

平成24年度 成績概要書

研究課題コード： 7102-725531 (受託研究)

1. 研究成果

- 1) 研究成果名：イムノクロマト法によるにんじんおよび土壌のカドミウム濃度簡易測定法
(予算課題名：イムノクロマト法による作物体カドミウム濃度の簡易測定の適用性)
- 2) キーワード：カドミウム、にんじん、土壌、モニタリング
- 3) 成果の要約：市販イムノクロマトキットによる、にんじん根部（乾物）および土壌試料のカドミウム濃度測定手順を定めた。イムノクロマト法による測定値は従来法とほぼ 1:1 に対応し、にんじんの簡易測定および土壌モニタリングに活用できる。

2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：道南農試・研究部・生産環境グループ 乙部裕一
- 2) 共同研究機関（協力機関）：

3. 研究期間：平成 23～24 年度 (2011～2012 年度)

4. 研究概要

1) 研究の背景

食品中のカドミウム濃度の国際基準値が定められ、米（玄米及び精米）以外に基準値のない国内においても設定される可能性があることから、生産、出荷および流通などの現場において、自主検査に利用できる簡易なカドミウム濃度の測定法が求められている。

2) 研究の目的

国際基準値を超過するリスクが比較的高く、道内において生産量が多いにんじんについて、イムノクロマト法によるカドミウム濃度簡易測定法を策定する。さらに、土壌のカドミウム濃度測定への適用を検討する。

5. 研究方法

1) イムノクロマト法によるカドミウム測定法の検討

- ・ねらい：市販のイムノクロマトキットを用いたカドミウム濃度測定法について、測定濃度範囲、ロット間差、日間差について検討する。
- ・試験項目等：標準溶液を用いて検量線を作成し、測定濃度範囲、ロット間差、日間差を検討する。

2) イムノクロマト法を用いたにんじんのカドミウム濃度簡易測定法

- ・ねらい：米および大豆カドミウム濃度測定用イムノクロマトキットのにんじんへの適用を検討する。
- ・試験項目等：測定法の検討－試料抽出液比（1:10～20）、振とう条件（手振とう 1 分、振とう機 30 分）。イムノクロマト法による測定値と従来法（湿式分解－ICP 発光分析装置）による測定値との比較。

3) イムノクロマト法を用いた土壌のカドミウム濃度測定

- ・ねらい：イムノクロマト法による土壌の 0.1M-HCl 抽出カドミウム濃度測定を検討する。
- ・試験項目等：場内および現地圃場の土壌の 0.1M-HCl 抽出液をイムノクロマト法により測定し、原子吸光光度計を用いた測定値と比較する。

6. 研究の成果

- 1) キット付属の標準溶液濃度は 10～60 μ g/L であるが、10～100 μ g/L の濃度範囲の測定が可能であった。クロマトリーダーの読値は、ロットならびに測定日により異なった（データ省略）。
- 2) にんじん根部の乾物試料について、試料抽出液比を 1:20 とし、手振とう 1 分間の抽出によりイムノクロマト法によるカドミウム濃度の測定が可能であった（表 1）。
- 3) にんじんのカドミウム濃度をイムノクロマト法と従来法とで比較したところ 1:1 の関係にあり、二乗平均平方根誤差（RMSE）は 0.02mg/kg であった（図 1）。
- 4) 土壌の 0.1M-HCl 抽出液のイムノクロマト法による測定値は、原子吸光光度計あるいは ICP による測定値と 1:1 の関係にあり、RMSE は 0.04mg/kg であった（図 2）。道内の農耕地土壌のカドミウム濃度測定は、キット付属の標準溶液の濃度範囲（乾土当たり 0.05～0.30mg/kg）で対応できると考えられた。
- 5) 以上より、イムノクロマト法によるにんじんおよび土壌のカドミウム濃度測定法を策定した（図 3）。

※イムノクロマト法：試料中の抗原と結合した複合体が試験紙上を毛細管現象により移動する途上で、試験紙上の抗体と反応して現れるラインによって抗原を検出する方法

< 具体的データ >

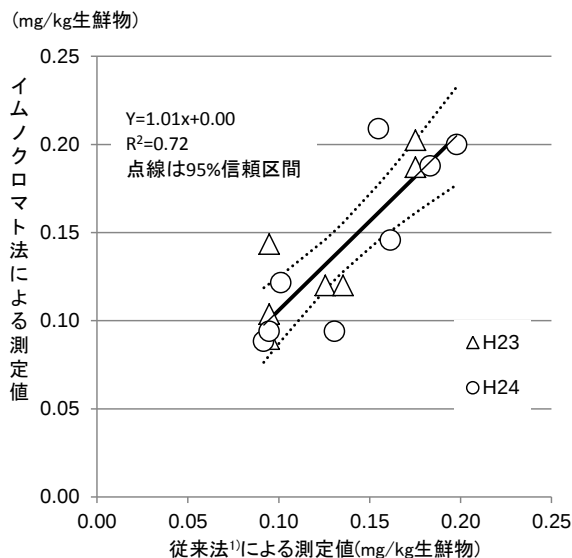


図1 イムノクロマト法と従来法によるにんじん根部カドミウム濃度測定値の比較（乾物試料）

1)硝酸一過塩素酸分解後、ICP 発光分析法により測定し、生鮮物当りに換算

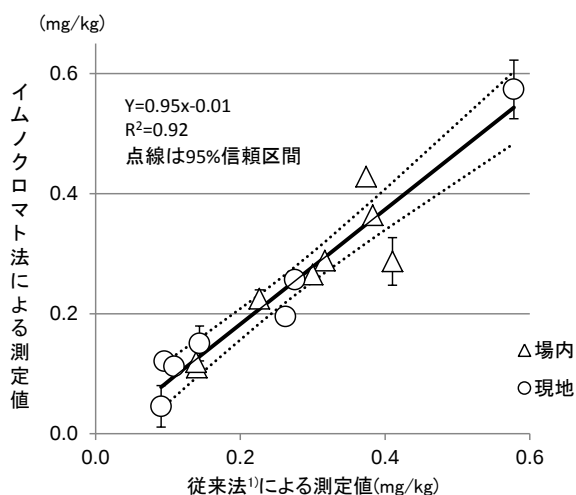


図2 イムノクロマト法と従来法との土壌カドミウム濃度測定値の比較

1)硝酸一過塩素酸分解後、ICP 発光分析法により測定し、生鮮物当りに換算

表1 にんじんの試料抽出液比および振とう方法の違いによる測定値の比較

試料	固液比	振とう方法	イムノクロマト測定値 (mg/kg生鮮重)		従来法 ¹⁾ mg/kg
			反復数	平均±標準偏差	
1	1:10	機械30分		ろ過できず	
	1:20	機械30分	1	0.14	0.09
	1:20	手1分	3	0.10±0.03	
2	1:10	機械30分		ろ過できず	
	1:20	機械30分	1	0.22	0.18
	1:20	手1分	2	0.19±0.01	

1)硝酸一過塩素酸分解後、ICP 発光分析装置により測定し、生鮮物当りに換算

試料調製：

にんじん…乾燥・粉碎
土壌…風乾細土

↓

抽出：

にんじん…50mLポリびんに1gを秤取し、0.1M-HCl 20mLを加え（1:20）手で1分間振とう、No. 2のろ紙を用いてろ過→ろ液
土壌…100mLポリびんに乾土5gを秤取し、0.1M-HCl 25mLを加え30℃に保ち振とう機で1時間振とう、ろ紙（No. 5B）を用いてろ過→ろ液

↓

精製：ろ液1mLを分離カラムに流下、0.1M-HCl 1mLを流下し洗浄、溶出液1mLを流下する→溶出液

↓

展開：溶出液20μLと展開液380μLをサンプリングチューブに加え、振動ミキサーでかくはん→試料展開液

↓

抗原抗体反応：試料展開液100μLを抗体の入ったバイアルに添加し振動ミキサーでかくはん→測定液

↓

測定：デバイスに測定液75μLを滴下し、20～30分後デバイスをクロマトリーダーにセットし、カドミウム濃度を測定

・キット付属の標準溶液に対応する濃度範囲

にんじん…0.02～0.18mg/kg生鮮物

土壌…0.05～0.30mg/kg乾土

・注意点

検量線と試料の測定は同一製造ロットのキットを用い、同日に行う。

図3 イムノクロマト法によるにんじんおよび土壌のカドミウム濃度測定手順

7. 成果の活用策

1) 成果の活用面と留意点

生産、出荷および流通などの現場において、にんじんのカドミウム濃度の簡易測定および土壌のカドミウム濃度モニタリングに活用できる。

2) 残された問題とその対応