

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4411586号
(P4411586)

(45) 発行日 平成22年2月10日(2010.2.10)

(24) 登録日 平成21年11月27日(2009.11.27)

(51) Int.Cl.	F 1
C 12 Q 1/46	(2006.01) C 12 Q 1/46
C 12 Q 1/26	(2006.01) C 12 Q 1/26
G 01 N 21/78	(2006.01) G 01 N 21/78 Z
G 01 N 33/15	(2006.01) G 01 N 33/15 C

請求項の数 7 (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2003-346482 (P2003-346482)
 (22) 出願日 平成15年10月6日 (2003.10.6)
 (65) 公開番号 特開2005-110535 (P2005-110535A)
 (43) 公開日 平成17年4月28日 (2005.4.28)
 審査請求日 平成18年9月27日 (2006.9.27)

(73) 特許権者 000001812
 株式会社サタケ
 東京都千代田区外神田4丁目7番2号
 (72) 発明者 保坂 幸男
 東京都千代田区外神田四丁目7番2号 株式会社サタケ内
 (72) 発明者 香川 清登
 東京都千代田区外神田四丁目7番2号 株式会社サタケ内
 (72) 発明者 丸山 秀春
 東京都千代田区外神田四丁目7番2号 株式会社サタケ内
 (72) 発明者 梶山 剛志郎
 東京都千代田区外神田四丁目7番2号 株式会社サタケ内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 残留農薬測定方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

コリンエステラーゼの活性阻害を利用した農作物中に含まれるコリンエステラーゼ阻害性農薬を測定する方法において、農薬を含む試料溶液中に、コリンエステラーゼ、コリンオキシダーゼ及び発色試薬などの反応量を把握するための試薬をあらかじめ添加して、酵素の安定化及び試料中に既に含まれている妨害物質を分解すべく、コリンエステラーゼに対して特異性を示す基質及び遊離コリンを過酸化水素に変換するに十分な時間をかけてインキュベートを行った後、コリンエステラーゼに対して特異性を示す基質溶液を添加し、その後、添加基質のコリンエステラーゼによって加水分解される量を測定した結果と、理想溶液中で同様のシーケンスに従って測定した結果との比較から、試料溶液中に含まれる残留農薬濃度を算出することを特徴とする残留農薬測定方法。

【請求項 2】

前記インキュベートにおける前記コリンオキシダーゼの添加量は、比活性測定でヨウ化アセチルチオコリンがアセチルコリンエステラーゼにより分解される量()と比活性測定で塩化コリンがコリンオキシダーゼにより分解される量()とのモル比(/)が50乃至100となるように、前記コリンエステラーゼの添加量よりも過剰に添加してなる請求項1記載の残留農薬測定方法。

【請求項 3】

前記コリンエステラーゼに対して特異性を示す基質は、酵素がアセチルコリンエステラーゼである場合にはヨウ化アセチルコリンとしてなる請求項1又は2記載の残留農薬測定方

法。

【請求項 4】

前記コリンエステラーゼに対して特異性を示す基質は、酵素がブチリルコリンエステラーゼである場合にはヨウ化ブチリルコリンとしてなる請求項 1 又は 2 に記載の残留農薬測定方法。

【請求項 5】

前記ヨウ化アセチルコリンの最終濃度が 0 . 1 ~ 0 . 3 mM である請求項 3 記載の残留農薬測定方法。

【請求項 6】

測定系における pH をコリンエステラーゼ活性の至適 pH に調整するための緩衝液と、試料に当初から含まれるイオン種が測定系に混入した場合のイオン強度変化の影響を緩和するための多量の電解質と、を含む理想溶液を使用してなる請求項 1 又は 2 記載の残留農薬測定方法。 10

【請求項 7】

試料の抽出乾固成分を、pH 6 程度の弱酸性溶液で溶解した後、前記理想溶液中に含まれる成分を最終濃度で同じになるように調整した請求項 6 記載の残留農薬測定方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、農作物などの試料中に含まれるコリンエステラーゼ活性阻害能を有する残留農薬を測定するための残留農薬測定方法に関する。 20

【背景技術】

【0002】

有機リン系農薬やカルバメート系農薬は、有機塩素系の農薬等と比較して、自然界で分解され易いため、殺虫剤、殺菌剤、除草剤として古くから広く使用されている。しかしながら、これらの中でも有機リン系殺虫剤やカルバメート系殺虫剤とその代謝生成物は、コリンエステラーゼ活性阻害を引き起こす典型的な酵素毒であり、動物体内に蓄積されると神経系を著しく害するため、食品危険度管理又は環境汚染管理的な見地から、安全性確保のため、これら農薬の検査を行う機会が近年増加している。 30

【0003】

従来、上記殺虫剤等の検出には、ガスクロマトグラフやガスクロマトグラフ質量分析計等の精密分析装置を用いて行っている。しかしながら、このような分析装置を用いた検出方法は、サンプル中に含まれている成分を網羅的に、精度良く検出できるものの、測定装置が高価であり、測定操作が煩雑で熟練を要し、時間がかかる。また、測定毎に機器校正のため農薬を使用せざるを得ない等の問題もある。

【0004】

一方、前述したように、有機リン系殺虫剤やカルバメート系殺虫剤が典型的なコリンエステラーゼの阻害性物質であることから、農薬の共存によるコリンエステラーゼの酵素触媒能（加水分解速度）低下を捉え、間接的に、これら農薬の共存量を算出する簡便な農薬の検査方法がある。 40

【0005】

コリンエステラーゼの加水分解速度を測定する方法には、例えばコリンエステラーゼを単独使用し、アセチルチオコリンやブチリルチオコリンを基質に選択して反応生成物が電気化学的に活性であるチオコリンに変換し、未修飾の電極を用いて電解酸化検出する方法や（例えば、非特許文献 1 参照。）、チオコリンをチオール官能性試薬により発色して吸光度検出測定する方法がある（例えば、特許文献 1 参照。）。

【0006】

しかし、前者の方法では、グラファイト電極を用いた場合、チオコリンの電解酸化には 700mV vs. Ag/AgCl という正の電位を印加する必要があり、この印加電位では、測定液に含まれるチオコリン以外の成分も酸化する可能性があり、しかも、チオコリンは溶存酸素 50

などにより容易に酸化されるためコリンエステラーゼ活性を正確に求めることはできない。後者の方では、試料溶液中の濁度や着色の影響、さらに発色剤、着色物が反応性に富むという欠点を有する。

【0007】

そこで、コリンエステラーゼの触媒作用による基質の加水分解速度を直接測定しにくい問題を克服するために、コリンエステラーゼの後続にコリンオキシダーゼを共使用することにより、コリンエステラーゼ触媒活性により生成したコリンをより簡便かつ選択的に検出できる過酸化水素に変換し、種々の検出手段により測定する多くの方法が技術提案されてきた。

【0008】

しかし、コリンオキシダーゼの基質であるコリンは検査対象となる植物組織中に遊離、又は結合物の形（例えば、レシチン）として広く分布し、植物成長調整剤としても散布されるため、測定溶液中に共存する遊離コリンは過酸化水素に変換され、測定ノイズに関与し、コリンオキシダーゼを共使用することの弊害があった。

【0009】

【非特許文献1】R . Buck . Electrochim Acta, 36, p243 (1991)

【特許文献1】特許第2927221号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明は、上記問題点にかんがみ、測定ノイズ成分である試料中に含まれる遊離コリンの影響を極力減じて測定することができ、ミカエリス - メンテンス型酵素の動力学的処理により農作物等に含まれるコリンエステラーゼ阻害性農薬の濃度算出が容易となるための方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0011】

上記課題を解決するため本発明は、測定前段階において試料溶液中にコリンエステラーゼとコリンオキシダーゼとを添加、一定時間のインキュベートを行うことより遊離コリンを過酸化水素へ変換し、コリンエステラーゼ特異性基質を添加した後の過酸化水素濃度の変化率を捉える方法を講じた。これにより、遊離コリンの測定精度に及ぼす影響の防止と、ミカエリス - メンテンス型酵素の動力学的処理による容易な濃度算出が可能となった。

【0012】

すなわち、本発明は、以下のような構成から成る。

(1) コリンエステラーゼ阻害性農薬の共存により変化するコリンエステラーゼ活性は、コリンエステラーゼとコリンオキシダーゼとの共役酵素反応によるコリンエステラーゼ特異性基質の分解に起因する過酸化水素を検出する方法で測定を行い、かつ測定溶液中に少なくともコリンエステラーゼ、コリンオキシダーゼ、緩衝溶液、及びコリンエステラーゼ特異性基質を含むことを特徴とするコリンエステラーゼ阻害性農薬の測定方法とした。

(2) 過酸化水素の発色反応系を用いた吸光度測定などによる前記過酸化水素の検出を行うことによりコリンエステラーゼ阻害性農薬を定量する(1)記載の測定方法とした。

(3) 前記コリンエステラーゼは、厳密には、アセチルコリンエステラーゼ、又はブチリルコリンエステラーゼであり、該酵素の由来は特に限定されないが、好適には電気ウナギ由来のアセチルコリンエステラーゼである(1)記載のコリンエステラーゼとした。

(4) アセチルコリンエステラーゼ、又はブチリルコリンエステラーゼに対して基質特異性を示すものならば、アセチルチオコリン及びブチリルチオコリンを選択しない限りにおいて、特に限定されないが、好適にはヨウ化アセチルコリンである(1)記載のコリンエステラーゼ特異性基質とした。

(5) 被測定対象物質が、厳密には、アセチルコリンエステラーゼ、又はブチリルコリンエステラーゼに対して高い阻害能を有するN - メチルカルバメート系殺虫剤、ホスフェート型有機リン系殺虫剤、又はチオノ型有機リン系殺虫剤、ジチオ型有機リン系殺虫剤を酸

10

20

30

40

50

化処理して得られるホスフェート型の酸化生成物である(1)記載のコリンエステラーゼ阻害性農薬とした。

(6)コリンオキシダーゼ、コリンエステラーゼおよび必要により過酸化水素量を測定するための反応試薬は順不同で先に添加し、一定時間経過後、最後に、コリンエステラーゼ特異性基質を添加する順序で行われる(1)記載の測定溶液中への酵素、基質の添加とした。

(7)コリンオキシダーゼ活性がコリンエステラーゼ活性と比較して大となるよう添加される(1)記載の該酵素の添加量とした。

(8)前記(6)の添加順序を踏むことにより測定溶液中へ混在する遊離コリンの過酸化水素への変換を行い、測定前段階における過酸化水素濃度を安定させ、コリンエステラーゼ特異性基質を添加した後の過酸化水素濃度の変化率(時間微分値)を捉え、同様の過程を踏み、理想溶液中で測定した値との比較からコリンエステラーゼ阻害性農薬による活性阻害率を算出する方法とした。10

(9)前記(8)記載の活性阻害率と予め測定したコリンエステラーゼ阻害性農薬のコリンエステラーゼ阻害能を表す定数: K_i のデータベースとをミカエリス-メンテンス型酵素の動力学的計算に代入することで、測定溶液中に含まれるコリンエステラーゼ阻害性農薬濃度の換算を行うことを特徴とするコリンエステラーゼ阻害性農薬の定量方法とした。

(10)前記(8)記載の理想溶液は、測定を行うために十分な酵素活性が得られ、かつ被測定対象物質を加水分解しないpHに保つための緩衝溶液と、イオン強度を調整するために添加する多量の無関係塩との組成とした。20

(11)前記(1)記載の緩衝溶液は、前記(8)記載の理想溶液と同組成、かつ同量とした。

【発明の効果】

【0013】

以上のように本発明によれば、コリンエステラーゼの活性阻害を利用した測定溶液中に含まれるコリンエステラーゼ阻害性農薬の測定を簡便、かつ迅速に行うための方法を提供するものであって、従来、コリンエステラーゼとコリンオキシダーゼとを共役した場合問題であった試料溶液中に含まれる遊離コリンの測定精度に及ぼす影響のキャンセルを可能にする、簡易な優れた測定方法である。30

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

以下、本発明を実施するための最良の形態について、図面を参照して詳細に説明する。実施する形態は後述の一例にとらわれるものではなく、過酸化水素の発生量をリアルタイムにセンシングできる手法であればよい。

【0015】

図1は本発明の残留農薬測定方法を実施するための測定装置の構成を示す概略側面図であり、図2は測定装置のセンサ部の使用状態を示す側面図であり、図3は測定装置の概略平面図であり、図4は測定装置に使用する洗浄槽の拡大説明図であり、図5は測定装置のセンサ部の断面図であり、図6は測定装置の制御部を示す概略ブロック図である。40

【0016】

図1、図2及び図3において本発明の残留農薬測定方法を実施するための装置は、過酸化水素生成に伴う発色による透過光量変化を検知する(捉える)センサ5と、試料溶液中に酵素と基質を添加して酵素活性阻害反応を起こさせる反応槽9と、該反応槽9へ浸漬したセンサ5を洗浄すると同時にリファレンス用の透過光量をチェックする洗浄槽16と、理想溶液中の透過光量変化をチェックするための比較反応槽15と、前記センサ5を反応槽9、洗浄槽16及び比較反応槽15へ浸漬させるためのセンサ移動手段2と、反応槽9、15に基質溶液を添加する試薬添加ノズル7とから主要部が構成される。

【0017】

前記吸光度を測定するセンサ5は、図5のような形状をしており、着色溶液が入る溝

10

20

30

40

50

3 9 の両端は光が通りかつ密閉するためのガラス窓 3 5 a , 3 5 b があり、ランプ 3 6 の光がバンドパスフィルタ 3 7 、光ファイバー 3 3 a 、ミラー 3 4 a 及びガラス窓 3 5 a を介して溶液中に侵入し、溶液中を通過した光はガラス窓 3 5 b 、ミラー 3 4 b 及び光ファイバー 3 3 b を介してディテクタ 3 8 に受光される構造となっている。バンドパスフィルタは発色物質の最大吸収波長付近にピーク透過波長を持つもので、シリコンフォトダイオードなどの安価な素材で形成されるディテクタ 3 8 により透過光量が測定される。このセンサ 5 の迷光は装置全体を遮光することにより実現される。そして、該センサ 5 の検出部の他端側には、センサ 5 を支持するセンサ固定体 4 が設けられ、該センサ固定体 4 は垂直方向に移動するセンサ昇降装置 3 に支持されている。該センサ昇降装置 3 は、ステップモータなどの駆動源と、センサ 5 の位置センサ 1 2 とにより形成され、ステップモータの正・逆回転によりセンサ 5 を液面に浸漬することと、センサ 5 を液面から引き上げることとを制御することができる。また、前記センサ昇降装置 3 には、前記センサ固定体 4 を水平方向に移動するために、回転アーム 2 の一端が接続されている。該回転アーム 2 の他端には、回転アーム 2 を平面視で所定角度回転させるアーム回転モータ 1 と、回転アーム 2 の水平位置センサ 1 4 が設けられている。該アーム回転モータ 1 のステップ状の正・逆回転及び水平位置センサ 1 4 により、反応槽 9 、洗浄槽 1 6 及び比較反応槽 1 5 の上方にセンサ 5 を隨時移動することができる。

【 0 0 1 8 】

前記反応槽 9 は、試料溶液を入れるとともに、反応液 1 0 となるコリンオキシダーゼ、コリンエステラーゼ及びコリンエステラーゼ特異性基質、発色試薬（例えば 4 - アミノアンチピリンとフェノールとペルオキシターゼの混合液）を添加して、農薬共存下での過酸化水素生成反応を行う。また、各反応槽底部には攪拌回転子 1 1 a が挿入されており、マグネットスターラ（図示せず）により攪拌される。前記比較反応槽 1 5 には、初期段階ではコリンオキシダーゼ、コリンエステラーゼおよび発色試薬のみ添加されており、任意のタイミングでコリンエステラーゼ特異性基質を添加し、その溶液の吸光度変化を観察する。前記洗浄槽 1 6 には、センサ 5 のガラス窓面を洗浄し、リファレンス用の投光量を測定するための測定波長域に吸収を持たない無関係塩を含む緩衝溶液が入れられている。該洗浄槽には洗浄水 1 9 を適時新鮮で清浄な液に交換できるように、槽側壁下部に洗浄水導入管 1 7 が、槽底壁上部に洗浄水排出管 1 8 がそれぞれ設けられている（図 4 参照）。

【 0 0 1 9 】

反応槽 9 及び比較反応槽 1 5 に基質溶液を添加する試薬添加ノズル 7 は、前記回転アーム 2 先端に垂下したノズル支持棒 6 と、該ノズル支持棒 6 の先端に固定したノズル支持体 1 3 によって支持されており、両反応槽 9 , 1 5 から飛散させることなく試薬を添加させることができる。前記試薬添加ノズル 7 にはチューブ 8 が接続されており、図示しない薬液タンクから試薬が定量供給される。また、試薬添加ノズル 7 と該試薬添加ノズルに接続するチューブ 8 (8 a , 8 b) は試薬ごとに複数個設けるのが好ましく、例えば、反応液となるコリンオキシダーゼ、コリンエステラーゼ、コリンエステラーゼ特異性基質及び発色試薬ごとに専用のものを備えるのがよい。

【 0 0 2 0 】

回転アーム 2 の代わりに各槽の測定ステージを回転駆動することにより、反応槽 9 、洗浄槽 1 6 及び比較反応槽 1 5 の位置を順次入れ替えて測定を実施しても良い。この場合、回転アーム 2 の機械的な動きの負担を軽減することができる。

【 0 0 2 1 】

図 6 は測定装置の制御部を示す概略ブロック図である。前記センサ 5 を主要部とする測定部 2 7 は、信号処理回路 2 5 を介して制御パソコン 2 3 に接続され、該パソコン 2 3 に接続されたプリンター 2 4 などの表示器により農薬濃度を測定することができる。符号 2 8 は洗浄水供給管 3 2 に接続されたウォーターポンプであって、前記洗浄槽 1 6 に洗浄水 1 9 を供給できるよう、コントローラ 3 0 を介してパソコン 2 3 により制御される構成となっている。また、符号 2 9 は試薬類供給チューブ 3 1 に接続された分注器であって、前記反応槽 9 , 1 5 に発色試薬を定量供給するように、コントローラ 3 0 を介してパソコ

10

20

30

40

50

ン 2 3 により制御される構成となっている。

【 0 0 2 2 】

以下、本発明のコリンエステラーゼ阻害性残留農薬の測定を行う工程について、順に追って説明する。まず、第一工程は検査対象となる農作物から抽出を行い、大雑把なクリーンアップ操作により調製した農薬を含む試料溶液の入った反応槽 9 に、コリンエステラーゼ溶液とコリンオキシダーゼ溶液と前記発色試薬を添加した後、該試料溶液を一定時間放置することより構成される。また、比較反応槽 15 には同濃度のコリンエステラーゼ溶液とコリンオキシダーゼ溶液と前記発色試薬のみで構成しておく。該第一工程の間、センサ 5 は洗浄槽 16 中での待機状態にあり、リファレンス光量を測定しておく。該第一工程において、反応槽 9 の該試料溶液中に含まれる測定ノイズとなる遊離コリンがコリンオキシダーゼの触媒作用により順にベタインアルデヒド、ベタインに分解され、副生成物として過酸化水素が生成する。この時生成した過酸化水素が前記発色試薬により分解、発色することにより測定前の透過光量が安定化する。また、該試料溶液中に含まれる被測定農薬とコリンエステラーゼとの接触を行うことにより、コリンエステラーゼ阻害を促進し、測定感度を高める効果が得られる。さらに、該試料溶液中に含まれる該添加酵素類に対して非特異的な活性阻害を行う物質と該添加酵素類とを接触させることにより、該添加酵素類の安定化も図れる。
10

【 0 0 2 3 】

前記第一工程における添加酵素量は、コリンオキシダーゼの方がコリンエステラーゼよりも過剰であり、コリンオキシダーゼ市販品（和光純薬社製、カタログ No. 037-1 20
4401）とアセチルコリンエステラーゼ市販品（シグマ社製、カタログ No. C2888）との組み合わせで行う場合においては、製品表示してある比活性を基にして言えば、測定時における最終濃度で、コリンオキシダーゼは 0.5 U / ml 以上、コリンエステラーゼは 0.005 U / ml 以下となるよう添加する。該酵素添加量比率により、コリンエステラーゼ特異性基質の分解が全反応での律速段階にすることが可能となり、コリンエステラーゼとコリンオキシダーゼとの共役酵素反応によるコリンエステラーゼ活性測定が可能となる。

【 0 0 2 4 】

また、比較反応槽 15 および洗浄槽 16 中に入れられている無関係塩の強電解質を含む緩衝溶液は、反応槽 9 中に入れられている該試料溶液中においても同濃度で添加してある。センサ 5 が各槽間を移動した場合の、環境変化による測定値への影響を緩和することが可能となる。
30

【 0 0 2 5 】

第二工程では、反応槽 9 中及び比較反応槽 15 中にコリンエステラーゼ特異性基質の添加を行った後、溶液攪拌条件下で一定時間の放置を行うことで構成される。また、該第二工程の間、センサ 5 は反応槽 9 、比較反応槽 15 及び洗浄槽 16 の間を一定時間毎に各槽でのデータ採取（図 7 参照）のため移動させる。そして、反応槽 9 中及び比較反応槽 15 中において、コリンエステラーゼの活性度合いにより過酸化水素が生成され、その過酸化水素が発色試薬により分解されて発色量が増加する。この発色量の増加速度は過酸化水素の生成速度に追従するのである。
40

【 0 0 2 6 】

また、該第二工程におけるコリンエステラーゼ特異性基質は前記第一工程でアセチルコリンエステラーゼ市販品を添加した場合に、ヨウ化アセチルコリンを選択することが最適であり、測定時における最終濃度で 0.1 ~ 0.3 mM の範囲がよい。好ましくは、0.2 mM となるよう分注器 29 で定容量を分取し、添加ノズル 7 を介して添加するとよい。また、ヨウ化アセチルコリンの水溶液は、常温、照射下において緩やかに加水分解しコリンとなるため、測定値への影響を考慮し、ヨウ化アセチルコリン溶液は遮光容器に入れ、5 以下の冷却槽中で保存することが好ましい。

【 0 0 2 7 】

次に、吸光度測定値の時間変化率（吸光度の増加速度： d a / d t ）を記録する（図 8 50

参照)。測定の終了は該吸光度の増加速度: da/dt が定常値となったか否かにより判断し、該吸光度の増加速度: da/dt が定常値とならない場合は、任意に設定した時間とする。

【0028】

さらに、ここで得られる吸光度信号を説明する。センサ5を用いて行う吸光度の増加速度: da/dt は、前記第二工程での間、該反応槽9中にコリンオキシダーゼを添加し、測定試料中に当初含まれる遊離コリンを過酸化水素に変換したことで、該第二工程で添加を行ったコリンエステラーゼ特異性基質(例えばアセチルコリン)のコリンエステラーゼによる加水分解に起因する、該反応槽9中及び比較反応槽15中における過酸化水素濃度の変化を捉えることが可能となる(図7参照)。また、既知の通り、ミカエリス・メンテンス型酵素の遊離状態での使用により、吸光度変化は該酵素による基質分解速度に応答するため、該出力信号: da/dt から、該反応槽9中における、コリンエステラーゼ阻害性農薬共存下でのコリンエステラーゼ活性を測定することが可能となる。10

【0029】

また、反応槽9中のコリンエステラーゼ阻害性残留農薬の影響を受けた吸光度信号と、比較反応槽15中のコリンエステラーゼ阻害性農薬の影響を受けていない吸光度信号とを区別するために、それぞれ(da/dt)_iと(da/dt)_nとで表現する。

【0030】

さらに、2つの吸光度測定値の比: R.A.(Relative activity) = (da/dt)_i / (da/dt)_n を(1)式に示した、既知のミカエリス・メンテンス型酵素の拮抗阻害反応における動力学的計算に適用することが可能となる。20

【数1】

$$R.A. = \frac{(da/dt)i}{(da/dt)n} = \frac{(Km + |S|)}{Km(1 + |I|/Ki) + |S|} \quad \dots (1) \text{式}$$

|S|: 基質濃度、|I|: 農薬濃度

30

つまりは、(1)式を変換した(2)式に、コリンエステラーゼ阻害性農薬によるコリンエステラーゼ活性阻害率を表すR.A.と、予め測定したコリンエステラーゼ阻害性農薬のコリンエステラーゼ阻害能を表す定数: Ki、のデータベースを代入すれば、試料溶液中に含まれるコリンエステラーゼ阻害性農薬の濃度算出が可能となる。

【数2】

$$[I] = Ki \times \frac{Km + [S]}{Km} \times (R.A.^{-1} - 1) \quad \dots (2) \text{式}$$

40

【0031】

本発明によれば、前述した従来技術などに比べ、試料溶液中に含まれる遊離コリンの影響を受けないことによるS/N比改善のため、測定精度が向上する。また、ミカエリス・メンテンス型酵素の動力学的処理が容易となる。

【図面の簡単な説明】

【0032】

【図1】本発明の残留農薬測定方法を実施するための測定装置の構成を示す概略側面図である。

【図2】測定装置のセンサ部の使用状態を示す側面図である。

50

【図3】測定装置の概略平面図である。

【図4】測定装置に使用する洗浄槽の拡大説明図である。

【図5】センサ部の構造図である。

【図6】測定装置の制御部を示す概略ブロック図である。

【図7】反応槽中の過酸化水素濃度変化を説明するための図である。

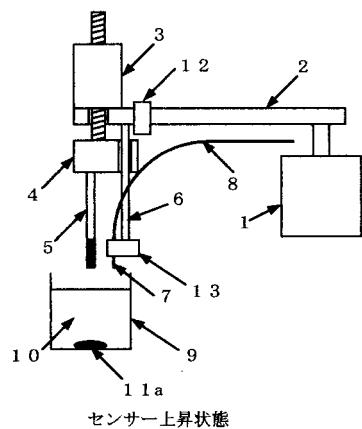
【図8】基質添加後の出力信号の時間微分値変化を説明するための図である。

【符号の説明】

【0033】

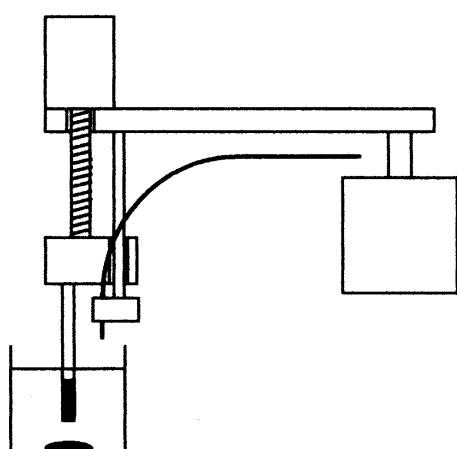
1	アーム回転モータ	10
2	回転アーム	
3	センサー昇降装置	
4	センサー固定体	
5	センサー	
6	ノズル支持棒	
7	試薬添加ノズル	
8	チューブ	
9	反応槽	
10	反応液	
11	攪拌回転子	20
12	位置センサー	
13	ノズル支持体	
14	水平位置センサー	
15	比較反応槽	
16	洗浄槽	
17	洗浄水導入管	
18	洗浄水排出管	
19	洗浄水	
23	パソコン	
24	プリンター	
25	信号処理回路	30
26	測定器本体	
27	測定部	
28	ウォーターポンプ	
29	分注器	
30	コントローラ	
31	試薬類供給チューブ	
32	洗浄水供給管	
33	光ファイバー	
34	ミラー	
35	ガラス窓	40
36	ランプ	
37	バンドパスフィルター	
38	ディテクタ	
39	溝	

【図1】



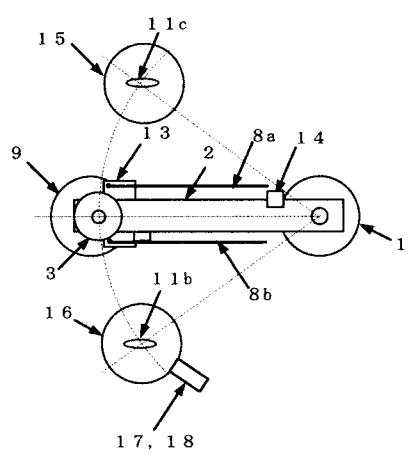
センサー上昇状態

【図2】

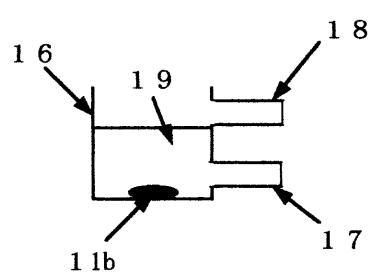


センサー下降状態

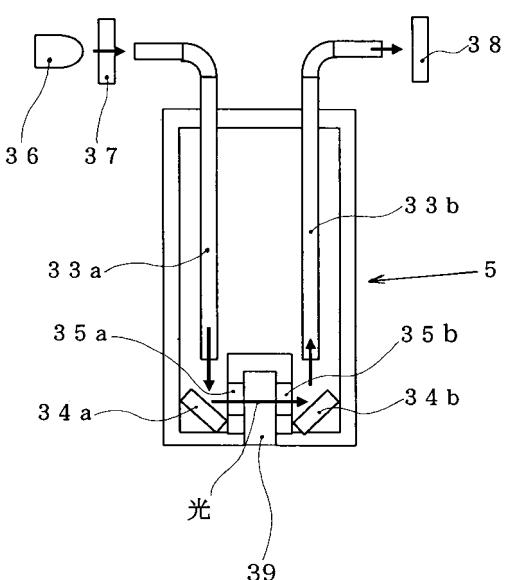
【図3】



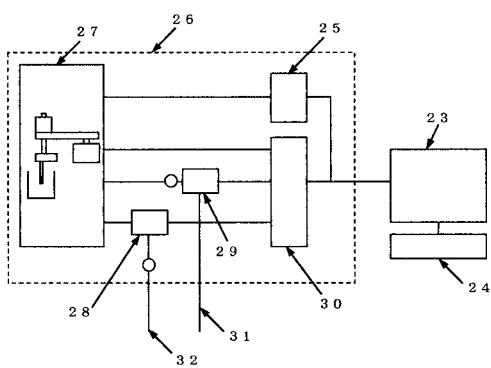
【図4】



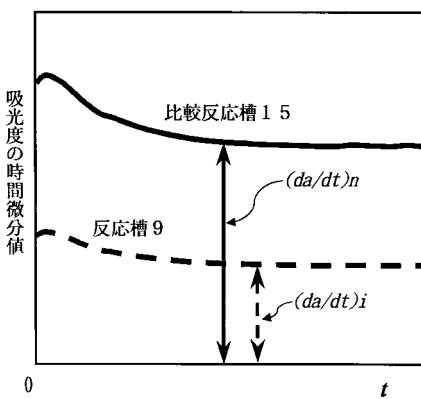
【図5】



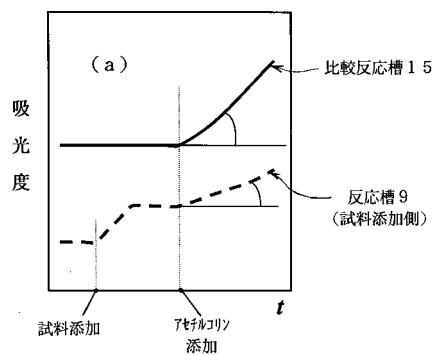
【図6】



【図8】



【図7】



フロントページの続き

(72)発明者 江盛 貴之
東京都千代田区外神田四丁目7番2号 株式会社サタケ内

審査官 田中 晴絵

(56)参考文献 特開2002-330800(JP,A)
特開平2-46300(JP,A)
Analytica Chimica Acta, 1995年, Vol.302, p.53-59

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 12 Q 1 / 00 - 3 / 00
W P I
CA / BIOSIS / MEDLINE (STN)
JST Plus / JMEDPlus / JST 7580 (JDreamII)