

## 8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

研究予算：運営費交付金（一般勘定）

研究期間：平 18～平 22

担当チーム：水環境研究グループ（水質）

研究担当者：鈴木穰，小森行也，北村清明，  
北村友一

### 【要旨】

医薬品等の生理活性物質は、環境ホルモン同様、低濃度での水生生物への影響が懸念されており、新たな環境汚染問題となっている。このため、生理活性物質が水環境に与える影響を評価し、発生源や排出源などで効率的なリスク削減対策を講じることが求められている。本研究は、医薬品等の生理活性物質の分析法開発、水環境中での実態把握と挙動解明するとともに、これらの物質が水生生態系に対して与える影響の評価手法を提案することを目的としている。平成20年度は、医薬品95種類の一斉分析方法の開発および水環境中での実態把握と、バイオアッセイ手法による医薬品類および河川水の生態影響評価を行った。

キーワード：医薬品、一斉分析法、実態把握、バイオアッセイ

### 1. はじめに

医薬品等の生理活性物質は、使用の後に水環境中に排出される。これらの物質は環境ホルモン同様、低濃度での水生生物への影響が懸念されており、新たな環境汚染問題となっている。このため、生理活性物質が水環境に与える影響を評価し、発生源や排出源などで効率的なリスク削減対策を講じることが求められているが、それには、生理活性物質の水環境での実態を把握するとともに、水環境中での挙動を解明することが必要である。さらに、水生生物への影響を評価するために、生理活性物質の含まれた環境水の生物影響ポテンシャルを評価する手法が求められている。

このため本研究課題では、医薬品等の生理活性物質の分析方法を開発するとともに、水環境中での実態把握と挙動解明、医薬品等の特性に応じたグルーピングと分析方法および挙動予測手法の提案を行うことを目的とする。さらに、水生生態系への影響を評価するため、魚類・両生類・甲殻類・藻類・細菌等を用いたバイオアッセイ手法により医薬品等の評価を行うとともに、生理活性物質の含まれた環境水の生物影響ポテンシャルを評価する手法および水質リスク評価法の提案を行うことを目的とする。

平成20年度は、水環境中での医薬品等の実態把握、バイオアッセイを用いた医薬品等の評価について実施した。

### 2. 生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態

#### 2.1 目的

人が使用する医薬品は、体内で代謝された後排泄物とともに排出され、主に下水道を経由して水環境に排出されると考えられるが、下水道未整備区域にあっては、浄化槽等を経由し河川等の水環境に排出される。また、家畜に使用される医薬品は、排水処理施設等を経由するものもあると考えられるが、一部は直接水環境に排出される。環境水中の医薬品の実態把握については多くの研究<sup>1-6)</sup>が進められているが、河川の医薬品実態については一級河川など比較的大きな河川を調査対象としている場合が多い。そこで本研究では、生活排水の処理状況が異なる都市域の小河川における医薬品の存在実態を把握し、集水域の生活排水の処理状況と医薬品存在濃度の関係について検討を行った。

#### 2.2 対象医薬品（95種類）及び分析方法

研究対象医薬品は、平成19年度と同じく解熱鎮痛消炎剤、利尿剤、神経系用剤、抗生物質、不整脈用剤、高脂血症用剤、抗不安剤、強心剤、抗てんかん剤、止血剤、混合ホルモン、気管支拡張剤等の95物質とした。これらの医薬品の使用対象は人用、動物用、両用である。また、これら95物質の分析は、平成19年度と同じく標準添加法により行った。

## 8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

### 2.3 調査方法

#### 2.3.1 調査地点

調査地点は、千葉県に位置する手賀沼に流入する大津川の5つの支川(St.1、St.2、St.3、St.4、St.5)とした(図-2.1)。大津川は、河川延長約12.5km、流域面積約37km<sup>2</sup>の小河川である。各調査地点の集水面積は、St.1は4.4km<sup>2</sup>、St.2は4.2km<sup>2</sup>、St.3は5.9km<sup>2</sup>、St.4は4.1km<sup>2</sup>、St.5は2.4km<sup>2</sup>である。大津川流域の柏市、松戸市、鎌ヶ谷市から入手した下水道整備人口および生活排水処理人口から、各調査地点集水域の生活排水処理の人口を整理し図-2.2に示した。大津川流域の下水道整備状況は下流域、中流域、上流域で異なっており、各調査地点の流域人口に占める下水道人口の割合は2007年3月末の集計(一部推計)でSt.1が約97%、St.2が約91%、St.3が約83%、St.4が約47%、St.5が0%である。大津川流域の下水道は、下水を収集・処理した後、他の流域へ放流水を放流していることから、これら下水道人口分の負荷は調査流域には流入しない。下水道人口以外の生活排水のうち、単独処理浄化槽人口分は、し尿は浄化槽で処理され、し尿以外の生活排水は未処理のまま調査集水域へ排出される。合併処理浄化槽人口分は、し尿と生活排水が浄化槽で処理されその処理水が排出される。し尿処理人口分は、し尿は収集・運搬された後、し尿処理場で処理され、し尿以外の生活排水はそのまま調査集水域へ排出される。

試料採取は、2007年1月29日に実施した。当日の天候は、曇りで一時的に小雨がぱらついたが、降雨量と

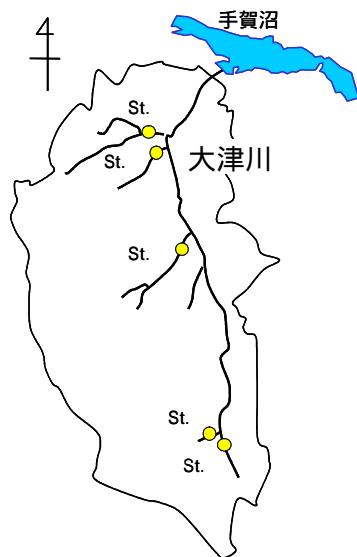


図-2.1 調査地点

しては0mmであった。医薬品分析用の採取試料は、アスコルビン酸(酸化防止剤)とNa<sub>2</sub>EDTA(マトリックス元素のマスキング剤)を各約1g/Lとなるように加え、分析まで冷蔵保存した。一般水質項目(DOC、NH<sub>4</sub>-N、T-N、T-P)分析用の採取試料は、保存剤は添加せずそのままクーラーボックスに入れ冷却しながら分析所に持ち帰った。また、試料採取時に河川の流量測定を行うとともに水質モニター(U-22DX、HORIBA, Ltd.)を用い水温、pH、DOを測定した。

#### 2.4 調査結果と考察

##### 2.4.1 一般水質項目

採水時に行った現場測定と流量測定の結果、および分析所に持ち帰った後行った一般水質項目の分析結果を表-2.1に示した。冬期の調査であり水温は11~13であった。pHは7.1~8.4であり、St.1とSt.2で少しアルカリ側の値を示した。DOはSt.1~St.3は9.3~15mg/Lを示していたがSt.4、St.5では3.4mg/L、2.3mg/Lであり、St.1~St.3に比べ低い値であった。DOC、NH<sub>4</sub>-N、T-N、T-Pについてみると、どの項目もSt.1は最も低く、次にSt.2又はSt.3、そしてSt.4又はSt.5の順に高くなる傾向を示した。

DO、DOC、NH<sub>4</sub>-N、T-N、T-Pの値からSt.1は人為汚染が小さく、St.4、St.5は強い人為汚染がみられ、St.2、St.3はその中間の汚染状況であることが分かる。下水道整備により生活排水の多くを調査流域外へ排出している地点では人為汚染が小さく、生活排水の多くを未処理あるいは単独・合併処理浄化槽により処理している地点では人為汚染が強い傾向がみられ、生活排水の

図-2.2 各調査地点集水域の生活排水処理人口

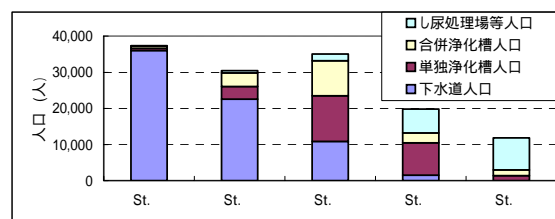


表-2.1 水質分析結果(一般項目)

試料採取地点 (Time)	St. (13:00)	St. (13:30)	St. (11:30)	St. (11:00)	St. (10:40)
水温 ( )	12	11	11	11	13
pH (-)	7.9	8.4	7.5	7.1	7.3
DO (mg/L)	10	15	9.3	3.4	2.3
DOC (mg/L)	0.8	3.0	2.8	4.1	6.6
NH <sub>4</sub> -N (mg/L)	0.1	0.7	3.3	5.5	6.4
T-N (mg/L)	6.8	9.5	9.4	14	13
T-P (mg/L)	0.06	0.35	0.24	0.71	0.92
流量 (m <sup>3</sup> /s)	0.09	0.06	0.08	0.10	0.09

8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

処理状況と強い関係がうかがえる。

2.4.2 医薬品

検出下限値、定量下限値は各医薬品の混合標準溶液をLC-MS/MSにより繰返し測定(n=5)を行い、その再現性から標準偏差( )を算出し、3 を検出下限値、10 を定量下限値とした。

St.1~St.5のいずれかの地点で検出された医薬品の分析結果を表-2.2に示した。研究対象医薬品95物質の内、人用医薬品38物質、動物用3物質、人・動物両用医薬品13物質(合計54物質)が検出された。装置検出下限値未満はND、検出下限値以上で定量下限値未満は

Tr.としカッコ内に測定値を示した。

St.1では20物質、St.2では24物質、St.3では45物質、St.4では45物質、St.5では50物質が検出された。Table 2から分かるように、St.1、St.2では他の調査地点に比べ検出物質数が少なく、検出濃度も低い。逆にSt.4、St.5では他の調査地点に比べ検出物質数が多く、検出濃度も高い結果となった。また、St.3は検出物質数、検出濃度とも平均的な状況であった。これらの状況は、前述した一般水質項目の結果において人為汚染が小さい地点では、検出された医薬品数が少ないとともに検出濃度も低く、人為汚染が強い地点では、検出された

表-2.2 水質分析結果(医薬品)

No.	医薬品	本調査							既往調査 <sup>6)</sup>	
		LOD	LOQ	St.①	St.②	St.③	St.④	St.⑤	河川水	放流水
1	acetaminophen	2.0	6.6	170	190	300	530	550	52	263
2	acetazolamide	38	130	ND	ND	ND	Tr.(50)	Tr.(75)	-	-
3	amitriptyline	0.85	2.8	ND	ND	Tr.(2.7)	Tr.(1.5)	4.6	<0.5	14
4	amoxicillin	5.5	18	ND	ND	42	23	110	-	-
7	atenolol	0.82	2.7	8	36	36	100	180	46	930
8	azithromycin	0.96	3.2	ND	16	33	47	87	70	441
10	bezafibrate	1.8	6.0	Tr.(19)	270	250	280	310	77	1,500
12	caffeine	13	45	860	1,800	4,800	9,000	12,000	2,100	3,500
13	carbamazepine	0.33	1.1	4.1	18	91	44	25	12	86
15	chloramphenicol	7.9	26	ND	ND	ND	ND	Tr.(18)	<0.3	140
17	chlorpromazine	0.76	2.5	ND	ND	ND	ND	Tr.(1.9)	-	-
18	chlortetracycline	18	59	ND	ND	ND	ND	98	-	-
20	clarithromycin	0.56	1.9	34	110	240	280	280	38	726
23	crotamiton	1.4	4.7	45	120	340	440	1,600	160	1,900
26	dextromethorphan	1.1	3.8	ND	ND	Tr.(1.2)	ND	Tr.(3.5)	-	-
28	diclofenac	2.2	7.3	ND	8.7	32	43	83	3.3	220
29	dibiazem	0.18	0.6	ND	3.2	8.3	6.9	11	2.2	90
30	diphenadol	0.12	0.41	ND	ND	2.1	1.9	2.5	-	-
31	dipyridamole	0.75	2.5	ND	ND	11	32	78	<40	460
32	disopyramide	0.19	0.63	0.85	26	85	210	110	19	71
33	erythromycin	1.1	3.8	6.3	12	130	160	230	-	-
34	ethenzamide	1.0	3.4	ND	ND	7.9	6.9	11	2.8	47
35	fenoprofen	1.0	3.5	ND	ND	11	ND	ND	-	-
37	flufenamic acid	0.90	3.0	Tr.(1.2)	ND	Tr.(2.8)	ND	ND	-	-
38	furosemide	8.2	27	Tr.(19)	ND	79	130	160	9.1	940
41	haloperidol	0.68	2.3	ND	ND	11	Tr.(1.4)	ND	0.4	4.5
42	ibuprofen	3.1	10	12	44	87	180	220	<30	77
44	imipramine	0.41	1.4	ND	ND	Tr.(0.64)	4.1	Tr.(0.97)	-	-
45	indomethacine	5.6	19	ND	25	110	99	120	16	251
48	ketoprofen	6.0	20	ND	ND	Tr.(13)	57	130	24	820
50	mefenamic acid	0.75	2.5	Tr.(1.1)	5.0	21	37	52	<4	62
53	metoclopramide	0.19	0.63	Tr.(0.29)	1.1	3.0	16	9.3	<1	76
54	metoprolol	5.4	18	ND	ND	ND	ND	Tr.(6.3)	-	23
55	N,N-diethyl-m-tolamide	6.1	20	Tr.(11)	Tr.(13)	28	Tr.(20)	34	36	191
56	nalidixic acid	0.64	2.1	ND	Tr.(1.8)	5.3	9.7	2.7	3.9	345
57	naproxen	3.1	10	ND	ND	23	110	Tr.(5.1)	-	-
60	novobiocin	2.4	8.1	Tr.(2.9)	ND	ND	ND	ND	-	-
61	ofloxacin	2.1	6.9	9.5	61	40	110	98	-	-
66	phenobarbital	47	160	ND	ND	Tr.(140)	Tr.(92)	Tr.(74)	-	-
68	phenytoin	3.3	11	ND	Tr.(8.4)	13	14	14	2.3	54
70	pirenzepine	0.52	1.7	ND	Tr.(0.97)	4.4	6.9	8.1	1.1	100
72	primidone	5.5	18	ND	ND	Tr.(10)	34	Tr.(11)	<11	180
73	promethazine	0.54	1.8	ND	ND	6.6	Tr.(1.3)	Tr.(1.4)	-	-
74	propranolol	1.3	4.4	ND	Tr.(2.2)	Tr.(2.5)	Tr.(4.2)	Tr.(3.9)	<9	23
75	2-quinoxalinecarboxylic acid	10	34	ND	ND	Tr.(13)	ND	ND	-	-
79	sotalol	0.43	1.4	ND	ND	ND	ND	Tr.(1.2)	-	-
82	sulfadimethoxime	0.72	2.4	ND	ND	ND	ND	5.7	3.4	10
84	sulfamethoxazole	2.4	8.0	9.9	ND	65	43	230	7.2	76
86	sulpiride	0.19	0.62	110	200	980	470	660	110	2,100
89	theophylline	2.2	7.5	38	170	260	510	560	50	930
92	tolbutamide	1.2	4.0	ND	ND	ND	Tr.(1.5)	Tr.(1.3)	-	-
93	tolperisone	0.18	0.58	ND	ND	Tr.(0.38)	Tr.(0.32)	ND	-	-
94	trimethoprim	1.2	4.0	ND	ND	9.5	Tr.(3.2)	4.7	<6	56
95	verapamil	0.34	1.1	ND	ND	Tr.(0.47)	1.7	Tr.(1.0)	0.4	11

## 8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

医薬品数が多くかつ検出濃度も高い傾向がみられた。

下水処理を受けても分解することなく、また、汚泥への吸着も殆どみられないことから人為汚染のマーカ―として提案されている carbamazepine<sup>7)</sup> と crotamiton<sup>8)</sup> をみても、St.1、St.2では低く、St.3～St.5で高い傾向がみられ、St.3～St.5は、St.1、St.2に比べ人為汚染が強い地点であることがわかる。また、下水処理による除去率が99%以上ではあり、未処理排水による人為汚染のマーカ―として提案されている caffeine<sup>9)</sup> においても同様の傾向であった。

本研究において検出された54物質について、既往文献の報告値<sup>6)</sup> から利根川本川の存在濃度（最大値）と比較する（表-2.2）。調査地点別に報告値のある34物質についてみると、報告値を上回った物質数、同等の物質数、下回った物質数はそれぞれ、St.1は3物質、12物質、19物質、St.2は14物質、7物質、13物質、St.3は25物質、4物質、5物質、St.4は27物質、4物質、3物質、St.5は28物質、4物質、2物質であった。St.1の医薬品濃度は、大河川の濃度に比べ同等或は低いレベル、St.2は同等あるいは少し高いレベルにあり、St.3～St.5は概ね高いレベルであった。

本研究は、生活排水の処理・排出状況が異なる都市域（下水道未整備地域を含む）の小河川における医薬品存在実態について調査したものであり、その濃度が既往報告の下水処理場放流水<sup>6)</sup> に比べどの程度なのか比較した。下水処理場での除去率の高い acetaminophen<sup>10)</sup>、caffeine<sup>10)</sup>、ibuprofen<sup>8)</sup> の3物質が St.3、St.4、St.5においてその濃度を超えた他は、下水処理場放流水を下回る濃度であった。また、St.4とSt.5では下水処理場放流水の濃度の2倍以上の値を示しており、未処理排水や処理レベルの低い排水による強い汚染がうかがえる。なお、下水処理場での除去がほとんど見られない crotamiton<sup>8)</sup> については、St.5が下水処理水と同レベルであり、St.5の河川水のほとんどは生活排水由来であることが推察される。多くの物質について、下水処理水より濃度が低いことに関しては、土壌への吸着の可能性も含めて検討する必要がある。

各調査地点においていくつかの動物用医薬品が検出された。St.1で検出された novobiocin はグラム陽性菌に対し有効な抗生物質で、ブドウ球菌や肺炎球菌の感染の治療に使用されている<sup>11)</sup>。St.3で検出された 2-quinoxalinecarboxylic acid は豚赤痢の治療薬等<sup>12)</sup> として用いられている合成抗菌剤（carbadox）の代謝物である。St.5で検出された sulfadimethoxine は豚の

トキソプラズマ病や鶏のコクシジウム病等の治療に用いられているサルファ剤<sup>13)</sup> である。これら動物用医薬品が検出された St.1、St.3 の集水域では鶏舎、乗馬クラブ、動物病院の存在が確認された。しかし、St.5 の集水域ではこれらの存在を確認することは出来なく排出源は不明であった。

### 2.4.3 検出医薬品の排出負荷量と人口一人当たりの排出量

前述した医薬品検出濃度と試料採取時に観測した流量から排出負荷量を求めた。各調査地点の負荷量比較を行うため、調査地点5ヶ所全てで検出された17物質について表-2.3に示した。約半数の医薬品は St.1 の負荷量が最も小さく、St.2、St.3、St.4、St.5 の順に負荷量が大きくなっている。調査流域からの人用医薬品の排出源は、基本的に人であると考えられ、表-2.3 下段に示した流域内の人口（下水道人口を除く）が大きいほど排出負荷量が大きい傾向が見られた。また、他

表-2.3 調査地点別の医薬品負荷量(g/d)と人口(人)

No.	医薬品	St.1	St.2	St.3	St.4	St.5
1	acetaminophen	1.4	1.0	2.1	4.8	4.2
7	atenolol	0.064	0.20	0.25	0.90	1.4
10	bezafibrate	0.15	1.5	1.7	2.5	2.3
12	caffeine	6.9	9.9	33	81	91
13	carbamazepine	0.033	0.099	0.63	0.39	0.19
20	clarithromycin	0.27	0.60	1.7	2.5	2.1
23	crotamiton	0.36	0.66	2.3	3.9	12
32	disopyramide	0.0068	0.14	0.59	1.9	0.83
33	erythromycin	0.050	0.066	0.90	1.4	1.7
42	ibuprofen	0.096	0.24	0.60	1.6	1.7
50	mefenamic_acid	0.0088	0.027	0.15	0.33	0.39
53	metoclopramide	0.0023	0.0060	0.021	0.14	0.070
55	N,N-diethyl-m-tolamide	0.088	0.071	0.19	0.18	0.26
61	ofloxacin	0.076	0.33	0.28	0.99	0.74
86	sulpiride	0.90	1.1	6.8	4.2	5.0
89	theophylline	0.30	0.93	1.8	4.6	4.2
人口		1,073	2,413	6,180	10,269	11,950

の医薬品も同様の傾向を示していた。

次に、本調査流域の排出負荷量を流域内人口（下水道人口を除く）で除して一人当たりの医薬品負荷量を算出し、図-2.3および表-2.4に示した。人口一人当たりの各医薬品負荷量は、全地点の平均値に対し0.1倍～2.5倍の範囲であった。調査流域に排出している浄化槽（単独・合併）の処理機能の違い、排出後の水環境における各医薬品の分解率の違い等が一因と考えられる。

## 8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

前述の生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態把握に加え、湖沼とその注入河川における医薬品の存在実態把握を目的として調査を行った。

### 3.2 調査方法

#### 3.2.1 試料採取地点

面積36km<sup>2</sup>の湖沼内で3ヶ所とその流入河川11ヶ所、合計14ヶ所で試料を採取した(図-3.1)。2008年2月13日に採取し、アスコルビン酸とNa2EDTAを各約1g/L添加

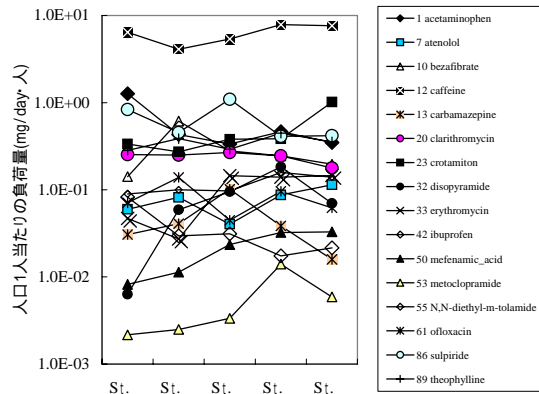


図-2.3 人口1人当たりの医薬品負荷量

表-2.4 人口1人当たりの医薬品負荷量 (mg/d・人)

No.	医薬品	人口1人当たりの負荷量
1	acetaminophen	0.57 ± 0.39
7	atenolol	0.077 ± 0.028
10	bezafibrate	0.30 ± 0.19
12	caffeine	6.3 ± 1.6
13	carbamazepine	0.045 ± 0.033
20	clarithromycin	0.24 ± 0.035
23	crotamiton	0.48 ± 0.30
32	disopyramide	0.083 ± 0.065
33	erythromycin	0.10 ± 0.059
42	ibuprofen	0.12 ± 0.030
50	mefenamic_acid	0.022 ± 0.012
53	metoclopramide	0.0056 ± 0.0049
55	N,N-diethyl-m-tolamide	0.036 ± 0.026
61	ofloxacin	0.082 ± 0.036
86	sulpiride	0.64 ± 0.31
89	theophylline	0.35 ± 0.068

## 2.5 今後の展開と課題

95物質の医薬品を一斉分析する方法を用いて、生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態調査を行った。生活排水の排出割合が小さい集水域の河川では検出される医薬品数が少なく、その検出濃度も低く、生活排水の排出割合が多い集水域の河川では検出される医薬品数も多く、その検出濃度も高い傾向を示すこと、小河川においては、生活排水処理人口が大きいほど医薬品排出負荷量が大きくなる傾向があることが分かった。また、人口一人当たりの各医薬品排出負荷量 (mg/day・人) は、それぞれ全調査地点の平均値の0.1~2.5倍の範囲にあった。しかしながら、本調査は晴天時に試料採取を行ったものであり、雨天時に河川流量が増加した時の医薬品流出状況は不明である。今後は、雨天時においても同様の調査を実施し、雨天時における医薬品流出特性の把握を検討する。

## 3. 湖沼とその流入河川における医薬品存在実態

### 3.1 目的

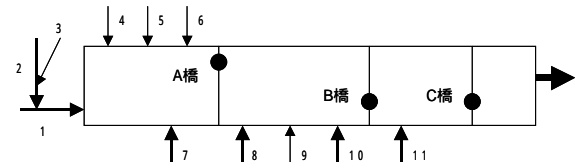


図-3.1 試料採取地点

後、冷却しながら分析所に持ち帰った。

#### 3.2.2 調査対象物質および分析方法

調査対象とした医薬品は、前述の95物質から高脂血症用剤のgemfibrozil、他の循環器官用薬のciticoline、抗生物質のerythromycin、spiramycin、tilmicosinの5物質を除き、副腎皮質ホルモン剤のdexamethasone、dexamethasone acetateの2物質を加えた92物質とした。これら92物質の分析は、既報<sup>5,14)</sup>を参考に抽出・濃縮等の前処理を行い、定量は絶対検量線法により行った。

### 3.3 調査結果と考察

92物質中66物質が14ヶ所のいずれかの試料で検出された、その検出濃度は carbamazepine の0.26ng/L から amoxicillin の480ng/L であった。10ヶ所以上の多くの地点で検出された38物質についてその検出状況を図-3.2に示した。各地点とも強心剤の caffeine が比較的高濃度 (36-450ng/L) で検出された。また、地点2では抗生物質の amoxicillin (480ng/L)、地点3ではサルファ剤の sulfamethoxazole (400ng/L)、地点5及び点9ではかゆみ止めの crotamiton (150ng/L、79ng/L)、地点8では解熱・鎮痛消炎剤の mefenamic acid (76ng/L)が高濃度で検出された。他の医薬品は55ng/L以下であった。

流入11河川の医薬品検出パターンは、地点毎に大きく異なっているが、湖沼内3ヶ所で採取した試料の検出パターンは概ね同じであった。また、湖沼内で検出された多くの医薬品は、流入河川の濃度に比べ低い値を示したが、虫よけ剤の N,N-diethyl-m-tolbutamide、気管支拡張剤の theophylline は5~7倍高い値を示した。



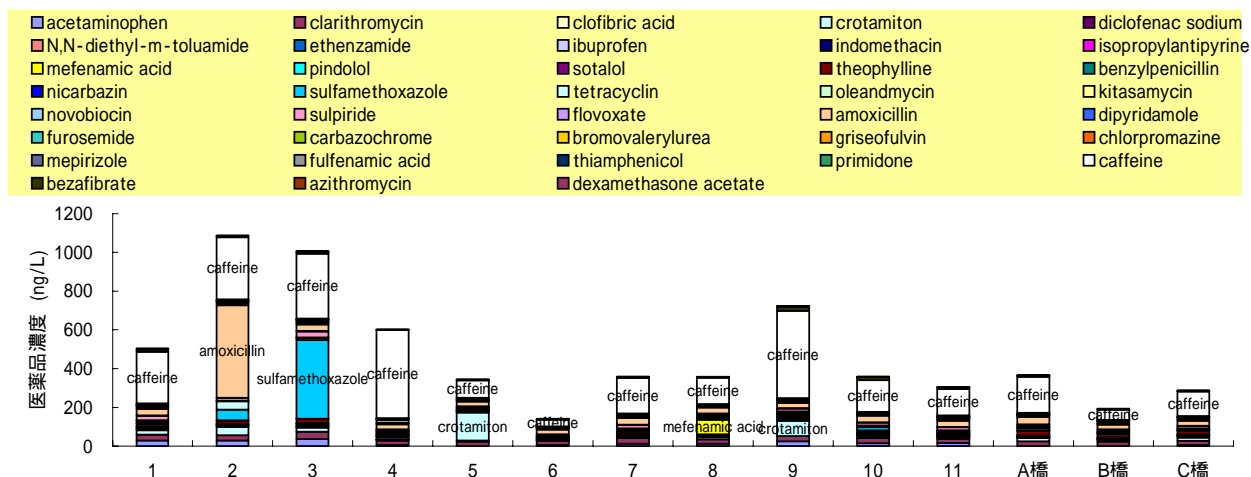


図-3.2 各試料の医薬品濃度

### 3.4 今後の展開と課題

湖沼とその流入河川の医薬品濃度を明らかにした。湖沼内で検出された殆どの医薬品は、流入河川の濃度に比べ低い値を示したが、本調査は晴天時に試料採取を行ったものであり、雨天時に湖沼に流入する河川の流量が増加した時の医薬品流出状況は不明である。今後は、雨天時においても同様の調査を実施し、雨天時における医薬品流出特性の把握を検討する。また、流量観測も合わせて行い、負荷量を算出するなど、定量的な視点からの考察についても検討する。

## 4. バイオアッセイによる医薬品類の生態影響評価

### 4.1 目的

医薬品等の生理活性物質は、その開発目的が疾病の治療など生物の生体反応への作用を主とするため、何らかの形で生体機能へ影響を及ぼす性質を持ち、またその作用を生体内で維持できるように化学構造が設計されている。そのため、河川水や下水処理水などの環境水中に医薬品等の生理活性物質が存在する場合、それらは水生生態系を構成する水生生物の生育・生息に何らかの影響を及ぼす可能性が考えられる。

また、医薬品等は、投与対象であるヒトへの作用や副作用についての情報を得るため開発段階において齧歯類等を用いた動物実験は多くなされているが、それらが体外へ排出された後の環境中の様々な生物への影響（生態影響）については、薬事法で義務付けられていないため、十分なデータが得られていない。さらに、医薬品類が水中の植物や無脊椎動物等と与える影響は、元々の投与対象であるヒトなどに対する効果とは異なる作用となり、生物種ごとに様々な影響が生じる可能

性が推測される。

そこで本研究では、医薬品類が生物に及ぼす影響についての知見を充実させ生態リスク評価方法の検討に資することを目的に、昨年度に引き続き、水環境中において存在が確認されてきている様々な医薬品類を対象に、細菌や甲殻類など5種の生物を用いたバイオアッセイ手法を適用しデータの集積を行った。

### 4.2 対象医薬品類および生態影響試験方法

評価対象とする医薬品類は、環境中で検出された報告のある物質を中心に選定し、解熱鎮痛薬、神経系作用薬、循環器薬、消化器薬、抗菌薬など、表-4.1に示す44物質とした。なお、昨年度対象としていた ofloxacin については、同じく対象としている levofloxacin の光学異性体混合物であることから、今年度は対象としていない。

各医薬品類について、working solution として DMSO を溶媒に 10,000mg/L の溶液を調製した後、適宜希釈して試験に用いた。各試験における最大曝露濃度は、曝露溶液中の溶媒（DMSO）濃度が 0.1% を超えないように 10mg/L と設定した。また、濃度と阻害反応の関係をみるための希釈系列の作成においては、公比 2 として希釈を行い、細菌、藻類及び原生動物については 10 段階、他の生物については 5 段階の希釈段階を設定した。ただし、設定した濃度範囲の低濃度区で阻害が十分に低減されなかった物質については、さらに低濃度まで濃度区を設定して試験を行った。

表-4.1 供試対象医薬品

解熱鎮痛薬	ibuprofen
	ethenzamide
	ketoprofen
	diclofenac
	naproxen
	fenoprofen
	flufenamic acid mefenamic acid
神経系作用薬	amitriptyline
	imipramine
	carbamazepine
	chlorpromazine
	diphenidol
	haloperidol
	phenytoin
	primidone
筋弛緩薬	tolperisone
循環器薬	atenolol
	caffeine
	dipyridamole
	diltiazem
	sotalol
	tolbutamide
	bezafibrate verapamil
消化器薬	sulpiride
	pirenzepine
	metoclopramide
呼吸器薬	dextromethorphan
利尿剤	acetazolamide
	furosemide
抗菌薬 (含 抗生物質)	2-quinoxaline carboxylic acid
	azithromycin
	clarithromycin
	chloramphenicol
	thymol
	triclosan
	nalidixic acid
	novobiocin levofloxacin
抗炎症薬	dexamethasone
抗アレルギー薬	promethazine
昆虫忌避薬	N,N-diethyl-m-tolamide
沈痒剤	crotamiton

#### 4.2.1 細菌による試験

供試生物として海洋性発光細菌(*Vibrio fischeri*)を使用する英 SDI 社製の試験システム(MICROTOX®)を用い、細菌が発する光量の増減から細菌の代謝に対する阻害影響をみた。試験は添付の急性毒性試験のプロトコールに従い、曝露時間を5分及び15分として、半数阻害濃度(EC50)を装置附属の計算ソフトにより求めた。

#### 4.2.2 藻類による試験

供試生物として緑藻類の *Pseudokirchneriella subcapitata* (NIES-35)を用いた。試験は96ウェルマイクロプレートを使用して曝露し、マイクロプレートリーダーによる吸光度測定から細胞数を換算する方法で行った。96時間曝露した後に藻類の増殖量から生長阻害率を計算し、試料濃度と阻害率の関係から半数阻害濃度(EC50)及び最大無影響濃度(NOEC)を求めた。

#### 4.2.3 甲殻類(ミジンコ)による試験

供試生物としてオオミジンコ(*Daphnia magna*)を使用するベルギーのMicroBioTests社の急性毒性試験システム(DAPHTOXKIT F MAGNA™)を用いた。試験は生物を48時間試験溶液に曝露して24時間毎に遊泳阻害を観察し、試料濃度と阻害率の関係から半数阻害濃度(EC50)を求めた。

#### 4.2.4 両生類(カエル)による試験

供試生物としてアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)を用いた。試験はASTM (American Society for Testing and Materials)に記載されているFETAX (the Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus)の方法を一部改変して24ウェルマイクロプレートで曝露する方法で行った。胞胚期になった胚を24 で96時間曝露し、死亡及び奇形について観察した。本試験において明確な奇形の発生は確認できなかったため、死亡率をエンドポイントとし、試料濃度と死亡率の関係から半数致死濃度(LC50)を求めた。

#### 4.2.5 原生動物による試験

供試生物として繊毛虫の *Tetrahymena pyriformis* (NIES-403)を用いた。試験は、1%プロテオースペプトン培地と、対象医薬品類を加えた培地を入れた使い捨ての吸光度セルの中で原生動物を増殖させ、吸光度計で測定した吸光度の値を細胞数に換算し生物量の変化を算定した。曝露後24時間毎に生物量を確認し、72時間後までの増殖量から増殖阻害率を計算して、曝露濃度との関係から半数阻害濃度(EC50)及び最大無影響濃度(NOEC)を求めた。

8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

4.3.1 細菌

海洋性発光細菌による急性毒性試験で算出された毒性値について、比較的多くの物質を試験した解熱鎮痛薬、神経系作用薬、循環器薬、抗菌薬の用途分類群別にみると、以下のとおりであった。

[EC50]

解熱鎮痛剤	: 10~30 mg/L	(8/8種)
神経系作用薬	: 1~300 mg/L	(8/8種)
循環器薬	: 1~250 mg/L	(2/8種)
消化器薬	: (検出されず)	(0/3種)
抗菌薬	: 0.5~50 mg/L	(3/9種)

5min 試験値、カッコ内は (毒性検出物質数 / 試験物質数)

4.3 試験結果

各医薬品類に対する生態影響試験の結果をまとめると、表-4.2のようになった。

EC50や NOEC 等の指標は生物に作用する濃度を示しており、数値が低いほど低濃度でも生物に影響を及ぼす、すなわち毒性が強いことを意味している。なお EC50については、設定した濃度範囲(10mg/L 以下)を超える場合でも外挿値を記載したが、各医薬品類の水への溶解性が不明であることから、計算値が1g/L を超える場合には曝露濃度が維持されないものとみなし、影響は無いと判断することとした。

各生物種に対する医薬品類の影響に関しては、次のような傾向がみられた。

表-4.2 医薬品の生態影響試験結果

(単位 EC50/LC50/NOEC: mg/L, PNEC: µg/L)

	細菌		藻類		ミジンコ	カエル	原生動物		PNEC (試験系)
	5min EC50	15min EC50	96h EC50	96h NOEC	48h EC50	96h LC50	72h EC50	72h NOEC	
解熱鎮痛薬									
ibuprofen	1.2E+1	1.2E+1	2.3E+0	5.2E-1	N.E.	N.E.	4.1E+0	6.3E-1	2.3E+0 A-a
ethenzamide	2.0E+1	2.4E+1	3.7E+0	2.1E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	3.7E+0 A-a
ketoprofen	2.3E+1	2.3E+1	2.0E+0	1.0E+0	2.8E+0	N.E.	N.E.	N.E.	2.0E+0 A-a
diclofenac	2.5E+1	2.2E+1	5.0E+0	5.2E-1	N.E.	N.E.	5.3E+0	3.1E-1	3.1E+0 P-c
naproxen	3.3E+1	1.7E+1	3.7E+0	5.2E-1	N.E.	N.E.	8.9E+0	3.1E-1	3.1E+0 P-c
fenopropfen	1.1E+1	1.1E+1	5.7E+0	2.1E+0	N.E.	N.E.	1.7E+1	5.0E+0	5.7E+0 A-a
flufenamic acid	1.5E+1	1.4E+1	1.1E+0	1.4E-1	4.1E+0	6.3E+0	1.4E+0	3.1E-1	1.1E+0 A-a
mefenamic acid	3.1E+1	2.7E+1	5.4E+0	2.1E+0	N.E.	5.2E+0	1.1E+0	3.9E-2	3.9E-1 P-c
神経系作用薬									
amitriptyline	1.9E+1	1.2E+3	1.9E-1	4.1E-2	1.3E+0	3.5E+0	3.1E+0	1.3E+0	1.9E-1 A-a
imipramine	8.0E+0	9.0E+0	1.5E-1	2.4E-2	4.9E+0	3.5E+0	4.1E+0	1.3E+0	1.5E-1 A-a
carbamazepine	5.3E+1	5.6E+1	4.9E+1	5.2E-1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.2E+0 A-c
chlorpromazine	1.2E+0	1.7E+0	2.7E-1	2.4E-2	2.2E+1	1.9E+0	1.0E+0	1.6E-1	2.4E-1 A-c
diphenidol	1.6E+2	1.8E+2	7.5E-1	4.1E-2	N.E.	N.E.	3.9E+1	2.5E+0	4.1E-1 A-c
haloperidol	1.6E+1	1.8E+1	4.1E-1	<1.6E-2	6.3E+0	3.6E+0	4.0E+0	6.3E-1	4.1E-1 A-a
phenytoin	7.6E+1	9.2E+1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	2.1E+1	5.0E+0	2.1E+1 P-a
primidone	3.1E+2	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	3.1E+2 M5-a
筋弛緩薬									
tolperisone	1.1E+2	5.6E+1	6.3E-1	4.1E-2	4.0E+0	1.8E+1	1.6E+1	5.0E+0	4.1E-1 A-c
循環器薬									
atenolol	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	-
caffeine	2.6E+2	3.2E+2	1.5E+1	5.2E-1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.2E+0 A-c
dipyridamole	N.E.	N.E.	1.0E+1	1.6E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.0E+1 A-a
diltiazem	N.E.	N.E.	4.5E+0	5.2E-1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	4.5E+0 A-a
sotalol	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	-
tolbutamide	1.5E+0	1.6E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.5E+0 M5-a
bezafibrate	N.E.	N.E.	N.E.	1.0E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.0E+1 A-c
verapamil	N.E.	N.E.	3.3E+0	3.9E-1	N.E.	N.E.	8.8E+0	3.1E-1	3.1E+0 P-c
消化器薬									
sulpiride	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	-
pirenzepine	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	-
metoclopramide	N.E.	N.E.	7.7E+0	1.0E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	7.7E+0 A-a
呼吸器薬									
dextromethorphan	7.0E+1	8.2E+1	5.8E-1	1.6E-2	1.2E+1	N.E.	8.4E+1	2.5E+0	1.6E-1 A-c
利尿剤									
acetazolamide	N.E.	N.E.	1.4E+0	5.2E-1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.4E+0 A-a
furosemide	N.E.	N.E.	N.E.	>8.3E+1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	3.0E+9 A-a
抗菌薬 (含 抗生物質)									
2-quinoxaline carboxylic acid	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	-
azithromycin	N.E.	N.E.	1.9E-2	5.2E-3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.9E-2 A-a
clarithromycin	N.E.	N.E.	1.2E-2	5.2E-3	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.2E-2 A-a
chloramphenicol	N.E.	N.E.	2.1E-2	4.1E-2	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	2.1E-1 A-a
thymol	1.6E+0	2.1E+0	1.7E+0	5.2E-1	6.1E+0	N.E.	9.9E+0	3.1E-1	1.6E+0 M5-a
triclosan	4.7E-1	5.3E-1	1.2E-2	8.3E-3	2.6E-1	8.2E-1	6.3E-1	2.5E-1	1.2E-2 A-a
nalidixic acid	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	9.3E+0	N.E.	N.E.	N.E.	9.3E+0 D-a
novobiocin	5.3E+1	5.6E+1	N.E.	>8.3E+1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.3E+1 M5-a
levofloxacin	N.E.	N.E.	1.5E+0	2.6E-1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	1.5E+0 A-a
抗炎症薬									
dexamethasone	1.3E+5	5.6E+2	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	5.6E+2 M15-a
抗アレルギー薬									
promethazine	1.1E+1	1.2E+1	3.2E-1	4.1E-2	4.3E+0	2.7E+0	4.0E+0	6.3E-1	3.2E-1 A-a
昆虫忌避薬									
N,N-diethyl -m-tolamide	3.7E+1	4.9E+1	4.1E+0	5.2E-1	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	4.1E+0 A-a
沈痒剤									
crotamiton	6.9E+1	9.5E+1	3.5E+0	2.1E+0	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.	3.5E+0 A-a

N.E.: 設定した濃度範囲において明確な影響がみられなかった



## 8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

解熱鎮痛薬と神経系作用薬は全ての種類で毒性が検出された。一方、抗菌剤では9種中3種のみで毒性が検出されたが、triclosan は全試験物質中で最も強い毒性を示し、thymol も比較的強い毒性を示すなど、物質ごとの影響に大きな差がみられた。

なお、細菌を用いた試験であるにも関わらず阻害効果がみられない抗菌剤がある理由は、本試験が個々の細菌の代謝を指標にした急性毒性試験であり細菌の増殖過程をみていないため、主に増殖を抑制する抗菌剤については作用を確認することができなかったものと考えられる。

### 4.3.2 藻類

藻類による増殖阻害試験で算出された毒性値は、主な用途分類群別にみると以下のとおりであった。

#### [EC50]

解熱鎮痛剤	: 1~5mg/L	(8/8種)
神経系作用薬	: 0.1~50mg/L	(6/8種)
循環器薬	: 3~5mg/L	(4/8種)
消化器薬	: 7mg/L 程度	(1/3種)
抗菌薬	: 0.01~1mg/L	(6/9種)

#### [NOEC]

解熱鎮痛剤	: 0.1~2mg/L
神経系作用薬	: 0.01~0.5mg/L
循環器薬	: 0.3~1mg/L
消化器薬	: 1mg/L 程度
抗菌薬	: 0.005~0.5mg/L

解熱鎮痛剤では細菌に対してと同様に全ての種類から毒性が検出されたが、神経系作用薬、循環器薬、抗菌薬では一部で毒性の確認できないものがみられた。一方、毒性が検出された物質について影響の強さをみると、EC50値で細菌に対してより一桁程度低かった。また、NOEC は EC50の1/10~1/100程度であった。

### 4.3.3 甲殻類(ミジンコ)

甲殻類のミジンコ遊泳阻害試験から算出された毒性値は、主な用途分類群別にみると以下のとおりであった。

#### [EC50]

解熱鎮痛剤	: 2~4mg/L	(2/8種)
神経系作用薬	: 1~20mg/L	(4/8種)
循環器薬	: (検出されず)	(0/8種)
消化器薬	: (検出されず)	(0/3種)
抗菌薬	: 0.2~10mg/L	(3/9種)

細菌や藻類と比べると毒性が検出された医薬品類の種類は少なかった。また、毒性が検出された物質について影響の強さをみると、藻類に対する EC50より一桁程度高く、細菌とほぼ同等のレベルであった。

### 4.3.4 両生類(カエル)

両生類のカエル胚発生に対する阻害試験から算出された毒性値は、主な用途分類群別にみると以下のとおりであった。

#### [LC50]

解熱鎮痛剤	: 5mg/L 程度	(2/8種)
神経系作用薬	: 1~3mg/L	(4/8種)
循環器薬	: (検出されず)	(0/8種)
消化器薬	: (検出されず)	(0/3種)
抗菌薬	: 0.8mg/L 程度	(1/9種)

他の生物種と比べると毒性が検出された医薬品類の種類は少なかった。また、毒性の確認された医薬品類についても、影響の強さは藻類に対する EC50より一桁程度高く、細菌やミジンコと同等またはそれ以下であった。この要因としては、胚発生期で医薬品類の作用対象となる器官や代謝経路が整っていない時期であることや、脊椎生物であるため生体防御機構が他の生物より高度に発達していることなどが考えられる。

### 4.3.5 原生動物

原生動物による増殖阻害試験で算出された毒性値は、主な用途分類群別にみると以下のとおりであった。

#### [EC50]

解熱鎮痛剤	: 1~15mg/L (6/8種)
神経系作用薬	: 1~40mg/L (6/8種)
循環器薬	: 9mg/L 程度 (1/8種)
消化器薬	: (検出されず) (0/3種)
抗菌薬	: 0.6~10mg/L (2/9種)

#### [NOEC]

解熱鎮痛剤	: 0.03~0.6mg/L
神経系作用薬	: 0.1~5mg/L
循環器薬	: 0.3mg/L 程度
消化器薬	: 1mg/L 程度
抗菌薬	: 0.2mg/L 程度

甲殻類やカエルと比べ、比較的多くの医薬品類から毒性が検出された。また、影響の強さについてみると、EC50では細菌による試験と同等か、それ以上であった。一方、NOEC では藻類による試験よりも感度が低い物質が多いが、一部の物質に対しては藻類よりも低い濃度で影響が生じることが確認された。

## 8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

した。このような医薬品類については、生態影響の観点から環境中での挙動に注目する必要がある。

### 4.4 予測無影響濃度 (PNEC) の算出

生態リスク評価の第一段階として詳細な評価を行う候補物質を選定する「生態リスク初期評価」では、予測無影響濃度 (PNEC : Predicted No Effect Concentration) を算出し、環境中の化学物質濃度に関する知見である予測環境中濃度 (PEC : Predicted Environmental Concentration) または実測環境中濃度 (MEC : Measured Environmental Concentration) との比較を行うとされている<sup>15)</sup>。このPNECは、化学物質の水生生物に対する生態毒性に関する知見に基づき、生態系に対して有害な影響を及ぼさないと予想される濃度のことであり、生物試験の結果得られた毒性指標値から算出される。基本的には、急性毒性値および慢性毒性値について生物群ごとに整理した上で、それぞれの中で最も低い値に対して情報量に応じたアセスメント係数を乗じ、算出されたうち低い方の値が当該物質のPNECとされる。

本検討においては、アセスメント係数として急性毒性値 (EC50) に対しては1000、慢性毒性値 (NOEC) に対しては100を適用し、上述の生態影響試験結果から、各医薬品類について PNEC を算出した (表-4.2)。評価対象とした医薬品類の中には、PNEC が0.1 µg/L 未満のものもあった。

### 4.5 今後の展開と課題

今回用いた試験手法の中では、藻類増殖阻害試験が比較的高い感度で多くの医薬品類に反応したが、一部の医薬品類では他の生物種に対する毒性の方が高いなど、影響は医薬品種・生物種によって様々であった。従って、生態系に対する医薬品類の影響を検討する際には、複数の生物種を用いた試験を行い、その影響を把握する必要がある。

また、環境水中の医薬品類について何らかのコントロールを行おうとする際に個々の医薬品類を対象とすると、数が膨大な上に、生体へのリスクも様々であるため規制や管理における手順が煩雑になる。そこで、医薬品類の標的器官や標的経路等の作用機序、または、化学構造などから毒性を整理し、生態リスクに基づいた医薬品類のグループ化といった視点を取り入れることが必要となる可能性がある。

さらに、今回試験対象とした医薬品類の中には、水生生物に対する予測無影響濃度 (PNEC) が0.1 µg/L 未満と、比較的強い毒性を示すものがある。特に抗菌薬の triclosan は、今回用いた生物種の全てに対して EC50、LC50が1mg/L 未満と、幅広い毒性を示

## 5. 河川水中の医薬品類による生態影響評価

河川水中からは多種にわたる医薬品類が同時に検出されているうえに、洗剤等の多様な有機物、重金属などの物質と共存している。このため水環境中の生物は、各医薬品類が開発、認可される際には想定されることのない物質との組み合わせで長期間曝露されることとなり、それらの複合影響も懸念される。

そこで本研究では、実際の河川水を対象に、総合的な生態リスク及びその中における医薬品類の寄与について、試行的な評価、検討を行った。

### 5.1 調査地点

調査対象は、群馬県及び栃木県における利根川水系の8つの小川とし、その流程において山間部から平野部に变化する付近に調査地点を11ヶ所設定した (St.6 ~ 16)。これらの流域には、家庭からの生活排水や畜産施設からの排水等の負荷源が存在している。

### 5.2 調査項目

#### 5.2.1 河川水中の医薬品類濃度

表-4.1に示した医薬品類のうち triclosan および thymol を除く42物質について測定した。

#### 5.2.2 調査地点の生物相

調査地点の河川内に形成されている生態系の生物相を把握するため、現地において底生動物を採取して定量分析を行い、出現生物種の同定と種ごとの個体数のデータを得た。さらに、河川水中の生物相を示す指標として、式-5.1により Shannon の多様度指数 (H')

$$H' = - \sum_{i=1}^S Pi \cdot \log_2 Pi \dots \text{式-5.1}$$

S : 生物群集内の種類数

Pi : i 番目の種に属する個体の数が総個体数の中に占める割合

を求めた。

#### 5.2.3 環境水毒性試験

わが国においては、河川水の毒性は通常低いため、生態影響試験で阻害等が確認されることは稀である。そこで本研究では、医薬品等を含めた有機物を中心とする物質群を対象を限定して環境水の毒性評価を行うこととし、固相抽出法を用いる試験法を適用した。この手法により、原水より濃縮された高い濃度での曝露が可能となり、通常では明確にならない毒性を確認することができる。抽出のための固相は OASIS-HLB を使

## 8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

一方、河川水が持つ生態リスクについては、毒性単位(TUa)にアセスメント係数を乗じることで算出できる。本調査では、1種の生物に対する急性毒性試験によってTUaを求めたことから、アセスメント係数は1000が適用され、TUaの1000倍値が河川水の総体的生態リスク(ただし有機性物質のみ)となる。

### 5.3.3 医薬品類による生態リスクへの寄与

上で求めた医薬品類全体による生態リスク(MEC/PNEC)と河川水の総体的生態リスク(TUa × 1000)の値を比較し、河川水全体の生態リスクの中で、測定対象とした医薬品類のリスクによる寄与を求めた。

用し、GF/Bで濾過した1000mLの試料を通水した後にメタノールで溶出を行い、溶出液を乾固後100μLのDMSOに再溶解することで濃縮とした。この濃縮液を培養液中に、最大濃度1000%(原水の10倍濃度、DMSOの最大濃度が0.1%)となるように添加し、4.2.1で示した細菌による急性毒性試験に供した。

この試験からは半数阻害濃度(EC50)が求められるが、EC50は毒性が強いほど数値が小さくなるため毒性の強弱を直感的に把握しにくく、また、毒性が確認できない場合には値が無限大となるため他の指標との比較検討において扱いにくい。そこで、EC50の値から毒性単位(TU=100/EC50)を算出した。急性毒性値より算出した毒性単位であることから、以後TUaと表記する。

### 5.3 河川における医薬品類の生態リスクの検討

各調査地点から採取した河川水の毒性単位TUaを図-5.1に示す。相対的に高い毒性が確認されたのは

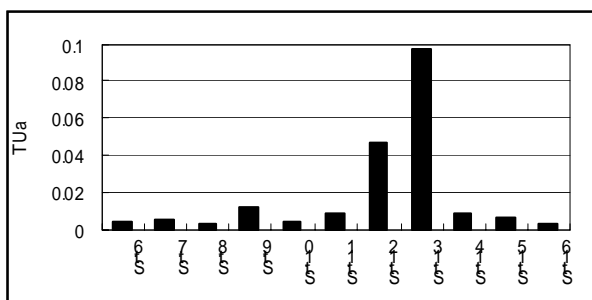


図-5.1 河川水から検出された毒性単位 (TUa)

St.12及び13で、他の地点では同程度の毒性であった。

河川水の生態毒性は、多様な物質によって発現していると考えられる。ここでは、複数の医薬品類が存在する場合の複合作用が相加効果であり、また医薬品類以外の有機性物質との複合作用は無視できると仮定し、河川水のもつ生態リスクに対して医薬品類がどの程度影響しているか、把握を試みた。

#### 5.3.1 医薬品類全体による生態リスク

まず、水質分析により得られた各医薬品類の河川水中濃度(MEC)と、表-4.2で示したPNECの値との比(MEC/PNEC)を求めた。この値は、河川水中において、個別の医薬品類が生物影響を示す濃度に対してどの程度の割合で存在しているかを示しており、生態リスク初期評価の指標値として用いられる。

さらに上記の仮定により、各調査地点における検討対象医薬品類全体による生態リスクは、各医薬品類の生態リスクの合計で表現できる。そこで各医薬品類の(MEC/PNEC)を合計した値(MEC/PNEC)を算出した。

#### 5.3.2 河川水の総体的生態リスク

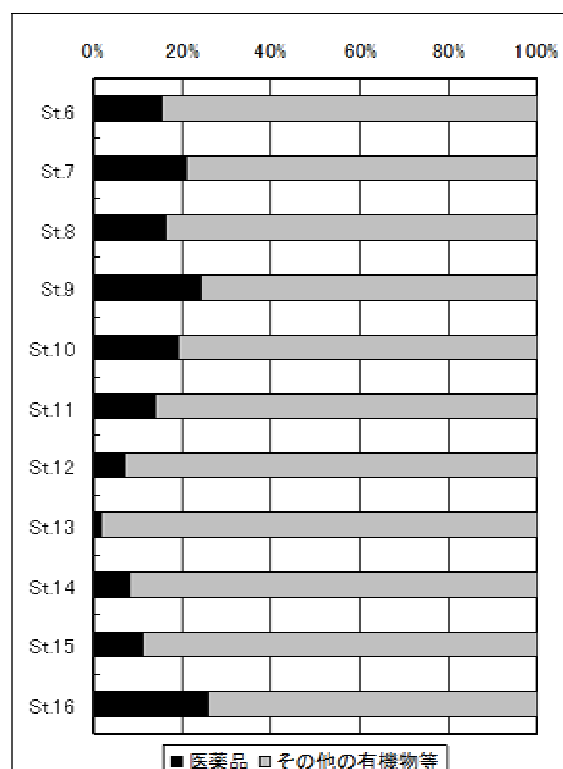


図-5.2 河川水の生態リスクに対する医薬品の寄与

結果を図-5.2に示す。

各調査地点において、測定対象とした医薬品類が生態リスク全体に占める寄与率は、平均で14.9%となった。一方、河川水全体では高い毒性のみられたSt.12及び13では、それぞれ7.3%、1.9%と低くなっており、これらの地点でみられた高い毒性は、医薬品類以外の有機性物質(洗剤等)の影響が大きかったと考えられる。

#### 5.3.4 医薬品類による生態リスクと生物相との関係

実際の河川水中に存在する医薬品類が生態系に及ぼしている影響について検討するため、各調査地点について、医薬品類による生態リスクの総合評価値(MEC/PNEC)と、底生動物の多様性指数との関係を求め

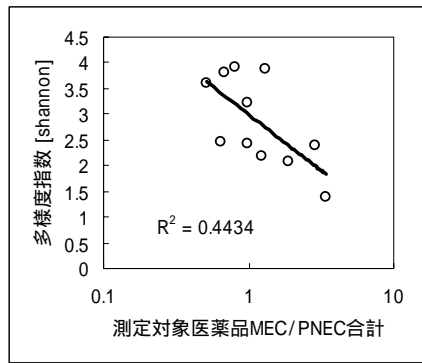


図-5.3 医薬品の生態リスクと生物多様性の関係

た(図-5.3)。

両者の関係から、河川水中に存在する医薬品類の生態リスク値が高くなると、底生動物の多様性低下という形で生態系に影響を及ぼしている可能性がうかがえた。

ただし、今回の結果のみでは医薬品類の存在が直接生態系に影響を及ぼしているとは確認できず、医薬品類の負荷と同じ傾向をもって変動する他の毒性物質が生態系へ影響を及ぼしている可能性も想定される。

#### 5.4 今後の展開と課題

今回、試行した河川水の生態リスクにおける医薬品類の寄与に関する評価においては、化学物質の複合作用についていくつかの仮定を用いているが、その妥当性については、最新の研究成果についての情報収集や独自の調査によって随時確認を行う必要がある。

また、医薬品類による生態リスク値の計算においては複数種の生物試験から導出された値を用いているが、河川水の総体的生態リスク値は細菌を用いた試験結果のみから計算されたものである。そのため、医薬品類による生態リスクは最大化されており、今回算出した寄与率は過大となっている可能性に留意すべきである。

このように、河川水の生態影響試験における情報量が現段階では少ないことから、さらに情報を集積する事が重要である。

今後はまず、地域的、時間的に異なる様々な河川水中に含まれる医薬品類濃度を把握することで、幅広い水域の生態リスク初期評価の事例を集積する。また、河川水中に形成される生物相の現地調査データや、バイオアッセイによる河川水の毒性試験データを合わせて集積する。これらの相互関係から、それぞれの結果が示す意味を考察し、医薬品等の生理活性物質が生態系に及ぼす影響の評価手法を検討・構築するためのデ

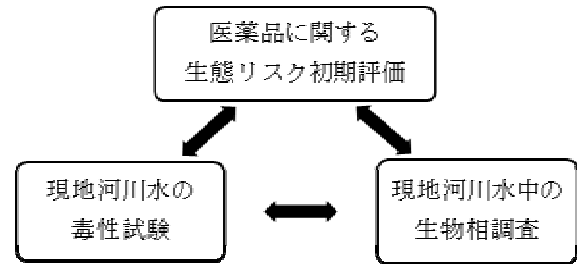


図-5.4 河川水の生態リスク評価の展開

ータとすることを目指す。

## 6. まとめ

平成19年度に引き続き医薬品95物質の一斉分析法を用い、水環境中での医薬品の実態把握を行った。

生活排水の処理状況が異なる区域の小河川における医薬品は、生活排水の排出割合が小さい集水域の河川では検出される医薬品数が少なく、その検出濃度も低く、生活排水の排出割合が多い集水域の河川では検出される医薬品数が多く、その検出濃度も高い傾向を示し、生活排水排出人口が大きいほど、医薬品排出負荷量が大きくなる傾向があることが分かった。また、人口一人当たりの各医薬品排出負荷量 (mg/day・人) は、それぞれ全調査地点の平均値の0.1~2.5倍の範囲にあった。

比較的滞留時間の長い湖沼とその流入河川の医薬品は、調査92物質中66物質がいずれかの試料で検出され、各地点とも強心剤の caffeine が比較的高濃度 (36-450ng/L) で検出された。流入11河川の医薬品検出パターンは、地点毎に大きく異なっているが、湖沼内3ヶ所で採取した試料の検出パターンは概ね同じであり平均化されていることが確認された。

また、医薬品類44物質を対象に、細菌や甲殻類など5種の生物を用いた生態毒性試験を行い、予測無影響濃度 (PNEC) を算出した。その結果、今回対象とした医薬品類の中には、生態影響の視点から水環境中での挙動に注目すべき物質があることが確認された。さらに実際の河川を対象に、河川水の生態リスクや医薬品類による寄与について試行的な評価手法を適用するとともに、現地の生物相との関係についての検討を行った。

## 8.1 生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究

### 参考文献

- 1) 清野敦子, 古莊早苗, 益永茂樹 (2004) わが国の水環境における人用・動物用医薬品の存在, 水環境学会誌, 27, 685-691 .
- 2) 桐賢太郎, 高田秀重, 田中宏明, 原田新, 中田典秀, 鈴木穰 (2006) 水環境における合成医薬品の動態, 第 15 回環境化学討論会講演要旨集, 188-189 .
- 3) 村田綾子, 真名垣聡, 高田秀重, 村上和雄, 田中宏明, 原田新, 中田典秀, 鈴木穰 (2006) 日本の河川の抗生物質汚染の実態解明, 第 15 回環境化学討論会講演要旨集, 190-191 .
- 4) 杉下寛樹, 山下尚之, 田中宏明, 田中周平, 藤井滋穂, 宝輪勳, 小西千絵 (2007) 淀川流域の下水処理場放流水と支川における医薬品の存在実態, 環境工学研究論文集, 44, 307-312 .
- 5) 小森行也, 岡安祐司, 鈴木穰 (2007) 下水道未整備地域の小河川における医薬品の実態調査, 学会誌「EICA」, 12 (2/3), 37-44 .
- 6) Nakada, N., Komori, K., Suzuki, Y., Konishi, C., Houwa, I. and Tanaka, H. (2007) Occurrence of 70 pharmaceutical and personal care products in Tone River basin in Japan, Water Science & Technology, 56, 133-140 .
- 7) Clara, M., Strem, B. and Kreuzinger, N. (2004) Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration, Wat. Res., 38, 947-954 .
- 8) Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., Kiri, K. and Takada, H. (2006) Pharmaceutical chemical and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, Wat. Res., 40, 3297-3303 .
- 9) Buerge, I. J., Poiger, T., Muller, M. D. and Buser, H. R. (2003) Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters, Environ. Sci. Technol., 37, 691-700 .
- 10) 小森行也, 岡安祐司, 鈴木穰 (2008) 下水処理における医薬品 (92 物質) の除去特性, 第 45 回下水道研究発表会講演集 . 91-93 .
- 11) 岡見吉郎 (1978) クリロピッツ抗生物質論, p169, 学会出版センター, 東京 .
- 12) 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所九州支所,  
<http://niah.naro.affrc.go.jp/sat/index.html>
- 13) 動物医薬品副作用等情報集,  
<http://www.nval.go.jp/vet-cop/index.htm>
- 14) 小西千絵, 宝輪勳, 中田典秀, 小森行也, 鈴木穰, 田中宏明 (2006) 環境工学研究論文集, 43, 73-82
- 15) 環境省, 化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン (平成 20 年 2 月版),  
[http://www.env.go.jp/chemi/risk/guideline\\_ia.pdf](http://www.env.go.jp/chemi/risk/guideline_ia.pdf)



## **A STUDY ON BEHAVIOR OF PHYSIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES AND THEIR ADVERSE EFFECTS ON ECOSYSTEM**

### **Abstract:**

In recent years, physiological active substances (e.g., pharmaceuticals) resident in the water environment have become an emerging public concern. However, limited knowledge is available on the significance of their occurrence in the water environment from the viewpoints of biological adverse effects. We tried the first approach of risk evaluation for pharmaceuticals in rivers onto aquatic organisms. The objectives of this research were to determine the occurrence of selected pharmaceuticals in river water and to evaluate the impacts of physiological active substances onto aquatic organisms.

**Key words:** analytical method, bioassay, pharmaceuticals, river