

Table 1. Analytical conditions and recovery of 105 pharmaceuticals by LC/MS and GC/MS.

No	pharmaceuticals	CAS No.	group ^a	M.W.	LC/MS (ESI) ^b					GC/MS (EI) ^c			method	LOQ ^d (ng/L)	recovery ^e		
					peak ^f	tR (min)	mode (+, -)	corn volt. (V)	monitor ion	peak ^f	tR (min)	monitor ion			1:LC/MS 2:GC/MS	Ave. \pm S.D. (%)	CV (%)
1	salicylic acid	69-72-7	A	138	Δ	14.1	-	30	137	\circ	13.6	267	209	2	2	78 \pm 3	4
2	aspirin	50-78-2	A	180	Δ	14.2	-	30	137	\circ	14.1	195	210	2	2	83 \pm 2	3
3	ibuprofen	15687-27-1	A	206	Δ	15.3	-	20	205	\circ	15.2	160	263	2	2	83 \pm 2	3
4	mepirizole	18694-40-1	A	234	\circ	18.5	+	40	235	\circ	18.4	124	234	2	10	76 \pm 3	4
5	antipyrine	60-80-0	A	188	\circ	18.5	+	30	189	\circ	18.4	188	96	2	8	85 \pm 12	14
6	isopropylantipyrine	479-92-5	A	230	\circ	19.5	+	30	231	\circ	19.4	215	230	2	2	87 \pm 2	2
7	fenopropfen	53746-45-5	A	242	\circ	20.1	-	20	241	\circ	19.6	270	314	2	2	85 \pm 2	3
8	flufenamic acid	530-78-9	A	281	\circ	20.1	-	30	280	\circ	19.6	263	353	2	1	83 \pm 3	3
9	flurbiprofen	5104-49-4	A	244	\circ	20.2	-	20	199	\circ	20.1	180	316	2	1	117 \pm 6	5
10	nabumetone	42924-53-8	A	228	Δ	21.2	+	30	171	\circ	21.1	171	228	2	2	107 \pm 7	7
11	naproxen	22204-53-1	A	230	Δ	21.3	-	20	229	\circ	21.1	185	302	2	1	100 \pm 2	2
12	diflunisal	22494-42-4	A	250	\circ	21.5	-	40	249	\circ	21.4	379	247	2	2	84 \pm 3	4
13	mefenamic acid	61-68-7	A	241	\circ	23.1	+	20	242	\circ	22.5	223	313	2	2	95 \pm 5	5
14	ketoprofen	22071-15-4	A	254	\circ	23.1	+	30	255	\circ	22.6	282	311	2	2	98 \pm 2	2
15	dichlofenac	15307-79-6	A	295	\circ	24.3	+	20	296	\circ	24.1	214	242	2	1	96 \pm 6	6
16	etodolac	41340-25-4	A	287	Δ	25.1	+	20	172	\circ	24.5	228	359	2	1	89 \pm 3	3
17	tolmetin	26171-23-3	A	257	\circ	25.3	+	30	258	\circ	25.2	212	329	2	3	91 \pm 6	6
18	fenbufen	36330-85-5	A	254	\circ	26.5	+	30	237	\circ	26.4	181	152	2	3	85 \pm 7	9
19	sulpyrine	68-89-3	A	333	\circ	3.1	+	20	218	\times	****	****	****	1	1	<4	-
20	acetaminophen	103-90-2	A	151	\circ	3.9	+	30	152	Δ	15.2, 16.5	206, 181	295, 223	1	2	50 \pm 5	10
21	salicylamide	65-45-2	A	137	\circ	10.2	+	30	138	Δ	15.1, 16.2	194, 266	176, 250	1	5	110 \pm 16	15
22	tiaramide	32527-55-2	A	357	\circ	12.9	+	30	356	\times	****	****	****	1	1	103 \pm 6	6
23	phenacetin	62-44-2	A	179	\circ	18.2	+	30	180	Δ	15.0, 16.2	236, 108	251, 179	1	1	89 \pm 9	10
24	tenoxicam	59804-37-4	A	337	\circ	18.2	+	20	338	\times	****	****	****	1	2	91 \pm 3	3
25	piroxicam	36322-90-4	A	331	\circ	23.1	+	20	332	\times	****	****	****	1	1	76 \pm 7	9
26	sulindac	38194-50-2	A	356	\circ	25.2	+	40	398	\times	****	****	****	1	5	91 \pm 9	10
27	indomethacin	53-86-1	A	358	\circ	30.9	+	30	358	\circ	32.3	139	312	1	10	69 \pm 10	14
28	acemetacin	53164-05-9	A	416	\circ	31.7	+	20	416	\times	****	****	****	1	5	73 \pm 3	4
29	clofibrate	637-07-0	B	242	\times	****	****	****	****	\circ	14.2	128	169	2	2	65 \pm 10	15
30	clofibrac acid	882-09-7	B	214	\circ	26.1	-	30	213	\circ	14.4	143	128	2	2	88 \pm 3	4
31	bezafibrate	41859-67-0	B	361	\circ	27.5	+	30	362	\circ	32.1	120	278	1	3	110 \pm 20	18
32	fenofibrate	49562-28-9	B	360	\circ	38.1	+	30	361	\circ	27.3	121	273	2	2	108 \pm 8	7
33	epinastine	108929-04-0	C	249	\circ	17.0	+	50	250	\times	****	****	****	1	2	146 \pm 5	3
34	ebastine	90729-43-4	C	470	\circ	28.8	+	50	470	\times	****	****	****	1	3	64 \pm 9	14
35	oxatomide	60607-34-3	C	427	\circ	22.7	+	30	427	\times	****	****	****	1	1	48 \pm 5	11
36	azelastine	58581-89-8	C	382	\circ	21.8	+	30	382	\times	****	****	****	1	3	90 \pm 5	6
37	ketotifen	34580-14-8	C	309	\circ	17.7	+	40	310	\circ	28.4	309	96	1	1	82 \pm 6	7
38	tranilast	53902-12-8	C	327	\circ	27.5	+	50	191	\times	****	****	****	1	4	78 \pm 9	12
39	diphenhydramine	147-24-0	C	255	\circ	19.3	+	50	167	\circ	18.3	58	165	2	2	129 \pm 15	12
40	diphenylpyraline	132-18-3	C	281	\circ	20.6	+	30	282	\circ	21.3	99	167	1	2	99 \pm 4	4
41	clemastine	14976-57-9	C	344	\circ	24.4	+	30	344	\circ	26.1	84	128	2	2	100 \pm 5	5
42	chlorphenyramine	113-92-8	C	275	\circ	14.8	+	30	275	\circ	20.1	203	167	1	5	84 \pm 12	14
43	promethazine	58-33-3	C	284	\circ	20.5	+	30	285	\circ	24.2	72	180	2	2	80 \pm 5	6
44	cyproheptadine	129-03-3	C	287	\circ	21.6	+	30	288	\circ	25.2	287	215	2	1	114 \pm 7	6
45	terfenadine	50679-08-8	C	472	\circ	26.0	+	50	472	\times	****	****	****	1	1	58 \pm 13	22
46	phenytoin	57-41-0	D	252	\circ	22.7	+	30	294	Δ	23.2, 23.6	176, 180	281, 209	1	2	81 \pm 11	13
47	carbamazepine	298-46-4	D	236	\circ	22.9	+	30	237	\circ	23.4	193	165	2	2	105 \pm 2	2
48	valproic acid	99-66-1	D	144	\times	****	****	****	****	\circ	8.4	201	174	2	2	96 \pm 5	5
49	amantadine	665-66-7	E	151	\circ	5.8	+	30	152	Δ	9.4, 11.5	94, 135	151, 177	1	2	79 \pm 5	6
50	trihexphenidyl	58947-95-8	E	301	\circ	21.2	+	30	302	\circ	23.3	98	218	1	2	135 \pm 11	8
51	enalapril	75847-73-3	F	376	\circ	18.0	+	30	377	\times	****	****	****	1	2	112 \pm 7	6
52	alacepril	74258-86-9	F	407	\circ	22.5	+	30	407	\times	****	****	****	1	2	109 \pm 7	6
53	lisinopril	76547-98-3	F	405	\circ	4.1	+	30	406	\times	****	****	****	1	4	202 \pm 9	4
54	perindopril	107133-36-8	F	368	\circ	18.6	+	30	369	\times	****	****	****	1	2	144 \pm 7	5
55	nifedipine	21829-25-4	F	346	\circ	26.3	+	30	315	\circ	27.5	284	329	1	3	150 \pm 13	9

Table 1. Analytical conditions and recovery of 105 pharmaceuticals by LC/MS and GC/MS (continued)

No	pharmaceuticals	CAS No.	group ^a	M.W.	LC/MS (ESI) ^b				GC/MS (EI) ^c			method	LOQ ^d (ng/L)	recovery ^e			
					peak ^f	tR (min)	mode (+, -)	con volt. (V)	monitor ion	peak ^f	tR (min)			monitor ion	Ave. ± S.D. (%)	CV (%)	
56	verapamil	52-53-9	F	454	○	21.3	+	30	455	×	****	****	****	1	2	93 ± 18	19
57	diltiazem	42399-41-7	F	414	○	19.6	+	30	415	○	32.3	121	150	1	2	123 ± 9	7
58	nicardipine	55985-32-5	F	479	○	21.0	+	30	480	×	****	****	****	1	2	82 ± 17	21
59	amlodipine	88150-42-9	F	409	○	20.9	+	30	409	×	****	****	****	1	2	104 ± 14	13
60	benidipine	105979-17-7	F	505	○	22.0	+	30	506	×	****	****	****	1	1	69 ± 11	16
61	nilvadipine	75530-68-6	F	385	○	30.7	-	50	384	×	****	****	****	1	2	175 ± 20	11
62	losartan	114798-26-4	F	461	○	24.2	+	30	423	×	****	****	****	1	4	62 ± 9	15
63	candesartan	139481-59-7	F	611	○	25.0	+	30	441	×	****	****	****	1	3	70 ± 13	19
64	hydralazine	86-54-4	F	160	○	3.9	+	30	201	○	17.6	185	200	1	4	<4	-
65	hydrochlorothiazide	58-93-5	F	298	○	5.0	-	30	296	×	****	****	****	1	4	101 ± 10	10
66	prazosin	19216-56-9	F	383	○	16.2	+	30	384	×	****	****	****	1	1	77 ± 9	12
67	doxazosin	74191-85-8	F	452	○	19.6	+	30	452	×	****	****	****	1	2	61 ± 9	15
68	propranolol	525-66-6	F	259	○	17.6	+	30	260	○	22.3	72	215	1	1	121 ± 11	9
69	metoprolol	37350-58-6	F	267	○	9.9	+	30	268	△	15.4, 21.1	147, 72	73, 215	1	2	152 ± 9	6
70	alprenolol	13655-52-2	F	249	○	17.6	+	30	250	○	17.6	72	205	1	1	135 ± 8	6
71	pindolol	13523-86-9	F	248	○	4.4	+	30	249	△	23.3, 24.5	133, 205	72, 73	1	2	8 ± 2	25
72	atenolol	29122-68-7	F	266	○	2.5	+	30	267	○	25.4	72	204	1	3	37 ± 16	43
73	carvedilol	72956-09-3	F	406	○	20.7	+	30	407	×	****	****	****	1	2	46 ± 10	22
74	betaxolol	63659-18-7	F	307	○	18.3	+	30	308	○	24.4	72	263	1	3	141 ± 8	6
75	methyldopa	555-30-6	F	211	○	2.4	+	30	212	×	****	****	****	1	5	<6	-
76	reserpine	50-55-5	F	609	○	22.8	+	30	610	×	****	****	****	1	2	71 ± 14	20
77	rescinnamine	24815-24-5	F	635	○	23.6	+	30	636	×	****	****	****	1	3	67 ± 14	21
78	pioglitazone	111025-04-8	G	356	○	17.3	+	50	357	×	****	****	****	1	2	110 ± 6	5
79	chlorpropamide	94-20-2	G	277	○	23.1	+	30	277	○	17.1	248	75	1	4	114 ± 10	9
80	acetohexamide	968-81-0	G	324	○	24.8	+	30	325	○	19.5	256	75	1	2	120 ± 7	6
81	tolbutamide	64-77-7	G	270	○	24.9	+	30	271	○	17.0	228	149	1	2	124 ± 9	7
82	tolazamide	1156-19-0	G	311	○	25.2	+	30	312	○	17.0	228	149	1	2	185 ± 10	5
83	gliclazide	21187-98-4	G	323	○	27.0	+	30	324	○	17.0	228	149	1	2	188 ± 10	5
84	glibenclamide	10238-21-8	G	494	○	30.6	+	30	494	×	****	****	****	1	3	143 ± 23	16
85	ateglinide	105816-04-4	G	317	○	30.9	+	30	318	○	28.0	120	205	1	1	163 ± 8	5
86	sulpiride	15676-16-1	H	341	○	3.1	+	50	342	△	36.1	98	398	1	2	110 ± 18	17
87	olanzapine	132539-06-1	H	312	○	3.3	+	50	313	○	30.3	242	213	1	3	68 ± 6	9
88	risperidone	106266-06-2	H	410	○	16.6	+	50	411	×	****	****	****	1	3	73 ± 4	5
89	zolpidem	82626-48-0	H	382	○	16.6	+	50	308	○	31.3	235	307	1	3	117 ± 5	4
90	quetiapine	111974-69-7	H	383	○	18.5	+	30	384	×	****	****	****	1	3	87 ± 3	4
91	medazepam	2898-12-6	H	271	○	19.4	+	50	271	○	24.0	207	242	1	3	92 ± 3	4
92	midazolam	59467-70-8	H	326	○	19.3	+	50	326	○	28.5	310	326	1	5	87 ± 3	4
93	haloperidol	52-86-8	H	376	○	20.6	+	50	376	△	33.2	224	237	1	2	83 ± 4	4
94	paroxetine	61869-08-7	H	329	○	21.5	+	50	330	△	28.3	192	329	1	2	96 ± 4	4
95	flvoxamine	54739-18-3	H	318	○	22.1	+	30	319	○	21.1	212	106	1	4	103 ± 4	4
96	nitrazepam	146-22-5	H	281	○	23.7	+	50	282	○	27.5	352	306	1	3	109 ± 1	1
97	tofisopam	22345-47-7	H	382	○	23.5	+	50	383	△	34.3	382	326	1	1	100 ± 3	3
98	lorazepam	846-49-1	H	321	○	24.9	+	30	321	○	27.2	429	347	1	3	96 ± 4	4
99	triazolam	28911-01-5	H	343	○	25.6	+	50	343	△	34.4	313	342	1	2	103 ± 6	5
100	flunitrazepam	1622-62-4	H	313	○	26.1	+	50	314	○	29.1	285	312	1	4	112 ± 3	3
101	brotizolam	57801-81-7	H	394	○	26.2	+	50	395	△	35.1	394	245	1	3	87 ± 2	2
102	etizolam	40054-69-1	H	343	○	26.2	+	50	343	△	34.4	342	313	1	3	116 ± 4	4
103	clotiazepam	33671-46-4	H	319	○	26.2	+	50	319	○	27.5	289	318	1	2	97 ± 5	5
104	diazepam	439-14-5	H	285	○	27.6	+	50	285	○	26.5	256	283	1	3	100 ± 2	2
105	ethyl loflazepate	29177-84-2	H	361	○	29.5	+	50	361	○	27.4	359	432	1	2	110 ± 4	3

a A:analgesic, B:hyperlipemic, C:antiallergic, D:antiepily, E:antiparkinsonism, F:high blood pressure, G:diabetic, H:psychotropic.

b injection volume: 10µL

c after treatment with BSTFA, injection volume: 2µL

d S/N=10

e sample: Tamagawa River water 500mL, spiked concentration: 100 ng/L (n=5)

f ○: one peak and high sensitivity, △: more than one peak and/or low sensitivity, ×: no peak

固相に保持されないことが原因であった。

高脂血症薬、抗アレルギー薬、抗てんかん薬、抗パーキンソン薬 (表1, No.29~50) について、GC/MSおよびLC/MS法ともに検量線の直線性は良好であり、定量下限値は1000倍濃縮時の水試料換算値で1-4 ng/Lで、これまでに報告されている河川水中医薬品の分析法の定量下限値と同程度であった。本分析法での対象医薬品の添加回収率について、オキサトミド48%、テルフェナジン58%と他の医薬品に比べ低い結果であったが、その他の回収率は64%以上であった。オキサトミドとテルフェンジンの回収率は他に比べ低かったが、その変動は比較的少なかったため、本法で測定し、検出された場合には標準添加法により定量することとした。また、回収率が120%を超えるエピナスチン、ジフェンヒドラミン、トリヘキシフェニジル等については、検出された場合には標準添加法により定量することとした。

高血圧治療薬および糖尿病治療薬 (表1, No.51~85) について、GC/MSおよびLC/MS法ともに検量線の直線性は良好であり、定量下限値は1000倍濃縮時の水試料換算値で1-4 ng/Lで、これまでに報告されている河川水中医薬品の分析法の定量下限値と同程度であった。回収率については、ヒドララジン、ピンドロール、メチルドーパは8%未満であったことから、河川水や下水処理場における実態調査では測定対象外とすることとした。一方、回収率が120%を超えるリシノプリル、ジルチアゼム、ペリンドプリル、ニフェジピン、ニルバジピン、メトプロロール、アルプレノロール、ベタキソール、トラザミド、グリクラジド、グリベンクラミド、ナテグリニド等については、検出された場合には、標準添加法により定量することとした。

精神科用薬 (表1, No.86~105) については、LC/MS法の検量線は良好であり、定量下限値は1000倍濃縮時の水試料換算値で1-5 ng/Lで、これまでに報告されている河川水中医薬品の分析法の定量下限値と同程度であった。回収率について、オランザピンの68%を除き、良好な回収率が得られた。

ま と め

河川水中の医薬品を固相抽出法により抽出・濃縮後、

GC/MSまたはLC/MSで定量する分析法について検討した。スルピリン、ヒドララジン、ピンドロール、メチルドーパを除き、101成分のスクリーニングに適用可能な方法が開発できた。ただし、回収率が120%を超えるもの、または80%に満たないものについては、標準添加法により定量する必要があることが示唆された。

謝 辞

本研究の一部は環境省地球環境保全等試験研究費 (公害防止等に係るもの) 「水道水源等における生理活性物質の測定と制御に関する研究」、平成16年度~平成18年度、の助成を受けて実施された。

文 献

- 1) Ternes, T.: Assessment of technologies for the removal of pharmaceuticals and personal care products in sewage and drinking water facilities to improve the indirect potable water reuse (Poseidon), contact No. EVK1-CT-2000-00047, 2004.
- 2) Environmental Risk Assessment of Pharmaceuticals (ERAPharm), Project no. SSPI-CT-2003-511135, 2007.
- 3) Daughton, C. G. and Ternes, A. T.: *Environ. Health Perspect.*, **107**, 907-938, 1999.
- 4) Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B. and Buxton, H. T.: *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 1202-1211, 2002.
- 5) 清野敦子, 益永茂樹, 古荘早苗: 日本水環境学会誌, **27**, 685-691, 2004.
- 6) Nakada, N., Komori, K. and Suzuki, Y.: *Environ. Sci.*, **12**, 359-369, 2005.
- 7) 国包 章一: 水道水源等における生理活性物質の測定と制御に関する研究 (環境省地球環境保全等試験研究), 平成16年度~18年度.
- 8) 杉下寛樹, 長尾亮治, 山下尚之, 他: 環境衛生工学研究, **21**, 23-24, 2007.
- 9) Nakada, N., Kiri, K., Shinohara, H.: *Environ. Sci. Technol.*, **42**, 6347-6353, 2008.

Analytical Methods for Pharmaceuticals in River Water

Toshinari SUZUKI^{*}, Kumiko YAGUCHI^{*}, Masayuki KURITA^{*}, Tetsuji NISHIMURA^{**} and Akio OGATA^{*}

Analytical methods for pharmaceuticals in river water using GC/MS and LC/MS after solid-phase extraction were investigated. One hundred and five pharmaceuticals (analgesics, hyperlipemics, antiallergics, antiepilepsy drugs, antiparkinsonism drugs, high blood pressure drugs, diabetic drug, and psychotropic drugs) were examined. Sulpyrine, hydralazine, pindolol, and methyldopa could not be investigated using the analytical methods because the recoveries of these compounds from river water were lower than 8% at the fortified concentration of 100 ng/L. The others compounds could be assessed using these methods; however, the pharmaceuticals for which the recoveries are higher than 120% or lower than 80% should be determined by a standard addition method.

Keywords: pharmaceutical, river water, analysis, GC/MS, LC/MS

^{*} Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

^{**} National Institute of Health Science
1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501 Japan

多摩川流域の下水処理場における医薬品の存在実態

鈴木 俊也^{*}, 小杉 有希^{*}, 保坂 三継^{*}, 矢口 久美子^{*}, 小縣 昭夫^{*}, 西村 哲治^{**}, 中江 大^{*}

多摩川流域の下水処理場の水試料を対象に医薬品の存在実態調査を実施した。調査対象の医薬品約 100 種類のうち、流入下水及び処理下水からそれぞれ 38 及び 35 医薬品が検出された。それらの検出濃度は流入下水及び処理下水でそれぞれ数十 ng/L から十 µg/L 及び数十 ng/L から数 µg/L の範囲であった。解熱鎮痛消炎剤の下水処理場への負荷量は冬季に著しい増加が認められたが、高脂血症薬や高血圧症治療薬などの負荷量の変動は小さく、服用の実態に応じた結果が得られた。下水処理場から多摩川水系への負荷量は調査期間中ほぼ一定であり、河川水中の濃度は降雨などによる河川水量の影響を強く受けることが示唆された。スリダク、アマンタジン、エピナスチン、メトプロロール、プロプラノロール、ロサルタン、スルピリド、ハロペリドロール、フルボキサミン及びロラゼパムの除去率は 20%未満と他の医薬品に比べ低く、微生物による分解性が低いためと推察された。

キーワード：医薬品、下水処理場、分析、GC/MS、LC/MS

はじめに

ヒトや家畜などに使用されている医薬品による河川水や地下水などの環境水汚染が水生生物やヒトへ影響することが懸念され、問題視されている。欧米では 10 年程前よりこの問題に取り組み、都市河川水、海水、湖水、地下水などの環境水や下水処理場での存在実態や挙動が明らかにされてきた¹⁻⁴⁾。日本でも、数年前からこの問題に取り組んでおり、これまでに水に関連した各分野において存在実態や挙動、処理・除去法について検討がなされてきた⁵⁻¹¹⁾。

当センターにおいては、平成 16 年度から主に河川水を対象とした医薬品の存在実態と挙動についての調査を実施している。また、過去の報告によれば、都市河川水における医薬品の主な負荷源の一つとして下水処理場が挙げられていることから、多摩川流域に隣接する下水処理場における調査を実施した。これらの調査で対象とした医薬品は医師の処方せんがなくても薬局などで購入できる一般用医薬品 (OTC)、ほぼ毎日あるいは定期的に服用される生活習慣病治療薬、海外での検出事例がある医薬品で、かつ標準品が入手可能なものである (Table1)。分析法としては、固相抽出法による抽出・濃縮後、GC/MS 及び LC/MS により一斉分析する方法を採用した。ここでは、主にこれまでにやってきた多摩川流域の下水処理場の流入下水及び処理下水中医薬品の存在実態の調査結果を紹介する。

実験方法

1. 試薬及び器具

医薬品の標準品：Table1, BSTFA：トリメチルシリル誘導体化剤、水質試験用、ギ酸：特級、アセトニトリル：HPLC 用は和光純薬工業より購入した。固相カートリッジはセップパック PS-2 plus 及び AC-2 Plus, オアシス HLB Plus：日本ウォーターズ製を用いた。精製水は PURIC-MX：オル

ガノ製により用時調製した。固相抽出はセップパックコンセントレーターを用いて行った。固相カートリッジからの溶出液の濃縮はジーエルサイエンスのソルドライ SD905 を用い、窒素気流下 40°C で行った。

2. 水試料の採取

調査対象の下水処理場は多摩川に隣接する多摩地域の 6 ヶ所の下水処理場 (Table2. A~F) であった。調査期間は平成 16 年 10 月から平成 17 年 3 月、調査は月 1 回の頻度で行った。下水処理場の流入下水及び処理下水試料は各下水処理場にて調製した 24 時間流量比例コンポジット試料 (通日試験用試料) を用いた。各下水処理場における流入下水と処理下水の流量データ及びその他の情報は東京都下水道局流域下水道本部より提供を受けた。

3. 試験溶液の調製

流入下水については、予めアセトンで洗浄したガラスフィルターでろ過し、ろ液とガラスフィルター上に残る懸濁物質の 2 つに分けた。懸濁物質から医薬品を回収するためにガラスフィルターをビーカーに移し、メタノール 10 mL を加え、5 分間超音波処理した後、メタノール溶液をろ液に加え、これを水試料とした。処理下水の場合には、ガラスフィルターによるろ過は行わなかった。

2 つの固相カートリッジ PS-2 及び HLB を直列に接続し、アセトニトリル 10 mL、精製水 5 mL の順でコンディショニングした。水試料 500 mL にギ酸 0.5 mL を加えて約 pH3 にした後、PS-2 側から流速 20 mL/min で通過させた。カートリッジに活性炭カートリッジ AC-2 を連結し、30 分間空気を通気させることによりカートリッジを乾燥させた。カートリッジからの医薬品の溶出はアセトニトリル 5 mL を通水方向とは逆に HLB 側から流しながら約 1 分間かけて行い、抽出液は全量 5 mL とした。抽出液 0.5 mL を窒素気流下 40°C で乾固した。

^{*} 東京都健康安全研究センター環境保健部環境衛生研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^{**} 国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部 158-8501 世田谷区上用賀 1-18-1

Table 1. Occurrence of 105 pharmaceuticals in inflow and outflow at 6 sewage treatment plants located around the Tama River in Tokyo, Japan.

No	pharmaceuticals	group ^a	method	LOQ ^b (µg/L)	recovery (%) ^c		inflow ^d			outflow ^d			removal rate ^e (%)		
					1:LC/MS 2:GC/MS	inflow	outflow	frequency	min (µg/L)	max (µg/L)	median (µg/L)	frequency		min (µg/L)	max (µg/L)
1	salicylic acid	A	2	0.01	68	66	36	0.1	16.9	5.52	35	0.01	0.28	0.04	95
2	aspirin	A	2	0.01	91	97	36	0.03	0.32	0.15	6	0.01	0.03	0.01	90
3	ibuprofen	A	2	0.01	69	83	36	0.3	1.32	0.56	9	0.01	0.09	0.04	97
4	mepirizole	A	1	0.05	140	172	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
5	antipyrine	A	1	0.01	68	98	36	0.02	0.09	0.04	13	0.01	0.02	0.01	69
6	isopropylantipyrine	A	1	0.01	88	105	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
7	fenopropfen	A	2	0.01	104	121	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
8	flufenamic acid	A	2	0.01	88	89	31	0.01	0.11	0.03	28	0.01	0.07	0.02	40
9	flurbiprofen	A	2	0.01	102	105	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
10	nabumetone	A	2	0.01	95	99	12	0.02	0.05	0.04	0	ND	ND	ND	68
11	naproxen	A	2	0.01	113	112	36	0.03	0.43	0.08	32	0.01	0.12	0.04	50
12	diflunisal	A	1	0.01	97	85	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
13	mefenamic acid	A	2	0.01	78	106	36	0.09	7.09	0.62	36	0.05	0.21	0.12	71
14	ketoprofen	A	2	0.01	153	133	36	0.32	1.66	0.60	36	0.12	0.63	0.26	55
15	dichlofenac	A	2	0.01	126	73	36	0.05	0.32	0.15	36	0.04	0.17	0.10	38
16	etodolac	A	1	0.01	138	131	36	0.08	0.44	0.26	36	0.05	0.46	0.19	31
17	tolmetin	A	1	0.01	59	93	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
18	fenbufen	A	1	0.01	39	59	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
19	sulpyrine	A	1	0.01	< 5	< 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	acetaminophen	A	1	0.01	65	51	36	0.94	12.2	3.98	20	0.03	0.41	0.08	98
21	salicylamide	A	1	0.03	100	130	36	1.51	7.55	3.37	21	0.03	0.29	0.11	97
22	tiaramide	A	1	0.01	80	112	18	0.03	0.14	0.08	11	ND	0.04	0.02	73
23	phenacetin	A	1	0.01	85	84	25	0.01	0.25	0.12	7	0.01	0.10	0.02	80
24	tenoxicam	A	1	0.01	49	81	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
25	piroxicam	A	1	0.01	89	128	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
26	sulindac	A	1	0.01	61	99	6	0.01	0.02	0.01	36	0.01	0.14	0.05	< 0
27	indomethacin	A	1	0.05	122	80	36	0.18	0.82	0.32	36	0.09	0.35	0.17	41
28	acemetacin	A	1	0.03	93	99	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
29	clofibrate	B	2	0.01	61	70	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
30	clofibrac acid	B	2	0.01	95	95	36	0.05	0.60	0.23	36	0.05	0.27	0.10	47
31	bezafibrate	B	1	0.01	57	57	36	0.99	3.19	1.97	36	0.21	0.97	0.49	72
32	fenofibrate	B	2	0.01	55	83	36	0.01	1.38	0.11	4	0.01	0.08	0.02	97
33	epinastine	C	1	0.01	42	94	36	0.07	0.27	0.16	36	0.07	0.24	0.14	7
34	ebastine	C	1	0.02	22	26	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
35	oxatomide	C	1	0.01	19	24	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
36	azelastine	C	1	0.01	24	39	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
37	ketotifen	C	1	0.01	46	88	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
38	tranilast	C	1	0.02	54	96	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
39	diphenhydramine	C	2	0.01	90	91	36	0.4	2.49	1.53	36	0.28	1.21	0.55	60
40	diphenylpyraline	C	1	0.01	60	77	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
41	clemastine	C	2	0.01	33	87	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
42	chlorphenyramine	C	1	0.02	45	59	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
43	promethazine	C	2	0.01	63	90	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
44	cyproheptadine	C	2	0.01	100	92	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
45	terfenadine	C	1	0.01	27	29	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
46	phenytoin	D	1	0.01	76	78	36	0.06	0.83	0.20	36	0.03	0.56	0.11	39
47	carbamazepine	D	1	0.01	162	132	36	0.11	0.49	0.26	36	0.05	0.11	0.08	77
48	valproic acid	D	2	0.01	62	66	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
49	amantadine	E	1	0.01	102	91	36	0.12	0.45	0.26	36	0.11	0.38	0.25	6
50	trihexyphenidyl	E	1	0.01	42	89	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
51	enalapril	F	1	0.01	95	96	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
52	alacepril	F	1	0.01	81	105	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
53	lisinopril	F	1	0.02	55	275	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
54	perindopril	F	1	0.01	78	100	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
55	nifedipine	F	1	0.02	< 5	67	-	-	-	-	0	ND	-	-	-

Table 1. Occurrence of 105 pharmaceuticals in inflow and outflow at 6 sewage treatment plants located around the Tama River in Tokyo, Japan. (continued)

No	pharmaceuticals	group ^a	method	LOQ ^b (µg/L)	recovery (%) ^c		inflow ^d			outflow ^d			removal rate ^e (%)		
					1:LC/MS 2:GC/MS	inflow	outflow	frequency	min (µg/L)	max (µg/L)	median (µg/L)	frequency		min (µg/L)	max (µg/L)
56	verapamil	F	1	0.01	34	89	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
57	diltiazem	F	1	0.01	263	76	36	0.04	0.13	0.09	36	0.02	0.10	0.06	34
58	nicardipine	F	1	0.01	36	85	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
59	amlodipine	F	1	0.01	72	91	36	0.02	0.08	0.05	35	0.01	0.05	0.02	58
60	benidipine	F	1	0.01	28	80	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
61	nilvadipine	F	1	0.01	42	79	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
62	losartan	F	1	0.02	17	66	36	0.1	0.21	0.15	36	0.07	0.22	0.12	16
63	candesartan	F	1	0.02	13	56	36	0.14	0.26	0.21	36	0.06	0.22	0.14	34
64	hydralazine	F	1	0.02	<5	<5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	hydrochlorothiazide	F	1	0.02	56	58	36	0.05	0.21	0.12	0	ND	ND	ND	100
66	prazosin	F	1	0.01	84	82	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
67	doxazosin	F	1	0.01	<5	72	-	-	-	-	0	ND	-	-	-
68	propranolol	F	1	0.01	63	98	36	0.01	0.04	0.02	36	0.01	0.04	0.02	<0
69	metoprolol	F	1	0.01	81	89	36	0.01	0.05	0.02	36	0.02	0.05	0.02	<0
70	alprenolol	F	1	0.01	54	106	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
71	pindolol	F	1	0.01	<5	<5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	atenolol	F	1	0.02	39	37	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
73	carvedilol	F	1	0.01	54	63	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
74	betaxolol	F	1	0.02	113	100	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
75	methyl dopa	F	1	0.03	<5	<5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	reserpine	F	1	0.01	<5	78	-	-	-	-	0	ND	-	-	-
77	rescinnamine	F	1	0.02	26	41	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
78	pioglitazone	G	1	0.01	66	88	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
79	chlorpropamide	G	1	0.02	76	88	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
80	acetohexamide	G	1	0.01	85	96	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
81	tolbutamide	G	1	0.01	73	90	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
82	tolazamide	G	1	0.01	78	97	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
83	gliclazide	G	1	0.01	97	99	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
84	glibenclamide	G	1	0.02	66	86	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
85	nateglinide	G	1	0.01	92	104	36	0.12	0.44	0.26	0	ND	ND	ND	99
86	sulpiride	H	1	0.01	62	70	36	0.9	1.96	1.39	36	0.90	1.96	1.39	15
87	olanzapine	H	1	0.02	22	83	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
88	risperidone	H	1	0.01	18	99	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
89	zolpidem	H	1	0.01	57	112	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
90	quetiapine	H	1	0.01	38	94	21	0.03	0.18	0.07	21	0.03	0.14	0.07	73
91	medazepam	H	1	0.02	38	96	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
92	midazolam	H	1	0.02	44	73	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
93	haloperidol	H	1	0.01	50	82	6	0.02	0.04	0.03	6	0.02	0.04	0.03	<0
94	paroxetine	H	1	0.02	66	99	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
95	fluvoxamine	H	1	0.02	63	107	5	0.03	0.06	0.04	5	0.03	0.06	0.04	<0
96	nitrazepam	H	1	0.01	75	85	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
97	tofisopam	H	1	0.01	67	107	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
98	lorazepam	H	1	0.01	80	95	6	0.03	0.05	0.04	6	0.03	0.05	0.04	<0
99	triazolam	H	1	0.01	82	96	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
100	flunitrazepam	H	1	0.02	82	97	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
101	brotizolam	H	1	0.02	60	110	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
102	etizolam	H	1	0.02	84	104	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
103	clotiazepam	H	1	0.01	54	107	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
104	diazepam	H	1	0.01	60	98	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-
105	ethyl loflazepate	H	1	0.01	113	112	0	ND	-	-	0	ND	-	-	-

a A:analgesic, B:hyperlipemic, C:antiallergic, D:antiepilepsy, E:antiparkinsonism, F:high blood pressure, G:diabetic, H:psychotropic.

b limit of quantification, S/N=10

c sample volume: 100 mL of inflow and outflow; spiked concentration: 1.0µg/L; n=2 or 3

d monitoring period:October, 2004 - March, 2005; sample number: 36 samples from 6 STPs; ND: less than LOQ

e 100 - (concentration in outflow/concentration in inflow) x 100

Table 2. Flow rate of the Inflow at 6 sewage treatment plants (STP) located around the Tama River in Tokyo, Japan.

STP	population served	flow rate (m ³ /day)			volume of sewage (L/day/person)
		min	max	average	
A	453,232	143,080	244,560	177,307	391
B	279,028	72,250	108,800	80,395	288
C	138,024	37,270	90,590	52,838	383
D	224,516	63,400	90,000	69,790	311
E	471,527	161,450	211,940	188,647	400
F	339,400	84,590	126,820	103,380	305
total	1,905,727	-	-	672,357	-

GC/MS 分析の場合にはジクロロメタン 500 μ L を加え攪拌後、BSTFA 50 μ L, 10 mg/L フルオランテン-*d*₁₀ 5 μ L を内部標準として加え、これを GC/MS 用試験溶液とした。また、LC/MS 分析の場合には、0.1%ギ酸含有 10%アセトニトリル水溶液 500 μ L, カルバマゼピン-*d*₁₀ 5 μ L を内部標準として加え、これを LC/MS 用試験溶液とした。

4. GC/MS及びLC/MSの分析条件

既報のとおり¹²⁾。

結果及び考察

1. 下水処理場の水試料中の医薬品の定量下限値及び回収率

本分析法における調査対象の医薬品の定量下限値は水試料換算で 0.01 から 0.05 μ g/L であり、下水処理場の水試料中を対象とした過去の調査結果^{10,11)}と同程度であり、対象試料中の医薬品濃度を測定するのに十分な感度であった (Table1)。本分析法における添加回収率については、いずれの医薬品も、回収率は流入下水よりも処理下水の方が高い傾向にあった。また、本分析法では一斉分析を目的としており、医薬品ごとにクリーンアップは行っていないため、妨害物質が認められる医薬品が存在した。流入下水では、ニフェジピン、ヒドララジン、ドキサゾシン、ピンドロール、メチルドパ及びレセルピンは分析できなかった。一方、処理下水では、ヒドララジン、ピンドロール及びメチルドパが分析不可能であった。なお、スルピリンは本固相抽出法では抽出・濃縮できず、低濃度まで分析できないことから、測定対象としなかった。医薬品の分析は基本的に LC/MS で行うこととし、LC/MS 法で感度が低い、または妨害物質が認められる場合には、GC/MS 法で測定することとした。

2. 流入下水及び処理下水中の医薬品の実態調査結果

流入下水については 98 医薬品を調査対象とし、そのうち、6 ヶ所の下水処理場の流入下水から検出された医薬品は Table1 に示す 38 医薬品であった。それらの検出頻度について、解熱鎮痛消炎剤のフルフェナム酸、ナブメトン、チアラミド、フェナセチン、スリンダク、クエチアピン、ハロペリドール、フルボキサミン及びロラゼパムを除く 27 医薬

品は 6 ヶ所の下水処理場の流入下水全てから毎月検出された。検出濃度の最大値が 10 μ g/L を超えたのは解熱鎮痛消炎剤のサリチル酸 (16.9 μ g/L) 及びアセトアミノフェン (12.2 μ g/L) で、1 μ g/L から 10 μ g/L 未満であったのは解熱鎮痛消炎剤イブプロフェン、メフェナム酸、ケトプロフェン及びサリチルアミド、高脂血症剤ベザフィブラート及びフェノフィブラート、抗アレルギー剤ジフェンヒドラミン及び精神科用薬スルピリドで、その他は 1 μ g/L 未満であった。

一方、処理下水については、調査対象とした 101 医薬品のうち、6 ヶ所の下水処理場の流入下水から検出された医薬品は Table1 に示す 35 医薬品であった。検出濃度は数十 ng/L から数 μ g/L のオーダーであり、ほとんどの医薬品の検出濃度は流入下水よりも低く、1 μ g/L を超えて検出されたのはジフェンヒドラミン 1.21 μ g/L 及びスルピリド 1.96 μ g/L であった。また、スリンダクについては処理下水中の濃度の方が流入下水中濃度よりも高く、抗パーキンソン薬アマンタジンや抗アレルギー薬エピナスチンの場合には処理下水中の濃度は流入下水と同じか、または若干低い値であった。流入下水から検出されたナブメトン、ヒドロクロロチアジド及びナテグリニドは処理下水からは検出されなかった。

医薬品の検出濃度と 6 ヶ所の下水処理場の流入下水及び処理下水の流量から 1 日当たりの負荷量の合計を算出した (Fig.1)。流入下水中の医薬品濃度より求めた下水処理場への負荷量の合計はサリチル酸、アセトアミノフェン、サリチルアミド、ベザフィブラート、ジフェンヒドラミンで多く、冬季には 1 日あたり 1000 g を超えることもあった。特に、サリチル酸、サリチルアミド、アセトアミノフェン及びメフェナム酸の負荷量は 2 月から 3 月にかけて 4 倍から 5 倍に増加した。これはインフルエンザなどの上気道感染症の流行により解熱鎮痛消炎剤の治療薬として多く使用されたことによるものと思われる。これに対して、生活習慣病の治療薬である高血圧症治療薬ジルチアゼム、アムロジピン、ロサルタン及びカンデサルタンや高脂血症薬ベザフィブラート及びクロフィブリン酸などは変動が比較的小さく、これらの医薬品は年間を通じて一定量が定期的に服用される

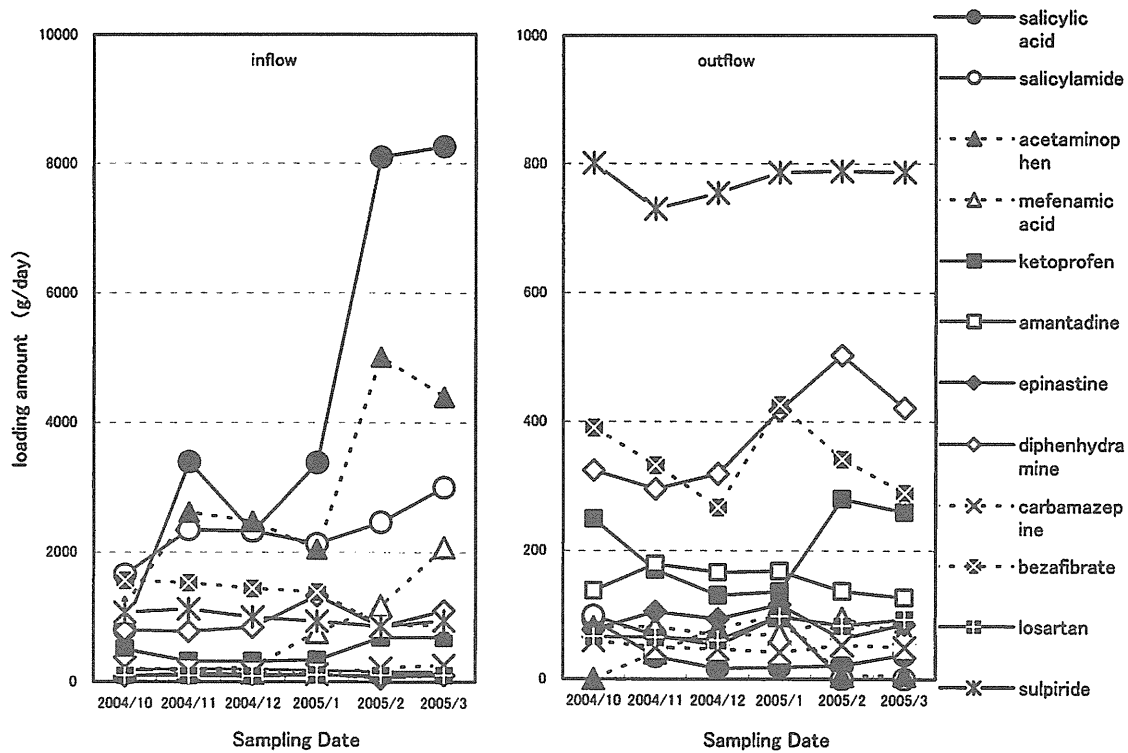


Fig.1. Loading amounts of pharmaceuticals in inflow and outflow at STPs

ためと推定された。

処理下水の濃度から求めた多摩川水系への負荷量は、スルピリド、ジフェンヒドラミン、ベザフィブラート、ケトプロフェン及びアマンタジンが比較的多かったが、1日あたり1000gを超えるものはなかった。また、調査期間を通じて処理下水中の各医薬品の負荷量の変動は流入下水の場合に比べて小さかった。したがって、多摩川水系において、下水処理水が流入する地点の河川水中の医薬品濃度は降雨などによる河川水量の影響を受けるものと考えられる。

下水処理場における医薬品の除去率をTable1に示す。サリチル酸、アスピリン、イブプロフェン、サリチルアミド、フェナセチン、アセトアミノフェン、フェノフィブラート、ヒドロクロロチアジド及びナテグリニドの除去率は他の医薬品に比べて高く80%以上であった。一方、スリダク、アマンタジン、エピナスチン、メトプロロール、プロプラノロール、ロサルタン、スルピリド、ハロペリドロール、フルボキサミン及びロラゼパムの除去率は20%未満と低かった。また、いずれの医薬品も除去率の標準偏差は小さかったことから、各下水処理場での除去率はほとんど同じと考えられる。

3. 活性汚泥処理による医薬品の除去性

下水処理場における医薬品除去の主要因として、活性汚泥への吸着と微生物による分解が挙げられる。活性汚泥などへの吸着に関しては疎水性が高い医薬品は活性汚泥などへ吸着しやすいと考えられることから、log Pow (n-オクタノール/水分配係数) と除去率との関係を調べたが、医薬品のlog Powと下水処理場における除去率との間には相関関

係は認められなかった (Fig.2)。疎水性の低い医薬品について、プロプラノロール (log Pow -0.04)、アマンタジン (log Pow -0.19) やエピナスチン (log Pow -0.17) の除去率は10%未満と、他の医薬品に比べ低かったが、これらとlog Powが同様なアセトアミノフェン、アンチピリン及びチアラミドの除去率は69%以上であった。一方、疎水性の高い (log Pow ≥ 2) 医薬品についても、除去率は40%から97%と様々であった。ベンゼン誘導体であるアセトアミノフェン、サリチルアミド、サリチル酸及びイブプロフェンなどの比較的簡単な構造をもつ医薬品の除去率は高い傾向にあった。下水処理場の流入下水に活性汚泥を添加し、エアレーションしながら経時的に水試料を抜き取り、遠心分離後の上清中の医薬品濃度を測定した (Fig.3)。下水処理場における水理学的滞留時間 (HRT) は概ね8時間であることから、これに合わせて観察時間を最大8時間とした。下水処理場における除去率が低かったアマンタジン、エピナスチン、プロプラノロール及びスルピリドの多くは上清中に存在し、活性汚泥による生分解を受けず、また活性汚泥への吸着が低いことも示唆された。アマンタジン、エピナスチン及びスルピリドはヒトにおいて投与量の大部分 (約90%) が未変化体として尿や糞中に排泄される。酸化や加水分解などによる代謝を受けにくい医薬品は、微生物においても分解性が低いと推察された。

まとめ

多摩川流域の下水処理場の水試料を対象に医薬品の調査を実施した。

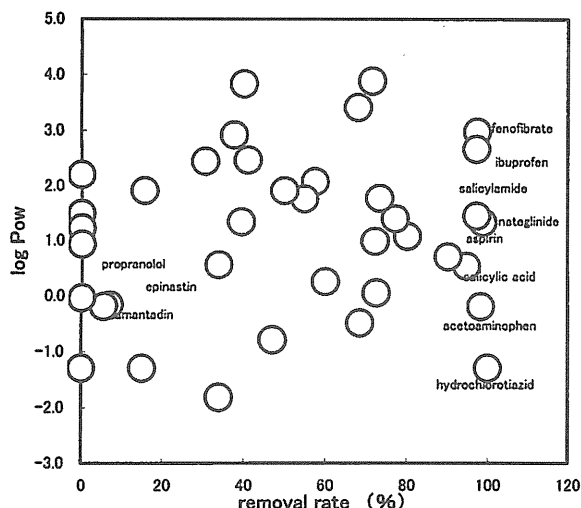


Fig.2. Relationship between log Pow and removal rates of pharmaceuticals in STPs.

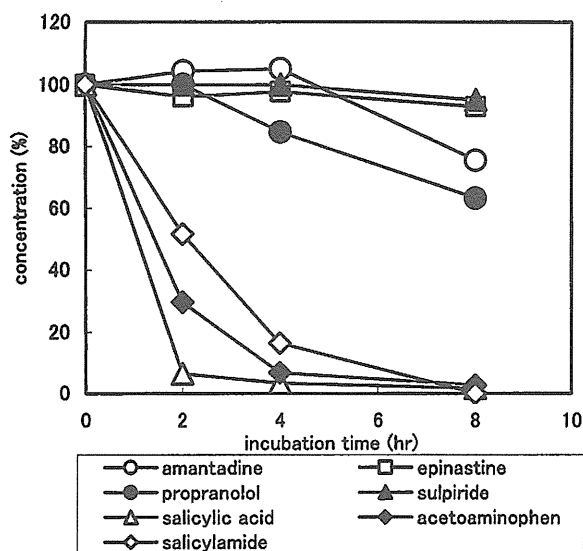


Fig.3. Elimination of pharmaceuticals in inflow by activated sludge of STPs

(1) 流入下水から 98 医薬品のうち 38 医薬品が、また処理下水から 101 医薬品のうち 35 医薬品が検出された。検出濃度は流入下水が数十 ng/L から十 $\mu\text{g/L}$ 、処理下水が数十 ng/L から数 $\mu\text{g/L}$ の範囲であった。

(2) 下水処理場への医薬品の負荷量について、解熱鎮痛消炎剤の負荷量は冬季にかけて著しい増加が認められたが、高脂血症薬や高血圧症治療薬などの変動は小さく、服用の実態に応じた結果が得られた。一方、下水処理場から多摩川水系への負荷量は流入下水のような大きな変動が認められず、河川水中の濃度は降雨などによる河川水量の影響を強く受けることが示唆された。

(3) 下水処理場における医薬品の除去率について、スリダク、アマンタジン、エピナスチン、メトプロロール、プロプラノロール、ロサルタン、スルピリド、ハロペリドロール、フルボキサミン及びロラゼパムの除去率は 20% 未満と他の医薬品に比べ低く、その原因は微生物による分解性が低いためと推察された。

謝辞

本調査において、下水処理場の試料採取及び情報提供にご協力下さいました東京都下水道局流域下水道本部の方々に感謝いたします。本研究の一部は平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金、医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業、「医薬品の環境影響評価ガイドラインに関する研究」の助成を受けて実施された。

文献

- 1) Ternes, T.: Assessment of technologies for the removal of pharmaceuticals and personal care products in sewage and drinking water facilities to improve the indirect potable water reuse (Poseidon), contact No. EVK1-CT-2000-00047, 2004.
- 2) Environmental Risk Assessment of Pharmaceuticals (ERAPharm), Project no. SSPI-CT-2003-511135, 2007.
- 3) Daughton, C. G. and Ternes, A. T.: *Environ. Health Perspect.*, 107, 907-938, 1999.
- 4) Kolpin, D.W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B. and Buxton, H. T.: *Environ. Sci. Technol.*, 36, 1202-1211, 2002.
- 5) 清野敦子, 益永茂樹, 古荘早苗: 日本水環境学会誌, 27, 685-691, 2004.
- 6) Nakada, N., Komori, K. and Suzuki, Y.: *Environ. Sci.*, 12, 359-369, 2005.
- 7) 国包 章一: 水道水源などにおける生理活性物質の測定と制御に関する研究 (環境省地球環境保全など試験研究), 平成16年度~18年度.
- 8) 杉下寛樹, 長尾亮治, 山下尚之, 他: 環境衛生工学研究, 21, 23-24, 2007.
- 9) Nakada, N., Kiri, K., Shinohara, H.: *Environ. Sci. Technol.*, 42, 6347-6353, 2008.
- 10) 益永茂樹: 医薬品の河川と下水道における存在実態とその水生生物に関する研究 (河川整備基金助成事業), 平成17年度.
- 11) 田中宏明: 河川水中で見出される医薬品の底質汚染の実態と生物影響に関する研究 (河川整備基金助成事業), 平成19年度.
- 12) 鈴木俊也, 矢口久美子, 栗田雅行, 他: 河川水中の医薬品の分析法, 東京健安研七年报, 60, 253-258, 2009.

Occurrence of Human Pharmaceuticals at Sewage Treatment Plants on the Tama River Basins in Tokyo

Toshinari SUZUKI^{*}, Yuki KOSUGI^{*}, Mitsugu HOSAKA^{*}, Kumiko YAGUCHI^{*},
Akio OGATA^{*}, Tetsuji NISHIMURA^{**} and Dai NAKAE^{*}

Monitoring of human pharmaceuticals in inflow and outflow at sewage treatment plants (STPs) on the Tama River basins in Tokyo has been conducted. Approximately 100 pharmaceuticals (analgesics, hyperlipemics, antiallergics, antiepilepsy drugs, antiparkinsonism drugs, high blood pressure drugs, diabetic drug, and psychotropic drugs) were examined. Thirty-eight and 35 pharmaceuticals were detected in inflow and outflow at STPs, and their concentrations ranged from several dozen ng/L to 16.9 µg/L and from several dozen ng/L to 1.96 µg/L, respectively. Loading amounts of analgesics to STPs increased 4 to 5 times during winter, and the others amounts did not significantly change. Loading amounts of pharmaceuticals into the Tama River basins were approximately constant. This suggests that concentrations of pharmaceuticals in the Tama River basins are affected by fluctuations in river flow. Removal rates of sulindac, amantadine, epinastine, metoprolol, propranolol, and sulphiride were lower than 20%. This may be due to low biodegradation as well as adsorption to activated sludge.

Keywords: pharmaceutical, sewage treatment plant, analysis, GC/MS, LC/MS

^{*} Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

^{**} National Institute of Health Science
1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501 Japan

水環境中の抗インフルエンザウイルス剤の分析法

鈴木 俊也^a, 小杉 有希^a, 保坂 三継^a, 矢口 久美子^b, 中江 大^c, 西村 哲治^d, 小縣 昭夫^a

水環境中の抗インフルエンザウイルス剤オセルタミビル (OT) 及びその活性代謝物オセルタミビルカルボキシレート (OC) の存在実態を把握するための分析法について検討した。水試料中のOT及びOCを酸性下、タンデム型に接続した2種類の固相で抽出し、アセトニトリルで溶出後、濃縮し液体クロマトグラフ-質量分析計 (LC/MS) またはタンデム型質量分析計で分離定量した。本法によるOT及びOCの定量下限値はそれぞれ2及び4 ng/L (水試料換算値)、OT及びOCの添加回収率はそれぞれ89及び61%であった。本法は水道水、水道原水及び河川水等の水試料に適用可能であった。OCを正確に定量するためには、サロゲート法や標準添加法が必要であった。

キーワード: 水環境, オセルタミビル, オセルタミビルカルボキシレート, 固相抽出, LC/MS, 分析法

はじめに

オセルタミビル (タミフル, 以下OTと略す) はインフルエンザの治療やその大流行の防御にとって重要な抗インフルエンザウイルス剤の一つであり^{1,2)}, 特に, 日本では大量に使用されている³⁾。また, 日本を始め世界各国では大流行に備えOTの備蓄を進めている。OTはヒトにおいて経口投与後速やかに主として肝臓で加水分解されて活性体オセルタミビルカルボキシレート (以下OCと略す, Fig. 1) となり, OT及びOCのほとんどは尿中に排泄される⁴⁾。インフルエンザの流行時, 都市部の河川水では下水処理場を介してOCが水環境中に混入することが既に報告されている^{5,6)}。その原因として, OCが下水処理場における沈殿や活性汚泥処理ではほとんど除去されないこと⁷⁾, また, 河川水を用いた分解実験でもOTの半減期は十日以上であること^{8,9)}が考えられている。また, 都市河川水中のOCの検出濃度がノイラミニダーゼ活性50%阻害濃度 (IC50) に近いことから, OT及びOCを含む水を野鳥が飲むことにより, 野鳥体内に存在するインフルエンザウイルスが薬剤耐性を獲得することも懸念されている¹⁰⁾。

東京都においても, インフルエンザの流行時にはOTが

服用されており, 都内河川の流域には多くの野鳥が生息していることから, 河川水中のOT及びOCの存在実態を把握する必要があると考えられる。そこで, 水環境中のOT及びOCを固相抽出により抽出・濃縮後, 液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS/MS) で分離定量する方法について検討したので, その結果を報告する。

実験方法

1. 試薬

OT標準溶液 (1000 mg/L) はタミフル製剤 (タミフルカプセル75) 1カプセルの中身を取り出し, 精製水75 mLに溶解して調製した。OC標準溶液 (100 mg/L) はOT標準溶液1 mLに0.1 N水酸化カリウム-エタノール溶液1 mLを加え80°C20分間加熱し, 室温に冷却後, 0.01 N塩酸で10 mLとした。固相カートリッジはSep-Pak PS-2 plus (以下PS-2と略す, 日本ウォーターズ) 及びOASIS HLB Plus (以下HLBと略す, 日本ウォーターズ) を用いた。

2. 試験溶液の調製

固相カートリッジHLB単独, または2つの固相カートリッジPS-2及びHLBを直列に接続し, 始めにアセトニトリル

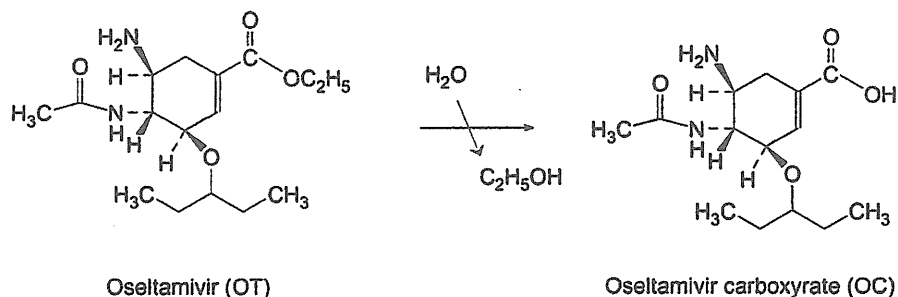


Fig. 1. Major metabolic pathway of oseltamivir in human liver

^a 東京都健康安全研究センター環境保健部環境衛生研究科

169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター精度管理室

^c 東京都健康安全研究センター医薬品部

^d 国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部

158-0098 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

10 mL, 精製水5 mLの順でコンディショニングした。固相抽出はつぎのA及びB法により行った。A法: 水試料500 mLをHLBに流速20 mL/minで通水し, 30分間の通気乾燥後, メタノール5 mLで抽出物を溶出させた。B法: 水試料500 mLにギ酸0.5 mLを加えて酸性 (pH約3) にした後, PS-2, HLBの順で流速20 mL/minで通水し, 30分間の通気乾燥後, 通水方向とは逆方向からアセトニトリル5 mLで抽出物を溶出させた。各溶出液を窒素気流下で0.5 mLに濃縮し, 内部標準としてカルバマゼピン-*d*₁₀ (10 mg/Lアセトン溶液) を5 µL加え, これを試験溶液とした。

3. LC/MSの分析条件

LC: 2690 (日本ウォーターズ), 注入量: 10 µL, カラム: XTerra MSC18 (2.1×150 mm, 5 µm, 日本ウォーターズ), カラム温度: 40°C, 移動相: 0.1% ギ酸含有10% アセトニトリル (5分間保持) - 0.1% ギ酸含有90% アセトニトリル (45分, リニアグラジエント), 流速: 0.2 mL/min, MS: ZMD (日本ウォーターズ), キャピラリー電圧: 3 kV, コーン電圧: 10 V, モード: エレクトロスプレーイオン化法ポジティブ (ESI⁺), ソースブロック温度: 120°C, デソルベーション温度: 350°C, モニターイオン: OT *m/z* 313, OC *m/z* 285

4. LC/MS/MSの分析条件

LC: 2695 (日本ウォーターズ), 注入量: 10 µL, カラム: XBridge C18 (2.1×150 mm, 5 µm, 日本ウォーターズ), カラム温度: 40°C, 移動相: 10 mM酢酸アンモニウム30% アセトニトリル (5分間保持) - 10 mM酢酸アンモニウム含有90% アセトニトリル (25分, リニアグラジエント), 流速: 0.2 mL/min, MS: Ultima PT (マイクロマス), キャピラリー電圧: 1 kV, コーン電圧: 40~50 V, コリジョンエネルギー: 10 eV, モード: エレクトロスプレーイオン化法ポジティブ (ESI⁺), ソースブロック温度: 120°C, デソルベーション温度: 400°C, モニターイオン: OT *m/z* 313 > 225及びOC *m/z* 285 > 197

結果及び考察

1. LC/MS(/MS)の分析条件

逆相系のODSカラムではギ酸-アセトニトリル系または酢酸アンモニウム-アセトニトリル系の移動相を用いたグラジエント分析により, OT及びOCの良好な分離が行えることがわかった。MS (ZMD) の条件について, OT及

Table 1. Recovery of oseltamivir (OT) and oseltamivir carboxyrate (OC) from water

compound	method A		method B	
	recovery (%) average ± SD	CV (%)	recovery (%) average ± SD	CV (%)
OC	< 4	-	61 ± 4	7
OT	85 ± 6	7	89 ± 6	7

water sample: 500mL

fortified concentration: 100 ng/L (n=3)

びOCの感度はエレクトロスプレーイオン化法ではネガティブモードよりもポジティブモードの方が高く, 至適コーン電圧は10 V, 測定質量数はそれぞれ[M+H]⁺の313及び285に設定することとした (Fig. 2)。MS/MS (Ultima PT) の場合には, OT及びOCの至適コーン電圧は40~50 V, 親イオン>娘イオンはそれぞれ313 > 225及び285 > 197であった。検量線の直線性はOT及びOCともに0-100 µg/Lの範囲で0.99以上であった。定量下限値は1000倍濃縮時の水試料換算値でOTが2 ng/L, OCが4 ng/Lであった。OCのノイラミニダーゼに対するIC50は80~230 ng/Lであること³⁾から, 河川水中のOT及びOCを測定するために必要な感度を十分に満たしていると考えられる。

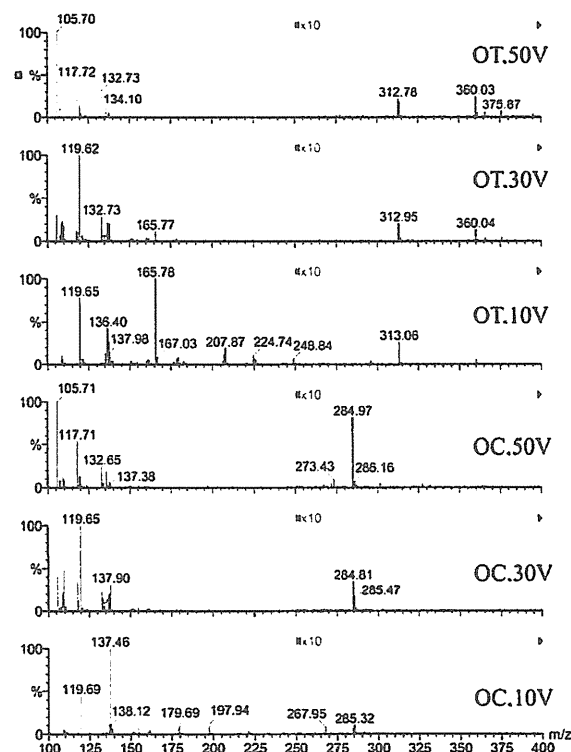


Fig. 2. LC/MS spectra (ESI⁺) of oseltamivir (OT) and oseltamivir carboxyrate (OC) at several collision energies.

2. 固相抽出条件の検討

HLBを用い, 中性下で抽出後, メタノール溶出する方法 (A法) 及びPS-2とHLBをタンデムに接続し, ギ酸酸性下で抽出後, アセトニトリル溶出する方法 (B法) の2法について検討した。なお, A法は, 水試料中のペルフルオロオクタン酸やペルフルオロオクタンスルホン酸等の有機フッ素化合物を効率良く抽出濃縮できる方法である¹¹⁾。一方, B法は水試料中の医薬品類を効率良く抽出濃縮できる方法である¹²⁾。精製水を用いた場合の添加回収率をTable 1に示す。A法ではOTが85%, OCが4%未満, B法ではOTが89%, OCが61%であった。A法のOCを除き, 変動係数はいずれも10%未満と低く, A法に比べB法の方が分析精度が優れていることがわかった。A法でOCの回収率が低い原因は, 中性条件下ではOCのカルボキシル基が解離しているため

と考えられ、逆相系の固相で抽出するためにはカルボン酸の解離を抑える必要があることが分かった。

河川水試料を分析した場合、妨害ピークは認められなかった (Fig. 3)。また、水道原水や水道水の場合にも同様な結果が得られ、B法は実試料への適用が可能であると考えられる。

しかし、B法によるOCの回収率が61%と低かったことから、定量に際し、標準添加法やサロゲート法などによる補正の必要性が示唆された。Fickら⁷⁾は、OCの重水素体をサロゲートとして用いて定量する方法により、水試料からの回収率91~107%と良好な結果が得られることを報告している。しかし、OCのサロゲートは現在市販されておらず、またメーカーからの提供も困難であることから、実用性に乏しい。したがって、現状では、OC及びOTの標準添加法が望ましいと考えられる。

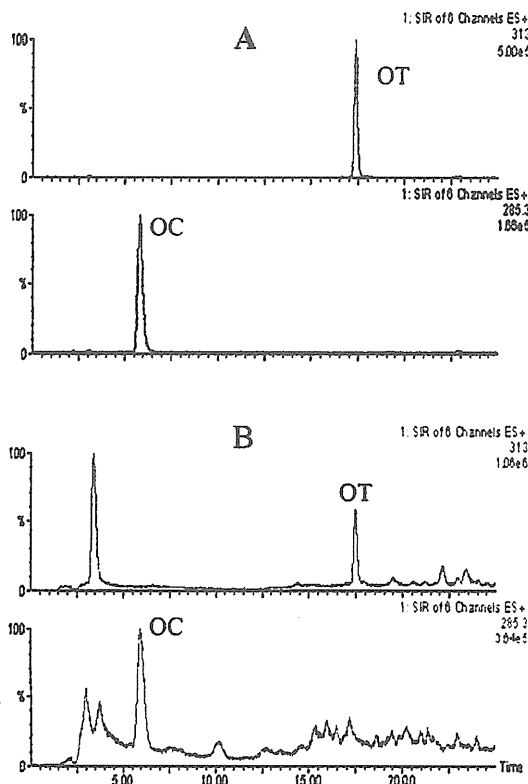


Fig. 3. LC/MS chromatograms of oseltamivir (OT) and oseltamivir carboxyrate (OC) in standard solution and river water extract. A: standard solution 100 µg/L, B: river water extract of concentration factor 1000.

本研究の一部は平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金、医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業、「医薬品の環境影響評価ガイドラインに関する研究」の助成を受けて実施された。

文 献

- 1) WHO (2006), Influenza antiviral medicinal products for potential use during a pandemic, *WHO Drug Information*, 19, 273-285.
- 2) 山下 誠: *ファルマシア*, 47(8), 713-718, 2011.
- 3) Monto, A.S., McKimm-Breschkin, J.L., Macken, C., *et al.*: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 50(7), 2006, 2395-2402.
- 4) タミフル添付文書, 中外製薬
- 5) Soderstrom, H., Jarhult, J.D., Olsen, B., *et al.*: *PloS ONE*, 2009, 4(6), e6064
- 6) Ghosh, G., Nakada, N., Yamashita, N., *et al.*: *Environ. Health Perspect.*, 118(1), 2010, 103-107.
- 7) Fick, J., Lindberg, R.H., Tysklind, M., *et al.*: *PloS ONE*, 10, 2007, e986.
- 8) Bartels, P. and von Tumpling Jr., W.: *Sci. Total Environ.*, 405, 215-225, 2008
- 9) Sacca, M.L., Accinelli, C., Fick, J., *et al.*: *Chemosphere*, 75, 2009, 28-33.
- 10) Singer, A.C., Nunn, M.A., Gould, E.A., *et al.*: *Environ. Health Perspect.*, 115(1), 2007, 102-106.
- 11) 鈴木俊也, 宇佐美美穂子, 保坂三継, 他: 第17回環境化学討論会講演集, 552-553, 2008.
- 12) 鈴木俊也, 小杉有希, 保坂三継, 他: 河川水中の医薬品の分析法, *東京健安研七年報*, 60, 253-258, 2009.

Analytical Method for Anti-influenza Virus Drug in Aquatic Environments

Toshinari SUZUKI^a, Yuki KOSUGI^a, Mitsugu HOSAKA^a, Kumiko YAGUCHI^b,
Dai NAKAE^c, Tetsuji NISHIMURA^d and Akio OGATA^a

The analytical method for the antiviral drug oseltamivir (OT) and its major active metabolite oseltamivir carboxylate (OC) in the aquatic environment was investigated. OT and OC in the water sample were extracted by tandem solid-phase extraction cartridges and were eluted by acetonitrile. The extract was concentrated and analyzed by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC/MS/(MS)) with reverse-phase octadecylsilyl-silica (ODS) analytical column.

The detection limits and recovery rates of OT and OC were 2 and 4 ng/L, and 89% and 61%, respectively. This method could be applied to analysis of drinking water, raw water for water supply, and river water. As for accurate determination of OC, correction by surrogate or standard addition method was necessary.

Keywords: aquatic environment, oseltamivir, oseltamivir carboxylate, solid-phase extraction, LC/MS, analytical method

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, Environmental Health and Toxicology,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, Quality Assurance

^c Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, Pharmaceutical Sciences

^d National Institute of Health Science, Division of Environmental Chemistry,
1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501 Japan

