

表面プラズモン共鳴(SPR)を利用したイムノセンサによる構造の異なる6種類の農薬の同時分析

三宅司郎(麻布大), 平川由紀(京女大), 山崎朋美(大安研), 渡辺栄喜(農研機構), 原田亜矢子(豊技大), 岩佐精二(豊技大), 成田宏史(大和学園)

背景と目的

抗体を用いたELISAによる農薬分析は、農産物の生産者による出荷前検査や直売所の抜き取り検査、USAにおける森林害虫防除のための残効性検査に使用されている。しかし、ELISAは単成分分析であるため、複数の農薬の同時分析には使用することができない。そこで、SPR現象を応用したイムノセンサによる、構造の異なる農薬6成分(交差反応性がない)の同時分析を試みた。

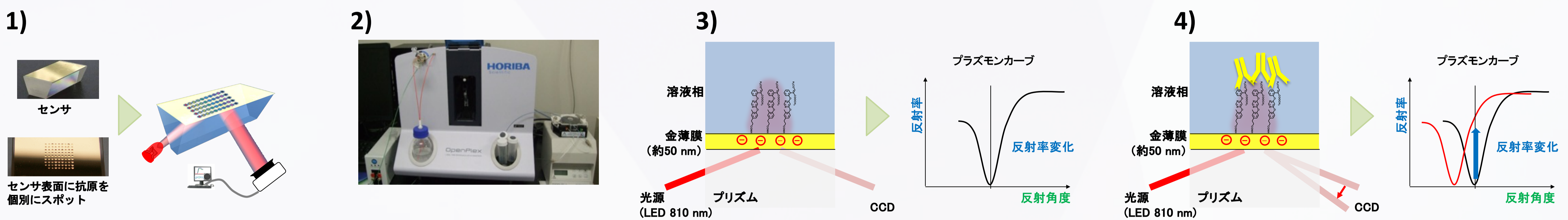
謝辞

本研究の一部は、知の拠点あいち重点研究プロジェクト(I期)と内閣府 戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「スマートバイオ産業・農業基盤技術」によって実施された。

まとめ

農薬	測定範囲 (ng/mL)	添加回収試験 トマト (%)	相関性 液クロ (R ²)
アゾキシストロビン	3.5 - 19	104 - 116	0.91
ボスカリド	4.5 - 50	94 - 101	0.94
クロルフェナピル	2.5 - 25	90 - 112	0.97
イマザリル	5.5 - 50	96 - 106	0.92
イソキサチオン	3.5 - 50	107 - 119	0.99
ニテンピラム	8.5 - 110	104 - 109	(0.68)

測定原理: SPRイムノセンサ

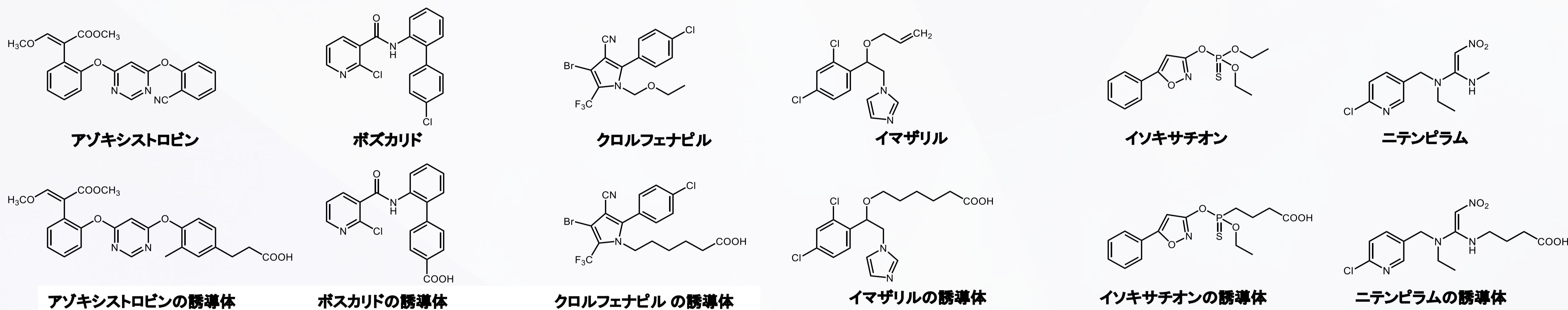


各農薬(誘導体)-牛アルブミン(BSA)を個別にセンサチップ(堀場製作所製)表面に固相に装着し、送液開始

プリズムの裏側から光を全反射させると金の電子が共鳴・振動(光を吸収: プラズモンカーブ) → 液相側にエバネッセント波

農薬-BSAと抗体の結合により金表面近傍の屈折率が密度依存的に増加 → プリズム側の反射角がシフト(抗体濃度と反射率変化の反応曲線の作成が可能)

材料: 農薬と化学合成した誘導体の構造式、各農薬に対する抗体



使用した抗体:
マウスモノクローナル抗体(全て他の農薬と交差反応性なし)

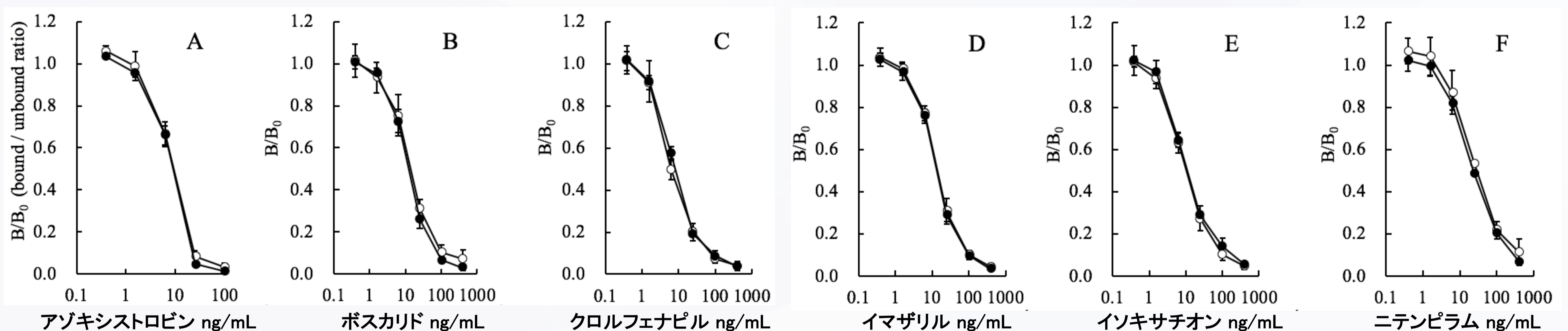
抗ボスカリド抗体:
J. Agr. Food Chem. 63: 8075-8082 (2015)
他の抗体:
堀場製作所より分与:

方法・結果

1) 農薬-BSA-抗体反応の測定農薬による阻害(阻害曲線: n=3)

- 1種類の農薬(希釈列)を対応する1種類の抗体と混合して送液: 黒丸
- 6種類の農薬(希釈列)を全ての抗体と混合して送液: 白丸

測定範囲: B/B₀が0.2-0.8となる農薬濃度と定義



2) 農産物とその前処理方法・添加回収試験と相関性試験の結果

農産物
添加回収試験用トマト: 京都市で購入
相関性試験用レモン(イマザリル 使用): つくば市と京都市で購入
相関性試験用ナス・トマト・ピーマン: 農研機構の圃場で栽培・農薬施用(アゾキシストロビン・ボスカリド・ニテンピラム)・収穫(クロルフェナピル・イソキサチオンは収穫後に添加)

- 農産物 (5 g)
↓ MeOH(25 mL)を添加
↓ 磨砕・抽出
↓ 遠心上清を分取
↓ 精製水で8.5倍希釈(10%MeOH)
↓ 抗体溶液*と等量混合
↓ 装置にアプライ
*: ランニングバッファーに溶解

表. トマトを用いた添加回収試験 (n=3)

農薬	農薬添加濃度 (mg/kg)					
	0.5		1		3	
	回収率(%)	RSD(%)	回収率	RSD	回収率	RSD
アゾキシストロビン	104	3.3	106	7.1	116	6.9
ボスカリド	97	6.2	94	5.7	101	2.7
クロルフェナピル	112	6.1	90	1.0	105	5.2
イマザリル	104	3.7	96	2.7	106	3.5
イソキサチオン	119	7.9	107	3.1	110	8.5
ニテンピラム	104	6.2	107	7.1	109	0.8

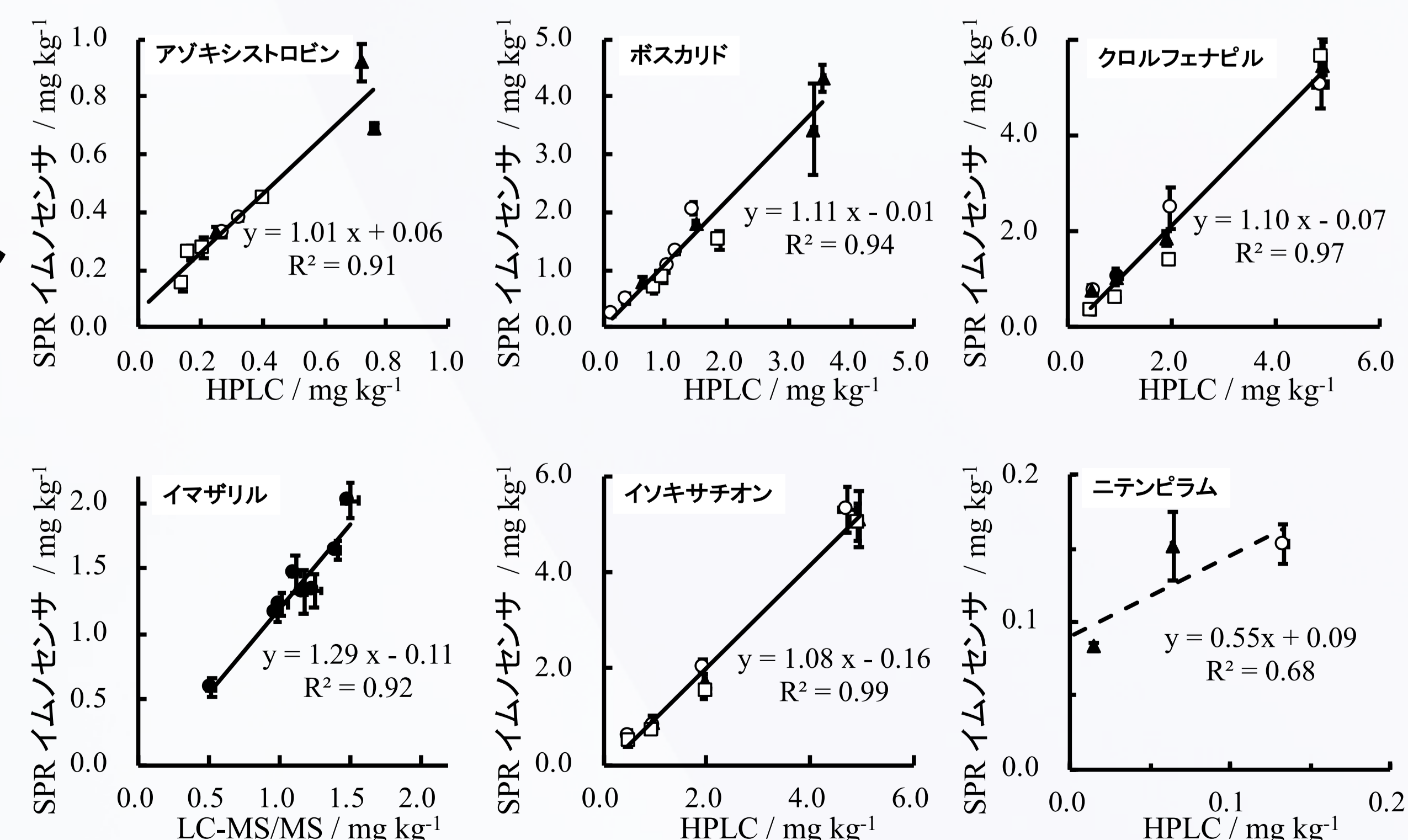


図. 液体クロマトグラフィーとの相関性試験 (n=3)
ナス(O), トマト(□), ピーマン(▲), レモン(●)

結論

開発したSPRイムノセンサは、測定範囲、添加回収試験、相関性試験の結果から農薬残留基準値を測定可能な実用的な適用性(イソキサチオンを除く)を持つと考えられた。

論文

本成果は、*Analytical Sciences* に受理(2019. 10.11)された。