

報 文

イムノクロマトグラフィーによる玄米中の
カドミウムのスクリーニング

佐々木和裕^①, 俵 田 啓^②, 荒金 玉実^③, 奥 山 亮^④, 丸山 幸直^④,
奥畑 博史^②, 香山不二雄^⑤, 阿 部 薫^⑥, 宮 坂 均^②, 藤 川 敬^③,
Thomas R. GLASS^⑦, 大村 直也^①

0.4 mg kg⁻¹ 以上のカドミウムを含む玄米をスクリーニングするための手法として既報のイムノクロマトグラフィーを評価した。209 検体の玄米をイムノクロマトグラフィー、誘導結合プラズマ発光分析法 (ICP-AES) 及び原子吸光法によって測定し、ICP-AES の分析値を真値と仮定してイムノクロマトグラフィー及び原子吸光法のスクリーニング性能を評価した。0.1～0.6 mg kg⁻¹ のカドミウム濃度範囲におけるイムノクロマトグラフィーと ICP-AES の相関は 0.92 ± 0.03 であり、両者は良い相関を示した。イムノクロマトグラフィーを用いたスクリーニングでは、判定の基準となる濃度 (カットオフ値) を 0.3 mg kg⁻¹ とすることで、偽陰性と偽陽性の発生が最も少なくなり、このとき偽陰性の発生率は 0%, 偽陽性の発生率は 4.7% であった。また、receiver-operating characteristic (ROC) プロットによってスクリーニング性能を評価したところ、本イムノクロマトグラフィーのスクリーニング性能は原子吸光法と同程度であることが示された。

1 はじめに

カドミウムの摂取は 1 週間当たり 0.4～0.5 mg 程度以下 (人の体重 1 kg 当たり 1 週間 7 µg まで) に抑えることが望ましく、この摂取量に基づいて食品の基準策定が行われている^①。国際的な食品規格を定める国連食糧農業機関 (FAO) と世界保健機関 (WHO) が合同で組織した Codex 委員会は、野菜類についての基準を 2005 年に定め、米についても 2006 年に許容される最大値が 0.4 mg kg⁻¹ と定められた^②。

現在、食品中のカドミウム測定には機器分析が用いられているが、価格の安い食品原料に対して、分析費用が高額であることから、安価で迅速な測定法が求められている。一方、抗体と抗原の特異的な結合反応を利用した免疫学的

測定法は迅速な測定法として医療分野を中心に実用化されており、食品・環境分野への適用も進みつつある^③。

カドミウムを免疫学的測定法で検出するために、カドミウムとエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) の錯体である Cd-EDTA を特異的に認識する抗体が幾つか報告されている^{④⑤}。著者らは新規に抗 Cd-EDTA 抗体 (Nx2C3) を作製し、この抗体を免疫学的測定法の一つであるイムノクロマトグラフィーに適用し、測定溶液中のカドミウムを 0.01 mg L⁻¹ から 0.1 mg L⁻¹ の範囲で定量可能なことを示した^⑥。更に玄米抽出液中のカドミウムを分離するための前処理法と、このイムノクロマトグラフィーを組み合わせることで、玄米中カドミウムの簡易測定法として利用できることを報告した^⑥。

簡易測定法の効果的な利用方法として、多数の試料をある濃度以上の汚染物質を含む疑いがある試料と非汚染試料に選別するスクリーニング法が挙げられる。スクリーニングの長所は、母集団から迅速かつ安価に非汚染試料を選別し、汚染が疑われる試料のみを精密分析によって再検定することで、母集団すべてを精密分析する場合よりも、効率的に汚染試料を特定できることにある。一般的にスクリーニングに際しては、安全性を確保するために法などによる規制濃度よりも低い判定基準濃度 (カットオフ値) を用いて対象を選別する方法が採られる。

例として欧州では、食品中のダイオキシンの検定法として簡易測定法によるスクリーニングと精密分析の組み合わせ

^① 財団法人電力中央研究所環境科学研究所: 270-1194 千葉県我孫子市我孫子 1646

^② 関西電力株式会社電力技術研究所環境技術研究センター: 619-0237 京都府相楽郡精華町光台 1-7 けいはんなプラザラボ棟 12 階

^③ 株式会社環境総合テクノス計測分析所: 576-0061 大阪府交野市東倉治 3-1-1

^④ 株式会社エンバイオテック・ラボラトリーズつくば研究室: 305-0062 茨城県つくば市赤塚字牛ヶ淵 586-9 池田理化ビル 2 階

^⑤ 自治医科大学地域医療学センター環境医学部門: 329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1

^⑥ 独立行政法人農業環境技術研究所土壌環境研究領域: 305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3

^⑦ Sapidyne Instruments Inc.: 967 E. ParkCenter Blvd. Boise, ID 83706, USA

せに関する指針が知られている⁷⁾。この指針は、簡易測定法によって測定された濃度が、規制値に0.6から0.7の係数(安全係数)を掛けた値よりも大きければ、汚染の疑いがある試料として精密分析による2次検査を行い、汚染の有無を確定することを定めている⁷⁾。

今回、著者らは200検体以上の玄米を母集団とするカドミウムのスクリーニングをイムノクロマトグラフィーによって実施した。本スクリーニング試験は、実際に米産地で実施されることを念頭に置き、それぞれの検体は、異なる圃場で生産されたものを使用し、試料の混合による濃度調製は行わなかった。また、イムノクロマトグラフィーのカドミウム検出能力を確認するために、全国平均よりもカドミウムの分布が高濃度側に偏った母集団を用いて試験を行った。すなわち、母集団のカドミウム含量の分布は、 0.2 mg kg^{-1} 以下の検体が全体の約8割、 0.4 mg kg^{-1} 以上の検体が全体の約1割となるような構成とした。玄米中のカドミウムに関して、このような規模と構成の母集団を用いて、イムノアッセイによるスクリーニングが行われた例はないが、本報告ではイムノクロマトグラフィーによって、それを実施し、イムノクロマトグラフィーのスクリーニング法としての実用性を詳細に評価した。

2 実 験

2.1 試薬など

抗体は、既報⁶⁾と同様に、金コロイド標識後、凍結乾燥した抗Cd-EDTA抗体(Nx2C3)を用いた。EDTAは、同仁化学より購入した。その他の試薬類は市販の生化学実験用又は精密分析用のものを用いた。

2.2 玄米の前処理

日本国内で比較的高濃度のカドミウムを含む米を産するとされる地域の圃場にて生産された玄米を収集し、スクリーニング試験の対象の約9割は、この中から無作為に選抜した。残りの約1割は別途、後述の原子吸光法によってカドミウム含量が 0.4 mg kg^{-1} 以上と定量された玄米を用いた。同一の圃場で収穫された玄米の約20 gを粉碎し、その一部を以下に記述する前処理に供した。

2.2.1 塩酸によるカドミウム抽出処理とカラムによるカドミウムの精製 既報の方法⁶⁾を一部変更し、以下の操作を行った。2 gの玄米の粉末を0.1 Mの塩酸20 mL中に浸し、1時間激しく攪拌した後、汙過を行い玄米の塩酸抽出液を得た。Akatsukaらの方法⁸⁾に基づき作製したキレートカラム(カドミウム吸着カラム、環境総合テクノス製)を用いて、以下の操作によってこの抽出液からカドミウムを分離した。すなわち、0.1 M塩酸によってカドミウム吸着カラムを平衡化し、玄米の塩酸抽出液5 mLをカラムに供した。5 mLの0.1 M塩酸でカラムを洗浄した後、

5 mLの0.05 Mの硝酸によってカドミウムの溶出操作を行い、得られた溶液をイムノクロマトグラフィー及び誘導結合プラズマ発光分析(ICP-AES)に供した。

2.2.2 マイクロウェーブ分解装置を用いた玄米の硝酸分解 守山らの方法⁹⁾を参考に以下の前処理を行った。0.5 gの玄米の粉末を分解容器に入れ、7 mLの61%硝酸を添加後、密閉してマイクロウェーブ分解装置(Anton Paar製, Multiwave3000)にセットした。マイクロウェーブ分解装置の温度プログラムを0 W: 5分, 400 W: 15分, 1000 W: 15分と設定し、分解を実施した。分解終了後、容器を装置から取り出し残渣がないことを確認した後、漏斗を用いて分解液をメスフラスコに流し入れ、更に純水で洗い込み、最終的に10 mLに定容し、原子吸光分析に供した。

2.3 イムノクロマトグラフィー

既報⁶⁾のイムノクロマトグラフィーを使用し、以下の手順に従って測定した。カドミウム吸着カラムから硝酸によって溶出された溶液20 μL を380 μL の0.3 μM EDTA含50 mM トリス緩衝液(pH 7.5)に加えて混合した。金コロイドで標識後、凍結乾燥した抗Cd-EDTA抗体⁶⁾に、この混合液100 μL を加え混合し、10分以上放置した後、75 μL をイムノクロマトグラフィーに供した。試料添加後、40分経過した後、クロマトリーダー(Diascan 30-B, 大塚電子製)を用いてイムノクロマトグラフィーに現れるバンドの濃さを数値化した。

クロマトリーダーによって数値化されたバンドの濃さから、カドミウム濃度を決定するために、検量線を作成した。検量線の作成は一連の測定を行うたびに毎行った。検量線を作成するための標準試料として、上記カドミウム吸着カラムからカドミウムを溶出する際に用いるのと同じ濃度(50 mM)の硝酸溶液を用いてカドミウムの希釈系列(0.0, 0.10, 0.15, 0.20, 0.40, 0.60, 1.0 mg kg^{-1})を調製した。検量線作成用の標準試料はそれぞれ2回測定を行い、スクリーニングの対象とした検体は各1回測定した。

2.4 カドミウム濃度の機器分析

ICP-AESによる金属濃度の分析は、リガク製SPECTRO CIROS-120(EOP)を用いて行った。試料の導入時間は25秒、分析時間は24秒で行った。測定は3回繰り返し、その平均を測定値とした。測定条件は、高周波出力を1.4 kWとし、プラズマガス流量を13.0 L/min (Ar)、キャリアーガス流量は0.90 L/min (Ar)とした。測定対象元素と測定波長は、Cd (214.438 nm), Zn (213.856 nm), Mn (257.610 nm), Mg (279.553 nm), Fe (259.940 nm), Cu (324.754 nm)とした。

原子吸光法による分析は、サーモエレクトロン製フレー

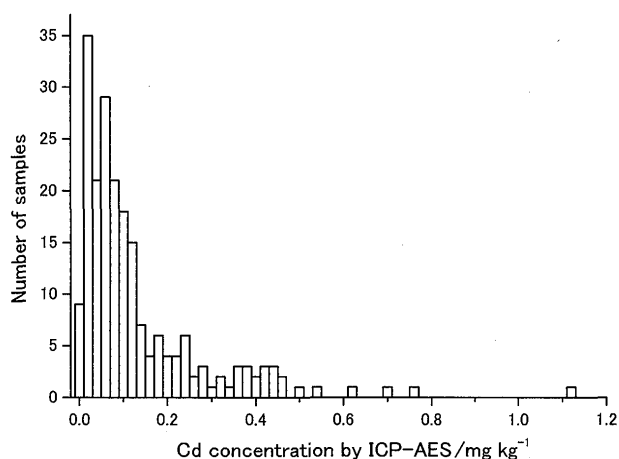


Fig. 1 Distributions of cadmium concentrations
Cadmium concentrations in two hundred nine brown rice samples were measured by ICP-AES.

ム式原子吸光分析装置 SOLAAR を使用した。カドミウム濃度を測定する際は測定波長として 228 nm を用いた。

3 結 果

3.1 母集団のカドミウム含量の分布

カドミウムのスクリーニング試験に用いた母集団である 209 検体の玄米のカドミウム含量を ICP-AES によって分析した。その結果、カドミウム含量が 0.2 mg kg^{-1} 以下の玄米が母集団の多数 (78%) を占め、その内 0.1 mg kg^{-1} 以下の玄米が全体の 63% であった。一方、 0.4 mg kg^{-1} より高濃度のカドミウムを含む検体は全体の約 8% であった。このうち 0.8 mg kg^{-1} 以上のカドミウムを含む試料は 1 検体 (1.12 mg kg^{-1}) のみであった。Fig. 1 に全 209 検体のカドミウム含量の分布を示した。以下では、これらの ICP-AES の分析値を真値と見なし、イムノクロマトグラフィーの評価に用いた。

3.2 イムノクロマトグラフィーによる玄米中カドミウム含量の測定

209 検体の玄米について、塩酸抽出とカラム精製から成る前処理を実施後、イムノクロマトグラフィーによるカドミウム濃度の測定を行った。イムノクロマトグラフィーのバンドの濃さは、クロマトリーダーによって数値化し、検量線を用いてカドミウム濃度に換算した。その際、検量線の直線範囲であり、かつ実用濃度域である 0.1 mg kg^{-1} から 0.6 mg kg^{-1} については、濃度値を決定した。濃度値の単位は、この濃度域における本イムノクロマトグラフィーの変動係数が 20% 前後であること⁶⁾を考慮し、 0.05 mg kg^{-1} とした。また、イムノクロマトグラフィーを実施する際は、日間誤差を確認するため、209 検体から成る母集団を無作為に 6 組に分け、異なる 3 日間の午前と午後に測

定を行った。

イムノクロマトグラフィーの結果について、ICP-AES による分析値との相関性を調べた。各イムノクロマトグラフィーにおいて決定された分析値 (0.1 mg kg^{-1} 以上, 0.6 mg kg^{-1} 以下) を ICP-AES による分析値と比較した結果、イムノクロマトグラフィーと ICP-AES の相関係数 (r) は平均すると 0.92 ± 0.03 であった (Fig. 2)。近似直線の傾きは、平均すると 0.76 ± 0.13 であり、イムノクロマトグラフィーによる分析値は、ICP-AES の分析値よりも低い傾向が見られた (Fig. 2)。 $0.1 \sim 0.6 \text{ mg kg}^{-1}$ の濃度域外の試料について見ると、 $>0.6 \text{ mg kg}^{-1}$ と判定された試料は全体で 3 検体であり、この中で ICP-AES による分析値が最も低かったのは 0.50 mg kg^{-1} であった。また、 0.1 mg kg^{-1} 未満と判定された試料は全体で 111 検体であり、この中で ICP-AES による分析値が最も高かったのは 0.13 mg kg^{-1} であった。

今回の測定の対象とした母集団では ICP-AES による分析値が 0.2 mg kg^{-1} 以下である検体が全体の 8 割程度を占めており (Fig. 1)、これらの試料についてイムノクロマトグラフィーの結果の詳細な内訳を調べた (Fig. 3)。ICP-AES による分析値が 0.08 mg kg^{-1} 以下である検体のすべて (113 検体) がイムノクロマトグラフィーによって 0.15 mg kg^{-1} 以下と測定されていた。ICP-AES による分析値が 0.1 mg kg^{-1} 又は 0.12 mg kg^{-1} である検体についても、33 検体中 32 検体はイムノクロマトグラフィーによって 0.15 mg kg^{-1} 以下と測定されており、残りの 1 検体のイムノクロマトグラフィーによる分析値は 0.2 mg kg^{-1} であった (Fig. 3)。ICP-AES による分析値が 0.2 mg kg^{-1} 以下である検体の中でイムノクロマトグラフィーによる分析値の最高は 0.3 mg kg^{-1} であり、これは ICP-AES による分析値が 0.18 mg kg^{-1} である 6 検体のうちの 1 検体であった (Fig. 3)。

4 考 察

4.1 イムノクロマトグラフィーの日間差

今回の実験では、イムノクロマトグラフィーによる測定を 6 組、3 日間に分けて行った。それらの測定結果と ICP-AES の結果の相関を表す近似式の傾きは平均で 0.76 ± 0.13 であり、測定によって傾きに若干のばらつきが見られた (Fig. 2)。一方、ICP-AES との相関係数 (r) は、 0.92 ± 0.03 であり、安定していた (Fig. 2)。これらの原因として検量線の誤差による影響が考えられるが、検量線の作成には、毎回同一の標準試料を使用したのも、標準試料を調製する際の誤りが原因とは考えにくい。他の原因としてカラム溶出液のマトリックスが測定に及ぼす影響に日間差がある可能性が考えられるが、これについては今後の検討課題としたい。現段階では、このような日間差が、実際の試料測定時にも想定されることから、以下で行うイムノクロマ

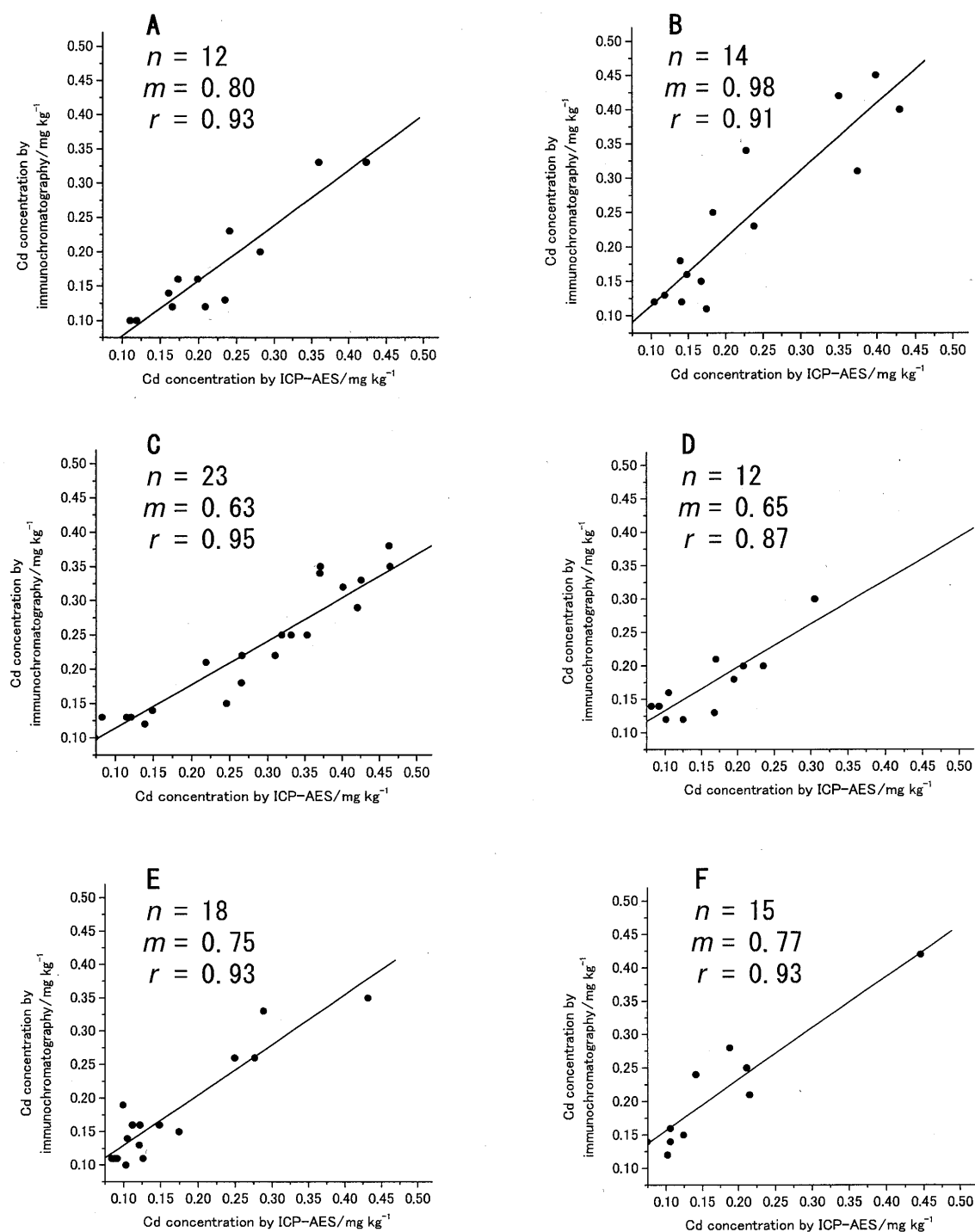


Fig. 2 Correlation between the Cd concentrations estimated by ICP-AES and immunochromatography. Two hundred and nine brown rice samples were randomly divided into six groups to carry out immunochromatography assay. Panel A to F show the results of the analysis of brown rice by ICP-AES and immunochromatography. n : number of samples of which immunochromatography estimated Cd concentration greater or equal 0.1 mg kg⁻¹ to less or equal 0.6 mg kg⁻¹; m : slope; r : correlation coefficient

トグラフィーの評価では、6組の結果を一つにまとめて取り扱うこととした。

4.2 イムノクロマトグラフィーのスクリーニング手段としての評価

ICP-AESの分析値を真値として、試料を陽性試料(0.4 mg kg⁻¹より高濃度)と陰性試料(0.4 mg kg⁻¹以下)に分け、そのそれぞれについてイムノクロマトグラフィーに

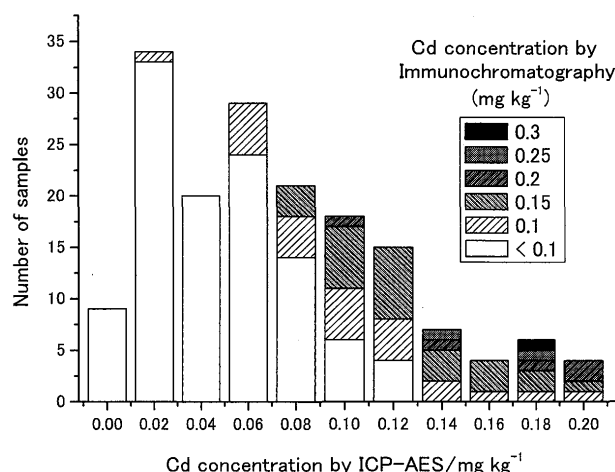


Fig. 3 Distributions of the ICP-AES estimates and breakdown by the immunochromatography estimates
 $>0.2 \text{ mg kg}^{-1}$ ICP-AES estimates were omitted.

による測定結果の分布を調べた。陽性試料のイムノクロマトグラフィーによる分析値の最低は 0.3 mg kg^{-1} (2 検体) であり, これは, ICP-AES によって 0.42 mg kg^{-1} と 0.40 mg kg^{-1} と測定されたものであった (Fig. 4)。一方, 陰性試料のイムノクロマトグラフィーによる分析値の最高は 0.4 mg kg^{-1} であり, これは, ICP-AES によって 0.36 mg kg^{-1} と測定されたものであった (Fig. 4)。すなわち, イムノクロマトグラフィーで 0.3 mg kg^{-1} , 0.35 mg kg^{-1} , 0.4 mg kg^{-1} と測定された試料には, 陽性試料と陰性試料の両方が含まれていた。Fig. 4 から, 今回の実験では, すべての陽性試料をイムノクロマトグラフィーによって正しく検定するためには, イムノクロマトグラフィーによる分析値 0.3 mg kg^{-1} を判定基準とし, 0.3 mg kg^{-1} 以上の値を示した検体を選別すればよいことが直感的に理解できる。

しかし, 誤判定の発生と判定基準の設定との関係を詳細に分析し, スクリーニング法としてイムノクロマトグラフィーの実用性を評価するため, 更に考察を続けたい。

初めに関連する用語を定義する。イムノクロマトグラフィーの分析値を基準として母集団を陽性 (ある濃度以上の検体) と陰性 (ある濃度未満の検体) に検定するとき, その基準とした分析値をカットオフ値とする。また, イムノクロマトグラフィーと ICP-AES の両方によって陽性とされたものを真陽性とし, イムノクロマトグラフィーでは陽性だが, ICP-AES では陰性とされたものを偽陽性とする。また, イムノクロマトグラフィーと ICP-AES の両方によって陰性とされたものを真陰性とし, イムノクロマトグラフィーでは陰性だが, ICP-AES では陽性とされたものを偽陰性とする。ICP-AES によって陽性とされた検体数に対する偽陰性の検体数の割合を偽陰性率 (false negative fraction, FNF) とし, $1 - \text{偽陰性率} = \text{真陽性率}$ (true positive

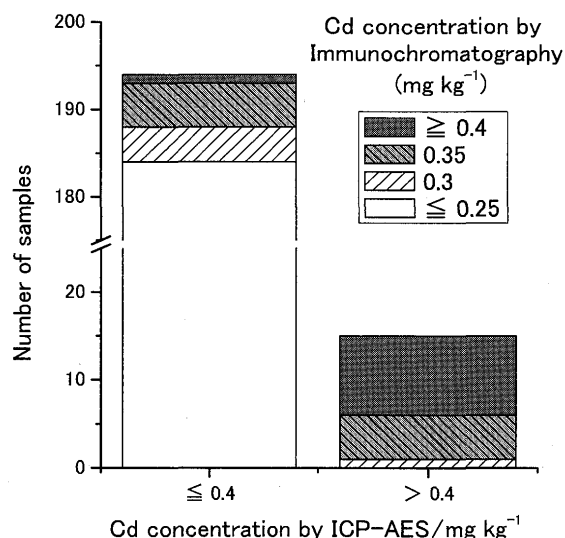


Fig. 4 Distributions of the immunochromatography estimates

Immunochromatography estimates are classified according to ICP-AES estimates ($\leq$ or $= 0.2 \text{ mg kg}^{-1}$; $<$ or $= 0.4 \text{ mg kg}^{-1}$; $> 0.4 \text{ mg kg}^{-1}$).

fraction, TPF) とする。更に, ICP-AES によって陰性とされた検体数に対する偽陽性の検体数の割合を偽陽性率 (false positive fraction, FPF) とする。

今回のイムノクロマトグラフィーの結果に基づきスクリーニングを行った場合の, カットオフ値と偽陰性率, 偽陽性率の関係を Fig. 5A に示した。偽陰性率は, カットオフ値を 0.3 mg kg^{-1} 以下に設定した場合に 0%, 0.35 mg kg^{-1} では 12.5%, 0.4 mg kg^{-1} では 43.8% であり, $0.3 \sim 0.45 \text{ mg kg}^{-1}$ の間で 0~75% まで増加していた (Fig. 5A, Table 1)。一方, 偽陽性率は, カットオフ値 0.25 mg kg^{-1} から緩やかに減少し, 0.25 mg kg^{-1} に設定した場合に 9.8%, 0.3 mg kg^{-1} では 4.7%, 0.35 mg kg^{-1} では 3.1% であり, 0.45 mg kg^{-1} で 0% となった (Fig. 5A, Table 1)。

スクリーニングに際しては, 偽陰性率と偽陽性率が共に小さくなるようなカットオフ値を設定することが望ましい。今回の実験の場合では, カットオフ値を $0.25 \sim 0.3 \text{ mg kg}^{-1}$ に設定したとき, 偽陰性の発生率は 0%, 偽陽性の発生率は 10% 以下となることが分かった (Table 1)。

更に, イムノクロマトグラフィーのスクリーニング手段としての有効性を確認するために, 原子吸光法によってスクリーニングを行う場合を想定し, 両者の比較を行った。イムノクロマトグラフィーに用いた 209 検体を原子吸光法によって測定し, ICP-AES の分析値を真値と仮定して, カットオフ値と偽陰性率, 偽陽性率の関係を調べた (Fig. 5A)。その結果, 原子吸光法によるスクリーニングにおいては, カットオフ値 0.4 mg kg^{-1} 以下において偽陰性率が 0% となることが分かった (Fig. 5A)。一方, 偽陽性率は,

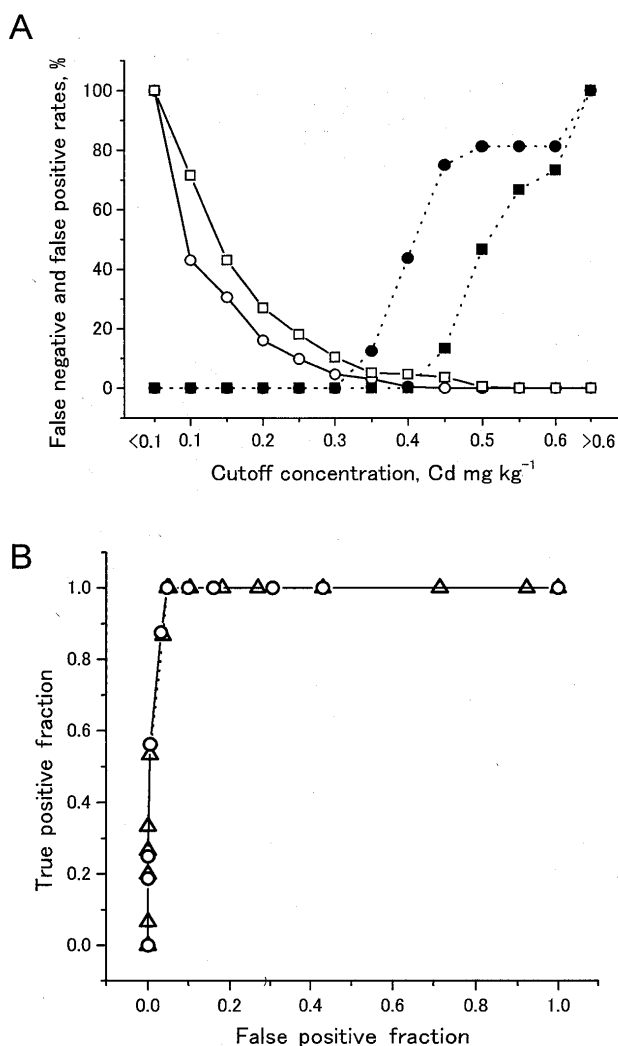


Fig. 5 Comparison of immunochromatography and atomic absorption spectroscopy as screening methods

The screening performance of both immunochromatography and atomic absorption spectroscopy were evaluated using ICP-AES estimates as the gold standard. Panel A shows the relations of cutoff concentration and false negative rate (FN, immunochromatography: ○, atomic absorption spectroscopy: □) and false positive rate (FP, immunochromatography: ●, atomic absorption spectroscopy: ■). Panel B shows receiver-operating characteristic (ROC) plots (immunochromatography: ○, atomic absorption spectroscopy: △) which are reformatted from Panel A. Data points represent cutoff concentrations varied from <0.1 mg kg⁻¹ to >0.6 mg kg⁻¹ in 0.05 mg kg⁻¹ steps.

カットオフ値 0.35 mg kg⁻¹ 以上で 10% 以下となり, 0.35 mg kg⁻¹ では 5.2%, 0.45 mg kg⁻¹ では 3.6%, 0.5 mg kg⁻¹ で 0.5% となった (Fig. 5A).

次にスクリーニング法の評価手法として知られている receiver-operating characteristic (ROC) プロット¹⁰⁾¹¹⁾を作成し, イムノクロマトグラフィーと原子吸光法の比較を行った (Fig. 5B). ROC プロットは, FPF と TPF の対応を

プロットするものであるが, プロット間を結んだ線が左上方に近似される場合ほど [つまり曲線下側の積分値 (面積 = area under curve, AUC) が 1 に近いほど] 正確なスクリーニングが可能であるとされる¹⁰⁾. 今回の結果について, プロットの折れ線の AUC を求めたところ, イムノクロマトグラフィー, 原子吸光法共に 0.99 であり, ほぼ 1 に近い値であった (Fig. 5B). よって, イムノクロマトグラフィーはスクリーニング法としては原子吸光法と同等の性能を示したことになる.

今回用いたイムノクロマトグラフィーの変動係数 (CV) は約 20% であることから⁶⁾, 原子吸光法のほうが測定精度では優れているはずなので, ROC プロットによってイムノクロマトグラフィーと原子吸光法が同等と示されたことは, 意外な結果であるかもしれない. 実際, 原子吸光法で 0.1 以上と分析された検体に限ると, 原子吸光法と ICP-AES の相関係数 (r) は 0.96 であり, イムノクロマトグラフィーより優れていた. しかし, 偽陽性と偽陰性の発生を共に低くするカットオフ値の存在には, 測定精度だけではなく, 母集団の分布条件も影響すると考えられる. 実際, 今回のスクリーニングでは, ICP-AES で 0.20 mg kg⁻¹ 以下の検体が母集団の 8 割程度を占めるが, これらの検体に関しては, 偽陰性が発生する (TPF が 1 未満となる) カットオフ値 (0.35 mg kg⁻¹ 以上) では, 誤判定 (偽陽性) は発生していなかった (Fig. 3, 4). また, カットオフ値を 0.35 mg kg⁻¹ とした場合, FPF は 3.1% と小さな値であった. (Fig. 5B, Table 1). つまり, TPF が 1 を切るとき, FPF は 0 近くの値となっているため, Fig. 5B のような ROC プロットが得られたと考えられる. そして, 同様のことが原子吸光法でも言えるため, 両者のプロットの近似は, よく似た形になったと考えられる (Fig. 5B).

実際に個々の現場における玄米のカドミウム含量の分布を特定することはできないが, 農林水産省が 2002 年に発表した収穫後玄米約 37000 検体のカドミウム含量を定量した結果では, カドミウム含量が 0.1 mg kg⁻¹ 以下の試料が全体の 83.1% であり, 0.2 mg kg⁻¹ 以下を含めると全体の 96.7% に達すると報告されている¹²⁾. この調査の対象が全国の平均的な分布を持つとすれば, 今回スクリーニングの対象とした母集団は, 全国平均よりも高濃度のカドミウムを含む玄米を多く含んでいたことになり, 全国平均と同じ分布の母集団を対象としてスクリーニングを行うなら, 先ほどの考察に従うと, より安全 (偽陰性の発生が少なく) かつ経済的な (偽陽性の発生が少ない) スクリーニングが可能であると考えられる. 逆に, 本法は規制値であるカドミウム含量 0.4 mg kg⁻¹ 近傍の玄米を主体として構成される母集団に対しては, 安全かつ経済的なカットオフ値を設定することは困難であると考えられる.

以上から, 本報で扱ったようなカドミウム含量が 0.2

Table 1 Summary of the screening by immunochromatography

Screening	ICP-AES					
	Number of positive samples, % cutoff point/mg kg ⁻¹			Number of negative samples, % cutoff point/mg kg ⁻¹		
	0.25	0.3	0.35	0.25	0.3	0.35
Positive	16 (100)	16 (100)	14 (87.5)	19 ^{b)} (9.8)	9 ^{b)} (4.7)	6 ^{b)} (3.1)
Negative	0 ^{a)} (0)	0 ^{a)} (0)	2 ^{a)} (12.5)	174 (90.2)	184 (95.3)	187 (96.9)

a) False positive ; b) False negative

mg kg⁻¹ 以下の玄米が多数を占める母集団を対象とした場合は, 母集団のすべてを精密分析するのではなく, イムノクロマトグラフィーによって母集団をスクリーニングし, 規制値を超えると疑われる (カットオフ値を超えた) 検体のみを精密分析に供する方法が効率的であり, 安全性の確保も可能であると考ええる.

文 献

- 1) 浅見輝男: “データで示す日本土壌の有害金属汚染”, p. 146 (2001), (アグネ技術センター).
- 2) 浜谷直史: 食料と安全, **4**, 21 (2006).
- 3) 有蘭幸司: 環境技術, **35**, 626 (2006).
- 4) D. A. Blake, P. Chakrabarti, M. Khosraviani, F. M. Hatcher, C. M. Westhoff, P. Goebel, D. E. Wylie, R. C., II Blake: *J. Biol. Chem.*, **271**, 27677 (1996).
- 5) 俵田 啓, 佐々木和裕, 大村直也, 松本伯夫, 齊木

博: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **52**, 583 (2003).

- 6) 佐々木和裕, 俵田 啓, 奥山 亮, 香山不二雄, 阿部 薫, 丸山幸直, 荒金玉実, 宮坂 均, 藤川 敬, 大村直也: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **56**, 29 (2007).
- 7) Commission directive 2002/69/EC ANNEX II 7, Laying down the sample methods and the methods of analysis for the official control of dioxins and the determination of dioxin-like PCBs in foodstuffs (2002).
- 8) K. Akatsuka, Y. Yoshida, N. Nobuyama, S. Hoshi, S. Nakamura, T. Kato: *Anal. Sci.*, **14**, 529 (1998).
- 9) 守山智章, 進藤久美子, 田口陽嗣, 渡邊久芳, 安井明美, 條 照雄: 食品衛生学雑誌, **44**, 145 (2003).
- 10) M. H. Zweig, G. Campbell: *Clin. Chem.*, **39**, 561 (1993).
- 11) S. E. Hrudey, W. Leiss: *Environ Health Perspect*, **111**, 1577 (2003).
- 12) 食品中のカドミウムに関する情報 (農林水産省), <<http://www.maff.go.jp/cd/index.html>>.

Screening Method for Cadmium in Brown Rice Grain Using Immunochromatography

Kazuhiro SASAKI¹, Kei TAWARADA², Tamami ARAKANE³, Akira OKUYAMA⁴, Yukinao MARUYAMA⁴,
Hiroshi OKUHATA², Fujio KAYAMA⁵, Kaoru ABE⁶, Hitoshi MIYASAKA², Takashi FUJIKAWA³,
Thomas R. GLASS⁷ and Naoya OHMURA¹

¹ Central research institute of electric power industry, 1646 Abiko, Abiko-shi, Chiba, 270-1194

² The Kansai Electric Power Co., Inc., 1-7, Seikacho, Souraku-gun, Kyoto 619-0237

³ The General Environmental Technos Co., Ltd., 3-1-1, Higashikuraji, Katano-shi, Osaka 576-0061

⁴ EnBioTec Laboratories Co., Ltd., 586-9, Ushigafuchi, Akatsuka, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0062

⁵ Jichi Medical School, 3311-1, Yakushiji, Shimotsuke-shi, Tochigi 329-0498

⁶ National Institute for Agro-Environmental Sciences, 3-1-3, Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8604

⁷ Sapidyne Instruments Inc., 967 E. ParkCenter Blvd. Boise, ID 83706, USA

(Received 6 August 2007, Accepted 30 November 2007)

An immunochromatography assay system was evaluated as a screening method for cadmium in brown rice. Cadmium concentrations of 209 samples were measured by immunochromatography, atomic-absorption spectroscopy and ICP-AES. Concentration estimates by immunochromatography and ICP-AES were highly correlated, with a correlation coefficient of 0.92 ± 0.03 . The screening performance of both immunochromatography and atomic-absorption spectroscopy were evaluated using ICP-AES estimates as the gold standard. A comparison of these results using ROC (receiver-operating characteristic) plots showed that both immunochromatography and atomic-absorption spectroscopy are capable of providing useful screening information. In the case that the regulatory concentration of cadmium was set at 0.4 mg kg^{-1} , the most suitable cutoff concentration for the immunochromatography for screening was shown to be at 0.3 mg kg^{-1} , with false negative and false positive rates of zero and 4.7 percent, respectively.

Keywords : immunoassay ; immunochromatography ; cadmium ; rice ; screening.