

環境技術実証モデル事業

化学物質に関する簡易モニタリング技術分野

化学物質に関する簡易モニタリング技術 実証試験結果報告書

環境技術開発者	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
技術・製品の名称	〈技術名〉ELISA法（酵素免疫測定法） 〈製品名〉イミダクロプリド測定キットE

平成18年3月

岩手県

はじめに

環境技術実証モデル事業は、既に適用可能な段階にありながら、環境保全効果等についての客観的な評価が行われていないために普及が進んでいない先進的環境技術について、その環境保全効果等を第三者が客観的に実証する事業をモデル的に実施することにより、環境技術実証の手法・体制の確立を図るとともに、環境技術の普及を促進し、環境保全と環境産業の発展に資することを目的とするものである。

本実証試験は、平成17年5月16日 環境省総合環境政策局が策定した実証試験要領(第2版)に基づいて選定された実証対象技術について、同実証試験要領に準拠して実証試験を実施することで、製品性能の信頼性等を客観的に実証するものである。

(実証項目)

- 製品性能の信頼性
- 一般環境モニタリングでの実用性
- 製品操作等の簡便性

本報告書は、その結果を取りまとめたものである。

(実証機関)

岩手県環境保健研究センター

所 長 築 田 幸

(要 約)

製品名称	イミダクロブリド測定キット 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	イミダクロブリド
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、イミダクロブ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ブリド測定 ELISA キットである。

ELISA の原理は、競合反応(イミダクロブリド濃度が高い試料では吸光度が低く、イミダクロブ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)	350g
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 ~ 25)
製品保管条件	4 ~ 8
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	イミダクロブリド測定キット 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	イミダクロブリド	
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]
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
検出下限 及び定量下限	1) 調製濃度 2 µg/L の SD から求めた検出下限 1 (3SD):1.2 µg/L、定量下限(10SD):3.9 µg/L 2) 検出下限 2 :0.6 µg/L	-
繰返し再現性	調製濃度 8 µg/L での CV:6.5%、SD:0.50 µg/L	サンプル:トマト(A, B) A:平均 71.6ppb、SD 2.6、CV 3.6% B:平均 28.7ppb、SD 2.7、CV 9.4%
日間再現性	調製濃度 2～100 µg/L での CV(3日間):2.3～15.9%	サンプル:トマト(A, B) A:平均 72.2ppb、SD 1.4、CV 3.4% B:平均 27.3ppb、SD 3.4、CV 12.5%
期間再現性	調製濃度 2～100 µg/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
プレート間再現性	調製濃度 2～100 µg/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%	-
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		
回収特性	イミダクロブリドを添加(8 µg/L)した河川水にフミン酸ナ リウムを添加(0, 1, 5, 10, 50mg/L)した試料の回収率: 89～110%	-
測定精度等	1) 河川水を直接測定:ELISA 法、機器分析(MDL: =0.002 µg/L)とも定量下限未滿 2) 公共用水域等における農薬の水質評価指針値: (0.2mg/L)を考慮し、河川水に 4 µg/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 ~ 100 µg/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プ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からみても、操作の簡便性は高いと言える。

(本 編)

目次

1.実証試験の概要	1
1.1 実証対象製品のデータ	1
1.2 実証試験結果	2
(1)基本的な性能	2
(2)実用的な性能	3
2.実証対象技術及び実証対象製品の特性と説明	4
2.1 実証申請者	4
2.2 実証対象技術の原理	4
2.3 実証対象製品のデータ(性能、製品製造者、製品番号等)	4
3.実証試験実施体制	5
3.1 実証試験申請者	5
3.2 実証試験実施者	5
3.3 実証試験実施場所	5
(1)ELISA法	5
(2)機器分析法	5
3.4 実証試験実施期間	5
4. 試験方法	5
4.1 共通して行う試験操作	5
(1)製品の操作	5
(2)検量線作成用標準溶液の調製	5
(3)吸光度の測定	5
(4)検量線の作成	5
(5)実測濃度の算出	5
4.2 基本的な性能	6
(1)測定範囲	6
(2)検出下限及び定量下限	7
(3)繰返し再現性	8
(4)日間再現性	9
(5)期間再現性	10
(6)プレート間再現性	11
(7)交差反応性	12
4.3 実用的な性能	13
(1)回収特性	13
(2)測定精度等	14
5.試験結果	15
5.1 基本的な性能	15

(1)測定範囲	15
(2)検出下限及び定量下限	16
(3)繰返し再現性	19
(4)日間再現性	20
(5)期間再現性	24
(6)プレート間再現性	26
(7)交差反応性	30
5.2 実用的な性能	33
(1)回収特性	33
(2)測定精度等	34
6.実証試験結果の検討と考察	36

付録 : 実証試験計画書

1. 実証試験の概要

1.1 実証対象製品のデータ

実証試験実施者並びに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、下表に示すとおりである。

表 1.1.1 実証対象製品のデータ

項目	内容
技術・製品の名称	イミダクロプリド測定キット E
実証申請者	株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー 代表取締役社長 河野 猛
実証試験実施者	岩手県環境保健研究センター 所長 築田 幸
実証試験実施場所	〒020-0852 岩手県盛岡市飯岡新田 1-36-1 岩手県環境保健研究センター
実証試験実施期間	平成 17 年 10 月 18 日～平成 17 年 12 月 6 日
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)	350g
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 ~ 25)
製品保管条件	4 ~ 8
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

<参考> イミダクロプリド

クロロニコチニル系殺虫剤(別名:アドマイヤー、野菜等の害虫の防除等に使用)

法規制の状況

- ・化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 第二種監視化学物質
- ・水質汚濁に係る登録保留基準値 2mg/L
- ・公共用水域等における農薬の水質評価指針値 0.2mg/L

1.2 実証試験結果

(1) 基本的な性能

測定範囲

製品の定量範囲に調製した試験用試料溶液(2, 8, 40, 100 µg/L)を測定した実測値の相対値は、83~107%、変動係数は、3.3%~6.9%であった。

(製品のデータ: B/B0 0.8~0.2 付近の濃度として 2~100 µg/L)

検出下限及び定量下限

製品の定量下限付近(2 µg/L)に調製した試験用試料溶液を繰返し(n=8)測定した実測値の標準偏差(SD)から求めた検出下限₁(3SD)は、1.2 µg/L、定量下限(10SD)は、3.9 µg/Lであった。

これとは別に指定濃度系列 0 濃度を繰返し(n=10)測定した吸光度の標準偏差(SD)から求めた検出下限₂は 0.6 µg/L であった。

(製品データの定量下限は、2.0 µg/L (B/B0 = 0.8)。検出下限のデータなし。)

繰返し再現性

製品の定量範囲の中央付近(8 µg/L)に調製した試験用試料溶液を繰返し(3重測定で8回測定)測定した実測値の再現性は、変動係数で 6.5% (標準偏差 0.50 µg/L, n=8) であった。

(製品の定量範囲(2~100 µg/L)でのデータ: 変動係数 3.6~9.4%, n=8)

日間再現性

製品の定量範囲(2~100 µg/L)に調製した試験用試料溶液を、3日間(1週間以内)測定した実測値(3重測定の平均値)の変動係数は 15.9%(2 µg/L)、4.9%(8 µg/L)、6.3%(40 µg/L)、2.3%(100 µg/L)であった。

(製品のデータ: トマトを磨砕したペーストにイミダクロブリドを添加した2試料を用いて、日間再現性を検討した結果は、変動係数が 1.9%と 12.5%)

期間再現性

製品の定量範囲(2~100 µg/L)に調製した試験用試料溶液を、同一ロットのプレートを用い、1ヶ月の期間を隔てて2回測定した。各試料溶液について3重測定を行った各OD値をそれぞれ濃度に換算した値の変動係数は、0ヶ月では 2.1~6.0%、1ヶ月後では 2.5~8.0%であった。

(製品のデータ: 保存安定性試験で9ヶ月は使用可能)

プレート間再現性

製品の測定範囲に調製した試験用試料溶液を、同一ロットの2プレート(A,C: 使用期限 2006.6)と、異なるロット(B: 使用期限 2006.3)の1プレートを同日に測定したときの変動係数は、17.3%(2 µg/L)、9.6%(8 µg/L)、5.6%(40 µg/L)、5.9%(100 µg/L)であった。

(製品データ: なし)

交差反応性

交差反応率は、チアクロブリド 1.4%、アセタミプリド 0.4% であった。

(製品のデータ: チアクロブリド 1.3%、アセタミプリド 0.4%)

(2) 実用的な性能

回収特性

河川水に測定範囲の中央付近のイミダクロプリド(8 µg/L)を添加し、さらにフミン酸ナトリウムを添加(0,1,5,10,50mg/L)した時のイミダクロプリドの回収率は、89% ~ 110%であった。

(製品のデータ: 107.4 ~ 108.5% (ほうれんそう))

測定精度等

河川水 3 検体を直接測定したところ、イミダクロプリドの測定値は ELISA 法及び機器分析法(LC/MS/MS 法)のいずれも定量下限未満であった。

そこで、これらの河川水に「公共用水域等における農薬の水質評価指針値 0.2mg/L」の 1/50 濃度の 4 µg/L 相当のイミダクロプリドを添加して ELISA 法で測定したところ、その回収率は 100 ~ 111%であった。

(製品のデータ: なし)

2. 実証対象技術及び実証対象製品の特性と説明

2.1 実証申請者

企業名:株式会社 ホリバ・バイオテクノロジー
代表者:代表取締役社長 河野 猛
担当者所属・氏名:試薬事業部 開発・製造部 伊東 茂壽
住所 :〒601-8315 京都市南区吉祥院車道町 48 番地
電話番号 :075-692-1786
FAX番号:075-692-1790
e-mail アドレス:Shigekazu.ito@horiba.com

2.2 実証対象技術の原理

この実証対象製品は、イミダクロプリド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)のイミダクロプリド測定ELISAキットである。

2.3 実証対象製品のデータ(性能、製品製造者、製品番号等)

実証対象製品のデータは、下表に示すとおりである。

表 2.3 製品データ

項目	内容
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(g)	350g
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 ~ 25)
製品保管条件	4 ~ 8
製品保証期間	製造後 9 ヶ月間
同時測定数(最多)	46 試料
測定時間	2 ~ 3 時間

3. 実証試験実施体制

3.1 実証試験申請者

所属部署 : 岩手県環境生活部環境保全課環境調整担当
担当者氏名: 宮野直子
住 所 : 〒020-8570 岩手県盛岡市内丸 10 番1号
電話番号 : 019-629-5356
FAX番号: 019-629-5364
e-mail アドレス: na-miyano@pref.iwate.jp

3.2 実証試験実施者

所属部署 : 岩手県環境保健研究センター 環境科学部
担当者氏名: 部長 齋藤 憲光
住 所 : 〒020-0852 盛岡市飯岡新田 1-36-1
電話番号 : 019-656-5670
FAX番号: 019-656-5671
e-mail アドレス: norimi@pref.iwate.jp

3.3 実証試験実施場所

- (1) ELISA 法 岩手県環境保健研究センター環境科学第1研究室
- (2) 機器分析法 岩手県環境保健研究センター第5機器分析室

3.4 実証試験実施期間

平成 17 年 10 月 18 日 ~ 平成 17 年 12 月 6 日

4. 試験方法

4.1 共通して行う試験操作

「4.2 基本的な性能」及び「4.3 実用的な性能」において、以下の方法は共通である。

(1) 製品の操作

製品の操作にあたっては、製品の取扱説明書を遵守するとともに、「品質管理マニュアルELISA法(イミダクロプリド)」の試験操作手順(一般的な事項)に従って行った。

(2) 検量線作成用標準溶液の調製

製品の取扱説明書に記載の方法により、検量線用標準溶液の指定濃度系列を調製した。

(3) 吸光度の測定

吸光度は、マイクロプレートリーダー(バイオ・ラッド社製マイクロプレートリーダー)で測定し、検量線作成用標準溶液及び各試験用試料溶液の吸光度とした。

(4) 検量線の作成

プレート毎に同時に測定したゼロブランク(BLK: 複数の空ウェルで同様の操作をしたもの)及び検量線作成用標準溶液の吸光度(3重測定の平均値)から取扱説明書に従い、マイクロプレートリーダーに付属している演算ソフトを使った検量線(取扱説明書の指示: 4パラメーターによりロジスティック曲線を近似した標準曲線)を作成した。

なお、解析に使用したバイオ・ラッド社製 Microplate Manager 5.2/PC は、使用上回帰式の R^2 が計算されないため記載しない。

(5) 実測濃度の算出

「(4)検量線の作成」で作成した検量線を用いて、各試験用試料溶液の吸光度から各実測濃度を算出した。

4.2 基本的な性能

(1) 測定範囲

試験条件

本製品の測定範囲における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.2.1 測定範囲の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・測定範囲(標準試料試験)
対象物質	イミダクロプリド
対象製品名	イミダクロプリド測定キット E
製品番号	ロット番号: E-ICP001F
有効年月日	平成 18 年 6 月
測定範囲(製品仕様)	2 ~ 100 µg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 21 日 9:30 ~ 12:00
試験場所	岩手県環境保健研究センター 環境科学第 1 研究室
試験時室内温度	23 ± 1
使用した市販標準品	物質名: イミダクロプリド 試薬会社名: 関東化学 製品番号: 20005-96 ロット番号: 605F7108
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC(バイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター環境科学部 専門研究員 伊藤朋子

試験操作

イミダクロプリド市販標準品を用い、10%メタノール溶液を希釈溶媒として、試験用試料溶液(0, 2, 8, 40, 100 µg/L)を調製した。調製した試験用試料溶液を用いて、各調製濃度につき3重測定を行い、3個の吸光度それぞれから求めた実測濃度より、平均値、標準偏差、変動係数を求めた。

(2) 検出下限及び定量下限

試験条件

本製品の検出下限及び定量下限における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.2.2 検出下限及び定量下限の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・検出下限及び定量下限(標準試料試験)
対象物質	イミダクロプリド
対象製品名	イミダクロプリド測定キット E
製品番号	ロット番号: E-ICP001F
有効年月日	平成 18 年 6 月
測定範囲(製品仕様)	2 ~ 100 µg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 20 日 9:10 ~ 11:40 平成 17 年 11 月 4 日 9:30 ~ 11:40
試験場所	岩手県環境保健研究センター
試験時室内温度	平成 17 年 10 月 20 日 22 平成 17 年 11 月 4 日 21
使用した市販標準品	物質名: イミダクロプリド 試薬会社名: 関東化学 製品番号: 20005-96 ロット番号: 605F7108
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC(バイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター衛生科学部 上席専門研究員 高橋 悟

試験操作

イミダクロプリドを用い、10%メタノール溶液を希釈溶媒として、試験用試料溶液(2 µg/L:測定範囲の下限付近濃度)を調製した。調製した試験用試料溶液を8回測定し、その実測濃度より標準偏差(SD)を求め、得られたSDから3SD及び10SDをそれぞれ検出下限¹及び定量下限とした。

これとは別に、指定濃度系列0濃度の吸光度を10回測定し、その標準偏差(SD)から得られる3SDを0濃度の吸光度から差し引いた吸光度から求めた濃度を検出下限²とした。

(3) 繰返し再現性

試験条件

本製品の繰返し再現性における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.2.3 繰返し再現性の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・繰返し再現性(標準試料試験)
対象物質	イミダクロプリド
対象製品名	イミダクロプリド測定キット E
製品番号	ロット番号: E-ICP001F
有効年月日	平成 18 年 6 月
測定範囲(製品仕様)	2 ~ 100 µg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 24 日 14:00 ~ 16:30
試験場所	岩手県環境保健研究センター 環境科学第 1 研究室
試験時室内温度	23
使用した市販標準品	物質名: イミダクロプリド 試薬会社名: 関東化学 製品番号: 20005-96 ロット番号: 605F7108
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー 5.2/PC (バイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター衛生科学部 上席専門研究員 高橋 悟

試験操作

イミダクロプリドを用い、10%メタノール溶液を希釈溶媒として、試験用試料溶液(8 µg/L:測定範囲の直線付近濃度)を調製した。調製した試験用試料溶液を 3 重測定で 8 回測定し、得られた 8 個の実測濃度より平均値、標準偏差、変動係数を求めた。求めた変動係数から、繰返し再現性について検討した。

(4) 日間再現性

試験条件

本製品の日間再現性における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.2.4 日間再現性の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・日間再現性(標準試料試験)
対象物質	イミダクロプリド
対象製品名	イミダクロプリド測定キット E
製品番号	ロット番号:E-ICP001F
有効年月日	平成 18 年 6 月
測定範囲(製品仕様)	2 ~ 100µg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 25 日 10:00 ~ 12:00 平成 17 年 10 月 26 日 9:30 ~ 11:10 平成 17 年 10 月 31 日 13:00 ~ 15:15
試験場所	岩手県環境保健研究センター 環境科学第 1 研究室
試験時室内温度	平成 17 年 10 月 25 日 23 平成 17 年 10 月 26 日 22 ± 1 平成 17 年 10 月 31 日 23 ± 1
使用した市販標準品	物質名:イミダクロプリド 試薬会社名:関東化学 製品番号:20005-96 ロット番号:605F7108
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC(パイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター衛生科学部 上席専門研究員 高橋悟

試験操作

同一測定者が 1 週間の異なる 3 日間において、同一ロットの異なるプレートを用いて、「(1) 測定範囲」と同じ測定操作を行った。各調製濃度について得られた実測濃度の変動係数を求め、3 日間の比較から日間再現性について検討した。

(5) 期間再現性

試験条件

本製品の期間再現性における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.2.5 期間再現性の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・期間再現性(標準試料試験)
対象物質	イミダクロプリド
対象製品名	イミダクロプリド測定キット E
製品番号	ロット番号: E-ICP001F
有効年月日	平成 18 年 6 月
測定範囲(製品仕様)	2 ~ 100 µg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 24 日 10:30 ~ 13:30 平成 17 年 11 月 24 日 15:35 ~ 17:35
試験場所	岩手県環境保健研究センター 環境科学第 1 研究室
試験時室内温度	平成 17 年 10 月 24 日 23 ± 1 平成 17 年 11 月 24 日 23.5 ± 1
使用した市販標準品	物質名: イミダクロプリド 試薬会社名: 関東化学 製品番号: 20005-96 ロット番号: 605F7108
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC(バイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター 衛生科学部 上席専門研究員 高橋 悟 岩手県環境保健研究センター 環境科学部 専門研究員 伊藤朋子

試験操作

同一プレートを用いて1ヶ月の期間を隔てて2回、同じ測定操作(「(1)測定範囲」に同じ)を行った。各測定結果(OD 値)からの換算値(濃度)の変動係数を求め、期間を隔てての再現性について検討した。

(6) プレート間再現性

試験条件

本製品のプレート間再現性における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.2.6 プレート間再現性の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・プレート間再現性(標準試料試験)
対象物質	イミダクロプリド
対象製品名	イミダクロプリド測定キット E
製品番号	ロット番号: E-ICP001F ロット番号: E-ICP002F
有効年月日	平成 18 年 6 月 (E-ICP001F)、平成 18 年 3 月 (E-ICP002F)
測定範囲 (製品仕様)	2 ~ 100µg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 25 日 13:20 ~ 15:30 平成 17 年 10 月 25 日 14:00 ~ 16:15
試験場所	岩手県環境保健研究センター 環境科学第 1 研究室
試験時室内温度	平成 17 年 10 月 25 日 24±1 平成 17 年 10 月 25 日 24
使用した市販標準品	物質名: イミダクロプリド 試薬会社名: 関東化学 製品番号: 20005-96 ロット番号: 605F7108
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー 5.2/PC (バイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター 衛生科学部 上席専門研究員 高橋悟

試験操作

同一ロット 2 プレート及び異なるロット 1 プレートの 3 プレートを用いて、同日に「(1)測定範囲」と同じ測定操作を行った。各調製濃度について得られた実測濃度の変動係数を求め、同一ロット及び異なるロットの比較からプレート間再現性について検討した。

(7) 交差反応性

試験条件

本製品の交差反応性における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.2.7 交差反応性の試験条件

項目	内容
実証項目	基本的な性能・交差反応性(標準試料試験)
対象物質	イミダクロプリド
対象製品名	イミダクロプリド測定キット E
製品番号	ロット番号: E-ICP001F
使用期限	2006 年 6 月
測定範囲(製品仕様)	2 ~ 100 µg/L
試験日時	平成 17 年 10 月 28 日 15:50 ~ 17:45 平成 17 年 11 月 1 日 13:10 ~ 15:40
試験場所	岩手県環境保健研究センター
試験時室内温度	平成 17 年 10 月 28 日 22 ± 0.5 平成 17 年 11 月 1 日 24 ± 0.5
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー 5.2/PC(パイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター 環境科学部 専門研究員 伊藤朋子

表4.2.8 使用した市販標準品

物質名(標準品)		試薬会社名	規格	含量	製品番号	ロット番号
対象物質	イミダクロプリド	関東化学	残留農薬試験用	98%	20005-96	605F7108
類似物質	アセタミプリド	和光純薬工業	残留農薬試験用	98.0% (minimum)	014-16491	YPJ9193
	チアクロプリド	和光純薬工業	残留農薬試験用	98.0% (minimum)	207-15761	HSQ9035

表 4.2.9 試験用試料溶液

	物質名	試料溶液調製濃度
類似物質	チアクロプリド	0, 0.05, 0.2, 1, 2.5mg/L
	アセタミプリド	0, 0.4, 1.6, 8, 20mg/L

試験操作

イミダクロプリド、チアクロプリドおよびアセタミプリドについて調製した試料溶液で吸光度曲線(実測値は3重測定の平均値から求めた)を描き、吸光度曲線から類似物質の50%発色阻害濃度を求めた。(イミダクロプリドの50%発色阻害濃度 / 各類似物質の50%発色阻害濃度) × 100 (%)で交差率を求めた。

4.3 実用的な性能

(1) 回収特性

試験条件

本製品の回収特性における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.3.1 回収特性の試験条件

項目	内容
実証項目	実用的な性能・回収特性(模擬環境試料試験)
対象物質	イミダクロプリド測定キットE
対象製品名	ロット番号:E-ICP001F
製品番号	2006年6月
製造年月日	2~100 µg/L
測定範囲(製品仕様)	イミダクロプリド
試験日時	平成17年12月6日 9:30 ~ 11:50
試験場所	岩手県環境保健研究センター
試験時室内温度	24±0.5
使用した市販標準品	物質名:イミダクロプリド 試薬会社名:関東化学 製品番号:20005-96 ロット番号:605F7108
使用した妨害物質名	物質名:フミン酸ナトリウム 試薬会社名:アクロス 製品番号: ロット番号:A0207160001
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC(パイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター 環境科学部 専門研究員 伊藤朋子

表 4.3.2 使用した河川水

試料番号	地点名	採水日	採水量	備考
S1	中津川	平成17年11月15日	3L	pH 7.1 TOC 0.6mg/L

試験操作

グラスファイバーフィルター(GA100:孔径 1 µm)を用いて、河川水をろ過したる液を原水とし、それに測定範囲の中央付近となるようにイミダクロプリドを添加(8 µg/L)するとともに、妨害物質としてフミン酸ナトリウムを添加(0, 1, 5, 10, 50 mg/L)して、試験用試料溶液を調製した。なお、フミン酸ナトリウムは、含量 50~60%の表示であったことから、平均含量 55%として試料の調製を行った。

調製した試験用試料溶液について、3重測定した実測濃度から回収率を求め、フミン酸ナトリウムに対する製品の回収特性を検討した。

(2) 測定精度等

試験条件

本製品の測定精度等における試験条件は、下表に示すとおりである。

表 4.3.3 測定精度等の試験条件

項目	内容
実証項目	実用的な性能・測定精度等(環境試料試験)
対象物質	イミダクロプリド測定キット E
対象製品名	ロット番号: E-ICP001F
製品番号	2006年6月
製造年月日	2~100 µg/L
測定範囲(製品仕様)	イミダクロプリド
試験日時	平成17年11月16日 9:30 ~ 11:50
試験場所	岩手県環境保健研究センター
試験時室内温度	23 ± 1
使用した市販標準品	物質名: イミダクロプリド 試薬会社名: 関東化学 製品番号: 20005-96 ロット番号: 605F7108
検量線用ソフト名	マイクロプレートマネージャー5.2/PC(バイオ・ラッド社製)
試験機関・担当者	岩手県環境保健研究センター 衛生科学部 上席専門研究員 高橋悟

表 4.3.4 使用した環境試料

試料番号	地点名	採水日	採水量	備考
S2	濁川・北上川合流点	平成17年11月15日	2L	pH 7.1 TOC 0.6mg/L
S3	雫石川	平成17年11月15日	2L	pH 7.1 TOC 0.8mg/L
S4	北上川	平成17年11月15日	2L	pH 7.2 TOC 0.9mg/L

試験操作

環境試料として河川水を使用し、河川水に不均一に含まれる懸濁物による影響を避けるため、採水日当日にグラスファイバーフィルター(GA100:孔径 1 µm)を用いてろ過したものを冷暗所保存しておき、試料として使用した。

ELISA 用の試料は、メタノールを添加(最終濃度 10%)してそのまま測定し、機器分析は等量のアセトニトリルを加え LC/MS/MS 法により測定した。

また、環境調査において「イミダクロプリドの公共用水域等における農薬の水質評価指針値 0.2mg/L」の 1/50 濃度(4 µg/L)相当のイミダクロプリドを添加し、ELISA 法で3重測定した。

5. 試験結果

5.1 基本的な性能

(1) 測定範囲

検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は、以下に示すとおりである。

表 5.1.1 検量線用標準溶液の測定データ

項目	単位						
		ブランク	STD1(S2)	STD2(S3)	STD3(S4)	STD4(S5)	
所定濃度	μg/L	0	2	8	40	100	
実測回数	回	3	3	3	3	3	
ELISA 実測* (吸光度)	1	-	1.630	1.348	0.944	0.412	0.208
	2	-	1.618	1.314	0.916	0.398	0.200
	3	-	1.615	1.320	0.919	0.404	0.201

表 5.1.2 採用した回帰式係数 $[Y = D + (A - D) / (1 + (X/C)^B)]$ の場合

回帰式の係数	A	B	C	D	R ²
値	1.62	1.03	9.2	0.11	

注) 解析に使用したバイオ・ラッド社製 MicroplateManager/PC (Windows 版 v.5.2.1) は、仕様上回帰式の R² が計算されないので記載しない。(以下、同様)

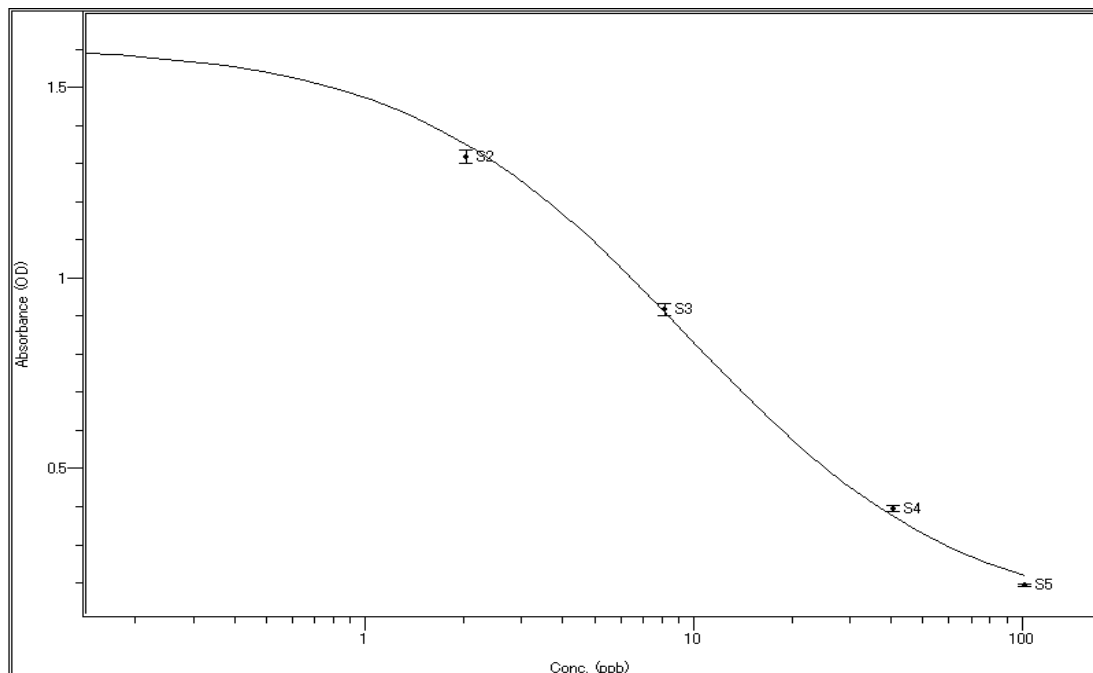


図 5.1.1 検量線

試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは、以下に示すとおりである。

表 5.1.3 対象物質試料溶液の測定データ

項目	単位	試験用試料溶液						
		溶液 S1	溶液 S2	溶液 S3	溶液 S4	溶液 S5		
調製濃度	µg/L	0	2	8	40	100		
実測回数	回	3	3	3	3	3		
ELISA 実測*	吸光度	1	-	1.630	1.355	0.934	0.418	0.221
		2	-	1.642	1.382	0.975	0.439	0.218
		3	-	1.667	1.378	0.948	0.424	0.225
	平均	-	1.646	1.372	0.952	0.427	0.221	
換算値	µg/L	-	1.900	7.340	33.17	106.5		
標準偏差	µg/L	-	0.131	0.396	1.370	3.508		
変動係数	%	-	6.9	5.4	4.1	3.3		
相対値**	%	-	95	92	83	107		

* 実測は3重測定以上とする

**調製濃度を100%としたときの各実測濃度(3重測定の平均値)との割合(%)

(2) 検出下限及び定量下限

検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は、以下に示すとおりである。

表 5.1.4 検量線用標準溶液の測定データ(2 µg/L 測定用)

項目	単位	検量線用標準溶液					
		ブランク	STD1(S2)	STD2(S3)	STD3(S4)	STD4(S5)	
所定濃度	µg/L	0	2	8	40	100	
実測回数	回	3	3	3	3	3	
ELISA 実測* (吸光度)	1	-	2.149	1.739	1.190	0.465	0.217
	2	-	2.186	1.708	1.215	0.460	0.221
	3	-	2.137	1.733	1.202	0.444	0.214

表 5.1.5 採用した回帰式係数[Y =D+(A-D)/(1+(X/C)^B)]の場合

回帰式の係数	A	B	C	D	R^2
値	2.14	1.07	8.78	0.102	

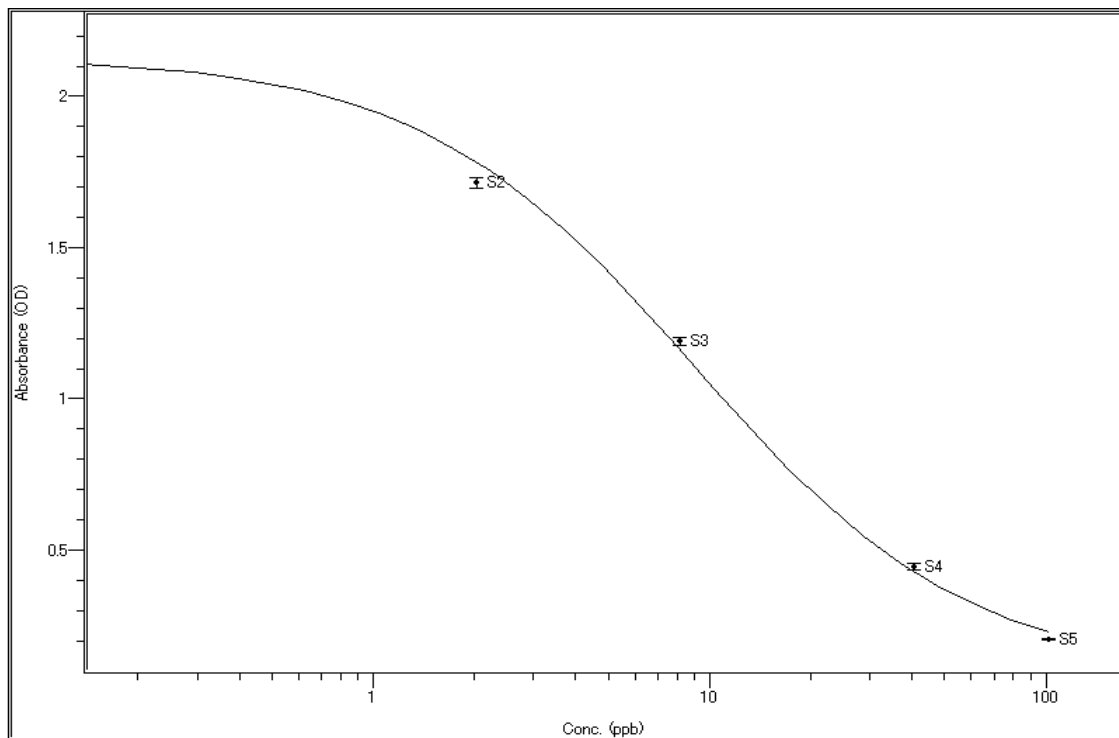


図 5.1.2 検量線(2 µg/L 測定用)

表 5.1.6 検量線用標準溶液の測定データ(0 µg/L 測定用)

項目	単位						
		ブランク	STD1(S2)	STD2(S3)	STD3(S4)	STD4(S5)	
所定濃度	µg/L	0	2	8	40	100	
実測回数	回	3	3	3	3	3	
ELISA 実測* (吸光度)	1	-	1.676	1.343	0.934	0.433	0.230
	2	-	1.526	1.325	0.940	0.429	0.226
	3	-	1.659	1.370	0.954	0.436	0.226

表 5.1.7 採用した回帰式係数 $[Y = D + (A - D) / (1 + (X/C)^B)]$ の場合

回帰式の係数	A	B	C	D	R ²
値	1.67	0.997	8.76	0.131	

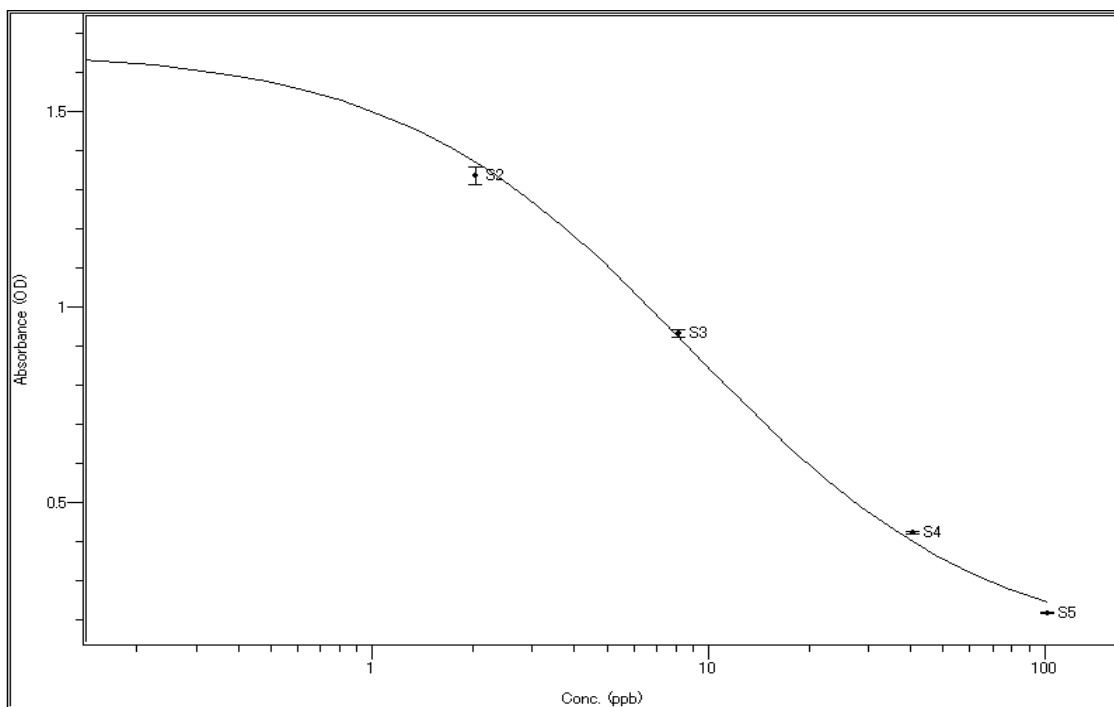


図 5.1.3 検量線(0 µg/L 測定用)

試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは、以下に示すとおりである。

表 5.1.8 対象物質試料溶液の測定データ(2 µg/L)

項目	単位	試験用試料溶液								
		溶液 S2								
調製濃度	µg/L	2	2	2	2	2	2	2	2	2
実測回数	回	1	2	3	4	5	6	7	8	
ELISA 実測	吸光度	-	1.725	1.732	1.699	1.761	1.599	1.681	1.683	1.770
	換算値	µg/L	2.465	2.419	2.651	2.222	3.402	2.778	2.768	2.162
標準偏差	µg/L	0.395								

検出下限 (3SD) = 1.2

定量下限 (10SD) = 3.9

表 5.1.9 対象物質試料溶液の測定データ(0 µg/L)

項目	単位	試験用試料溶液										
		溶液 S1										
調製濃度	µg/L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
実測回数	回	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
実測	吸光度	-	1.643	1.651	1.615	1.631	1.646	1.639	1.670	1.631	1.626	1.590
吸光度平均値	-	1.6342										
標準偏差	µg/L	0.0216										

吸光度の平均 = 1.6342.....

3SD = 0.0216374 × 3 = 0.0649122.....

より

吸光度の平均 - 3SD = 1.5692878.....

検出下限 (の吸光度より、検量線を用いて求めた換算濃度) = 0.6 µg/L

(3) 繰返し再現性

検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は、以下に示すとおりである。

表 5.1.10 検量線用標準溶液の測定データ

項目	単位						
		ブランク	STD1(S2)	STD2(S3)	STD3(S4)	STD4(S5)	
所定濃度	µg/L	0	2	8	40	100	
実測回数	回	3	3	3	3	3	
ELISA 実測* (吸光度)	1	-	2.164	1.761	1.345	0.591	0.279
	2	-	2.200	1.819	1.365	0.583	0.280
	3	-	2.217	1.803	1.335	0.582	0.280

表 5.1.11 採用した回帰式係数[Y = D+(A-D)/(1+(X/C)^B)]の場合

回帰式の係数	A	B	C	D	R ²
値	2.18	1.04	11	0.129	

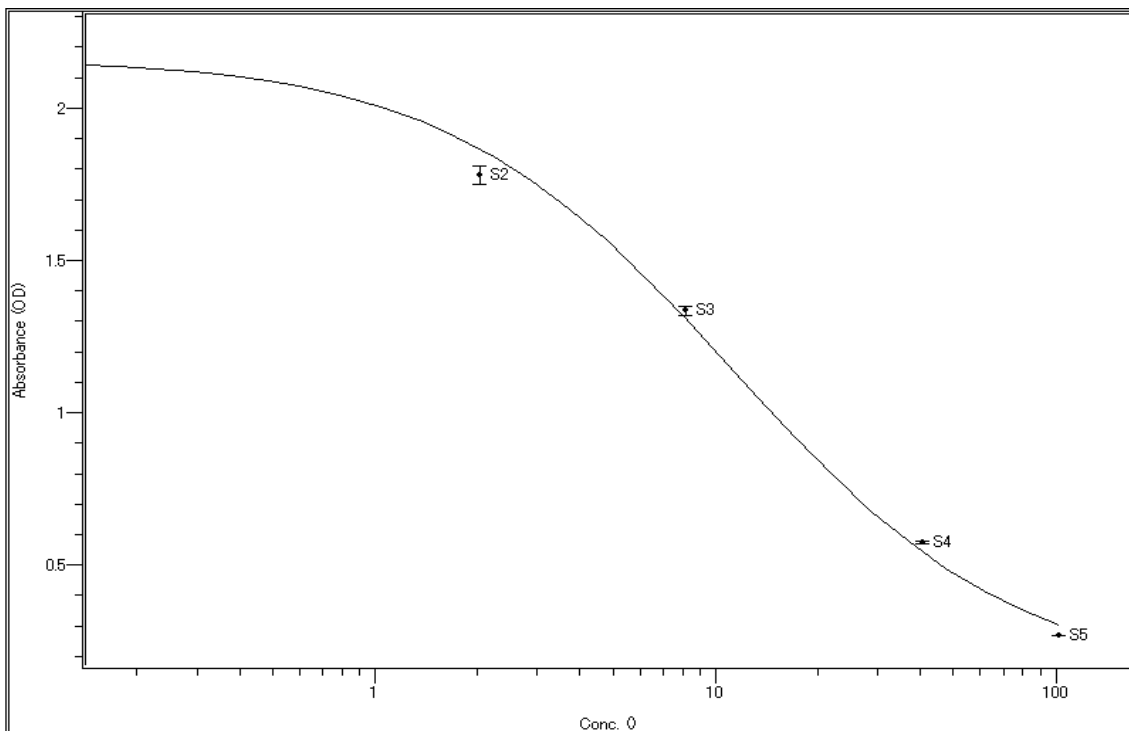


図 5.1.4 検量線

試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは、以下に示すとおりである。

表 5.1.12 対象物質試料溶液の測定データ

項目	単位	試験用試料溶液									
		溶液 S3									
調製濃度	µg/L	8	8	8	8	8	8	8	8	8	
実測回数	回	1	2	3	4	5	6	7	8		
ELISA 実測	吸光度	1	-	1.348	1.426	1.313	1.294	1.295	1.348	1.264	1.299
		2	-	1.352	1.343	1.288	1.346	1.297	1.344	1.324	1.416
		3	-	1.360	1.334	1.304	1.365	1.298	1.398	1.356	1.449
	平均	-	1.353	1.368	1.302	1.335	1.297	1.363	1.315	1.388	
	換算値	µg/L	7.506	7.298	8.295	7.778	8.375	7.360	8.090	7.011	
標準偏差	µg/L	0.50									
変動係数	%	6.5									

(4) 日間再現性

検量線作成記録

本製品における検量線の作成記録は、以下に示すとおりである。

表 5.1.13 検量線用標準溶液の測定データ(1日目)

項目	単位	検量線用標準溶液					
		ブランク	STD1(S2)	STD2(S3)	STD3(S4)	STD4(S5)	
所定濃度	µg/L	0	2	8	40	100	
実測回数	回	3	3	3	3	3	
ELISA 実測* (吸光度)	1	-	2.076	1.857	1.272	0.572	0.270
	2	-	2.135	1.820	1.270	0.550	0.276
	3	-	2.153	1.827	1.267	0.551	0.278

表 5.1.14 採用した回帰式係数 $[Y = D + (A - D) / (1 + (X/C)^B)]$ の場合(1日目)

回帰式の係数	A	B	C	D	R ²
値	2.13	1.12	10.4	0.161	

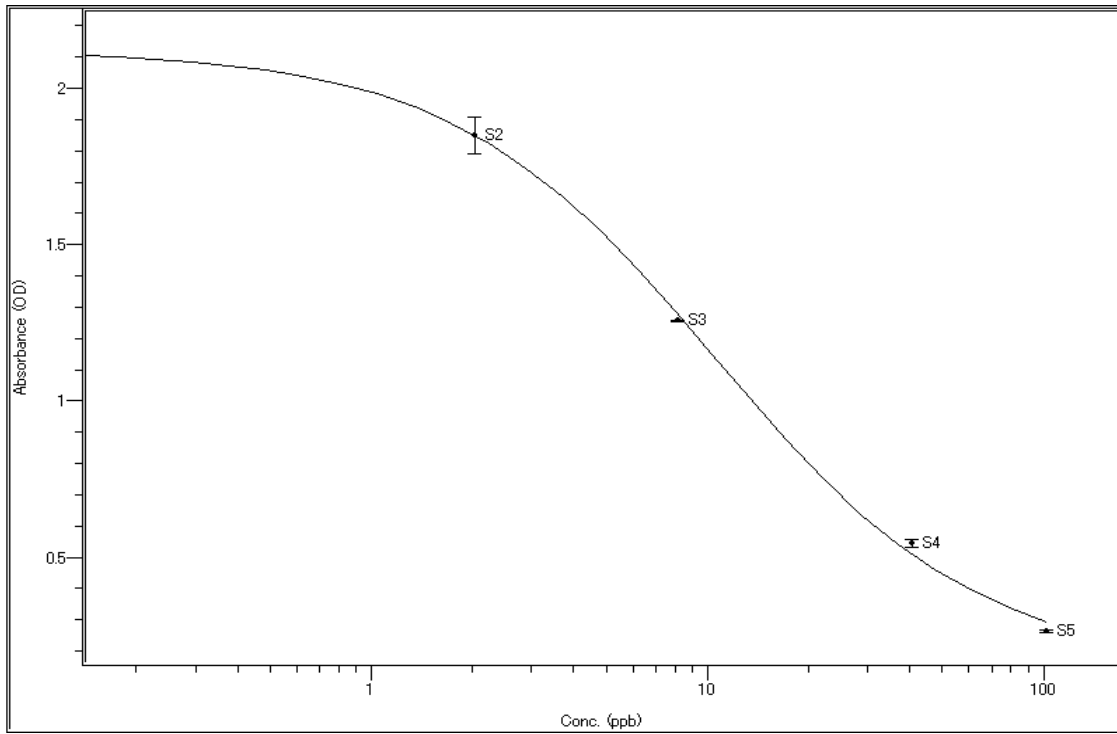


図 5.1.5 検量線(1日目)

表 5.1.15 検量線用標準溶液の測定データ(2日目)

項目	単位						
		ブランク	STD1(S2)	STD2(S3)	STD3(S4)	STD4(S5)	
所定濃度	μg/L	0	2	8	40	100	
実測回数	回	3	3	3	3	3	
ELISA 実測* (吸光度)	1	-	2.148	1.716	1.233	0.475	0.227
	2	-	2.186	1.713	1.198	0.456	0.217
	3	-	2.192	1.674	1.183	0.460	0.219

表 5.1.16 採用した回帰式係数 $[Y = D + (A - D) / (1 + (X/C)^B)]$ の場合(2日目)

回帰式の係数	A	B	C	D	R ²
値	2.16	1.03	8.57	0.096	

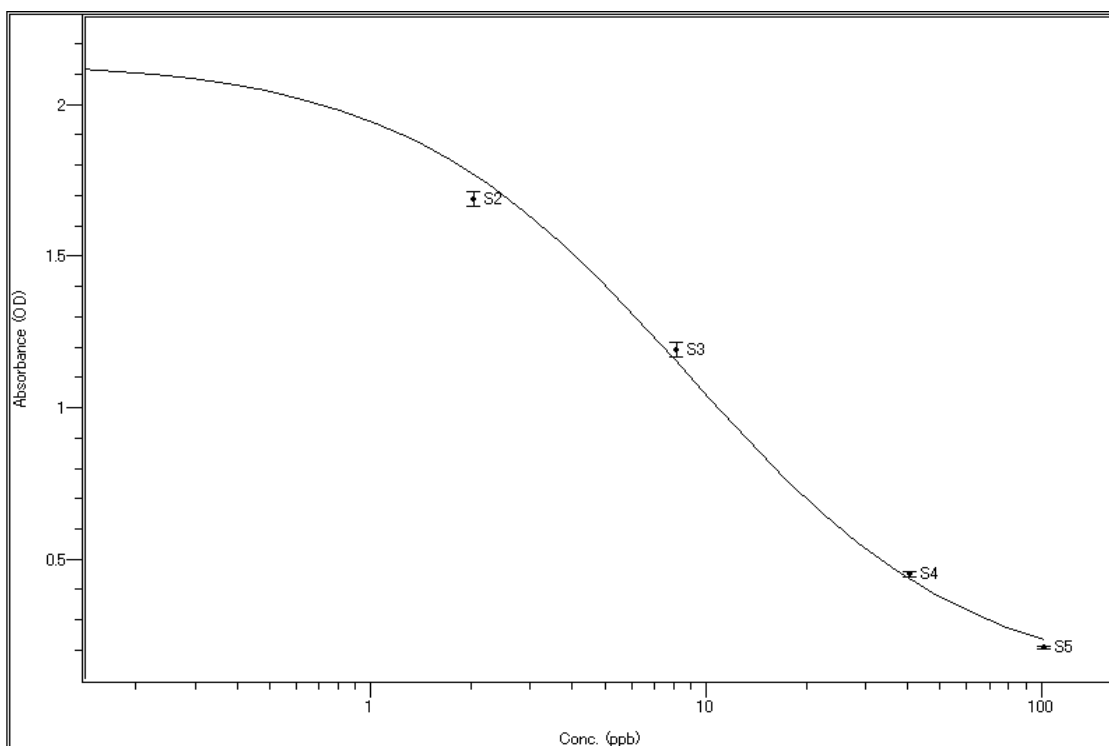


図 5.1.6 検量線(2日目)

表 5.1.17 検量線用標準溶液の測定データ(3日目)

項目		単位					
			ブランク	STD1(S2)	STD2(S3)	STD3(S4)	STD4(S5)
所定濃度		μg/L	0	2	8	40	100
実測回数		回	3	3	3	3	3
ELISA 実測* (吸光度)	1	-	2.178	1.835	1.340	0.569	0.287
	2	-	2.224	1.831	1.342	0.578	0.276
	3	-	2.279	1.809	1.304	0.579	0.276

表 5.1.18 採用した回帰式係数 $[Y = D + (A - D) / (1 + (X/C)^B)]$ の場合(3日目)

回帰式の係数	A	B	C	D	R ²
値	2.21	1.04	10.2	0.138	

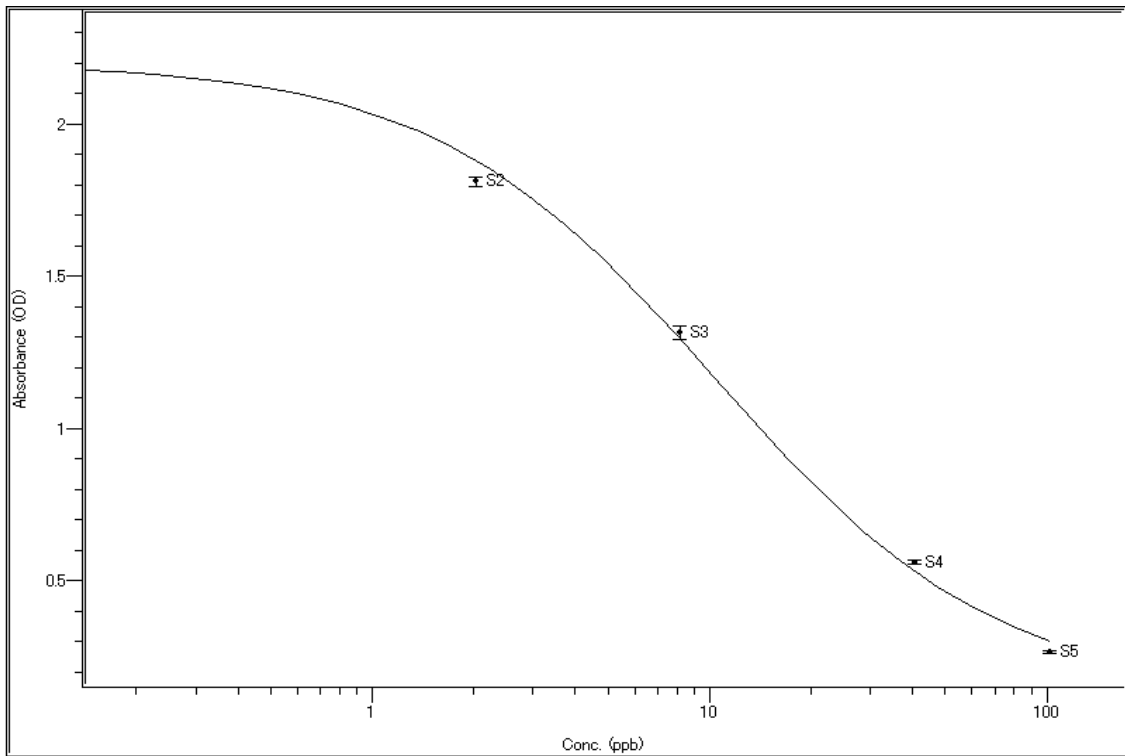


図 5.1.7 検量線(3日目)

試験結果記録

本製品における対象物質の測定データは、以下に示すとおりである。

表 5.1.19 対象物質試料溶液の測定データ

項目	単位	試験用試料溶液															
		溶液 S1			溶液 S2			溶液 S3			溶液 S4			溶液 S5			
		1日	2日	3日	1日	2日	3日	1日	2日	3日	1日	2日	3日	1日	2日	3日	
調製濃度	µg/L	0	0	0	2	2	2	8	8	8	40	40	40	100	100	100	
実測回数	回	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
ELISA 実測	吸光度	1	2.255	2.137	2.229	1.867	1.695	1.809	1.288	1.151	1.315	0.560	0.448	0.549	0.273	0.216	0.284
	2	-	2.324	2.167	2.207	1.909	1.754	1.865	1.349	1.176	1.338	0.563	0.456	0.540	0.287	0.218	0.275
	3	-	2.336	2.146	2.178	1.908	1.746	1.858	1.400	1.172	1.340	0.567	0.463	0.548	0.287	0.227	0.284
	平均	-	2.305	2.150	2.205	1.895	1.732	1.844	1.346	1.166	1.331	0.563	0.456	0.546	0.282	0.220	0.281
換算値	µg/L	—	0.058	0.089	1.757	2.337	2.359	7.229	7.974	7.661	35.18	38.81	39.67	119.9	123.7	125.3	
標準偏差	µg/L	-	-	-	0.3	-	-	0.4	-	-	2.4	-	-	2.8	-	-	
変動係数	%	-	-	-	15.9	-	-	4.9	-	-	6.3	-	-	2.3	-	-	

* 実測は3重測定以上とする