

## 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を目的とするとともに、水生生態系への影響評価をするため、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法の提案を行うことを目的としている。平成 19 年度は、医薬品 95 種類の一斉分析方法の開発、水環境中での実態把握と 5 種の生物を用いたバイオアッセイ手法を用い医薬品が生物に及ぼす影響、遺伝子手法を用いる河川水の魚類への影響評価について検討した。

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 19 年度は、医薬品 95 種類の一斉分析法の開発、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. 医薬品 95 種類の一斉分析法の開発

#### 2.1 目的

医薬品は、「低濃度」かつ「特異的」に作用することから、極低濃度の長期的暴露による水生生物や人間への影響が懸念されはじめている<sup>1)~3)</sup>。医薬品は日常的に処方され、服用後、主として尿排水として下水道を経由し、下水道で除去されないものは環境中に排出される。平成 19 年度は、数多くある医薬品のなかから 95 種類を選定し一斉分析法の開発を行った。なお、本一斉分析法の開発は、環境省・環境技術開発費の「水環境に見出される医薬品の排出段階における物理化学処理」に関する研究との連携において行った。

#### 2.2 対象医薬品 (95 種類)

研究対象医薬品等は、薬事工業生産動態統計年報<sup>4)</sup>で生産量が多く一般的に用いられていると考えられる医薬品に、我が国でこれまで検出例のある物質を加えたものであり、表-2.1 に示す 95 物質とした。これらの医薬品は、解熱鎮痛消炎剤、利尿剤、神経系用剤、抗生物質、不整脈用剤、高脂血症用剤等であり、使用対象は人用、動物用、両用である。

### 2.3 分析方法(標準添加法)

調査対象医薬品等 95 物質の分析は、小西ら<sup>5)</sup>の方法(1点標準添加法)を標準添加法に変更して行った。変更後の分析フローを図-2.1に示す。

試料の分析前処理を以下に示す。まず、試料(約1500mL)をガラス繊維ろ紙(Whatman社製 GF/F, 粒子保持能 0.7 μm)を用いてろ過した。ろ液を200mLに6分割した後2つは標準物質無添加、残りの4つに各分析対象物質(標準物質)を添加した。各標準物質の添加量は試料換算濃度で ng/L, ng/L, ng/L, ng/L の4段階である。標準物質の具体的な添加量は、これまで検出報告がある物質についてはこれらの値を参考とし、報告例のない物質は検出下限値をベースに決定した。

は検出下限値、は検出下限値の2倍、は検出下限値の10倍、は検出下限値の20倍とした。標準物質無添加試料(2試料)、標準物質添加試料(4試料)を予めメタノール5mLと希塩酸10mLでコンディショニングした固相カートリッジ(Waters社製 Oasis HLB Plus)に通水し、希塩酸で洗浄した後、吸引と遠心分離により固

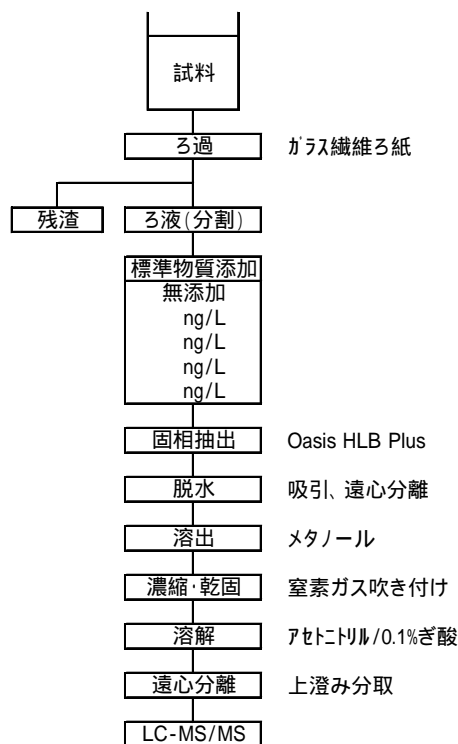


図-2.1 分析フロー

相カートリッジを脱水し、メタノール5mLで溶出した。メタノール溶出液を濃縮乾固した後、アセトニトリル/水(0.1%ギ酸含有)に再溶解し、遠心分離の上澄み液をLC-MS/MSの測定検液とした。LC-MS/MSの測定条件を表-2.2に示した。MS/MSのイオン化方式は、エレクト

### 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

ロンスプレーイオン化(ESI)とした。分離カラムは、測定対象物質のイオン化極性(Positive, Negative)により異なる。MS/MS測定に必要なイオン化極性、測定イオンおよびコリジョンエネルギーは、予め希釈した各単品標準溶液を用いて決定した。

### 2.4 検出下限値, 定量下限値

調査対象物質の混合標準溶液をLC-MS/MSにより繰り返し測定(n=5)を行い、その再現性から装置の検出下限値、定量下限値を設定した。測定した混合標準液の各物質濃度は、0.1、0.25、0.5、1、5、10、25pg/μLの7段階である。測定した混合標準溶液の5回繰り返し測定において、目的成分ピークが判別できかつ再現性が良い(CVで20%以下)最低濃度の標準偏差( )の3倍を検出下限値とし10倍を定量下限値とした。検出下限値、定量下限値の算出に用いた標準溶液の濃度は定量下限値の約0.4倍~4倍であった。本研究では試料前処理の段階で200倍濃縮となることから、試料の検出下限値と定量下限値はここで得た値の1/200となる。

具体的には、神経系用剤の amitriptyline、不整脈用剤の atenolol 等、試料濃度に換算した検出下限値が0.1を超え1.0ng/L以下の医薬品が30物質、解熱鎮痛消炎剤の acetaminophen、抗生物質の amoxicillin 等1.0を超え10ng/L以下の医薬品が53物質、利尿剤の acetazolamide、抗生物質の ampicillin 等10ng/Lを超える医薬品が12物質であった。

## 3. 水環境中での医薬品95物質の実態把握

### 3.1 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つては、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が進められているが、未だ十分解明されたいはいない。そこで本研究では、95物質の医薬品を一斉分析する方法を用いて、畜産業を含む農村地域や下水道普及状況の異なる都市域において医薬品の存在状況を把握することとした。

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

表-2.1 調査対象医薬品 (95 物質)

No.	医薬品名	使用対象	用途	No.	医薬品名	使用対象	用途
1	acetaminophen	人用	解熱鎮痛消炎剤	51	mepirizole	人用	解熱鎮痛消炎剤
2	acetazolamide	人用	利尿剤	52	methoxsalen	人用	他の外用剤
3	amitriptyline	人用	神経系用剤	53	metoclopramide	両用	他の消化器官用薬
4	amoxicillin	両用	抗生物質	54	metoprolol	人用	降圧剤
5	ampicillin	両用	抗生物質	55	N,N-diethyl-m-toluamide	人用	昆虫忌避剤
6	antipyrine	人用	解熱鎮痛消炎剤	56	nalidixic acid	両用	合成抗菌剤
7	atenolol	人用	不整脈用剤	57	naproxen	両用	解熱鎮痛消炎剤
8	azithromycin	人用	抗生物質	58	neospiramycin	動物用	抗生物質
9	benzylpenicillin	両用	抗生物質	59	norfloxacin	両用	合成抗菌剤
10	bezafibrate	人用	高脂血症用剤	60	novobiocin	動物用	抗生物質
11	bromovalerylurea	人用	抗不安剤	61	ofloxacin	両用	合成抗菌剤
12	caffeine	人用	強心剤	62	oleandomycin	動物用	抗生物質
13	carbamazepine	人用	抗てんかん剤	63	oxytetracycline	両用	抗生物質
14	carbazoChrome	人用	止血剤	64	pentoxifylline	人用	血管拡張剤
15	chloramphenicol	両用	抗生物質	65	phenacetin	人用	解熱鎮痛消炎剤
16	chlormadinone acetate	両用	混合ホルモン	66	phenobarbital	人用	催眠鎮静剤,抗不安剤
17	chlormpromazine	両用	神経系用剤	67	p-phenylphenol	人用	殺菌剤
18	chlortetracyclin	両用	抗生物質	68	phenytoin	人用	抗てんかん剤
19	citicoline	人用	他の循環器官用薬	69	pindolol	人用	不整脈用剤
20	clarithromycin	人用	抗生物質	70	pirenzepine	人用	消化性潰瘍用剤
21	clenbuterol	両用	気管支拡張剤	71	prednisolone	両用	副腎ホルモン剤
22	clofibric acid	人用	クワリートの代謝物	72	primidone	人用	抗てんかん剤
23	crotamiton	人用	鎮痛,鎮痒,収れん,消炎剤	73	promethazine	両用	抗ヒスタミン剤
24	cyclophosphamide	人用	抗悪性腫瘍用薬	74	propranolol hydrochloride	人用	不整脈用剤
25	danoXloxacin	動物用	抗生物質	75	2-quinoxalinecarboxylic acid	動物用	カルボトックスの代謝物
26	dextromethorphan	人用	鎮咳剤	76	salbutamol	両用	気管支拡張剤
27	diclazuril	動物用	抗コクシジウム剤	77	sarafloxacin	動物用	抗生物質
28	diclofenac sodium	人用	鎮痛,鎮痒,収れん,消炎剤	78	scopolamine	人用	鎮けい剤
29	diltiazem	人用	血管拡張剤	79	sotalol	人用	不整脈用剤
30	diphenidol	人用	鎮量剤	80	spiramycin	動物用	抗生物質
31	dipyridamole	人用	血管拡張剤	81	spironolactone	人用	利尿剤
32	disopyramide	人用	不整脈用剤	82	sulfadimethoxine	動物用	サルファ剤
33	erythromycin	両用	抗生物質	83	sulfamidine	動物用	サルファ剤
34	ethenzamide	人用	解熱鎮痛消炎剤	84	sulfamethoxazole	両用	他の化学療法剤
35	fenoprofen	人用	解熱鎮痛剤	85	sulfamonomethoxine	動物用	サルファ剤
36	flovoxate	人用	他の泌尿生殖器官,肛門用薬	86	sulpiride	人用	消化性潰瘍用剤
37	fulfenamic acid	人用	解熱鎮痛消炎剤	87	terbutalline	人用	気管支拡張剤
38	furosemide	人用	利尿剤	88	tetracyclin	両用	抗生物質
39	gemfibrozil	人用	高脂血症用剤	89	theophylline	人用	気管支拡張剤
40	griseofulvin	両用	主にカビ作用剤	90	thiamphenicol	両用	合成抗菌剤
41	haloperidol	人用	神経系用剤	91	tilmicosin	動物用	抗生物質
42	ibuprofen	人用	解熱鎮痛消炎剤	92	tolbutamide	両用	糖尿病用剤
43	ifenprodil tartrate	人用	他の循環器官用薬	93	tolperisone	人用	鎮けい剤
44	imipramine	人用	神経系用剤	94	trimethoprim	両用	合成抗菌剤
45	indomethacin	人用	解熱鎮痛消炎剤	95	verapamil	人用	血管拡張剤
46	isopropylantipyrene	人用	解熱鎮痛消炎剤				
47	josamycin	両用	抗生物質				
48	ketoprofen	両用	解熱鎮痛消炎剤				
49	kitasamycin	両用	抗生物質				
50	mefenamic acid	人用	解熱鎮痛消炎剤				

表-2.2 LC-MS/MS 測定条件

HPLC	Positive		Negative	
	Agilent1100		Agilent1100	
移動相 A	超純水(0.1%酸含有)		超純水(1mM酢酸アンモニウム含有)	
移動相 B	アセトニトリル(0.1%酸含有)		アセトニトリル	
グラジエント	時間	B (%)	時間	B (%)
	0	4	0	7
	12	95	13	95
	18	95	13.1	7
	18.1	4	21	7
	24	4		
カラム	Atlantis T3 C18, 2.1 × 100mm, 3 m		Hypersil GOLD, 2.1 × 100, 3 m	
カラム温度	40		40	
注入量	5 L		5 L	
MS/MS	Thermo Quantum Discovery MAX			
Spray Voltage	4,500		4,000	
Sheath gas	30		20	
Aux gas	5		10	
Capillary temperature	320		320	

### 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

調査医薬品 95 物質中、図-3.2 に示す 47 物質が地点

、 、 、 のいずれかの試料において検出された。検出濃度範囲は diltiazem の 0.2ng/L から caffeine の 4,800ng/L であった。地点 では人用 11 物質、動物用 2 物質、両用 5 物質の計 18 物質、地点 では人用 7 物質、両用 1 物質の計 8 物質、地点 では人用 20 物質、両用 4 物質の計 24 物質、地点 では人用 34 物質、動物用 1 物質、両用 10 物質の計 45 物質が検出された。

農村地域の小河川では、都市域の小河川に比べ検出医薬品数が少なく、それらの検出濃度も低いことが確認された。また、動物用医薬品 2 物質(サルファ剤)が検出された地点 では集水域に養豚場があることを現地踏査で確認した。サルファ剤は豚に寄生する原虫の駆除に使用される医薬品である。

都市域の小河川では、より下水道が普及し、家庭からの排水が下水道において収集されて他の流域に移送されている地点の方が、地点に比べ検出医薬品数が少なく、また各検出濃度も低い傾向が見られた。

### 3.2 調査方法

調査は、茨城県の霞ヶ浦(北浦)に流入する銚田川、千葉県の手賀沼に流入する大津川においてそれぞれ 2 つ支川(水路)で調査を実施した。各調査地点の集水面積は、5.4km<sup>2</sup>、3.94km<sup>2</sup>、4.1km<sup>2</sup>、4.6km<sup>2</sup> である。図-3.1 に示すとおり地点、地点の集水域の土地利用状況は、田、畑、人口林、広葉樹林が 90% を占める農村地域である。なお、地点の集水域には養豚場が存在する。地点、地点は、一般住宅地区が 36%、38%の他、文教地区、空き地、畑、野草地裸地、人口林が 54%、56%を占める都市域である。また、地点、地点は下水道未整備、地点は下水道普及率 74%、地点は下水道普及率 31%である(下水道普及率：2002 年)が、下水処理場は本流域の外に位置している。

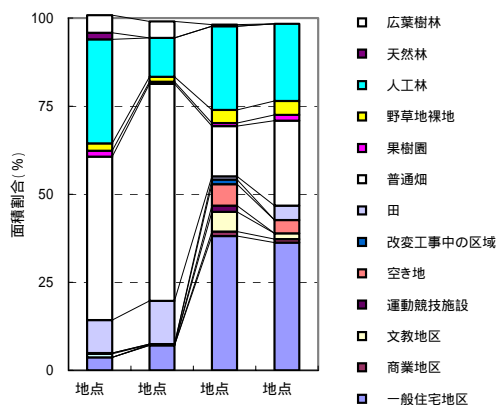


図-3.1 各調査地点集水域の土地利用状況

### 3.4 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、畜産業を含む農村地域や下水道普及状況の異なる都市域において医薬品の存在状況の把握を行った。農村地域、都市域において検出される医薬品の種類及び濃度レベルの概略は把握できたものの、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。

### 3.3 調査結果と考察

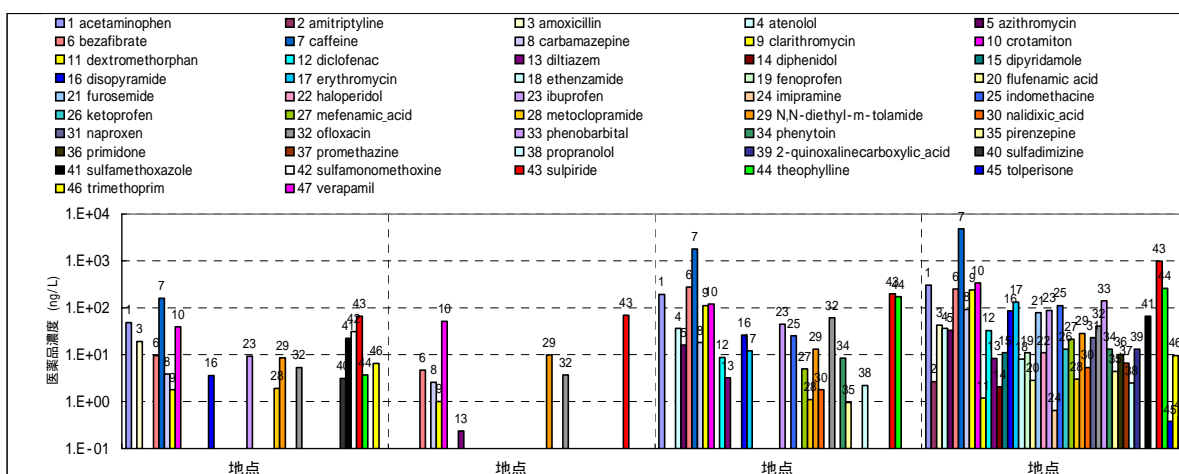


図-3.2 医薬品調査結果 (図中の数字は医薬品番号)

## 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

調査 11 物質中 caffeine、crotamiton、N,N-diethyl-m-toluamide、triclosan、thymol の 5 物質がいずれかの試料において検出された。各物質とも下水道普及率が比較的高い地域の調査地点では、他の地点に比べ低い値を示した。

表-4.1、図-4.2 より下水道普及率が高い地域では調査医薬品濃度は低く、下水道があまり普及していない地域では高い傾向がみられた。下水道普及率 96% の A 地点において検出された caffeine、crotamiton、triclosan の 3 物質について下水道普及率が異なる他の地点と検出濃度を比較すると、caffeine では、下水道普及率が 31% の C 地点では 5.6 倍、0% の E 地点では 11 倍の濃度を示した。Crotamiton では 13 倍、50 倍、triclosan では 3.5 倍、12 倍の濃度を示し、下水道未整備地域の医薬品濃度は下水道が整備された地域の 10～50 倍の濃度で存在していた。

表-4.1 医薬品分析結果 (ng/L)

物質名	A	B	C	D	E
caffeine	890	2,100	5,000	10,000	10,000
crotamiton	34	150	430	700	1,700
N,N-diethyl-m-toluamide	ND	ND	22	17	23
triclosan	31	46	110	200	360
thymol	ND	ND	ND	110	120

## 4. 排水処理施設の整備状況が異なる集水域での医薬品存在実態

### 4.1 目的

排水処理施設の整備状況が異なる地域の小河川（水路）において GC/MS により医薬品の分析を行い、排水処理施設の整備状況と医薬品存在濃度の関係把握を目的とした。

### 4.2 調査方法

#### (1) 調査地点

千葉県に位置する手賀沼に流入する大津川の支川（水路）において調査を実施（2007 年 1 月）した。大津川は、河川延長約 12.5km、流域面積 37km<sup>2</sup> の小河川である。大津川流域の排水処理施設の整備状況は下流域、中流域、上流域で異なっている。本調査では排水処理施設の整備状況（2002 年）が異なる 5 地点（A、B、C、D、E：図-4.1 参照）において試料を採取した。A 地点の集水域では下水道普及率 96%、他の排水は単独浄化槽（2%）、合併浄化槽（2%）により処理されている。B では下水道 74%、単独 12%、合併 12%、くみ取り 2%、C 地点では下水道 31%、単独 36%、合併 28%、くみ取り 5%、D 地点では下水道 8%、単独 45%、合併 14%、くみ取り 33%、E 地点では下水道 0%、単独 12%、合併 13%、くみ取り 75% である。

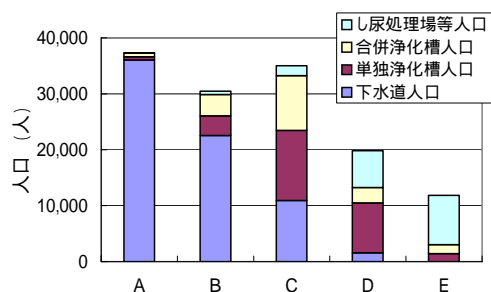


図-4.1 各調査地点集水域の生活排水処理人口

#### (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、解熱鎮痛剤の aspirin、phenacetin、強心剤の caffeine、高脂血症用剤の clofibrate、gemfibrozil、鎮痛・鎮痙・収れん・消炎剤の crotamiton、他の外皮用剤の methoxsalen、昆虫忌避剤の N,N-diethyl-m-toluamide、殺菌剤の p-phenylphenol、triclosan、thymol で 11 物質である。これら調査対象医薬品の分析（前処理・測定条件等）は、宝輪ら<sup>6)</sup>の方法に準じた。

### 4.3 結果及び考察

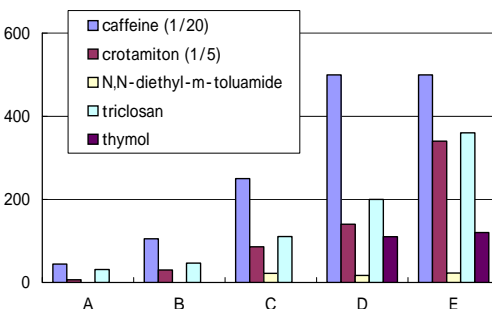


図-4.2 各調査地点における医薬品濃度

### 4.4 今後の展開と課題

水環境中での医薬品 95 物質の実態把握同様、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。また、底質等固形物中の医薬品分析手法の開発を行い、固形物中含有量を含めた医薬品の実態把握を行う。

## 5. バイオアッセイを用いた医薬品等の評価

### 5.1 目的

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、それら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人間または家畜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。

さらに、河川水中からは多種にわたる医薬品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、各医薬品が認可・製造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水環境中の生物は曝露されることとなり、それらの複合影響が懸念される。

そこで、昨年度に引き続き、医薬品による生態リスクの評価方法の検討に資するため、水環境中においてその存在が確認されてきている様々な医薬品を対象に、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、医薬品が生物に及ぼす影響についてのデータ集積を目的とした。

### 5.2 方法

#### 5.2.1. 供試生物

##### (1) 細菌

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、50%発光阻害濃度(EC50)を装置付属の計算ソフトにより求めた。

##### (2) 藻類

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)を求めた。

##### (3) 甲殻類

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24及び48時間曝露した後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) 両生類

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グラフから半数致死濃度(LC50)を求めた。

#### (5) 原生動物

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、対象医薬品を加えた培地を入れたフラスコ中で原生動物を増殖させ、顕微鏡によって細胞数を計数した。96時間曝露後の増殖量から増殖阻害率を計算し、曝露濃度との関係から半数阻害濃度(EC50)を求めた。

#### 5.2.2. 対象医薬品

試験に用いた医薬品は、環境中で検出された報告のある物質を中心に選定し、表5-1に示す46物質とした。

なお、試薬はDMSOを溶媒として使用し working solution として10,000mg/Lの溶液を調製し、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、10mg/Lとし、曝露溶液中の溶媒濃度が0.1%を超えないように設定した。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、細菌及び藻類については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。

### 5.3 結果

各医薬品に対するバイオアッセイの結果をまとめると、表5-2のようになった。

なお、ここで示す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。

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

表 5-1 供試対象医薬品

分類	医薬品名	
解熱鎮痛剤	エテンザミド	
	ナプロキセン	
	ケトプロフェン	
	ジクロフェナク	
	イブプロフェン	
	メフェナム酸	
	フェプロフェン	
	フルフェナミン酸	
	抗菌剤 (抗生物質)	チモール
		トリクロサン
		2-キキザリカルボン酸
クラリスロマイシン		
アズスロマイシン		
レボフロキサシン		
オフロキサシン		
ナリククス酸		
クロラムフェニコール		
ノボヒオシナトリアム		
循環器薬		ジルチアゼム塩酸塩
		ペラミル塩酸塩
		ジピリダモール
		アテノール
		ソタロール塩酸塩
	トルブタミド	
	ベザフィラート	
	カフェイン	
	消化器薬	ビレンセピン二塩酸塩-水和物
		メクロプラミド
スルピリド		
抗神経薬	カルバマゼピン	
	フェニトイン	
	ピリミドン	
	アミトピリン塩酸塩	
	イミプラミン塩酸塩	
	ハロヘリドール	
	クロルプロマジン塩酸塩	
	ジフェニドール塩酸塩	
抗アレルギー薬	プロメチジン塩酸塩	
呼吸器薬	デキストロトルファン臭化水素酸塩	
利尿薬	フロゼミド	
	アセタゾールアミド	
抗炎症薬	デキサメタゾン	
筋弛緩剤	トルヘリジン塩酸塩	
鎮痙剤	クロタドン	
昆虫忌避薬	ジエチルトルアミド	

ここから、各生物種に対する医薬品の影響に関して次のような傾向がみられた。

(1) 細菌

マイクロトックスによる試験からは、46 種類の医薬品のうち 19 種類の医薬品について毒性が検出された。

表 5-2 医薬品等の生物影響まとめ

医薬品名	細菌 15min EC50	藻類 96h		ミジンコ 48h EC50	カエル 96h LC50	原生動物 96h EC50
		EC50	NOEC			
イブプロフェン	9.194	2.348	0.521	N.E.	N.E.	
フェプロフェン	10.30	5.669	2.083	N.E.	N.E.	
ナプロキセン	17.17	3.665	0.521	N.E.	N.E.	
メフェナム酸	13.84	5.385	2.083	N.E.	5.21	2.36
ケトプロフェン	N.E.	1.991	1.041	2.304	N.E.	N.E.
ジクロフェナク	23.89	5.021	0.521	N.E.	N.E.	
エテンザミド	19.37	3.686	2.083	N.E.	N.E.	N.E.
フルフェナミン酸	14.20	1.582	0.260	3.536		
チモール	2.170	1.680	0.521	5.378	N.E.	4.16
トリクロサン	0.983	0.012	0.008	0.262	0.82	0.21
2-キキザリカルボン酸	N.E.	N.E.	-	-	-	-
クラリスロマイシン	N.E.	0.012	0.005	N.E.	N.E.	
アズスロマイシン	N.E.	0.019	0.005	N.E.	N.E.	
レボフロキサシン	N.E.	1.501	0.260	N.E.	N.E.	
オフロキサシン	N.E.	2.290	0.416	N.E.		
ナリククス酸	N.E.	N.E.	-	3.832		
クロラムフェニコール	N.E.	0.177	0.016	N.E.		
ノボヒオシナトリアム	N.E.	N.E.	-	N.E.		
ジルチアゼム塩酸塩	N.E.	4.193	0.521	N.E.		
ペラミル塩酸塩	N.E.	3.467	0.521	N.E.		
ジピリダモール	N.E.	6.242	1.041	N.E.		
アテノール	N.E.	N.E.	-	N.E.		
(+/-) ソタロール塩酸塩	N.E.	N.E.	-	N.E.		
トルブタミド	2.380	N.E.	-	N.E.		
ベザフィラート	N.E.	N.E.	-	N.E.		
カフェイン	340.7	N.E.	-	N.E.		
(+/-) スルピリド	N.E.	N.E.	-	N.E.		
ビレンセピン二塩酸塩-水和物	N.E.	N.E.	-	N.E.		
メクロプラミド	N.E.	7.805	1.041	N.E.		
カルバマゼピン	N.E.	48.86	0.521	N.E.	N.E.	
フェニトイン	N.E.	N.E.	-	N.E.		
ピリミドン	N.E.	N.E.	-	N.E.		
アミトピリン塩酸塩	14.96	0.246	0.065	0.183		
イミプラミン塩酸塩	3.910	0.192	0.033	4.374		
ハロヘリドール	19.19	0.441	<0.016	3.805		
クロルプロマジン塩酸塩	1.103	0.199	0.033	N.E.		
ジフェニドール塩酸塩	N.E.	0.835	0.065	N.E.		
フロゼミド	N.E.	N.E.	-	N.E.		
アセタゾールアミド	N.E.	1.349	0.521	N.E.		
プロメチジン塩酸塩	10.26	0.347	0.016	5.860		
デキサメタゾン	N.E.	N.E.	-	N.E.		
トルヘリジン塩酸塩	22.11	0.695	0.065	3.259		
デキストロトルファン臭化水素酸塩	46.630	0.623	0.016	N.E.		
クロタドン	N.E.	3.540	2.083	N.E.	N.E.	
ジエチルトルアミド	41.73	4.055	0.521	N.E.	N.E.	

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

- : 明確な影響がみられず計算されなかった

空欄 : 試験未実施

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のようであった。

解熱鎮痛剤 : 7 種類 (8 種類中)

抗菌剤 : 2 種類 (10 種類中)

循環器薬 : 2 種類 (8 種類中)

消化器薬 : 0 種類 (3 種類中)

抗神経薬 : 4 種類 (8 種類中)

その他 : 4 種類 (8 種類中)

その他内訳 : 利尿薬, 抗アレルギー薬, 抗炎症薬, 筋弛緩剤, 呼吸器薬, 鎮痙剤, 昆虫忌避薬

このように、解熱鎮痛剤の多くで毒性が検出された。しかし、毒性の強さからみると、最も強い毒性を示したのは抗菌剤のトリクロサンであり、次いで抗神経薬のクロルプロマジン塩酸塩、抗菌剤のチモール、循環器薬のトルブタミド、抗神経薬のイミプラミン塩酸塩の順であり、抗菌剤や抗神経薬に毒性の強いものがみられた。

(2) 藻類

藻類の成長阻害試験からは、46 種類の医薬品のうち、31 種類の医薬品について毒性が検出された。

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のよ



うであった。

解熱鎮痛剤：8種類（8種類中）

抗菌剤：7種類（10種類中）

循環器薬：3種類（8種類中）

消化器薬：1種類（3種類中）

抗神経薬：6種類（8種類中）

その他：6種類（8種類中）

細菌に対する影響と同じく、解熱鎮痛剤の多く（藻類については全て）から毒性が検出された。さらに藻類では抗菌剤や抗神経薬、その他の分類群からも多くの毒性が検出されるとともに、それらの毒性の程度は比較的強かった。

一方、毒性の強さからみると、抗菌剤のトリクロサンやクラリスロマイシン、アジスロマイシンが他の医薬品と比べ特に強い毒性を示していた。さらに、抗神経薬や抗アレルギー薬、筋弛緩剤、呼吸器薬に強い毒性がみられた。

### (3) 甲殻類

甲殻類のミジンコ遊泳阻害試験からは、46種類の医薬品のうち、10種類の医薬品について毒性が検出された。

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のようであった。

解熱鎮痛剤：2種類（8種類中）

抗菌剤：3種類（10種類中）

循環器薬：0種類（8種類中）

消化器薬：0種類（3種類中）

抗神経薬：3種類（8種類中）

その他：2種類（8種類中）

傾向としては細菌に対する影響と同じく、解熱鎮痛剤、抗菌剤、抗神経薬等から毒性が検出された。しかし、細菌や藻類と比べると毒性が検出された医薬品の種類は少なく、毒性の程度も弱かった。

毒性の強さについては、抗神経薬のアミトリプチリン塩酸塩が最も強い毒性を示し、次いで抗菌剤のトリクロサンが強い毒性を示した。

### (4) 両生類

両生類のカエル胚発生に対する阻害試験については、現段階で15種類の医薬品に関して試験結果が得られている。この15種類の医薬品のうち、2種類の医薬品について毒性が検出された。

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のようであった。

解熱鎮痛剤：1種類（7種類中）

抗菌剤：1種類（5種類中）

## 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

抗神経薬：0種類（1種類中）

その他：0種類（2種類中）

毒性の強さについては、抗菌剤のトリクロサンが最も強い毒性を示したほか、解熱鎮痛剤のメフェナム酸についても毒性が検出された。

### (5) 原生動物

原生動物の増殖に対する阻害試験については、現段階で5種類の医薬品に関して試験結果が得られている。この5種類の医薬品のうち、3種類の医薬品について毒性が検出された。

毒性が検出された医薬品数は、分類群毎に以下のようであった。

解熱鎮痛剤：1種類（3種類中）

抗菌剤：2種類（2種類中）

毒性の強さについては、抗菌剤のトリクロサンが最も強い毒性を示したほか、解熱鎮痛剤のメフェナム酸、抗菌剤のチモールについても毒性が検出された。

## 5.4 生態リスク初期評価

上記の生物試験結果と、前述の河川における医薬品測定結果から、生態リスクについての初期評価を試みた。これは、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として設定される予測無影響濃度（PNEC：Predicted No Effect Concentration）と、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）との比較を行うことにより、リスク評価の第一段階となる詳細な評価を行う候補物質を選定する手法であり、環境省による「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン - 生態リスク初期評価」の手順に準じて検討を行った。

PNECは生物試験の結果得られた毒性指標値にアセスメント計数を乗じて算出を行うが、ここでは慢性毒性値と見なせるNOECの得られた藻類阻害試験の結果のみを用いることとし、NOECにアセスメント係数100を適用して $[PNEC=NOEC/100]$ として計算した。

また、環境中濃度としては、下水道普及率が31%と低い地点（2章の地点、3章の地点Cも同一地点）におけるそれぞれの物質に関する実測濃度をMECとして検討対象とした。

まず、各医薬品についてのPNECをまとめると表5-3のようになった。



## 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

表 5-3 藻類生長阻害試験から算出された PNEC

医薬品名	PNEC (µg/L)
イブプロフェン	521
フェプロフェン	20.8
ナプロキセン	521
メフェナム酸	20.8
ケトプロフェン	10.4
ジクロフェナク	521
エテンザミド	20.8
フルフェナミン酸	260
チモール	521
トリクロサン	0.0833
2-キナキサリカルボン酸	-
クラリスロマイシン	0.0521
アジスロマイシン	0.0521
レボフロキサシ	2.60
オフロキサシ	4.16
ナリクス酸	-
クロラムフェニール	0.163
ノビオソナトリウム	-
ジルチアゼム塩酸塩	521
ペラミル塩酸塩	521
ジビリダモール	10.4
アテロール	-
ソロール塩酸塩	-
トルブタミド	-
ペザブプラート	-
カフェイン	-
スルピリド	-
ピレンゼピニン二塩酸塩-水和物	-
メクロフラミド	10.4
カルバマゼピン	521
フェニトイン	-
ピリドソ	-
アミトリアジン塩酸塩	0.651
イプロラミジン塩酸塩	0.325
ハロヘリドール	-
ケルプロマジン塩酸塩	0.325
ジフェニドール塩酸塩	0.651
フロセミド	-
アセタゾールアミド	521
プロメタジン塩酸塩	0.163
デキサメタゾン	-
トルヘリジン塩酸塩	0.651
デキストロトルファン臭化水素酸塩	0.163
クロタソ	20.8
ジエチルトルアミド	521

次に、河川における実測データによる MEC と上記の PNEC を比較すると、図 5-1 のようになった。

なお、ここではバイオアッセイに適用した医薬品のうち、抗菌剤のレボフロキサシ、及び抗炎症剤のデキサメタゾンについては当該地点における調査で測定対象となっていないため、今回の評価においては判定を行わなかった。また、藻類阻害試験における設定濃度範囲で毒性影響がみられず PNEC の算出されなかった物質についても今回は判定対象から外した。

この結果から、抗菌剤のトリクロサン、クラリスロマイシンについては、MEC/PNEC > 1 となり、詳細な評価を行う必要があると考えられる物質と評価され、同じく抗菌剤のアジスロマイシンについては、0.1 MEC/PNEC < 1 となり、情報収集に努める必要があると

考えられる物質と評価された。

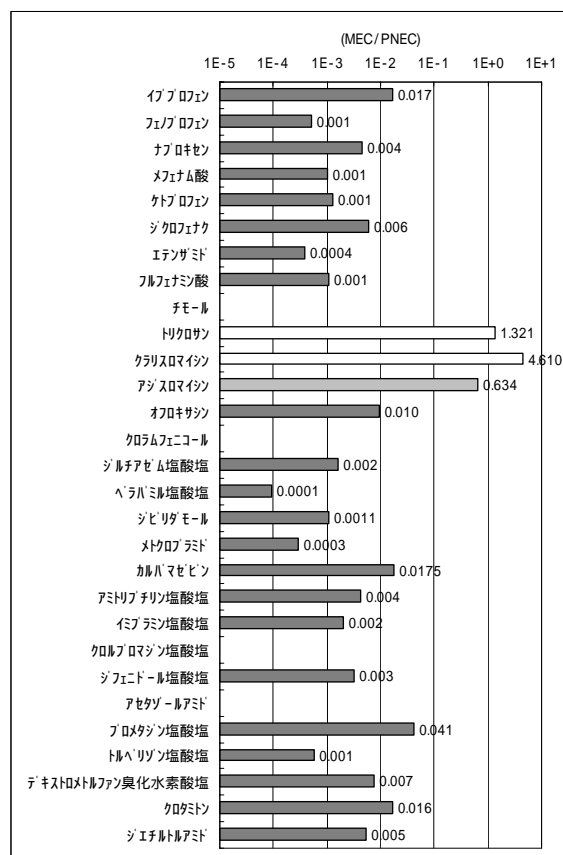


図 5-1 実河川における生態リスク初期評価結果

これら以外の物質については、現時点においては作業は必要ないと考えられる物質と評価された。

このように、特に抗菌剤に関するリスクが高く評価される傾向になったが、この要因としては、環境中濃度が高いというよりは、生物影響が強いことによるものと考えられる。

### 5.5 今後の展開と課題

今後の展開としては以下のような点があげられる。

- 全体として藻類の毒性影響が強くみられたが、これは他の多くの毒性試験が一個体への影響をみる急性毒性を対象としているのに対して、生長阻害という慢性影響を指標としていることによるものと考えられる。そこで、新たに導入した原生動物を用いた増殖阻害試験は増殖における世代間の影響をみることにより慢性影響の指標へ発展できる可能性があることから、原生動物を用いたバイオアッセイ手法の改良をはかり、より詳細な生物影響データが得られるよう検討を行う。
- 今回のリスク評価の手法を用いて、他の水域に

についても評価を行い、各地点の流域における土地利用状況や汚水処理状況などと、リスクの大きさや、リスク要因となる医薬品の特徴等との関連について検討を行う。

- ・ リスク評価において、今回は藻類の NOEC のみを指標として用いたが、対象とする医薬品と生物種によって観察される毒性影響が異なることから、リスク評価に採用する生物種についても、データの充実に並行して増やしていく。

また、今後の課題としては以下のような点があげられる

- ・ 環境中には複数の医薬品が同時に混在することから、各医薬品の単体投与ではなく、複数の医薬品や界面活性剤等の他の化学物質の同時投与時にどのような濃度で影響が生じるかも重要な視点となる。
- ・ 今回試験に用いた医薬品等のうち、各医薬品の物性にも揮発性や分解性、吸着性などについて特徴がある。従って、これらの物性を考慮してバイオアッセイ試験期間中において曝露濃度が維持されているかどうかを化学分析等により確認する必要がある。
- ・ 本研究で算出された生態リスクと、実際の現場において形成される河川生態系との間における関連について解析を行い、バイオアッセイ試験による結果から得られたリスク評価の示す意味についての検討を試みる必要がある。

以上の点を考慮しながら、今後もさらに検討を進め効率的な試験やリスク評価につなげるデータとすることを旨とする。

## 6. 河川水中の微量化学物質による魚類への影響評価

### 6.1 目的

近年、河川環境に対する市民の要求は高く、水質の改善のみならず、豊かな生態系が確保されることが望まれている。特に、魚類の存在は水質浄化の効果を市民が実感できるため、河川中の汚濁物質による魚類への影響について、適切に把握する必要がある。

そこで本研究では、河川水中でメダカを飼育する連続曝露試験を行って遺伝子レベルでの影響を評価するとともに、河川中の微量化学物質等の分析を同時に行い、魚類に影響を与える微量化学物質についての知見を得ることを目的とした。

### 6.2 方法

#### 6.2.1. 供試魚類と影響評価法

曝露試験には、土木研究所の実験室で継体飼育しているメダカ (d-rR 系統) を用いた。この系統は遺伝的に雄が緋色、雌が白色であるため、雌雄の識別が容易である。

一定曝露期間後、メダカを解剖し、肝臓からの RNA 抽出後、マイクロアレイにより発現遺伝子を解析した。メダカ用マイクロアレイは、Agilent 社のカスタムアレイを使用した。このマイクロアレイには約 32,000 種類のメダカの遺伝子断片が配置されている。

#### 6.2.2. 分析対象物質

曝露試験時の分析は、栄養塩類等一般項目の他、金属類、エストロゲン様活性および表 2-1 に示した物質を中心とした医薬品類について実施した。一般項目の分析は JIS K0102 に掲載の方法に準じた。総水銀を除く金属類は ICP-MS を用いて分析し、総水銀は昭和 46 年 12 月 28 日環境庁告示 59 号の付表 1 に掲げられている方法にて分析した。エストロゲン様活性は遺伝子組み換え酵母を用いて分析<sup>7)</sup>した。医薬品類は 2 章に記載の方法で分析した。

#### 6.2.3. 河川水曝露実験

河川水曝露実験は、都市部の河川の水質観測所に水槽を設置して既報<sup>8)</sup>と同様の方法で実施した。この水質観測所の地点の上流側には下水処理場が 7 つ存在しており、下水処理水の河川の流量に占める割合は概ね 30~50%程度であると考えられる。曝露は雄と雌をそれぞれ 40 匹、別の水槽で行った。また、比較対照試験として水道水での曝露試験も行った。曝露期間は 21 日間とし、平成 20 年 1 月に実施した。

## 6.3 結果と考察

### (1) 微量化学物質等の分析結果

栄養塩類と金属類については、期間中の水道水の平均濃度と比較して濃度が 2 倍以上であった物質は 11 あった。これらについて、平均濃度を表 6-1 に示す。重金属類では Fe と Zn の濃度が 10 µg/L 以上であったが、亜鉛 (Zn) の濃度は測定期間中を通じて河川の環境基準値の 0.03mg/L (30 µg/L) を下回っており、これらの物質に関しては通常の都市河川で見られる濃度であった。

## 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

表6-1 河川水中の濃度が高かった栄養塩類と金属類

物質	単位	比較対照 (水道水曝露)	河川水曝露
NO <sub>3</sub> -N	[ mg/L ]	0.17	8.1
PO <sub>4</sub> -P	[ mg/L ]	0.038	0.49
K <sup>+</sup>	[ mg/L ]	5.3	11
Li	[ μg/L ]	0.65	2.8
Al	[ μg/L ]	7.0	41
Mn	[ μg/L ]	<0.5	8.5
Fe	[ μg/L ]	3.4	38
Ni	[ μg/L ]	<0.5	3.1
Cu	[ μg/L ]	2.0	5.9
Zn	[ μg/L ]	3.2	18
Mo	[ μg/L ]	0.82	2.1

エストロゲン様活性については 10~40ng/L の範囲にあり、河川としては高い濃度であった。

医薬品類に関しては、55 物質が検出され、うち 49 物質は曝露期間にわたって検出された。検出物質の平均濃度分布を表6-2 に示す。

表6-2 河川水中に検出された医薬品類の濃度分布

平均濃度の範囲	物質数
~ 1ng/L	1
1 ~ 10ng/L	16
10 ~ 100ng/L	26
100ng/L ~ 1μg/L	5
1 ~ 10μg/L	1

### (2) メダカ遺伝子の発現状況

遺伝子の発現状況については、各遺伝子について、対照試験の水道水曝露試験による発現量倍率変化に対する、河川水曝露試験による発現量倍率変化の比を算出した。その範囲に対応した遺伝指数を表6-3 に示す。河川水曝露試験による発現量倍率変化が 10 倍以上であった遺伝子について、そのほとんどは機能不明である末同の遺伝子であった。雄と雌で共通のものは5つあった。

表6-3 メダカ遺伝子の発現量倍率変化比

発現量倍率変化比の範囲	雄	雌
~ 1	30668	18576
1 ~ 2	5170	16874
2 ~ 10	603	986
10 ~	17	22

### (3) 微量化学物質の濃度とメダカ遺伝子の発現状況との関係

各種物質の河川中の濃度分析結果より、一般項目や金属類は一般的な値であり、特に顕著な汚染はないと言える。しかし、エストロゲン様活性が通常河川より高く、医薬品類の検出率も2章で検討した各地点より高かったことから、微量化学物質による汚染は比較的

進行している状況にあると考えられる。

一方、遺伝子の発現状況については、割合は少ないながらも、比較対照に対して顕著な発現遺伝子が見られ、そのうち雄と雌で共通しているものも見られた。この発現状況と河川中の物質濃度の関係から、これらの遺伝子の発現は微量化学物質によって引き起こされた可能性がある。

### 6.4 今後の課題と展開

今回の曝露試験結果については、さらなる解析が必要であると同時に、より明確に微量化学物質による魚類への影響を把握するため、個々の物質による影響に関する知見が必要であると考えられる。しかし、個々の物質を用いて魚類の曝露試験を行うには多大な労力と時間が必要となることから、5章で用いたようなより低次な生物への影響をスクリーニングのための知見として用い、効率的に曝露試験を行う必要があると考えられる。

また、下水処理水を用いる曝露試験により、より明確に遺伝子への影響が見られる可能性もあることから、下水処理水を用いる曝露試験の結果との比較も必要であると考えられる。

発現が見られる遺伝子については、バイオマーカーとして利用できる可能性があることから、詳細な情報を収集することにより、個体レベルで見られる生体反応との関連を把握する必要がある。

このような今後の研究の展開により、河川中の魚類へのリスク要因を明らかにし、リスク低減のために必要な施策を構築して行く予定である。

## 7.まとめ

数多くある医薬品のなかから生産量が多く一般的に用いられていると考えられる医薬品に、我が国でこれまで検出例のある物質を加えた 95 種類を選定し、一斉分析法の開発を行った。

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。小河川における医薬品存在実態は、農村地域では都市域に比べ検出数は少なく、それらの濃度も低いことが確認された。また、家庭からの排水が下水道において収集・処理され、他の流域に放流されている地域では、医薬品の濃度が低い傾向にあった。

排水処理施設の整備状況が異なる小河川において GC/MS を用い 11 物質の医薬品を調査し排水処理施設の整備状況と医薬品存在濃度の関係を調べた。調査医

薬品濃度は、各物質とも下水道普及率が高い地域では、他の地点に比べ低い値を示した。下水道未整備地域の調査医薬品濃度は、下水道が整備された地域の10～50倍の濃度で存在していた。

また、5種の生物を用いたバイオアッセイ手法を用いて医薬品が生物に及ぼす影響を調査した結果、46物質中35物質で生物影響が確認された。特に抗菌剤や抗神経薬が高い毒性を示した。この生物試験結果を用いて下水道普及率が低い地点における生態リスク初期評価を行ったところ、トリクロサンとクラリスロマイシンについてMEC/PNEC>1となり、詳細な評価を行う必要があると考えられる物質と評価された。

さらに、遺伝子手法を用いた河川水曝露実験により魚類への影響を評価したところ、試験水中に医薬品類が検出されるとともに発現量が大きく変化した遺伝子が見られた。このことから、今後は河川中の魚類へのリスク要因を明らかにする必要があると考えられた。

#### 参考文献

1) Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K. and Kratz, K. L. (1999) Occurrence of antibiotics in the aquatic environment, *The Science of Total Environment*,

#### 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

225, 109-118.

- 2) 高田秀重, 谷島利勝 (2003) 医薬品による環境汚染, *医学のあゆみ*, **205**, 159-160.
- 3) 田中宏明, 岡安祐司, 中田典秀, 八十島誠 (2004) 新たに登場してきた下水道の微量汚染物質問題, *下水道協会誌*, **41** (499), 27-30.
- 4) 厚生労働省医政局編集, 薬事工業生産動態統計年報, じほう (2004)
- 5) 小西千絵, 宝輪勲, 中田典秀, 小森行也, 鈴木穰, 田中宏明, *環境工学研究論文集*, **43**, 73-82 (2006)
- 6) 宝輪他, GC-MSによる環境中のPPCPs一斉分析法の基礎的検討, 第16回環境化学討論会講演要旨集, p.774-775 (2007)
- 7) 矢古宇靖子, 高橋明宏, 東谷忠, 田中宏明: 組み換え酵母を用いた下水中のエストロゲン活性の測定, *環境工学研究論文集*, **36**, 199-204, 1999
- 8) T. Higashitani, K. Miyajima, N. Nakada, M. Yasojima, H. Tanaka and Y. Suzuki : Development of on-site fish exposure system placed in water quality monitoring stations along a river, *Water science and technology*, vol. 52, No12, pp. 275-282, 2005

## **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. 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. We tried the first approach of risk evaluation for pharmaceuticals in a urban river receiving domestic wastewater onto aquatic organisms.

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