

玄麦残留農薬分析に関する技能試験における2種類の付与値の比較

鎗田 孝, 大竹貴光, 青柳嘉枝, 沼田雅彦, 高津章子
(産業技術総合研究所計量標準総合センター)

【目的】

技能試験などの外部精度管理は、残留農薬分析をはじめとした食品分析の信頼性を確保するために不可欠である。我が国の技能試験の多くでは、参加者の分析結果から算出した合意値を付与値としている。これに対しISO/IEC 17043は、不確かさがより小さい付与値の決定方法として、認証参照値などの利用を挙げている。そこで、当所が主催する残留農薬分析に関する技能試験^{1,2)}では、参加者の分析結果から算出した付与値に加え、同位体希釈質量分析法(IDMS)による当所の分析結果も付与値としている。本発表では、昨年度実施した玄麦試料を用いた技能試験において、2種類の付与値を比較した結果を報告する。

【方法】

技能試験の実施概要:4種類の分析対象農薬(ダイアジノン, フェニトロチオン, マラチオン, エトフエンプロックス)が残留した玄麦を用いて試験試料を調製した。試験試料の均質性と安定性は、参加機関の技能評価に影響を及ぼさない程度であることを確認している。参加機関による試験試料の分析は5~7月に実施され、71機関から2回分析の結果と、適用した分析法の詳細が報告された。

付与値の決定:参加者の分析結果から外れ値を除外し、得られたメジアンを付与値 X_m とした。また、一斉試験法(GC-MS法)³⁾をベースとしたIDMSの分析結果を付与値 X_{NMU} とした。

参加機関の技能評価: X_m 及び参加機関の結果の正規四分位範囲(NIQR)から z_1 -スコアを、また X_{NMU} 及び修正 Horwitz 式から求めた室間再現性標準偏差($PRSD_R$)から z_2 -スコアを算出した。

【結果及び考察】

参加機関の過半数が一斉試験法(GC-MS法)に準拠した方法を適用し、残りのほとんどがQuEChERS法, STQ法, 超臨界流体抽出法のいずれかを適用したが、各法の分析結果に有意差は認められなかった。IDMSでは前処理前に分析対象農薬の安定同位体(d 体)を試験試料に添加するために、 X_{NMU} は農薬の回収率などに依存しない、普遍的な値であると考えられた。これに対し、マラチオン以外の農薬の X_m は X_{NMU} より11~14%(相対値, 以下同)低く、その原因として、ほとんどの参加機関が前処理過程での回収率による分析結果の補正を行わなかったことが挙げられた。一方、マラチオンの X_m は X_{NMU} より23%ほど低かった。そこで、当所が試験試料を用いて検討したところ、抽出前に行う試料の水浸漬によってマラチオンが分解することを確認した。

2種類の付与値の違いに起因して、各参加機関の z_1 -スコアは z_2 -スコアよりも高くなった。 z_1 -スコアは参加機関全体における各機関の相対的な位置を示しているのに対し、 z_2 -スコアは真値の推定値に対する偏りを示しており、分析法の正確さの評価などに特に有効であると考えられた。

【文献】

1) T.Yarita, et al., Talanta, 132 (2015) 269. 2) T.Otake et al., Anal. Bioanal. Chem., 406 (2014) 7337. 3) 平成17年1月24日食安発第0124001号別添。

カビ毒アフラトキシンに対する ELISA の構築とその反応特性

○山崎 朋美¹、佐藤 夏岐²、平川 由紀¹、岩佐 精二³、渡辺 卓穂²、三宅 司郎¹

¹公益財団法人京都高度技術研究所、²一般財団法人 食品薬品安全センター-秦野研究所 食品衛生事業部

³豊橋技術科学大学 環境・生命工学系

【目的】2011年10月から、食品衛生法に基づき総アフラトキシン (AFB₁、B₂、G₁、G₂; 図1) を対象とした規格 (総量として10 μg/kg) が施行された。施行に伴い、抗体を利用したイムノアフィニティークラムがHPLCによる試料調製方法として採用された。内ヶ島らは、2009年に、総AFの規格に適したこれらのAFと等価に反応するモノクローナル抗体を作製し、イムノアフィニティークラムに応用した¹。本研究では、この抗体をELISA に応用し総AFの測定を試みたので報告する。

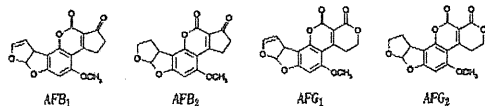


図1. アフラトキシン類の構造

【方法】ELISAは、以下の流れで構築した。抗AFマウスモノクローナル抗体 (AF-MoAb) は、堀場製作所 (株) から腹水として提供された。硫酸沈殿により抗体画分を調製した。AFの西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) 標識物 (AF-HRP) は、オキシム化したAFB₁を活性エステル法によりHRPと結合し調製した。96ウェルマイクロタイタープレートの各ウェルに、マウスMoAbに対する二次抗体を固相化し、抗原抗体反応によりAF-MoAbを結合させた。このウェル中でAF-HRPとAFを競合反応させることにより、AF濃度を測定可能な直接競合ELISAを構築した。このELISAを用いて、ピーナッツバターにAFを添加し測定を試みた。AFを添加したピーナッツバター5 gにNaCl

0.5 gと80%メタノール (水:メタノール=1:4) 20 mLを加えて30分間振とうし、AFを抽出した。遠心後の上清を蒸留水で8倍希釈し、さらに10%メタノールで適宜追加希釈した。この希釈液を測定に供した。

【結果】ELISAの測定範囲を20-80%阻害率と定義したとき、AFB₁の測定範囲は40-120 pg/mLで、総AFの中で最も高い反応性を示した。最も反応性の低かったのはAFG₂で、その測定範囲は70-700 pg/mLだった。そこで、ピーナッツバターを用いて各AFを10 ng/gとなるように添加し、測定した。対応する各AFを検量線とした結果、83-125%の回収率を得た。LC/MS/MSにより確認した結果は81-94%の回収率であり、ELISAはやや高い値となることが判った。

【考察】開発したELISAは、総AFの規格値の測定に十分な感度を示した。今後、実用に適した検量線の選択と、実試料による適用性の検証を進める必要があるが、少なくともスクリーニングには使用可能と考えられた。

本研究は、知の拠点あいち「重点研究プロジェクト事業」と厚生労働科学研究補助金「食品の安全確保推進研究事業」により実施した。

1) Uchigashima *et. al*, *J Agr Food Chem* 57: 8728-8734 (2009)

