

[ノート]

水中のカルバマゼピン, ジクロフェナック, ベザフィブラートの 固相抽出-LC/MS/MS 法による高感度分析法の開発

川元 達彦*, 矢野 美穂, 三橋 隆夫

Development of a Highly Sensitive Method for Analysis of Carbamazepin, Diclofenac and Bezafibrate in Water by Solid Phase Extraction and LC/MS/MS Methods

Tatsuhiko KAWAMOTO *, Miho YANO and Takao MITSUHASHI

*Life Science Division, Public Health Science Research Center, Hyogo Prefectural Institute of
Public Health and Consumer Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan*

We have established a highly sensitive method for analyzing the concentration of Carbamazepine, Diclofenac and Bezafibrate in water by solid phase extraction and LC/MS/MS methods. In order to evaluate the analytical method, we conducted recovery experiments from distilled water, tap water (removed chlorine) and river water samples using a PS-2 and HLB column. The recovery rates were greater than 80 % and the coefficient of variance were under 10 %. The determination limits by this method were 1 ng/L for Carbamazepine, 2 ng/L for Diclofenac, 1ng/L for Bezafibrate, respectively. Furthermore, we conducted a water-quality test using this method for 30 water samples collected from 15 monitoring points in the Hyogo Prefecture. The results indicated that the concentrations of Carbamazepin, Diclofenac and Bezafibrate are over a range from N.D. to 268, N.D. to 46 and N.D. to 405 ng/L, respectively. However, the frequencies of detection of 3 Pharmaceuticals in water sources were a significantly high rate of 20 %.

I はじめに

1990年以降, 欧米諸国では医薬品やパーソナルケア製品起源の化学物質 (Pharmaceuticals and Personal Care Products; PPCPs) が河川や湖沼水等から検出され, 新たな汚染物質として注目されてきた^{1,2)}.

特に, 医薬品は生理活性を有すること, 世界の生産・流通量が多い (国内のカルバマゼピンで1t/年間以上) ことから, 水系への流出は農薬等の化学物質³⁾と同様に監視すべき物質と考えられる. しかし, 日本国内の河川等

における医薬品の存在実態に関する報告や, そのために必要な微量分析法に関する報告は少ない現状にある^{4,5)}.

また, ヒトへの健康影響として, 水道原水中の医薬品が浄水処理工程で十分に除去されなかった場合, 毎日飲み続ける飲料水を介してヒトに摂取される恐れがあるため, 水道原水での実態把握等は極めて重要な課題と考えられる.

そこで, 河川水等で比較的安定であること, 流通量が多いことなどに着目して, 抗てんかん薬カルバマゼピン, 解熱鎮痛薬ジクロフェナックおよび抗高脂血症薬ベザフィブラートの3種医薬品を対象として, 水中の分析法を開発した. 本分析法では水中微量成分の抽出・精製を目的とした固相抽出法および測定物質と夾雑物を2段階で分離できるタンデム型質量分析計付高速液体クロマトグラフ (LC/MS/MS) 法を組み合わせることにより, 超高

健康科学部

*別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町 2-1-29
兵庫県立健康生活科学研究所 健康科学研究センター
健康科学部 川元 達彦

感度化を可能とした。

また、兵庫県における水道水の安全確保対策に資するため、本分析法を用いて兵庫県水道水質管理計画⁶⁾に基づいた監視地点の実態調査を行ったので、これらの結果も併せて報告する。

II 材料と方法

1. 試薬および試料等

1) 医薬品：分析対象としたカルバマゼピン、ジクロフェナック、ベザフィブラートの構造式を Fig.1 に示した。標準原液として、標準品の粉末 10.0mg (カルバマゼピン:シグマアルドリッチ社製、純度 98.0%以上、ジクロフェナック:シグマ社製、純度 98.0%以上、ベザフィブラート:シグマ社製、純度 98.0%以上) を精密に秤量し、アセトニトリルで全量を 10.0mL とし、1,000mg/L 溶液を調製した後、さらにアセトンで希釈して 100mg/L を調製した。この標準原液をメタノールまたは精製水で希釈し、各実験に用いる標準溶液を調製した。内部標準物質カルバマゼピン-d₁₀ は粉末 5.0mg (CDN 社製、純度 98%以上) を精密に秤量し、アセトンで全量を 5.0mL とし、1,000mg/L 溶液を調製した後に、さらにアセトンで希釈して 10.0mg/L の標準原液を調製した。

2) 精製水：水道水を Auto Still (Yamato WG220) で加熱蒸留した後、Milli-Q SP TOC (Millipore 社製) で精製したものを用いた。

3) 水道水は県立健康生活科学研究所 3 階の給水栓水より採取したもの、さらにアスコルビン酸ナトリウム(水道水 1 L に 10.0mg 添加) で脱塩素したものを実験に供した。

4) 水道原水としての河川水は、神戸市内の A 区の河川より採取した。

5) アスコルビン酸ナトリウム (和光純薬社製)

6) ギ酸：LC/MS 分析用 (和光純薬社製)。

7) 無水硫酸ナトリウム：残留農薬用の無水硫酸ナトリウム (和光純薬社製) は電気炉で 500℃、5 時間乾燥した後、使用時までデシケーターにて保存した。

8) 有機溶媒：アセトニトリルおよびメタノールは LC/MS 用 (和光純薬社製) を、アセトンは残留農薬試験用 5,000 (和光純薬社製) を用いた。その他の試薬は、すべて市販の特級品 (関東化学社製) を用いた。

9) 固相抽出カラム：Sep-Pak Plus PS-2 (充填量 265 mg, Waters 社製) および Oasis HLB Plus 6cc (充填量 260mg, Waters 社製) を用いた。

なお、カラムは使用前にアセトニトリル 10mL, 精製水 5mL でコンディショニングした。

10) pH, 浮遊物質 (SS) および残留塩素：精製水、水道水および水道原水 (河川水) について、上水試験方法⁷⁾に準拠して測定した。

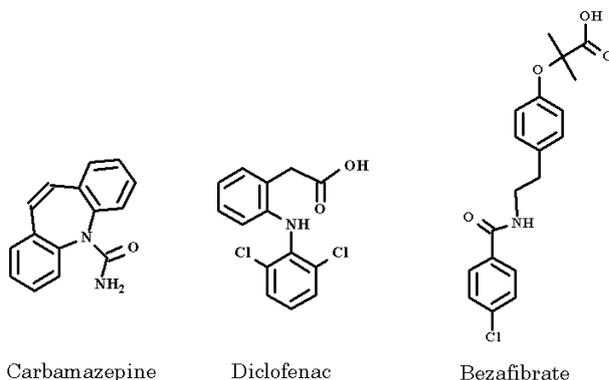


Fig.1 Chemical structures of Carbamazepine, Diclofenac and Bezafibrate

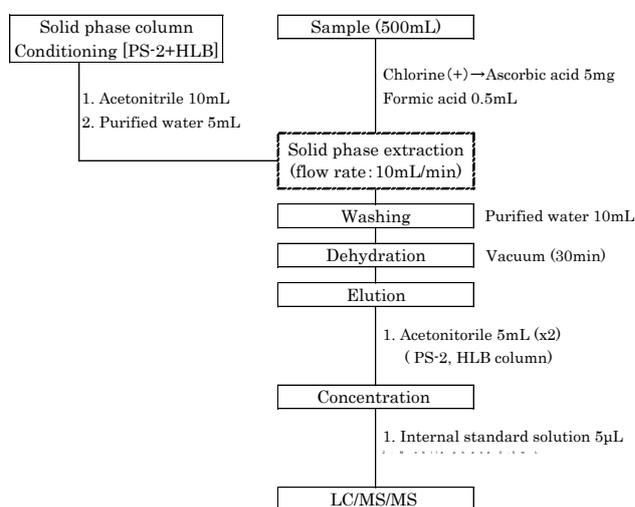


Fig.2 Analytical procedures for Carbamazepine, Diclofenac and Bezafibrate

2. 装置

1) 医薬品の固相抽出装置：Vac Elut SPS 24 (Varian 社製) を用いて、抽出操作を行った。

2) 質量分析計付高速液体クロマトグラフ：タンデム型 Acquity UPLC TQD (Waters 社製) を用いた。

3. 固相抽出による試験液の調製

水中医薬品の固相抽出法の概略を Fig.2 に示した。また、その詳細な操作手順を以下に示した。

水試料 500mL (3 種医薬品を各々 40ng/L を含むように精製水、脱塩素した水道水、水道水、河川水を調製し、0.5mL のギ酸を添加) を固相抽出カラム (PS-2 と HLB を直列に連結) に流速 10mL/min 以下で通水した。固相抽出カラムは窒素パージにて 30 分間乾燥させた後、バックフラッシュ法で医薬品を PS-2 と HLB の出口側から

それぞれアセトニトリル 5mL で溶出させ、両液を 10mL の試験管に移して混和した。この抽出液を窒素ガス気流下、常温にて濃縮した。その後、LC 移動相溶媒 (0.05% ギ酸水溶液) に転溶後、内部標準物質カルバマゼピン-d₁₀ を 5 μL (10 μg/mL) 添加し、正確に 0.5mL としたものを分析用試験液とした。

4. 水中カルバマゼピン、ジクロフェナックおよびベザフィブラートの固相抽出-LC/MS/MS 分析

LC/MS/MS 測定条件を Table 1 に示す。

医薬品分析のための検量線作成 (濃度範囲 : 0.010~10.0ng/L) および定量にあたっては、バックグラウンドを抑えた MS/MS 機能を用いて、各医薬品に特徴的なイオン (カルバマゼピン m/z 237.3→194.3, ジクロフェナック m/z 296.2→214.3, ベザフィブラート m/z 362.3→139.2) を選択 (Multiple Reaction Monitoring : MRM 法) し、内部標準物質カルバマゼピン-d₁₀ (m/z 247.3→204.3) で MS の感度を補正して測定を行った。

本法における医薬品の添加回収実験の平均回収率と変動係数は、5 回の繰り返し実験により求めた。

5. 水道原水中の医薬品含有量調査

兵庫県水道水質管理計画⁶⁾に基づいた水質監視地点のうち、監視 14 地点および関連 1 地点の計 15 地点 (水源種別 : 湖沼水 1 地点, 河川水 5 地点, 伏流水 1 地点, 浅井戸 6 地点, 深井戸 2 地点) (Fig.3) について、2009 年 6 月 23 日及び 10 月 20 日に採水した試料を分析した。各地点の原水 500 mL を試料として、4. の方法に従って医薬品の抽出を行い、濃縮液に内部標準物質 5 μL (10 μg/mL) を添加し、正確に LC 移動相溶媒 (0.05%ギ酸水溶液) で 0.5mL としたものを試験液とした。

III 結果および考察

1. 固相抽出-LC/MS/MS 法による 3 種医薬品の分析条件の検討

1) 各固相抽出カラムによる回収率の検討

水中医薬品の抽出・精製を目的とした固相カラムとして、他の医薬品⁸⁾との一斉分析を考慮し、主に疎水性化合物に対応したスチレンジビニルベンゼン共重合体の PS-2 カラムと主に親水性化合物に対応したジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン重合体の HLB カラムの 2 タイプを用いた。これらを PS-2 と HLB の順で連結し、各固相カラムにおける抽出効率について検討を行った。実験方法として、精製水に各医薬品を 500 ng/L となるように添加して回収率を求めた結果、PS-2 カラムの平均回収率 (n=3) は、カルバマゼ

Table 1 LC/MS/MS operation conditions

【LC】		
HPLC: Acquity UPLC		
Column: Acquity UPLC BEH C18 (2.1 x 100mm, 1.7μm)		
Column temp.: 40°C		
Mobile Phase: A: 0.05% Formic acid B; Methanol		
Gradient: Time(min)	A(%)	B(%)
0	98	2
0.5	98	2
2.0	60	40
10.0	5	95
11.0	98	2
15.0	98	2
Flow rate: 0.2mL/min		
Injection volume: 10μL		
【MS/MS】		
TQD		
Ionization ESI(+),		
Capillary voltage: 1.5kV		
Cone voltage: 10~50V		
Collision energy: 10~50eV		
Source temp. 125°C, Desolvation temp: 400°C, Cone gas: 50L/hr		
Desolvation gas: 500L/hr		

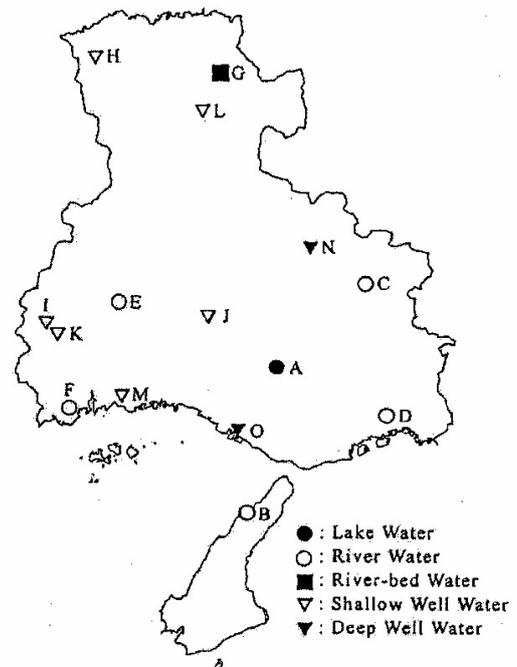


Fig. 3 Location of sampling points

ピン、ジクロフェナック、ベザフィブラートでいずれも 99.9%以上であった。

一方、HLB カラムの平均回収率 (n=3) は 3 種医薬品すべて 0.1%未満であった。従って、本研究で対象とした 3 医薬品は PS-2 カラムで大部分が吸着され、HLB カラムへは流出しないことが分かった。

2) MS/MS 分析条件等の検討

3 種医薬品の高感度分析法として、MS/MS 法を適用した。MS/MS 測定法の原理として、目的の化合物をイオン源でイオン化し、第 1 質量分析計で化合物に

特徴的なプリカーサー（親）イオンを選択し、そのプリカーサーイオンを不活性ガス分子（アルゴンガス）と衝突させてフラグメンテーションを起こさせ、そこで生じた特定のプロダクト（娘）イオンを第2質量分析計で選び、検出（定量，定性）する方法である。このように2段階で目的の化合物に特徴的なイオンを選

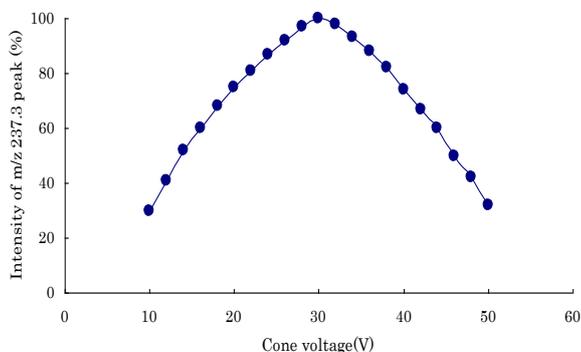


Fig.4-1 Effect of cone voltage on the ion intensity for m/z 237.3 (Carbamazepine)

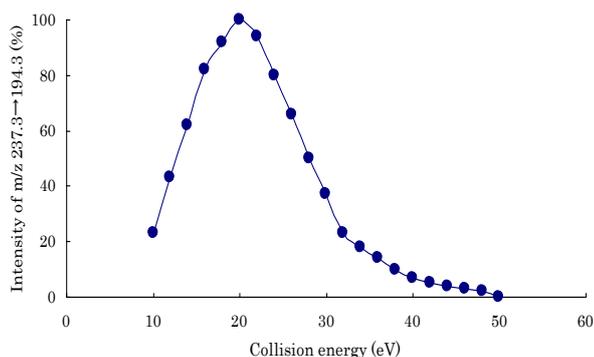


Fig.4-2 Effect of collision energy on the ion intensity for m/z 237.3→194.3 (Carbamazepine)

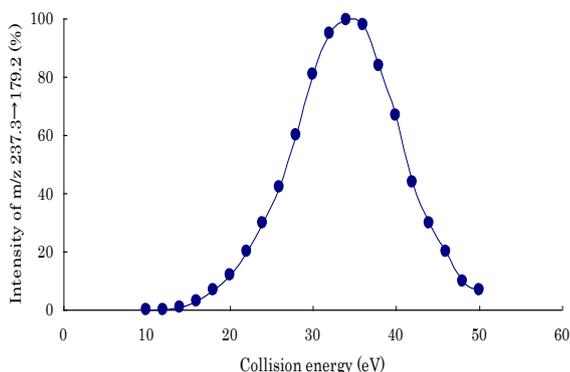


Fig.4-3 Effect of collision energy on the ion intensity for m/z 237.3→179.2 (Carbamazepine)

択して夾雑物と分離して測定するため、バックグラウンドを抑えた高感度測定が可能となる。カルバマゼピンを用いた具体的な例を Fig.4 に示した。カルバマゼピンは分子量 236.2 でイオン化法として

ESI（ポジティブ）法を採用した結果， $[M-H]^+$ の m/z 237.3 が特徴的なイオンとして認められた。このイオンをプリカーサーイオンとして最適なコーン電圧とコリジョンエネルギーを求めた結果，コーン電圧 30V (Fig.4-1)，コリジョンエネルギー 20eV で最も強度の高いプロダクトイオン m/z 194.3 が検出（定量イオン）された (Fig.4-2)。また，確認イオンはコリジョンエネルギー 35eV で特徴的な m/z 179.2 が検出された (Fig.4-3)。 m/z 194.3 はカルバマゼピンの構造から $[-CO-NH_2]$ が脱離したイオン， m/z 179.2 はさらに 7 員環の N 原子が脱離したイオンと推定された。

同様に，ジクロフェナックの分子量は 295.0 でイオン化法として ESI（ポジティブ）法を採用した結果， $[M-H]^+$ の m/z 296.2 が特徴的なイオンとして認められた。このイオンをプリカーサーイオンとして最適なコーン電圧とコリジョンエネルギーを求めた結果，コーン電圧 20 V，コリジョンエネルギー 35eV で最も強度の高いプロダクトイオン m/z 214.3 が検出（定量イオン）された。また，確認イオンはコリジョンエネルギー 15eV で特徴的な m/z 250.3 が検出された。 m/z 250.3 はジクロフェナックの構造から $[-CO-OH]$ が脱離したイオン， m/z 214.3 はさらに Cl 原子が脱離したイオンと推定された。また，ベザフィブラートの分子量は 361.8 でイオン化法として ESI（ポジティブ）法を採用した結果， $[M-H]^+$ の m/z 362.3 が特徴的なイオンとして認められた。このイオンをプリカーサーイオンとして最適なコーン電圧とコリジョンエネルギーを求めた結果，コーン電圧 25V，コリジョンエネルギー 25eV で最も強度の高いプロダクトイオン m/z 139.2 が検出（定量イオン）された。また，確認イオンはコリジョンエネルギー 15eV で特徴的な m/z 316.4 が検出された。 m/z 316.4 はベザフィブラートの構造から $[-CO-OH]$ が脱離したイオン， m/z 139.2 はベザフィブラートの構造中の $[-CO-NH-]$ の酸アミド結合が切断された $[C_7H_4OCl]^+$ と推定された。

Fig.5-1 にカルバマゼピン，Fig.5-2 にジクロフェナック，Fig.5-3 にベザフィブラートの MRM クロマトグラム（上図：定量イオン，下図：確認イオン）を示した。3 種医薬品は非常に低濃度であってもピーク形状や分離は極めて良好であったことから，これらのイオンが定量イオンおよび確認イオンとして選択性が非常に高いことが示された。次に，カルバマゼピン、ジクロフェナック、ベザフィブラートのモニターイオン、保持時間、検量線の直線回帰式および相関係数の分析パラメーターを Table 2 にまとめて示した。各医薬品濃度とピーク面積との相関係数は 0.997 以上と高い値を示し、濃度応答性の直線性が極めて良好である

ことを認めた。

以上のことから、固相抽出-LC/MS/MS 法がカルバマゼピン、ジクロフェナック、ベザフィブラートの分析に対しても、有効な分析方法であることが示された。

3) 添加回収実験

固相抽出-LC/MS/MS 法の一斉分析による水中医薬品の定量性および再現性を確認するため、試料水（精製水、脱塩素した水道水および河川水）を使った場合の回収率とその変動係数を求めた。

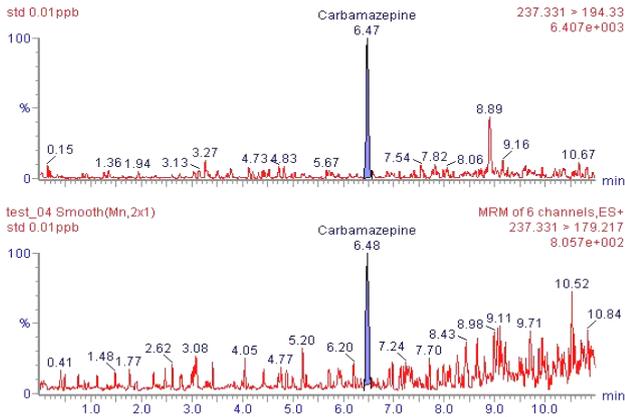


Fig.5-1 Typical LC/MS/MS MRM chromatogram of

Carbamazepine

Carbamazepine: 0.01ng/L

Upper panel: quantify MRM monitor ion:

m/z 237.3→194.3

Lower panel: identify MNM monitor ion:

m/z 237.3→179.2

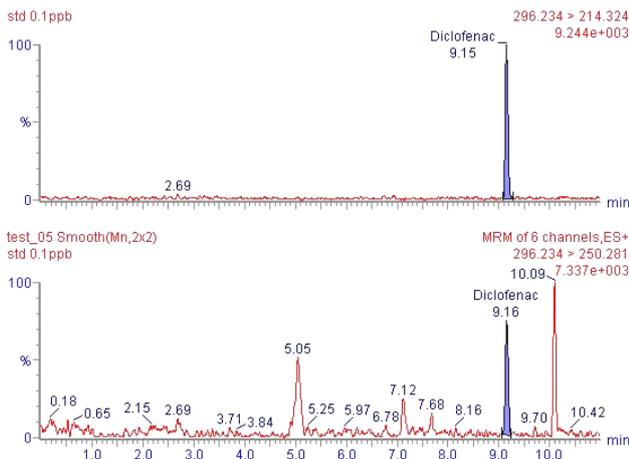


Fig.5-2 Typical LC/MS/MS MRM chromatogram of

Diclofenac

Diclofenac: 0.1ng/L

Upper panel: quantify MRM monitor ion:

m/z 296.2→214.3

Lower panel: identify MNM monitor ion:

m/z 296.2→250.3

精製水、脱塩素した水道水、水道水および水道原水（河川水）500mLに3種医薬品を各々20ngを含む標準溶液を添加した試料水を用いて添加回収実験を行った。

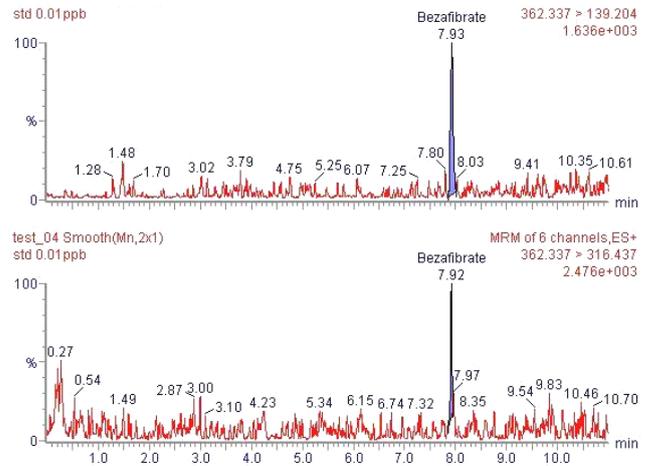


Fig.5-3 Typical LC/MS/MS MRM chromatogram of

Bezafibrate

Bezafibrate: 0.01ng/L

Upper panel: quantify MRM monitor ion:

m/z 362.3→139.2

Lower panel: identify MNM monitor ion:

m/z 362.3→316.4

Table 2 Various parameters of Carbamazepine, Diclofenac and Bezafibrate measurement

PPCPs	MS/MS (m/z)	Retention time (min)	Regression curve*	Correlation coeff.
Carbamazepine	237.3→194.3	6.47	Y=28725X+161.59	0.9971
Diclofenac	296.2→214.3	9.15	Y=4819.9X+8.5124	0.9998
Bezafibrate	362.3→139.2	7.93	Y=8293.4X+11.076	1.0000

*: Conc. 0.01–10.0 µg/L (4 points: 0.01, 0.1, 1.0, 10.0 µg/L)

Table 3 Recoveries of Carbamazepine, Diclofenac and Bezafibrate added to water samples

PPCPs		Dist. water	Tap water (+VC)	Tap water	Raw water
Carbamazepine	R, %	103.3	83.3	16.0	93.0
	CV, %	4.3	8.4	8.0	9.2
Diclofenac	R, %	94.4	93.6	36.3	83.5
	CV, %	7.7	8.5	5.3	3.7
Bezafibrate	R, %	96.1	106.4	85.3	92.6
	CV, %	8.8	7.3	3.4	2.1

Concentration: 40 ng/L, R: recovery, CV: coefficient of variation (n=5), VC: ascorbic acid
 Distilled water: pH: 6.8, SS<0.1 mg/L
 Tap water (+VC): pH: 6.8, SS<0.1 mg/L
 Tap water: pH: 6.9, SS<0.1 mg/L
 Raw water: pH: 7.0, SS<2.5 mg/L

Table 4 Concentration levels of Carbamazepine, Diclofenac and Bezafibrate in various water sources

Water sources	Carbamazepine		Diclofenac		Bezafibrate	
	Conc.(ng/L)*	Frequency	Conc.(ng/L)	Frequency	Conc.(ng/L)*	Frequency
River water	N.D.~268	5/10	N.D.~46	5/10	N.D.~405	6/10
Lake water	N.D.~102	1/2	N.D.~30	1/2	N.D.~21	1/2
River bed water	N.D.~2	1/2	N.D.~3	1/2	N.D.~5	1/2
Shallow well water	N.D.~2	1/12	N.D.~2	1/12	N.D.~3	1/12
Deep well water	N.D.	0/4	N.D.	0/4	N.D.	0/4
Total	N.D.~268	8/30	N.D.~46	8/30	N.D.~405	9/30

Sampling date: June 23, 2009 & October 20, 2009

*: Determination limit: Carbamazepine; 1ng/L, Diclofenac; 2ng/L, Bezafibrate; 1ng/L

それらの回収率と変動係数の結果を Table 3 に示す。

カルバマゼピンの回収率の範囲は 83.3~103.3% であり、変動係数の範囲は 4.3~9.2% であった。また、ジクロフェナックの回収率は 83.5~94.4% であり、変動係数は 3.7~8.5% であった。さらに、ベザフィブラートの回収率は 92.6~106.4% であり、変動係数は 2.1~8.8% であった。このように、検討を行ったすべての試料水へ添加した 3 種医薬品の回収率は 80% 以上と良好であり、また、変動係数も 10% 未満と良好な再現性を示した。

これらの結果から、実際のサンプルである水道水、河川水に含有する水質成分による妨害はなく、定量可能であることが明らかとなった。また、3 種医薬品はカルバマゼピン-d₁₀ の内部標準物質を用いることで分析の精度が高められ、極めて低濃度まで高感度に分析可能であることが明確となった。さらに、本分析条件によるカルバマゼピン、ジクロフェナック、ベザフィブラートの定量下限値はそれぞれ 1, 2, 1ng/L (S/N=10) であった。なお、添加回収実験に用いた試料水には 3 種医薬品は全く含まれていないことも確認している。

一方、水道水中における 3 種医薬品の安定性実験として、残留塩素 0.5mg/L を含有する水道水 500mL に 3 種医薬品 20ng を添加し 30 分間反応させた結果、残存率はカルバマゼピンで 16.0% (n=3)、ジクロフェナックで 36.3% と速やかに分解した (Table 3)。一方、ベザフィブラートは 85.3% と僅かな分解が認められた。

これらの結果から、カルバマゼピンおよびジクロフェナックは水道原水から水道水に移行した場合、水道水中の塩素で比較的容易に分解し、またベザフィブラートは徐々に分解することが推定された。

2. 水道原水中の医薬品調査

兵庫県下の 15 ヶ所の水道原水について、3 種医薬品の含有量調査を行った結果を Table 4 に示す。水道原水では、カルバマゼピンは最高濃度値 268ng/L、検出率は 26.7% (8/30) であった。ジクロフェナックは最高濃度値 46ng/L、検出率 26.7% (8/30) であった。ベザフィブラートは最高濃度値 405ng/L、検出率 30.0% (9/30) であった。また、これらの最高濃度値は厚生労働省の調査結果⁸⁾や他の報告⁹⁾と比較して、概ね同じ濃度レベルにあり、継続した監視を必要とすることが分かった。

一方、水源別では特に河川水や湖沼水で多く検出 (50% 以上) され、表流水の監視を強化する必要性が明らかとなった。また、地下水の伏流水や浅井戸においても僅かに検出されたが、深井戸では農薬³⁾と同様に全く検出されない実態も明らかとなった。

今後は、行政、水道事業所および試験研究機関が一体となり、医薬品の浄水処理過程における挙動調査など詳細な研究を進めることが重要であると考えられる。

IV 結論

水中医薬品の固相抽出-LC/MS/MS 法による分析法の開発および実態調査に関する研究を行った結果、以下の知見が得られた。

1. 水中医薬品の固相抽出カラムとして、ポリマー系の PS-2 および HLB カラムを直列に接続して検討した結果、PS-2 カラムで 3 種医薬品の大部分が吸着 (高い回収率) され、HLB カラムへは殆ど流出しないことが分かった。
2. 試料水 (精製水、脱塩素した水道水および河川水)

を用いて、医薬品の添加回収実験を行ったところ、回収率は80%以上と良好な結果が得られた。また、変動係数も10%未満と再現性の高い結果であることが認められた。これらのことから、固相抽出-LC/MS/MS法は測定妨害を受けることなく、高感度な分析が可能であることが示された。本法によるカルバマゼピン、ジクロフェナック、ベザフィブラートの定量下限値は、それぞれ1, 2, 1ng/Lであり、極めて低濃度レベルまで定量可能であった。

3. 一方、水道水中の塩素との反応(30分間)では、カルバマゼピンとジクロフェナックは60%以上が分解し、またベザフィブラートは15%程度の分解が認められ、浄水処理過程における塩素の有効性が分かった。
4. 本法を兵庫県水道水質管理計画に基づいた監視15地点等の水道原水中医薬品の実態調査に適用した結果、カルバマゼピン N.D.~268ng/L, ジクロフェナック N.D.~46ng/L, ベザフィブラート N.D.~405ng/Lの濃度範囲で検出された。検出率はカルバマゼピンで26.7%, ジクロフェナックで26.7%, ベザフィブラートで30.0%と比較的高く(検出率20%以上), 継続した監視が必要な医薬品であることが確認された。

今後は、多くの医薬品について、高感度な分析法の開発、広範囲な実態調査および詳細な浄水処理過程における挙動解明を行うことが、飲料水の安全確保のために重要であると考えられる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、試料水の採取にご協力をいただきました兵庫県健康福祉部生活衛生課ならびに各市町水道事業所の皆様に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Daughton, C.G., and Ternes, T.A.: Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment:

Agents of Subtle Change?. *Environ. Health Perspect.*, **107** (suppl.6), 907-938 (1999)

- 2) Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T.: Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999-2000, A National Reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 1202-1211 (2002)
- 3) 川元達彦, 辻英高, 寺西清: 兵庫県下の水源別からみた水道原水中の農薬の濃度及び検出頻度の経年的変動. *J. Health Sci.*, **45** (6), 401-411 (1999)
- 4) 清野敦子, 古荘早苗, 益永茂樹: わが国の水環境中における人用・動物用医薬品の存在. *水環境学会誌*, **27** (11), 685-691 (2004)
- 5) Nakada, N., Komori, K., Suzuki, Y., Konishi, C., Houwa, L., Tanaka, H.: Occurrence of 70 pharmaceutical and personal care products in Tone River basin in Japan. *Wat. Sci. Technol.*, **56** (12), 133-140 (2007)
- 6) 兵庫県健康生活部生活衛生課:「兵庫県水道水質管理計画」, 平成6年3月策定(第1次), 平成17年9月策定(第2次)
- 7) 日本水道協会編: 上水試験方法2001年版, 日本水道協会出版, p107-114, p119-120, p247-257, 東京(2001)
- 8) 国包章一, 西村哲治: 環境省地球環境保全等試験研究費「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18年度成果報告集(2007)
- 9) 久保田領志, 田原麻衣子, 清水久美子, 西村哲治: 高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法による環境水中PPCPsの分析と水環境中の存在実態. *国立衛研報*, **126**, 98-103 (2008)