

下水汚泥中に含まれる医薬品類の分析に関する検討

京都大学大学院工学研究科 学生会員 ○成宮 正倫、中田 典秀、正会員 山下 尚之、正会員 田中 宏明
 帝人エコ・サイエンス（株） 佐藤 和志、末岡 峯数、大岩 俊雄

1. はじめに

近年の質量分析計の発展にともない環境中に低濃度で存在する物質の測定が可能となったことを背景に、水環境中の新規微量汚染物質として、医薬品や日用品由来の化学物質（以下、医薬品類と総称する）に注目が集まっている。河川や下水処理場において医薬品類の実態調査がさかんに進められてきており、溶存態のみを分析対象とした報告例がその大半を占めるが、懸濁態を分析対象とした報告も僅かながらなされ始めている。懸濁態試料を対象とする場合、懸濁態に収着している医薬品類を抽出する工程が必要となるため、溶存態試料に比べ分析が困難であり、また、標準物質を添加した回収率確認実験において 100%からの乖離が報告されている^{1)~3)}。そこで、本研究では、懸濁態試料の分析において、回収率が 100%から乖離する原因が前処理・測定のどの工程にあるのかを明らかにすることを目的として、Okuda et al.¹⁾の分析法を参考に下水汚泥中の懸濁態試料を対象とした添加回収実験を行った。

2. 方法

本研究では、Okuda et al.¹⁾が対象としていた 66 物質のうち、向神経剤 phenobarbital を除く 65 物質を対象とした。分析フローは図-1 に示した。懸濁態試料の分析方法は、Okuda et al.¹⁾による方法を参考とし改良して行った。すなわち、生物反応槽の活性汚泥を遠心分離・凍結乾燥することにより得た懸濁態試料を溶媒抽出し、抽出液を超純水で希釈後、Oasis HLB（Waters）により固相抽出を行い、液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計（LC/MS/MS:LCにはAgilent 1100 series（Agilent Technologies）、MS/MSにはAPI-4000（Applied Biosystems）をそれぞれ使用）により測定を行った。なお、溶媒抽出には、pH2 の超純水を用いた高速溶媒抽出法（pressurized liquid extraction; PLE）、pH4 の超純水：メタノール（1：1）を用いた PLE、pH11 の超純水：メタノール（9：1）を用いた超音波抽出法（ultrasonic solvent extraction; USE）を物質により使い分けた。図-1 に示すように、分析の工程で試料を分取・標準物質を添加した試料を測定することで、以下の（式-1）～（式-4）で定義する抽出効率（溶媒抽出の工程）、操作効率（固相抽出から測定試料作成までの工程）、イオン化効率（LC/MS/MS による測定時）、絶対検量線法による回収率をそれぞれ算出した⁴⁾。

$$\text{イオン化効率(\%)} = \{(C_2 - C_1) / \alpha\} \times 100 \quad (\text{式-1})$$

$$\text{操作効率(\%)} = \left(\frac{C_3 - C_1}{\alpha} \times 100 \right) / \left(\frac{\text{イオン化効率(\%)}}{100} \right) \quad (\text{式-2})$$

$$\text{抽出効率(\%)} = \left(\frac{C_4 - C_1}{\alpha} \times 100 \right) / \left(\frac{\text{イオン化効率(\%)}}{100} \times \frac{\text{操作効率(\%)}}{100} \right) \quad (\text{式-3})$$

$$\begin{aligned} \text{回収率(\%)} &= \{(C_4 - C_1) / \alpha\} \times 100 \\ &= \frac{\text{イオン化効率(\%)}}{100} \times \frac{\text{操作効率(\%)}}{100} \times \frac{\text{抽出効率(\%)}}{100} \times 100 \quad (\text{式-4}) \end{aligned}$$

ここで、 $C_1 \sim C_4$ は図-1 に示した各測定試料の絶対検量線法による算出濃度、 α は標準物質添加濃度である。また、抽出効率、操作効率、イオン化効率と回収率の間には（式-4）で表される関係があり、抽出効率、操作効率、イオン化効

率がいずれも 100%であれば前処理から測定までのどの工程においても損失等がなく、回収率が 100%となる。

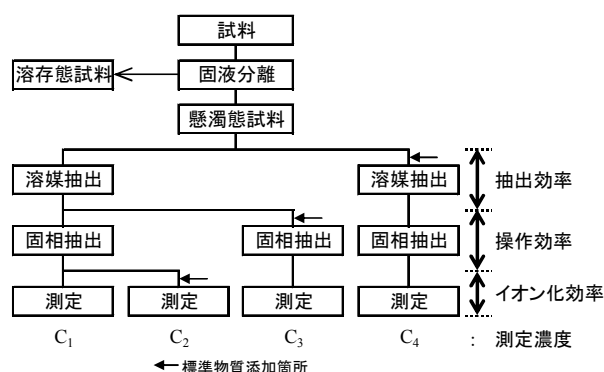


図-1 本研究における分析フロー

キーワード 医薬品類、下水汚泥、懸濁態、抽出、回収率

連絡先 京都大学大学院工学研究科附属流域圏総合環境質研究センター

〒520-0811 滋賀県大津市由美浜 1-2 TEL,FAX 077-527-6329

3. 結果および考察

表-1 に、活性汚泥中懸濁態を対象にした添加回収実験における回収率と抽出効率、操作効率、イオン化効率の算出結果を示した。なお、表-1 には、3 組の(C₁, C₄)から算出した回収率(n=3)の変動係数が20%未満であった44 物質を取り上げた。また、抽出効率、操作効率、イオン化効率については、「+」などの記号で表記した(表-1 注釈参照)。この結果から、44 物質中 5 物質を除く全ての物質で操作効率が80~120%の範囲に収まった。つまり、固相抽出から測定試料作成までの操作工程における対象物質の損失は一部の物質のみに限られた。回収率が120%を超えた2 物質は、抽出効率やイオン化効率が150%を超えており、溶媒抽出時における物質の安定性などに問題があったこと、夾雑物質によるイオン化抑制でなく促進が生じていたこと、が推測される。回収率が80~120%の範囲に収まった物質は、抽出効率、操作効率、イオン化効率ともに80~120%の範囲にあり、いずれの分析工程でも損失はみられなかった。回収率が60~80%の間の物質は、抽出工程における損失により回収率が低下したと推察される。一方、回収率が60%より低い17 物質は、抽出効率とイオン化効率のどちらか、あるいは両方が80%未満となっていた。したがって、回収率が低い原因は、主として溶媒抽出の工程とLC/MS/MS 測定時のイオン化のどちらか、あるいは両方にあることが示唆された。よって、懸濁態試料の測定濃度値に補正を行う場合には、溶媒抽出から測定までの全ての工程を考慮した補正を行う必要があることが明らかとなった。このため、内標準法あるいは標準添加法を採用する必要がある。

4. まとめ

活性汚泥中の懸濁態試料を対象に添加回収実験を行い、回収率を溶媒抽出の工程(抽出効率)、固相抽出を中心とした操作工程(操作効率)、LC/MS/MS による測定時(イオン化効率)

の3つに分けて評価した結果、回収率が100%から乖離する原因は、主として抽出効率とイオン化効率にあることが明らかとなった。また、イオン化効率に比べ抽出効率の方が80%未満の値を示す物質数が多かった。したがって、内標準法あるいは標準添加法を採用する必要がある。今後は、懸濁態試料を対象にした分析方法の精度をさらに向上させるため、特に抽出方法の効率化と夾雑物質の除去を検討する必要があると考えられる。

5. 謝辞

本研究を行うにあたりまして採水にご協力いただきました下水処理場関係者に感謝の意を表します。なお、本研究は、日本学術振興会、国土交通省から一部助成を受けて実施したものです。

参考文献

- 1) Okuda et al., Environment International, 2009. (in press)
- 2) Göbel et al., Journal of Chromatography A, Vol.1085, pp.179-189, 2005.
- 3) Lindberg et al., Environmental Science and Technology, Vol.39, pp.3421-3429, 2005.
- 4) 小西ら、環境工学研究論文集、第43巻、pp.73-82、2006.

表-1 回収率と3つの効率

物質名	回収率 (%)	抽出効率	操作効率	イオン化効率
Levofloxacin	382	++	—	++
Bezafibrate	149			++
Chloramphenicol	117			
Lincomycin	97			
Caffeine	93			
Ibuprofen	88			
Fenoprofen	88			
DEET	85			
Theophylline	83			
Isopropylantipyrine	81			
Primidone	79			
p-Phenylphenol	77			
Naproxen	77			
Pirenzepine	73	—		
Indomethacin	73	—		
Diclofenac	73			
Tylosin	72	—		
Ketoprofen	71	—		
Furosemide	69	—		
Griseofulvin	68	—		
Ceftiofur	68	—		
Novobiocin	66	—		
Carbamazepine	66	—		
Ethenzamide	65			—
Carbazochrome	64			
Sulfadimethoxine	64			
2-QCA	61	—		
Acetaminophen	55		—	
Mefenamic acid	52	—		
Sulpiride	49	—		
Disopyramide	47	—		
Metoprolol	44	—		—
Antipyrine	42	—		—
Sulfamethoxazole	38	—		—
Clofibric acid	33	—	—	
Trimethoprim	31	—	—	—
Nalidixic acid	30	—	—	
Sulfadimazine	28	—		—
Cyclophosphamide	27	—	—	
Sulfamerazine	26	—		—
Salinomycin	25		+	—
Sulfamonomethoxine	24	—		—
Oxytetracycline	13	—	—	++
Salbutamol	11	—	—	+

++ >150% + 120-150% 無印 80-120% - 50-80% -- <50%