

# LC-MS/MS を用いた魚介類中有機スズ化合物の分析

環境衛生科学研究所 ○宮城島 利英、柏木 久輝、小郷 沙矢香、堀池 あずさ

## 【要旨】

トリブチルスズ化合物及びトリフェニルスズ化合物（以下、有機スズ化合物）は、船底塗料や漁網防汚剤として使用されていたが、哺乳動物の生殖や代謝機能に毒性を引き起こすことが分かっており、ヒトに潜在的な健康リスクがあることが懸念されている。化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律により有機スズ化合物の製造や使用などの規制が行われ、魚介類中の有機スズ化合物の含有量は減少傾向にあるが、低レベルでの汚染は持続している<sup>1)</sup>。有機スズ化合物が残留している食品の摂取は、ヒトの主要な暴露経路の1つであるため、県では食品として流通する魚介類のモニタリングを継続して行っている。

これまで有機スズ化合物の分析は、国の通知法<sup>2)</sup>に基づき、GC-FPD を用いた方法（以下、現行法）で行っていたが、前処理工程は誘導体化と精製が必要であり、操作が複雑でモニタリング検査の前処理の完了に2日間を要していた（図1）。そこで、測定にLC-MS/MSを用いて、誘導体化も精製も必要としない簡便で迅速な試験法について検討したので報告する。

## 【方法】

### 1 対象

塩化トリ n-ブチルスズ（以下、TBT）及び塩化トリフェニルスズ（以下、TPT）を測定対象とした。

### 2 標準品

TBT 及び TPT は富士フィルム和光純薬(株)製、塩化トリブチルスズ-d<sub>27</sub>（以下、TBT-d<sub>27</sub>）及び塩化トリフェニルスズ-d<sub>15</sub>（以下、TPT-d<sub>15</sub>）はセントラル薬品(株)製の標準品を用いた。

### 3 装置及び分析条件

#### 1) LC 条件

LC : Waters社製 Acquity UPLC H-class、カラム : Agilent社製 Poroshell 120 EC-C18 (φ 4.6mm x 100mm、2.7 μm)、カラム温度 : 40°C、流速 : 0.3 mL/min、試料注入量 : 2.0 μL、移動相 : 水 : メタノール : 1%ギ酸水溶液 (20:70:10)

#### 2) MS 条件

MS : Waters社製 Xevo TQ-S micro、測定モード : MRM (多重反応モニタリング)、イオン化モード : ESIポジティブ、ソース温度 : 150°C、脱溶媒温度 : 500°C、脱溶媒ガス流速 : 1,000L/hr、コーンガス流量 : 50L/hr

表1 各成分のMRM条件

化合物名	保持時間 (min)	プリカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)	コーン電圧 (V)	コリジョンエネルギー (V)
TBT	5.4	291.1	178.7	36	10
TPT	3.9	351.0	196.7	40	30
TBT-d <sub>27</sub>	5.2	318.3	189.7	38	14
TPT-d <sub>15</sub>	3.8	366.1	201.6	90	30

各成分について特異的なプリカーサーイオンとプロダクトイオンを選択し、コーン電圧とコリジョンエネルギーを表1のとおり設定した。

### 4 前処理方法

粉碎均一化した試料 5.0g にサロゲート内標準として 1 μg/mL TBT-d<sub>27</sub> 及び TPT-d<sub>15</sub> 混合標準液を 0.5mL を添加し、メタノール 10mL、塩化ナトリウム 10g 及び 3N 塩酸 150mL を加えてホモジナイズした。エーテル : ヘキサン (6:4) 混合溶液 100mL を加えて 5 分間振とう後に遠心分離

(6000rpm, 10分) してエーテル：ヘキサン層を分取する操作を2回行い、分取したエーテル：ヘキサン層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した後、減圧乾固した。残留物をメタノールで溶解し50mLにメスアップしたものを0.2 $\mu$ mメンブランフィルターでろ過し、LC-MS/MS試験溶液とした(図1)。

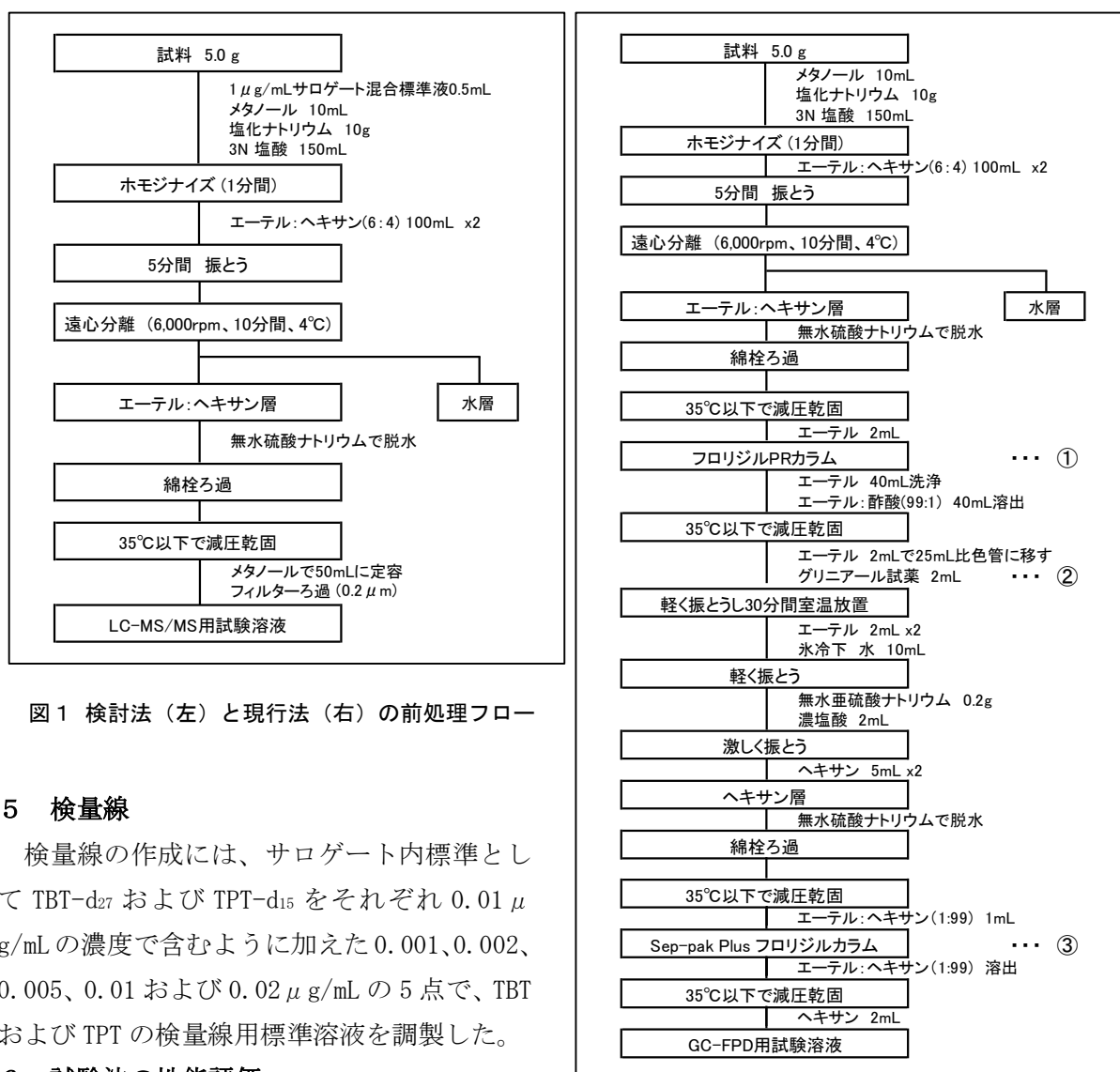


図1 検討法 (左) と現行法 (右) の前処理フロー

## 5 検量線

検量線の作成には、サロゲート内標準として TBT-d<sub>27</sub> および TPT-d<sub>15</sub> をそれぞれ 0.01  $\mu$ g/mL の濃度で含むように加えた 0.001、0.002、0.005、0.01 および 0.02  $\mu$ g/mL の 5 点で、TBT および TPT の検量線用標準溶液を調製した。

## 6 試験法の性能評価

試験法の性能評価をするため添加回収試験 (n=5) を行い、妥当性評価ガイドライン<sup>3)</sup>を参考に、真度、併行精度及び選択性の性能パラメーターを評価した。試料は、当所によく搬入されるカンパチ、ワラサ及びアジを用いた。

試料 5.0g に TBT 及び TPT が 0.02  $\mu$ g/g となるように混合標準溶液を添加し、30 分間放置後に 4 のとおり前処理を行った。

### 【結果および考察】

#### 1 検量線

標準溶液 (0.001~0.02  $\mu$ g/mL) 5 点による検量線は、TBT 及び TPT とともに良好な直線性 (TBT:R<sup>2</sup>=0.9998、TPT:R<sup>2</sup>=0.9999) を示した。また、本法で設定した定量限界 0.02  $\mu$ g/g に相当する標準溶液 0.002  $\mu$ g/mL のピーク S/N 比は、TBT 及び TPT とともに 10 以上であることを確認できた(図2)。

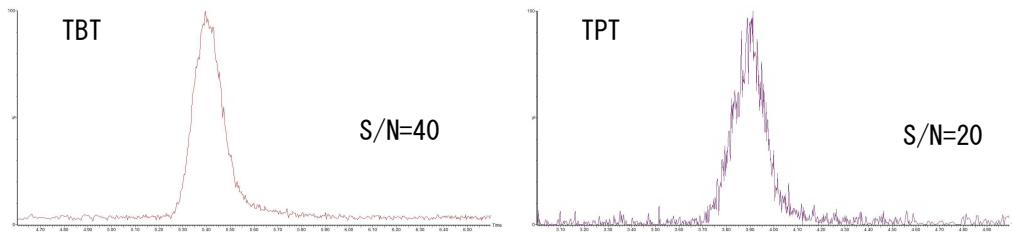


図2 定量限界濃度 (0.002  $\mu$ g/mL) 溶液のLC-MS/MS クロマトグラム

## 2 添加回収試験

添加回収試験の真度と併行精度の結果を表2に示す。真度は91～101%、併行精度は1.5～9.6%、サロゲート回収率は66～84%であり、全ての魚種で目標値（真度：70～120%、併行精度：15%未満、サロゲート回収率：40%以上）を達成した。

表2 添加回収試験 (n=5) の真度及び併行精度

魚種	化合物	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	サロゲート回収率 (%)
カンパチ	TBT	101	9.6	66
	TPT	99	1.5	69
ワラサ	TBT	95	2.4	79
	TPT	98	4.7	83
アジ	TBT	99	1.6	82
	TPT	91	3.5	84

また、選択性の評価として、ブランク試料につ

いて定量を妨害するピークの有無を確認したところ、各ブランク試料のピーク面積は、定量限界濃度のピーク面積の1/3未満であったため、選択性は適合となった。

カンパチのサロゲート回収率は目標値以上であったが、TBT-d<sub>27</sub> 及び TPT-d<sub>15</sub> ともに60%台と、他種と比べてやや低い結果となった。回収率に影響を与える要素として、抽出過程のロス等が挙げられる。今回抽出液をメタノールに転溶した時、ワラサとアジはメタノールに溶解できない夾雑物が析出したが、カンパチには析出が見られず透明だった。これは、魚肉の脂質量の差等が抽出効率に影響を及ぼしていると推察され、相関性については今後検証していく必要があるが、試験法の性能評価パラメーターはすべて目標値を達成したことから、有機スズ化合物の迅速試験法として有効であると考えられた。

## 3 検討法と現行法の比較

現行法には誘導体化 (図1-②) と2回の精製 (図1-①, ③) の工程が含まれており、作業にかかる時間に加え、誘導体化で使用するグリニャール試薬の扱いにくさへの対応や、精製に使用するオープンカラムの充填作業 (図1-①) といった煩雑で技量を求められる操作が必要である。今回検討した方法は、誘導体化と精製を省略できたことから、簡易な操作で前処理が可能となり所要時間が半分以下になるだけでなく、検体測定にかかる費用も大きく削減することができた。

## 4 まとめ

LC-MS/MS を使用して有機スズ化合物の迅速試験法を検討した。現行法で必要であった誘導体化と精製を省略した簡便で迅速な前処理方法を構築し、性能評価を行ったところ全ての魚種において目標値を達成したことから、本法は日常のモニタリング検査業務に十分適応でき、今後も有機スズ化合物の魚介類の残留実態の把握に貢献できると考えられる。

### 【参考文献】

- 1) 林真輝他: 輸入水産物におけるトリブチルスズ及びトリフェニルスズ化合物の含有量調査 (平成19年度～平成26年度), 東京都健康安全センター年報, 66, 217-222, (2015)
- 2) 魚介類中の有機スズ化合物について 別添2 (平成6年2月25日衛乳第20号)
- 3) 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン (平成19年11月15日食安発第1115001号)