

製品名称	ビテルタノール測定キット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	鳥取県
対象物質	ビテルタノール
実証試験の実施期間	平成 17 年 12 月 8 日～平成 18 年 2 月 10 日

1. 実証対象技術の概要

この実証対象製品は、ビテルタノールに対する特異的な抗体を応用した、環境水のビテルタノール測定 ELISA キットである。

ELISAの原理は、競合反応（ビテルタノール濃度が高い試料では吸光度が低く、ビテルタノー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	内 容
製品名	ビテルタノール測定キット E
型番	EL106-01
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）	350g
価格（円）	99,750 円
分析対象物質	ビテルタノール
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（調製済／調製要）
操作環境（室温）	常温（15℃～25℃）
製品保管条件	2℃～8℃
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

4. 実証試験結果の概要

項 目	結 果 概 要	
実証機関	鳥取県	
製品名称	ビテルタノール測定キット 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	ビテルタノール	
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 12 月 8 日～平成 18 年 2 月 10 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 9～60 $\mu\text{g/L}$ *1 での 相対値 : 124～127 % 変動係数 : 1.4～8.6 %	9～50 $\mu\text{g/L}$

②検出下限及び 定量下限	調製濃度 $9 \mu\text{g/L}$ *1 の SD から求めた 検出下限 (3SD) : $1.1 \mu\text{g/L}$ 定量下限 (10SD) : $3.7 \mu\text{g/L}$ 0 濃度から求めた検出下限 : $8.8 \mu\text{g/L}$	測定下限 : $9 \mu\text{g/L}$ (検出下限、定量下限の記述なし)
③繰返し再現性	調製濃度*1 $15 \mu\text{g/L}$ での 変動係数 : 3.1% 標準偏差 : $0.610 \mu\text{g/L}$	測定濃度 $15.10 \sim 30.16 \mu\text{g/L}$ での 標準偏差 : $1.93 \sim 2.34 \mu\text{g/L}$ 変動係数 : $5.9 \sim 9.0\%$ (イチゴ)
④日間再現性	調製濃度*1 $9 \sim 60 \mu\text{g/L}$ での 変動係数 : $1.1 \sim 4.4 \%$ 標準偏差 : $0.314 \sim 1.659 \mu\text{g/L}$	測定濃度 $15.10 \sim 30.16 \mu\text{g/L}$ での 標準偏差 : $1.12 \sim 2.90 \mu\text{g/L}$ 変動係数 : $3.8 \sim 15.5\%$ (イチゴ)
⑤期間再現性	調製濃度*1 $9 \sim 60 \mu\text{g/L}$ で 1 ヶ月を隔てて 2 回測定した時の 変動係数:0 ヶ月 : $2.3 \sim 4.1 \%$ 1 ヶ月後 : $0.9 \sim 4.7 \%$	保存安定性 7 ヶ月
⑥プレート間再現性	調製濃度*1 $9 \sim 60 \mu\text{g/L}$ での変動係数 : $4.2 \sim 10.7 \%$ (同一プレート 2 枚、異プレート 1 枚間)	—
⑦交差反応性	交差率 : トリアジメノール (和光純薬工業製 異性体 A 19.5% B 80.5%) : 136% トリアジメノール (Dr. Ehrenstorfer 製 異性体 A 82.7% B 17.3%) : 28.8% トリアジメノール (Riedel-de Haen 製 異性体 A 99.0% B 1.0%) : 2.6% トリアジメノール : $<0.1 \%$	交差率 : トリアジメノール 13.9% トリアジメノール $<0.1\%$
⑧その他	ビテルタノール (Riedel-de Haen 製 異性体 A 99.0% B 1.0%) 調製濃度 $9 \sim 60 \mu\text{g/L}$ での 相対値 : $26 \sim 49 \%$ 変動係数 : $1.2 \sim 6.8 \%$	—
2) 実用的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①回収特性	ビテルタノール*1 を添加 ($15 \mu\text{g/L}$) した河川水に、フミン酸ナトリウムを添加 ($0, 1, 5, 10, 50\text{mg/L}$) した試料の回収率 : $120 \sim 139 \%$	$112.3 \sim 129.3\%$ (イチゴ)
②測定精度等	ビテルタノール*1 ($15 \mu\text{g/L}$) 添加試験 ELISA 法回収率 : $116 \sim 119\%$ 変動係数 : $2.3 \sim 6.4 \%$ GC/MS 法 回収率 : $87 \sim 90 \%$ 変動係数 : $3.0 \sim 5.0 \%$	—

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 6 項目（測定範囲、繰り返し再現性、日間再現性、期間再現性、プレート間再現性）において、測定濃度範囲（9～60 μ g/L）では妥当な結果が得られた。

ビテルタノール異性体 B（（1R, 2R）及び（1S, 2S）の混合物）の含有率が低い市販標準品を用いて測定したところ、相対回収率が 26～49%と低い値を示したことから、このキットに使用されている抗体は、異性体 B に強く反応していることが確認された。したがって、このキットは異性体 B を測定するキットであり、異性体 A（（1R, 2S）及び（1S, 2R）の混合物）にも弱い交差反応性を示すものであるといえる。

交差反応性では、トリアジメノール標準品の異性体組成比の違いにより 2.6～136%の交差率を示した。

(2) 一般環境モニタリングでの実用性

本試験の検討範囲においては、試料マトリックスによる影響は軽微であり、測定精度も妥当であった。

現在、上市されているビテルタノール農薬製剤は、異性体 B が 20～30% 含有されており、異性体 A、B は毒性及び環境中での分解性も類似した挙動を示すことがわかっている。したがって、このキットによりビテルタノール異性体 B の環境中の汚染状況を把握することは可能であると考えられた。

(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、試料の前処理がない場合、約 3 時間で測定結果が得られ、同時に約 26 試料（3 重測定）の測定が可能であり、本試験での GC/MS-SIM 法では、3 試料（3 重測定）の測定に約 3 日が必要であることから操作の簡便性は高いといえる。

また、製品に添付された取扱説明書は、試験操作についての記述は妥当であるが、ビテルタノール及びトリアジメノールの異性体の違いによる反応性の違いについての記載がないため使用に当たっては留意する必要がある。

*1 本試験において、ビテルタノール市販標準品は和光純薬工業製（異性体 A : 85.3 % B : 14.7 %）を使用した。

*2 本試験に使用したビテルタノール及びトリアジメノール市販標準品の異性体比は GC/MS により測定した値である。

製品名称	フルトラニル測定キット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	鳥取県
対象物質	フルトラニル
実証試験の実施期間	平成 17 年 10 月 28 日～平成 17 年 12 月 14 日

1. 実証対象技術の概要

この実証対象製品は、フルトラニルに対する特異的な抗体を応用した、環境水のフルトラニル測定ELISAキットである。

ELISAの原理は、競合反応（フルトラニル濃度が高い試料では吸光度が低く、フルトラニ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	内 容
製品名	フルトラニル測定キット E
型番	EL105-01
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）	350g
価格（円）	99,750 円
分析対象物質	フルトラニル
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（調製済／調製要）
操作環境（室温）	常温（15℃～25℃）
製品保管条件	4℃～8℃
製品保証期間	製造後 10 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

4. 実証試験結果の概要

項目	結果概要	
実証機関	鳥取県	
製品名称	フルトラニル測定キット 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	フルトラニル	
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 28 日～平成 17 年 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 1～8 $\mu\text{g/L}$ での 相対値 : 95 ～ 101 % 変動係数 : 1.3 ～ 7.4 %	1～8 $\mu\text{g/L}$
②検出下限 及び定量下限	調製濃度 1 $\mu\text{g/L}$ の SD から求めた 検出下限 (3SD) : 0.12 $\mu\text{g/L}$ 定量下限 (10SD) : 0.40 $\mu\text{g/L}$ 0 濃度から求めた検出下限 : 0.77 $\mu\text{g/L}$	測定下限 : 1 $\mu\text{g/L}$ (検出下 限、定量下限の記述なし)
③繰返し再現性	調製濃度 2 $\mu\text{g/L}$ での 変動係数 : 4.3 % 標準偏差 : 0.082 $\mu\text{g/L}$	測定濃度 2.0～3.9 $\mu\text{g/L}$ で の標準偏差 : 0.16～0.29 $\mu\text{g/L}$ 変動係数 4.8～6.0 % (ほうれんそう)

④日間再現性	調製濃度 1~8 μ g/L での 変動係数：0.2~8.4 % 標準偏差：0.004~0.715 μ g/L	測定濃度 2.0~3.9 μ g/L での 標準偏差：0.06~0.22 μ g/L 変動係数 1.2~5.4 % (ほうれんそう)
⑤期間再現性	調製濃度 1~8 μ g/L で 1 ヶ月を隔てて 2 回測定した時の変動係数： 0 ヶ月 : 2.6~4.3 % 1 ヶ月後：1.5~10.4 %	保存安定性 10 ヶ月
⑥プレート間再現性	調製濃度 1~8 μ g/L での変動係数： (同一プレート 2 枚、異プレート 1 枚間) 1.2~6.6 %	—
⑦交差反応性	交差率： メプロニル 36.6 % オキシカルボキシシン <0.1 %	交差率： メプロニル 30.1% オキシカルボキシシン <0.1%
2) 実用的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①回収特性	フルトラニルを添加 (2 μ g/L) した河川水 に、フミン酸ナトリウムを添加 (0, 1, 5, 10, 50mg/L) した試料の回収率： 102~146 %	113~120% (ほうれんそう)
②測定精度等	河川水ろ過水:ELISA 法及び機器分析とも 検出下限未満 フルトラニル (2 μ g/L) 添加試験 ELISA法 回収率 : 96~114 % 変動係数 : 2.6~9.8 % GC/MS 法 回収率 : 95~96 % 変動係数 : 4.4~6.0 %	—

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 項目の全ての結果から申請データ (1~8 μ g/L) の濃度範囲においては、十分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

回収特性試験においてフミン酸ナトリウム濃度が 50mg/L のとき回収率が 146%となり正の妨害が見られたが、フミン酸ナトリウム 1~10mg/L の範囲では回収率 102~113%と妥当な結果となっており、河川水ろ過水にフルトラニルを添加した実証試験の結果からも水質モニタリング等での実用化が可能であると考えられた。

(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、試料の前処理がない場合、約 3 時間で測定結果が得られ、同時に約 26 試料 (3 重測定) の測定が可能であり、本試験での GC/MS-SIM 法では、3 試料 (3 重測定) の測定に約 3 日が必要であることから操作の簡便性は高いといえる。また、製品に添付された取扱説明書の記述も妥当である。

製品名称	グリホサート ELISA キット
環境技術開発者	日本エンバイロケミカルズ（株）
実証機関	山口県
対象物質	グリホサート
実証試験の実施期間	平成 17 年 10 月 25 日～平成 18 年 2 月 3 日

1. 実証対象技術の概要

この実証対象製品は、グリホサートに対する特異的な抗体を応用した、環境中（対象環境媒体：水質、底質、生物）のグリホサート ELISA キットである。

ELISA の原理は、競合反応（グリホサート濃度が高い試料では吸光度が低く、グリホサート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	内容
製品名	グリホサート ELISA キット
型番	製造元コード：PN500086
販売・製造元	販売：和光純薬工業(株) 輸入：日本エンバイロケミカルズ(株) 製造：Abraxis LLC（米国）
重量（g）	845g
価格（円）	要照会
分析対象物質	グリホサート
対象環境媒体	水質・底質・生物 水試料以外は抽出操作が必要
利用用途	環境水のモニタリング
標準試薬・種類	付属（調製済）
操作環境（室温）	10℃～30℃
製品保管条件	2℃～8℃
製品保証期間	製造後12ヶ月間
同時測定数	43 試料（n=2 で1キット使用時）
測定時間	2 時間（固相抽出等の前処理時間を除く）

4. 実証試験結果の概要

項目	結果概要
実証機関	山口県
製品名称	グリホサート ELISA キット
環境技術開発者	日本エンバイロケミカルズ（株）
対象物質	グリホサート
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25日～平成18年2月3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 0.15 ～ 5 $\mu\text{g/L}$ での 相対値: 124.0 ～ 139.9 % 変動係数: 1.4 ～ 15.4 %	0.15～5 $\mu\text{g/L}$
②検出下限 及び定量下限	調製濃度 0.15 $\mu\text{g/L}$ の SD から求めた 検出下限 (3SD): 0.138 $\mu\text{g/L}$ 定量下限 (10SD): 0.459 $\mu\text{g/L}$ 0 濃度から求めた検出下限: 0.122 $\mu\text{g/L}$	検出限界: 0.1 $\mu\text{g/L}$ 定量下限: 0.15 $\mu\text{g/L}$
③繰返し再現性	調製濃度 1 $\mu\text{g/L}$ での測定値 標準偏差: 0.106 $\mu\text{g/L}$ 変動係数: 9.0%	標準偏差: 0.151 $\mu\text{g/L}$ 変動係数: 10.9%
④日間再現性	調製濃度 0.15 ～ 5 $\mu\text{g/L}$ での測定値 標準偏差: 0.021～0.461 $\mu\text{g/L}$ 変動係数: 3.5～11.3%	標準偏差: 0.063 $\mu\text{g/L}$ 変動係数: 8.2%
⑤期間再現性	調製濃度 0.15 ～ 5 $\mu\text{g/L}$ での変動係数 1 回目: 1.4 ～ 15.4 % 2 回目 (一ヵ月後): 2.4 ～ 8.5 %	標準偏差: 0.091 $\mu\text{g/L}$ 変動係数: 11.8%
⑥プレート間再現性	調製濃度 0.15 ～ 5 $\mu\text{g/L}$ での測定値 標準偏差: 0.006～0.863 $\mu\text{g/L}$ 変動係数: 2.8～13.0%	標準偏差: 0.33 $\mu\text{g/L}$ 変動係数: 11.7%
⑦交差反応性	Glyphosine 0.491 % Glufosinate ammonium 0.001% 未満 AMPA 0.013 %	阻害率 50% B/B ₀ 濃度: Glyphosine 3,000 $\mu\text{g/L}$ Glufosinate 70,000 $\mu\text{g/L}$ AMPA >1,000,000 $\mu\text{g/L}$
2) 実用的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①回収特性	グリホサートを添加 (1 $\mu\text{g/L}$) した河川 水に、フミン酸ナトリウムを添加 (1, 5, 10, 50mg/L) した試料の回収率 (添 加 0 を 100 とし) : 各々 98, 112, 115, 167%	環境水への添加回収実 験: 平均回収率 104%
②測定精度等	・河川水を直接測定: ELISA 法では不検出。 ・河川水に 0.15 $\mu\text{g/L}$ 、0.5 $\mu\text{g/L}$ 、1 $\mu\text{g/L}$ 、 5 $\mu\text{g/L}$ 相当添加したときの ELISA 法回収 率: 161%、116%、127%、123%	機器分析 (ポストカラム 誘導体化 HPLC 法) との比 較: R=0.895

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 項目の全ての結果から、0.15～5 $\mu\text{g/L}$ の濃度範囲においていずれの場合も測定値の方が調整濃度より高めの傾向があったが、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グリホサートを添加した実証試験結果から 0.5 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度であれば、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した場合、誘導体化の操作を含め、約 3 時間で測定結果が得られた。また、同時に約 25 試料 (3 重測定) の測定が可能である。
なお、本試験での蛍光誘導体化・HPLC 法では、3 試料 (3 重測定) の測定に約 1 日が必要である。