

## 酵素免疫測定法を利用した残留農薬分析法 (第1報)

江崎 好美<sup>1</sup>・長 律子<sup>1</sup>  
藤本 和司<sup>1</sup>・藤本 喬<sup>2</sup>

### Analysis of Residual Pesticide in Food by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Part 1)

Yoshimi ESAKI, Ritsuko CHO,  
Kazushi FUJIMOTO, Takashi FUJIMOTO

カーバメート系農薬を中心とした20種類の農薬を対象に、酵素免疫測定法(ELISA法)を利用した残留農薬の多成分分析法を検討した。測定には、OHMICRON社製のRaPID Assayキット3種類を用いた。

はじめに、市販キット毎に対象農薬に対する交差性(抗体との結合性)を確認した。

- ① メソミル検出キットでは、対象農薬全てに対し交差性を示さなかった。
- ② アルジカルブ検出キットでは、アルジカルブ以外に交差性を示したものが4農薬存在したが、その濃度のほとんどが1000ppbであった。
- ③ カルバリル検出キットでは、カルバリルを含め8種類の農薬が交差性を示した。そのうち、1ppbの濃度で交差性を示したものが3農薬存在した。

以上、3種類の市販キットのうちカルバリル検出キットだけが、数種類の農薬に対して低濃度で交差性を示した。このことは、カルバリル検出キットがカルバリルだけに特異的に反応するのではないことを意味しており、多成分分析を目的としたカルバリル検出キットの活用が期待された。

次に、実サンプルにいちごを用いてカルバリル検出キットを使用した添加回収実験を行った。添加農薬には、交差性を示した8農薬のうち6農薬を用いた。その結果、回収率は87~481%を示した。

**Key Words:** 酵素免疫測定法 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA),  
農薬 Pesticide, 交差性 cross-reactivity, 抗体 antibody,  
市販キット Commercial Kits

### I はじめに

食糧資源の乏しいわが国にとって、食糧確保は重大な課題である。もし、作物に害虫がつき、病気が発生し、雑草がはびこった場合、それらを防除しなければ、安定した収穫は得られない。それらを防除する技術のなかった時代、作物の収穫はその年の運まかせであった。しかし、幾度かの飢饉にみまわれ、今日のような農薬による防除方法が行われるようになった。

現在、私たちの食生活は豊かで、スーパーマーケットに行けばなんでもそろそろ時代である。この食糧の安定生産を支えているのが農薬や農業技術の進歩であり、現代農業においては農薬を抜きにしては考えられない。

しかしその一方、農薬の使用は、食品中での残留問題を引き起こし、ポストハーベスト農薬の使用問題ともあいまって、食品の安全性に対する不安要因の一つとされている。

国内食品の残留農薬基準には、従来26農薬が定められていたが、農産物の輸入化、種類・数量の増加に呼応して、平成4年から平成7年までの間に5次にわたって改正が行われ、82農薬の基準が追加され、現在108農薬となっている。今後も更に基準が設定され、最終的に

1. 福岡市衛生試験所 理化学課

2. 福岡市衛生試験所 理化学課

(現所属:福岡市教育委員会学校給食センター)

は、200 農薬を越えるといわれている。

この残留農薬基準には告示により分析法が定められているが、その多くは個別分析法であるため、分析現場での業務の激増等さまざまな問題を引き起こしている。また、さらなる残留基準値の設定がすすめば、限られた労力で短期間に業務を遂行することは、ますます困難となる。そのため機器分析による新たな系統分析の開発<sup>1)</sup>や簡易な確認試験法の導入などだけでなく、機器分析から一歩踏み出した分析手法の一つとして、酵素免疫測定法(ELISA 法)を利用した残留農薬分析法<sup>2)-7)</sup>が検討されている。ELISA 法は、操作が簡便で感度も高く、短時間に多数の試料を分析できることが知られている。また、環境への影響等が指摘されている有機溶媒の使用を抑えることも可能である。

一般的に ELISA 法で単一成分を分析する場合、目的物質だけに特異的に反応することが望まれる。一方、逆に特異性があまり強くなければ、複数の物質を総量として分析することができ、スクリーニング法としての活用がおおいに期待される。しかし、ELISA 法の活用としては現在単一成分分析がほとんどで、数種類の農薬を対象とした活用例は少ない。今回、市販キットを用いて ELISA 法を利用した残留農薬の多成分分析法を検討し、若干の知見を得たので以下報告する。

## II 実験方法

### 1. 試料

対象農薬が残留していないことを確認したいちご

### 2. 試薬

#### 1) 対象農薬

残留農薬簡易分析法検討委員会が検討している系統分析法<sup>1)</sup>から外れると考えられる農薬の他に、カーバメート系農薬を含めた計 20 農薬を対象とした(表 1)。

2) 農薬標準液: 対象農薬の 200 ppmメタノール溶液を作成し、それを蒸留水で適宜希釈して用いた。

3) その他の試薬は全て残留農薬分析用を用いた。

#### 3. 市販キット

ELISA 法を利用した分析キットは数社から販売されているが、その中でも抗原抗体反応の終了後に洗浄が可能である OHMICRON 社製の RaPID Assay キットに着目し、下記の 3 種類を選択した。

なお、各市販キットは、磁性体コーティング抗体溶液、酵素標識抗原、発色剤水溶液、反応停止液、チューブ、希釈液から構成されている。

1) カルバリル検出キット (OHMICRON 社,USA)

表 1 対象農薬

対象農薬名	用途	分類
カルバリル	殺虫	カーバメート系
イソプロカルブ	殺虫	カーバメート系
ベンダイオカルブ	殺虫	カーバメート系
フェノプロカルブ	殺虫	カーバメート系
ピリミカルブ	殺虫	カーバメート系
エチオフェンカルブ	殺虫	カーバメート系
オキサミル	殺虫	カーバメート系
アルジカルブ	殺虫	カーバメート系
メチオカルブ	殺虫・殺ダニ	カーバメート系
クロルプロファミ	除草	カーバメート系
チオベンカルブ	除草	カーバメート系
エスプロカルブ	除草	カーバメート系
ジエトフェンカルブ	殺菌	カーバメート系
プロバモカルブ	殺菌	カーバメート系
トリクロルホン(DEP)	殺虫	有機リン系
アセフェート	殺虫	有機リン系
ジメトエート	殺虫	有機リン系
バミドチオン	殺虫	有機リン系
メタミドホス	殺虫・殺ダニ	有機リン系
ジメチピン	除草	S含有

2) アルジカルブ検出キット (OHMICRON 社,USA)

3) メソミル検出キット (OHMICRON 社,USA)

### 4. 使用機器

1) 磁石ユニット: 60チューブ用 (OHMICRON 社製)

2) 吸光光度計: ハンディーフォトメーター  
Model-6 (SCETI 社製)

### 5. 試験方法

1) 市販キットでの交差性について

(1) カルバリル及びメソミル検出キット

#### ① 抗原抗体反応

チューブに、表 1 に示した農薬の標準液をそれぞれ 200  $\mu$ l ずつ分注し、酵素標識抗原 250  $\mu$ l、磁性体コーティング抗体溶液 500  $\mu$ l を加え、ボルテックスミキサーで攪拌後、室温で 30 分間インキュベートした。

#### ② 洗浄操作

磁石ユニットにチューブを装着し、5 分間放置することで抗体の分離を行った。磁石ユニットにチューブをとりつけたまま、溶液を静かに捨てた。蒸留水 0.9 ml を各チューブに静かに加え、磁石ユニット上で 2 分間放置後、磁石ユニットにチューブをとりつけたまま、溶液を静かに捨て洗浄した。この洗浄操作を再度繰り返した。

### ③ 発色操作及び測定方法

チューブを磁石ユニットから取り外し、発色剤水溶液 500 $\mu$ lを加えた。これを、ボルテックスミキサーで攪拌後、室温で20分間インキュベートした後、反応停止液 500 $\mu$ lを加え、吸光度 (450 nm) を測定した。ブランクには蒸留水を用い、同様に操作した。

### (2) アルジカルブ検出キット

#### ① 抗原抗体反応

チューブに磁性体コーティング抗体溶液 500 $\mu$ lを加え、磁石ユニット上で5分間放置した。その後、磁石ユニットにチューブをとりつけたまま、溶液を静かに捨てた。次に、表1に示した農薬の標準液をそれぞれ 250 $\mu$ lずつ分注し、酵素標識抗原 250 $\mu$ lを加えた後、ボルテックスミキサーで攪拌後、室温で30分間インキュベートした。

#### ② 洗浄操作

前述のカルバリル及びメソミル検出キットの洗浄操作に従った。

#### ③ 発色操作及び測定方法

前述のカルバリル及びメソミル検出キットの発色操作及び測定方法に従った。

### 2) 添加回収実験

#### (1) 試験溶液の調製

##### ①方法Ⅰ (試料 2g 相当 / 1 mlに調製した場合)

いちご 20g にアセトン を 100 ml 加え、混和した後ろ過した。洗液をあわせ、これをアセトン臭がなくなるまでロータリーエバポレーターで濃縮し、蒸留水で 9 ml に定容した。この溶液 0.9 ml (いちごとして 2g 相当) を分取し、農薬の標準液または蒸留水を 0.1 ml 加えて全量を 1 ml とし、これを試験溶液とした。なお、ブランクにはキット付属の希釈液を用いた。

##### ②方法Ⅱ (試料 0.02g 相当 / 1 mlに調製した場合)

いちご 20g にアセトン を 100 ml 加え、混和した後ろ過した。洗液をあわせ、これをアセトン臭がなくなるまでロータリーエバポレーターで濃縮し、蒸留水で 40 ml に定容し、さらに蒸留水を用いて 10 倍希釈した。この溶液 0.4 ml (いちごとして 0.02g に相当) を分取し、これに農薬の標準液または蒸留水を 0.1 ml 及び、キット付属の希釈液を 0.5 ml 加えて全量を 1 ml とし、これを試験溶液とした。なお、ブランクには蒸留水 0.5 ml にキット付属の希釈液 0.5 ml を加えた溶液を用いた。

#### (2) 測定方法

チューブに、方法Ⅰまたは方法Ⅱで調製した試験溶液をそれぞれ 200 $\mu$ l ずつ分注し、カルバリル測定用酵素標識抗原 250 $\mu$ l、カルバリル測定用磁性体コーティング抗体溶液 500 $\mu$ l を加え、ボルテックスミキサーで攪拌後、室温で 30 分間インキュベートした。以降の操作

は、試験方法の項の「1) (1)カルバリル及びメソミル検出キット」の方法に従った。ブランクも同様に操作した。

## 6. 結果の評価方法

吸光度を測定した後、次式により  $B/B_0$  (%) に換算した。算出した標準液の  $B/B_0$  とそれぞれの濃度を片対数グラフに表し、検量線を作成した (対数軸に濃度をとった)。また検出下限は、 $B/B_0$  が 90% 付近の濃度とした。

$$B/B_0 (\%) = \frac{\text{標準液及び試料の } A_{450} / \text{ブランクの } A_{450}}{\text{標準液及び試料の } A_{450} / \text{ブランクの } A_{450}} \times 100$$

## Ⅲ 結果及び考察

### 1. 試験溶液の液性について

#### 1) 測定時のメタノールの影響

農薬標準液作成の際にメタノールを使用するので、測定時のメタノールの影響をあらかじめ確認する必要がある。

そこで、3種類の市販キットを用いて、メタノール濃度の違いによる吸光度の比較を行った。カルバリル検出キットでの結果を表2に示した。どのキットにおいても、5%以下ではメタノールの影響はなかったが、さらに危険率を加味して、その  $\frac{1}{10}$  量の 0.5% 以下で使用することとした。

表2 測定時におけるメタノールの影響

(n = 2)		
メタノール濃度 (%)	吸光度 (ABS)	割合 (%)
0	1.816	100
1	1.931	107
5	1.766	97
10	2.0 OVER	-

#### 2) 測定時の塩の影響

キットの添付説明書によれば、ブランクには付属の希釈液を用いることになっており、その中には塩類を含むと記載されていた。そこで、3種類の市販キットを用いて、蒸留水を使用した場合と付属の希釈液を使用した場合において、吸光度に差が生じるか否か確認を行った。カルバリル検出キットでの結果を表3に示した。アルジカルブ検出キットでは、双方にあまり差はなかったが、カルバリル検出キット及びメソミル検出キットでは、付属の希釈液のほうが蒸留水より1割強低かった。これは、

表3 蒸留水とブランク溶液の検討

(n = 2)		
溶液の種類	吸光度 (ABS)	割合 (%)
蒸留水	1.816	100
付属の希釈液	1.580	87

抗原抗体反応の際に塩の影響を受けるためではないかと考えられ、分析を行う際には、ブランク溶液中の塩濃度を試験溶液の塩濃度に近づける必要があると思われた。

そこで、市販キット毎の交差性を確認する場合は、ブランクとして蒸留水を使用した。また、添加回収実験の際、試験溶液の調製を方法Ⅰで行う場合は、ブランクとして付属の希釈液を使用し、方法Ⅱで行う場合は、蒸留水と付属の希釈液を等量混合した溶液を使用した。

## 2. 市販キットでの交差性について

測定物質である抗原と近似した結合部位をもつ他の物質が存在した場合、抗体は抗原だけでなく抗原と近似した結合部位をもつ他の物質とも交差性を有する。

そこで、3種類の市販キットを用いて、1000 ppb以下の濃度で対象農薬を測定し、その交差性を調べた。

### 1) カルバリル検出キット

カルバリル検出キットを用いて対象農薬を測定した場合の、農薬標準液濃度とB/B<sub>0</sub>の関係を表4に示した。なお、カルバリルに関しては表から除いた。

ここでの発色強度は、酵素標識抗原に結合している酵素の量により左右される。つまり、農薬が多く含まれていれば吸光度は低くなり、少なければ高くなる。またB/B<sub>0</sub>は、ブランクの吸光度を100とした時の割合を表している。

1000 ppbの濃度でB/B<sub>0</sub>が90%を下回ったものは、イソプロカルブ、ベンダイオカルブ、フェノブカルブ、ピリミカルブ、エチオフェンカルブ、メチオカルブ、クロロプロファミの7農薬であり、このことは、その農薬が交差性を示したことを意味している。

そこで、交差性を示した7農薬とカルバリルについて、農薬標準液の濃度を変えてさらに追加試験を行い、各農薬毎の標準液濃度とB/B<sub>0</sub>の関係を片対数グラフに表した(図1~図8)。また検出下限は、B/B<sub>0</sub>が90%付近の濃度であることから、図1~図8を基にして、試験溶液としての検出下限を表5に示した。表5からわかるように、カルバリルを含めた8種類の農薬の検出下限は、0.3~200 ppbの範囲であった。

このキットは、本来カルバリル測定用であるため、カルバリル以外の7農薬における検量線の直線域は、カルバリルと比較して狭かった。しかし、その検出下限を比

表4 カルバリル検出キットで測定した場合の対象農薬濃度とB/B<sub>0</sub>の関係

対象農薬	単位: %			
	1000 ppb	100 ppb	10 ppb	1 ppb
★イソプロカルブ	35.7	45.5	56.4	86.3
★ベンダイオカルブ	42.4	55.3	93.2	93.5
★フェノブカルブ	45.7	64.4	93.5	88.4
★ピリミカルブ	68.1	90.5	101.5	95.0
★エチオフェンカルブ	60.5	97.8	97.9	92.3
オキサミル	91.0	108.8	97.3	91.6
アルジカルブ	103.8	91.6	102.0	108.7
★メチオカルブ	29.6	42.1	51.6	75.9
★クロロプロファミ	32.5	51.0	73.6	95.1
チオベンカルブ	98.2	96.1	95.8	96.9
エスプロカルブ	104.4	108.0	98.0	103.7
ジエトフェンカルブ	109.6	105.1	105.5	94.0
プロパモカルブ	93.8	94.6	99.0	94.0
トリクロロン(DEP)	97.9	92.2	99.5	88.9
アセフェート	92.9	101.7	83.7	96.0
ジメトエート	92.9	92.9	92.3	92.9
バミドチオン	99.7	95.7	94.7	103.9
メタミドホス	98.8	97.6	96.8	94.2
ジメチピン	91.5	103.8	88.4	95.6

★印の付いた農薬は、1000 ppb以下で交差性を示したものである。

較すると、カルバリルと同程度の感度を示すものがあり、低濃度で特異的に反応する物質がカルバリルだけではないことがわかった。

### 2) アルジカルブ検出キット

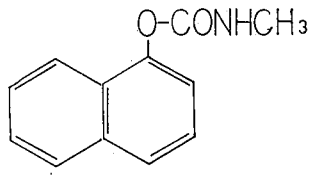
アルジカルブ検出キットを用いて対象農薬を測定した場合の、農薬標準液濃度とB/B<sub>0</sub>の関係を表6に示した。なお、アルジカルブに関しては表から除いた。

1000 ppbの濃度でB/B<sub>0</sub>が90%を下回ったものは、メチオカルブ、クロロプロファミ、チオベンカルブ、エスプロカルブの4種類であった。そのうちの3種類は、1000 ppbの濃度で90%に近いB/B<sub>0</sub>値を示した。

このように、アルジカルブ以外に交差性を示した農薬の検出限界はほとんどが1000 ppbと高く、前述したカルバリル検出キットと比較すると実用的ではなかった。

### 3) メソミル検出キット

メソミル検出キットを用いて対象農薬を測定した場合、1000ppbの濃度でB/B<sub>0</sub>が90%を下回ったものは一つもなかった。このことから、メソミル検出キットにおいては、特異性が高く、1000 ppb以下の濃度では対象農薬全てが交差性を示さないことがわかった。



$C_{12}H_{11}NO_2 : 201.3$

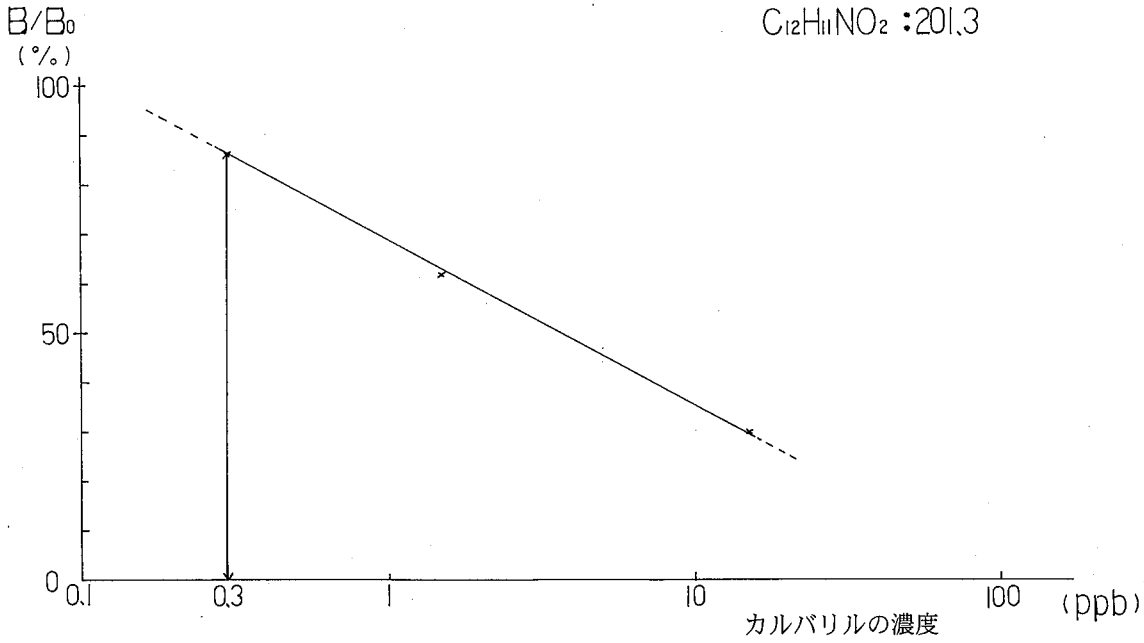
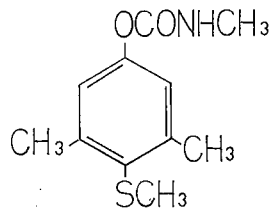


図1 カルバリル検出キットにおけるカルバリルの濃度とB/B<sub>0</sub> (%) の関係



$C_{11}H_{15}NO_2S : 225.31$

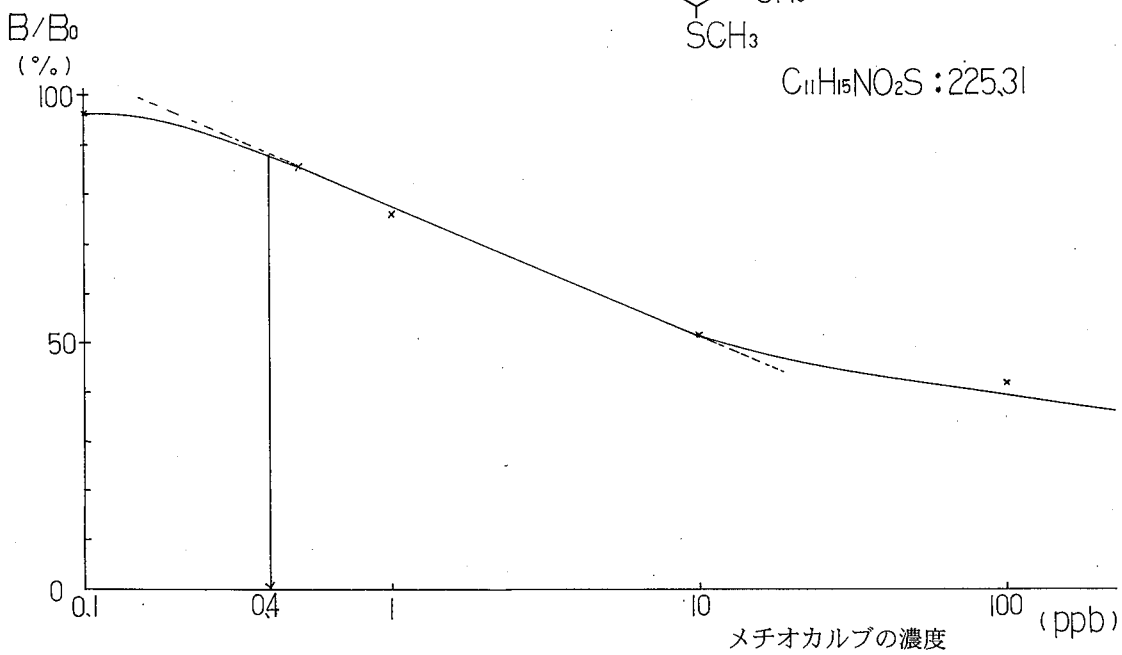


図2 カルバリル検出キットにおけるメチオカルブの濃度とB/B<sub>0</sub> (%) の関係

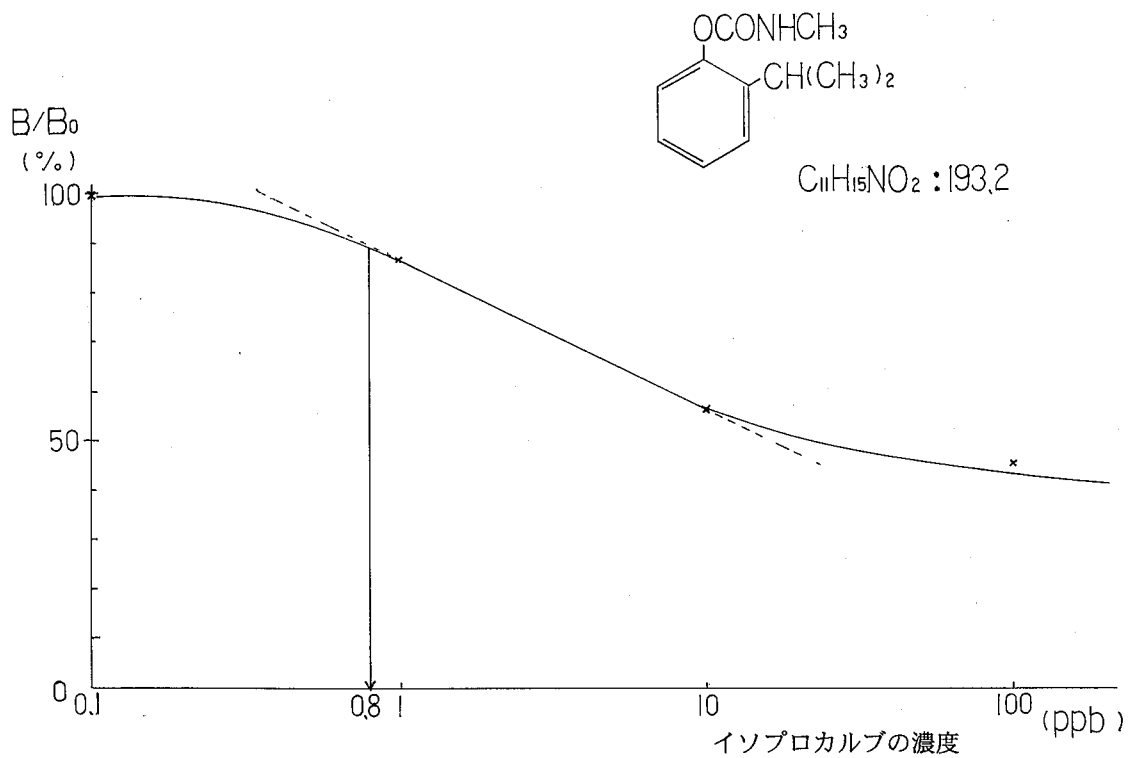


図3 カルバリル検出キットにおけるイソプロカルブの濃度とB/B₀ (%) の関係

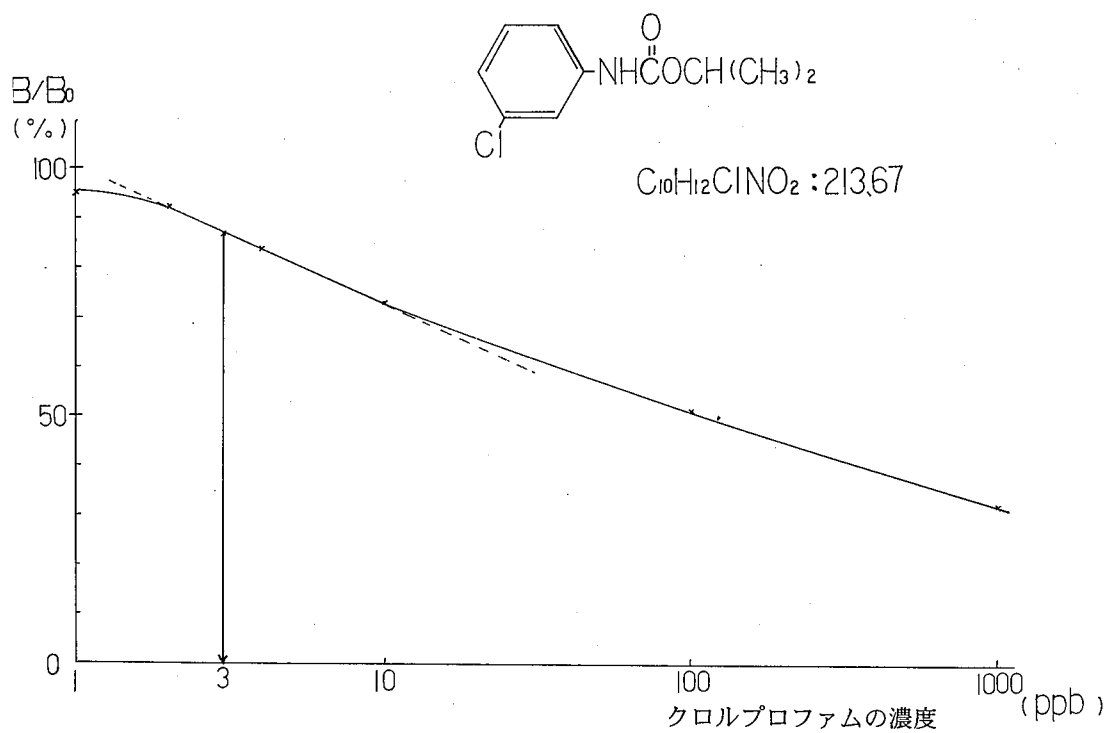


図4 カルバリル検出キットにおけるクロルプロファムの濃度とB/B₀ (%) の関係

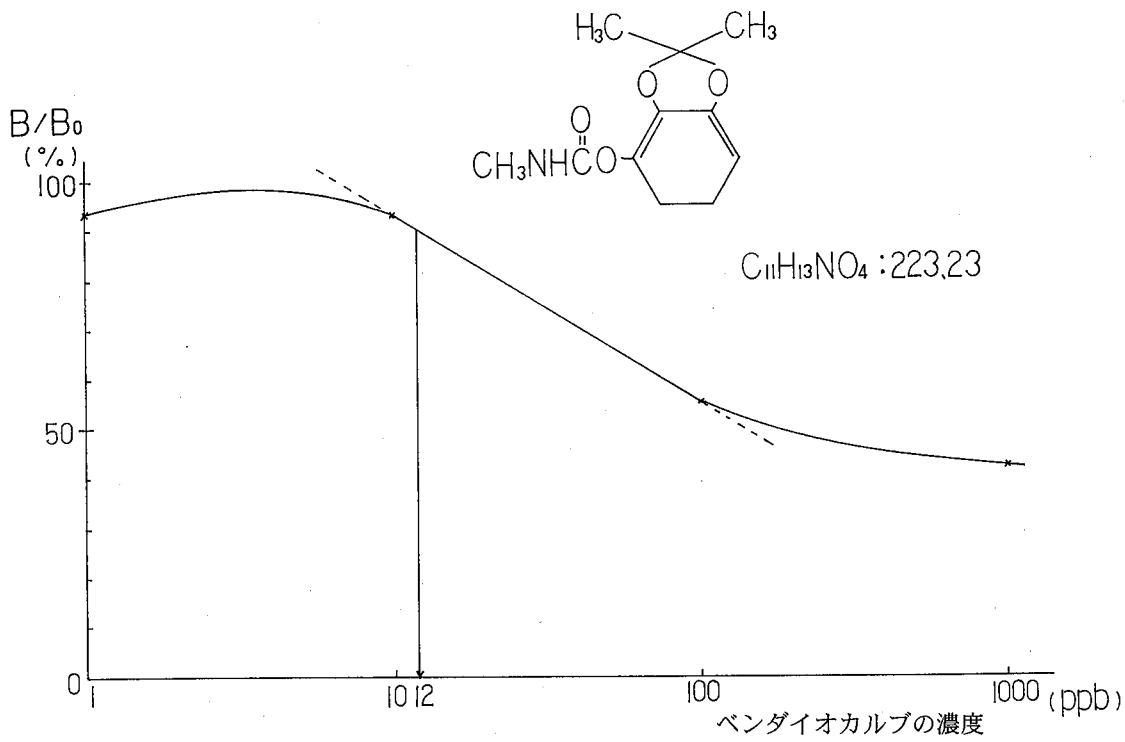


図5 カルバリル検出キットにおけるベンダイオカルブの濃度とB/B<sub>0</sub> (%) の関係

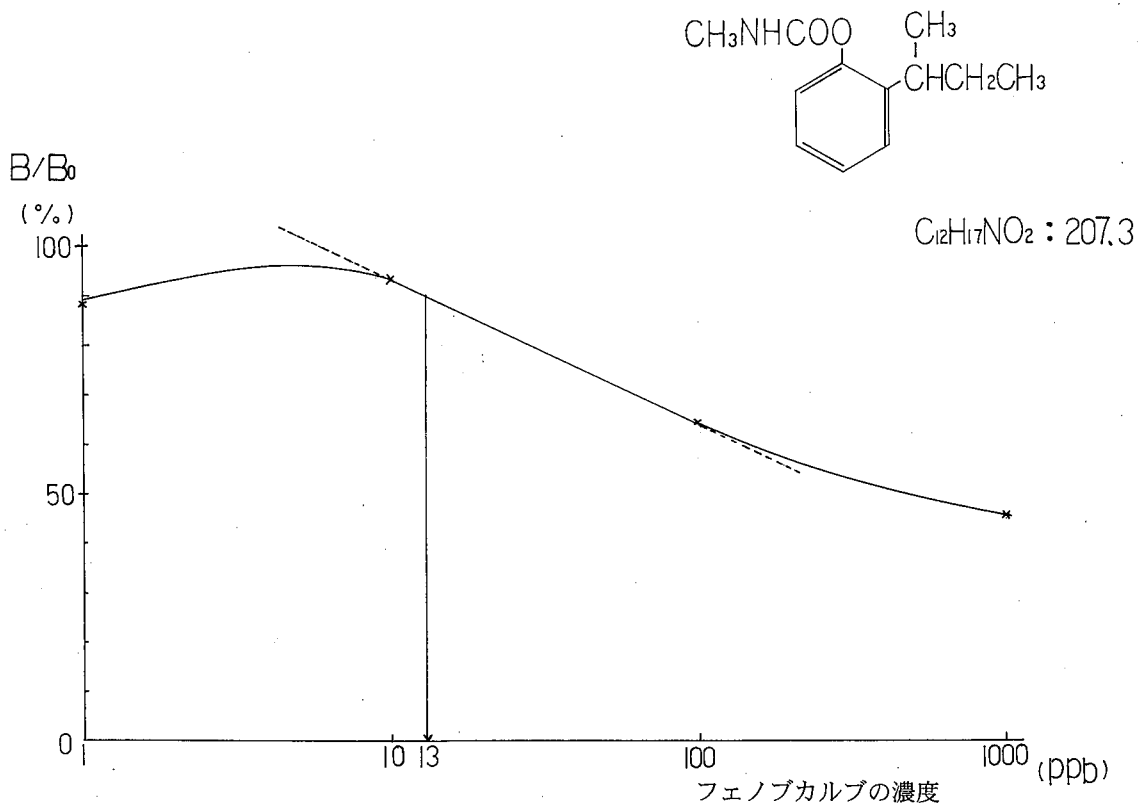


図6 カルバリル検出キットにおけるフェノプカルブの濃度とB/B<sub>0</sub> (%) の関係

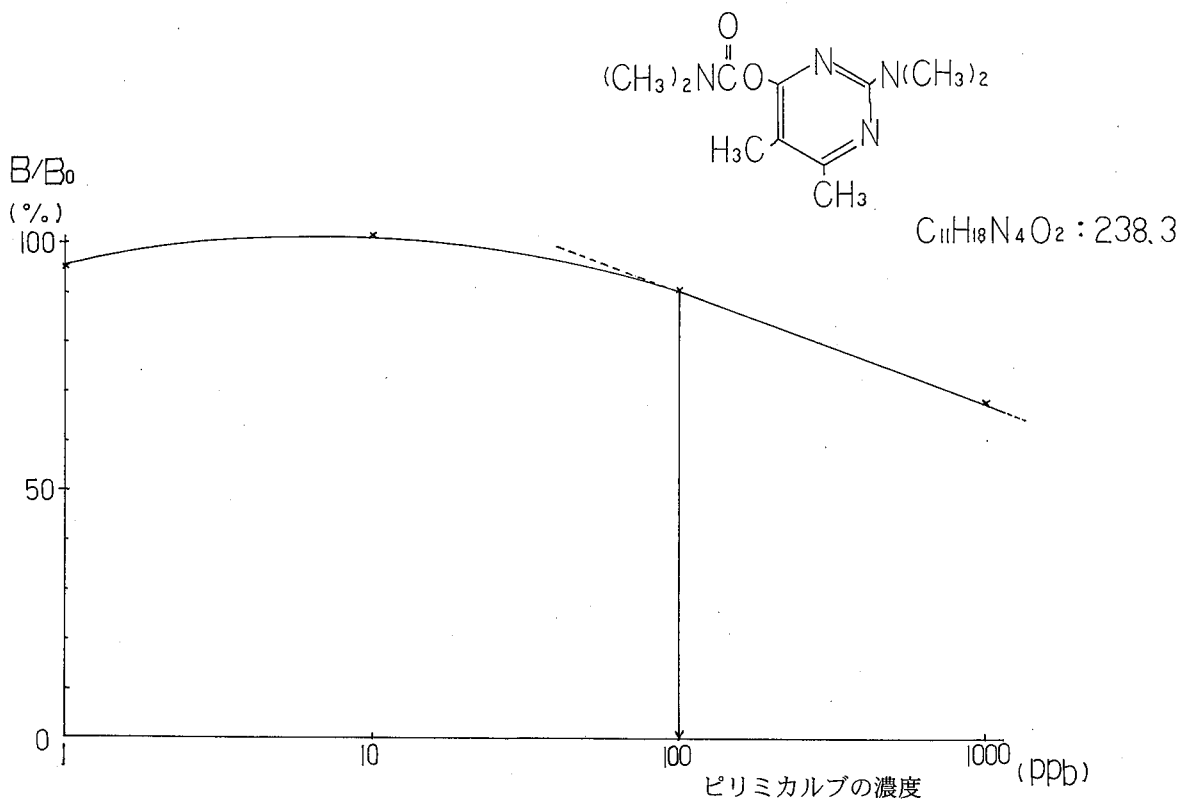


図7 カルバリル検出キットにおけるピリミカルブの濃度とB/B<sub>0</sub> (%) の関係

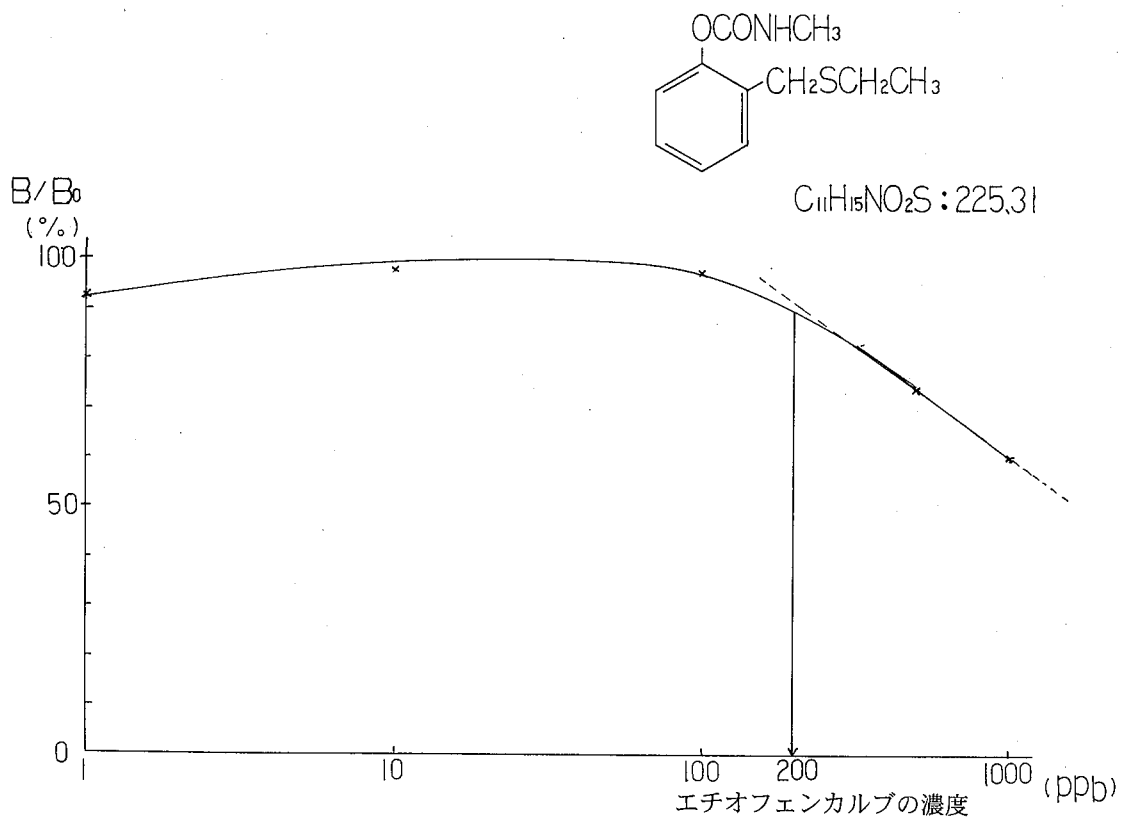


図8 カルバリル検出キットにおけるエチオフェンカルブの濃度とB/B<sub>0</sub> (%) の関係



表5 カルバリル検出キットでの検出下限

単位：ppb	
農薬名	検出下限
カルバリル	0.3
メチオカルブ	0.4
イソプロカルブ	0.8
クロルプロファム	3.0
ベンダイオカルブ	12
フェノブカルブ	13
ピリミカルブ	100
エチオフェンカルブ	200

表6 アルジカルブ検出キットで測定した場合の  
対象農薬濃度とB/B<sub>0</sub>の関係

単位：%				
対象農薬	1000 ppb	100 ppb	10 ppb	1 ppb
カルバリル	92.9	116.1	98.2	98.5
イソプロカルブ	93.6	97.6	98.1	100.8
ベンダイオカルブ	92.9	96.9	100.8	99.9
フェノブカルブ	93.3	97.1	98.8	98.9
ピリミカルブ	94.3	97.6	99.3	95.4
エチオフェンカルブ	101.8	106.0	94.2	98.9
オキサミル	97.3	99.7	99.7	99.1
★メチオカルブ	85.8	95.0	99.8	97.1
★クロルプロファム	86.6	88.9	96.9	99.1
★チオベンカルブ	86.8	100.4	99.9	97.4
★エスプロカルブ	82.1	93.0	99.9	103.9
ジエトフェンカルブ	105.1	96.2	97.7	100.2
プロパモカルブ	96.1	98.4	100.7	101.0
トリクロルホン(DEP)	95.5	94.7	100.1	94.9
アセフェート	95.1	100.1	92.7	96.5
ジメトエート	99.5	98.5	92.0	99.0
バミドチオン	94.7	88.3	93.1	95.8
メタミドホス	97.1	93.1	95.7	99.2
ジメチピン	95.5	98.1	92.8	99.0

★印の付いた農薬は、1000 ppb 以下で交差性を示したものである。

以上の結果、数種類の農薬に対して低濃度で交差性を示したのは、3種類の市販キットのうち、カルバリル検出キットのみであった。

ほとんどの検体が陰性である通常の残留農薬検査では、カルバリル検出キットを用いてスクリーニングを行うことで明らかに陰性である検体を確認試験から除くことができ、従来の機器分析頻度の大幅な低減化、省力化、コ

ストダウンにつながると思われた。

### 3. 添加回収実験について

3種類の市販キットのうち、より幅広い交差性を示したカルバリル検出キットを用いて、添加回収実験を行った。実サンプルにはいちごを用い、添加農薬には交差性を示した8農薬のうち、カルバリル、メチオカルブ、イソプロカルブ、クロルプロファム、ベンダイオカルブ、フェノブカルブの6農薬を用いた。

今回のように、ELISA法を用いて感度の異なる数種類の農薬を分析しようとする場合、簡便なクリーンアップ操作でかつ感度よく分析することが要求される。そこで、試験溶液を調製する際、方法Ⅰとして試料の抽出液を濃縮して用いる方法を、方法Ⅱとして試料の抽出液を希釈して用いる方法を検討した。

#### 1) 方法Ⅰ

それぞれ6種類の農薬を添加した2g相当/1mlの試験溶液を用いて、添加回収実験を行った。その結果は、表7のとおりである。

表7 方法Ⅰで試験溶液を調製した場合の  
吸光度の測定結果

試料名	添加農薬名 〔試験溶液中の濃度 (ppb)〕	吸光度 (ABS)
ブランク		1.489
いちご	添加せず	0.087
〃	カルバリル [ 10 ]	0.084
〃	メチオカルブ [ 10 ]	0.096
〃	イソプロカルブ [ 10 ]	0.069
〃	クロルプロファム [ 10 ]	0.076
〃	ベンダイオカルブ [ 100 ]	0.156
〃	フェノブカルブ [ 100 ]	0.097

表7をみると、いちごのみの場合は、ブランクに比べ吸光度が極端に低く、農薬を添加した場合の吸光度とほとんど変わらなかった。前述したように、農薬が多く含まれていれば吸光度は低くなるので、対象農薬が残留していないことを確認したいちごの吸光度が低いということは、対象農薬以外で抗体と結合するような物質が含まれているとも考えられる。しかし、いちごのみの場合と農薬を添加した場合の吸光度に、ほとんど差がみられないことを考え合わせると、対象農薬以外の物質の存在というよりは、むしろ、糖の粘性など試料中のマトリックスが大きく影響し、洗浄の際、磁力による抗体の保持が弱まったために、最終的に吸光度が低くなったものと考えられる。

表8 方法Ⅱで試験溶液を調製した場合の添加回収実験

試料名	添加農薬名 〔試験溶液中の濃度 (ppb)〕	吸光度 B/B <sub>0</sub>	回収率 (ABS) (%)	(%)
ブランク		1.706	100	
いちご	添加せず	1.461	85.6	
〃	カルバリル [ 0.5 ]	1.048	61.4	280
〃	〃 [ 10 ]	0.634	37.2	87
〃	メチオカルブ [ 0.5 ]	1.248	73.1	180
〃	〃 [ 10 ]	0.760	44.5	275
〃	イソプロカルブ [ 1 ]	1.292	75.7	110
〃	〃 [ 10 ]	0.859	50.3	189
〃	クロルプロファム [ 4 ]	1.262	74.0	138
〃	〃 [ 10 ]	1.027	60.2	325
〃	ベンダイオカルブ [ 20 ]	1.089	63.8	220
〃	〃 [100 ]	0.773	45.3	324
〃	フェノブカルブ [ 20 ]	1.137	66.6	305
〃	〃 [100 ]	0.846	49.6	481

## 2) 方法Ⅱ

それぞれ6種類の農薬を添加した0.02g相当/1mlの試験溶液を用いて、添加回収実験を行った。その結果は、表8のとおりである。なお、表8中に記載した回収率は、添加した農薬の検量線(図1~図8)を用いて、農薬を添加した場合と添加しなかった場合のB/B<sub>0</sub>値をそれぞれ濃度変換し、その濃度差を添加量で割って求めたものである。

表8をみると、いちごのみの場合のB/B<sub>0</sub>値は85.6%であり、検出下限として設定したB/B<sub>0</sub>値(90%)を若干下回っていた。この結果からは一見交差性を示す物質が含まれているようにみえるが、試料を50倍希釈したとはいえ、方法Ⅰと同様、まだ若干試料中のマトリックスが測定に影響しているものと考えられる。しかし、方法Ⅰの結果と違うところは、いちごのみの場合と農薬を添加した場合の吸光度に明らかに差がみられることである。

そこで、農薬毎に、添加濃度とB/B<sub>0</sub>の関係を片対数グラフにプロットし、図1~図8に示した標準液のみの場合と比較してみた(図9)。すると、カルバリルとベンダイオカルブを除いた4種類の農薬では、試料に添加した場合と標準液のみの場合とでは、直線の傾きがほぼ一致しており、標準液のみの直線がそのまま下方向に平行移動していた。

これらのことから、試料中のマトリックスの影響によ

り若干全体的に吸光度は低めであるが、添加農薬によって起こる吸光度の低下は確実に認められた。

また、表8に記載した回収率が87~481%と幅があるのは、試料中のマトリックスの影響による吸光度の低下と、カルバリル以外の農薬での検量線における直線域の狭さに起因するものと思われる。

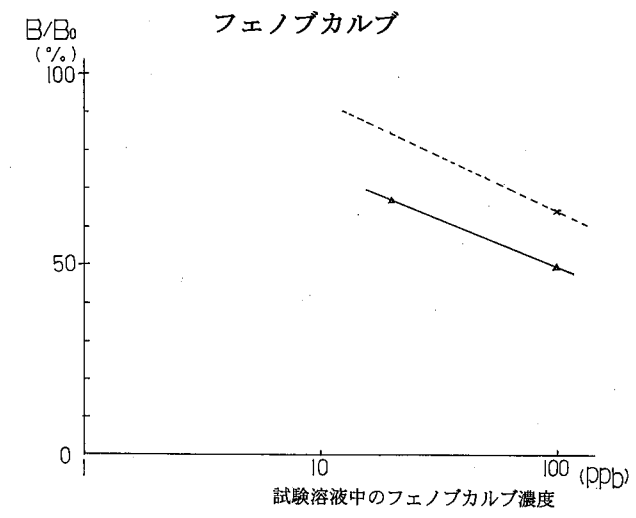
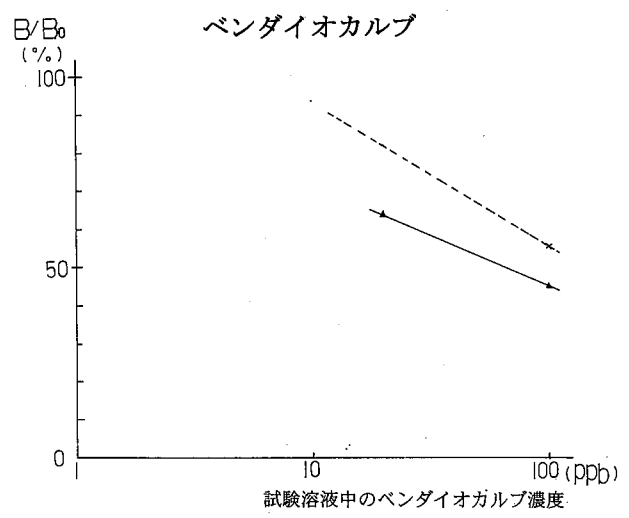
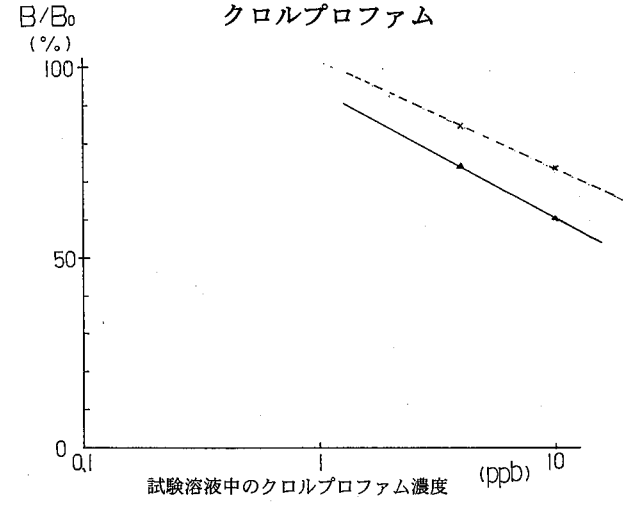
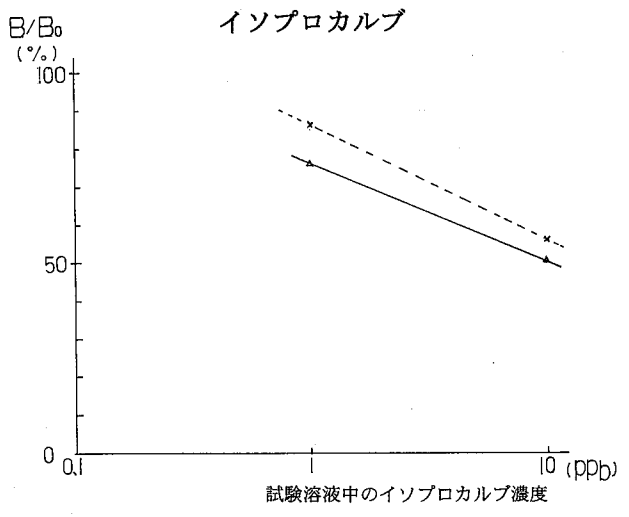
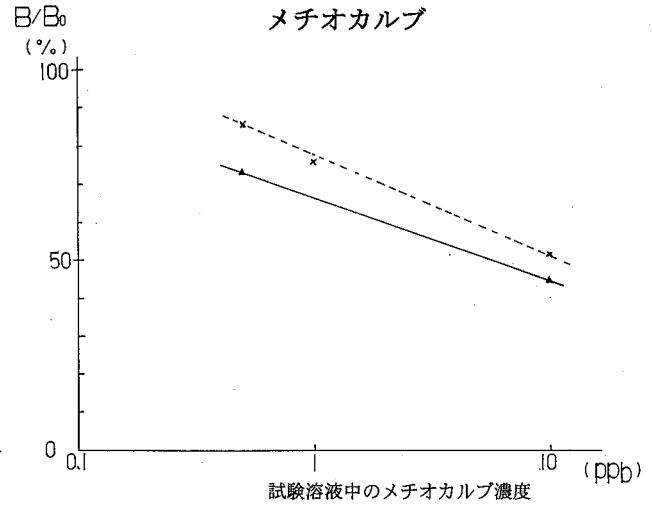
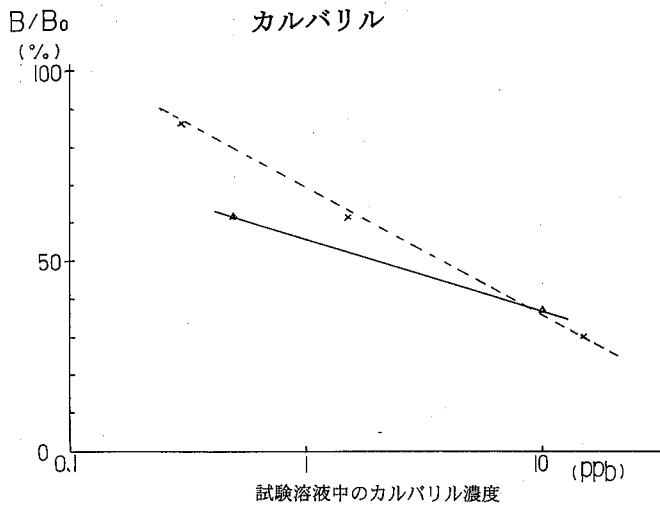
以上のことから、方法Ⅱで試験溶液を調製した場合、試料中のマトリックスの影響はあるものの、その影響さえ少なくすることができれば、測定は可能であることがわかった。

## IV ま と め

OHMICRON社製のカルバリル検出キットを使用することで複数の農薬を同時にスクリーニングすることが可能であった。今後の課題としては、できるだけ簡単なクリーンアップ操作を行うことで、交差性を示した8農薬を感度よく分析することである。今回は3種類の市販キットに限って検討を行ったが、今後他の市販キットにおいても検討していきたい。

## 参 考 文 献

- 1) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会：食品衛生研究, Vol.45, No. 9, 31 - 49, 1995
- 2) 津田ゆかり, 宮田昌弘, 岩田邦彦, 沖賢憲他8名：食衛誌, Vol.33, No. 5, 458 - 466, 1992
- 3) Janet S. Colliss : Analytical Proceedings, Vol. 30, No. 2, 74 - 75, 1993
- 4) W. Harvey Newsome, Jupiter M. Yeung, and Peter G. Collins : Journal of AOAC International, Vol.76, No. 2, 381 - 386, 1993
- 5) Rodney J. Bushway, Barbara E. S. Young, Lance R. Paradis, Lewis B. Perkins, Susan K. Martin, and Myrna P. Brown : Journal of AOAC International, Vol.77, No. 5, 1237 - 1243, 1994
- 6) Rodney J. Bushway, Barbara E. S. Young, Lance R. Paradis, and Lewis B. Perkins : Journal of AOAC International, Vol.77, No. 5, 1243 - 1248, 1994
- 7) 高橋義行, 千田茂樹, 梅津透, 河野敏郎：関東東山病害虫研究会年報第42集, 1995



(x---x) ..... 農業標準液のみの場合  
(▲——▲) ..... 試料に添加した場合

図9 カルバリル検出キットにおける対象農薬の添加回収実験