

研究トピックス

イムノクロマトアッセイを用いた玄米等のカドミウム濃度簡易測定

土壌環境研究領域 阿部 薫

はじめに

食品中カドミウム (Cd) 濃度については、2005年7月のコーデックス委員会総会で、小麦 (0.2ppm)、除皮ばれいしょ (0.1ppm)、野菜類 (0.2~0.05ppm) の国際基準値が採択され、また精米については2006年7月に0.4 ppmが新たに採択されており、今後、国内農産物に対する基準の強化が想定されています。そこで、収穫前にCd濃度をモニタリングし流通防止を図るなど、生産現場におけるリスク管理が求められています。そのためには、サンプリングから1~2日で結果を出せ、かつ現場の農業技術者等が利用できる迅速・簡易分析法の開発が必要です。現状では、酸分解・有機溶媒抽出等煩雑な操作、並びにICP発光や原子吸光等の高額な精密分析機械が必要で、時間と費用がかかります。

最近、関西電力グループは、免疫測定法の一つであるイムノクロマトアッセイ法による米用のCd検出キットを開発しています。このキットは、Cd-EDTA錯体とこれに特異的に反応する抗Cd-EDTA抗体による抗原抗体反応を利用し、発色程度から0.01 mg L⁻¹以上の濃度のCdを検出できる試験紙タイプです。イムノクロマトアッセイ法は、主に目的物質が一定レベル以上あるか無いかを判別する定性分析法として用いられ、身近なものでは妊娠検査薬などがあげられます。抗原抗体反応自体は定量的に

生じているので、発色を機器で読みとり、標準液と比較して濃度を推定することはある程度可能と考えられます。本研究では、このキットを用いた玄米中Cd濃度の推定法を検討し、精密分析機器等を持たない農業関係普及機関等を想定した、汚染米の簡易・迅速判定への利用の可能性を探りました。

イムノクロマトキットによる玄米中Cd濃度測定

玄米用イムノクロマトキット (関西電力製) は、玄米からのCd抽出・精製工程と、イムノクロマトアッセイ部分からなります。図1に示す手順で検出を行います。

【前処理 (Cd抽出・精製)】: 乾燥微粉碎した玄米サンプル2gに、20 mLの0.05 mol L⁻¹塩酸溶液を加えて、1時間振とうした後濾過します。Cdと交差反応を示す抗原抗体反応を妨害する重金属類 (Mn, Zn, Cuなど) を除去するため、この濾液5 mLを妨害物質除去カラムに流下してCdをカラムに吸着させます。このカラムに0.1 mol L⁻¹塩酸溶液を5 mL加え妨害物質を洗浄した後、0.05 mol L⁻¹硝酸溶液5 mLを加えてCdを溶出します。妨害物質除去カラムは、Cdを特異的に吸着するキレート剤をシリカゲルに吸着させたものです。

【イムノクロマトによる検出】: 前処理液20 μLをEDTA緩衝液380 μLと混合後、100 μLを金コロイド標識抗体と反応させます。このうち75 μLをイム

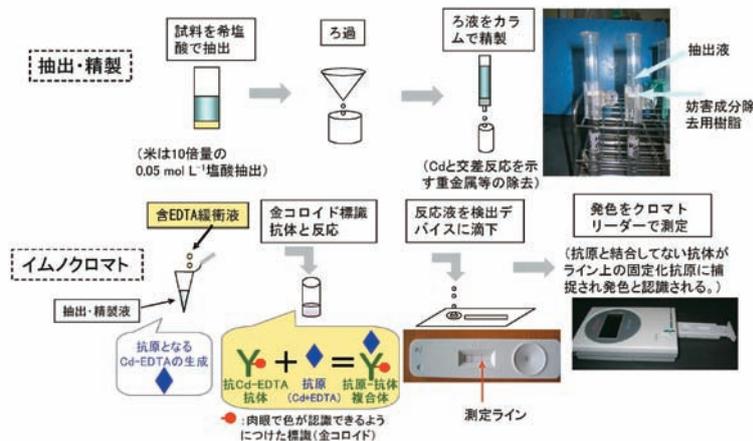


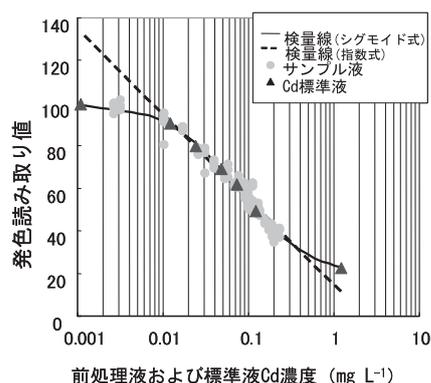
図1 イムノクロマトによる玄米中のCd検出手順

ノクロマト検出デバイスに滴下し、発色の安定する40～50分後に発色程度をクロマトリーダーで測定します。

種々のCd濃度の玄米の前処理液とCd標準液についてイムノクロマトを行い、発色程度を測定した結果を、図2に示しました。Cd濃度に対する発色の読み取り値は抗原抗体反応に一般的であるシグモイド曲線となり、また、Cd濃度0.01～0.1 mg L⁻¹の範囲では、Cd濃度の対数値と読みとり値間に良好な直線関係が認められました。従って、0.01～0.1 mg L⁻¹のCd標準液を用いて検量線（指数式）を作成し、発色読み取り値から、抽出・精製液のCd濃度を算出することができることが判りました。

図3に、精密分析（酸分解-ICP-MS分析）により定量した玄米中のCd濃度と、イムノクロマト法により算出した玄米中のCd濃度の関係を示しました。傾き概ね1の良好な相関が認められました。

表1には、国際基準値（0.4 mg kg⁻¹）及び国内基準値（1.0 mg kg⁻¹）付近の試料と標準試料（NIES CRM No.10-a,b）をイムノクロマト測定した際のCd濃度測定値のばらつきを示しました。極低濃度のNo.10-aは保証値より全体に高い値となりましたが、国際基準値（0.4 mg kg⁻¹）前後のNo.10-b及び試料Iは、概ね既



検量線の式

シグモイド近似

$$y = (A-D) / (1 + (x/C)^B) + D$$

A:100 B:1.04 C: 0.0766 D:18.6

0.01～0.1 mg L⁻¹で指数（対数）近似

$$y = -17.39 \ln(x) + 14.68$$

図2 シグモイド式と指数式近似の検量線
(発色読み取り値は0.001 mg L⁻¹を100とする減衰率で表示。)

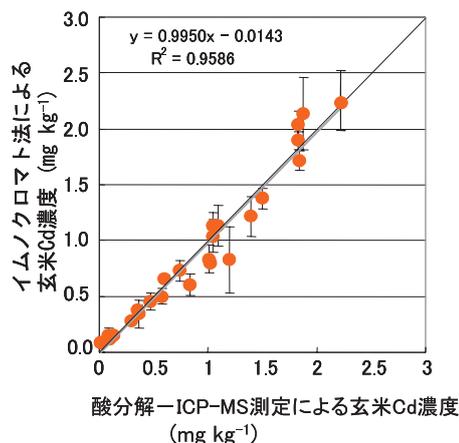


図3 イムノクロマト法（前処理+イムノクロマト）と酸分解-ICP-MS法による玄米Cd濃度比較（イムノクロマトは3連の平均値）

表1 玄米試料（標準試料及び基準値濃度に近い試料）のイムノクロマト法によるCd濃度測定値の分布

	保証値又は ICP-MS 測定値	イムノクロマト法 平均値±標準偏差
NIES CRM No.10-a	0.023±0.003	0.065±0.017
NIES CRM No.10-b	0.32±0.02	0.31±0.05
試料 I	0.47	0.47±0.05
試料 II	1.05	0.98±0.22

知濃度の80～120%の範囲に分布しました。以上より、ある程度の反復をとれば、現地での大まかな玄米Cd濃度の把握に用いることはできると考えられます。

イムノクロマトキットによるCd濃度測定についての留意点

本法はCd濃度の近似値を簡易・迅速に知る手段として利用できますが、玄米Cd濃度測定における変動係数は平均14%（2～41%）あり、基準値付近の試料が基準を満たすかどうか等の判定には精密分析による精査が必要です。

また、このイムノクロマトキットが、土壌のCd濃度測定にも適用できるかを調べているところです。農用地汚染対策法では、土壌のCd濃度は、土壌から0.1M塩酸で抽出して求めるので、Cuなどの妨害元素が問題になりますが、玄米の場合と同様にカラムによる精製によって、比較的精度良く測定できそうです。