ha descrito anteriormente, una "sustancia de interés para su inspección" en un alimento se transfiere al extracto junto con otros componentes. En este caso, en la presente invención, la sustancia de interés para su inspección no necesariamente es de una sola clase. En cambio, se pueden usar dos o más sustancias de interés para su inspección con respecto a un ingrediente especificado.

Mientras tanto, el método de inspección de alimentos de la presente invención es un método de inspección de alimentos para la inspección de la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento usando un anticuerpo específico que reconoce específicamente una "sustancia de interés para su inspección".

En el método de inspección de alimentos de la presente invención, primero, se extrae un componente en un alimento de la comida por el método anteriormente mencionado para preparar un extracto alimentario. Debe observarse que, tal como se describe más adelante, debe formarse un complejo inmunitario de una "sustancia de interés para su inspección" y un anticuerpo específico. Por lo tanto, deben fijarse varias condiciones tales como una concentración salina, un pH, una temperatura y un tiempo durante la preparación del extracto alimentario anteriormente mencionado en un intervalo tal que la "sustancia de interés para su inspección" no pierda la antigenicidad al anticuerpo específico.

A continuación, el extracto alimentario obtenido se pone en contacto con un anticuerpo específico que reconoce específicamente una "sustancia de interés para su inspección". Como resultado, se forma un complejo inmunitario mediante un mecanismo de unión de una reacción antígeno-anticuerpo bien conocida. En este caso, el extracto alimentario mencionado anteriormente es un concepto que incluye una preparación que se somete apropiadamente a un tratamiento tal como dilución, concentración y ajuste del pH para conseguir una condición óptima para la formación de un complejo inmunitario y para un método de medición inmunológico como se describe más adelante. El método de medición inmunológico para medir la formación del complejo inmunitario tal como se ha descrito anteriormente puede detectar la presencia de una "sustancia de interés para su inspección" y además puede inspeccionar la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento.

La preparación de un anticuerpo específico que reconoce específicamente una sustancia especificada es bien conocida para un experto en la técnica. Por ejemplo, el Documento de patente 1 (JP-A-2003-294737) anterior desvela "una fracción de IgG o un anticuerpo policional de un suero obtenido a partir de un suero de un mamífero inmunizado con un antígeno formado principalmente por una fracción proteica correspondiente de 70 a 500 kDa de trigo sarraceno", el Documento de patente 2 (JP-A-2003-294738) anterior desvela "una fracción de IgG o un anticuerpo policional de un suero obtenido a partir de un suero de un mamífero inmunizado con un antígeno formado principalmente por una fracción proteica correspondiente de 30 a 100 kDa de cacahuetes", y el Documento de patente 3 (JP-A-2003-294748) anterior desvela "un anticuerpo obtenido a partir de un suero de un mamífero inmunizado con una proteína derivada de albúmina". Dicha técnica bien conocida puede usarse para preparar un anticuerpo específico que reconozca específicamente una "sustancia de interés para su inspección".

En el método de inspección de alimentos de la presente invención, se mide la formación de un complejo inmunitario utilizando un anticuerpo específico por los métodos de medición inmunológicos bien conocidos, un método de ELISA y inmunocromatografía. De éstos, preferentemente se usa inmunocromatografía porque no hay necesidad de usar un instrumento de medición, los resultados de la medición inmunológica se pueden juzgar visualmente de una manera simple, y la velocidad es rápida y la sensibilidad también es alta. El principio de la inmunocromatografía es bien conocido por un experto en la materia tal como se describe en los documentos JP-A-05-5743 y JP-A-2002-202307.

Sin embargo, para su confirmación se describe brevemente un ejemplo del principio. Un primer anticuerpo específico se inmoviliza en forma de banda en una región especificada (posición de la línea de ensayo) en un soporte de película delgada, tal como una membrana de celulosa, y se retiene un segundo anticuerpo específico marcado de manera móvil en una porción de goteo de la muestra o que está adyacente aguas abajo en las otras regiones. En lo sucesivo, en la presente invención, un vehículo soportado con anticuerpo construido como se ha descrito anteriormente se denomina "inmunocromatógrafo".

10

15

20

25

30

40

50

55

Cuando se gotea un objetivo de análisis a una porción de goteo de muestra junto con un disolvente para el objetivo de análisis, el objetivo de análisis y el segundo anticuerpo específico marcado se revelan en el soporte de película delgada por un fenómeno capilar. Si el objetivo de análisis contiene una "sustancia de interés para su inspección", el segundo anticuerpo específico, que se ha revelado de la misma manera que el objetivo de análisis durante el revelado del objetivo de análisis en el soporte de película delgada, se une a una "sustancia de interés para su inspección". En este caso, el segundo anticuerpo específico está unido preliminarmente a una sustancia coloreada o colorante como marcador, y por lo tanto, la "sustancia de interés para su inspección" se une al marcador. Después de esto, la "sustancia de interés para su inspección" se une a un primer anticuerpo específico inmovilizado en una posición de la línea de ensayo, y el primer anticuerpo específico se une al segundo anticuerpo específico como un sándwich a través de la "sustancia de interés para su inspección". Como resultado, debido a que los marcadores se reúnen en la posición de la línea de ensayo, parece que se forma una banda en la posición de la línea de ensayo. Con la aparición de la banda, se juzga que la "sustancia de interés para su inspección" existe en el objetivo de análisis. Mientras tanto, cuando el objetivo de análisis no contenga la "sustancia de interés para su inspección" o contenga una "sustancia de interés para su inspección" en una cantidad igual o inferior al límite de detección, no aparece una banda en la posición de la línea de ensayo. La inmunocromatografía es un método rápido y sencillo, que tarda aproximadamente de 5 a 15 minutos después de que el objetivo de análisis se haya goteado a una porción de goteo de muestra.

Los ejemplos del marcador anteriormente mencionado que se pueden usar incluyen un coloide metálico, un marcador enzimático, partículas de látex coloreadas, y partículas de carbono, y en términos de facilidad en el marcaje de un anticuerpo se prefiere un coloide de oro.

En este caso, la razón por la que se produce el fenómeno de prozona en la inmunocromatografía probablemente se deba a que una sustancia (antígeno) de interés existe en exceso, y por lo tanto se une al primer anticuerpo específico y al segundo anticuerpo específico mencionados anteriormente en un estado de sobresaturación, que inhibe la formación de una estructura en sándwich a través de la "sustancia de interés para su inspección" en la posición de la línea de ensayo.

En el método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime el fenómeno de prozona, se prefiere incorporar preliminarmente dodecilsulfato de sodio y un sulfito en un agente de extracción para su puesta en contacto con un alimento. Además, se recomienda incorporar dodecilsulfato de sodio y un sulfito en un extracto alimentario, que se somete a inmunocromatografía.

Además, la cantidad de dodecilsulfato de sodio se ajusta para que la concentración del mismo en el extracto alimentario, que se somete a la inmunocromatografía, alcance preferentemente de aproximadamente el 0,01 al 5% en p/v, más preferentemente de aproximadamente el 0,02 al 3% en p/v o, lo más preferentemente, de aproximadamente el 0,02 al 1% en p/v. No se prefiere una concentración inferior al intervalo mencionado anteriormente porque el efecto de supresión del fenómeno de prozona es pobre. Además, no se prefiere una concentración superior al intervalo mencionado anteriormente, porque, por el contrario, la detectabilidad por inmunocromatografía puede verse afectada. Para el ajuste a la concentración anteriormente mencionada, se recomienda que el extracto anteriormente mencionado se diluya apropiadamente con, por ejemplo, medios acuosos tales como agua, un tampón fosfato usado habitualmente o un tampón de Tris-HCI. El aumento de la dilución preferentemente es de 5 a 20 veces.

Mientras tanto, la cantidad del sulfito se ajusta para que la concentración del mismo en un extracto alimentario, que se somete a la inmunocromatografía, alcance preferentemente de aproximadamente 0,0001 a 1 M, más preferentemente de aproximadamente 0,005 a 0,03 M. No se prefiere una concentración inferior al intervalo mencionado anteriormente porque el efecto de solubilización de una sustancia (antígeno) de interés para su inspección estable a partir de un alimento procesado es deficiente.

Además, no se prefiere una concentración superior al intervalo mencionado anteriormente, porque, por el contrario, la detectabilidad por inmunocromatografía puede verse afectada. Para el ajuste a la concentración anteriormente

mencionada, se recomienda que el extracto anteriormente mencionado se diluya apropiadamente con, por ejemplo, medios acuosos tales como agua, un tampón fosfato usado habitualmente o un tampón de Tris-HCl. El aumento de la dilución preferentemente es de 5 a 20 veces.

Entre los ejemplos de sulfito a utilizar en el método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime un fenómeno de prozona se incluyen sulfito de sodio, hidrogenosulfito de sodio, sulfito de potasio, sulfito de amonio, y sulfito de hierro. Además, los ejemplos preferidos incluyen sulfito de sodio que es un aditivo alimentario de uso común. Estos sulfitos se pueden usar en una combinación de dos o más tipos de los mismos.

El método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime el fenómeno de prozona se aplica preferentemente cuando un ingrediente especificado de interés para su inspección es el trigo, y se usa un anticuerpo específico para la gliadina como anticuerpo específico, por ejemplo. En este caso, el extracto alimentario sometido a inmunocromatografía contiene gliadina a una concentración preferentemente de 10 ng/ml a 100 μg/ml, más preferentemente de 10 ng/ml a 100 μg/ml, o lo más preferentemente de 10 μg/ml a 100 μg/ml. No se prefiere una concentración inferior al intervalo mencionado anteriormente porque la detección se hace difícil. Además, no se prefiere una concentración superior al intervalo mencionado anteriormente, porque, por el contrario, la detectabilidad por inmunocromatografía puede verse afectada.

El método de inspección de alimentos de la presente invención en el que se suprime el fenómeno de prozona preferentemente se aplica cuando un ingrediente especificado de interés para su inspección es la leche, y se utiliza un anticuerpo específico para la caseína como anticuerpo específico, por ejemplo. En este caso, el extracto alimentario sometido a inmunocromatografía contiene caseína en una concentración preferentemente de 50 ng/ml a 100 μg/ml, o más preferentemente de 10 μg/ml a 100 μg/ml. No se prefiere una concentración inferior al intervalo mencionado anteriormente porque la detección se hace difícil. Además, no se prefiere una concentración superior al intervalo mencionado anteriormente, porque, por el contrario, la detectabilidad por inmunocromatografía puede verse afectada

Mientras tanto, el kit de inspección de alimentos de la presente invención puede utilizarse adecuadamente para un método para la inspección de la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento. En particular, el kit de inspección de alimentos se puede usar preferentemente para el método de inspección de alimentos anteriormente mencionado de la presente invención.

Entre los ejemplos de sulfito a utilizar en el kit de inspección de alimentos de la presente invención se incluyen sulfito de sodio, hidrogenosulfito de sodio, sulfito de potasio, sulfito de amonio, y sulfito de hierro. Se prefiere el sulfito de sodio que es un aditivo alimentario de uso común. El sulfito se puede usar en una combinación de dos o más tipos de los mismos. El sulfito, que se ha disuelto en un disolvente tal como agua o un tampón, se puede suministrar al kit de inspección de alimentos de la presente invención.

El kit de inspección de alimentos de la presente invención además puede incluir dodecilsulfato de sodio como elemento constitutivo del kit. El dodecilsulfato de sodio, que se ha disuelto en un disolvente tal como agua o tampón, se puede suministrar al kit de inspección de alimentos de la presente invención.

En el kit de inspección de alimentos de la presente invención, un anticuerpo que reconoce específicamente una sustancia contenida en un ingrediente específico de interés para su inspección está fijado deseablemente a un inmunocromatógrafo. En este caso, el término "fijado" significa que dos o más objetos están unidos entre sí y están en tal estado que su separación solamente se puede conseguir por destrucción o pago de gastos excesivos. Es decir, el término significa que un anticuerpo que reconoce específicamente una sustancia contenida en un ingrediente específico de interés para su inspección está soportado, se retiene o se inmoviliza en un inmunocromatógrafo, por ejemplo. A continuación, cuando el anticuerpo anteriormente mencionado está fijado a un inmunocromatógrafo, el anticuerpo se mantiene, por ejemplo, o se inmoviliza directamente sobre un soporte de película delgada, tal como una membrana de celulosa que forma el inmunocromatógrafo, o se retiene, por ejemplo, en una pieza porosa pequeña como papel de filtro unido a un soporte de película delgada.

Ejemplos

En lo sucesivo, la presente invención se describe específicamente a modo de ejemplos, pero estos ejemplos no tienen la intención de limitar el alcance de la presente invención.

<Ejemplo de ensayo 1> (Detección de gliadina de trigo)

Cada alimento procesado como se describe en la Tabla 1 a continuación se homogeneizó con un mezclador. A 1 g del producto homogeneizado se le añadieron 19 ml de un agente de extracción como se muestra en la Tabla 2 a continuación y la mezcla se agitó a un ciclo de aproximadamente 100 rpm durante 12 a 16 horas. La mezcla agitada se centrifugó a 3000 x g durante 20 minutos. El sobrenadante se filtró con papel de filtro (ADVANTEC n.º 5A) para preparar un extracto alimentario.

65

10

15

20

25

30

35

40

45

El extracto alimentario se midió con el kit de medición de trigo de Morinaga FASPEK (gliadina) (fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.). El extracto alimentario se diluyó 20 veces con el diluyente de muestra I en el kit. Debe tenerse en cuenta que cuando la concentración total de proteína de trigo en el extracto alimentario diluido es superior a 50 ng/ml, el extracto alimentario se diluye adicionalmente para ajustar la concentración total de proteína de trigo en el extracto alimentario diluido a 1 a 50 ng/ml. Después de eso, se vierten 100 µl del extracto alimentario diluido en un pocillo de plástico que tiene un anticuerpo primario inmovilizado, y se incuba durante 1 hora. El pocillo de plástico se lavó con una solución de lavado preparada preliminarmente y después se realizó una reacción con un anticuerpo marcado con enzima durante 30 minutos. Después de eso, el pocillo de plástico se lavó con una solución de lavado preparada preliminarmente, y se suplementó con una solución de sustrato enzimático. Después de una reacción durante 10 minutos, la reacción se terminó con una solución de reacción final. Las absorbancias a una longitud de onda principal de 450 nm y una longitud de subfrecuencia de 620 nm se midieron en los 30 minutos siguientes a la terminación de la reacción. La concentración total de proteína de trigo en una dilución de la muestra se determinó mediante la aplicación de las absorbancias medidas a una curva de calibración, que se había preparado mediante una medición paralela. Además, la concentración total de proteína de trigo en una muestra se determinó multiplicando la concentración total de proteína de trigo en una dilución de la muestra por el aumento de la dilución. En este caso, la proteína total de trigo se midió dos veces en cada condición. y los valores de la Tabla 1 a continuación son valores medios de las mediciones (en adelante, todos los resultados de los ejemplos de ensayo descritos en esta descripción se expresan cada uno como un promedio de los valores obtenidos de la medición por duplicado).

Tabla 1

		- -	
Alimentos procesados	Ejemplo 1	Ejemplo comparativo 1-1	Ejemplo comparativo 1-2
Galletas "cookie Kyoro-chan (Nombre comercial)" fabricado por Morinaga & CO., LTD.	36.817	31.504	6073
Pan (producto disponible en el mercado)	72.425	81.709	16.190
Artículos de chocolate "Chocoball" fabricado por Morinaga & CO., LTD.	1450	1522	683
Stew (roux) (producto disponible en el mercado)	20.066	16.752	7967
Curry (retorta) (producto disponible en el mercado)	3326	3228	3,72
Hamburguesas (retorta) (producto disponible en el mercado)	5103	4663	9,59
Unidad: ppm			

Tabla 2

Nº de agente de extracción	Composición
Ejemplo 1	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,5% y Na ₂ SO ₃ 0,1 M
Ejemplo comparativo 1-1	Diluyente de muestra que contiene SDS al 0,5% y 2-ME³ al 2%
Ejemplo comparativo 1-2	Diluyente de muestra

^{1:} dodecilsulfato de sodio

25

10

15

20

Como se muestra en la Tabla 1, se aclaró que un agente de extracción que contiene sulfito de sodio y SDS presentaba una alta eficiencia de extracción en comparación con un agente de extracción sin ambos agentes. Además, la eficacia de la extracción con el agente de extracción que contiene sulfito de sodio y SDS fue casi el mismo valor que con el agente de extracción que contiene 2-mercaptoetanol y SDS.

30

<Ejemplo de ensayo 2> (Detección de la proteína soluble de trigo sarraceno)

Con la misma operación que en el Ejemplo de ensayo 1, se utilizó cada uno de los alimentos procesados que se describe en la Tabla 3 a continuación para preparar un extracto alimentario de la comida procesada. Se han usado agentes de extracción cada uno que tiene la composición mostrada en la Tabla 2.

El extracto alimentario se midió con el kit de medición de trigo sarraceno Morinaga FASPEK (fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.) para determinar la concentración de una proteína de trigo sarraceno de la misma manera que en el Ejemplo de ensayo 1.

40

²: preparado por dilución de un diluyente de muestra (concentrado 20 veces) incluido en el "kit de medición del ingrediente especificado de Morinaga FASPEK" fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc. a 1 vez (correspondiente al "Diluyente de muestra I" en el kit)

^{3: 2-}mercaptoetanol

Tabla 3

Alimentos procesados	Ejemplo 1	Ejemplo comparativo 1-1	Ejemplo comparativo 1-2
Trigo sarraceno hervido (producto disponible en el mercado)	17.799	12.660	10.762
Fideos instantáneos de olla (trigo sarraceno) (producto disponible en el mercado)	14.589	12.821	7051
Confitería horneada que contiene harina de trigo sarraceno (producto disponible en el mercado)	1175	1306	254
Refresco (té de trigo sarraceno) (producto disponible en el mercado)	2,9	2,7	- *
* Por debajo del límite de medición Unidad: ppm			

Como se muestra en la Tabla 3, se aclaró que el agente de extracción que contiene sulfito de sodio y SDS presentaba una alta eficiencia de extracción en comparación con un agente de extracción sin ambos agentes. Además, la eficacia de la extracción con el agente de extracción que contiene sulfito de sodio y SDS fue casi el mismo valor que con el agente de extracción que contiene 2-mercaptoetanol y SDS.

<Ejemplo de ensayo 3> (Detección de caseína de la leche por inmunocromatografía)

Se preparó un alimento procesado modelo que contiene caseína de leche mezclando 10 µg de leche liofilizada por g de un ingrediente de alimentos procesados como se describe a continuación. Cada alimento procesado se preparó de acuerdo con un método convencional.

- Mermelada de fresa: 58 partes de fresa, 41 partes de azúcares, 0,8 partes de pectina, y 0,2 partes de ácido cítrico
 - Zumo: 9 partes de zumo de naranja concentrado, 9 partes de azúcar, 0,16 partes de ácido cítrico, 0,02 partes de ácido ascórbico, y 81,8 partes de aqua
- Galleta: 67 partes de harina de trigo, 6,7 partes de materia grasa, 13,4 partes de azúcar, 0,5 partes de sal, 0,9
 partes de un agente de crecimiento, 0,1 partes de ácido, 0,07 partes de un emulsionante, y 0,01 partes de una proteasa

De la misma manera que en el Ejemplo de ensayo 1, cada extracto de muestra se preparó a partir del modelo de alimentos procesados anteriormente mencionado que contiene caseína de leche utilizando el agente de extracción del Ejemplo 1 o Ejemplo comparativo 1-1 anterior. La caseína de la leche en el extracto se detectó mediante inmunocromatografía. La medición se realizó mediante inmunocromatografía usando un kit para la detección de la gliadina del trigo, "kit de inspección de alérgenos alimentarios del trigo Nanotrap (gliadina)" (nombre comercial, fabricado por ROHTO Pharmaceutical Co., Ltd.) y un kit para la caseína de la leche, "kit de inspección de alérgenos alimentarios de la leche Nanotrap (caseína)" (nombre comercial, fabricado por ROHTO Pharmaceutical Co., Ltd.). Específicamente, se gotearon 200 µl de cada extracto de muestra diluida 20 veces a una porción de la muestra de goteo en una placa de ensayo inmunocromatográfico, y después de 15 minutos, la presencia o ausencia de aparición de la banda o la densidad de contraste de la banda se observó a una posición de la línea de ensayo que soporta un anticuerpo específico para la gliadina o caseína. La Tabla 4 muestra los resultados.

35 Tabla 4

10

25

40

45

		Ejemplo 1	Ejemplo comparativo 1-1
	Mermelada de fresa	ı	++
Inmunocromatógrafo (Gliadina)	Zumo	-	++
	Galleta	+	++
	Mermelada de fresa	+	++
Inmunocromatógrafo (Caseína)	Zumo	+	++
	Galleta	+	++

(En la tabla, -, +, ++ y significa, en base a la densidad de contraste de una banda que ha aparecido en una posición de aparición de la línea de ensayo inmunocromatográfica, -: sin aparición de banda, +: banda débil, y ++: banda fuerte)

Como se muestra en la Tabla 4, en la inmunocromatografía para cada extracto de la muestra preparada usando un agente de extracción (Ejemplo comparativo 1-1) que contiene 2-mercaptoetanol (2-ME) como agente reductor, con respecto tanto de una placa de ensayo que tiene un anticuerpo específico para la gliadina soportada en una posición de aparición de la línea de ensayo como de una placa de ensayo con un anticuerpo específico para la caseína soportada en una posición de aparición de la línea de ensayo, se observó una banda fuerte en la posición de aparición de la línea de ensayo. Se aclaró que esta banda se produjo por una reacción de falso positivo puesto que dicha banda también se observó solo en la medida en que un agente de extracción que contiene 2-mercaptoetanol (2-ME) se goteó a una porción de goteo de la muestra.

Mientras tanto, en el caso de utilizar un agente de extracción (Ejemplo 1) que contiene sulfito de sodio (Na₂SO₃) como agente reductor, se observó una banda positiva en una posición de aparición de la línea de ensayo solamente en la placa de ensayo con un anticuerpo específico para la caseína soportado en una posición de aparición de la línea de ensayo, y no se presentó ninguna reacción de falso positivo.

Por lo tanto, en un método de medición utilizando inmunocromatografía (flujo lateral) con un anticuerpo unido a un coloide de oro, era concebible que un agente reductor (2-mercaptoetanol) que tiene un grupo tiol causase una agregación de partículas de un coloide de oro, látex, o similar con el que se había marcado un anticuerpo, lo que resulta en una reacción de falso positivo. Además, se reveló que el uso de sulfito de sodio (Na₂SO₃) permite evitar la reacción de falso positivo, lo que lleva a una detección precisa.

Los resultados de los Ejemplos de ensayo 1 a 3 anteriores revelaron que un sulfito que era barato y tenía una acción reductora suave era útil como agente reductor para extraer un componente de un alimento.

<Ejemplo de ensayo 4> (Detección de gliadina de trigo)

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Con el fin de evaluar, durante la medición de la gliadina de trigo por inmunocromatografía, cómo se ve afectada la medición por la presencia de dodecilsulfato de sodio (SDS) y sulfito de sodio en una solución de ensayo, se realizó el siguiente ensayo.

En primer lugar, a 1 g de harina de trigo se le añadió 19 µl de un agente de extracción como se muestra en la Tabla 5 a continuación, y la mezcla se agitó con un mezclador de vórtice a su velocidad máxima durante 1 minuto. El producto resultante se hierve a 100 °C durante 10 minutos, se devolvió a una temperatura normal, y después se centrifugó a 3000 x g durante 20 minutos. El sobrenadante se filtró con papel de filtro (ADVANTEC n.º 5A) para preparar un extracto de harina de trigo. Con respecto al extracto de harina de trigo, la concentración se determinó por separado por un método de ELISA usando el kit de medición de trigo de Morinaga FASPEK (gliadina) (fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.). Un procedimiento específico es como se describe a continuación.

Es decir, el extracto de harina de trigo se diluyó 20 veces con diluyente de muestra I en el kit. Cabe señalar que, cuando la concentración total de proteína de trigo en la dilución es superior a 50 ng/ml, el extracto de harina de trigo se diluyó adicionalmente a fin de ajustar la concentración total de proteína de trigo de 1 a 50 ng/ml. Después de eso, se vertieron 100 µl de la muestra objeto en un pocillo de plástico que tiene un anticuerpo primario inmovilizado, y se incubaron durante 1 hora. El pocillo de plástico se lavó con una solución de lavado preparada previamente y, a continuación se realizó una reacción con un anticuerpo marcado con enzima durante 30 minutos. Después de eso, el pocillo de plástico se lavó con una solución de lavado preparada previamente, y se suplementó con una solución de sustrato enzimático. Después de una reacción durante 10 minutos, la reacción se terminó con una solución de terminación de la reacción. Las absorbancias a una longitud de onda principal de 450 nm y una sublongitud de onda de 620 nm se midieron en los 30 minutos siguientes a la terminación de la reacción. La concentración total de proteína de trigo en la muestra objeto se determinó mediante la aplicación de las absorbancias medidas a una curva de calibración, que se había preparado mediante una medición en paralelo utilizando la proteína total de trigo como sustancia patrón. Además, la concentración total de proteína de trigo en el extracto de harina de trigo se determinó multiplicando la concentración total de proteína de trigo en la muestra objeto por la ampliación de la dilución.

De aguí en adelante, el extracto de harina de trigo se utilizó como patrón.

El patrón del extracto de harina de trigo como se describe anteriormente se diluyó en serie en el intervalo de 1 ng a 100 µg usando un diluyente convencional (dilución de 5 veces de agente de extracción) del Ejemplo 2 que contiene SDS y un sulfito como se muestra en la Tabla 5 a continuación. Además, con el fin de comparar, también se prepararon diluciones en serie utilizando un diluyente convencional del Ejemplo comparativo 2 y sin SDS y sulfito como se muestra en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5

	1 dold 0
	Composición
Agente de extracción	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,6% y Na ₂ SO ₃ 0,1 M
Diluyente convencional	
Ejemplo 2	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,12% y Na ₂ SO ₃ 0,02 M
Ejemplo comparativo 2	Diluyente de muestra ²

^{1:} dodecilsulfato de sodio

Esas diluciones en serie se midieron con un kit para la medición inmunocromatográfica de la gliadina del trigo, "kit

²: preparado por dilución de un diluyente de muestra (concentrado 20 veces) incluido en el "kit de medición del ingrediente especificado de Morinaga FASPEK" fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc. a 1 vez (correspondiente al "Diluyente de muestra I" en el kit)

del método inmunocromatográfico para un ingrediente específico de la serie Nanotrap de Morinaga (trigo)" (nombre comercial, fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.). Es decir, 200 µl de cada una de las diluciones en serie mencionadas anteriormente como soluciones de ensayo se gotearon a una porción de la muestra de goteo en un palo, y después de unos 15 minutos, se observó visualmente la presencia o ausencia de aparición de la banda o la densidad de contraste de la banda en una posición de la línea de ensayo que soporta un anticuerpo específico para la gliadina. Además, la intensidad de la banda se midió usando un instrumento de medición que utiliza reflexión óptica, "Immunochromato Reader C10066" (nombre del producto, fabricado por Hamamatsu Photonics KK) y se expresó como valor numérico, es decir, un valor de mABS (absorbancia). La Tabla 6 muestra los resultados colectivamente. Además, la Fig. 1 es un gráfico que ilustra, como valor numérico, la intensidad de la banda.

Tabla 6

		Diluyente c	onvencional	
SDS/sulfito	que contiene SDS	S/sulfito (Ejemplo 2)	SDS/sulfito (Ejemp	plo comparativo 2)
Concentración de gliadina (ng/ml)	mABS	Observación visual	mABS	Observación visual
blanco	0,0	-	7,0	-
1 ng/ml	5,2	-	4,0	-
10 ng/ml	42,1	±	38,3	±
50 ng/ml	115,8	+	98,8	+
100 ng/ml	157,6	+	58,6	+ *
1 µg/ml	192,6	+	70,0	+ *
10 μg/ml	92,6	+	30,7	± *
100 μg/ml	48,2	±	7,0	-
* Fue difícil hacer una evaluación debido a una membrana de color rojo				

Como se muestra en la Tabla 6 o la Figura 1, en un sistema (Ejemplo comparativo 2) que utiliza una solución de ensayo sin SDS y sulfito de sodio, cuando la concentración de gliadina alcanzó aproximadamente de 50 a 100 ng/ml, se redujo el valor de mABS, se observó un fenómeno de prozona, y se hizo difícil hacer una evaluación de la densidad de contraste de la banda debido a una membrana que en sí era de color rojo. Además, cuando la concentración de gliadina alcanzó 100 µg/ml, se hizo imposible reconocer la banda, dando lugar a resultados de falso negativo. Por otro lado, en un sistema (Ejemplo 2) que utiliza una solución de ensayo que contiene SDS y sulfito de sodio, fue posible reconocer la banda cuando la concentración de gliadina alcanzó aproximadamente 10 ng/ml, no se produjo fenómeno de prozona incluso cuando la concentración de gliadina alcanzó aproximadamente 1 µg/ml, y además, no fue difícil hacer una evaluación de la densidad de contraste de la banda antes de que la concentración de gliadina alcanzase 100 µg/ml.

Por lo tanto, se aclaró que, durante la detección de la gliadina de trigo por inmunocromatografía, se puede realizar la medición más fiable en un sistema de SDS/sulfito en un amplio intervalo de regiones de concentración.

<Ejemplo de ensayo 5> (Detección de la caseína de la leche)

30 Con el fin de evaluar, durante la medición de la caseína de leche por inmunocromatografía, cómo se ve afectada la medición por la presencia de dodecilsulfato de sodio (SDS) y sulfito de sodio en una solución de ensayo, se realizó el siguiente ensayo.

En primer lugar, a 1 g de leche se le añadió 19 µl de un agente de extracción como se muestra en la Tabla 7 a continuación, y la mezcla se agitó con un mezclador de vórtice a su velocidad máxima durante 1 minuto. El producto resultante se hierve a 100 °C durante 10 minutos, se devolvió a una temperatura normal, y después se centrifugó a 3000 x g durante 20 minutos. El sobrenadante se filtró con papel de filtro (ADVANTEC n.º 5A) para preparar un extracto de leche. Con respecto al extracto de leche, la concentración se determinó por separado por un método de ELISA usando el kit de medición de la leche de Morinaga FASPEK (caseína) (fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.). Un proceso específico es como se describe a continuación.

Es decir, el extracto de leche se diluyó 20 veces con diluyente de muestra I en el kit. Cabe señalar que, cuando la concentración total de proteína de la leche en la dilución es superior a 50 ng/ml, el extracto de leche se diluyó adicionalmente a fin de ajustar la concentración total de proteína de la leche de 1 a 50 ng/ml. Después de eso, de la misma manera que en el Ejemplo de ensayo 4, se determinó la proteína total de la leche en una muestra objeto, y, además, se determinó la proteína total de la leche en el extracto de leche multiplicando la proteína total de la leche en la muestra objeto por la ampliación de la dilución.

De aquí en adelante, el extracto de leche se utiliza como patrón.

50

45

10

15

El patrón del extracto de la leche como se describe anteriormente se diluyó en serie en el intervalo de 1 ng a 100 µg usando un diluyente convencional (dilución de 5 veces de agente de extracción) del Ejemplo 3 que contiene SDS y un sulfito como se muestra en la Tabla 7 a continuación. Además, con el fin de comparar, también se prepararon diluciones en serie utilizando un diluyente convencional del Ejemplo comparativo 3 sin SDS y sulfito como se muestra en la Tabla 7 a continuación.

Tabla 7

	Composición
Agente de extracción	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,6% y Na ₂ SO ₃ 0,1 M
Diluyente convencional	
Ejemplo 3	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,12% y Na ₂ SO ₃ 0,02 M
Ejemplo comparativo 3	Diluyente de muestra ²

^{1:} dodecilsulfato de sodio

Esas diluciones en serie se midieron con un kit para la medición inmunocromatográfica de la caseína de la leche, "kit del método inmunocromatográfico para un ingrediente específico de la serie Nanotrap de Morinaga (leche)" (nombre comercial, fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.). Es decir, 200 µl de cada una de las diluciones en serie mencionadas anteriormente como soluciones de ensayo se gotearon a una porción de la muestra de goteo en un palo, y después de unos 15 minutos, se observó visualmente la presencia o ausencia de aparición de la banda o la densidad de contraste de la banda en una posición de la línea de ensayo que soporta un anticuerpo específico para la caseína. Además, la intensidad de la banda se midió usando un instrumento de medición que utiliza reflexión óptica, "Immunochromato Reader C10066" (nombre del producto, fabricado por Hamamatsu Photonics KK) y se expresó como valor numérico, es decir, un valor de mABS (absorbancia). La Tabla 8 muestra los resultados colectivamente. Además, la Fig. 2 es un gráfico que ilustra, como valor numérico, la intensidad de la banda.

Tabla 8

		Diluyente co	onvencional	
SDS/sulfito	que contiene SDS	/sulfito (Ejemplo 3)	SDS/sulfito (Ejem	olo comparativo 3)
Concentración de gliadina (ng/ml)	mABS	Observación visual	mABS	Observación visual
blanco		-		-
1 ng/ml	4,6	-	12,9	-
10 ng/ml	15,1	-	37,1	±
50 ng/ml	88,9	+	185,7	+
100 ng/ml	129,0	+	243,5	+
1 µg/ml	174,1	+	233,5	+
10 μg/ml	149,6	+	51,7	±
100 μg/ml	131,2	+	7,0	+

Como se muestra en la Tabla 8 o la Figura 2, en un sistema (Ejemplo comparativo 3) que utiliza una solución de ensayo sin SDS y sulfito de sodio, cuando la concentración de caseína alcanzó aproximadamente de 1 a 10 µg/ml, se redujo el valor de mABS, y se observó un fenómeno de prozona. Además, cuando la concentración de caseína alcanzó 100 µg/ml, se hizo imposible reconocer la banda, dando lugar a resultados de falsos negativos. Por otro lado, en un sistema (Ejemplo 3) que utiliza una solución de ensayo que contiene SDS y sulfito de sodio, se hizo posible reconocer la banda cuando la concentración de gliadina alcanzó aproximadamente 50 ng/ml, no se produjo fenómeno de prozona incluso cuando la concentración de caseína alcanzó aproximadamente 100 µg/ml, y además, no fue difícil hacer una evaluación de la densidad de contraste de la banda antes de que la concentración de caseína alcanzase 100 µg/ml.

Por lo tanto, se aclaró que, durante la detección de la caseína de la leche por inmunocromatografía, la medición más fiable se puede realizar en un sistema de SDS/sulfito en un amplio intervalo de regiones de concentración.

<Ejemplo de ensayo 6> (Detección de trigo gliadina contenida en los alimentos)

Cada uno de los alimentos que se describe en la Tabla 9 a continuación se homogeneizó con un mezclador.

40

25

²: preparado por dilución de un diluyente de muestra (concentrado 20 veces) incluido en el "kit de medición del ingrediente especificado de Morinaga FASPEK" fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc. a 1 vez (correspondiente al "Diluyente de muestra I" en el kit)

Tabla 9

		Etiquetado del ingrediente de trigo en el producto
Harina blanda	Alimento positivo (sin calentar)	0
Curry roux (producto disponible en el mercado)	Alimento positivo (calentado)	o
Roux para arroz con carne picada (retorta) (producto disponible en el mercado)		o
Salteado de pollo con anacardos (retorta) (producto disponible en el mercado)		0
Galleta (producto disponible en el mercado)		0
Cubo de consomé (producto disponible en el mercado)		0
Pudín (producto disponible en el mercado)		0
Albóndiga (retorta) (producto disponible en el mercado)	Alimentos negativos	-
Caldo de arroz (réplica) (producto disponible en el mercado)		-
Salsa napolitana (retorta) (producto disponible en el mercado)		-
Torta de pasta de pescado el horno en forma de tubo (producto disponible en el mercado)		-
Huevos crudos	Ingrediente negativo (cinco artículos)	-
Leche		-
Trigo sarraceno Cacahuetes		-
Cacandetes		-

A 1 g de la comida homogeneizada se le añadió 19 µl del agente de extracción del Ejemplo 4 como se muestra en la Tabla 10 a continuación, y la mezcla se agitó con un mezclador de vórtice a su velocidad máxima durante 1 minuto. El producto resultante se hierve a 100 °C durante 10 minutos, se devolvió a una temperatura normal, y después se centrifugó a 3000 x g durante 20 minutos. El sobrenadante se filtró con papel de filtro (ADVANTEC n.º 5A) para preparar un extracto alimentario. Además, con el fin de comparar, también se prepararon los extractos alimentarios utilizando un agente de extracción del Ejemplo comparativo 4 sin SDS y sulfito como se muestra en la Tabla 10 a continuación.

Cada uno de los extractos alimentarios que se ha descrito anteriormente se diluyó en 5 veces con un diluyente de solución de ensayo sin SDS y sulfito como se muestra en la Tabla 10 a continuación (que es el mismo que el diluyente convencional utilizado en Ejemplo de ensayo 4 o 5) para preparar una solución de ensayo, que se somete a la siguiente inmunocromatografía. Además, con respecto a los extractos alimentarios, la concentración se determinó por separado por el método de ELISA usando el kit de medición de trigo de Morinaga FASPEK (gliadina) (fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.) de la misma manera que en el Ejemplo de ensayo 4.

Tabla 10

	Composición
Agente de extracción	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,6% y Na ₂ SO ₃ 0,1 M
Ejemplo comparativo 4	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,12% y Na ₂ SO ₃ 0,02 M
(Diluyente de solución de ensayo)	Diluyente de muestra ²

^{1:} dodecilsulfato de sodio

²: preparado por dilución de un diluyente de muestra (concentrado 20 veces) incluido en el "kit de medición del ingrediente especificado de Morinaga FASPEK" fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc. a 1 vez (correspondiente al "Diluyente de muestra I" en el kit)

Las soluciones de ensayo preparadas como se ha descrito anteriormente se midieron con un kit para la medición inmunocromatográfica de la gliadina del trigo, "Kit del método inmunocromatográfico para un ingrediente específico de la serie Nanotrap de Morinaga (trigo)" (nombre comercial, fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.). Es decir, 200 µl de cada una de las soluciones de ensayo mencionadas anteriormente se gotearon a una porción de la muestra de goteo, y después de unos 15 minutos, se observó visualmente la presencia o ausencia de aparición de la banda o la densidad de contraste de la banda en una posición de la línea de ensayo que soporta un anticuerpo específico para la gliadina. La Tabla 11 muestra colectivamente los resultados de medición de la concentración de gliadina medida por el método de ELISA y los resultados de la medición inmunocromatográfica.

Tabla 11

				Agente de extracción	extracción	
		SDS/sulfito	Con SDS/sulfito (Ejemplo 4)	plo 4)	Sin SDS/sulfito (Ejemplo Comparativo 4)	mparativo 4)
		Etiquetado de	Valor de concentración	Observación	Valor de concentración	Observación
	<u>.⊆</u>	ingredientes del trigo	medido por el método de El ISA	visual	medido por el método de	visual
Harina blanda Comida po	positiva	o	20,5 mg/ml	*,	472 µg/ml	* 1
III						
ux (producto disponible en elComida	positiva	٥	> 400 µg/ml	+	126 µg/ml	*,
			1-7 007			,
Roux para arroz con carne picada (retorta) (producto disponible en el		0	> 400 µg/ml	+	1,3 µg/ml	* ₁
mercado)						
Salteado de pollo con anacardos (retorta)		o	400 µg/ml	+	N.D.	1
(producto disponible en el mercado)						
Galleta (producto disponible en el mercado)		0	> 400 µg/ml	+	252 µg/ml	
Cubo de consomé (producto disponible	<u> </u>	0	> 400 µg/ml	+	Ϋ́D	
en el mercado)						
Pudín (producto disponible en el		0	N.D.		N.D.	
Albóndiga (retorta) (producto disponibleComida negativa	tiva		18 ng/ml		N.D.	
Caldo de arroz (retorta) (producto			N.D.		N.D.	
disponible en el mercado)						
Salsa napolitana (retorta) (producto			N.D.		N.D.	
disponible en el mercado)						
Torta de pasta de pescado el horno en			N.D.		N.D.	
forma de tubo (producto disponible en el						
chimo	continuo de		2		2	
	Icgaliva		N.D.	•	N.C.	1
Leche (cinco artículos))s)		N.D.		N.D.	•
Trigo sarraceno			No medido		N.D.	'
Cacahuetes			No medido		N.D.	

* Indica fenómeno de prozona. Muestras en las cada cuales se observó cierta mejora en la detección

Como se muestra en la Tabla 11, un sistema (Ejemplo comparativo 4) que utiliza una solución de ensayo sin SDS y sulfito de sodio dieron resultados de medición inmunocromatográfica de falsos negativos en "Harina blanda", "Curry roux (producto disponible en el mercado)", "Roux para arroz con carne picada (retorta) (producto disponible en el mercado)", y "Galleta (producto disponible en el mercado)", todos los cuales tienen un etiquetado de ingredientes de trigo en los envases de sus productos disponibles en el mercado. Por otra parte, un sistema (Ejemplo 4) que usa una solución de ensayo que contiene SDS y sulfito de sodio dio resultados positivos en "Curry roux (producto disponible en el mercado)", "Roux para arroz con carne picada (retorta) (producto disponible en el mercado)", "Salteado de pollo con anacardos (retorta) (producto disponible en el mercado)", "Galleta (producto disponible en el mercado)", "Cubo de consomé (producto disponible en el mercado)" como se indica en el etiquetado de ingredientes de trigo en los paquetes de sus productos disponibles en el mercado. Cabe señalar que la "Harina blanda" que contiene gliadina en una concentración tan alta como 20,5 mg/ml, que se ha medido por el método de ELISA, dio resultados de falsos negativos debido a un fenómeno de prozona. Además, aunque el "Pudín (producto disponible en el mercado)" tiene el etiquetado de ingredientes de trigo en un paquete de su producto disponible en el mercado, no se detectó gliadina en ambos sistemas. Por lo tanto, la concentración de gliadina contenida en el producto se considera que es relativamente baja.

Estos resultados revelaron que, durante la inspección de la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente de trigo en un alimento por inmunocromatografía, un sistema de SDS/sulfito permitió la medición más fiable en un amplio intervalo de regiones de concentración.

< Ejemplo de ensayo 7> (Detección de la caseína de la leche contenida en los alimentos)

10

15

20

25

30

Cada uno de los alimentos como se describe en la Tabla 12 a continuación se homogeneizó con un mezclador.

Tabla 12

		Etiquetado del ingrediente de trigo en el producto
Leche	Alimento positivo (sin calentar)	o
Cubo de consomé (producto disponible en el mercado)	Alimento positivo (calentado)	o
Roux para arroz con carne picada (retorta) (producto disponible en el mercado)		o
Pudín (producto disponible en el mercado)		o
Salteado de pollo con anacardos (retorta) (producto disponible en el mercado)	Alimentos negativos	-
Galleta (producto disponible en el mercado)		-
Albóndiga (retorta) (producto disponible en el mercado)		-
Caldo de arroz (réplica) (producto disponible en el mercado)		-
Salsa napolitana (retorta) (producto disponible en el mercado)		-
Huevos crudos	Ingrediente negativo (cinco artículos)	-
Harina blanda		-
Trigo sarraceno		-
Cacahuetes		-

A 1 g de la comida homogeneizada se le añadió 19 µl del agente de extracción del Ejemplo 5 como se muestra en la Tabla 13 a continuación, y la mezcla se agitó con un mezclador de vórtice a su velocidad máxima durante 1 minuto. El producto resultante se hierve a 100 °C durante 10 minutos, se devolvió a una temperatura normal, y después se centrifugó a 3000 x g durante 20 minutos. El sobrenadante se filtró con papel de filtro (ADVANTEC n.º 5A) para preparar un extracto alimentario. Además, con el fin de comparar, también se prepararon los extractos alimentarios utilizando un agente de extracción del Ejemplo comparativo 5 sin SDS y sulfito como se muestra en la Tabla 13 a continuación.

35 Cada uno de los extractos alimentarios que se ha descrito anteriormente se diluyó en 5 veces con un diluyente de solución de ensayo sin SDS y sulfito como se muestra en la Tabla 13 a continuación (que es el mismo que el diluyente convencional utilizado en el Ejemplo de ensayo 4 o 5) para preparar una solución de ensayo, que se somete a la siguiente inmunocromatografía. Además, con respecto a los extractos alimentarios, la concentración se

determinó por separado por el método de ELISA usando el kit de medición de la leche de Morinaga FASPEK (caseína) (fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.) de la misma manera que en el Ejemplo de ensayo 5.

Tabla 13

	· · · ·
	Composición
Agente de extracción	
Ejemplo 5	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,12% y Na ₂ SO ₃ 0,02 M
Ejemplo comparativo 5	Diluyente de muestra ²
(Diluyente de solución de ensayo)	Diluyente de muestra ²
4	

^{1:} dodecilsulfato de sodio

5

10

15

Las soluciones de ensayo preparadas como se ha descrito anteriormente se midieron con un kit para la medición inmunocromatográfica de la caseína de la leche, "Kit del método inmunocromatográfico para un ingrediente específico de la serie Nanotrap de Morinaga (leche)" (nombre comercial, fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc.). Es decir, 200 µl de cada una de las soluciones de ensayo mencionadas anteriormente se gotearon a una porción de la muestra de goteo, y después de unos 15 minutos, se observó visualmente la presencia o ausencia de aparición de la banda o la densidad de contraste de la banda en una posición de la línea de ensayo que soporta un anticuerpo específico para la caseína. La Tabla 14 muestra colectivamente los resultados de medición de la concentración de caseína medida por el método de ELISA y los resultados de la medición inmunocromatográfica.

²: preparado por dilución de un diluyente de muestra (concentrado 20 veces) incluido en el "kit de medición del ingrediente especificado de Morinaga FASPEK" fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc. a 1 vez (correspondiente al "Diluyente de muestra I" en el kit)

Tabla 14

				Agente de extracción	extracción	
		SDS/sulfito	Con SDS/sulfito (Ejemplo 5)	nplo 5)	Sin SDS/sulfito (Ejemplo Comparativo 5)	mparativo 5)
		Etiquetado de	Valor de concentración	Observación	Valor de concentración	Observación
		ingredientes de la leche	medido por el método de ELISA	visual	medido por el método de ELISA	visual
Leche	Comida positiva (sin calentar)	٥	2,6 mg/ml	+	1,22 mg/ml	*.
Cubo de consomé (productoComida disponible en el mercado) (calenta	Comida positiva (calentada)	o	N.D.	,	36 ng/ml	'
Roux para arroz con carne picada (retorta) (producto disponible en el		o	38,4 µg/ml	+	158 ng/ml	+
mercado) Pudín (producto disponible en el mercado)		0	832 µg/ml	+	259 µg/ml	*,
Salteado de pollo con anacardos Comida negati (retorta) (producto disponible en el mercado)	Comida negativa		N.D.		N.D.	
Galleta (producto disponible en el mercado)			40 ng/ml	++	N.D.	+1
Albóndiga (retorta) (producto disponible en el mercado)			N.D.		N.D.	
Caldo de arroz (réplica) (producto disponible en el mercado)			N.D.		Ä.D.	
Salsa napolitana (retorta) (producto disponible en el mercado)			N.D.	-	N.D.	-
			2		2	
0	Collina liegauva		2 2			
Harina blanda	(cinco articulos)		N.D.	-	N.D.	
Trigo sarraceno			No medido		N.D.	
Cacahuetes			No medido		N.D.	

* Indica fenómeno de prozona. Muestras en las cada cuales se observó cierta mejora en la detección

Como se muestra en la Tabla 14, un sistema (Ejemplo comparativo 5) que utiliza una solución de ensayo sin SDS y sulfito de sodio dio resultados de medición inmunocromatográfica de falsos negativos en "Leche" y "Pudín (producto disponible en el mercado)", todos ellos que tienen un etiquetado de ingredientes de la leche en los envases de sus productos disponibles en el mercado. Por otra parte, un sistema (Ejemplo 5) que utiliza una solución de ensayo que contiene SDS y sulfito de sodio dio resultados positivos en "Leche", "Roux para arroz con carne picada (retorta) (producto disponible en el mercado)", y "Pudín (producto disponible en el mercado)" como se indica en el etiquetado de ingredientes de la leche en los envases de sus productos disponibles en el mercado. Cabe señalar que, aunque el "Cubo de consomé (producto disponible en el mercado)" tiene el etiquetado de ingredientes de la leche en un paquete de su producto disponible en el mercado, el valor de la concentración medida por el método de ELISA era igual a o inferior al límite de detección (en el caso del agente de extracción del Ejemplo 5) o fue de 36 ng/ml (en el caso del agente de extracción del Ejemplo comparativo 5). Por lo tanto, la concentración de caseína contenida en el producto se considera que es relativamente baja.

Estos resultados revelaron que, durante la inspección de la presencia o ausencia y/o de la cantidad de un ingrediente de la leche en un alimento por inmunocromatografía, un sistema de SDS/sulfito permitió la medición más fiable en un amplio intervalo de regiones de concentración.

< Ejemplo de ensayo 8> (Evaluación de la influencia individual por SDS o sulfito de sodio)

Con el fin de examinar cuál entre el SDS y el sulfito de sodio presenta principalmente una acción y efecto de suprimir un fenómeno de prozona, se realizó un ensayo usando un diluyente convencional como se muestra en la Tabla 15 a continuación de la misma manera que en el Ejemplo de ensayo 4 (gliadina) o Ejemplo de ensayo 5 (caseína) anterior.

25 Tabla 15

	Composición
Diluyente convencional	
Ejemplo 6	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,12% y Na ₂ SO ₃ 0,02 M
Ejemplo 7	Diluyente de muestra ² que contiene SDS ¹ al 0,12%
Ejemplo comparativo 6	Diluyente de muestra ² que contiene Na ₂ SO ₃ 0,02 M
Ejemplo comparativo 7	Diluyente de muestra ²

^{1:} dodecilsulfato de sodio

Las Tablas 16 y 17 muestran los resultados colectivamente.

Tabla 16

Concentración de	SDS/sulfito	SDS	Sulfito	Control (Ejemplo
gliadina (ng/ml)	(Ejemplo 6)	(Ejemplo 7)	(Ejemplo	comparativo 7)
			comparativo 6)	
blanco	-	-	-	-
1 ng/ml	-	-	-	-
10 ng/ml	±	±	±	±
100 ng/ml	+	+	+ *	+ *
1 μg/ml	+	+	+ *	+ *
10 μg/ml	+	+	± *	± *
100 μg/ml	+	+	-	- -
* Fue difícil hacer una evaluación debido a una membrana de color rojo.				

30

Tahla 17

Concentración de caseína (ng/ml)	SDS/sulfito (Ejemplo 6)	SDS (Ejemplo 7)	Sulfito (Ejemplo comparativo 6)	Control (Ejemplo comparativo 7)
blanco	=	-	•	-
1 ng/ml	-	-	-	-
10 ng/ml	-	-	-	-
100 ng/ml	±	±	±	±
1 μg/ml	+	+	+	+
10 μg/ml	+	+	+	+
100 μg/ml	+	+	±	±
1 mg/ml	±			-

²: preparado por dilución de un diluyente de muestra (concentrado 20 veces) incluido en el "kit de medición del ingrediente especificado de Morinaga FASPEK" fabricado por el Instituto de Ciencias Biológicas Morinaga, Inc. a 1 vez (correspondiente al "Diluyente de muestra I" en el kit)

Como resultado, como es evidente de las Tablas 16 y 17, ya que el Ejemplo 7 que contiene solo SDS podía detectar la gliadina y la caseína incluso en regiones altamente concentradas de manera similar al Ejemplo 6, que contiene SDS y un sulfito como supresor del fenómeno de prozona, se demostró que la presencia de SDS en una solución de ensayo, que se somete a inmunocromatografía, suprimía el fenómeno de prozona. Por consiguiente, en el SDS y el sulfito de sodio usados en los Ejemplos de ensayo 4 a 7 anteriores, se considera que el SDS muestra principalmente una acción y efecto de suprimir el fenómeno de prozona.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es un gráfico que ilustra, como valor numérico, una intensidad de una banda en una posición de la línea de ensayo que soporta un anticuerpo específico para la gliadina en inmunocromatografía.

La FIG. 2 es un gráfico que ilustra, como valor numérico, una intensidad de una banda en una posición de la línea de ensayo que soporta un anticuerpo específico para la caseína en inmunocromatografía.

REIVINDICACIONES

- 1. Un método de inspección de alimentos para la inspección de la presencia o ausencia y/o la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento, que comprende: poner un alimento en contacto con un agente de extracción que comprende un sulfito para preparar un extracto alimentario en el que se extrae un componente en el alimento; a continuación, poner en contacto el extracto alimentario con un anticuerpo específico que reconoce específicamente una sustancia comprendida en un ingrediente especificado de interés para su inspección; y la inspección de la presencia o ausencia y/o de la cantidad del ingrediente especificado en el alimento utilizando un método de medición inmunológico usando inmunocromatografía o ELISA.
- 2. Un método de inspección de alimentos de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anticuerpo específico está marcado con un coloide metálico.

10

30

45

- 3. Un método de inspección de alimentos de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que se suprime el fenómeno de prozona durante la medición de inspección de alimentos, comprendiendo el método: poner un alimento en contacto con un agente de extracción para preparar un extracto alimentario en el que se extrae un componente en el alimento; a continuación, poner en contacto el extracto alimentario con un anticuerpo específico que reconoce específicamente una sustancia comprendida en un ingrediente especificado de interés para su inspección; y la inspección de la presencia o ausencia y/o de la cantidad del ingrediente especificado en el alimento utilizando un método de medición inmunológico, en el que: se utiliza la inmunocromatografía como método de medición inmunológico; y se suprime el fenómeno de prozona durante la medición de inspección de alimentos al incorporar dodecilsulfato de sodio y un sulfito en el extracto alimentario.
- 4. Un método de inspección de alimentos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el sulfito comprende al menos un tipo seleccionado entre sulfito de sodio, hidrogenosulfito de sodio, sulfito de potasio, sulfito de amonio y sulfito de hierro.
 - 5. Un método de inspección de alimentos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que: el ingrediente especificado de interés para su inspección comprende trigo; y el anticuerpo específico comprende un anticuerpo específico para la gliadina.
 - 6. Un método de inspección de alimentos de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el extracto alimentario, que se somete a inmunocromatografía, comprende gliadina en una concentración de 10 ng/ml a 100 µg/ml.
- 35 7. Un método de inspección de alimentos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que: el ingrediente especificado de interés para su inspección comprende leche; y el anticuerpo específico comprende un anticuerpo específico para la caseína.
- 8. Un método de inspección de alimentos de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el extracto alimentario, que 40 se somete a inmunocromatografía, comprende caseína en una concentración de 50 ng/ml a 100 μg/ml.
 - 9. Un kit de inspección de alimentos para la inspección de la presencia o ausencia y/o de la cantidad de un ingrediente especificado en un alimento, que comprende (1) un agente de extracción y un sulfito a añadir al agente de extracción, o un agente de extracción que comprende un sulfito añadido; y (2) un anticuerpo que reconoce específicamente una sustancia comprendida en un ingrediente especificado de interés para su inspección.
 - 10. Un kit de inspección de alimentos de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el kit comprende, como sulfito, al menos un tipo seleccionado entre sulfito de sodio, hidrogenosulfito de sodio, sulfito de potasio, sulfito de amonio y sulfito de hierro.
 - 11. Un kit de inspección de alimentos de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en el que el anticuerpo se une a un inmunocromatógrafo.
- 12. Un kit de inspección de alimentos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, que comprende además dodecilsulfato de sodio.

FIG. 1

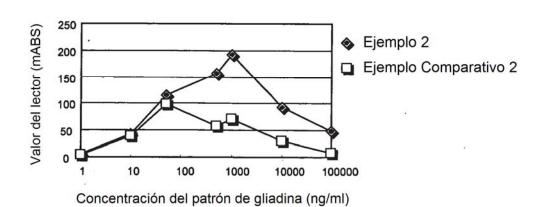


FIG. 2

