

別紙 1 - 1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 大原 倫美

論 文 題 目

A simple method for the determination of glyphosate, glufosinate and their metabolites in biological specimen by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS): An application for forensic toxicology

(LC/MS/MS による生体試料中グリホサート、グルホシネートと代謝物の簡便な同定・定量法：法中毒学への応用)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

加藤 昌志 


名古屋大学教授

委員

若井 建志 

名古屋大学教授

委員

濱嶋 信之 

名古屋大学教授

指導教授

石井 晃 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、含リンアミノ酸系除草剤であるグリホサート、グルホシネート及びこれらの代謝物を、液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) により血漿および尿中から、簡便に同定・定量する方法の構築を試みた。また、内部標準 (IS) に用いる GLYP¹³C₂¹⁵N 等の同位体安定化合物の代替品として、2-amino-4-phosphonobutyric acid (AP-4) 及び DL-2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP-5) の適性を評価した。抽出操作を省略し、誘導体化反応条件を最適化した前処理方法と、分析対象に適した LC カラムと移動相条件を用いた結果、簡便に同定・定量が可能であった。また IS には、AP-4 と AP-5 も使用可能であることが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. LC/MS は、GC/MS と比較して高感度な分析が可能であり、分析時間も短い場合が多い。また、本研究の分析対象は揮発性が低いため、GC/MS で測定するためには誘導体化を行い、揮発性を高める必要がある。誘導体化により分析対象の分子量は大きくなるが、GC/MS で分析可能な分子量は LC/MS と比較して小さいため、使用できる誘導体化法が限られてしまう可能性がある。一方 LC/MS ではその心配がなく、より使われやすいと考えられる。
2. グリホサートやグルホシネートに比べ、これらの代謝物においてマトリックス効果が著明に認められたものの、定量分析には大きな影響はないと考えている。これは、分析対象物質を含まない血漿または尿に既知濃度の標準品を添加し、検量線を作成した結果、良好な直線性が得られたためである。
3. これまでに、農作業者の尿中より、0.02~18 µg/mL のグリホサートが検出されたという報告がある。しかし本研究では法中毒分野での応用を考えていたため、極めて低濃度の定量分析についての検討を行っていない。そのため、農作業者の検体を分析するためには、試料の希釈倍率や誘導体化の反応条件を再検討する必要があるが、本研究と同様、試料を希釈後、*N*-acetyl, *O*-methyl 誘導体化により農作業由来の検体を分析することは可能であると考えられる。
4. 土壌や水等の試料に対しても、本研究で構築した方法が応用できる可能性はあると考えられる。土壌に関しては、生体試料とマトリックスの性質が大きく異なるために生じる問題がないか検討する必要があると考えられる。また水に関しては、血漿や尿と比較して夾雑物が少ないため、マトリックス効果は大きくないと予想されるが、分析対象物質の含有量が少ないため、希釈倍率の検討が特に必要だと考えられる。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	大原 倫美
試験担当者	主査	加藤 昌志	副査:	若井 建志
	副査:	濱嶋 信之	指導教授	石井 晃
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none">1. 既報のGC/MSによる分析法と今回のLC/MS/MSによる分析法の相違点2. マトリックス効果が高い成分の定量分析に対する影響について3. 農薬を使用している農業者の検体への本法の適用可能性4. 環境分析における本法の応用可能性 <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、法医・生命倫理学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				