

製品名称	クロロタロニル測定キット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	名古屋市
対象物質	クロロタロニル
実証試験の実施期間	平成17年10月24日～平成17年12月16日

1. 実証対象技術の概要

この実証対象製品は、クロロタロニルに対する特異的なモノクローナル抗体を応用した、環境中（対象環境媒体：水質、底質）のクロロタロニル測定ELISAキットである。ELISAの原理は、競合反応（クロロタロニル濃度が高い試料では吸光度が低く、クロロタロ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	記 入 欄
製品名	クロロタロニル測定キット E
型番	EL108-01
販売・製造元	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
重量 (g)	350 g
価格 (円)	105,000 円
分析対象物質	クロロタロニル
対象環境媒体	水質・底質・生物・その他 () 底質試料は抽出操作が必要。
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／ <u>調製要</u>)
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 3 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	名古屋市環境科学研究所	
製品名称	クロロタロニル測定キット 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	クロロタロニル	
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 24 日～平成 17 年 12 月 16 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	調整濃度 0.15~1.5 μg/L での 相対値：91~104%、CV：0.6~3.9%	0.15~1.5 μg/L

②検出下限及び定量下限	調整濃度 0.15 μg/L の SD から求めた 検出下限 (3SD) : 0.016 μg/L 定量下限 (10SD) : 0.055 μg/L 0 濃度から求めた検出下限 : 0.011 μg/L	測定下限 0.15 μg/L (検出下限、定量下限のデータなし)
③繰返し再現性	調整濃度 0.5 μg/L での CV : 1.4% (SD : 0.0068 μg/L)	測定濃度 0.20~1.2 μg/L での CV : 5.0~5.4% (きゅうり)
④日間再現性	調整濃度 0.15~1.5 μg/L での CV : 6.7~11% (SD : 0.010~0.12 μg/L)	測定濃度 0.20~1.2 μg/L での CV : 3.6~5.6% (きゅうり)
⑤期間再現性	調整濃度 0.15~1.5 μg/L において 1 ヶ月を隔てて 2 回測定した場合の CV 0 ヶ月での CV : 0.11~1.4% 1 ヶ月での CV : 1.6~7.8%	保存安定性 2 ヶ月
⑥プレート間再現性	調整濃度 0.15~1.5 μg/L での CV : 2.8~9.4% (SD : 0.014~0.044 μg/L)	記述なし
⑦交差反応性	交差反応率： フサライド (31%) PCP (0.12%)	交差反応率： フサライド (38.7%) PCP (1.7%)
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 114~205% (試料：河川水、調整濃度 0.5 μg/L、妨害物質：フミン酸ナトリウム 0~50 mg/L)	回収率 94.1~109.4% (検体：きゅうり)
②測定精度等	3 地点の河川水について ELISA 法、GC/MS 法とも検出されず <クロロタロニル添加試験> 河川水にクロロタロニル 0.17 μg/L 添加 ELISA 法：回収率 107~123%、CV : 1.0~5.6% GC/MS 法：回収率 111~115%、CV : 3.0~7.8%	記述なし

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 (0.15~1.5 μg/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	河川水を用いた添加回収試験の結果から、妨害物質（フミン酸ナトリウム）による正の妨害は認められたものの、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蓄積することにより、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、測定結果が得られるまで約 2~3 時間で、同時に最大 26 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。 取扱説明書については、わかりやすく説明しており、特に問題はないと考えられる。

製品名称	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)
環境技術開発者	日本エンバイロケミカルズ 株式会社
実証機関	名古屋市
対象物質	PBDE-47
実証試験の実施期間	平成17年11月24日～平成18年2月13日

1. 実証対象技術の概要

この実証対象製品は、ポリ臭化ジフェニルエーテル (PBDE) に対する特異的なポリクローナル抗体を応用した環境中（対象環境媒体：水質、底質、生物）の PBDE 測定 ELISA キットである。

ELISA の原理は、競合反応 (PBDE 濃度が高い試料では吸光度が低く、PBDE 濃度が低い試料では吸光度が高い) で、マグネティック・パーティク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) キット間再現性	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キット間での 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	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)
型番	《販売元コード》未定 (製造元コード : PN500090)
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 (キット一式、g)	1,300g
価格 (円)	要照会
分析対象物質	ポリ臭化ジフェニルエーテル
対象環境媒体	水質・底質・生物 その他 (土壤・穀物) 水試料以外は抽出操作が必要
利用用途	環境水 (地下水、表流水、飲料水) 、土壤、底質、魚類細胞、等のモニタリング
標準試薬・種類	付属 (調製済／調製要) PBDE-47 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 ppb 各 50% メタノール溶液
操作環境 (室温)	15°C~30°C
製品保管条件	2~8°C
製品保証期間	製造後 12 ヶ月間
同時測定数 (最多)	40 試料 (n=2 で 1 キット使用時)
測定時間	1.1 時間 (固相抽出等の試料の前処を除く)

4. 実証試験結果の概要

項目	結果概要
実証機関	名古屋市環境科学研究所
製品名称	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)

環境技術開発者	日本エンバイロケミカルズ株式会社	
対象物質	ポリ臭化ジフェニルエーテル-47	
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 11 月 24 日～平成 18 年 2 月 13 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 0.025～1.0 μg/L での相対値： 100～126%、CV : 1.7～10.3%	0.025～1.0 μg/L
②検出下限及び定量下限	調整濃度 0.025 μg/L の SD より求めた検出下限(3SD:検出下限 1) : 0.0033 μg/L、定量下限(10SD) : 0.011 μg/L 0 濃度より求めた検出下限(検出下限 2) : 0.0053 μg/L	検出下限 : 0.020 μg/L 定量下限 : 0.025 μg/L
③繰返し再現性	調製濃度 0.10 μg/L での 標準偏差 : 0.0017 CV% : 1.7%	標準偏差 : 0.006 CV% : 2.74% (測定濃度 : 0.2 μg/L)
④日間再現性	調製濃度 0.025～1.0 μg/L での 標準偏差 : 0.0017～0.25 CV% : 1.6～20.6%	標準偏差 : 0.0021 CV% : 2.2% (測定濃度 : 0.10 μg/L)
⑤期間再現性	調製濃度 0.025～1.0 μg/L での 0 ヶ月の標準偏差 : 0.003～0.064 CV% : 1.7～10.3% 1 ヶ月の標準偏差 : 0.001～0.408 CV% : 1.0～26.8%	標準偏差 : 0.0045 CV% : 4.74% (測定濃度 : 0.10 μg/L)
⑥キット間再現性	調製濃度 0.025～1.0 μg/L での 標準偏差 : 0.0009～0.055 CV% : 1.7～12.2%	標準偏差 : 0.02 CV% : 3.89% (測定濃度 : 0.50 μg/L)
⑦交差反応性	交差反応率： PBDE-99 : 88.1% PBDE-28 : 10.3% PBDE-100 : 3.83%	交差反応率： PBDE-99 : 90.0% PBDE-28 : 15.0% PBDE-100 : 2.45%
2) 実用的な性能	実験データ	【参考：製品データ】
①回収特性	対象物質を終濃度 0.10 μg/L となるよう PBDE-47 を添加した河川水に、妨害物質としてフミン酸ナトリウム 0～50 mg/L を添加した場合の回収率 105～114%	回収率 90.2～108.3% (検体 : 水道原水、井戸水、池、配水路)
②測定精度等	3 地点の河川水について ELISA 法、GC/MS 法とも検出されず (ELISA: 0.0033 μg/L 以下、GC/MS: 0.0005 μg/L 以下) <PBDE-47 添加試験> 原水に 0.04 μg/L 添加 (ELISA 測定時濃度 0.02 μg/L) ELISA 法 : 回収率 91.8～116%、CV% 2.58～9.7% GC/MS 法 : 回収率 51.3～75.4%、CV% 0.93～12.2%	記述なし
③その他		魚類細胞測定時の GC/MS との相関 R=0.872

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、0.025～1.0 μg/L の濃度範囲に

において、申請者製品データと比較して、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

河川水に定量下限値付近の低濃度(0.04 $\mu\text{g}/\text{L}$)のPBDE-47を添加した実験において、良好な回収率を示した。環境水中のPBDE濃度は、低濃度であるため、適切な前処理を行えば実用化が可能である。また、底質・母乳などのPBDEの検出が報告されている媒体での知見を蓄積することにより、より有効な測定キットと期待される。

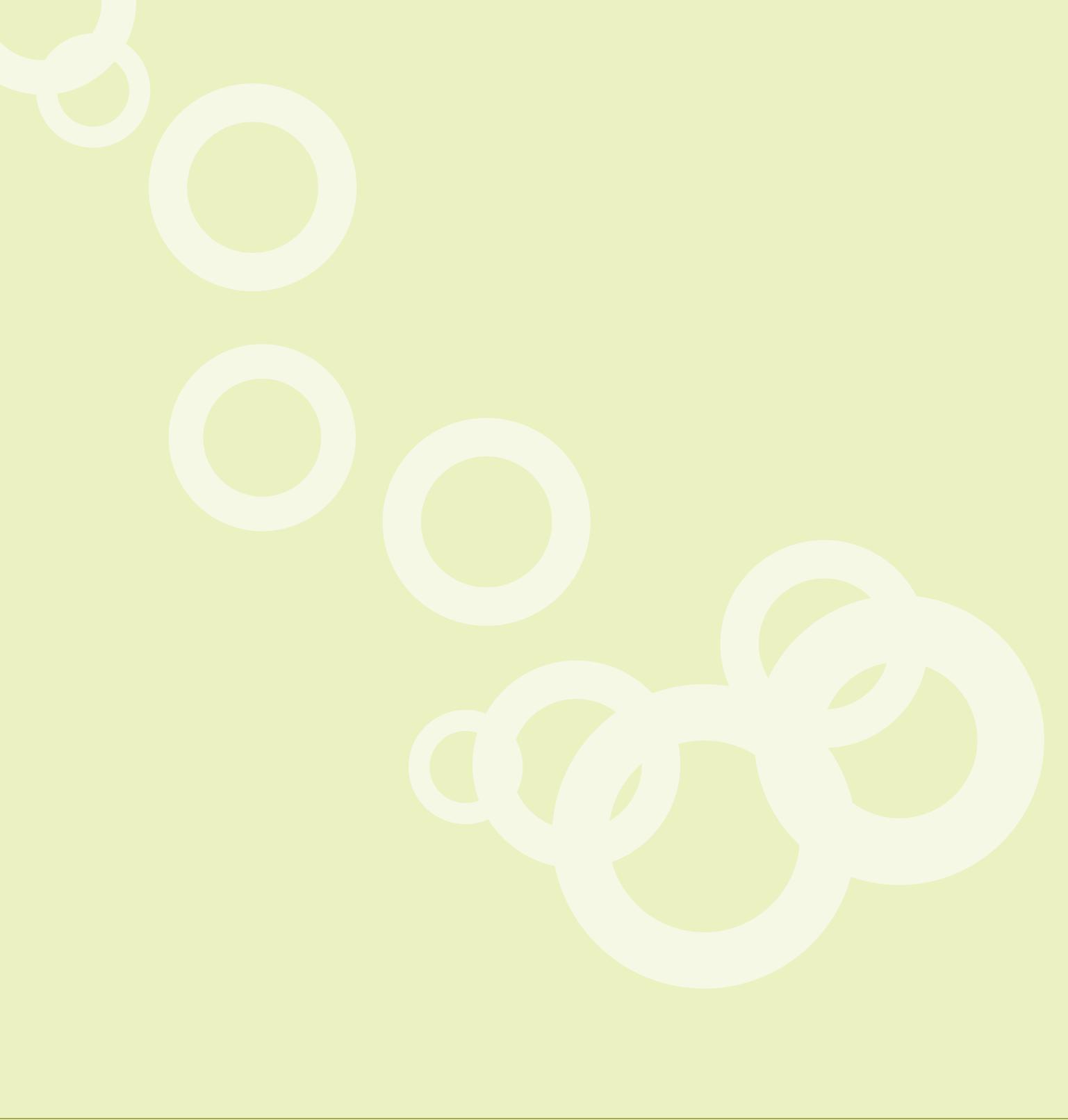
3) 製品操作等の簡便性

本キットの利点としては、迅速に（2時間：前処理を含まない）多試料（13試料：3重測定）の環境試料を同時に定量することが可能な点、マイクロプレートリーダーを必要とせず吸光光度計があれば測定可能である点などが挙げられる。一方、欠点としては、吸光度測定に時間を要することから、多検体をこなす場合、酵素基質添加から吸光度測定に至るまで、厳密な時間管理を行わないと真値からのずれが大きくなる恐れがある点が挙げられる。

また、キット付属取扱説明書は、英語で書かれているが、メーカーのホームページには、取扱ビデオ映像があるので、間違えることなく実施可能である。

V. おわりに

本モデル事業は、平成18年度以降も引き続いて行われる予定となっています。実証試験の項目や内容については、今後必要に応じて変更・追加などが加えられる場合もあります。それら最新の情報や詳細については、事業のホームページ（<http://etv-j.eic.or.jp/>）にて提供していますので、こちらをご参照下さい。



- 「環境技術実証モデル事業」全般に関する問合せ先
- 「化学物質に関する簡易モニタリング技術分野」に関する問合せ先
- 本事業に関する詳細な情報は、右記のホームページでご覧いただけます。

環境省総合環境政策局総務課 環境研究技術室
〒100-8975 東京都千代田区霞ヶ関1-2-2 中央合同庁舎5号館 TEL:03-3581-3351(代表)

環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課
〒100-8975 東京都千代田区霞ヶ関1-2-2 中央合同庁舎5号館 TEL:03-3581-3351(代表)

<http://etv-j.eic.or.jp>

このホームページの中では、実証試験要領、検討会における検討経緯、実証試験結果等をご覧いただけます。