

学位論文審査の結果の要旨

氏名	SONNY BAUTISTA CONDE
審査委員	主査 井藤 和人 (印) 副査 進藤 晴夫 (印) 副査 山本 定博 (印) 副査 増永 二之 (印) 副査 巢山 弘介 (印)
題目	Method Development of Commercially Available Fenitrothion-ELISA Kit for Soil Residue Analysis (フェニトロチオン ELISA キットを用いた土壌残留分析に関する研究)
審査結果の要旨 (2, 000字以内)	
<p>本研究は、植物中の残留フェニトロチオンを簡便に定量するために市販されている ELISA キットを用いて、土壌残留分析への適用性を種々の土壌試料を用いて検討した研究で、その成果は以下の様に要約される。</p> <p>10 種類の土壌試料にフェニトロチオンを添加し、ELISA キットを用いて添加回収率を測定したところ、5 試料では良好な結果が得られたが、残りの 5 試料では添加回収率が過大評価となった。添加回収率が過大評価となった土壌試料は主に砂質土壌であった。これらの土壌は、ELISA の反応を阻害する土壌有機物や二価イオンのような土壌マトリクスを含んでいたと考えられた。Ca²⁺や Mg²⁺の添加によって ELISA の吸光度は減少した。また、土壌抽出液を限外ろ過することで、ELISA を阻害する土壌マトリクスをいくつかの土壌試料で取り除くことができた。</p> <p>添加回収率が過大評価となった 5 つの土壌試料を用いて、その原因と対策について検討した。土壌抽出液を 100 倍に希釈した場合の効果を検討したが、フェニトロチオンの添加回収率の過大評価は改善しなかった。次に、土壌抽出液中の Ca²⁺や Mg²⁺ を除去するために合成ゼオライトによる処理について検討した。フェニトロチオンの添加回収率における過大評価の改善に効果が認められたが充分ではなかった。次に、希釈した土壌抽出液を限外ろ過することによりガスクロマトグラフによる分析を同程度の良好な結果が得られた。この結果から、ELISA の反応には土壌有機物などの高分子化合物が大きく影響していることが示唆された。</p>	

土壌試料にフェニトロチオンを添加し、1週間培養した後の残留濃度をガスクロマトグラフ、液体クロマトグラフおよび ELISA を使って分析し、ELISA キットの土壌残留分析への適応性を検討した。ゼオライト処理を行った土壌試料では、ELISA でフェニトロチオンの残留量は過大評価された。フェニトロチオンの土壌中の主要な分解産物である 3-メチル-4-ニトロフェノールは用いた ELISA キットで交差反応性を示さなかったため、その過大評価は土壌抽出液中の阻害物質が引き起こしたことが示唆された。一方、土壌抽出液を限外ろ過することで、ガスクロマトグラフおよび液体クロマトグラフと同程度の残留量が測定された。1週間培養した土壌のフェニトロチオンの残留量は、ガスクロマトグラフ分析で 51%、液体クロマトグラフ分析で 64%、限外ろ過を行わなかった ELISA 分析で 82%、限外ろ過を行った ELISA 分析で 62%であった。以上の結果から、土壌抽出液の高分子有機物が ELISA を阻害するが、限外ろ過でそれらを取り除くことにより、本キットを土壌残留分析に適用できることが示された。

本研究により、農作物中に残留するフェニトロチオンを定量するために設計されたフェニトロチオン-ELISA キットの様々な土壌における残留分析への適用性が検討された。使用した ELISA キットはいくつかの土壌試料中のフェニトロチオンの定量には利用可能だが、砂質土壌には適さず測定値が過大評価された。しかし、種々の阻害要因を推定し、その対策について検討した結果、土壌抽出液の高分子有機物が ELISA を阻害することを明らかにし、分析前の簡単な限外ろ過を行うことで、砂質土壌を含めた様々な土壌中の残留農薬のモニタリングに利用できることを明らかにした。土壌環境中の農薬残留量を簡便な ELISA によって定量できることを示した成果は、高価な分析機器や煩雑な操作、分析技術を必要とせず、多数の環境試料中の農薬残留量の測定を容易にし、農薬のリスク評価におけるスクリーニング法としての有効性を示した点で、今後の ELISA キットの開発や分析技術を進歩させる上で重要な成果であり、博士（農学）の学位を与えるに十分な価値を持つものと判定した。