

N-12 LC-MS/MS による環境水中の医薬品の多成分一斉分析

ムラタ計測器サービス株式会社 ○宝輪 勲

小西千絵

京都大学大学院工学研究科

田中宏明

1. はじめに

医薬品は摂取後の排泄物などから環境中に放出され、下水処理場でも分解されずに残留している可能性がある。また生理学的特性をもつために生態毒性が懸念されることから、近年これらに対する関心が高まっており、その調査研究が行われている。しかしそのほとんどが欧米における報告であり、わが国では少ない。

本研究では河川水・下水処理場放流水中の医薬品を対象とした固相抽出・LC-MS/MS による多成分一斉分析法の開発を試みた。

2. 方法

2. 1 対象物質

分析対象物質には、人用に使用される解熱鎮痛剤、抗てんかん剤、気管支拡張剤、防虫剤、不整脈用剤等さまざまな用途の医薬品を選定し、動物用医薬品としては抗生物質やサルファ剤を選定した。

2. 2 前処理

試料 500ml をガラス繊維ろ紙 (Whatman GF/F, 粒子保持能 $0.7\mu\text{m}$) でろ過し、ろ紙上の残渣はメタノールを 5ml 加えて超音波で 10 分間抽出した。ろ液は塩酸を用いて pH

を 2 に調整し、固相カートリッジ (Waters 社製 Oasis HLB plus) に通水した。吸引・窒素通気をそれぞれ 30 分間行い、カートリッジを乾燥させた後、メタノール 5ml で溶出し、残渣の抽出液とあわせた。抽出液を窒素吹き付けにより乾固直前まで濃縮した後、アセトニトリル / 水 = 1 / 4 で 1ml に定容した。これを 3000rpm で 10 分間遠心分離し、上澄み液を LC-MS/MS 測定試料とした。

2. 3 測定

対象とした物質は親水性の高い物質が多いため分離には LC を用い、また検出には多成分一斉分析の際に優れた性能 (選択性) を示すタンデム質量分析計を用いて測定を行った。測定条件は Table1 に示す。

Table 1 Instrument Condition

HPLC : Agilent 1100		
Column	Waters Sun Fire C18 (2.1 × 150mm, 5 μ m)	
Column	25°C	
Temperature		
Mobile phase (A)	Distilled water (0.1% formic acid)	
Mobile phase (B)	Acetonitrile (0.1% formic acid)	
Gradient program	Time / min	Bch ,%
	initial	10
	1	30
	14	60
	20	60
	20.1	10
	30	10
Flow rate	0.2 ml / min	
Injection volume	5 μ l	
MS/MS : TSQ Quantum Discovery MAX (Thermo Electron)		
Ionization mode	ESI-Positive	
Spray Voltage	1000 V	
Sheath gas	39	
Aux gas	10	
Capillary	300°C	
Temperature		

3. 分析性能

3. 1 検量線

Table 1 に示した測定条件を用いて分析対象物質の混合標準溶液を測定し、検量線を作成した。12 物質において $0.1 \sim 10 \mu\text{g} / \text{l}$ の範囲で相関係数が 0.999 以上の良好な直線性が得られた。また、標準溶液 $1 \mu\text{g} / \text{l}$ を測定した際のクロマトグラムを Fig. 1 に示す。

3. 2 添加回収試験

純水に混合標準溶液を添加し、前処理操作を 5 回繰り返して定量した結果から検出下限値 (LOD)、定量下限値 (LOQ)、平均回収率及び相対標準偏差を算出した。結果を Table 2 に示す。標準溶液の添加濃度は各対象物質が $1 \text{ ng} / \text{l}$ 、もしくは $1 \text{ ng} / \text{l}$ では検出が不安定である物質については $10 \text{ ng} / \text{l}$ となるように添加した。

14 種の化合物において、定量下限値が $5 \text{ ng} / \text{l}$ 以下、かつ純水における回収率が 80~120% であった。このことから本法が超微量の医薬品の多成分一斉分析に有用であることがうかがえる。ただし、今回は実試料におけるマトリックスの影響を考慮していないため、今後は実試料における添加回収試験を行わなければならない。

Table 2 Analytical performance* of the method used in this study

#	Analyte	LOD ng / l	LOQ ng / l	Recovery %	R.S.D. %
1	Clenbuterol	0.15	0.50	83.5	6.0
2	Metoprolol	0.41	1.36	88.2	15.5
3	Disopyramide	0.18	0.60	106.9	5.6
4	Propranolol	0.19	0.65	88.6	7.3
5	Antipyrine	0.18	0.60	75.8	7.9
6	Sulfadimazine	0.18	0.60	98.7	6.1
7	Ifenprodil	0.18	0.60	82.7	7.2
8	Sulfamonomethoxine	0.41	1.36	106.1	12.8
9	Ethenzamide **	0.55	1.82	86.9	2.1
10	Cyclophosphamide	0.46	1.54	125.4	12.3
11	Sulfamethoxazole	0.35	1.18	112.5	10.5
12	Sulfadimethoxine	0.21	0.68	91.0	7.5
13	Benzylpenicillin	0.33	1.11	95.3	11.7
14	Carbamazepine	0.16	0.52	126.6	4.1
15	Isopropyl antipyrine	0.11	0.38	87.8	4.3
16	N,N-diethyl-m-tolamide **	1.54	5.13	92.4	5.6
17	Ketoprofen **	0.98	3.28	117.1	2.8
18	Crotamiton	0.41	1.36	117.0	11.7

* Spiking level, $1 \text{ ng} / \text{l}$; ** Spiking level, $10 \text{ ng} / \text{l}$

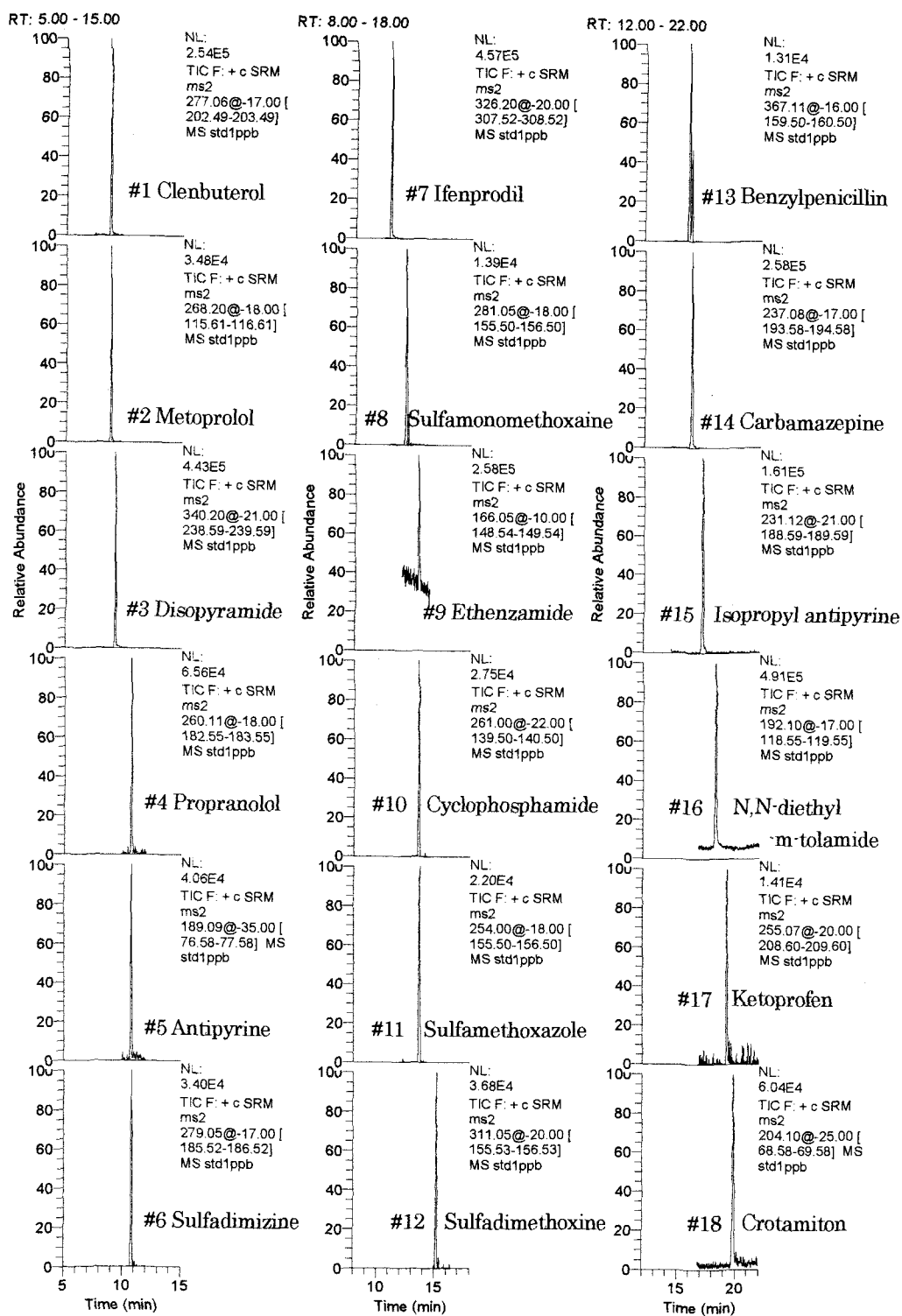


Fig. 1 SRM Chromatogram of target compounds in standard solution