

5-(プロピオチオ)-1*H*-ベンゾイミダゾール-2-イル

カルバミド酸メチル

5-(Propylthio)-1*H*-benzimidazol-2-yl-carbamic acid methyl

IUPAC 名：メチル *N*-(5-プロピルスルファニル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2-イル)

カルバメート

Methyl *N*-(5-propylsulfanyl-1*H*-benzimidazol-2-yl) carbamate

別名：アルベンダゾール

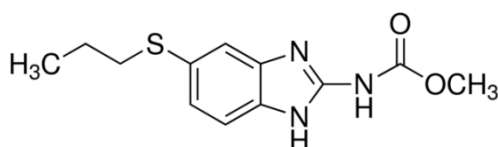
Albendazole

同時分析：5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2-アミン（アルベンダゾール代謝物）、アルベンダゾールスルホキシド、アルベンダゾールスルホン

5-Propylsulfonyl-1*H*-benzimidazol-2-amine (Albendazole metabolite),

Albendazole sulfoxide, Albendazole sulfone

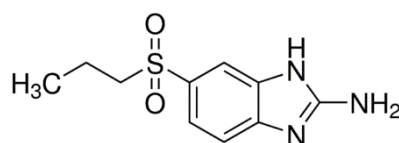
【対象物質の構造】



Albendazole

CAS 番号：54965-21-8

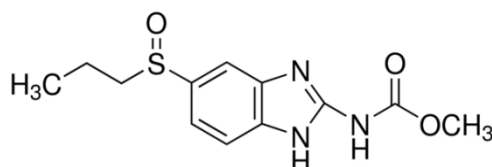
分子式：C₁₂H₁₅N₃O₂S



5-Propylsulfonyl-1*H*-benzimidazol-2-amine (Albendazole metabolite)

CAS 番号：80983-34-2

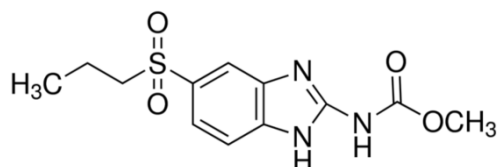
分子式：C₁₀H₁₃N₃O₂S



Albendazole sulfoxide

CAS 番号：54029-12-8

分子式：C₁₂H₁₅N₃O₃S



Albendazole sulfone

CAS 番号：75184-71-3

分子式：C₁₂H₁₅N₃O₄S

【物理化学的性状】

物質名	アルベンダゾール (ABZ)	アルベンダゾール 代謝物 (ABZm)
[分子量 (平均分子量)]	265.33	239.29
[分子量 (モノイットピック質量)]	265.0885	239.0728
[融点] (°C)	209 ¹⁾	209.44 ¹⁾
[密度] (g/cm ³)	1.3±0.1 ²⁾	1.4±0.1 ²⁾
[蒸気圧] (mmHg) (25°C)	1.48×10 ⁻⁹ ¹⁾ (1.97×10 ⁻⁹ hPa [*])	4.49×10 ⁻¹⁰ ¹⁾ (5.97×10 ⁻¹⁰ hPa [*])
[水溶解度] (mg/L) (25°C)	46.39 ¹⁾	11650 ¹⁾
[log P _{ow}]	3.07 ³⁾	0.43 ¹⁾

物質名	アルベンダゾール スルホキシド (ABZsulfoxide)	アルベンダゾール スルホン (ABZsulfone)
[分子量 (平均分子量)]	281.33	297.33
[分子量 (モノイットピック質量)]	281.0834	297.0783
[融点] (°C)	218.93 ¹⁾	222.75 ¹⁾
[密度] (g/cm ³)	1.06±0.1 ²⁾	1.4±0.1 ²⁾
[蒸気圧] (mmHg) (25°C)	5.9×10 ⁻¹¹ ¹⁾ (7.8×10 ⁻¹¹ hPa [*])	5.9×10 ⁻¹¹ ¹⁾ (7.8×10 ⁻¹¹ hPa [*])
[水溶解度] (mg/L) (25°C)	1296 ¹⁾	1449 ¹⁾
[log P _{ow}]	0.97 ¹⁾	1.10 ¹⁾

*: 換算値 (1 mmHg=1.33 hPa による。)

【毒性、用途】

〔急性毒性〕

ABZ : 毒性情報なし
 ABZm : 毒性情報なし
 ABZsulfoxide : 毒性情報なし
 ABZsulfone : 毒性情報なし

〔用途〕

ABZ : 医薬 (駆虫剤)^{4) 5)}、海外で動物用医薬
 ABZm : アルベンダゾールの代謝物、国内では食品中の動物用医薬品

残留規制対象物質としてアルベンダゾールの代わりに測定される⁶⁾

ABZsulfoxide : アルベンダゾール及びネトビミンの代謝物、海外で動物用医薬 (リコベンダゾール：駆虫剤)⁷⁾

ABZsulfone : アルベンダゾールの代謝物

出典：

- 1) U.S. EPA, Estimation Programs Interface (EPI) Suite v4.1
- 2) ACD/Labs Percepta Predictors
- 3) Sangster, J. A databank of evaluated octanol-water partition coefficients (Log P) (2006)
- 4) NITE 調査
- 5) JECFA: “Albendazole”. Toxicological evaluation of certain veterinary drug
- 6) 厚生労働省「薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会報告について」(平成 28 年 11 月 28 日)
- 7) EMEA, Committee for veterinary medical products ALBENDAZOLE OXIDE summary report (2)

§1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料にサロゲート内標準を添加し、固相カートリッジに通水し、メタノールで溶出する。精製水で定容し、LC/MS/MS-SRM (ESI+) で測定する。なお、本法はアルベンダゾールの他、アルベンダゾールの主要な代謝物である 5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンゾイミダゾール-2-アミン (アルベンダゾール代謝物)、アルベンダゾールスルホキシド及びアルベンダゾールスルホンの同時分析に適用可能である。

(2) 試薬・器具(注 1)

【試薬】

アルベンダゾール	: Combi-Blocks 製 (純度 98%)
アルベンダゾール代謝物	: 和光純薬工業製 高速液体クロマトグラフ用 (純度 98.0%)

アルベンダゾールスルホキシド	: TrontReserch Chemicals 製 (純度 98.0%)
アルベンダゾールスルホン	: TrontReserchChemicals 製 (純度 98.0%)
アルベンダゾール- d_3	: Sigma-Aldrich 製 (純度 98.0%)
固相カートリッジ	: Waters 製 Sep-Pak Plus PS-2 (265mg)
アセトニトリル	: 和光純薬工業製 LC/MS 用
メタノール	: 和光純薬工業製 LC/MS 用
N,N -ジメチルホルムアミド	: 和光純薬工業製 高速液体クロマトグラフ用
ギ酸	: 和光純薬工業製 LC/MS 用
精製水	: 超純水製造装置 (ミリポア製) で製造した MilliQ 水の採水口に LC-Pak (注 2) を接続して処理したもの。

【標準液の調製】

〔標準原液〕

アルベンダゾール(ABZ) の標準品を正確に 100 mg 量り取り、少量の N,N -ジメチルホルムアミドで溶解し、メタノールで 100 mL として 1.0 mg/mL の標準原液を調製する。

アルベンダゾール代謝物 (ABZm)、アルベンダゾールスルホキシド (ABZsulfoxide) 及びアルベンダゾールスルホン (ABZsulfone) については、各標準品を正確に 2.0 mg 量り取り、少量の N,N -ジメチルホルムアミドで溶解し、メタノールで 20 mL として 100 μ g/mL の標準原液を調製する。

〔サロゲート内標準液〕

アルベンダゾール- d_3 (ABZ- d_3) 5.0 mg を正確に量り取り、少量の N,N -ジメチルホルムアミドで溶解し、メタノールで 5 mL として 1.0 mg/mL のサロゲート内標準原液を調製する。サロゲート内標準原液をメタノールで希釈して、濃度 0.20 ng/ μ L のサロゲート内標準液とする。

〔検量線用標準液〕

標準原液をメタノール/精製水(1:1)溶液で順次希釈し、ABZ の濃度が 0.020 ～ 10 ng/mL、ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone の濃度が 0.20～100 ng/mL の混合標準液を調製する。各濃度の標準液には、サロゲート内標準として、ABZ- d_3 を 0.20 ng/mL になるように添加し、検量線用標準液とする。

【器具】

メスフラスコ(10 mL、20 mL、100 mL) (注 3)
プラスチックビーカー (200 mL) (注 4)
共栓付きガラス試験管(10 mL) (注 3)
注射筒 (10 mL) (注 3)
マイクロシリンジ (注 5)
LC オートサンプラー用バイアル瓶 (プラスチック製) (注 4)
試料採取瓶 (プラスチック製) (注 4)

(3) 分析法

【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)の「試料の採取及び検体の調製等」に従う。試料はメタノールで洗浄したプラスチック製容器に採取する。

【試料の前処理及び試験液の調製】

試料0.10 Lにサロゲート内標準液として、ABZ- d_3 0.20 ng/ μ Lを10 μ L添加し、十分に混和した後、あらかじめコンディショニング (注6) した固相カートリッジに10 mL/minで通水する。通水後の固相カートリッジを精製水20 mLで洗浄し、メタノール 5 mLを用いて溶出する。溶出液は精製水で10 mLに定容し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料水と同量の精製水を用い、【試料の前処理及び試験液の調製】の項に従って操作し、得られた試験液を空試験液とする。

【測定】 (注 7)

〔LC/MS 測定条件〕

〔LC 条件〕

LC 機種	: Agilent 製 1200
カラム	: ナカライテスク製 COSMOSIL PBr (150 mm $\times$ 2.0 mm, 5 μ m)
移動相	: A : ギ酸/精製水(0.1:99.9) B : ギ酸/アセトニトリル(0.1:99.9) 0 $\rightarrow$ 4 min A:B=80:20 4 $\rightarrow$ 9 min A=80 $\rightarrow$ 10 B=20 $\rightarrow$ 90 linear gradient

	9→11 min A:B=10:90
	11→11.01 min A=10→80 B=90→20 linear gradient
	11.01→17 min A:B=80:20
流量	: 0.2 mL/min
カラム温度	: 40°C
注入量	: 2 µL
[MS 条件]	
MS 機種	: Agilent 製 6460
ガス温度	: 300°C
ガス流量	: 5 L/min
ネブライザーガス圧力	: 45 psi
シースガス温度	: 250°C
シースガス流量	: 11 L/min
キャピラリー電圧	: 3500V
イオン化法	: ESI-Positive (イオンソース Agilent Jet Stream)
測定モード	: SRM
フラグメンター電圧	: 120V
コリジョンエネルギー	: ABZ (25eV)、ABZ- <i>d</i> ₃ (15eV) ABZm、ABZsulfoxide、ABZsulfone (20eV)
モニターイオン	: ABZ : (定量) <i>m/z</i> 266.1 > 234.1
	: (確認) <i>m/z</i> 266.1 > 191.1
	: ABZ- <i>d</i> ₃ : (定量) <i>m/z</i> 269.2 > 234.1
	: ABZm : (定量) <i>m/z</i> 240.1 > 133.0
	: (確認) <i>m/z</i> 240.1 > 198.1
	: ABZsulfoxide : (定量) <i>m/z</i> 282.1 > 208.1
	: (確認) <i>m/z</i> 282.1 > 240.1
	: ABZsulfone : (定量) <i>m/z</i> 298.1 > 224.1
	: (確認) <i>m/z</i> 298.1 > 159.0

〔検量線〕

検量線用標準液 2 µL を LC/MS に注入して分析する。ABZ は、対象物質とサロゲート内標準の濃度比及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone は、標準液の濃度及びピーク面積から検量線を作成する。

〔定量〕

試験液 2 µL を LC/MS/MS に注入し、ABZ は、対象物質とサロゲート内標準の濃度及びピーク面積の比を検量線に照らして定量する。ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone は、ピーク面積を検量線に照らして定量する。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

(1) ABZ

$$C = R \cdot Q/V$$

R ：検量線から求めたサロゲート内標準濃度に対する対象物質濃度の比

Q ：試料中に添加したサロゲート内標準の量 (ng)

(= 添加するサロゲート内標準の濃度 (ng/µL) × 添加するサロゲート内標準の容量 (µL))

V ：試料水量 (L)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

$$Q = 2.0 \text{ (ng)}$$

(= 添加したサロゲート内標準の濃度 (0.20 ng/µL) × 添加したサロゲート内標準の容量 (10 µL))

$$V = 0.10 \text{ (L)}$$

即ち、 $C = R \times 20$ (ng/L)である。

(2) ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone

$$C \text{ (ng/L)} = \text{検出濃度 (ng/mL)} \times \text{最終液量 (mL)} / \text{試料量 (L)}$$

〔装置検出下限値 (IDL)〕

本分析に用いた LC/MS/MS の IDL を表 1 に示す (注 8)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (pg)	試料量 (L)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (µg/L)
ABZ	0.0078	0.10	10	0.00039
ABZm	0.13	0.10	10	0.0063
ABZsulfoxide	0.12	0.10	10	0.0061
ABZsulfone	0.23	0.10	10	0.011

〔分析方法の検出下限値 (MDL) 及び定量下限値 (MQL)〕

本分析方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す（注 9）。

表 2 MDL 及び MQL 算出結果

物質名	試料量 (L)	最終液量 (mL)	MDL ($\mu\text{g/L}$)	MQL ($\mu\text{g/L}$)
ABZ	0.10	10	0.0010	0.0026
ABZm	0.10	10	0.010	0.027
ABZsulfoxide	0.10	10	0.0049	0.013
ABZsulfone	0.10	10	0.011	0.029

注 解

- (注1) ここで示す製品は実際に使用した商品を掲げたが、これを推奨するわけではなく、これと同等以上の品質、性能のものを用いても問題ない。
- (注2) LC-Pak（メルクミリポア製）には、C18逆相シリカが充填されており、MilliQ水を更に精製し、有機不純物を除去することを目的として使用した。
- (注3) JIS R 3505に記載のクラスAのガラス器具を使用する。
- (注4) 水質試料中のABZはガラス製の器具・容器に吸着するため、試料採取瓶と試料分取用のビーカーはプラスチック製容器を用いる。なお、50%以上のメタノールが添加される標準原液、検量線用標準液、固相抽出の溶出液を回収する試験管にはガラス製容器を用いて構わない。
- (注5) マイクロシリンジ及びマイクロピペットを使用する場合には精度管理ないしはバリデーションされたものを用いることを基本とし、測定誤差2%以下となることを担保しておくのが望ましい。
- (注6) 固相カートリッジは、使用直前にメタノール5 mL、精製水10 mLでコンディショニングする。
- (注7) LC/MS/MSの条件は、本測定に使用した機種（Agilent製Agilent 1200/Agilent 6460）特有のものである。

(注 8) IDL は、環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 3 のとおり算出した。また IDL 測定時のクロマトグラムを図 1-1、1-2 に示す。

表 3 IDL の算出結果

物質名	ABZ	ABZm	ABZsulfoxide	ABZsulfone
試料量 (L)	0.10	0.10	0.10	0.10
最終液量 (mL)	10	10	10	10
注入液濃度 (ng/mL)	0.020	0.20	0.20	0.20
注入量 (pg)	0.040	0.40	0.40	0.40
装置注入液量 (μL)	2.0	2.0	2.0	2.0
結果 1 (pg)	0.0469	0.406	0.398	0.427
結果 2 (pg)	0.0455	0.368	0.459	0.452
結果 3 (pg)	0.0433	0.344	0.424	0.543
結果 4 (pg)	0.0409	0.396	0.391	0.394
結果 5 (pg)	0.0452	0.364	0.459	0.361
結果 6 (pg)	0.0431	0.441	0.383	0.481
結果 7 (pg)	0.0426	0.400	0.426	0.455
平均値 (pg)	0.04392	0.3884	0.4201	0.4449
標準偏差 (pg)	0.00201	0.0323	0.0312	0.0594
IDL (pg)*	0.0078	0.13	0.12	0.23
IDL 試料換算値 (μg/L)	0.00039	0.0063	0.0061	0.011
S/N	12	15	12	9.5
CV (%)	4.6	8.3	7.4	13

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

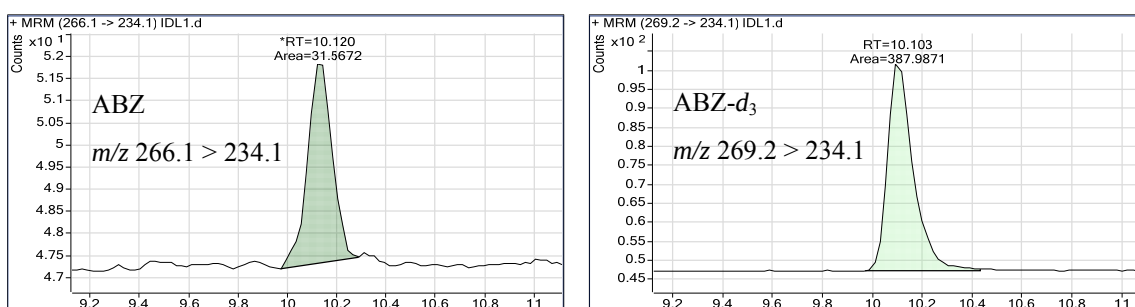


図 1-1 IDL 測定時のクロマトグラム*

(ABZ : 0.020 ng/mL、サロゲート内標準 ABZ-d₃ : 0.20 ng/mL)

* : ABZ のピークがややリーディングしているが、低濃度試料を測定しているため、ピーク高さが低く、周辺のノイズとの兼ね合いでこのような形状に積分されたことによる。

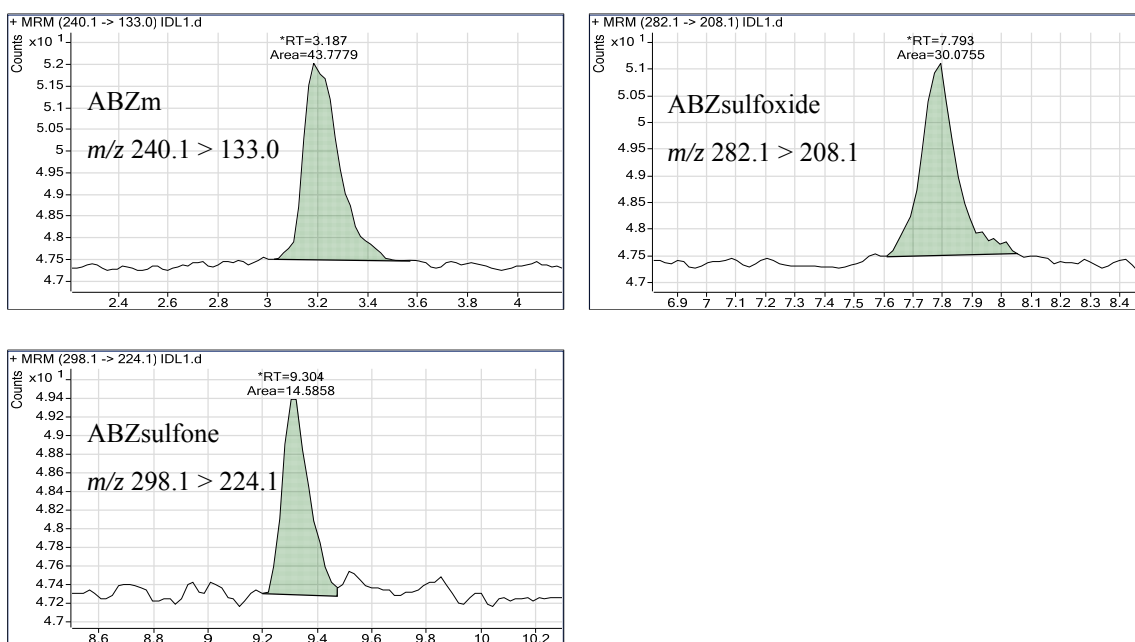


図 1-2 IDL 測定時のクロマトグラム

(ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone : 0.20 ng/mL)

(注 9) MDL 及び MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 28 年 3 月)に従って、表 4-1~4-4 のとおり算出した。また、図 2-1 及び 2-2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4-1 MDL 及び MQL の算出結果(ABZ)

対象物質名	ABZ	サロゲート回収率 (%)
試料	河川水 (豊沢川)	—
試料量 (L)	0.10	—
標準添加量(ng)	0.50	—
試料換算濃度(μg/L)	0.0050	—
最終液量 (mL)	10	—
注入液濃度 (ng/mL)	0.050	—
注入量 (μL)	2.0	—
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	<0.0010	104
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	<0.0010	103
結果 1 (μg/L)	0.00475	104
結果 2 (μg/L)	0.00467	101
結果 3 (μg/L)	0.00451	106
結果 4 (μg/L)	0.00496	96
結果 5 (μg/L)	0.00494	100
結果 6 (μg/L)	0.00519	91
結果 7 (μg/L)	0.00449	94
平均値 (μg/L)	0.004786	99.9
標準偏差 (μg/L)	0.000257	
MDL (μg/L) ^{*3}	0.0010	
MQL (μg/L) ^{*4}	0.0026	
S/N	21	
CV (%)	5.4	

*1: 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*2: MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値(n = 2)

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

*4: $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

*5: 結果の濃度はサロゲート補正後の値

表 4-2 MDL 及び MQL の算出結果(ABZm)

対象物質名	ABZm	回収率(%)
試料	河川水 (豊沢川)	—
試料量 (L)	0.10	—
標準添加量(ng)	5.0	—
試料換算濃度(μg/L)	0.050	—
最終液量 (mL)	10	—
注入液濃度 (ng/mL)	0.50	—
注入量 (μL)	2.0	—
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	<0.010	—
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	<0.010	—
結果 1 (μg/L)	0.0542	108
結果 2 (μg/L)	0.0486	97
結果 3 (μg/L)	0.0492	98
結果 4 (μg/L)	0.0522	104
結果 5 (μg/L)	0.0463	93
結果 6 (μg/L)	0.0479	96
結果 7 (μg/L)	0.0488	98
平均値 (μg/L)	0.04959	99.2
標準偏差 (μg/L)	0.00268	
MDL (μg/L) ^{*3}	0.010	
MQL (μg/L) ^{*4}	0.027	
S/N	33	
CV (%)	5.4	

*1: 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*2: MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=7)

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

*4: $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-3 MDL 及び MQL の算出結果(ABZsulfoxide)

対象物質名	ABZsulfoxide	回収率(%)
試料	河川水 (豊沢川)	—
試料量 (L)	0.10	—
標準添加量(ng)	5.0	—
試料換算濃度(μg/L)	0.050	—
最終液量 (mL)	10	—
注入液濃度 (ng/mL)	0.50	—
注入量 (μL)	2.0	—
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	<0.0049	—
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	<0.0049	—
結果 1 (μg/L)	0.0532	106
結果 2 (μg/L)	0.0507	101
結果 3 (μg/L)	0.0497	99
結果 4 (μg/L)	0.0497	99
結果 5 (μg/L)	0.0498	100
結果 6 (μg/L)	0.0501	100
結果 7 (μg/L)	0.0512	102
平均値 (μg/L)	0.05061	101
標準偏差 (μg/L)	0.00126	
MDL (μg/L) ^{*3}	0.0049	
MQL (μg/L) ^{*4}	0.013	
S/N	22	
CV (%)	2.5	

*1: 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*2: MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=7)

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

*4: $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

表 4-4 MDL 及び MQL の算出結果(ABZsulfone)

対象物質名	ABZsulfone	回収率(%)
試料	河川水 (豊沢川)	—
試料量 (L)	0.10	—
標準添加量(ng)	5.0	—
試料換算濃度(μg/L)	0.050	—
最終液量 (mL)	10	—
注入液濃度 (ng/mL)	0.50	—
注入量 (μL)	2.0	—
操作ブランク平均 (μg/L) ^{*1}	<0.011	—
無添加平均 (μg/L) ^{*2}	<0.011	—
結果 1 (μg/L)	0.0457	91
結果 2 (μg/L)	0.0450	90
結果 3 (μg/L)	0.0466	93
結果 4 (μg/L)	0.0525	105
結果 5 (μg/L)	0.0459	92
結果 6 (μg/L)	0.0439	88
結果 7 (μg/L)	0.0488	98
平均値 (μg/L)	0.04691	93.8
標準偏差 (μg/L)	0.00292	
MDL (μg/L) ^{*3}	0.011	
MQL (μg/L) ^{*4}	0.029	
S/N	13	
CV (%)	6.2	

*1: 空試験液を測定した値の平均値 (n=2)

*2: MDL 算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値 (n=7)

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

*4: $MQL = \sigma_{n-1} \times 10$

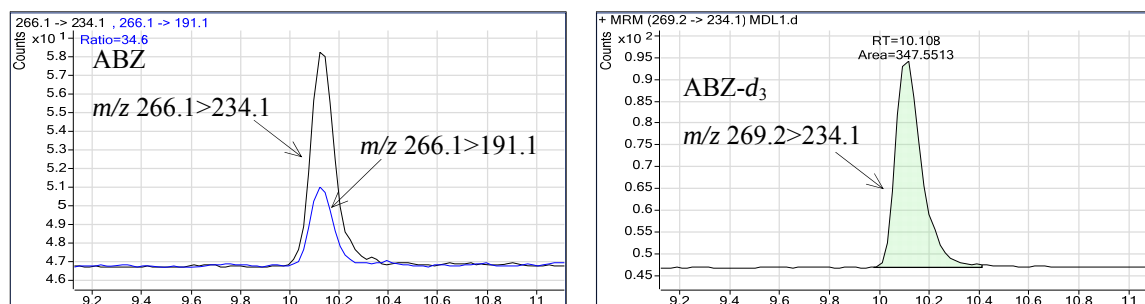


図 2-1 MDL 算出時のクロマトグラム
(ABZ、サロゲート内標準 ABZ- d_3 : 0.20 ng/mL)

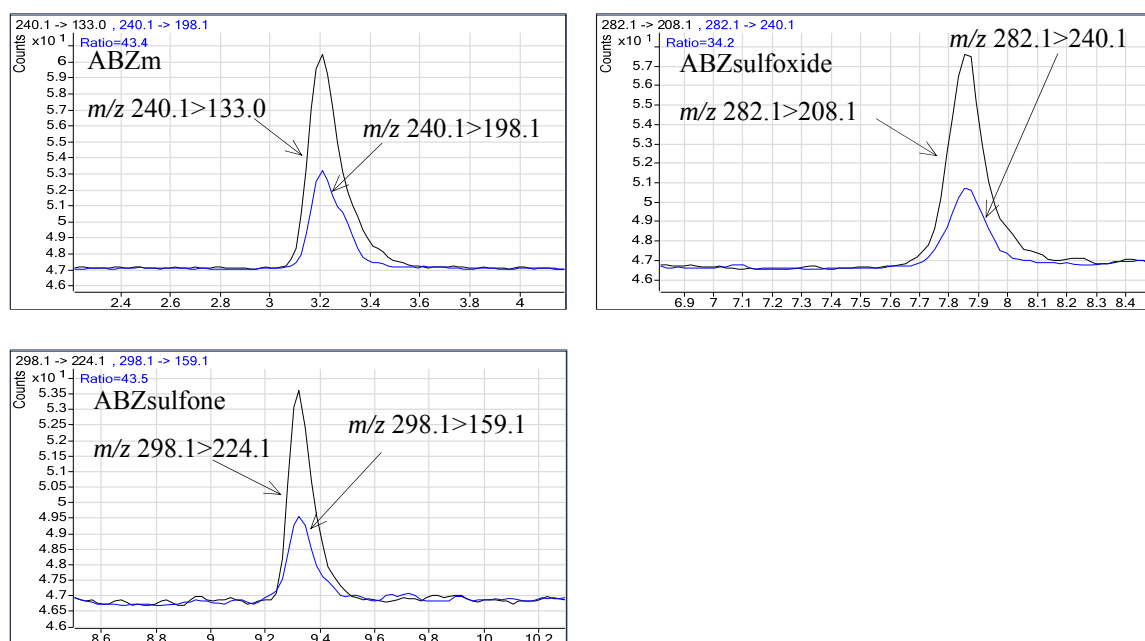


図 2-2 MDL 算出時のクロマトグラム
(ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone)

§2 解説

【分析法】

〔フローチャート〕

分析法のフローチャートを図3に示す。

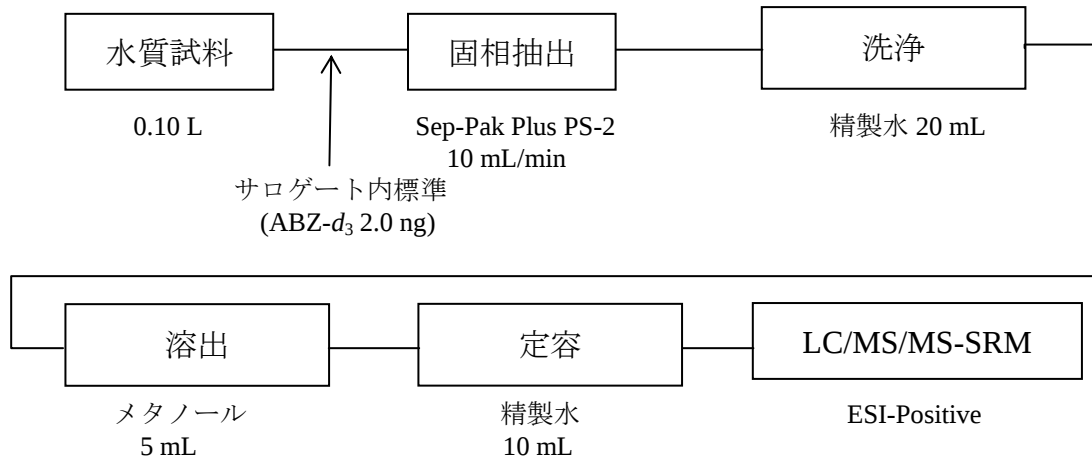


図3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図4-1～4-4に、検量線作成用データを表5-1及び5-2に示す。

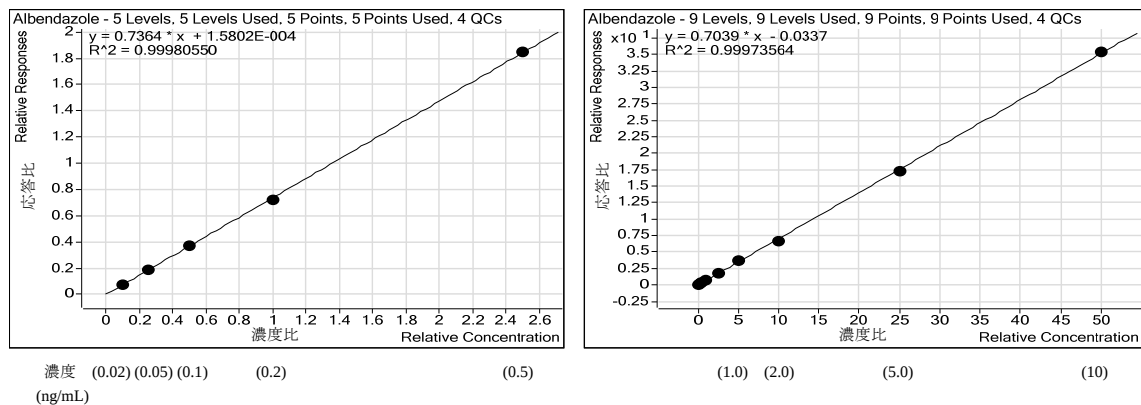


図4-1 ABZ 検量線

(対象物質濃度範囲 0.020～0.50 ng/mL (左図)、0.020～10 ng/mL (右図))

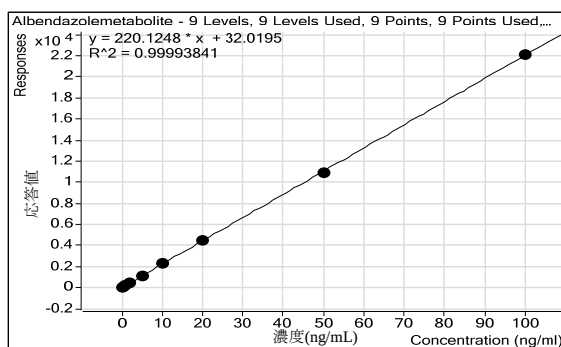
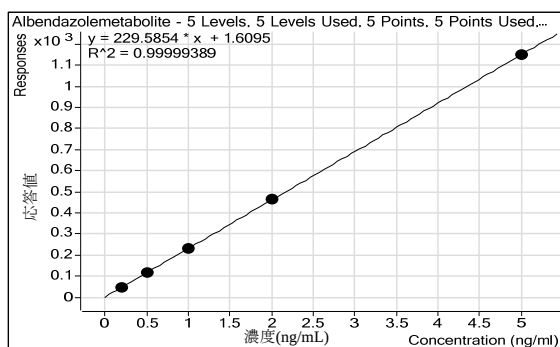


図 4-2 ABZm 検量線

(対象物質濃度範囲 0.20~5.0 ng/mL (左図)、0.20~100 ng/mL (右図))

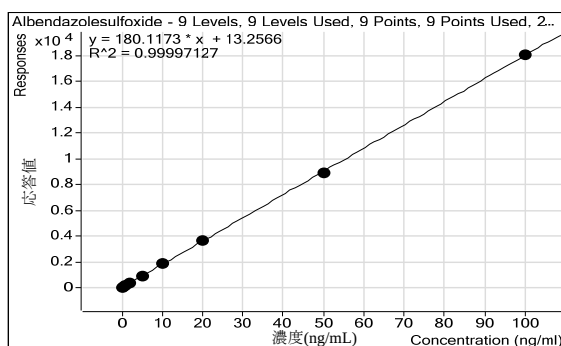
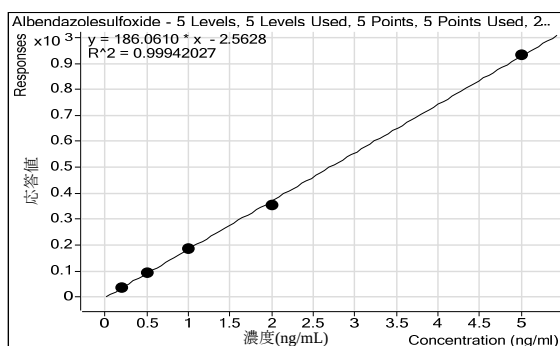


図 4-3 ABZsulfoxide 検量線

(対象物質濃度範囲 0.20~5.0 ng/mL (左図)、0.20~100 ng/mL (右図))

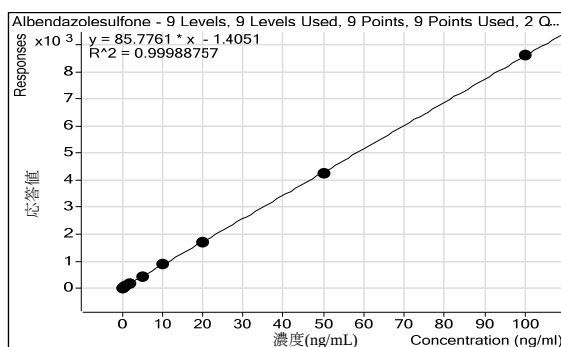
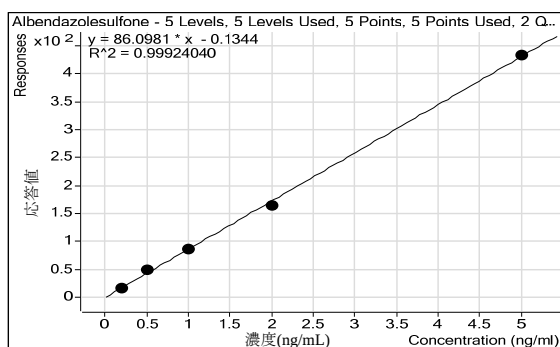


図 4-4 ABZsulfone 検量線

(対象物質濃度範囲 0.20~5.0 ng/mL (左図)、0.20~100 ng/mL (右図))

表 5-1 ABZ の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	濃度比 (C _s /C _{is} *)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質	サロゲート内標準	
		ABZ (A _s) (m/z 266.1 > 234.1)	ABZ - d ₃ (A _{is}) (m/z 269.2 > 234.1)	
0.020	0.10	29.3	385	0.0761
0.050	0.25	73.8	392	0.188
0.10	0.50	145	388	0.374
0.20	1.0	265	369	0.719
0.50	2.5	659	357	1.85
1.0	5.0	1380	382	3.62
2.0	10	2630	394	6.69
5.0	25	6410	372	17.2
10	50	13000	367	35.4

C_{is}* : サロゲート内標準物質濃度 0.20 ng/mL

表 5-2 ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone の検量線作成用データ

標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	対象物質(A _s)応答値		
	ABZm (m/z 240.1 > 133.0)	ABZsulfoxide (m/z 282.1 > 208.1)	ABZsulfone (m/z 298.1 > 224.1)
0.20	47.7	37.1	16.8
0.50	116	95.7	48.2
1.0	230	186	85.5
2.0	463	354	165
5.0	1150	933	433
10	2340	1860	906
20	4480	3640	1680
50	10900	8950	4230
100	22100	18000	8610

[クロマトグラム]

標準液のクロマトグラムを図 5-1～5-4 に示す。

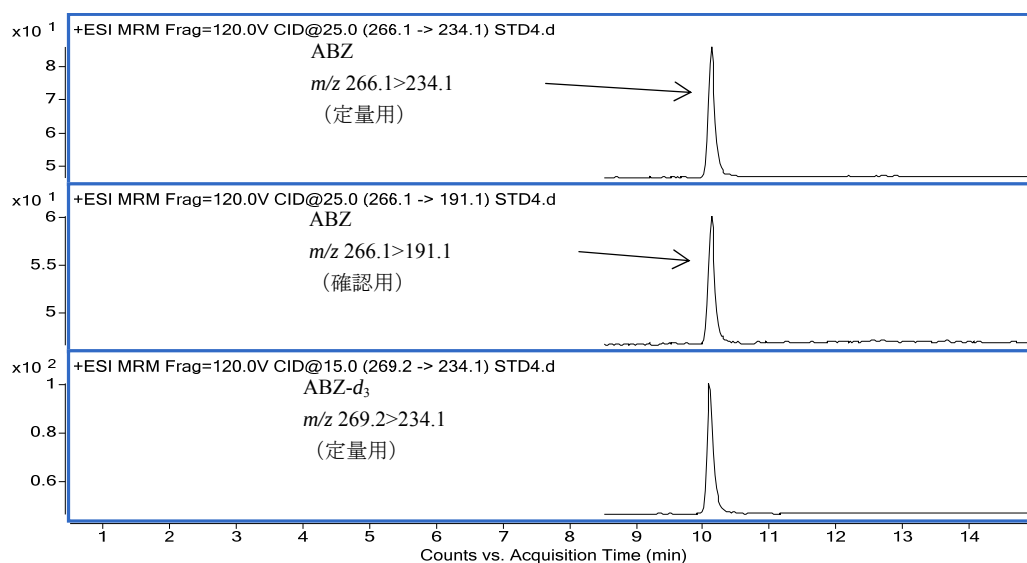


図 5-1 標準液のクロマトグラム

(ABZ : 0.20 ng/mL、サロゲート内標準 ABZ- d_3 : 0.20 ng/mL)

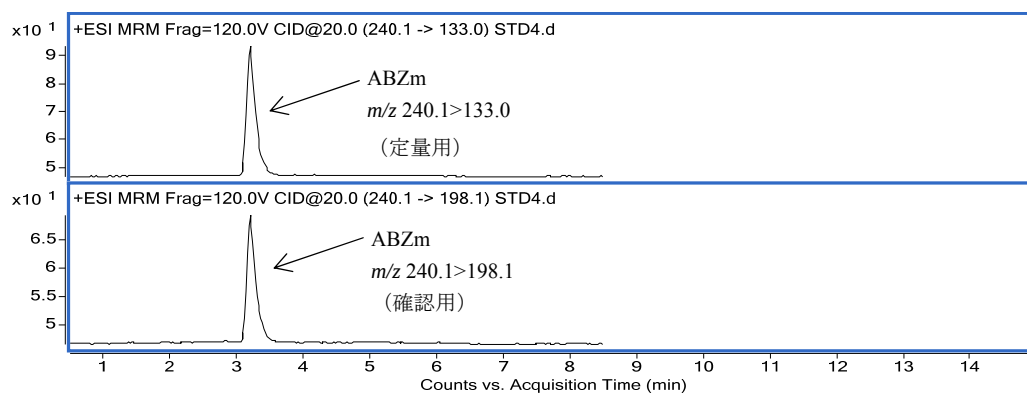


図 5-2 標準液のクロマトグラム

(ABZm : 2.0 ng/mL)

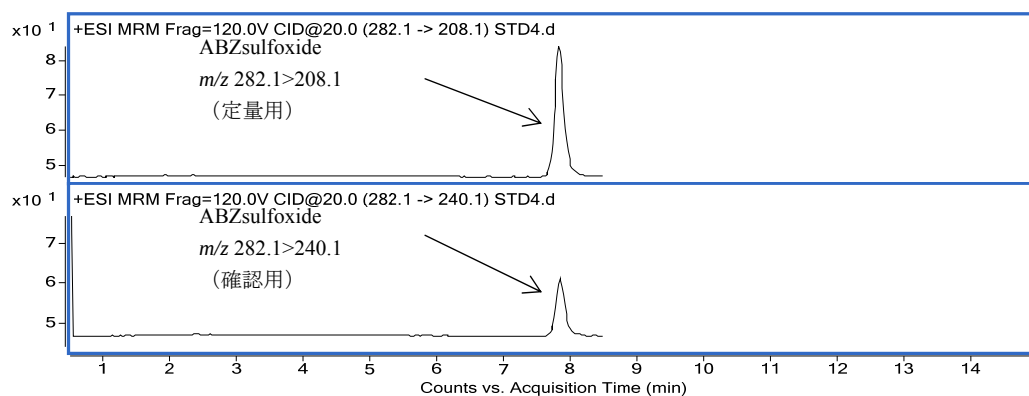


図 5-3 標準液のクロマトグラム
(ABZsulfoxide : 2.0 ng/mL)

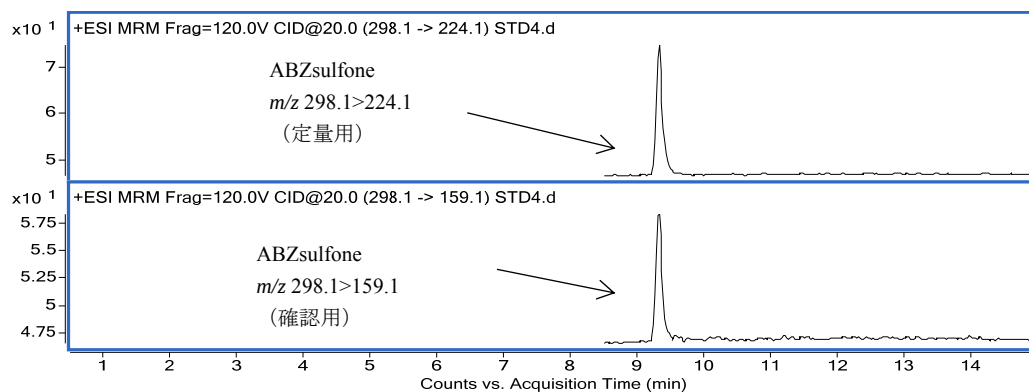


図 5-4 標準液のクロマトグラム
(ABZsulfone : 2.0 ng/mL)

[マススペクトル]

ABZ、ABZ- d_3 、ABZm、ABZsulfoxide、ABZsulfone のマススペクトルを図 6-1～6-5 に示す。

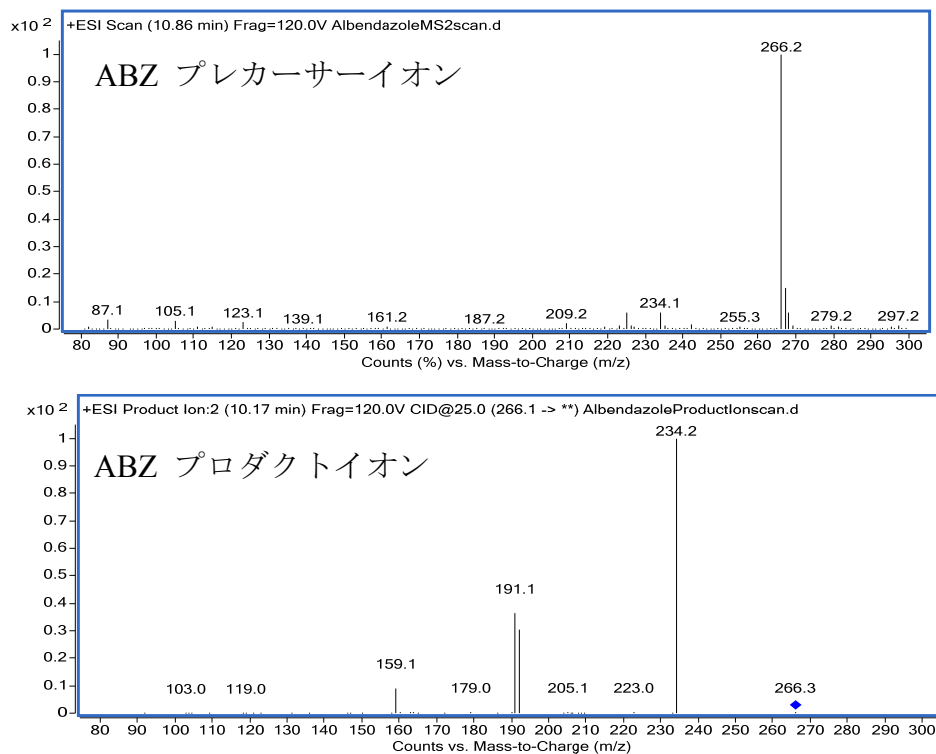


図 6-1 ABZ のマススペクトル(上図)及び
プレカーサーイオン m/z 266.1 に対するプロダクトイオン(下図)

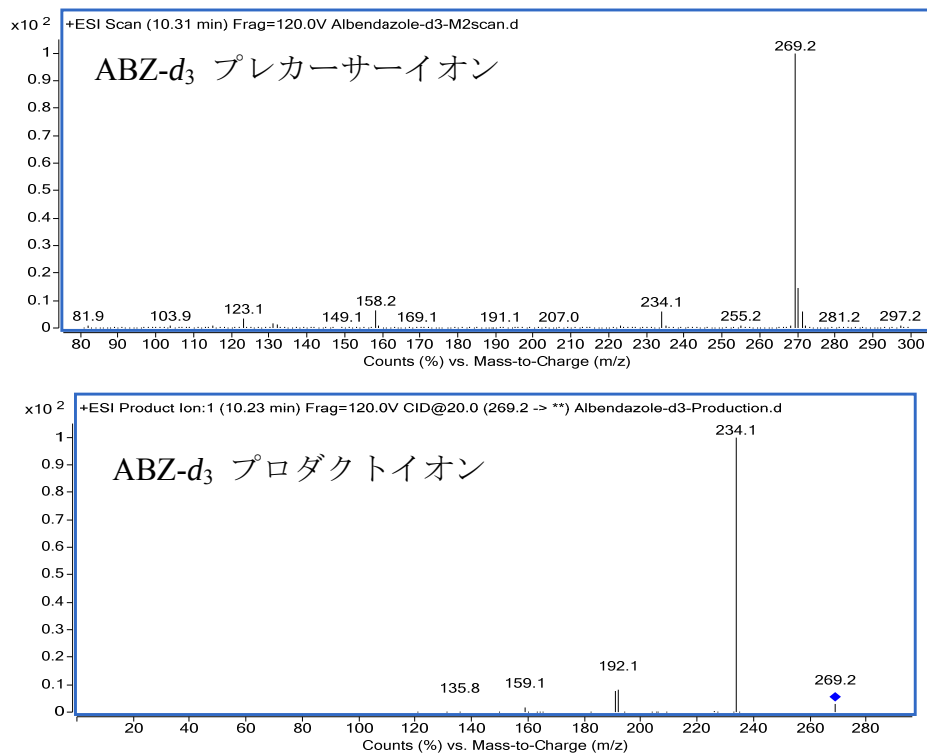


図 6-2 ABZ-d₃ のマススペクトル(上図)及び
プレカーサーイオン m/z 269.2 に対するプロダクトイオン(下図)

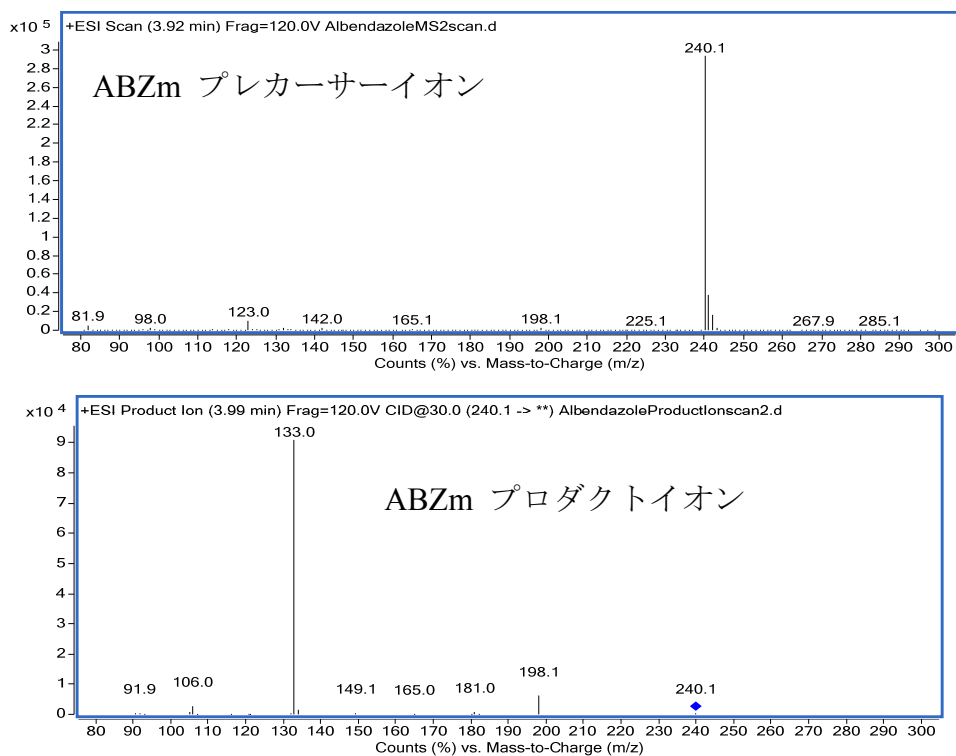


図 6-3 ABZm のマススペクトル (上図) 及び
プレカーサーイオン m/z 240.1 に対するプロダクトイオン (下図)

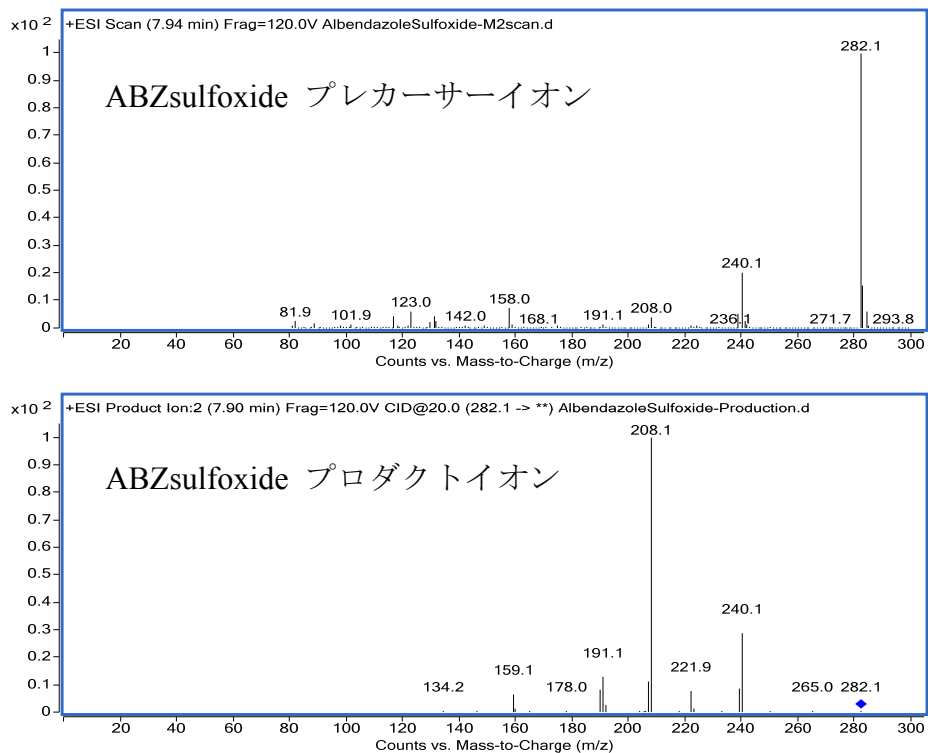


図 6-4 ABZsulfoxide のマススペクトル (上図) 及び
プレカーサーイオン m/z 282.1 に対するプロダクトイオン (下図)

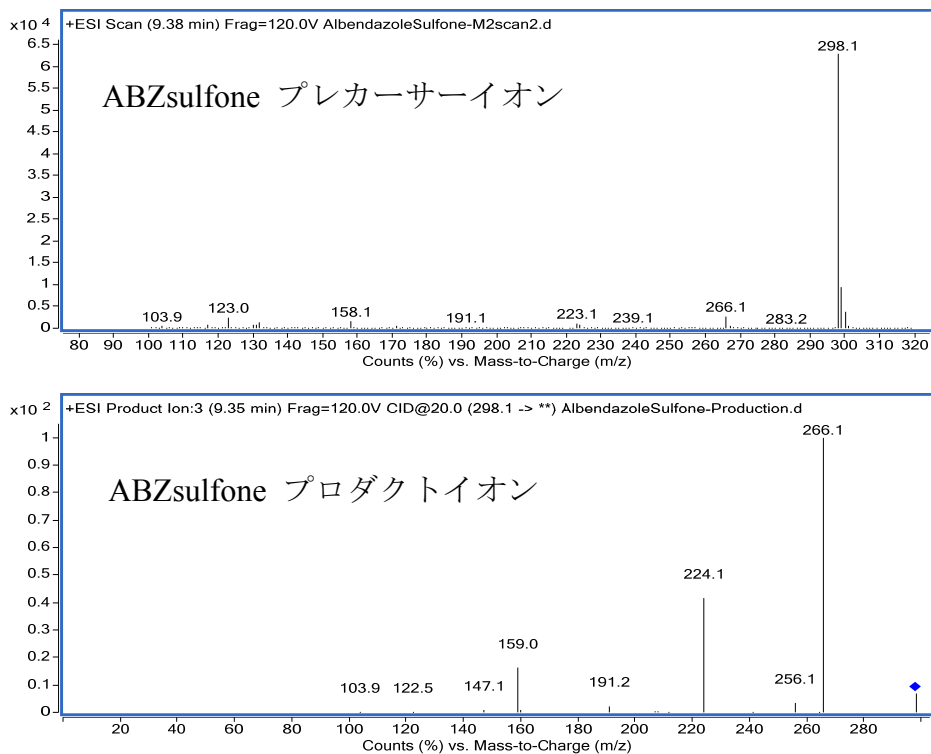


図 6-5 ABZsulfone のマススペクトル (上図) 及び
プレカーサーイオン m/z 298.1 に対するプロダクトイオン (下図)

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク測定時のクロマトグラムを図 7 に示す。ABZ、ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone は MDL 未満であった。

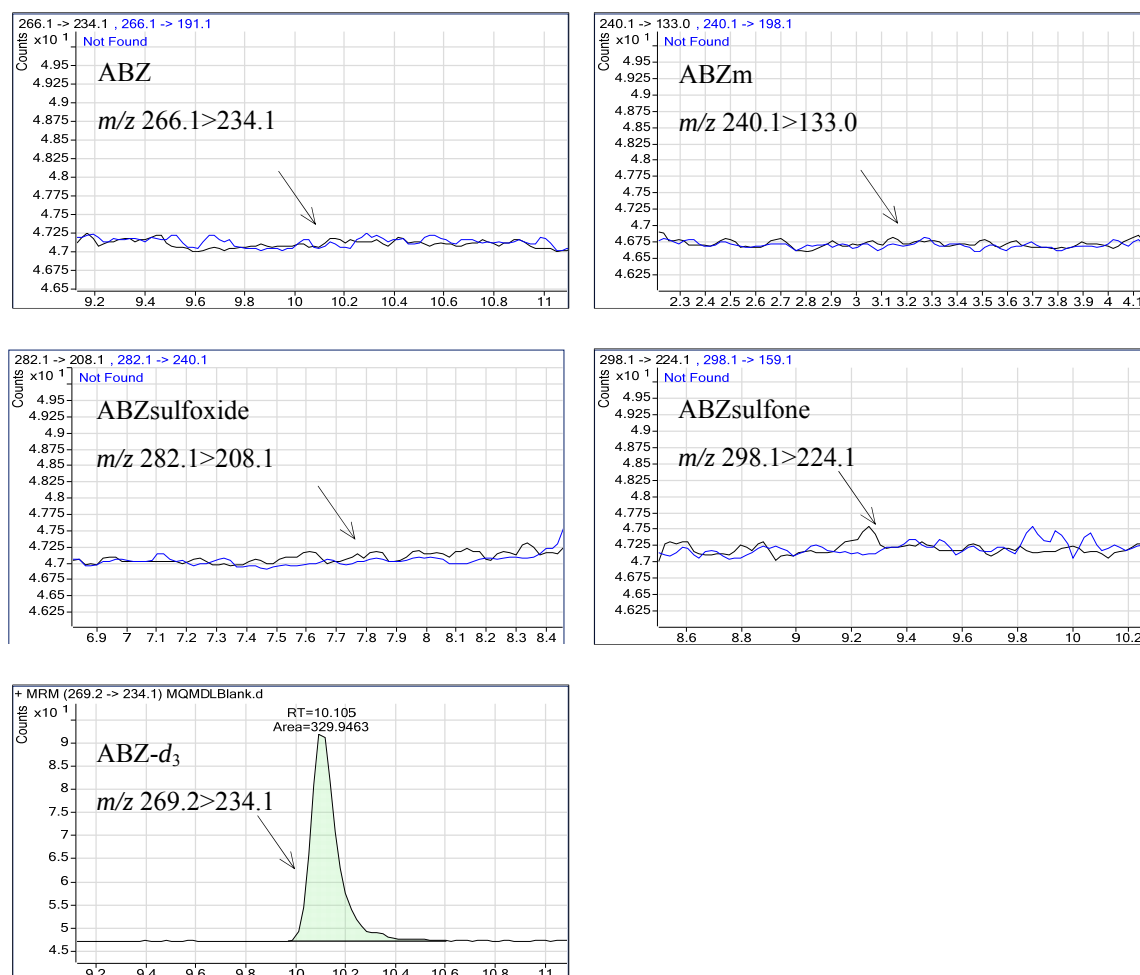


図 7 操作ブランク（精製水）のクロマトグラム

〔添加回収試験〕

精製水、河川水（豊沢川）及び海水（田老湾）への添加回収試験結果を表 6-1 ～6-4 に、添加回収試験測定時のクロマトグラムを図 8-1 及び 8-2 に示す。

表 6-1 ABZ 添加回収試験

試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	最終 液量 (mL)	試験 数	検出濃度* (µg/L)	回収率* (%)	変動 係数 (%)	サロゲート 回収率 (%)
精製水	0.10	0	10	2	<0.0010	-	-	104
	0.10	0.50	10	7	0.0050	100	4.2	97
河川水	0.10	0	10	2	<0.0010	-	-	103
	0.10	0.50	10	7	0.0049	99	3.9	99
海水	0.10	0	10	2	<0.0010	-	-	111
	0.10	2.5	10	5	0.023	94	0.8	114

*：検出濃度及び回収率はサロゲート補正後の値

表 6-2 ABZm 添加回収試験

試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	試験 数	検出濃度 (µg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	0.10	0	10	2	<0.010	-	-
	0.10	5.0	10	7	0.048	97	4.8
河川水	0.10	0	10	2	<0.010	-	-
	0.10	5.0	10	7	0.050	99	5.4
海水	0.10	0	10	2	<0.010	-	-
	0.10	25	10	5	0.28	110	2.6

表 6-3 ABZsulfoxide 添加回収試験

試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	試験 数	検出濃度 (µg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	0.10	0	10	2	<0.0049	-	-
	0.10	5.0	10	7	0.050	100	3.6
河川水	0.10	0	10	2	<0.0049	-	-
	0.10	5.0	10	7	0.051	101	2.5
海水	0.10	0	10	2	<0.0049	-	-
	0.10	25	10	5	0.24	96	2.4

表 6-4 ABZsulfone 添加回収試験

試料名	試料量 (L)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	試験 数	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)
精製水	0.10	0	10	2	<0.011	-	-
	0.10	5.0	10	7	0.047	93	5.1
河川水	0.10	0	10	2	<0.011	-	-
	0.10	5.0	10	7	0.047	94	6.2
海水	0.10	0	10	2	<0.011	-	-
	0.10	25	10	5	0.24	97	1.8

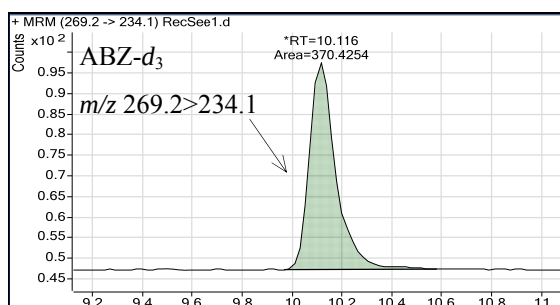
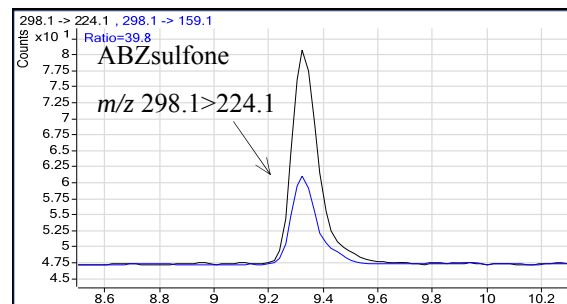
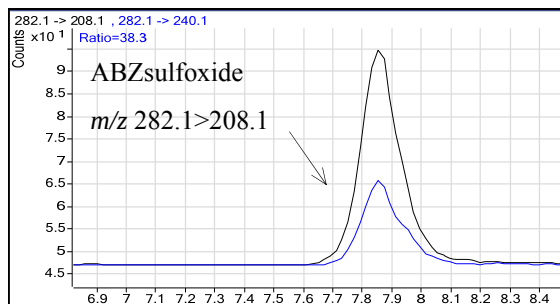
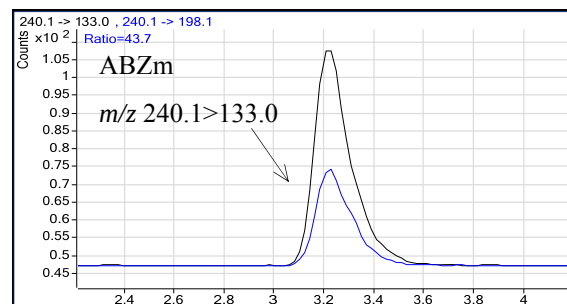
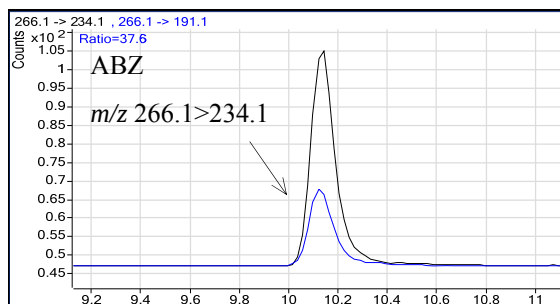


図 8-1 添加回収試験（海水）のクロマトグラム
(添加量 ABZ : 2.5 ng、ABZm、ABZsulfoxide、ABZsulfone : 25 ng)

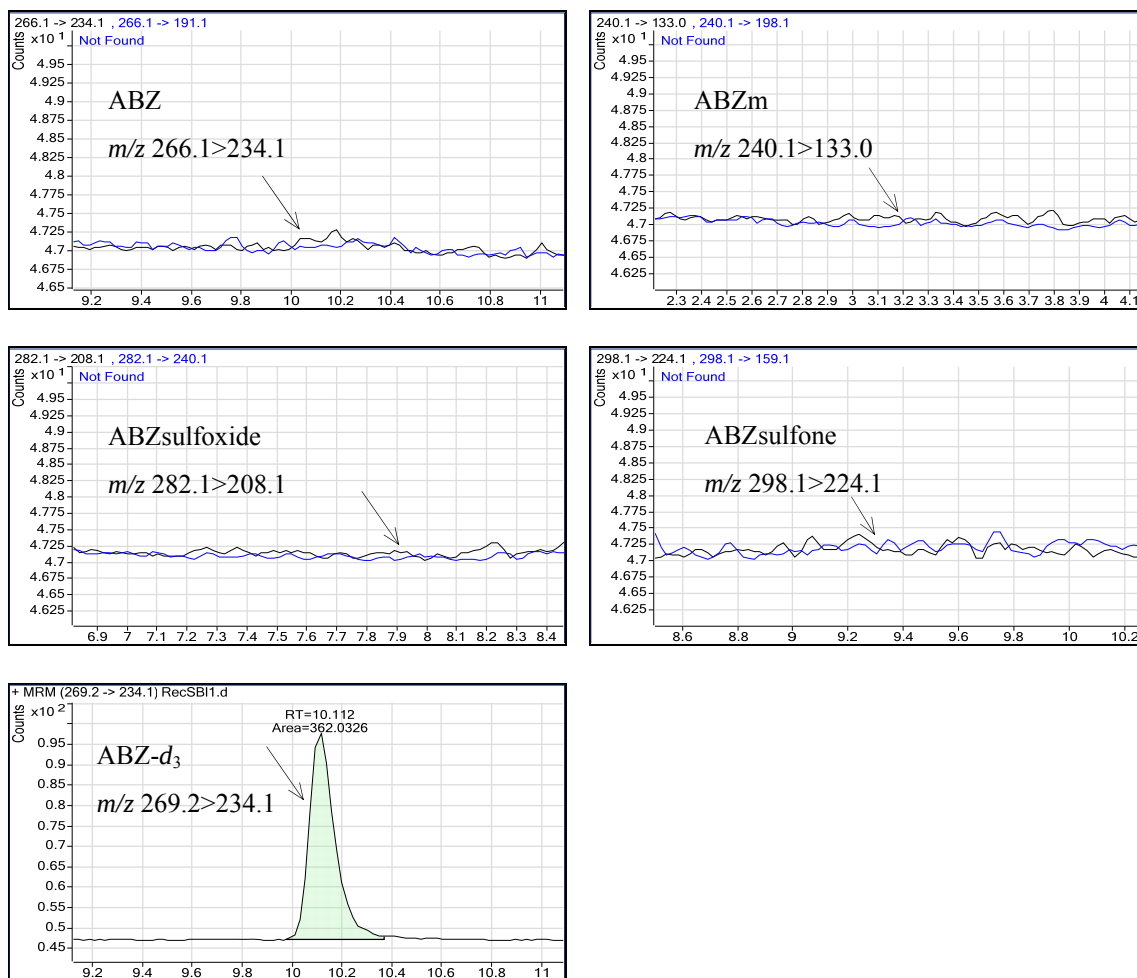


図 8-2 添加回収試験（海水）のクロマトグラム（無添加試料）

〔分解性スクリーニング試験〕

pH 調整した精製水 0.10 L に標準物質を添加し、分解性スクリーニング試験を行った結果を表 7-1～7-4 に示す。

表 7-1 ABZ 分解性スクリーニング試験

pH	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度 (ng/mL) ^{*1} (残存率(%) ^{*2})		
			1 時間放置後	7 日間放置後	
				暗所	明所
5	2	0.010	0.0090(90)	0.0073(73)	—
7	2	0.010	0.0082(82)	0.0073(73)	0.0063(63)
9	2	0.010	0.0090(90)	0.0077(77)	—

*1：サロゲート補正後の値

*2：調製濃度に対する検出濃度の割合

表 7-2 ABZm 分解性スクリーニング試験

pH	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度 (ng/mL) (残存率(%)) [*]		
			1 時間放置後	7 日間放置後	
				暗所	明所
5	2	0.10	0.099(99)	0.092(92)	—
7	2	0.10	0.101(101)	0.094(94)	0.090(90)
9	2	0.10	0.103(103)	0.093(93)	—

*：調製濃度に対する検出濃度の割合

表 7-3 ABZsulfoxide 分解性スクリーニング試験

pH	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度 (ng/mL) (残存率(%)) [*]		
			1 時間放置後	7 日間放置後	
				暗所	明所
5	2	0.10	0.098(98)	0.094(94)	—
7	2	0.10	0.104(104)	0.096(96)	0.091(91)
9	2	0.10	0.105(105)	0.093(93)	—

*：調製濃度に対する検出濃度の割合

表 7-4 ABZsulfone 分解性スクリーニング試験

pH	試験数	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度 (ng/mL) (残存率(%))*		
			1 時間放置後	7 日間放置後	
				暗所	明所
5	2	0.10	0.103(103)	0.104(104)	—
7	2	0.10	0.108(108)	0.101(101)	0.104(104)
9	2	0.10	0.108(108)	0.101(101)	—

*：調製濃度に対する検出濃度の割合

〔保存性試験〕

保存性試験結果を表 8-1～8-4 に示す。環境試料の保存性試験は、水質試料 0.10 L (保存容器：ポリプロピレン製) に ABZ を 1.0 ng、ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone を各 10 ng 添加して冷蔵保存した後、7 日後にサロゲート内標準液を添加して測定した。

試験液については、保存性試験で得られた試験液を冷蔵保存し、14 日後に測定した。標準液については、検量線用標準液を冷蔵保存し、1 ヶ月後に測定した。

表 8-1 ABZ 保存性試験

試料名		調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) ^{*1} (残存率(%)) ^{*2}		
			7 日間	14 日間	1 ヶ月
河川水	試料	0.010	0.0085(85)	—	—
	試験液	0.10	—	0.080(80)	—
海水	試料	0.010	0.0085(85)	—	—
	試験液	0.10	—	0.083(83)	—
標準液	MDL の 10 倍程度	0.050	—	—	0.044(84)
	検量線最高濃度	2.0	—	—	2.05(102)

*1：サロゲート補正後の値

*2：調製濃度に対する検出濃度の割合

表 8-2 ABZm 保存性試験

	試料名	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)		
			7 日間	14 日間	1 ヶ月
河川水	試料	0.10	0.101(101)	—	—
	試験液	1.0	—	0.92(92)	—
海水	試料	0.10	0.100(100)	—	—
	試験液	1.0	—	0.92(92)	—
標準液	MDL の 10 倍程度	0.20	—	—	0.20(100)
	検量線最高濃度	100	—	—	101(101)

* : 調製濃度に対する検出濃度の割合

表 8-3 ABZsulfoxide 保存性試験

	試料名	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)		
			7 日間	14 日間	1 ヶ月
河川水	試料	0.10	0.107(107)	—	—
	試験液	1.0	—	0.94(94)	—
海水	試料	0.10	0.104(104)	—	—
	試験液	1.0	—	0.90(90)	—
標準液	MDL の 10 倍程度	0.20	—	—	0.20(100)
	検量線最高濃度	100	—	—	101(101)

* : 調製濃度に対する検出濃度の割合

表 8-4 ABZsulfone 保存性試験

	試料名	調製濃度 (ng/mL)	検出濃度(ng/mL) (残存率(%)*)		
			7 日間	14 日間	1 ヶ月
河川水	試料	0.10	0.102(102)	—	—
	試験液	1.0	—	0.94(94)	—
海水	試料	0.10	0.099(99)	—	—
	試験液	1.0	—	0.85(85)	—
標準液	MDL の 10 倍程度	0.20	—	—	0.16(79)
	検量線最高濃度	100	—	—	102(102)

* : 調製濃度に対する検出濃度の割合

〔検量線用標準液並びに水質試料試験液に使用する溶媒〕

検量線用標準液について、調製溶媒を変更したときのクロマトグラムを図9に示す。メタノール、アセトニトリルともに100%の場合、ABZmのピークが2つに割れることが確認されたが、50%メタノール使用時、ABZmのピーク割れが起こらずピーク幅の狭いクロマトグラムが得られた。このことから、検量線用標準液の調製並びに試験液作成に使用する溶媒を50%メタノールとした。

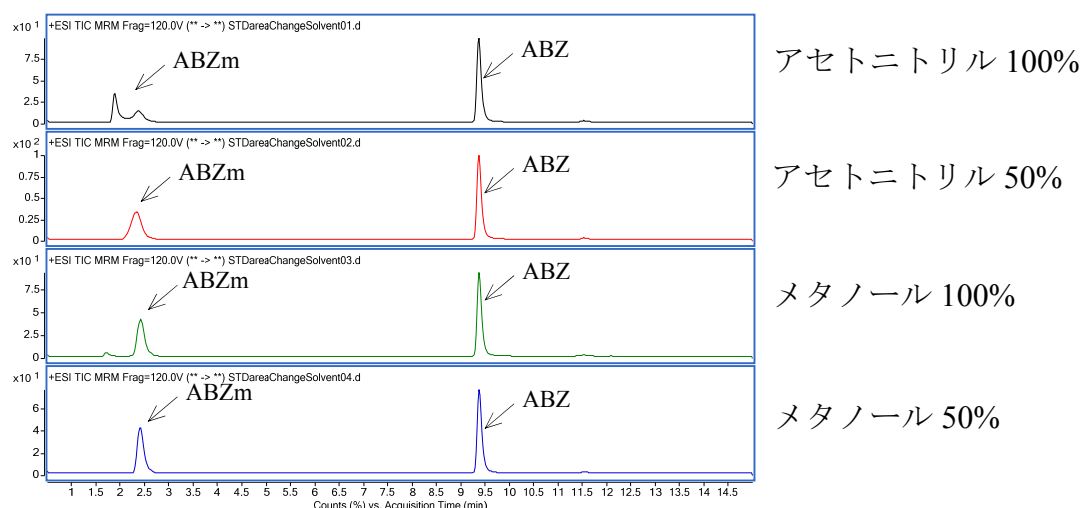


図9 検量線用標準液の調製溶媒を変更したときのクロマトグラム

〔ガラス容器への吸着〕

水質試料の添加回収試験にガラスビーカーを使用したところ、ABZの回収率がやや悪くなることが確認された。ガラス器具への吸着が疑われたため、ガラス製ビーカー(GL)とポリプロピレン製ビーカー(PP)で回収率を比較した。結果を表9-1及び9-2に示す。

ABZ、ABZmともにポリプロピレン製ビーカーの方が良い結果が得られた。なお、50%メタノールで調製した標準液は、ガラス製メスフラスコに吸着していないことを確認している。以上の結果から、試料採取容器並びに水質試料を分取するビーカーについては、プラスチック製のものを採用することとした。

表 9-1 ABZ 添加回収試験 (n=5)

試料名	ビーカー の材質	試料量 (L)	添加量 (ng)	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率(%) ($\pm$ 標準誤差(%))	変動係数 (%)
河川水	GL	0.10	1.0	0.0086	86 ($\pm$ 2.2)	5.8
	PP	0.10	1.0	0.0091	91($\pm$ 1.5)	3.7
海水	GL	0.10	1.0	0.0077	78($\pm$ 3.4)	8.9
	PP	0.10	1.0	0.0089	90($\pm$ 3.6)	9.7

表 9-2 ABZm 添加回収試験 (n=5)

試料名	ビーカー の材質	試料量 (L)	添加量 (ng)	検出濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率(%) ($\pm$ 標準誤差(%))	変動係数 (%)
河川水	GL	0.10	5.0	0.044	85($\pm$ 1.9)	5.3
	PP	0.10	5.0	0.048	90($\pm$ 1.7)	2.9
海水	GL	0.10	5.0	0.042	88($\pm$ 1.2)	5.1
	PP	0.10	5.0	0.044	96($\pm$ 2.3)	4.2

〔分離カラムの検討〕

LC/MS 測定条件を変更せずに、2 種類のカラム（ナカライテスク製 COSMOSIL PACKED COLUMN PBr と Agilent 製 Poroshell 120 EC-C18）を用いて分析した際のそれぞれのクロマトグラムを図 11、IDL を表 10 に示す。

ODS 系の EC-C18 では、ABZm 及び ABZsulfoxide のリテンションタイムがやや早くなるが、各物質の IDL にはほぼ差がなく、どちらのカラムも利用可能であると考えられる。

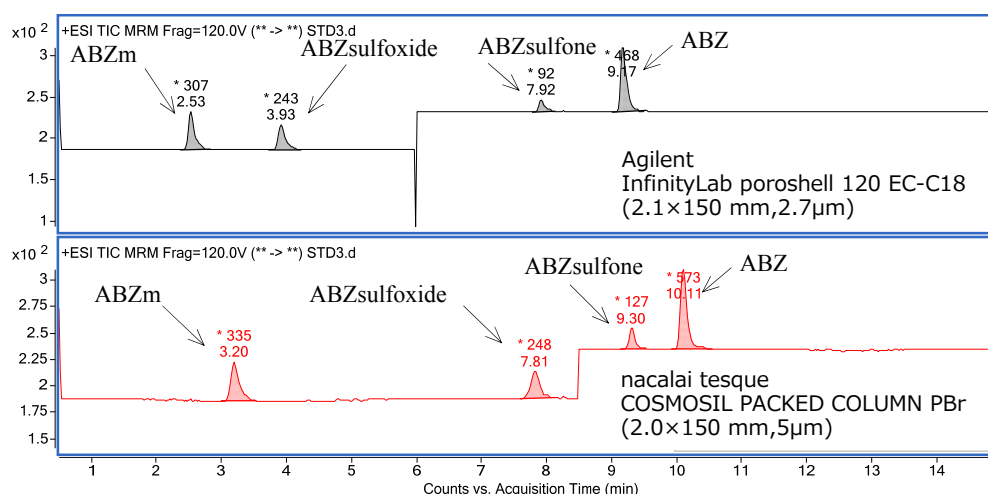


図 11 カラムを変更し、標準液を測定したときのクロマトグラム
（上図：Agilent 製 EC-C18、下図：ナカライテスク製 PBr）
（ABZ：0.10 ng/mL、ABZm、ABZsulfoxide、ABZsulfone：1.0 ng/mL）

表 10 IDL の算出結果 (n=7)

使用カラム	物質名	IDL* (ng/mL)	IDL 試料換算値 (μg/L)
Poroshell 120 EC-C18	ABZ	0.0091	0.00091
	ABZm	0.036	0.0036
	ABZsulfoxide	0.058	0.0058
	ABZsulfone	0.12	0.012
COSMOSIL PACKED COLUMN PBr	ABZ	0.0039	0.00039
	ABZm	0.063	0.0063
	ABZsulfoxide	0.061	0.0061
	ABZsulfone	0.11	0.011

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

〔環境試料（下水流入河川）の分析例〕

対象物質が医薬品であることから、環境中への排出源となりうる下水処理水（処理人口約 33 万人、処理水量約 130 千 m^3 /日、標準活性汚泥法）が流入する河川について、流入前後の地点で水質試料を採取し、本法により検出状況を確認した。どちらの地点も ABZ、ABZm、ABZsulfoxide 及び ABZsulfone は MDL 未満であった。

それぞれのクロマトグラムを図 12-1 及び 12-2 に示す。

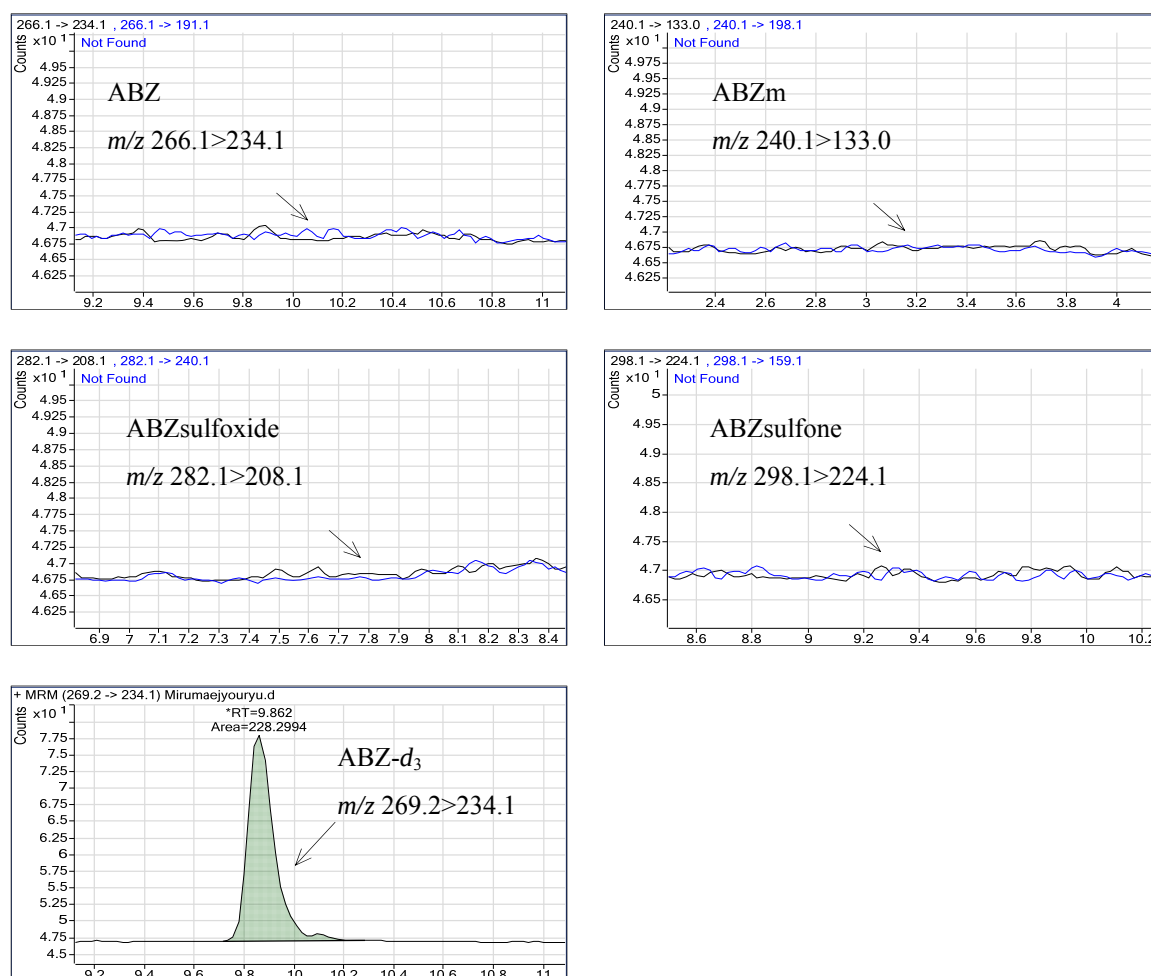


図 12-1 見前川上流（下水流入前）のクロマトグラム

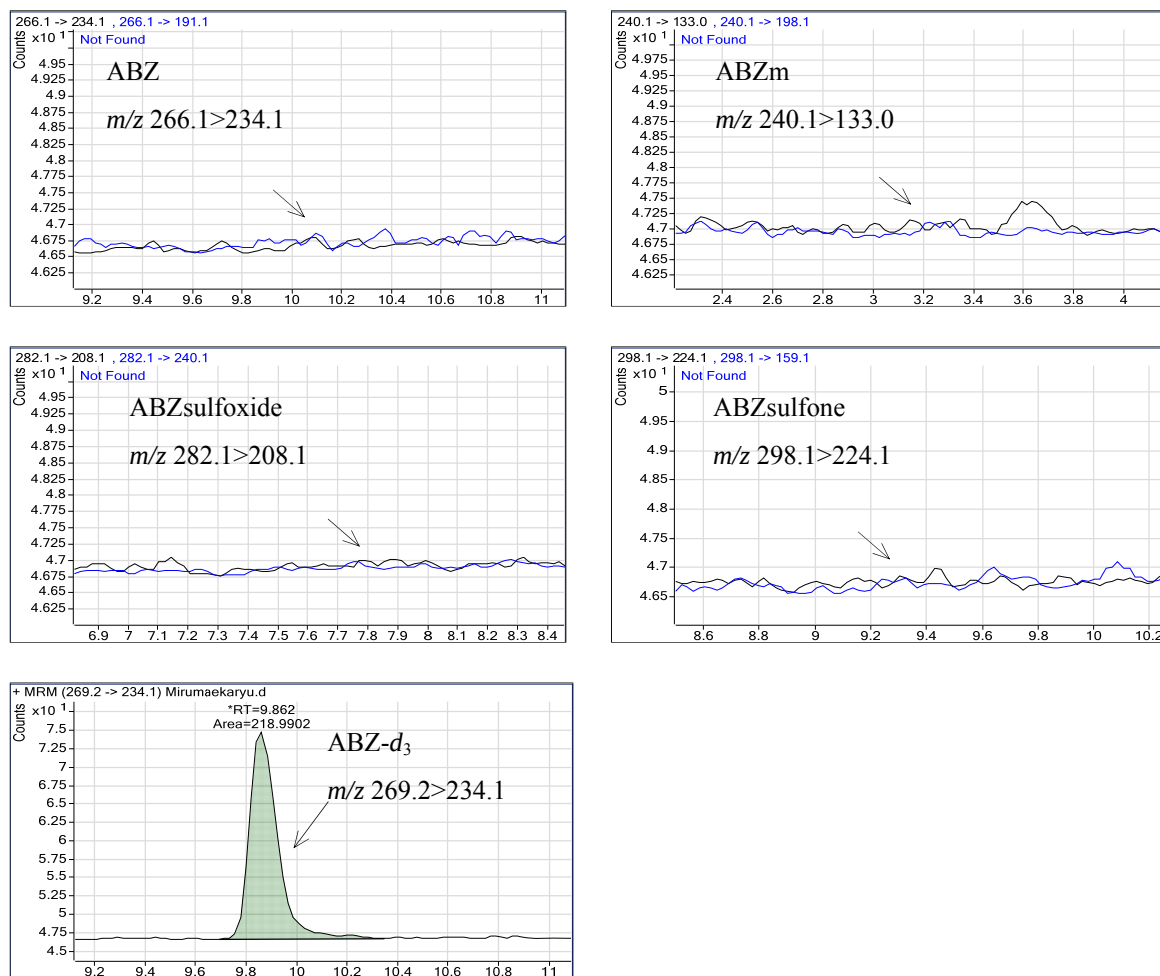


図 12-2 見前川下流（下水流入後）のクロマトグラム

【評価】

環境水中に含まれるアルベンダゾール(ABZ)の分析法を開発した。本法で使用した LC/MS/MS の IDL は 0.0078 pg であり、0.020～10 ng/mL の濃度範囲で直線性 ($r^2>0.999$) が確認された。また、本法における分析対象物質の MDL は 0.0010 µg/L、MQL は 0.0026 µg/L である。環境試料を用いた添加回収試験結果は、河川水 (0.5 ng 添加) では、回収率 99% (サロゲート回収率 99%、変動係数 3.9%)、海水 (2.5 ng 添加) では、回収率 94% (サロゲート回収率 114%、変動係数 0.8%) であった。なお、本法により、ABZ の主要な代謝物である 5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2 アミン、アルベンダゾールスルホキシド及びアルベンダゾールスルホンの同時一斉分析が可能である。

本法を用いて岩手県内の河川を測定したところ、ABZ 及びその代謝物は MDL 未満であった。以上の結果から、本法は環境水中の 0.0010 µg/L オーダーの ABZ の検出に適用できると判断される。

【参考文献】

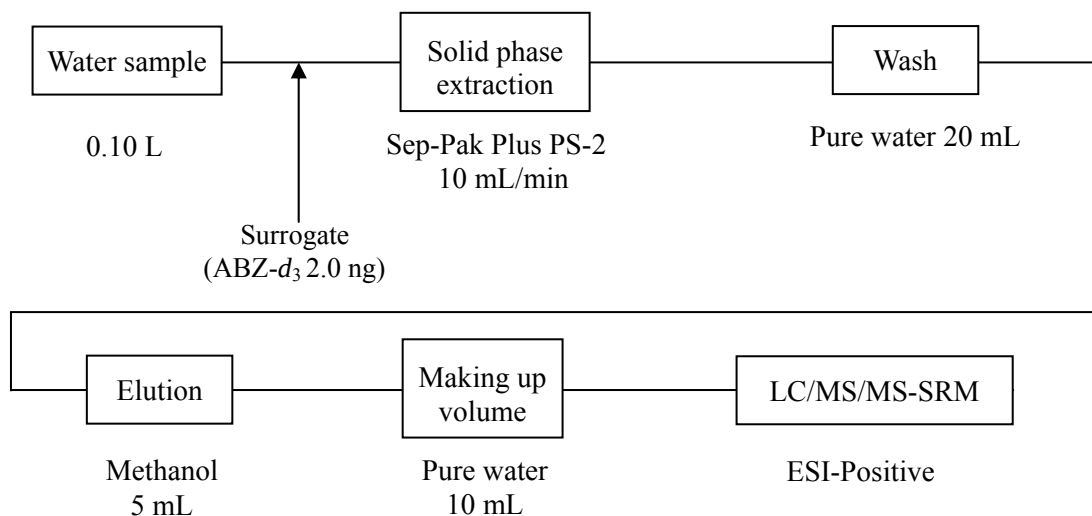
- 1) 内山賢二, 中村正規 : LC-MS/MS による畜水産物中の動物用医薬品等の一斉試験法 (V), 福岡市保健環境研究所報, 37, 95-99(2012)
- 2) 梶田弘子, 阿久津千寿子, 畠山えり子 : LC/MS/MS による畜水産食品中の動物用医薬品一斉分析, 第 44 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 109~110, (2009)

【担当者連絡先】

所属先名称 : 岩手県環境保健研究センター
所属先住所 : 〒020-0857 岩手県盛岡市北飯岡 1-11-16
TEL : 019-656-5666 FAX : 019-656-5667
担当者名 : 伊藤朋子
E-mail : tm-itou@pref.iwate.jp

Albendazole

This method provides a procedure for the determination of Albendazole (ABZ) in water samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). After 10 μL of Albendazole- d_3 (surrogate, 0.20 $\text{ng}/\mu\text{L}$) is spiked into 0.10 L of water sample, the sample is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Sep-Pak Plus PS-2) at a flow rate of 10 mL/min . Then the cartridge is washed with 20 mL of pure water. The analyte is eluted from the cartridge with 5 mL of methanol. The eluate is made up to 10 mL with pure water for LC/MS/MS-SRM (ESI positive) analysis. The method detection limit (MDL) of ABZ is 0.0010 $\mu\text{g}/\text{L}$. The average of recoveries ($n = 7$) from river water samples added with 0.50 ng was 99% and the relative standard deviation was 3.9%. The average of recoveries ($n = 5$) from sea water samples added with 2.5 ng was 94% and the relative standard deviation was 0.8%. By this method, simultaneous analysis of ABZm, ABZs and ABZf which are major metabolites of ABZ is possible. The method was applied to river and sea water samples in Iwate prefecture. The concentration of ABZ in river and sea water samples was below detection limit.



物質名	分析法フローチャート	備 考
5-(プロピオチオ)-1 <i>H</i> -ベンゾイミダゾール-2-イルカルバミド酸メチル 別名：アルベンダゾール	【水質】 <pre> graph TD A[水質試料 0.10 L] --> B[固相抽出 Sep-Pak Plus PS-2 10 mL/min] C[サロゲート内標準添加 (ABZ-d₃ 2.0 ng)] --> B B --> D[洗浄 精製水 20 mL] D --> E[溶出 メタノール 5 mL] E --> F[定容 精製水 10 mL] F --> G[LC/MS/MS-SRM ESI-Positive] </pre>	分析原理： LC/MS/MS-SRM ESI-Positive 検出下限値： 【水質】 (μg/L) 0.0010 分析条件： 機器 LC : Agilent 1200 MS : Agilent 6460 カラム COSMOSIL PBr 150 mm × 2.0 mm, 5 μm