

リレー随筆：残留農薬研究の現場から(1)

残留農薬簡易検査キットの農業生産現場での利用

岐阜県農業技術センター ^{あま}天 ^の野 ^{しょう}昭 ^こ子

はじめに

残留農薬に関連した様々なニュースが報道され、農産物の残留農薬に対する社会的関心は、2001年以降急激に高まってきた。特に国内での無登録農薬の販売や使用が報道されるや、生産者は流通や販売ルートから農産物の安全性について証明を求められ、各地の生産現場で混乱が生じた。こうした背景の中で、生産者による残留農薬自主検査体制確立への動きが各所で見られるようになった(生形, 2004)。

岐阜県においても、2002年の無登録農薬使用の問題や、農薬取締法の改正をきっかけに、農薬の適正使用指導の一層の強化が図られ、その取り組みの一つとして生産現場での残留農薬自主検査の導入が提案された。筆者は、免疫アッセイを利用した残留農薬簡易検査キット(以下、キット)による農産物の残留農薬検査方法について、測定マニュアルの作成と現地導入のための技術支援に取り組んだので、この概要について紹介する。

I 残留農薬自主検査の具体的内容

岐阜県では、2003年から5か年間にわたって取り組まれた県の新規事業「朝市直売所等農産物安全・安心確保対策事業」の中で残留農薬検査の現場導入が提案された。この事業は、それまで県の指導が入りにくかった小規模な生産者にも、農薬の適正指導を呼びかけるためのもので、具体的には朝市および直売所に出荷する生産者に農薬使用履歴の記帳を徹底させ、適正使用が確認された農作物のみを出荷し、かつその一部を抜き取って残留農薬検査を行った。

残留農薬検査は、県の指導機関である農業改良普及センター(現農業普及課)が行い、検査で陽性反応が見られた場合は、農業技術センターで機器分析により再検査を行った。

Application of the Commercially Available ELISA Kit for the Pesticide Residue in Agriculture Product. By Shoko AMANO

(キーワード：残留農薬, 免疫アッセイ, 簡易検査キット, 自主検査)

II キットの概略と基本操作

農薬検査用のキットは国内外のメーカーから多数の製品が提供されている。抽出から測定までの概要を図-1に示したが、検体は通常の機器分析と同様の前処理を行った。その後ミキサーで磨砕均質化し、これにメタノールを加えて振とう、ろ過し、ろ液を希釈してキット測定に供した。

キットは①試料抽出液と標識抗原を混合して抗体が処理されているマイクロプレートあるいは試験管に負荷して競合反応させ、②反応後にウェルあるいは試験管を洗浄して容器内の不要な液を除去、③その後発色液を加えて標識抗原と反応させ、吸光度計で測定する。

このようにキットによる測定は、カラム精製などの操作を加えない「簡便」な抽出操作と、高価な機器や高度な測定技術を必要としない「迅速」な測定方法である。これにより、分析や測定に不慣れな生産現場にも導入が可能な技術であると期待された。

キットは各製品に操作方法が添付され、また農作物への応用に関する報告も多数見られた(津村ら, 1992; 三宅・石井, 2000)ことから、これらを参考に「どんな作物でも利用が可能か」、「誰でも精度よく測定できるか」、「操作方法に改良点はあるか」等、現地での利用を念頭において、キットの作物残留農薬検査への実用性を検討した。

III 作物残留分析へのキットの応用

1 反応阻害

はじめに代表的な農作物を用いてキットの実用性能評価を行った(天野・矢野, 2005)。キット測定値と機器分析値の比較ではその相関は高く、免疫アッセイを残留農薬分析に適用しても問題ないと判断した。

しかし様々な農作物と各キットの組合せについて添加回収試験を行ったところ、回収率が130%を超えるなど、正しく測定できないケースが確認された。例としてイミダクロプリドとフェニトロチオンの添加回収試験結果を表-1に示した。ハウレンソウはいずれも回収率が200%を超え、またキュウリ、ピーマンおよびキャベツでは検体ごとの測定値のばらつきが大きかった。これら

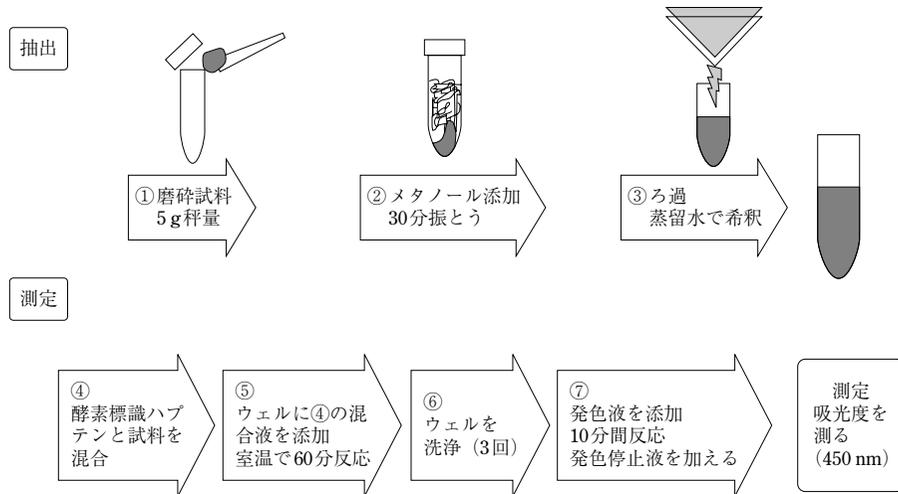


図-1 キットによる作物残留分析のフロー（天野，2010を改変）

表-1 農作物の各キットにおける添加回収率

供試作物	回収率 (%)	
	イミダクロプリド	フェニトロチオン (高感度タイプ)
	添加濃度 0.5 μg/kg	0.1 μg/kg
トマト	102.8 ± 13.5	104.3 ± 6.5
キュウリ	129.8 ± 39.2	121.8 ± 16.2
ピーマン	116.4 ± 28.9	116.1 ± 32.5
キャベツ	113.2 ± 16.9	118.7 ± 26.8
ホウレンソウ	236.1 ± 14.2	326.1 ± 1.8

添加回収試験の結果を総じて見ると、前述のホウレンソウのようにほとんどのキットで測定妨害を示す作物がある一方で、キット側においても作物の影響を受けやすい製品とそうでないものがあることが確認された（天野，2010）。

2 測定妨害の回避

農作物からの抽出液は精製を加えていないために様々な成分を含んでおり、これら含有成分が前述のような測定妨害を起こしている。この測定妨害について畠山ら（2004）は非水溶性成分が測定妨害の一因になっていると報告しているが、筆者もまたホウレンソウを用いた試験で同様の結果を得た（天野ら，2007 a）。キットの測定妨害の回避については、抽出液の希釈が最も簡便で効果的な方法であった。しかし、キットの感度（測定範囲）が足りないために農薬残留基準値にあたる濃度が検出できず、判定不可能となる組合せがあった。そこで、その他の方法として限外ろ過処理を検討した。

限外ろ過は、希釈した抽出液を専用のろ過資材でろ過処理する簡便な操作で、回収率が200%を超えていたホウレンソウ試料においても良好な結果が得られた（天野ら，2007 b）。限外ろ過以外にも効果的な精製方法が報告されているが（藤田ら，2005；小林ら，2005），キットの特徴である「迅速性」と「簡便性」を損なわず、現地へ導入可能な方法として限外ろ過が最も有効と判断した。

IV 現地機関への導入

以上のような試験結果などを基に、キットの使用マニュアルを作成し、実技講習会を通して測定技術を現地へ提供した。キットの操作は簡易であるものの、設備などの環境に制約があり、また専属の検査員を置くことも困難な現地機関では、よりきめ細かな技術支援を必要とした。

同一試料を用いた反復測定では、測定値誤差が15%を超えるケースや、分注などの操作時間に倍以上の差が認められるケースがあった。これらは実技研修の中で繰り返し訓練をすることに加え、個々の測定値や操作内容を解析することで、操作上の問題点を洗い出し改善を行った。

操作ミスにつながりやすい手順を改め、器具もより使いやすいものに変更するなど、現地担当者や協議しながら測定誤差ができるだけ小さくなるよう工夫した。しかしながら、前述のとおりキットは抗原抗体反応を利用している性質上、作物含有成分や測定環境など様々な要因に影響を受ける。これまでにも筆者が提案してきたとおり、現場利用では測定値の判定には大きな幅をもたせ、回収率で50～150%の誤差を見込むのが妥当と考えた

1) 抽出・希釈								
試料 (g)	メタノール (ml)	二次分取量 (μl)	定容量 (ml)	三次分取量 (ml)	最終定容量 (ml)			
5	25	1,000	8.5	1	1			
希釈倍率	0.019608							
2) 検量線								
			吸光度					
ppt	ppb	log10 (横軸)	1	2	Average	吸光度比		
	100	5	0.21	0.23	0.22	0.22		
	2	3.30103	0.86	0.85	0.855	0.855	検出限界値 (ppm)	
							0.102	
3) 試料の測定値								
		吸光度					基準値 1ppm	
試料名	試料重量 (g)	希釈倍率	1	2	Average	試料中濃度 (ppm)	結果 (ppm)	判定
トマト1	5	0.01961	0.88	0.89	0.885	0.0848	< 0.102	OK!
トマト2	5	0.01961	0.55	0.58	0.565	0.6088	0.609	注意
トマト3	5	0.01961	0.43	0.44	0.435	1.3562	1.356	再試験

図-2 キット測定値計算ファイルの表示画面例
注) 太枠内に数値を入力する。

(天野・平, 2004)。

測定結果については濃度計算に間違いがないよう、計算ソフト (Microsoft Excel) を利用して試料中の残留濃度を算出する計算用ファイルを作成し、配布した。これは抽出時の試料の分取量、標準品の濃度と測定値、試料の重量と吸光度値を入力することで、検出された農薬の試料中濃度が算出され、さらに残留基準値を入力すると出荷物の合否判定を示すようにした (図-2)。この判定は先の判断を根拠にし、①残留基準値の二分の一以下、②基準値の二分の一以上、基準値未満、③基準値以上の3段階に分け、それぞれ「OK」、「注意」、「再検査」の判定結果を表示させた。

V システム導入の成果

こうして組み立てられた検査方法を用い、岐阜県では県内にある200数箇所の朝市および直売所から400点以上の検体を採取した。それぞれ3~4農薬の検査を行ったが、検査した検体から基準値を超える農薬は検出されなかった。またその結果を生産者にフィードバックし、一緒に検査結果を考察するなど、農薬の適正使用に対する意識を深める取り組みも行われた。

おわりに

本課題は現地生産者はじめ、普及、行政、研究が一体となって取り組んだ成果である。残留農薬問題を後回し

にせず、いち早く自主検査体制の導入を図ったことは、発案者の先見の明であり、生産現場にとっても大きな意義があったと考える。

当初、生産現場には残留農薬の自主検査に反対する声もあったが、実際に生産物を自ら測定することで残留農薬に対する漠然とした不安が解消されたなどの感想も聞かれた。現在ではGC/MSやLC/MS/MSを備えた(社)ぎふクリーン農業研究センターが産・官・学の連携により設立され、出荷前検査が定着してきている。一方で検査費用が価格に反映されにくいといった問題もあるが、こうした取り組みによって産地の信頼が得られたことが一番の成果と考える。

最後に本課題の推進にあたり、多大なご協力をいただいたJA全農岐阜、(株)堀場製作所の皆様はこの場を借りて厚くお礼申し上げます。また本成果は岐阜県農政部農業技術課および農業普及課(元農業改良普及センター)のご協力によるものと深く感謝します。

引用文献

- 1) 天野昭子・平 正博 (2004): 関西病虫研報 46: 57 ~ 58.
- 2) ———・矢野秀治 (2005): 農薬誌 30: 249 ~ 253.
- 3) ———ら (2007 a): 同上: 99 (講要).
- 4) ———ら (2007 b): 同上 32: 300 ~ 304.
- 5) ——— (2010): 同上 35: 396 ~ 400.
- 6) 藤田まどから (2005): 同上: 120 (講要).
- 7) 畠山えり子ら (2004): 岩手環保研センター年報 4: 90 ~ 94.
- 8) 小林由美ら (2005): 農薬誌: 119 (講要).
- 9) 三宅司郎・石井康雄 (2000): 植物防疫 54: 148 ~ 152.
- 10) 津村ゆかりら (1992): 食衛誌 33: 458 ~ 466.
- 11) 生形藤一 (2004): 農業レギュラトリーサイエンス 12: 29 ~ 37.