

事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究  
ーマクロライド系抗生物質の水質分析法の検討ー

新 和大, 浦山豊弘, 中野拓也, 山本 淳

【調査研究】

## 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究

－マクロライド系抗生物質の水質分析法の検討－

Study on the development of analysis method of chemical substances at the time of water quality accidents

－ Study on the development of analysis method of macrolide antibiotics －

新 和大, 浦山豊弘, 中野拓也, 山本 淳(水質科)

Kazuhiro Atarashi, Toyohiro Urayama, Takuya Nakano, Jun Yamamoto  
(Water Section)

### 要 旨

医薬品の1つであるマクロライド系抗生物質の多成分同時分析法を検討した。分析方法は、試料を固相カートリッジに通水後メタノールで溶出し、試験液をメタノール/精製水(1:1)に調整した後、LC/MS/MS(SRM法)で測定する方法とした。マクロライド系抗生物質11物質について、本分析法を用いた添加回収試験の回収率は、河川水で73～91%、海水で60～92%であった。また、検出下限値は0.8～6.9 ng/Lであり、本検討により高感度な同時分析法が開発できた。

[キーワード：医薬品, マクロライド系抗生物質, 水質, LC/MS]

[Key words : Drugs, Macrolide antibiotics, Water quality, LC/MS]

### 1 はじめに

近年、欧米諸国や日本で医薬品や化粧品などの医薬品類(Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs))の水環境中での挙動に注目が集まっている。医薬品類は生理活性をもつように設計されており、水環境に流出した際には生態系への影響や耐性菌の出現といった問題が懸念されている。

ヒト及び動物用の医薬品として幅広く用いられているマクロライド系抗生物質は、下水道や畜産排水を通じて環境中に広く排出されていることが考えられる。しかし、環境中におけるマクロライド系抗生物質の高感度の多成分同時分析法は確立されておらず、これらの分析法の開発や環境中の存在状況の把握は、環境・生態リスク等の観点から重要である。

今回、筆者らは環境水中のマクロライド系抗生物質11物質の高感度同時分析法を開発したので、報告する。

### 2 実験方法

#### 2.1 検討物質

検討物質を表1に示す。クラリスロマイシン等、マクロライド系抗生物質13物質について検討を行った。

#### 2.2 試薬・器具

クラリスロマイシン標準品：

和光純薬工業製 生化学用 純度95.0%

オレアンドマイシンりん酸塩標準液：

Dr.Ehrenstorfer 100 ng/ $\mu$ L(りん酸塩として) 純度66.3%

エリスロマイシンA標準品：

和光純薬工業製 HPLC用 純度98.0%

エリスロマイシンB標準品：

United States Pharmacopeial Convention 製 純度99%

アジスロマイシン二水和物標準品：

Dr.Ehrenstorfer 製 純度97.0%

ロキシスロマイシン標準品：

Dr.Ehrenstorfer 製 純度97.0%

表1 検討物質一覧表

物質名	分子式	CAS 番号	分子量	モリイットビッ質量
クラリスロマイシン	C <sub>38</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>13</sub>	81103-11-9	747.95	747.4769
オレアンドマイシン	C <sub>35</sub> H <sub>61</sub> NO <sub>12</sub>	3922-90-5	687.86	687.4194
エリスロマイシン A	C <sub>37</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>13</sub>	114-07-8	733.93	733.4612
エリスロマイシン B	C <sub>37</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>12</sub>	527-75-3	717.93	717.4663
アジスロマイシン	C <sub>38</sub> H <sub>72</sub> N <sub>2</sub> O <sub>12</sub>	83905-01-5	749.00	748.5085
ロキシスロマイシン	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> N <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	80214-83-1	837.05	836.5246
ロイコマイシン A5	C <sub>39</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>14</sub>	18361-45-0	771.93	771.4405
ジョサマイシン	C <sub>42</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>15</sub>	16846-24-5	827.99	827.4667
チルミコシン	C <sub>46</sub> H <sub>80</sub> N <sub>2</sub> O <sub>13</sub>	108050-54-0	869.13	868.5660
タイロシン	C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> NO <sub>17</sub>	1401-69-0	916.10	915.5192
リンコマイシン	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S	154-21-2	406.54	406.2138
クリンダマイシン	C <sub>18</sub> H <sub>33</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S	18323-44-9	424.98	424.1799
タクロリムス	C <sub>44</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>12</sub>	104987-11-3	804.02	803.4820

表2 対象物質のモニターイオン, コーン電圧及びコリジョン電圧

物質名	保持時間 (min)	コーン電圧 (V)	モニターイオン (コリジョン電圧)		
			定量	定性	
クラリスロマイシン	20.87	26	748.48>158.0 (27eV)	748.48>116.0 (40eV)	748.48>590.4 (20eV)
オレアンドマイシン	18.99	18	688.43>158.1 (24eV)	688.43>544.4 (16eV)	
エリスロマイシン A	19.48	30	734.47>158.1 (24eV)	734.47>576.3 (21eV)	
エリスロマイシン B	20.28	20	718.47>158.1 (27eV)	718.47>560.3 (22eV)	
アジスロマイシン	16.14	35	749.52>158.1 (30eV)	749.52>591.3 (25eV)	
ロキシスロマイシン	21.01	30	837.53>158.1 (30eV)	837.53>679.4 (25eV)	
ロイコマイシン A5	20.48	45	772.45>174.1 (32eV)	772.45>558.1 (25eV)	
ジョサマイシン	21.50	35	828.47>174.1 (30eV)	828.47>600.3 (30eV)	
チルミコシン	18.16	50	869.57>174.1 (40eV)	869.57>696.5 (40eV)	
タイロシン	19.91	50	916.53>174.1 (42eV)	916.53>772.6 (10eV)	
リンコマイシン	9.09	32	407.22>126.1 (27eV)	407.22>359.2 (22eV)	
クリンダマイシン	17.20	28	425.19>126.1 (20eV)	425.19>377.1 (18eV)	
タクロリムス	28.89	28	821.52>768.6 (20eV)	821.52>576.2 (22eV)	

ロイコマイシン A5 標準品:

和光純薬工業製 HPLC 用 純度 90.0%

ジョサマイシン標準液:

Dr.Ehrenstorfer 製 10 ng/ $\mu$ L 純度 98.0%

チルミコシン標準品(異性体混合物):

和光純薬工業製 HPLC 用 純度 98.0%

タイロシン標準品:

和光純薬工業製 HPLC 用 純度 97.0%

リンコマイシン塩酸塩一水和物標準:

和光純薬工業製 HPLC 用 純度 98.0%

クリンダマイシン塩酸塩標準品:

Dr.Ehrenstorfer 製 純度 98.0%

タクロリムス標準品:

LKT Laboratories 製 純度 96.0%

アセトニトリル, メタノール:

LC/MS用 和光純薬工業製

精製水:

ミリポア製 Milli-Q Gradient により調製

固相カートリッジ:

Waters 製 Oasis HLB Plus LP (225 mg)

1mol/L ギ酸アンモニウム溶液:

和光純薬工業製 HPLC用

### 2.3 LC/MSの測定条件

LC/MS 機器:

Waters Alliance 2695/ Quattro micro API

LC

LC 機種: Waters Alliance 2695

カラム: Waters 製 Atlantis T3 2.1 mm × 150 mm, 3 μm

移動相: A: 0.1% ギ酸 / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (99:1)

B: 0.1% ギ酸 - アセトニトリル溶液 / 10 mmol/L ギ酸アンモニウム - アセトニトリル溶液 (99:1)

0 ~ 1 min A: 97 → 85 B: 3 → 15 linear gradient

1 ~ 10 min A: 85 → 77 B: 15 → 23 linear gradient

10 ~ 21 min A: 77 → 25 B: 23 → 75 linear gradient

21 ~ 22 min A: 25 → 0 B: 75 → 100 linear gradient

22 ~ 35 min A: B = 0 : 100

35 ~ 35.1 min A: 0 → 97 B: 100 → 3 linear gradient

35.1 ~ 48 min A: B = 97:3

カラム流量: 0.2 mL/min

カラム温度: 40° C

試料注入量: 5 μL

MS

MS 機種: Waters Quattro micro API

キャピラリー電圧: 2.5 kV

ソース温度: 100° C

デゾルベーション温度: 450° C

コーンガス量: 60 L/Hr

デゾルベーション流量: 500 L/Hr

イオン化法: ESI-Positive

測定モード: SRM

モニターイオン, コーン電圧及びコリジョン電圧

: 表 2 参照

### 2.4 前処理方法

水質試料 100 mL を, メタノール 10 mL, 精製水 20 mL でコンディショニングした固相カートリッジ (Oasis HLB plus) に 10 mL/min の速さで通水した。固相カートリッジを精製水 15 mL で洗浄後, 注射筒で空気を 5 mL × 3 回通気して固相中の水分を除去した。これをメタノール 5 mL で溶出し, 40° C 以下の窒素気流下で約 0.2 mL まで濃縮し, メタノール / 精製水 (1:1) で 1 mL に定容し, 0.45 μm フィルターでろ過を行い, 試験液とした。

### 2.5 装置検出下限値及び分析法の検出下限値と定量下限値

装置検出下限値 (IDL) 及び分析方法の検出下限値 (MDL) と定量下限値 (MQL) の測定及び算出は, 「化学物質環境汚染実態調査の手引き (平成 20 年度版)」<sup>1)</sup> に従った。IDL は, 検量線に用いる最低濃度付近の標準液を 7 回繰り返し測定し, 得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。MDL 試験には, 海水に IDL の 5 倍程度の標準物質を添加した試料を 7 個作成し, 分析フローに従い前処理を実施した後, LC/MS で測定し, 得られた測定値の標準偏差を用いて算出した。

$$IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, I} \times 2$$

t(n-1, 0.05): 危険率 5%, 自由度 n-1 の t 値 (片側)

$\sigma_{n-1, I}$ : IDL 算出のための測定値の標本標準偏差

$$MDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1, M} \times 2$$

$$MQL = 10 \times \sigma_{n-1, M}$$

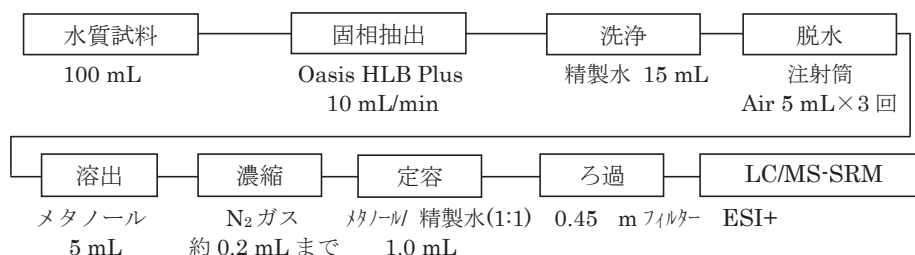


図 1 分析法のフローチャート

t(n-1, 0.05): 危険率 5%, 自由度 n-1 の t 値(片側)  
 $\sigma_{n-1, M}$ : MDL 算出のための測定値の標本標準偏差

### 3 検討結果及び考察

#### 3.1 抽出用固相カートリッジの検討結果

逆相系の抽出用固相である InertSep C18, Oasis HLB, InertSep PLS-3 の 3 種類の固相の比較検討試験を実施した。精製水 100 mL にクラリスロマイシン標準物質 1.0  $\mu$ g を添加し、固相に 10 mL/min で通水、メタノール 5 mL で溶出した後、アセトニトリル 5 mL で溶出した。

それぞれの固相の回収率を比較した結果を図 2 に示す。InertSep C18 では回収率が 20 % を下回り対象物質の保持には適さなかった。対して、Oasis HLB と

InertSep PLS-3 では回収率が良好であり、このことから対象物質の保持にはシリカ系よりもポリマー系の固相が適していると考えられた。

Oasis HLB は InertSep PLS-3 に比べメタノール 5 mL 溶出での回収率が高く、アセトニトリル画分への残留も少なかったため、検討した 3 種類の固相では Oasis HLB が最も適していると判断した。

#### 3.2 溶出溶媒の検討結果

Oasis HLB について、マクロライド系抗生物質 13 成分に対する溶出溶媒を検討した。精製水 100 mL に標準物質各 100 ng を添加し、Oasis HLB に 10 mL/min で通水後、メタノール 5 mL で 2 回溶出したもの及びアセトニトリル 5 mL で 2 回溶出したものを比較した。

結果は表 3 のとおりであり、アセトニトリルとメタノールを比較すると、メタノールで溶出した方が回収率が高い物質が多いため、溶出溶媒はメタノールが適していると判断した。

溶媒溶出量について比較すると、チルミコシンを除きメタノール 1 回目での溶出で回収が可能であった。チルミコシンは後述の検討で同時分析できないことが分かったため、本分析法ではメタノール 5 mL での溶出とした。

#### 3.3 試料通水時の pH の検討

海水(水島沖) 100 mL に標準物質各 100 ng を添加し、

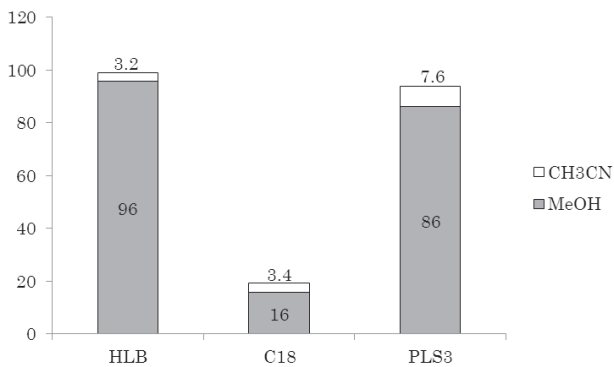


図 2 抽出用固相カートリッジの検討結果 (クラリスロマイシン)

表 3 溶出溶媒の検討試験結果(Oasis HLB)

対象物質	回収率(%)					
	メタノール			アセトニトリル		
	0-5 mL	5-10 mL	計	0-5 mL	5-10 mL	計
クラリスロマイシン	95	0	95	64	11	75
オレアンドマイシン	105	0	105	81	8	89
エリスロマイシン A	94	0	94	58	14	72
エリスロマイシン B	90	0	90	61	11	72
アジスロマイシン	93	0	93	64	12	76
ロキシスロマイシン	94	0	94	62	11	73
ロイコマイシン A5	91	0	91	89	0	90
ジョサマイシン	89	0	89	87	0	87
チルミコシン	82	68	150	3	16	19
タイロシン	91	0	91	89	0	90
リンコマイシン	119	0	119	80	1	82
クリンダマイシン	89	0	89	96	1	97
タクロリムス	120	0	121	117	1	117

pHをそれぞれ3, 4, 5, 7, 8, 9としたものに、10 mL/minで通水、メタノール5 mLで溶出した。

クラリスロマイシンを含む多くの物質で、pH3で回収率が高い傾向が確認されたが、エリスロマイシンAがpH3で極端に回収率が低くなることが分かり、大きく酸性側に傾いた状態では固相で保持されない、あるいは分解する可能性が示唆された(表4)。通常環境試料のpHであるpH7~8では回収率に問題が無かったため、pHを調整する分析法にはしなかった。なお、試料のpHや対象物質によって、pH調整の必要の有無を確認することが望ましい。

### 3.4 逆相-イオン交換ミックスモード固相の検討

マクロライド系抗生物質について、構造式から陽イオン交換系の抽出固相が適用できる可能性が考えられたため、Waters製 Oasis MCXの検討試験を実施した。また、前段の試料通水時のpH検討結果からチルミコシンがマトリックス効果を強く受けている可能性が考えられたため、マトリックス成分の除去を目的としたWaters製 Oasis MAXの検討も併せて実施した。

河川水(旭川・乙井手堰)、海水(水島沖)100 mLに標準物質各100 ngを添加し、10 mL/minで通水、Oasis MCXは、2%ギ酸水溶液、精製水で洗浄後、メタノール5 mLで溶出し、更に濃アンモニア水 / メタノール

(5:95)で溶出、Oasis MAXは濃アンモニア水 / 精製水(5:95)、精製水で洗浄後、メタノール5 mLで溶出し、更にギ酸 / メタノール(2:98)5 mLで溶出した。(測定溶媒はメタノール)。

結果は表5のとおりであり、Oasis MCXではメタノール及び濃アンモニア水 / メタノールでの溶出では回収できない物質が多く、使用に適さなかった。また、Oasis MAXによるチルミコシンの回収率の改善は認められなかった。

以上から、本分析法では逆相-イオン交換ミックスモード固相は使用しないこととした。

### 3.5 試験液の溶媒組成の検討結果

河川水(旭川・乙井手堰)及び海水(水島沖)100 mLに標準物質各100 ngを添加し、10 mL/minで固相に通水後メタノール5 mLで溶出したものを試験液とした。試験液の溶媒組成をメタノール / 精製水(1:4)、メタノール / 精製水(1:1)、メタノールと変更し、同じ溶媒組成の標準品との面積値の比較を行った結果を表6に示す。

本分析法ではメタノール / 精製水(1:4)の組成の場合、回収率が低くなる傾向が確認され、特に保持時間が最も長いタクロリムスで顕著であった。メタノール / 精製水(1:1)、メタノールについては両者に明確な差は無かった。なお、当センターでは動物用医薬品の一つであるサ

表4 通水時のpHの検討試験結果(Oasis HLB)

対象物質	回収率 (%)					
	pH3	pH4	pH5	pH7	pH8	pH9
クラリスロマイシン	100	91	88	88	80	83
オレアンドマイシン	101	89	96	93	90	78
エリスロマイシンA	9	60	86	91	86	81
エリスロマイシンB	97	89	85	85	75	78
アジスロマイシン	99	91	88	91	82	82
ロキシスロマイシン	87	94	85	88	76	84
ロイコマイシンA5	100	89	97	80	81	67
ジョサマイシン	95	86	97	78	82	64
チルミコシン	164	116	47	152	100	139
タイロシン	93	89	93	84	81	69
リンコマイシン	98	96	103	87	91	88
クリンダマイシン	115	104	109	101	94	89
タクロリムス	105	95	100	78	85	57

表5 逆相-イオン交換ミックスモード固相の検討試験結果

対象物質	回収率 (%)											
	海水						河川水					
	MAX			MCX			MAX			MCX		
	MeOH	ギ酸/ MeOH	計	MeOH	NH3/ MeOH	計	MeOH	ギ酸/ MeOH	計	MeOH	NH3/ MeOH	計
クラリスロマイシン	84	0	84	0	0	0	90	0	90	0	0	0
オレアンドマイシン	62	10	73	0	33	33	83	5	89	0	26	26
エリスロマイシン A	85	0	85	0	0	0	87	0	87	0	0	0
エリスロマイシン B	84	0	84	0	1	1	94	0	94	0	1	1
アジスロマイシン	83	0	83	0	0	0	90	0	90	0	0	0
ロキシスロマイシン	83	0	83	0	0	0	87	0	87	0	0	0
ロイコマイシン A5	63	3	66	0	0	0	78	2	80	0	2	2
ジョサマイシン	60	1	61	0	0	0	80	1	80	0	0	0
チルミコシン	164	1	165	1	161	162	126	12	138	0	183	183
タイロシン	66	3	69	0	0	0	78	2	80	0	0	0
リンコマイシン	83	0	84	0	79	79	64	0	65	0	78	78
クリンダマイシン	79	0	79	0	80	80	78	0	79	0	82	82
タクロリムス	40	0	41	75	0	75	76	0	77	101	0	101

表6 試験液の溶媒組成の検討試験結果

対象物質	回収率 (%)								
	メタノール/精製水(1:4)			メタノール/精製水(1:1)			メタノール		
	川	海	平均	川	海	平均	川	海	平均
クラリスロマイシン	78	80	79	88	82	85	89	87	88
オレアンドマイシン	89	89	89	91	68	79	90	75	83
エリスロマイシン A	85	85	85	89	85	87	83	86	84
エリスロマイシン B	80	81	80	83	81	82	83	82	82
アジスロマイシン	78	84	81	92	87	90	91	89	90
ロキシスロマイシン	83	82	83	93	89	91	92	97	95
ロイコマイシン A5	86	66	76	90	63	76	89	61	75
ジョサマイシン	82	63	73	91	62	77	90	59	75
チルミコシン	93	165	129	92	116	104	100	104	102

ルファ剤 26 物質についても調査研究として分析法開発を実施しており、そのうちスルファゲアニン等水溶性の高い物質では試験液をメタノールにするとピーク形状の悪化が認められた(図3)。マクロライド系抗生物質とサルファ剤の同時分析の可能性も視野に入れ、試験液の溶媒をメタノール / 精製水(1:1)とした。

### 3.6 移動相及びカラムの検討結果

測定カラムとして当初は Waters 製 XTerra カラムの

使用を想定していたため、このカラムで移動相の比較検討を行った。各条件におけるクロマトグラムを図4に示す。

ギ酸/アセトニトリル系とギ酸/メタノール系の移動相でクラリスロマイシンを測定しクロマトグラムを比較したところ、ギ酸/アセトニトリル系の移動相とした方がピーク形状が良好であった。

次にギ酸/アセトニトリル系の移動相で3種類の測定カラム(Waters 製 XTerra, Xbridge 及び Atlantis T3)

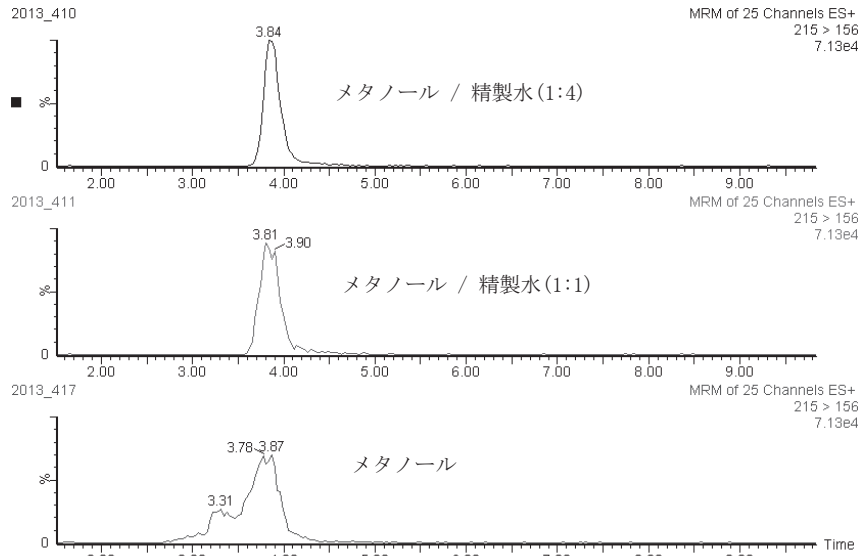


図3 スルファグアニジンの溶媒組成を変えたクロマトグラム

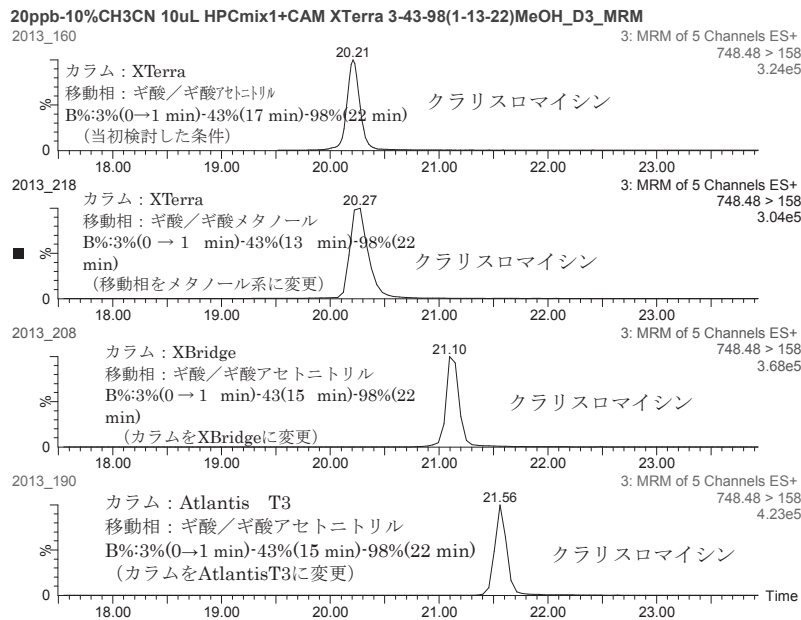


図4 移動相及びカラムを変更して測定したクロマトグラム

で測定したクロマトグラムを比較すると、Atlantis T3が最もピーク形状が良好であった。

よって、移動相はギ酸/アセトニトリル系とし、測定カラムにはAtlantis T3を採用することとした。

### 3.7 ロイコマイシンの測定イオンの検討

ロイコマイシンは、A1, A3～A9(A3 = ジョサマイシン)等の多成分からなる混合物で、A5(m.w 771.9)が有効成分である。インフュージョン分析によりマススペクトルを確認したところ最も大きいイオンは $m/z$  804.6で、そのプロダクトイオンにマクロライド系に特徴的なプロダクトイオンの1つの $m/z$  174.1があり、ロイコマ

イシン関連のイオンのようであった(図5及び図6)。なお、 $m/z$  804.6のプロダクトイオンに $m/z$  772.5が生成することから、 $m/z$  804.6はA5の $[M+H+32]^+$ と推測された(32 =  $CH_3OH$ と推測)。

そこで、有効成分であるロイコマイシン A5の標準品を入手し、スペクトルを調べたところ、 $[M+H]^+$ に該当する $m/z$  772と、それより強い強度で $m/z$  804( $[M+H+CH_3OH]^+$ と推測)が検出された(メタノール溶液をインフュージョン測定)(図7)。

このことから、Dr.Ehrenstorfer製ロイコマイシン A5標準品の試薬は、有効成分のロイコマイシン A5(m.w.



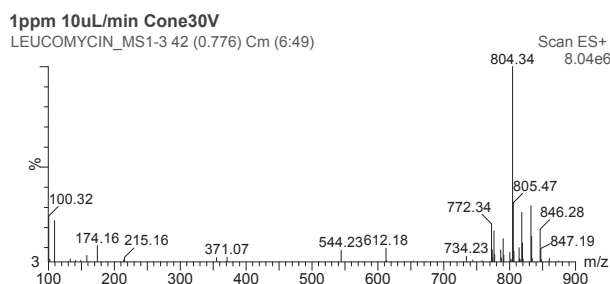


図5 ロイコマイシンのマススペクトル ( $m/z$  100-900)

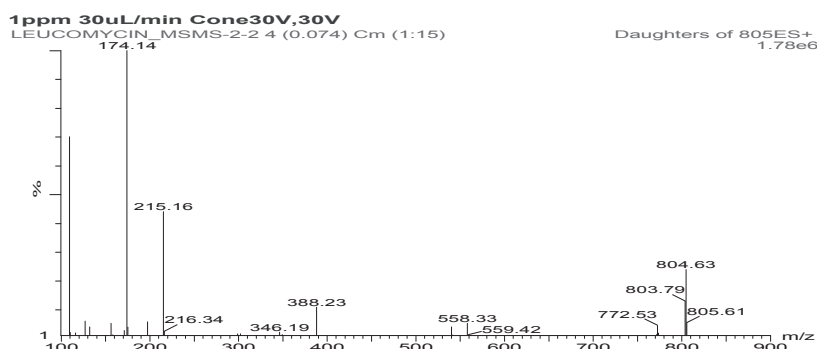


図6 プロダクトイオンのマススペクトル ( $m/z$  804.6)

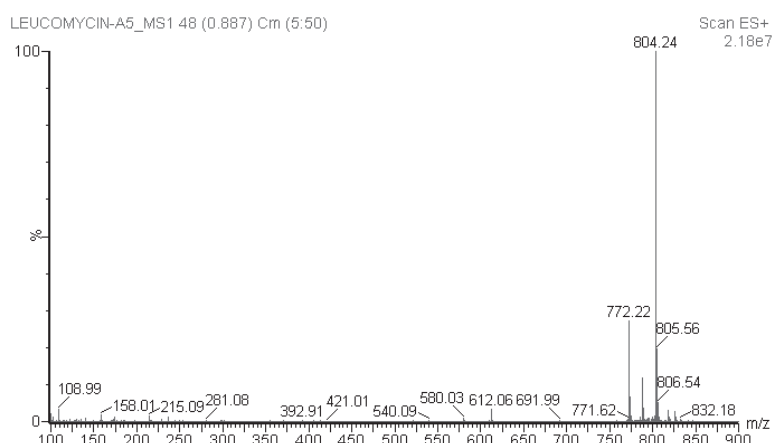


図7 ロイコマイシン A5 標準品のマススペクトル

771.9) を主成分とする A1, A3 ~ A9 等の混合物と判断された(図 8)。

なお、本分析法は、有効成分のロイコマイシン A5 を検討物質とした

### 3.8 オレアンドマイシンについて

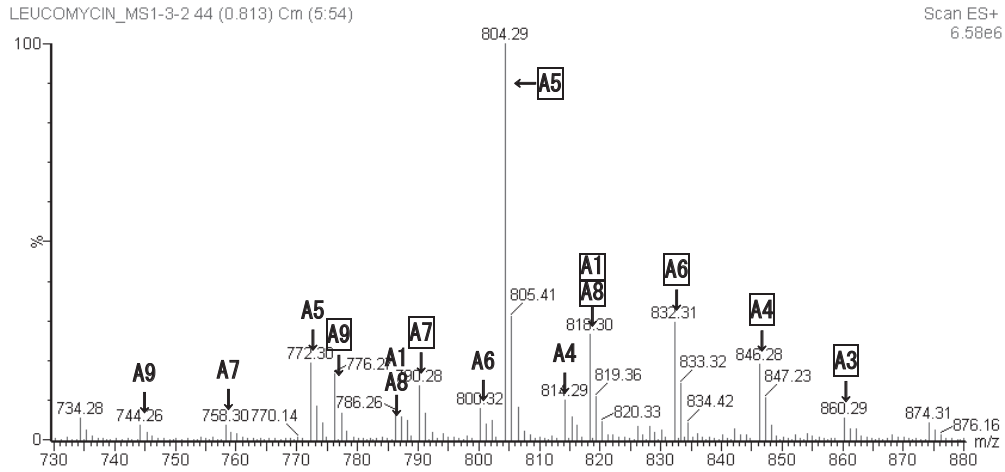
本検討で使用したオレアンドマイシン標準品 (Dr. Ehrenstorfer) の純度は 66.3 % である。標準品を SRM で測定してみると異性体と考えられるピークが複数見られたため、使用した標準品は数種の異性体の混合物であることが推察された(図 9)。

### 3.9 移動相条件の検討

クラリスロマイシンを含む同時分析物質 13 物質のうち、リンコマイシン (9.09 分) とタクロリムス (28.89 分) を除く 11 物質の保持時間が近接していたため、21 分に B : 75% となるよう緩やかにグラジエントさせるよう変更した。また、タクロリムスの保持時間が長いため、最終を B : 100% とし、洗いの時間をタクロリムスの溶出から 5 分後の 35 分まで延長した。最終条件における分離状況を図 10 に示す。

### 3.10 サロゲート物質の検討

クラリスロマイシンのサロゲート物質の市販は確認できなかったが、ロキシスロマイシンのサロゲート物質



無印は[M+H]<sup>+</sup>、□囲みは[M+H+CH<sub>3</sub>OH]<sup>+</sup>と考えられる 32amu 大きいイオンを表す。

図8 Dr.Ehrenstorfer 製ロイコマイシン標準品のマススペクトル

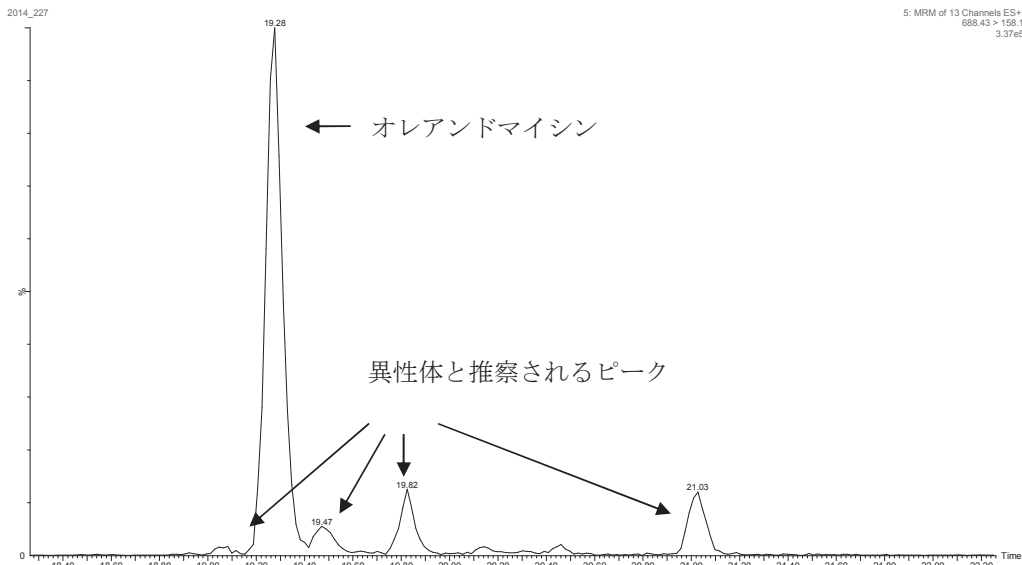


図9 オレアンドマイシン標準品のクロマトグラム(SRM)

(-d<sub>9</sub>) が市販されていたため、使用を検討した。

サロゲート物質 1 μg/mL を装置に注入し、ネイティブ物質の含有量を確認したところ、クラリスロマイシン及びオレアンドマイシンと同一の質量数にきょう雑ピークが確認された(図 11)。よって、本分析法にはサロゲート物質は使用しないこととした。

### 3.11 装置検出下限 (IDL) 及び検出下限 (MDL), 定量下限 (MQL)

IDL を表 7, MDL, MQL を表 8 に示す。

IDL は 0.045(タクロリムス) ~ 2.1 ng/mL(アジスロマイシン), MDL は 0.8(クラリスロマイシン) ~ 16 ng/L(アジスロマイシン) であった。アジスロマイシンとチルミ

コシンはきょう雑物質の影響により正のマトリックス効果が生じる傾向があり、定量性に問題があったため、同時分析はできないと判断した。

### 3.12 添加回収試験結果

河川水(旭川・乙井手堰), 海水(水島沖) 100 mL に標準物質各 30ng を添加し, 10 mL/min で通水, メタノール 5 mL で溶出した(測定溶媒はメタノール)。結果を表 9 に示す。

河川水では, 回収率は良好な結果であったが, 海水ではロイコマイシン A5, ジョサマイシン, タイロシン, タクロリムスが 70 % 未満, チルミコシンが 120 % 超となった。

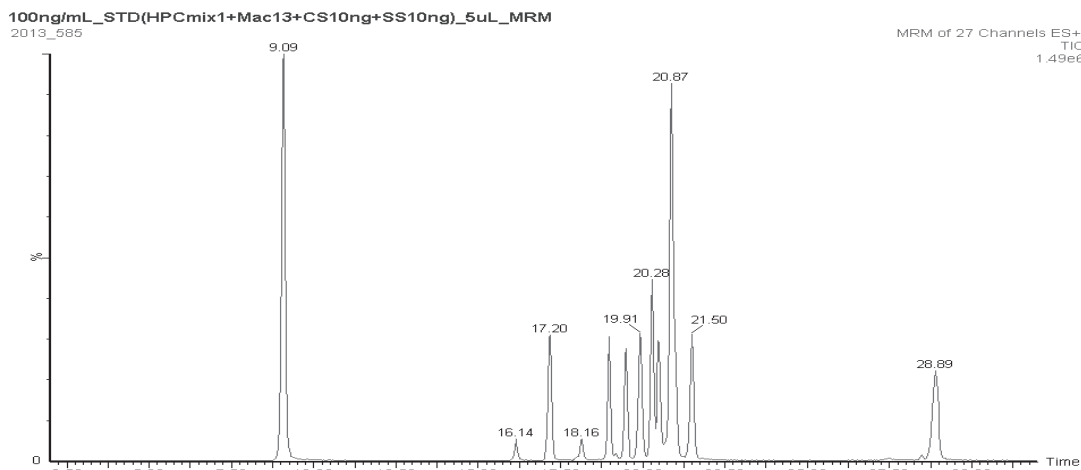


図10 最終的な移動相条件で測定したクロマトグラム

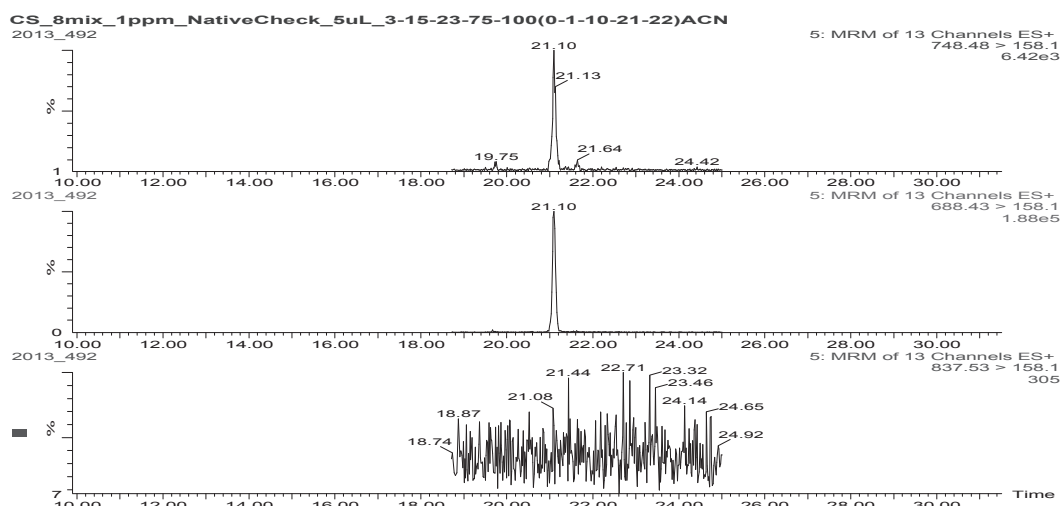


図11 ロキシシロマイシン-d9標準品のクロマトグラム

#### 4 まとめ

動物用医薬品の1つであるマクロライド系抗生物質13物質の多成分同時分析法を検討し、次の結果を得た。

- ① 本法は、試料100 mLを固相カートリッジに通水後、メタノールで溶出し、試験液をメタノール/精製水(1:1)に調整した後、LC/MS/MS(SRM法)で測定する方法であり、水質試料中のマクロライド系抗生物質13物質のうちアジシロマイシンとチルミコシンを除く11物質の同時分析に適用できた。
- ② 同時分析可能なマクロライド系抗生物質11物質について、河川水及び海水を用いた添加回収試験(河川水は300 ng/L、海水は20 ng/Lに調整)の回収率は、それぞれ73～91%、60～92%であった。
- ③ 本法の検出下限値は0.8～6.9 ng/Lであり、環境水中に存在するマクロライド系抗生物質を高感度に検出

できる分析法を開発できた。

なお、本研究は環境省委託の平成25年度化学物質分析開発調査及び平成26年度化学物質環境実態調査(環境省環境安全課)と連携して実施した。

#### 文 献

- 1) 環境省総合環境政策局環境保険部環境安全課：化学物質環境実態調査実施の手引き(平成20年度版)、平成21年3月、2009

表 7 装置検出下限(IDL)の算出結果

物質名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	注入液濃度 (ng/mL)	注入量 (L)	平均値 (ng/mL)	標準偏差 (ng/mL)	IDL (ng/mL)*	IDL 試料換算値 (ng/L)	S/N	CV (%)
クラリスロマイシン	100	1	0.200	5.0	0.207	0.0143	0.056	0.56	12	6.9
オレアンドマイシン	100	1	1.75	5.0	1.71	0.187	0.73	7.3	11	11
エリスロマイシン A	100	1	1.00	5.0	0.953	0.0648	0.25	2.5	11	6.8
エリスロマイシン B	100	1	1.00	5.0	1.11	0.0974	0.38	3.8	9.9	8.8
アジスロマイシン	100	1	10.0	5.0	9.97	0.541	2.1	21	8.8	5.4
ロキシスロマイシン	100	1	2.00	5.0	2.04	0.164	0.64	6.4	13	8.0
ロイコマイシン A5	100	1	1.00	5.0	1.00	0.114	0.44	4.4	8.0	11
ジョサマイシン	100	1	1.00	5.0	1.08	0.118	0.46	4.6	9.3	11
チルミコシン	100	1	5.00	5.0	4.97	0.396	1.5	15	13	8.0
タイロシン	100	1	1.00	5.0	1.08	0.0731	0.28	2.8	9.1	6.8
リンコマイシン	100	1	0.500	5.0	0.511	0.0418	0.16	1.6	8.8	8.2
クリンダマイシン	100	1	1.00	5.0	1.10	0.102	0.40	4.0	12	9.3
タクロリムス	100	1	0.200	5.0	0.198	0.0116	0.045	0.45	13	5.9

\*: IDL = t (n-1,0.05) × σ<sub>n-1</sub> × 2

表 8 検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL) の算出結果

対象物質	試料	標準添加量 (ng)	試料換算濃度 (ng/L)	操作ブランク平均 (ng/L)	無添加平均 (ng/L)	平均値 (ng/L)	標準偏差 (ng/L)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)	S/N	CV(%)
クラリスロマイシン	海水	0.300	3.00	ND	0.93	3.83	0.206	0.80	2.1	23	5.4
オレアンドマイシン	海水	1.75	17.5	ND	ND	14.9	1.74	6.8	17	10	12
エリスロマイシン A	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.1	1.26	4.9	13	13	7.0
エリスロマイシン B	海水	2.00	20.0	ND	ND	18.1	1.79	6.9	18	15	9.8
アジスロマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	31.5	4.14	16	41	9.0	13
ロキシスロマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	16.9	1.66	6.5	17	11	9.9
ロイコマイシン A5	海水	2.00	20.0	ND	ND	16.5	1.50	5.8	15	15	9.1
ジョサマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	15.8	1.42	5.5	14	11	9.0
チルミコシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	45.8	2.93	11	29	6.9	6.4
タイロシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	16.9	1.43	5.6	14	7.1	8.4
リンコマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	19.0	1.28	5.0	13	29	6.7
クリンダマイシン	海水	2.00	20.0	ND	ND	20.4	1.59	6.2	16	13	7.8
タクロリムス	海水	0.300	3.00	ND	ND	1.61	0.306	1.2	3.1	11	19

表 9 添加回収試験結果

対象物質	回収率(%)			
	河川水		海水	
	無添加	添加	無添加	添加
クラリスロマイシン	ND	82	ND	82
オレアンドマイシン	ND	90	ND	92
エリスロマイシン A	ND	86	ND	85
エリスロマイシン B	ND	75	ND	74
アジスロマイシン	ND	82	ND	85
ロキシスロマイシン	ND	76	ND	78
ロイコマイシン A5	ND	81	ND	66
ジョサマイシン	ND	82	ND	68
チルミコシン	ND	100	ND	148
タイロシン	ND	81	ND	69
リンコマイシン	ND	91	ND	91
クリンダマイシン	ND	94	ND	90
タクロリムス	ND	85	ND	60

