

■ 実証対象技術

平成17年度に実証試験を実施した技術は以下の通りです。

実証機関	環境技術開発者	技術名称	掲載ページ
岩手県	株式会社ホリバ・バイオテクノロジー	イミダクロプリド測定キット E	17
愛知県	株式会社ホリバ・バイオテクノロジー	イプロジオン測定キット E	20
兵庫県	株式会社ホリバ・バイオテクノロジー	カルバリル測定キット E	23
鳥取県	株式会社ホリバ・バイオテクノロジー	ビテルタノール測定キット E	26
		フルトラニル測定キット E	30
山口県	日本エンバイロケミカルズ 株式会社	グリホサート ELISA キット	33
名古屋市	株式会社ホリバ・バイオテクノロジー	クロロタロニル測定キット E	36
	日本エンバイロケミカルズ 株式会社	ポリ臭化ジフェニルエーテル(PBDE) ELISA キット (マグネティック・パーティクル)	39

<実証機関連絡先>

岩手県

担当部署：岩手県環境生活部環境保全課

TEL：019-629-5356

愛知県

担当部署：愛知県環境部水環境課

TEL：052-961-2111(内線 3045)

兵庫県

担当部署：兵庫県健康生活部環境局水質課

TEL：078-341-7711 (内線 3388)

鳥取県

担当部署：鳥取県生活環境部環境政策課環境立県戦略担当

TEL：0857-26-7876

山口県

担当部署：山口県環境生活部環境政策課環境保全室化学物質対策班

TEL：083-933-3034

実証試験実施部署：

名古屋市

担当部署：名古屋市環境局公害対策課有害化学物質対策係

TEL：052-972-2677

■ 実証対象技術の実証試験結果報告書概要

製品名称	イミダクロプリド測定キット E
環境技術開発者	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
実証機関	岩手県
対象物質	イミダクロプリド
実証試験実施期間	平成 17 年 10 月 18 日～平成 17 年 12 月 6 日

1. 実証対象技術の概要

本実証対象製品は、イミダクロプリドに対する特異的な抗体を応用した、環境水中のイミダクロプリド測定 ELISA キットである。

ELISA の原理は、競合反応（イミダクロプリド濃度が高い試料では吸光度が低く、イミダクロプリド濃度が低い試料では吸光度が高い）でマイクロプレート（96 ウェル）を使用したキットである。

2. 実証試験の概要

実証試験項目の内容は次のとおりである。

項目	内 容
1. 基本的な性能	
(1)測定範囲	市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の変動等に基づき、数値的な設定の妥当性を実証する。
(2)検出下限及び定量下限	市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによる ELISA 測定値の標準偏差に基づき、数値的な設定の妥当性を実証する。
(3)繰返し再現性	市販標準品で調製した指定濃度系列の中央付近の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによる ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(4)日間再現性	同一測定者が市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なる条件（日付）での同一操作による ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(5)期間再現性	市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて製造後一定期間経過した製品の操作による ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(6)プレート間再現性	市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なるロットや異なるプレート間での ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(7)交差反応性	市販標準物質及び類似物質を用い調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて類似物質別の ELISA 測定値の相違等に基づき、交差反応性を実証する。
2. 実用的な性能	
(1)回収特性	環境試料を模擬し市販標準品で指定濃度範囲の中央付近の 1 濃度に混合調製した試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の比較に基づき、回収特性を実証する。

(2)測定精度	複数の河川地点から得られた河川水の環境試料（濃度未知）を用いた ELISA 測定値の変動や操作手順・操作方法の特徴等に基づき、測定精度、前処理妥当性、操作簡便性等による環境試料への適用性を実証する。
---------	---

3. 実証対象製品のデータ

環境技術開発者より提出された実証対象製品のデータは、次のとおりである。

項目	記入欄
製品名	イミダクロプリド測定キット E
型番	EL202-01
販売・製造元	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
重量（キット一式、g）	350 g
価格（円）	105,000 円
分析対象物質	イミダクロプリド
対象環境媒体	水質・底質・生物・その他（　　）
利用用途	環境水その他の水質モニタリング
標準試薬・種類	付属（調製済／調製要）
操作環境（室温）	常温（15°C～25°C）
製品保管条件	4°C～8°C
製品保証期間	製造後 9 ヶ月間
同時測定数（最多）	46 試料
全体測定時間	2～3 時間

4. 実証試験結果の概要

項目	結果概要	
実証機関	岩手県	
製品名称	イミダクロプリド測定キット E	
環境技術開発者	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー	
対象物質	イミダクロプリド	
実証試験計画書の策定	平成 17 年 10 月	
実証試験の実施期間	平成 17 年 10 月 18 日～平成 17 年 12 月 6 日	
1) 基本的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①測定範囲	調製濃度 2～100 μg/L での 相対値：83～107%、CV：3.3～6.9%	2～100 μg/L

②検出下限 及び定量下限	1)調製濃度 $2 \mu\text{g}/\text{L}$ の SD から求めた検出下限 1 (3SD) : $1.2 \mu\text{g}/\text{L}$ 、定量下限 (10SD) : $3.9 \mu\text{g}/\text{L}$ 2)検出下限 2 : $0.6 \mu\text{g}/\text{L}$	—
③繰返し再現性	調製濃度 $8 \mu\text{g}/\text{L}$ での CV : 6.5%、SD : $0.50 \mu\text{g}/\text{L}$	サンプル : トマト (A, B) A:平均 71.6 ppb、SD 2.6、CV 3.6% B:平均 28.7 ppb、SD 2.7、CV 9.4%
④日間再現性	調製濃度 $2 \sim 100 \mu\text{g}/\text{L}$ での CV (3 日間) : 2.3~15.9%	サンプル : トマト (A, B) A:平均 72.2 ppb、SD 1.4、CV 3.4% B:平均 27.3 ppb、SD 3.4、CV 12.5%
⑤期間再現性	調製濃度 $2 \sim 100 \mu\text{g}/\text{L}$ で 1 ヶ月を隔てて 2 回測定した時の CV 0 ヶ月 : 2.1~6.0%、1 ヶ月 : 2.5~8.0%	保存安定性試験 9 ヶ月間使用可能
⑥プレート間再現性	調製濃度 $2 \sim 100 \mu\text{g}/\text{L}$ での CV(同一プレート 2 枚、異なるプレート 1 枚間) 5.6~17.3%	—
⑦交差反応性	交差反応率 チアクロブリド 1.4% アセタミブリド 0.4%	交差反応率: チアクロブリド 1.3% アセタミブリド 0.4%
2) 実用的な性能	実験データ	【参考 : 製品データ】
①回収特性	イミダクロブリドを添加 ($8 \mu\text{g}/\text{L}$) した河川水にフミン酸ナトリウムを添加 (0, 1, 5, 10, 50 mg/L) した試料の回収率 : 89~110%	—
②測定精度等	1) 河川水を直接測定 : ELISA 法、機器分析 (MDL = $0.002 \mu\text{g}/\text{L}$) とも定量下限未満 2) 公共用水域等における農薬の水質評価指針値 ($0.2 \text{mg}/\text{L}$) を考慮し、河川水に $4 \mu\text{g}/\text{L}$ 相当添加した時の ELISA 法回収率 : 100~111%	—

結果の検討と考察

1) 製品性能の信頼性

実証試験で実施した基本性能 7 項目の全てから申請データ ($2 \sim 100 \mu\text{g}/\text{L}$) の濃度範囲においては、ほぼ妥当な製品性能の信頼性を確認した。

2) 一般環境モニタリングでの実用性

環境試料として河川水にイミダクロブリドを添加した実証試験の結果から、水質モニタリング等での実用化が可能である。

3) 製品操作等の簡便性

一般環境モニタリングでの使用を想定（試料の前処理なし）した場合、約 2.5 時間で測定結果が得られた。同時に約 25 試料（3 重測定）の測定が可能である。

なお、LC/MS/MS 法では、25 試料（3 重測定）の測定に約 2 日が必要であることからみても、操作の簡便性は高いと言える。

製品名称	イプロジオン測定キットE
環境技術開発者	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
実証機関	愛知県
対象物質	イプロジオン
実証試験の実施期間	平成 17 年 10 月 17 日～平成 17 年 11 月 22 日

1. 実証対象技術の概要

この実証対象製品は、申請者が開発したイプロジオンに対する特異的なモノクローナル抗体を応用した、環境水、農産物中のイプロジオン測定用の ELISA キットである。

ELISA の原理は、競合反応（測定対象物質濃度が高い試料では吸光度が低く、濃度が低い試料では吸光度が高い）で、マイクロプレート（96 ウェル）を使用したキットである。

2. 実証試験の概要

実証試験項目の内容は、次のとおりである。

項目	内 容
1. 基本的な性能	
(1) 測定範囲	市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の変動等に基づき、数値的な設定の妥当性を実証する。
(2) 検出下限及び定量下限	市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによる ELISA 測定値の標準偏差に基づき、数値的な設定の妥当性を実証する。
(3) 繰返し再現性	市販標準品で調製した指定濃度系列の中央付近の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによる ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(4) 日間再現性	同一測定者が市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なる条件（日付）での同一操作による ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(5) 期間再現性	市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて製造後一定期間経過した製品の操作による ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(6) プレート間再現性	市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なるロットや異なるプレート間での ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(7) 交差反応性	市販標準物質及び類似物質を用い調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて類似物質別の ELISA 測定値の相違等に基づき、交差反応性を実証する。

2. 実用的な性能	
(1)回収特性	環境試料を模擬し市販標準品で指定濃度範囲の中央付近の 1 濃度に混合調製した試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の比較に基づき、回収特性を実証する。
(2)測定精度	複数の河川地点から得られた河川水の環境試料（濃度未知）を用いた ELISA 測定値の変動や操作手順・操作方法の特徴等に基づき、測定精度、前処理妥当性、操作簡便性等による環境試料への適用性を実証する。

3. 実証対象製品のデータ

環境技術開発者より提出された実証対象製品のデータは、次のとおりである。

項目	記入欄
製品名	イプロジオン測定キット E
型番	EL101-01 (Lot NO. E-IPD001F)
販売・製造元	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
重量（キット一式、g）	350g
価格（円）	105,000 円
分析対象物質	イプロジオン
対象環境媒体	水質・底質・生物・その他（農産物）
利用用途	残留農薬測定、環境水モニタリング
標準試薬・種類	付属（調製済／調製要）
操作環境（室温）	室温（15~25°C）
製品保管条件	4~8°C
製品保証期間	製造後 7 ヶ月間
同時測定数（最多）	46 試料 (n=2 で 1 キット使用時)
測定時間	2~3 時間（固相抽出等の前処理時間を除く）

注) 実証対象製品の基本的な性能及び実用的な性能は、次表の製品データのとおり。

4. 実証試験結果の概要

項目	結果概要
実証機関	愛知県
製品名称	イプロジオン測定キット E
環境技術開発者	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
対象物質	イプロジオン
実証試験計画書の策定	平成 17 年 10 月 3 日
実証試験の実施期間	平成 17 年 10 月 17 日～平成 17 年 11 月 22 日

1) 基本的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①測定範囲	測定範囲 : 1.5~30 $\mu\text{g}/\text{L}$ 調製濃度 1.5~30 $\mu\text{g}/\text{L}$ での相対値 : 69~87%、CV : 5.8~14.5%	1.5~30 $\mu\text{g}/\text{L}$
②検出下限及び定量下限	調製濃度 1.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ の SD から求めた 検出下限(3SD) : 0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ 定量下限(10SD) : 1.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ 0 濃度から求めた検出下限 : 0.6 $\mu\text{g}/\text{L}$	測定下限 : 1.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ (検出下限、定量下限のデータなし)
③繰返し再現性	調製濃度 7.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ における CV : 5.8 % (SD : 0.31 $\mu\text{g}/\text{L}$)	測定濃度 9.5、22.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ における CV : 4.2、4.0%
④日間再現性	調製濃度 1.5~30 $\mu\text{g}/\text{L}$ における CV : 5.5 ~13.1% (SD : 0.16~2.5 $\mu\text{g}/\text{L}$)	測定濃度 9.5、22.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ における CV : 7.1、7.0%
⑤期間再現性	調製濃度 1.5~30 $\mu\text{g}/\text{L}$ における キット開封時の CV : 5.8~14.5% キット未使用部を密封して冷蔵庫内で 1ヶ月保存後の CV : 6.6~23.2%	保存安定性 7ヶ月
⑥プレート間再現性	調製濃度 1.5~30 $\mu\text{g}/\text{L}$ での CV : 8.7~15.9% (SD : 0.19~2.9 $\mu\text{g}/\text{L}$)	記述なし
⑦交差反応性	交差反応率 : イプロジオノン代謝物 (5.4%) プロシミドン (<0.1%)	交差反応率 : イプロジオノン代謝物 (2.1%) プロシミドン (<0.1%)
⑧その他	—	—
2) 実用的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①回収特性	回収率 : 91 ~ 109 % (試料 : 河川水、調製濃度 : 7 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、 添加妨害物質 : ナシ酸ナトリウム 1~50mg/L)	回収率 87.1 ~ 91.4 % (試料 : トマト、添加妨害物質 : —)
②測定精度等	実試料 (河川水) 3 試料のいずれも検出下限 (ELISA 法 : 0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、GC/MS 法 : 0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$) 未満 イプロジオノン標準品をこれらの実試料に添加して 7 $\mu\text{g}/\text{L}$ の濃度に調製し、各試料 3 回の繰返し測定による添加回収率 ELISA 法 : 91~94% (CV=2.5~9.7%) GC/MS 法 : 96~101% (CV=2.5~4.8%) 測定値の相関係数 : 0.961	記述なし
③その他	—	—

結果の検討と考察

1) 製品性能の信頼性

実証試験で実施した基本性能 7 項目の全てについて、申請データ (1.5~30 $\mu\text{g}/\text{L}$) の濃度範囲において十分な信頼性が確認された。

2) 一般環境モニタリングでの実用性

実試料 (河川水) への標準品の添加回収試験から、本製品の測定値は GC/MS-SIM 法による測定値とよく一致することが確認され、検出感度及び測定精度とも実用に耐えうると考えられた。今後、マトリックスの異なる環境試料に対するデータを集積することにより、環境モニタリングへの実用化が可能と考えられた。

3) 製品操作等の簡便性

一般環境モニタリングでの使用を想定した場合、試料の前処理から測定結果が得られるまで約 5 時間で、同時に約 25 試料 (3 重測定) の測定が可能となる。なお、本試験での GC/MS-SIM 法では、3 試料 (3 重測定) の測定に約 3 日が必要であった。

製品名称	カルバリル測定キット E
環境技術開発者	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
実証機関	兵庫県
対象物質	殺虫剤 カルバリル
実証試験の実施期間	平成 17 年 10 月 27 日～12 月 14 日

1. 実証対象技術の概要

この実証対象製品は、申請者が開発したカルバリルに対する特異的なモノクローナル抗体を応用した、環境水等のカルバリル測定 ELISA キットである。

この ELISA キットの反応原理は競合反応（カルバリル濃度が高い試料では吸光度が低く、カルバリル濃度が低い試料では吸光度が高い）で、マイクロプレート（96 ウェル）を使用したキットである。

2. 実証試験の概要

実証試験項目の内容は、次のとおりである。

項目	内容
1. 基本的な性能	
(1)測定範囲	市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の変動等に基づき、数値的な設定の妥当性を実証する。
(2)検出下限及び定量下限	市販標準品で調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによる ELISA 測定値の標準偏差に基づき、数値的な設定の妥当性を実証する。
(3)繰返し再現性	市販標準品で調製した指定濃度系列の中央付近の試験用試料（濃度既知）を用いて同一条件での同一操作の繰返しによる ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(4)日間再現性	同一測定者が市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なる条件（日付）での同一操作による ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(5)期間再現性	市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて製造後一定期間経過した製品の操作による ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(6)プレート間再現性	市販標準品で調製した試験用試料（濃度既知）を用いて異なるロットや異なるプレート間での ELISA 測定値の変動等に基づき、再現性の妥当性を実証する。
(7)交差反応性	市販標準物質及び類似物質を用い調製した指定濃度系列の試験用試料（濃度既知）を用いて類似物質別の ELISA 測定値の相違等に基づき、交差反応性を実証する。
2. 実用的な性能	
(1)回収特性	環境試料を模擬し市販標準品で指定濃度範囲の中央付近の 1 濃度に混合調製した試験用試料（濃度既知）を用いた ELISA 測定値の比較に基づき、回収特性を実証する。

(2)測定精度	複数の河川地点から得られた河川水の環境試料（濃度未知）を用いた ELISA 測定値の変動や操作手順・操作方法の特徴等に基づき、測定精度、前処理妥当性、操作簡便性等による環境試料への適用性を実証する。
---------	---

3. 実証対象製品のデータ

環境技術開発者より提出された実証対象製品のデータは、次のとおりである。

項目	記入欄
製品名	カルバリル測定キット E
型番	EL208-01
販売・製造元	販売・製造： 株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
重量（キット一式, g）	350g
価格（円）	99,750 円
分析対象物質	殺虫剤 カルバリル
対象環境媒体	水質・底質・生物・その他（ ）
利用用途	環境水その他の水質モニタリング
標準試薬・種類	付属（調整済（調整要））
操作環境（室温）	室温（15～25°C）
製品保管条件	4～8°C
製品保証期間	製造後 12 ヶ月間
同時測定数（最多）	46 試料（2重測定）
測定時間	2～3 時間

注） 実証対象製品の基本的な性能及び実用的な性能は、次表の製品データのとおり。

4. 実証試験結果の概要

項目	結果概要	
実証機関	兵庫県	
製品名称	カルバリル測定キット E	
環境技術開発者	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー	
対象物質	殺虫剤 カルバリル	
実証試験計画書の策定	平成 17 年 10 月 3 日	
実証試験の実施期間	平成 17 年 10 月 27 日～12 月 14 日	
(1) 基本的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①測定範囲	調製濃度 1.5～30µg/L（4 濃度系列）での CV : 3.7～14.8%, 相対値 : 111～183% 試験で得られた測定範囲 : 1.5～30µg/L	1.5～30µg/L

②検出下限および定量下限	調製濃度 1.5µg/L の SD から求めた場合 検出下限 (3SD : 検出下限 1) : 0.47µg/L 定量下限 (10SD) : 1.6µg/L 濃度 0µg/L の吸光度から求めた場合 検出下限 2 : 1.0µg/L	測定下限 : 1.5µg/L
③繰返し再現性	調製濃度 5µg/L での CV : 4.2% (SD : 0.23µg/L)	測定濃度 3.6~22.7µg/L での CV : 6.9~11.4% (ほうれん草モジエネートへの添加試料)
④日間再現性	調製濃度 1.5~30µg/L で、同一週の 3 日間に測定した場合の CV : 14.9~19.7% (19.7%は 30µg/L の場合)	測定濃度 2.6~21.9µg/L での CV : 5.7~36.4% (ほうれん草モジエネートへの添加試料)
⑤期間再現性	調製濃度 1.5~30µg/L で、1 ヶ月を隔てて 2 回測定した場合の CV: 最初 : 3.7~14.8 % 1 ヶ月後 : 3.0~9.0 %	製品保証期間 12 ヶ月、保存安定性試験結果 5 ヶ月
⑥プレート間再現性	調製濃度 1.5~30µg/L で、同ロットプレート 2 枚、異ロットプレート 1 枚間の CV : 1.5~38.1% (38.1%は 30µg/L の場合)	—
⑦交差反応性	交差反応率： ベンダイオカルブ : 29.5% フェントエート : <0.1% ピリプチカルブ : 0.9%	交差反応率： ベンダイオカルブ : 26.1% フェントエート : 2.8%
(2) 実用的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①回収特性	対象物質を 5µg/L 添加した河川水に、フミン酸ナトリウムを添加 (0~50mg/L) した場合の回収影響率 : 97~133%	ほうれん草モジエネートへの添加回収率： 添加濃度 150µg/L : 124.9% 500µg/L : 144.3% 750µg/L : 142.5%
②測定精度等	3 河川水全てについて、ELISA 法、機器分析法 (GC/MS) ともに不検出のため、標準を低濃度 (0.2µg/L) 添加し、100 倍濃縮により測定。変動係数、回収率ともに概ね良好。GC/MS の結果との相関は r=0.992。	—

結果の検討と考察	
1) 製品性能の信頼性	実証試験で実施した基本性能 7 項目の結果から、メーカーの申請どおり 1.5~30µg/L の濃度範囲において概ね妥当な製品性能の信頼性を確認した。ただし、検量線の曲線部分に当たる特に高濃度側で、実測濃度（相対値）が高めに出る傾向があり、留意する必要がある。
2) 一般環境モニタリングでの実用性	妥当な感度、精度を有しており、前処理で適当な濃縮を行えばさらに感度の上昇が期待される。本試験の検討範囲では環境水中のマトリックスの影響は軽微と考えられるところから、実用化は可能である。
3) 製品操作等の簡便性	一般環境モニタリングでの使用を想定した場合、試料の前処理から測定結果が得られるまで 4~5 時間であり、同時に約 25 試料（3 重測定）の測定が可能となる。したがって、操作の簡便性は高いと言える。取扱説明書の記述も概ね妥当である。