

水試料中医薬品類の固相抽出-LC-MS/MS 分析法の検討

ムラタ計測器サービス(株) ○宝輪勲、小西千絵、新倉伸次、倉重千恵子
(独)土木研究所 小森行也、南山瑞彦

Examination of Solid Phase Extraction and LC-MS/MS Method for Pharmaceuticals in Aqueous Samples, by Isao HOUWA, Chie KONISHI, Shinji NIKURA, Chieko KURASHIGE (Murata Keisokuki Service Co., Ltd.), Koya KOMORI and Mizuhiko MINAMIYAMA (Public Works Research Institute)

1. はじめに

医薬品類は新たな微量汚染化学物質として注目されており、その分析法、実態調査や環境中での挙動などが近年多く報告されている。本研究では、比較的新しい抗生物質を対象とした分析方法の検討を行ったので報告する。

2. 分析方法

分析対象は水質中のリネゾリド、ムピロシム、メロペネム、セフカペンピボキシルとした。前処理は、逆相系の固相カートリッジ Oasis HLB (Waters 社製) に試料 200ml を通水した後、有機溶媒で溶出させ、乾固直前まで濃縮し、メタノール：水 = 1:1 を用いて 1 ml に定容して LC-MS/MS 測定液とした。測定は、カラムに ODS、移動相にメタノールと超純水を用いたグラジエント溶離法で HPLC 分離を行い、ESI-positive でイオン化して MS/MS 測定した。

3. 検討と結果

1) 固相抽出における溶出溶媒の検討

溶出溶媒にメタノール、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、アセトン：ジクロロメタン = 1:1、アセトン：メタノール = 1:1 を用いて、それぞれ回収率を確認した。リネゾリドはすべての溶媒で良好な結果が得られたものの、メロペネムはジクロロメタン、酢酸エチル及びアセトン：ジクロロメタンではほとんど溶出されず、アセトン 6ml でも溶出が不十分であった。すべての物質において回収率が 80~120% と良好な結果が得られたのはメタノール及びアセトン：メタノール = 1:1 であった。

2) 固相抽出における塩析効果の検討

純水における添加回収試験を実施したところ、メロペネムの回収率は 59% であった。その要因として、メロペネムの親水性が比較的高いことから固相充填剤に十分に吸着できていない事が考えられた。そこで通水前の試料に塩化ナトリウム 6g を添加し、塩析効果による回収率への影響を確認したところ、回収率が 93% となり、改善が確認できた。また、他の 3 化合物に対する塩化ナトリウムの影響は見られなかった。

3) 定容溶媒の検討

本測定法において連続測定を実施した結果、セフカペンピボキシルにおいてのみ明らかな感度低下が確認された。そこで定容溶媒にぎ酸を 0.05% 添加した標準液と無添加の標準液を連続で交互に測定し、挙動を確認した。ぎ酸を添加しない系では、セフカペンピボキシルの感度が徐々に減少し、約 26 時間後に半分まで減少したのに対し、ぎ酸を添加した系では少なくとも 26 時間までは減少傾向はみられなかった。このことから、感度低下は化合物自身の安定性の問題であり、ぎ酸の添加が有効であることがわかった。他の化合物についてはメロペネムの感度がぎ酸を添加した系で約 20% 減少した

他は、26 時間以内では明らかな増減傾向は確認されなかった。

4) 装置検出下限値(IDL)の算出

標準液を 7 回繰返し測定して得られた標準偏差に t 値(危険率片側 5%) と 2 を乗じた値を IDL として算出した。リネゾリド、ムピロシム、メロペネム及びセフカペンピボキシルの IDL はそれぞれ、0.38, 16, 1.5 及び 1.3pg であった。

5) 実試料への適用

本法を純水、河川水及び下水処理場二次処理水に適用し添加回収試験を実施した。この際固相抽出において、塩析効果を活用し、溶出溶媒には濃縮時間が短いアセトン：メタノール = 1:1 を用いた。図 1 に標準液とこれと同濃度となるように標準を添加した二次処理水のクロマトグラムを示した。上から順にメロペネム、リネゾリド、セフカペンピボキシル及びムピロシムのクロマトグラムであり、濃度は両試料ともにそれぞれ試料換算で 0.5、0.02、0.1 及び 0.5µg/l である。

純水における回収率は 76~108% と良好な結果が得られたが、河川水においては 17~66%、二次処理水においては 11~56% と低回収率を示し、純水と実試料に違いがみられた。この際、定量方法は対象成分の抽出時における損失やイオン化抑制等を補正しない絶対検量線法を用いており、実試料中の夾雑成分が引き起こすイオン化抑制による損失が低回収率となる大きな要因と考えられた。そこでこれを補正するために、得られた測定液を分取し、濃度が段階的になるように標準液を添加して、標準添加法による定量を行った。その結果、河川水においては 90~122%、二次処理水においては 76~118% と回収率の改善が見られた。

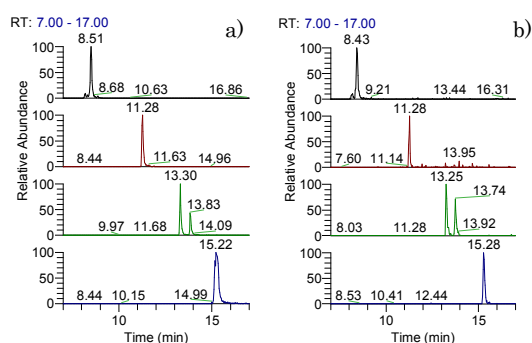


図 1 クロマトグラム a) : 標準液、b) : 二次処理水

4. まとめ

本分析法の実試料への適用において、絶対検量線法から抽出液への標準添加法に定量方法を変更することで、測定時の損失を補正することができた。しかし夾雑成分が引き起こすイオン化抑制の問題は残ったままであり、より操作の簡便な絶対検量線法の適用も踏まえて、夾雑成分を除去する前処理法の検討が今後の課題としてあげられる。