

# フィプロニルばく露評価のための血清 LC-MS/MS 分析法の確立

1920170080 池田 匡滋  
指導教員 吉永 淳

## 【背景・目的】

フィプロニル (Fip) はフェニルピラゾール系殺虫剤であり、日本では 1996 年から現在まで農薬として使用されているが、害虫以外にも毒性を示すことが懸念されるようになった。ラットでは Fip とその代謝物であるフィプロニルスルホン (FSN) とフィプロニルスルフィド (FSD) の甲状腺毒性が確認されている。われわれは食事から Fip にばく露しているため、Fip ばく露によるヒトの甲状腺機能への影響を調査する必要がある。そのためのばく露評価の指標として血清中 Fip と FSN、FSD 濃度を候補とした。本研究では、LC-MS/MS を使用した血清中 Fip、FSN、FSD の定量分析法を確立することを目的とした。

## 【実験方法】

機器分析条件の最適化...LC-MS/MS は Waters 社製 Xevo TQ-MS を使用した。分析条件の最適化には、Fip、FSN、FSD を標準物質として、安定同位体標識した Fip (13-C Fip) を内部標準として、それぞれアセトニトリル (ACN) 中濃度 1 µg/mL となるように調製し、使用した。目的物質の検出イオン強度に大きく影響するキャピラリー電圧、コーン電圧、コリジョンエネルギーを最適化するために、各パラメーターを変化させ、検出イオン強度が最も大きくなった値を採択した。また、定量下限濃度、検出下限濃度、検量線 (濃度範囲 1 ng/mL~10 ng/mL) の直線性を確認した。

血清前処理の最適化...血清から測定時の妨害物質 (マトリックス) を除去することを目的に、除タンパクと固相抽出を前処理とした。液状コントロール血清 I ワコー C&C に各成分が 100 ng/mL となるように標準液を添加した試料を使用して、前処理過程での回収率とマトリックス効果を確認した。

## 【結果と考察】

LC-MS/MS の各種電圧等パラメーターはそれぞれの物質ごとに適切な値を見出した。定量下限濃度 (10×S/N) は Fip で 24 pg/mL、FSN で 30 pg/mL、FSD で 5.0 pg/mL であった。この濃度は LC-MS/MS でヒト血清中 Fip とその代謝物の濃度を測定した既往の研究で報告されている定量下限濃度より低いものとなった。内部標準法を使用して作成した検量線はすべての分析対象物質で直線性があった ( $R^2 > 0.998$ )。前処理過程の回収率は Fip で 86%、FSN で 93%、FSD で 97%、13-C Fip で 90% であった。マトリックス効果によって感度が Fip は 69%、FSN は 19%、FSD は 20%、13-C Fip は 66% 上昇し、Fip とその代謝物でマトリックス効果の程度が異なった。血清試料の各対象物質の対 13-C Fip ピーク面積比の、標準液のそれに対する比率は、Fip は 1.0、FSN は 0.71、FSD は 0.72 となり、13-C Fip で Fip のマトリックス効果による

感度変化は補正できたが、FSN と FSD は十分に補正できなかった。FSN と FSD のマトリックス効果を補正し、真度を向上させるために、血清と標準液の対 13-C Fip ピーク面積比から補正係数を求めて、定量に使用することとした。

血清中濃度 100 ng/mL となるように標準液を添加し、図のフローに従って試料の前処理を行い、13-C Fip を内部標準として定量した。Fip は 97 ng/mL となり、係数で補正した FSN と FSD はそれぞれ 90 ng/mL、93 ng/mL となった。FSN と FSD をより正確に分析するには安定同位体標識した FSN と FSD の使用が必要になることが分かった。

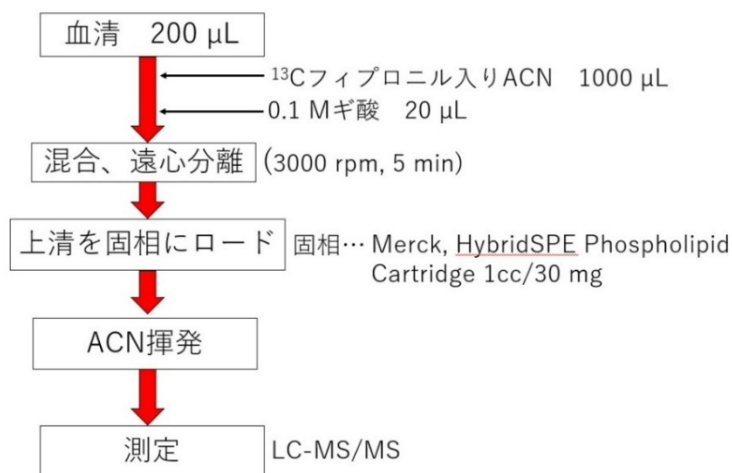


図 前処理のフロー