

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：南山瑞彦、小森行也、北村友一、村山康樹

鈴木穰、北村清明

【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。本研究では、医薬品等の生理活性物質の分析法を開発し、水環境中での実態把握と挙動解明を行うとともに、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た。

キーワード：環境リスク、医薬品、分析法、実態把握、バイオアッセイ、生態影響評価

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、様々な生物種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。

2. 医薬品分析方法の開発

2.1 医薬品 95 種類の一斉分析法の開発

2.1.1 目的

医薬品は、「低濃度」かつ「特異的」に作用するこ

とから、極低濃度の長期的ばく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。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經由し、下水道で除去されないものは環境中に排出される。本研では、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。

2.1.2 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¹⁾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。

2.1.3 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²⁾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 1500 mL）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 200 mL 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 α ng/L、 β ng/L、

γ ng/L、 δ 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。 α は検出下限値、 β は検出下限値の 2 倍、 γ は検出下限値の 10 倍、 δ 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 5 mL と希塩酸 10 mL 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相カートリッジを脱水し、メタノール 5 mL 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、エレクトロスプレーイオン化（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。

2.1.4 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、

表 2.1 調査対象医薬品（95 種類）

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

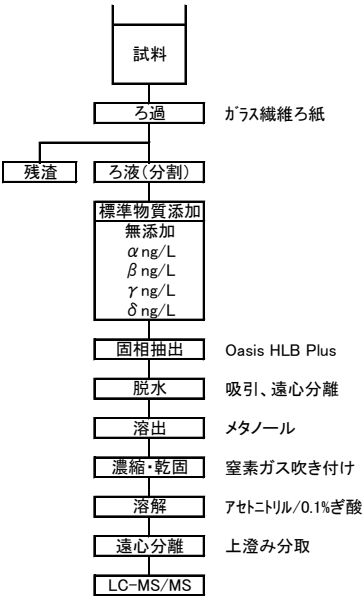


図 2.1 分析フロー

表 2.2 LC-MS/MS 測定条件

	Positive	Negative
HPLC	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, 3μm	Hypersil GOLD, 2.1×100, 3μm
カラム温度	40℃	40℃
注入量	5μL	5μL
MS/MS	Thermo Quantum Discovery MAX	
Spray Voltage	4,500	4,000
Sheath gas	30	20
Aux gas	5	10
Capillary temperature	320	320

25 pg/μL の 7 段階である。測定した混合標準溶液の 5 回繰返し測定において、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 (σ) 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 200 分の 1 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 1.0 ng/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 10 ng/L 以下の医薬品が 53 物質、利尿剤の acetazolamide、抗生物質の ampicillin 等、10 ng/L を超える医薬品が 12 物質であった。

2.2 抗ウィルス剤タミフルとその代謝物の下水試料中の分析

2.2.1 目的

タミフル (Oseltamivir phosphate; OP、図-2.2) は A 型及び B 型インフルエンザウィルス感染症に対する抗インフルエンザウィルス剤であり、服用後、肝臓のエステラーゼにより加水分解され、Oseltamivir carboxylate (OC、図-2.3) に代謝される。また、服用された OP の約 7 割は尿中から排泄され³⁾、下水等を通じて河川水中へ放出される。一方、昨今の世界的なインフルエンザの大流行により、OP 使用量が増加しており、それに伴う水質汚染問題が社会的関心事となっている。しかしながら、下水中の OP や OC を対象とした調査例は極めて少ない。この理由の一

つとして、分析法開発の遅れが指摘される。

このため、本研究では、下水中の OP と OC の LC-MS/MS による高精度分析法の検討を行った。本検討は、(独) 土木研究所と (株) 島津テクノリサーチの「共同研究」で実施した。

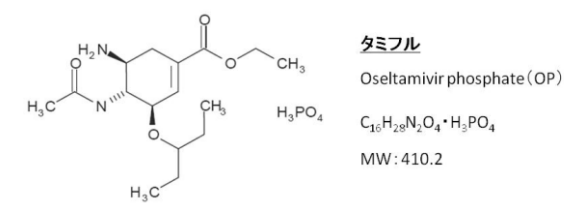


図 2.2 Oseltamivir phosphate (OP)

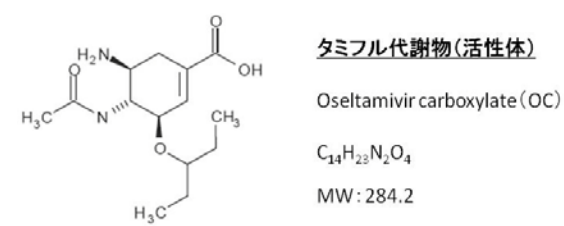


図 2.3 Oseltamivir carboxylate (OC)

2.2.2 方法

OP の標準物質には APAC Pharmaceutical 製の Oseltamivir phosphate を、OC には Sigma-Aldrich 製の Oseltamivir acid hydrate を使用した。

前処理方法は、採水した試料 (100 mL) をガラス繊維ろ紙でろ過し、固相カートリッジ (Waters 社製 Oasis HLB) による固相抽出を行った。メタノールで溶出後、5 mL に定容し、2.5 mL を分取して、ENVI-Carb (SUPELCO) による精製後、1 mL に定容

したものを用いて測定用試料とした。分析フローの抽出操作を図 2.4、精製操作を図 2.5 に示す。

抽出・精製液の測定条件は以下のとおりとした。液体クロマトグラフは Prominence（島津製作所）、質量分析計は API 3200（Applied Biosystems）、イオン化法は ESI-Positive を採用し、OP は $[M-H_3PO_4+H]^+$ 、OC は $[M+H]^+$ をプリカーサーイオンとして選定し、それぞれ定量イオンは、OP: 313.2 / 225.0、OC: 285.2 / 138.0 とした。カラムは Synergi 4u MAX-RP (2.0×150 mm、phenomenex)、移動相には 0.1%ギ酸水溶液とメタノールを使用して、グラジエント条件で測定を行った。

実試料を用いた添加回収試験は、標準活性汚泥法で運転している活性汚泥処理実験装置の流入水を用いた。2009 年 7 月に採水したものを用いた。

2.2.3 結果と考察

検量線は OP、OC ともに $r^2=0.999$ と良好な直線性が得られた（表 2.3）。装置検出下限値（IDL）については、試料換算値で OP: 0.34 ng/L、OC: 0.29 ng/L であり、ばらつき（CV）も極めて小さかった（表 2.4）。採水した流入水に、20 ng/L となるように標準物質を添加して行った添加回収試験（n=5）からも、平均回収率：80%、CV：5%以下と良好な結果が得られた（表 2.5）。従って本研究で開発した分析法は、下水中の OP、OC の定量分析に適用可能であることが確認された。また、OP、OC 各標準物質のメタノール溶液のクロマトグラムを図 2.6、図 2.7 に示す。OP: 0.1 ng/mL、OC: 0.05 ng/mL の濃度で S/N 比が 5 以上であり、分離が確認されている。

2.2.4 今後の展開と課題

【抽出】

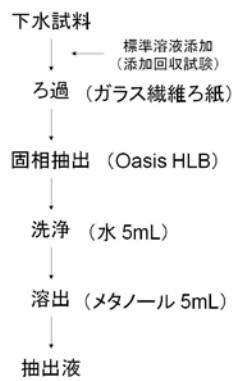


図 2.4 抽出操作

【精製】

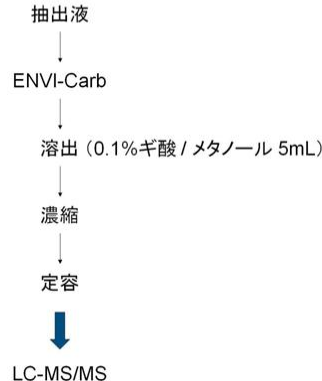


図 2.5 精製操作

表 2.3 OP と OC の検量線

化合物	検量線範囲 (ng/mL)	r^2
タミフル(OP)	0.05-5	0.999
タミフル代謝物(OC)	0.05-5	0.999

表 2.4 OP と OC の装置検出下限値（IDL）

化合物	注入液濃度 (ng/mL)	IDL (ng/mL)	IDL試料換算値 (ng/L)	CV (%)
タミフル(OP)	0.1	0.017	0.34	4.3
タミフル代謝物(OC)	0.05	0.015	0.29	6.6

※IDL=(n-1,0.05)×σ_{n-1}×2

表 2.5 添加回収試験結果（流入水、n=5）

化合物	試料	添加濃度 (ng/L)	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)	CV (%)
タミフル(OP)	下水 (流入水)	20	16	80	4.1
タミフル代謝物(OC)		20	16	80	2.6

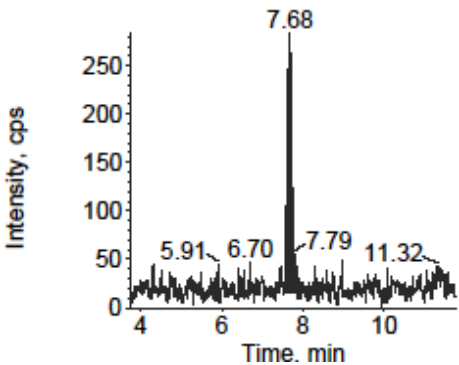


図 2.6 OP 標準液のクロマトグラム

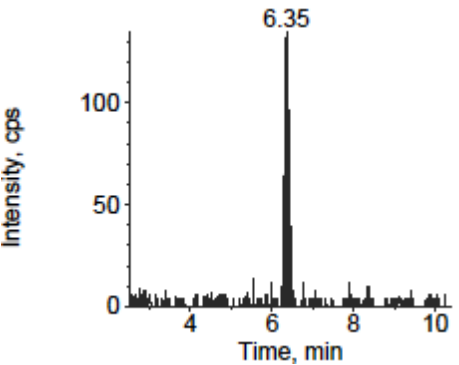


図 2.7 OC 標準液のクロマトグラム

本研究において抗ウイルス剤の分析法開発を行った。分析装置の検出下限値は試料換算濃度で OP が 0.34 ng/L、OC が 0.29 ng/L であった。また、流入下水を用いた添加回収試験の結果、OP、OC とともに 80% の回収率が得られ下水試料への適用が可能である。今後は、本分析法を用い水環境中の OP、OC の実態把握を実施していく必要がある。また、他の抗ウイルス剤についても分析法の検討・開発を継続する必要がある。

2.3 抗真菌薬、抗ウイルス薬の分析

2.3.1 目的

水環境中に存在する医薬品類による水生生物等への影響が懸念されている中で、抗真菌薬は真核細胞の増殖を抑制する作用をもつこと、また、抗ウイルス薬も抗細菌薬とは異なった作用機構を持つことから公共用水域の生態系に影響を及ぼす可能性が否定できない。本研究では抗真菌薬 2 種と抗ウイルス薬 1 種を対象として LC-MS/MS 法による同時分析方法の検討を行うことを目的とした。本検討は、(独) 土木研究所と帝人エコ・サイエンス (株) の「共同研究」で実施した。

2.3.2 対象物質及び分析方法

分析対象物質は、抗真菌薬の Fluconazole と Itraconazole、抗ウイルス薬の Aciclovir の 3 物質とした。以下に示す前処理後 LC-MS/MS による同時分析する方法とした。

1) 水質試料前処理

試料 200 mL を GF/B ろ紙でろ過し、SS 分は少量 (<5 mL) のメタノールで超音波抽出してろ液に合わせた。ろ液にそれぞれのサロゲート物質各 10 ng を添加し、速やかに Oasis MCX カートリッジを用い 10 mL/min で固相抽出した。カートリッジは使用前にメタノール、濃アンモニア水/メタノール (5/95)、ギ酸/水 (2/98) 及び精製水の順で、各 10 mL を用いて洗浄し使用した。固相抽出後、ギ酸/水 (2/98) 約 5 mL で洗浄した後、間隙水を除いてから更にメタノール約 5 mL でカートリッジを洗浄した。次に濃アンモニア水/メタノール (5/95) の約 6 mL で測定成分を溶出する。溶出液は窒素ガス吹き付けで約 0.2 mL 程度に濃縮後、メタノール/アセトニトリル (1/1) の約 1 mL を加え溶解 (超音波) し、NH₂ カートリッジに負荷し同溶媒の約 5 mL で溶出した。この溶出液を再び窒素ガス吹き付けで約 0.2 mL 程度まで濃縮し、メタノール/アセトニトリル/水 (1/1/1) で 1 mL に定容し LC-MS/MS 測定液とした。

2) 汚泥試料前処理

遠心分離で分離した汚泥試料約 2 g (固形物濃度既知) を 50 mL の遠沈管に秤取し、サロゲート成分各 50 ng を添加混合し、メタノール 20 mL で超音波抽出 (20 min)、遠心分離で抽出液を分離した。この抽出を 2 回繰り返した。抽出液は GF/B ろ紙でろ過した後、メタノールで 50 mL に定容、このうち 10 mL を分取し精製水で約 500 mL に希釈してから直ちに Oasis MCX カートリッジで固相抽出し、以下水試料と同様に処理した。

3) 測定条件

LC-MS/MS による測定条件を以下に示す。LC カラムは、Zorbax Extend-C18 (2.1φ×150 mm)、Mobile Phase は、A 液 : 10mM-NH₃ aq.、B 液 : 10mM-NH₃/CH₃CN を用いたグラジエント分析である (A/B=8/2 (5 min) - 5 min - 1/9 (15min))。また、流速は 0.14 mL/min とした。MS/MS のイオン化法は、ESI-Positive ion とし、SRM により測定した。各測定物質の測定イオンは、表 2.6 のとおりである。

2.3.3 結果と考察

下水試料中の抗真菌薬、抗ウイルス薬 3 種について LC-MS/MS 法による測定方法を検討し、カチオン交換基を付与した Oasis MCX カートリッジによる固相抽出と NH₂ カートリッジによる精製法で測定した。Aciclovir は逆相系カラムへの保持が弱く、また、マトリックスによるイオン化率の影響を受け易いため、Itraconazole は水への溶解度が低く不安定なため、それぞれサロゲート物質を用いて回収率 (イオン化率) を補正して測定した。

本分析法における検出下限値を表 2.7 に示した。

表 2.6 測定イオン一覧

測定物質	m / z
Fluconazole	307.1 > 238.1
Fluconazole-d ₄	311.1 > 242.1
Itraconazole	705.2 > 392.2
Itraconazole-d ₅	710.2 > 397.2
Aciclovir	226.0 > 152.0
Aciclovir-d ₄	230.0 > 152.0

表 2.7 検出下限値

測定物質	下水試料 (ng/L)	汚泥試料 (ng/g-wet)
Fluconazole	0.2	0.10
Itraconazole	0.1	0.05
Aciclovir	0.1	0.05

2.3.4 今後の展開と課題

本研究において抗真菌薬、抗ウイルス薬の分析法開発を行った。下水試料の検出下限値は試料換算濃度で 0.1 ~ 0.2 ng/L、汚泥試料の検出下限値は湿重量当たり 0.05 ~ 0.1 ng/g-wet であった。今後は、下水試料を含む環境水中の実態についての調査継続が必要である。

2.4 抗生物質の分析

2.4.1 目的

本研究では、比較的新しい抗生物質を対象とした分析方法の検討を目的とした。本検討は、(独) 土木研究所とムラタ計測器サービス(株)の「共同研究」で実施した。

2.4.2 対象物質及び分析方法

分析対象は抗生物質の Linezolid、Mupirocin、Meropenem、Cefcapene pivoxil とした。

前処理方法については、固相抽出における溶出溶媒の検討、塩析効果の検討、及び定容溶媒の検討を行った。

測定は、カラムに ODS、移動相にメタノールと超純水を用いたグラジエント溶離法で HPLC 分離を行い、ESI-positive でイオン化して MS/MS 測定した。

2.4.3 結果と考察

1) 固相抽出における溶出溶媒の検討

溶出溶媒にメタノール、アセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、アセトン：ジクロロメタン=1:1、アセトン：メタノール=1:1 を用いて、それぞれ回収率を確認した。Linezolid はすべての溶媒で良好な結果が得られたものの、Meropenem はジクロロメタン、酢酸エチル及びアセトン：ジクロロメタンではほとんど溶出されず、アセトン 6 mL でも溶出が不十分であった。すべての物質において回収率が 80 ~ 120% と良好な結果が得られたのはメタノール及びアセトン：メタノール=1:1 であった。

2) 固相抽出における塩析効果の検討

純水における添加回収試験を実施したところ、Meropenem の回収率は 59% であった。その要因として、Meropenem の親水性が比較的高いことから固相充填剤に十分に吸着できていない事が考えられた。そこで通水前の試料に塩化ナトリウム 6 g を添加し、塩析効果による回収率への影響を確認したところ、回収率が 93% となり、改善が確認できた。また、他の 3 化合物に対する塩化ナトリウムの影響は見られなかった。

3) 定容溶媒の検討

本測定法において連続測定を実施した結果、Cefcapene pivoxil においてのみ、明らかな感度低下が確認された。そこで定容溶媒にぎ酸を 0.05% 添加した標準液と無添加の標準液を連続で交互に測定し、挙動を確認した。ぎ酸を添加しない系では、Cefcapene pivoxil の感度が徐々に減少し、約 26 時間後に半分にまで減少したのに対し、ぎ酸を添加した系では少なくとも 26 時間までは減少傾向はみられなかった。このことから、感度低下は化合物自身の安定性の問題であり、ぎ酸の添加が有効であることがわかった。他の化合物については、Meropenem の感度が、ぎ酸を添加した系で約 20% 減少した他は、26 時間以内では明らかな増減傾向は確認されなかった。

4) 装置検出下限値 (IDL) の算出

標準液を 7 回繰り返し測定して得られた標準偏差に t 値 (危険率片側 5%) と 2 を乗じた値を IDL として算出した。Linezolid、Mupirocin、Meropenem、Cefcapene pivoxil の IDL はそれぞれ、0.38、16、1.5 及び 1.3 pg であった。

5) 実試料への適用

本法を純水、河川水及び下水処理場二次処理水に適用し添加回収試験を実施した。この際固相抽出において、塩析効果を活用し、溶出溶媒には濃縮時間が短いアセトン：メタノール=1:1 を用いた。図 2.8 に標準液とこれと同濃度となるように標準を添加した二次処理水のクロマトグラムを示した。上から順に Linezolid、Mupirocin、Meropenem、Cefcapene pivoxil であり、濃度は両試料ともにそれぞれ試料換算で 0.5、0.02、0.1 及び 0.5 µg/l である。

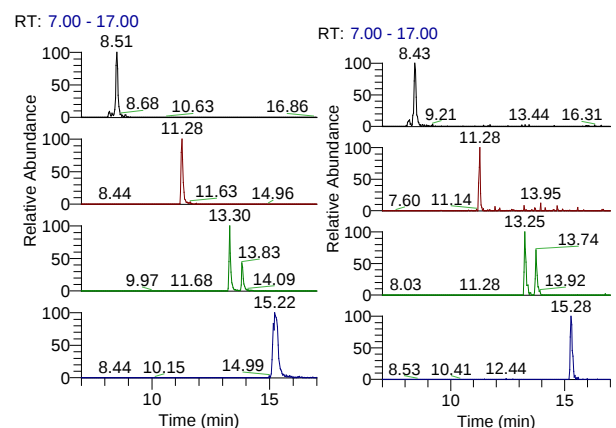


図 2.8 クロマトグラム
(左図：標準液、右図：二次処理水)

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

純水における回収率は 76 ~ 108%と良好な結果が得られたが、河川水においては 17 ~ 66%、二次処理水においては 11 ~ 56%と低回収率を示し、純水と実試料に違いがみられた。この際、定量方法は対象成分の抽出時における損失やイオン化抑制等を補正しない絶対検量線法を用いており、実試料中の夾雑成分が引き起こすイオン化抑制による損失が低回収率となる大きな要因と考えられた。そこでこれを補正するために、得られた測定液を分取し、濃度が段階的になるように標準液を添加して、標準添加法による定量を行った。その結果、河川水においては 90 ~ 122%、二次処理水においては 76 ~ 118%と回収率の改善が見られた。

2.4.4 今後の展開と課題

本分析法の実試料への適用において、絶対検量線法から抽出液への標準添加法に定量方法を変更することで、測定時の損失を補正することができた。しかし夾雑成分が引き起こすイオン化抑制の問題は残ったままであり、より操作の簡便な絶対検量線法の適用も踏まえて、夾雑成分を除去する前処理法の検討が今後の課題としてあげられる。

3. 水環境中での医薬品実態把握

3.1 医薬品 95 物質の実態把握

3.1.1 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が進められているが、未だ十分解明されたとはいえない。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。

3.1.2 調査方法

調査は、茨城県の霞ヶ浦（北浦）に流入する鉾田川、千葉県の手賀沼に流入する大津川においてそれぞれ 2 つの支川（水路）で調査を実施した。各調査地点の集水面積は、①5.4 km²、②3.94 km²、③4.1 km²、④4.6 km²である。

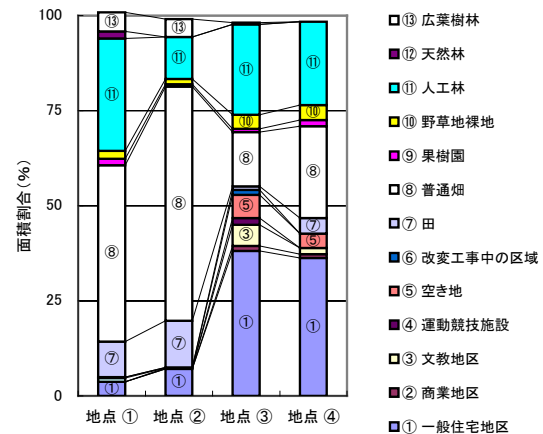


図 3.1 各調査地点集水域の土地利用状況

図 3.1 に示すとおり、地点①、地点②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①の集水域には養豚場が存在する。地点③、地点④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①、地点②は下水道未整備、地点③は下水道普及率 74%、地点④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。

3.1.3 調査結果と考察

調査医薬品 95 物質中、図 3.2 に示す 47 物質が地点①、②、③、④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 0.2 ng/L から caffeine の 4800 ng/L であった。地点①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②では人用 7 物質、両用 1 物質の計 8 物質、地点③では人用 20 物質、両用 4 物質の計 24 物質、地点④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①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③の方が、地点④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。

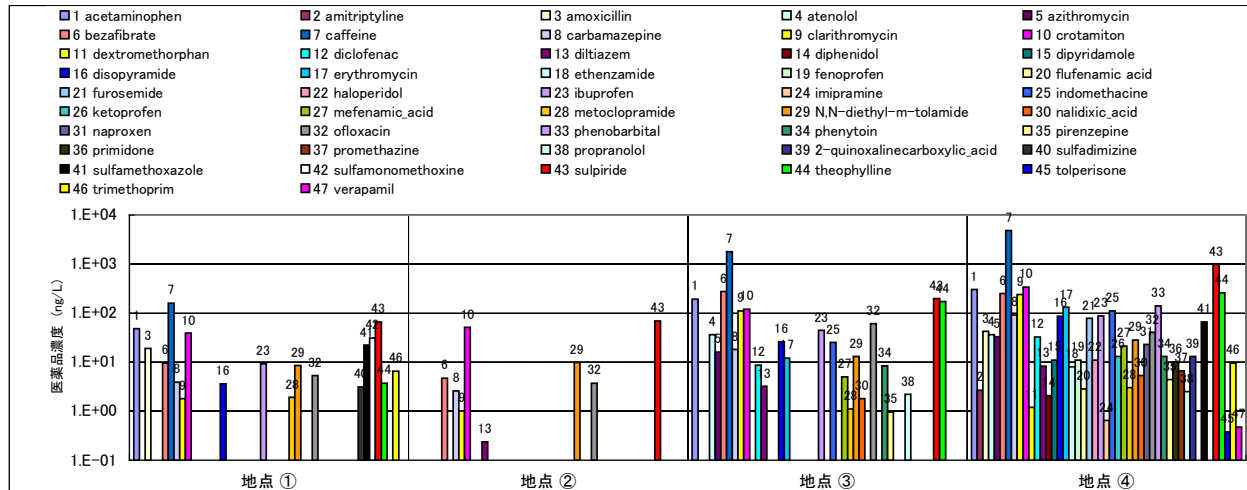


図 3.2 医薬品調査結果（図中の数字は医薬品番号）

3.1.4 まとめ

本調査では、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、晴天時に検出される医薬品類の種類及び濃度レベル概略を把握した。雨天時に河川流量が増加した時の医薬品流出状況については、0 及び 3.4 で述べる。

3.2 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

3.2.1 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^{4),5),6)}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。

3.2.2 対象医薬品（95 種類）及び分析方法

研究対象医薬品は、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、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（表 2.1 参照）。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、2.1.3 の分析方法と同じく標準添加法により行った。

3.2.3 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-3.3）。大津川は、河川延長約 12.5 km、流域面積約 37 km²の小河川である。各調査地点の集水面積は、St.1 は 4.4 km²、St.2 は 4.2 km²、St.3 は 5.9 km²、St.4 は 4.1 km²、St.5 は 2.4 km²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-3.4 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。

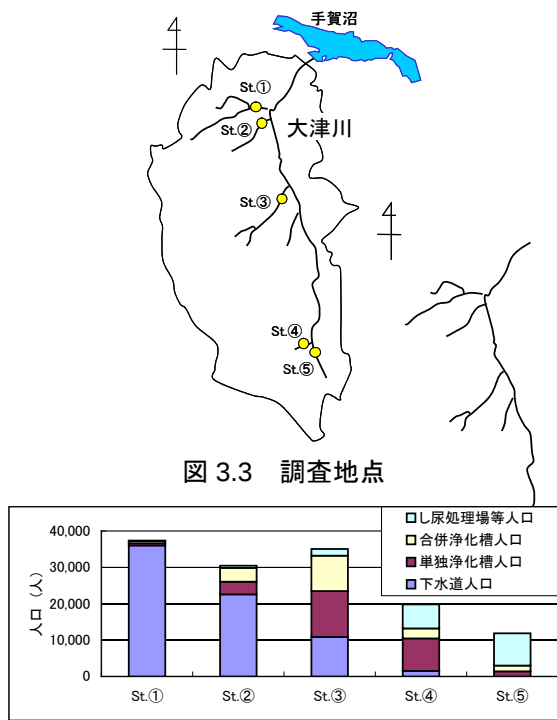


図 3.4 各調査地点集水域の生活排水処理人口

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、降雨量としては 0 mm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Na₂EDTA（マトリックス元素のマスキング剤）を各約 1 g/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、NH₄-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。

3.2.4 調査結果と考察

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、分析所に持ち帰り行った一般水質項目の分析結果を表 3.1 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 ~ 15 mg/Lを示していたがSt.4、St.5 では 3.4 mg/L、2.3 mg/Lであり、St.1 ~ St.3 に比べ低い値であった。DOC、NH₄-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。

表 3.1 水質分析結果（一般項目）

試料採取地点 (Time)	St.① (13:00)	St.② (13:30)	St.③ (11:30)	St.④ (11:00)	St.⑤ (10:40)
水温 (°C)	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 ₄ -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 ³ /s)	0.09	0.06	0.08	0.10	0.09

DO、DOC、NH₄-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、生活排水の処理状況と強い関係がうかがえる。

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（σ）を算出し、3σ を検出下限値、10σ 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 3.2 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。表 3.2 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、人為汚染のマーカーとして提案されているCarbamazepine⁷⁾とCrotamiton⁸⁾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

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

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%以上であり、未処理排水による人為汚染のマーカーとして提案されているCaffeine⁹⁾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医薬品 54 物質について、既報⁶⁾における利根川本川及び複数の下水処理場放流水の存在濃度と比較する（表 3.2）。利根川本川との比較では、調査地点別に報告値のある 34 物質についてみると、報告値の最大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あるいは低いレベル、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。

一方、下水処理場放流水との比較では、下水処理

表 3.2 水質分析結果（医薬品）

No.	医薬品	本調査							既往調査 ⁹⁾	
		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	crotonon	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	diltiazem	0.18	0.6	ND	3.2	8.3	6.9	11	2.2	90
30	diphenidol	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	fenopropfen	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	sulfadimethoxine	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

場での除去率の高いAcetaminophen¹⁰⁾、Caffeine¹⁰⁾、Ibuprofen⁹⁾の3物質がSt.3、St.4、St.5において報告値の最大値を上回った以外は、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における上記3物質の濃度は、下水処理場放流水の2倍以上の値であり、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Crotamiton⁸⁾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¹¹⁾。St.3で検出された2-Quinoxaline carboxylic acidは豚赤痢の治療薬等¹²⁾として用いられてきた合成抗菌剤（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¹³⁾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。

3) 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3.3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3.3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高い傾向が見られた。他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、表3.4および図3.5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。

表 3.3 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

表 3.4 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

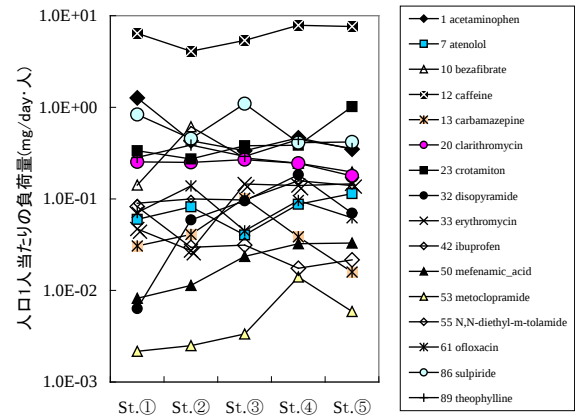


図 3.5 人口 1 人当たりの医薬品負荷量

3.3 晴天時、雨天時の農村地域小河川における医薬品の存在実態

3.3.1 目的

新たな微量化学物質汚染として注目されている医薬品類の環境水中の存在実態については多くの調査報告がみられる。しかしながら、晴天時の調査報告がほとんどであり雨天時の流出状況については情報が不足している。本研究では農村地域の小河川において晴天時と雨天時に医薬品類の実態把握調査を行いその流出実態の比較を行った。

3.3.2 対象医薬品及び分析方法

調査対象とした医薬品類は、Acetaminophen、Amoxicillin、Azithromycin、Caffeine、Chlortetracycline、Clarithromycin、*N,N*-diethyl-*m*-toluamide (DEET)、Oxytetracycline、Sulfamethoxazole、Sulfamonomethoxine、Tetracycline、Theophylline、Trimethoprimの13物質である。医薬品類の分析方法は、小西ら²⁾の方法を参考に抽出・濃縮等の前処理を行った後、LC/MS/MSを用いて測定し絶対検量線法により定量した。

3.3.3 調査方法

調査地点は、既に報告⁵⁾した霞ヶ浦・北浦に流入する銚田川の支川 (St.3、St.5) とした。調査地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り、各地点の集水面積はそれぞれ5.4 km²、3.9 km²である。調査は2008年5月～10月の晴天時に6回、雨天時に4回、SS、BOD、COD、DOC、NH₄-Nの分析用試料、医薬品類分析用試料の採取と試料採取時の流量観測を行った。

3.3.4 調査結果と考察

晴天時試料採取時の流量は、St.3は0.06～0.10 m³/sec (平均0.08 m³/sec)、St.5は0.01～0.11 m³/sec (平均0.07 m³/sec)であった。また、雨天時試料は降雨(降雨量: 17～27 mm)の途中で試料採取を行った。試料採取時の流量は、St.3は0.12～0.26 m³/sec (平均0.16 m³/sec)、St.5は0.19～0.34 m³/sec (平均0.25 m³/sec)であり、晴天時の2倍(St.3)、3.6倍(St.5)であった。

晴天時、雨天時に採取した試料は持ち帰った後、SS、BOD、COD、DOC、NH₄-Nの5項目について分析を行った。その平均値を図3.6に示す。多くの測定項目の濃度は、晴天時に比べ雨天時に高い値を示した。St.3ではSS(8.5倍)、BOD(5.3倍)、COD(4.5倍)、DOC(1.7倍)、NH₄-N(5.3倍)であった。また、St.5ではSS(7.9倍)、BOD(1.7倍)、COD(2.0

倍)、DOC(0.7倍)、NH₄-N(1.2倍)であった。これらの結果から、St.3はSt.5に比べ雨天時における有機性汚濁物質の流出が顕著である。集水域に、降雨により流出しやすい有機性物質の汚濁源が存在することが示される。

晴天時、雨天時の医薬品類分析結果(平均値)を表3.5に示す。平均値の算出にあたり実測値が検出下限値以下のものについては0(ゼロ)として扱った。また、晴天時と雨天時の医薬品類濃度を比較するため雨天時/晴天時の濃度比を算出した結果を、図3.7に示す。

雨天時/晴天時の濃度比は、St.3では、人用医薬品6物質(Acetaminophen、Azithromycin、Caffeine、Clarithromycin、*N,N*-diethyl-*m*-toluamide、Theophylline)で0.6～2.3を、人・動物両用医薬品6物質(Amoxicillin、Chlortetracycline、Oxytetracycline、Sulfamethoxazole、Tetracycline、Trimethoprim)で3.2

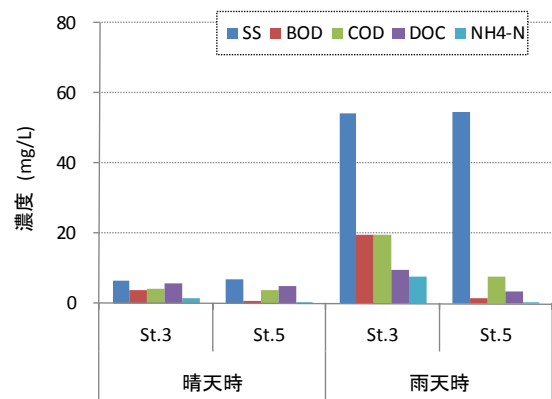


図 3.6 一般水質項目分析結果(平均値)

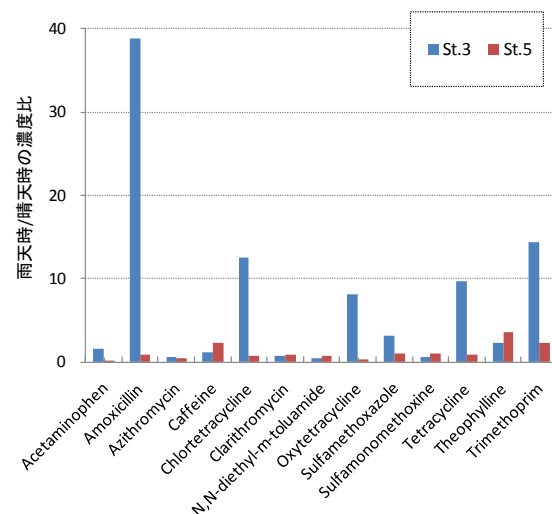


図 3.7 晴天時と雨天時の医薬品類濃度比較

表 3.5 晴天時・雨天時の医薬品類分析結果(平均値)

物質名	検出下限値 (ng/L)	St.3		St.5	
		晴天時	雨天時	晴天時	雨天時
Acetaminophen	0.4	2.9	4.6	1.4	0.1
Amoxicillin	0.9	17	650	3.8	3.4
Azithromycin	0.4	1.2	0.7	1.2	0.6
Caffeine	5.7	52	61	13	32
Chlortetracycline	1.9	42	530	6.1	4.7
Clarithromycin	1.7	17	12	15	13
N,N-diethyl-m-toluamide	0.2	3.0	1.3	1.4	1.1
Oxytetracycline	1.3	16	130	7.4	3.0
Sulfamethoxazole	1.5	7.1	23	0.8	0.8
Sulfamonomethoxine	1.8	8.4	5.3	0.9	0.9
Tetracycline	1.4	8.9	86	4.8	4.5
Theophylline	0.5	1.4	3.1	0.2	0.6
Trimethoprim	1.6	0.8	12	0.4	0.8

～ 39、動物用医薬品の Sulfamonomethoxine で 0.6 を示した。人用医薬品 6 物質と動物用医薬品 1 物質の雨天時／晴天時の濃度比は、ほぼ 0.5～2 の範囲であり晴天時、雨天時において大きな濃度変動は見られなかったが、人・動物両用医薬品 6 物質は 3 倍以上と雨天時において濃度上昇が著しく、なかでも Amoxicillin、Chlortetracycline、Oxytetracycline、Tetracycline、Trimethoprim の 5 物質は、約 10 倍あるいはそれ以上と大きな濃度上昇が見られた。前述した有機性汚濁物質同様、集水域に降雨により流出しやすい医薬品類が存在することが示された。集水域内を現地踏査したところ、いくつか養豚場の存在が確認されたが、これらが負荷源の一つである可能性がある。

St.5 では多くの物質において雨天時／晴天時の濃度比は 0.4～3.6 の範囲であり雨天時における大幅な濃度上昇は見られなかった。逆に Acetaminophen では晴天時の 1/10 以下を示したが、雨による希釈が一因と考えられる。

3.3.5 今後の展開と課題

晴天時と雨天時に医薬品類の実態把握調査を行いその流出特性を比較した。雨天時において晴天時の 10 倍あるいはそれ以上の濃度で流出する医薬品類がみられ、水環境中における医薬品類調査における雨天時調査の重要性が明らかになった。今後は、降雨による流出負荷量の把握など、更に詳しい調査を実施する予定である。

3.4 晴天時、雨天時の都市域小河川における医薬品類の存在実態

3.4.1 目的

近年、医薬品等 PPCPs の水環境汚染に関する調査・研究が数多く見られ、その汚染実態が明らかに

なりつつある。しかしながら、多くは晴天時の調査であり雨天時の実態については十分な情報が得られていない。本研究では、都市域の小河川において晴天時と雨天時に医薬品の実態把握調査を行いその流出実態の比較を行った。

3.4.2 対象医薬品及び分析方法

調査対象とした医薬品は、解熱鎮痛消炎剤、抗生物質等の人用医薬品 17 物質とした。医薬品（懸濁態＋溶存態）の分析方法は、小西ら²⁾の方法を参考に抽出・濃縮等の前処理を行った後、LC-MS/MSを用いて測定し絶対検量線法により定量した。

3.4.3 調査方法

調査地点は、千葉県手賀沼に流入する大津川の支川 2 ヶ所 (St.①、St.②) とした。各調査地点の集水面積は、St.① 4.1 km²、St.② 4.6 km²である。St.①、St.②の集水域の土地利用は、それぞれ一般住宅地区が 36%、38%、文教地区、空き地、人口林等が 54%、56%を占める都市域である。また、下水道普及率は、74%、31%である。調査は、2008 年 7 月～12 月の晴天時に 6 回、雨天時に 4 回行った。SS、BOD、COD、DOC、NH₄-N分析用試料、医薬品分析用試料の採取と試料採取時に流量観測を行った。

3.4.4 調査結果と考察

晴天時の平均流量は、St.① 0.09 m³/sec、St.② 0.23 m³/sec、また、雨天時の平均流量は、St.① 0.24 m³/sec、St.② 0.42 m³/secであり、晴天時の 2.7 倍 (St.①)、1.8 倍 (St.②) であった。SS、BOD、COD、DOC、NH₄-Nの分析結果を図 3.8 に示す。各項目の雨天時／晴天時の濃度比は、St.①ではSS (18 倍)、BOD (2.6 倍)、COD (1.9 倍)、NH₄-N (1.5 倍)、また、St.②ではSS (7.7 倍)、BOD (2.8 倍)、COD (2.2 倍)、NH₄-N (1.7 倍) であった。一方、DOCはSt.①、St.

②とも 0.8 倍であり、晴天時に比べ雨天時に低い値を示した。降雨により希釈されたものと考えられる。

晴天時、雨天時の医薬品分析結果を表 3.6、雨天時／晴天時の濃度比を図 3.9 に示す。既報¹⁴⁾の農村地域の小河川において行った同様の調査では、特定の汚濁源が原因と思われる流出により雨天時に晴天時の 10 倍以上の濃度で検出される医薬品が見られたが、本調査の都市域の小河川では調査医薬品 17 物質中多くの医薬品濃度は、雨天時においても晴天時とほぼ同じ値を示し、diclofenac sodium、dipyridamole、furosemide の 3 物質が雨天時において晴天時の 2～3 倍の値を示した。これら 3 物質の負荷源として特定の施設の存在が見あたらないことから、今後更に詳しい調査が必要である。

3.4.5 まとめと今後の展開

都市域の小河川において晴天時と雨天時に医薬品の実態把握調査を行いその流出実態の比較を行ったところ、調査医薬品 17 物質中多くの医薬品濃度は、雨天時においても晴天時とほぼ同じ値を示し、3 物質が雨天時において晴天時の 2～3 倍の値を示した。今後は、雨天時における医薬品流出特性についても詳細な調査が必要である。

3.5 湖沼流入河川の医薬品負荷量と湖沼内の医薬品濃度の関係

3.5.1 目的

本研究では、湖沼に流入する河川と湖沼内の医薬品の医薬品濃度の関係把握を目的とし、実態調査を実施した。

3.5.2 試料採取地点

試料の採取地点は、面積 36 km²の湖沼内で 3 ケ所とその流入河川 24 ケ所、合計 27 ケ所で試料を採取した (図 3.10)。2010 年 1 月 19 日に試料のスポット採取と流量観測を行った。試料採取時の流量を図 3.10 の () 内に示した。

3.5.3 調査対象物質および分析方法

調査対象医薬品は、解熱鎮痛消炎剤、抗生物質等の 8 物質 (表-3.7 参照) で、分析は、既報^{15),16)}と同じ抽出・濃縮等の前処理後、LC-MS/MSを用いて測定し絶対検量線法により定量した。

3.5.4 調査結果と考察

各地点における医薬品 8 物質の分析結果から、crotamiton を例として各流入河川水の濃度と負荷量を図 3.11、図 3.12 に示す。流入河川水の濃度は、流入河川⑨が最も高く 160 ng/L で、次に追加調査地点の E が 110 ng/L であった。しかし負荷量では、①が

表 3.6 晴天時、雨天時の医薬品分析結果 (平均値、ng/L)

物質名	検出 下限値	St.①		St.②	
		晴天時	雨天時	晴天時	雨天時
Acetaminophen	0.4	100	100	89	75
Azithromycin	0.4	5.1	4.9	8.5	6.9
Bezafibrate	1.2	96	41	55	38
Caffeine	5.7	680	910	1500	1400
Carbamazepine	0.2	4.2	2.9	43	39
Clarithromycin	1.7	54	50	92	79
Crotamiton	1.5	36	30	120	87
Diclofenac sodium	0.6	3.8	9.6	11	14
Dipyridamole	1.5	10	23	11	39
Furosemide	0.6	4.5	13	7.6	17
Ibuprofen	0.3	12	15	24	24
Indomethacin	0.7	11	6.6	40	26
N,N-diethyl-m-toluamide	0.2	71	100	230	130
Phenobarbital	4.8	9.3	10	99	91
Phenytoin	0.8	2.7	3.2	7.1	5.9
Sulpiride	2.3	65	43	580	500
Theophylline	0.5	43	41	47	44

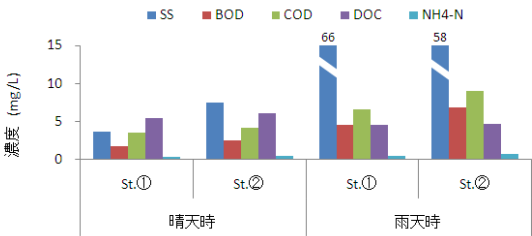


図 3.8 一般水質項目分析結果 (平均値)

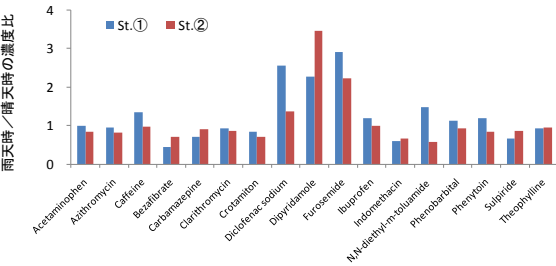
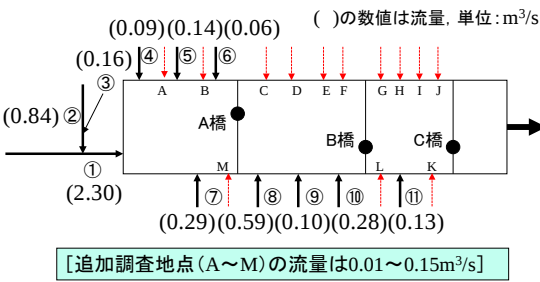


図 3.9 晴天時と雨天時の医薬品濃度比較



最も大きく 110 $\mu\text{g/s}$ 、次に、②17 $\mu\text{g/s}$ 、⑨16 $\mu\text{g/s}$ であり、この 3 河川で全体負荷量の概ね 70%を占めていた。また、調査流入河川の負荷量から流入平均濃度を算出し、湖沼内 3 地点の濃度とともに、図 3.13 に示した。負荷量から算出した平均濃度 32 ng/L に対し湖沼内の濃度は、A 橋 (20 ng/L)、B 橋 (10 ng/L)、C 橋 (14 ng/L) であり、湖沼内での減少がみられた。

他の 7 物質についても負荷量から平均濃度を算出し、湖沼内濃度と合わせ表 3.7 に示した。Crotamiton と同様の傾向を示すものの他、Theophylline、*N,N*-diethyl-*m*-toluamide 等、負荷量から求めた平均濃度 (計算値) に比べ湖沼内の濃度が高い傾向を示すものもあり、晴天時の河川流入負荷だけでは湖沼流入負荷全体の把握が困難であることが示された。

3.5.5 まとめと今後の展開

湖沼流入河川の医薬品負荷量から算出した流入河川の平均濃度と湖沼内の医薬品濃度を比較したところ、負荷量から求めた平均濃度に比べ湖沼内の濃度が高い傾向を示すものもみられ、晴天時の河川流入負荷だけでは湖沼流入負荷全体の把握が困難である

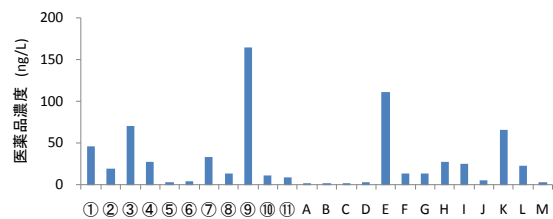


図 3.11 各試料の Crotamiton 濃度

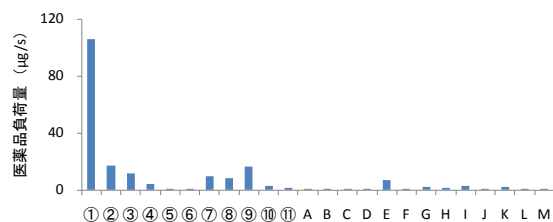


図 3.12 各試料の Crotamiton 負荷量

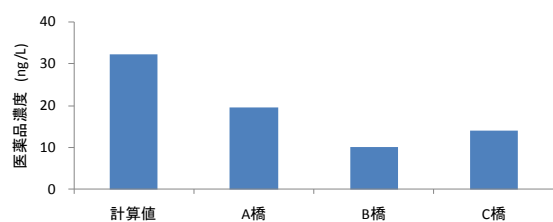


図 3.13 流入負荷から算出した Crotamiton 濃度と湖内濃度

表 3.7 負荷量から求めた濃度と実測値 (ng/L)

物質名	計算値	A橋	B橋	C橋
Clarithromycin	4.6	N.D.	N.D.	N.D.
Crotamiton	32	20	10	14
<i>N,N</i> -diethyl- <i>m</i> -toluamide	3.2	3.6	5.8	8.2
Indomethacin	3.2	0.5	N.D.	N.D.
Theophylline	7.5	8.5	6.7	9.2
Amoxicillin	0.7	15	N.D.	22
Griseofulvin	0.2	0.3	0.4	0.4
Caffeine	154	91	30	52

ことが示された。今後は、雨天時の流入負荷も合わせて調査し考察する必要がある。

4. 水環境における医薬品類の生態影響評価

4.1 目的

近年、水環境中に存在する微量汚染物質、特にその使用目的から生理活性を有する医薬品類について、水生生態系に対する影響が懸念されている。しかし、水生生物に対する医薬品類の影響については、十分明らかにされていない。

本研究では、生態リスク評価の検討に資することを目的として、水環境中において存在が確認されている様々な医薬品類を対象に、複数種の水生生物を用いてバイオアッセイを実施し、生態毒性データを把握した。さらに、国内外の報告と併せて医薬品類の生態毒性情報を整理し、水環境中の存在実態と比較することで環境リスク初期評価を行った。

4.2 医薬品類のバイオアッセイ

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、51 物質を選定した。

各医薬品類について、working solution として 10000 mg/L の DMSO 溶液を調製した後、適宜希釈して試験に用いた。各試験においては、ばく露溶液中の DMSO 濃度が 0.1%を超えないように最大ばく露濃度を 10 mg/L 以下に設定し、公比 2 で等比級数的に希釈した試験系列を作成して試験を行った。各試験系において、DMSO の無影響濃度が 0.1%以上であることを、事前試験により確認している。

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* を使用する市販の試験システム Microtox® (Strategic Diagnostics, Inc.) 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ルに従い、ばく露時間 5 分及び 15 分における半数影響濃度 (EC_{50}) を附属

の計算ソフトにより求めた。

4.2.2 藻類による試験

96 ウェルマイクロプレート培養容器とし、吸光度から細胞濃度を求めるHarada *et al.*¹⁷⁾の手法を参考に、藻類生長阻害試験を行った。被験生物には、OECD化学品テストガイドラインNo.201¹⁸⁾の推奨種となっている、単細胞緑藻 *Pseudokirchneriella subcapitata* (NIES-35 株) を、試験培地にはAAP培地¹⁸⁾を用いた。1 試料に対して 1 枚の 96 ウェルマイクロプレート (Falcon 96-well Microtest™ Plate, Tissue-culture treated, flat bottom; Becton Dickinson, Inc.) を用い、2 倍希釈 10 段階 5 連、初期生物量 1×10^4 cells/mL の試験系列を作成した。試験条件は、温度 24°C、照度 4000 Lux、振とう速度 120 rpm とし、24 時間毎にマイクロプレートリーダー (WALLAC ARVO SX-1420, Perkin Elmer, Inc.) を用いて、各ウェルの吸光度 (波長: 450 nm) を測定した。毒性値の算出にはEcoTox-Statics Ver.2.6d¹⁹⁾を用い、0-72 時間の生長速度とばく露濃度の関係から、probit法により EC₅₀ 及び最大無影響濃度 (NOEC) を求めた。

4.2.3 甲殻類による試験

供試生物としてオオミジンコ *Daphnia magna* を使用する市販の毒性試験キット DAPHTOXKIT F™ magna (MicroBioTests Inc.) を用いて、ミジンコ急性遊泳阻害試験を行った。試験は添付のプロトコルに従い、孵化後 24 時間以内の *D. magna* (20 個体/各試験区) を試験溶液にばく露し、24 時間毎に遊泳阻害個体数を観察して、48 時間後の試料濃度と阻害率の関係から EC₅₀ を求めた。

4.2.4 両生類による試験

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²⁰⁾ を一部改変して 24 ウェルマイクロプレートでばく露する方法で行った。胞胚期になった胚を 24°C で 96 時間ばく露し、死亡及び奇形について観察した。本試験においては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

供試生物として絨毛虫の *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、

ばく露後 24 時間毎に吸光度を測定し、吸光度から個体数を求める方法で行った。0-72 時間の個体数の変化から増殖阻害率を計算して、ばく露濃度との関係から EC₅₀ 及び NOEC を求めた。

4.2.6 結果

各バイオアッセイにより得られた結果を、表 4.1 に示す。51 物質中、*P. subcapitata* では 36 物質、*V. fischeri* では 28 物質、*T. pyriformis* では 25 物質、*X. laevis* では 16 物質、*D. magna* では 12 物質について、毒性値 (EC₅₀、LC₅₀ または NOEC) が算出され、藻類生長阻害試験における検出率が最も高い結果となった。また、医薬品類に対する各生物種の感受性の比較においても、抗生物質や殺菌剤を中心に、*P. subcapitata* に対して最も強い毒性を示す物質が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討するうえで、藻類生長阻害試験がスクリーニング的に活用できる可能性が示された。ただし、各生物種に対する毒性の分布は物質により異なり、他の生物種に対して最も強い毒性を示した医薬品類もあることから、生態系に対する医薬品類の影響を詳細に検討する際には、複数の生物種を用いた試験を行う必要があると考えられる。

4.3 予測無影響濃度 (PNEC) の算出

4.2 で把握した毒性情報に加えて、医薬品類の生態毒性情報について文献調査を行い、医薬品類 122 物質について、藻類、甲殻類、魚類などの水生生物に対する毒性情報を得た。得られた医薬品類の生態毒性に基づき、環境中の生物に対して有害な影響を及ぼさないと予想される濃度である、予測無影響濃度 (Predicted No Effect Concentration: PNEC) を算出した。PNEC の算出方法については、「化学物質の環境リスク初期評価ガイドライン」²¹⁾ を参考に、藻類、甲殻類、魚類の生物群ごとに急性毒性値および慢性毒性値のそれぞれについて整理した上で、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適用して算出された 2 つの値のうち小さい方の値を当該物質の PNEC とした。

結果を表 4.2 に示す。PNEC の値は 0.002 µg/L ~ 2500 µg/L と広い範囲を示した。特に抗生物質・合成抗菌剤は、Amoxicillin (0.0022 µg/L) や Spiramycin (0.005 µg/L) をはじめ多くの物質で低い値の PNEC となり、その他、殺菌剤の Triclosan (0.002 µg/L) や Triclocarban (0.017 µg/L)、非選択性 β 遮断剤の Propranolol (0.01 µg/L)、抗うつ剤の Sertraline (0.012 µg/L) 等も低い PNEC となった。

表 4.1 本研究で実施した医薬品類 51 物質の生態毒性試験結果

	<i>V. fischeri</i> Microtox® 15min EC50	<i>P. subcapitata</i> growth inhibition 72 or 96hr EC50 NOEC		<i>D. magna</i> immobility 48hr EC50	<i>X. laevis</i> FETAX 96hr LC50	<i>T. pyriformis</i> growth inhibition 72hr EC50 NOEC	
Acetazolamide	n.e.	1.4	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Amitriptyline	1200.	0.19	0.041	1.3	3.5	3.1	1.3
Atenolol	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Azithromycin	n.e.	0.019	0.0052	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Bezafibrate	n.e.	n.e.	1.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Bromisoval	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	--	--	--
Caffeine	320.	15.	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Carbamazepine	56.	49.	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Chloramphenicol	n.e.	0.21	0.041	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Chlorpromazine	1.7	0.27	0.024	22.	1.9	1.	0.16
Clarithromycin	n.e.	0.012	0.0052	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Crotamiton	95.	3.5	2.1	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
DEET	49.	4.1	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Dexamethasone	560.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Dextromethorphan	82.	0.58	0.016	12.	n.e.	84.	2.5
Diclofenac	22.	5.	0.52	n.e.	n.e.	5.3	0.31
Diltiazem	n.e.	4.5	0.52	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Diphenidol	180.	0.75	0.041	n.e.	n.e.	39.	2.5
Dipyridamole	n.e.	10.	1.6	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Disopyramide	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	--	--	--
Ethenzamide	24.	3.7	2.1	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Fenoprofen	11.	5.7	2.1	n.e.	n.e.	17.	5.
Flufenamic acid	14.	1.1	0.14	4.1	6.3	1.4	0.31
Furosemide	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Haloperidol	18.	0.41	<1.6E-2	6.3	3.6	4.	0.63
Ibuprofen	12.	2.3	0.52	n.e.	n.e.	4.1	0.63
Ifenprodil	n.e.	5.9	0.31	n.e.	--	--	--
Imipramine	9.	0.15	0.024	4.9	3.5	4.1	1.3
Indometacin	13.	100.	8.3	n.e.	--	--	--
Ketoprofen	23.	2.	1.	2.8	n.e.	n.e.	n.e.
Levofloxacin	n.e.	1.5	0.26	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Mefenamic acid	27.	5.4	2.1	n.e.	5.2	1.1	0.039
Metoclopramide	n.e.	7.7	1.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Nalidixic acid	n.e.	n.e.	n.e.	9.3	n.e.	n.e.	n.e.
Naproxen	17.	3.7	0.52	n.e.	n.e.	8.9	0.31
Novobiocin	56.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Phenytoin	92.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	21.	5.
Pirenzepine	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Primidone	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Promethazine	12.	0.32	0.041	4.3	2.7	4.	0.63
Quinoxaline	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
-2-carboxylic acid	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Sotalol	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Sulfamethoxazole	n.e.	0.98	0.31	n.e.	--	--	--
Sulpiride	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Thiamphenicol	50.	14.	8.3	n.e.	--	--	--
Thymol	2.1	1.7	0.52	6.1	n.e.	9.9	0.31
Tolbutamide	1.6	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.
Tolperisone	56.	0.63	0.041	4.	18.	16.	5.
Triclosan	0.53	0.012	0.0083	0.26	0.82	0.63	0.25
Trimethoprim	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	--	--	--
Verapamil	n.e.	3.3	0.39	n.e.	n.e.	8.8	0.31

-- は試験未実施を、n.e.は試験範囲で影響が見られなかったことを意味する。

表 4.2 水生生物に対する医薬品類の予測無影響濃度 (PNEC)

	CAS No.	主な薬効・用途	生態毒性データの有無						PNEC(ug/L)
			Algae		Crustacea		Fish		
			acute	chronic	acute	chronic	acute	chronic	
Acetazolamide	59-66-5	緑内障治療薬	○	○	(○)	×	×	×	1.4
Amitriptyline	50-48-6	精神賦活薬	○	○	○	×	×	×	0.19
Amoxicillin	26787-78-0	ペニシリン系抗菌薬	○	○	(○)	×	×	×	0.0022
Ampicillin	69-53-4	ペニシリン系抗菌薬	○	○	(○)	×	×	×	31.
Aspirin	50-78-2	抗血栓薬, 鎮痛薬	○	×	○	×	×	×	88.1
Atenolol	29122-68-7	ベータ遮断薬	○	(○)	○	×	(○)	×	> 100.
Azithromycin	83905-01-5	マクロライド系抗菌薬	○	○	(○)	×	×	×	0.019
Benzylpenicillin	61-33-6	ペニシリン系抗菌薬	○	○	×	×	×	×	0.006
Bezafibrate	41859-67-0	脂質修飾剤	(○)	○	○	×	×	×	10.
Bromisoval	496-67-3	精神抑制薬	(○)	(○)	(○)	×	×	×	> 100.
Caffeine	58-08-2	精神賦活薬	○	○	(○)	×	×	×	5.2
Carbadox	6804-07-5	合成抗菌剤	○	○	×	×	×	×	1.6
Carbamazepine	298-46-4	抗てんかん薬	○	○	○	×	○	×	5.2
Cefazolin sodium	27164-46-1	セフェム系抗菌薬	(○)	○	×	×	×	×	500.
Ceftiofur	80370-57-6	セフェム系抗菌薬	○	○	×	×	×	×	36.
Chloramphenicol	56-75-7	アンフェニコール系抗菌薬	○	○	(○)	×	×	×	0.21
Chlorpromazine	50-53-3	精神抑制薬	○	○	○	×	×	×	0.24
Chlortetracycline	57-62-5	テトラサイクリン系抗菌薬	○	○	○	×	○	×	0.02
Cimetidine	51481-61-9	胃酸抑制薬	×	×	○	×	(○)	×	379.9
Ciprofloxacin	85721-33-1	フルオロキノロン系抗菌薬	○	○	(○)	×	×	(○)	0.017
Citalopram	59729-33-8	精神賦活薬	×	×	○	○	×	×	3.9
Clarithromycin	81103-11-9	マクロライド系抗菌薬	○	○	○	○	(○)	×	0.02
Clenbuterol	37148-27-9	閉塞性気道障害用薬	○	○	×	×	×	×	1.6
Cinafloxacin	105956-97-6	フルオロキノロン系抗菌薬	○	×	(○)	×	×	○	0.103
Clofibrate	637-07-0	脂質修飾剤	×	×	×	×	○	×	0.89
Clofibric acid	882-09-7	Clofibrate等代謝物	○	○	○	○	○	×	6.4
Crotamiton	483-63-6	鎮痒剤	○	○	(○)	×	×	×	3.5
Cyclophosphamide	50-18-0	抗悪性腫瘍薬	(○)	○	×	○	×	×	> 100.
Dexamethasone	50-02-2	副腎皮質ステロイド	(○)	(○)	(○)	×	×	×	0.
Dextromethorphan	125-71-3	鎮咳剤	○	○	○	×	×	×	0.16
Diclofenac	15307-86-5	抗炎症及び抗リウマチ製剤	○	○	○	○	×	×	5.
Diethyltoluamide	134-62-3	外部寄生虫忌避剤	○	○	○	×	○	×	5.2
Dihydrostreptomycin	128-46-1	アミノグリコシド系抗菌薬	○	(○)	×	×	×	×	0.
Diltiazem	42399-41-7	カルシウムチャネル遮断薬	○	○	○	×	○	×	5.2
Diphenidol	972-02-1	鎮暈剤	○	○	(○)	×	×	×	0.41
Dipyridamole	58-32-2	抗血栓薬	○	○	(○)	×	×	×	10.
Disopyramide	3737-09-5	心疾患治療	○	○	(○)	×	(○)	×	63.
Doxycycline	564-25-0	テトラサイクリン系抗菌薬	○	○	×	×	×	×	0.2
Enrofloxacin	93106-60-6	動物用合成抗菌剤	○	○	○	○	○	(○)	0.49
Erythromycin	114-07-8	マクロライド系抗菌薬	○	○	○	×	(○)	×	0.103
Ethenzamide	938-73-8	鎮痛薬	○	○	(○)	×	×	×	3.7
Fenofibrate	49562-28-9	脂質修飾剤	○	○	○	×	×	×	19.84
Fenoprofen	31879-05-7	抗炎症及び抗リウマチ製剤	○	○	(○)	×	×	×	5.7
Florfenicol	73231-34-2	動物用合成抗菌剤	○	×	×	×	×	×	6.06
Fluconazole	86386-73-4	全身用抗真菌薬	×	×	(○)	×	(○)	×	> 100.
Flufenamic acid	530-78-9	抗炎症及び抗リウマチ製剤	○	○	○	×	×	×	1.1
Flumequine	42835-25-6	フルオロキノロン系抗菌薬	○	×	(○)	×	×	(○)	0.159
Fluoxetine	54910-89-3	精神賦活薬	○	×	○	○	○	×	0.24
Fluvoxamine	54739-18-3	精神賦活薬	○	×	○	○	×	×	0.84
Furosemide	54-31-9	利尿薬	(○)	(○)	(○)	×	×	×	0.
Gemfibrozil	25812-30-0	脂質修飾剤	○	○	○	×	×	×	15.19
Haloperidol	52-86-8	精神抑制薬	○	○	○	×	×	×	0.16

O ; 毒性値データあり, (O) ; 範囲で示された毒性値データあり, X ; 毒性値データなし

表 4.2 水生生物に対する医薬品類の予測無影響濃度（PNEC）（続き）

	CAS No.	主な薬効・用途	生態毒性データの有無						PNEC(ug/L)
			Algae		Crustacea		Fish		
			acute	chronic	acute	chronic	acute	chronic	
Ibuprofen	15687-27-1	抗炎症及び抗リウマチ製剤	○	○	○	×	○	×	130.
Ifenprodil	23210-56-2	末梢血管拡張薬	○	○	○	×	○	×	0.39
Imipramine	50-49-7	精神賦活薬	○	○	○	×	×	×	0.15
Indometacin	53-86-1	抗炎症及び抗リウマチ製剤	○	○	○	×	○	×	83.
Iopromide	73334-07-3	造影剤	(○)	×	(○)	×	(○)	×	> 1000.
Ketoprofen	22071-15-4	抗炎症及び抗リウマチ製剤	○	○	○	×	×	×	0.16
Levofloxacin	100986-85-4	フルオロキノロン系抗菌薬	○	○	(○)	○	(○)	(○)	0.079
Lincomycin	154-21-2	リンコサミド系抗菌薬	○	○	○	×	(○)	×	0.078
Lomefloxacin	98079-51-7	フルオロキノロン系抗菌薬	○	×	(○)	×	×	(○)	0.186
Mefenamic acid	61-68-7	抗炎症及び抗リウマチ製剤	○	○	○	×	○	×	21.
Metformin	657-24-9	血糖値降下薬	(○)	×	○	×	×	×	64.
Methotrexate	59-05-2	抗悪性腫瘍薬, 免疫抑制薬	○	×	×	×	○	×	85.
Metoclopramide	364-62-5	機能的胃腸疾患用薬	○	○	(○)	×	×	×	7.7
Metoprolol	51384-51-1	ベータ遮断薬	○	○	○	×	(○)	×	3.1
Metronidazole	99616-64-5	抗菌薬, 抗原虫薬	×	×	×	○	×	×	2500.
Nadolol	42200-33-9	ベータ遮断薬、非選択型	×	×	(○)	×	(○)	×	> 100.
Nalidixic acid	389-08-2	キノロン系抗菌薬	(○)	(○)	○	×	×	×	9.3
Naproxen	22204-53-1	抗炎症及び抗リウマチ製剤	○	○	○	×	×	×	3.7
Neomycin	1404-04-2	アミノグルコシド系抗菌薬	×	×	○	○	○	×	0.3
Nicarbazin	330-95-0	動物用抗原虫剤	○	○	×	×	×	×	1.6
Nizatidine	76963-41-2	H2受容体拮抗薬	×	×	○	×	×	×	1000.
Norfloxacin	70458-96-7	精神賦活薬	○	○	×	×	×	×	10.4
Novobiocin	303-81-1	動物用抗生物質	(○)	(○)	(○)	×	×	×	> 10.
Ofloxacin	82419-36-1	フルオロキノロン系抗菌薬	○	×	○	×	(○)	(○)	0.21
Oxolinic acid	14698-29-4	動物用合成抗菌剤	○	×	○	○	×	×	0.18
Oxytetracycline	79-57-2	テトラサイクリン系抗菌薬	○	○	○	×	○	×	1.6
Paracetamol	103-90-2	鎮痛薬	○	(○)	○	×	○	×	301.
Paroxetine	61869-08-7	精神賦活薬	×	×	○	○	×	×	0.51
Phenazone	60-80-0	鎮痛薬	(○)	○	(○)	○	(○)	×	100.
Phenobarbital	50-06-6	抗てんかん薬	(○)	○	(○)	○	(○)	×	310.
Phenytoin	57-41-0	抗てんかん薬	(○)	(○)	(○)	×	×	×	> 10.
Pirenzepine	28797-61-7	胃酸抑制薬	(○)	(○)	(○)	×	×	×	> 10.
Primidone	125-33-7	抗てんかん薬	(○)	(○)	(○)	×	×	×	> 10.
Promethazine	60-87-7	抗ヒスタミン剤	○	○	○	×	×	×	0.32
Propranolol	525-66-6	ベータ遮断薬	○	○	○	○	○	×	0.01
Propyphenazone	479-92-5	鎮痛薬	○	○	×	×	×	×	5.2
Quinoxaline -2-carboxylic acid	879-65-2	Carbadox 代謝物	○	○	(○)	×	×	×	32.
Roxithromycin	80214-83-1	マクロライド系抗菌薬	○	○	×	×	×	×	0.047
Salicylic acid	69-72-7	抗真菌薬, 抗炎症薬	(○)	×	○	×	○	×	370.
Sarafloxacin	98105-99-8	キノロン系合成抗菌剤	○	×	×	×	×	×	16.
Sertraline	79617-96-2	精神賦活薬	○	○	○	○	×	×	0.0121
Simvastatin	79902-63-9	脂質修飾剤	○	×	○	×	○	×	11.8
Sotalol	3930-20-9	ベータ遮断薬	(○)	(○)	(○)	×	×	×	> 10.
Spiramycin	8025-81-8	マクロライド系抗菌薬	○	×	×	×	×	×	0.005
Streptomycin	57-92-1	アミノグルコシド系抗菌薬	×	×	○	×	×	×	540.
Sulfachlorpyridazine	80-32-0	スルホンアミド系抗菌薬	○	○	○	×	○	×	0.78
Sulfadiazine	68-35-9	スルホンアミド系抗菌薬	○	(○)	○	×	×	×	0.135
Sulfadimethoxine	122-11-2	スルホンアミド系抗菌薬	○	○	○	×	(○)	×	5.29
Sulfadimidine	57-68-1	スルホンアミド系抗菌薬	○	○	○	(○)	(○)	×	6.3
Sulfaguandine	57-67-0	スルホンアミド系抗菌薬	×	×	○	×	×	×	3.86
Sulfamerazine	127-79-7	スルホンアミド系抗菌薬	○	○	○	×	(○)	×	0.78
Sulfamethizol	144-82-1	スルホンアミド系抗菌薬	○	○	×	×	×	×	1.8

○；毒性値データあり，(○)；範囲で示された毒性値データあり，X；毒性値データなし

表 4.2 水生生物に対する医薬品類の予測無影響濃度（PNEC）（続き）

	CAS No.	主な薬効・用途	生態毒性データの有無						PNEC(ug/L)
			Algae		Crustacea		Fish		
			acute	chronic	acute	chronic	acute	chronic	
Sulfamethoxazole	723-46-6	スルホンアミド系抗菌薬	○	○	○	×	○	×	1.6
Sulfamonomethoxine	1220-83-3	スルホンアミド系抗菌薬	○	○	×	×	×	×	0.57
Sulfaquinoxaline	59-40-5	スルホンアミド系抗菌薬	×	×	○	×	×	×	131.
Sulfathiazole	72-14-0	スルホンアミド系抗菌薬	○	○	○	○	(○)	×	7.8
Sulpiride	15676-16-1	精神抑制薬	(○)	(○)	(○)	×	×	×	> 10.
Tamoxifen	10540-29-1	抗エストロゲン薬	×	×	○	×	×	×	0.4
Tetracycline	60-54-8	テトラサイクリン系抗菌薬	○	○	×	×	×	×	0.09
Theophylline	58-55-9	気管支拡張剤	(○)	○	×	×	×	×	> 100.
Thiamphenicol	15318-45-3	アンフェニコール系抗菌薬	○	○	(○)	×	×	×	2.
Thymol	89-83-8	医薬品保存剤	○	○	○	○	○	×	5.2
Tolbutamide	64-77-7	血糖値降下薬	(○)	(○)	(○)	×	×	×	> 10.
Tolperisone	728-88-1	筋弛緩薬	○	○	○	×	×	×	0.41
Triclocarban	101-20-2	殺菌剤	○	(○)	×	×	×	×	0.017
Triclosan	3380-34-5	殺菌剤	○	○	○	×	○	×	0.002
Trimethoprim	738-70-5	抗菌剤	○	○	○	○	(○)	×	60.
Tylosin	1401-69-0	マクロライド系抗生物質	○	○	○	○	×	×	0.034
Vancomycin	1404-90-6	グリコペプチド系抗菌薬	(○)	○	×	×	×	×	7.8
Verapamil	52-53-9	カルシウムチャネル遮断薬	○	○	(○)	×	×	×	3.3

O；毒性値データあり，(O)；範囲で示された毒性値データあり，X；毒性値データなし

4.4 河川における医薬品類の生態リスク評価

4.3 でPNECを整理した医薬品類について、ガイドライン²¹⁾を参考に、ハザード比（Hazard Quotient: HQ）を計算し、生態リスク評価を行った。

$HQ = MEC / PNEC$

HQ: Hazard Quotient
MEC: Measured Environmental Concentration
PNEC: Predicted No Effect Concentration

環境中濃度（MEC）には、本研究で把握してきた河川中濃度（大津川²²⁾、銚田川⁵⁾、多摩川（未発表））、及び文献値（利根川流域⁶⁾）の最大値を用いた。ガイドライン²¹⁾では、HQが1以上の場合は「詳細な評価を行う候補と考えられる」、0.1以上1未満の場合は「情報収集に努める必要があると考えられる」という評価分類になっている。本検討においては、66物質についてHQが算出され、HQ≥10が3物質（Amoxicillin、Clarithromycin、Triclosan）、10>HQ≥1が4物質（Azithromycin、Caffeine、Chlortetracycline、Erythromycin）、1>HQ≥0.1が6物質（Crotamiton、Ketoprofen、Levofloxacin、Propranolol、Sulfamethoxazole、Sulfamonomethoxine）、その他53物質は0.1未満であった。HQが0.1以上であった13物質を、図4.1に示す。特に、殺菌薬のTriclosan

（HQ=68）、抗生物質のAmoxicillin（HQ=50）、Clarithromycin（HQ=14）は、HQが10以上と大きく、生態影響が懸念される。また、HQが0.1以上となった13物質の薬効用途は、Caffeine（興奮剤、強心剤）、Crotamiton（鎮痒剤）、Ketoprofen（抗炎症剤）、Propranolol（非選択性β遮断剤）、Triclosan（殺菌薬）、その他8物質が抗生物質、合成抗菌剤である。

これらの医薬品類については、水環境中での生態リスクを詳細に評価するため、存在実態・挙動の調査をより進める必要がある。

4.5 まとめと今後の課題

本研究では、医薬品類の生態影響について、複数種を用いたバイオアッセイを行うとともに、文献調

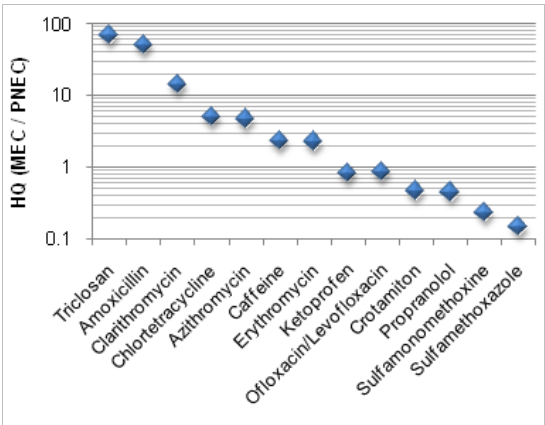


図 4.1 河川における医薬品類のハザード比

査を行い、生態毒性データの収集を行い、122 物質について予測無影響濃度 PNEC を算出した。その結果、医薬品類の中には、水生生物に対して毒性を示す物質が含まれており、中でも、Amoxicillin や Spiramycin など多くの抗生物質、合成抗菌剤や、Triclosan、Triclocarban 等の殺菌剤は、PNEC が 0.01 µg/L 程度と強い毒性を示すことが確認された。また、複数の生物種の中で藻類に対して特に強い毒性を示す医薬品が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討する際のスクリーニングとして、藻類生長阻害試験が活用できる可能性が示された。

また、医薬品類の河川中濃度と PNEC を用いて生態リスク初期評価を行った結果、7 物質でハザード比 HQ が 1 以上となり、「詳細な評価を行う候補と考えられる」と判定された。特に、抗生物質の Amoxicillin、Clarithromycin、殺菌薬の Triclosan は HQ が 10 以上と大きな値を示した。1>HQ≥0.1 となった 6 物質を含め、水環境中での存在実態・挙動の調査を進め、より詳細な生態リスク評価を行う必要があると考えられる。

また、各生物種の感受性については、藻類に対して強い毒性を示す物質が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討するうえで、藻類生長阻害試験がスクリーニング的に活用できる可能性が示された。ただし、生態系に対する医薬品類の影響を詳細に検討する際には、複数の生物種を用いた試験を行う必要があると考えられる。

一方、魚類に対する毒性情報は、試験実施の困難さや生命倫理の観点等から依然として少なく、特に慢性的な影響に関する知見は極めて限られている。今後は、分子生命学的手法の活用などにより、この分野の知見を充実させることが必要だと考えられる。また、今回毒性情報を整理できた物質は、数千種類以上存在する医薬品類の一部に過ぎない。これら膨大な種類の医薬品類全てについて、バイオアッセイを実施して水生生物に対する生態毒性を把握することは現実的ではないことから、医薬品類のように様々な作用機序を持つ物質に適用可能な、スクリーニング手法や毒性予測手法の開発が求められる。

5. バイオアッセイによる環境水の生態影響評価

5.1 目的

水環境中では、多種の医薬品類が同時に存在しているのに加え、内分泌かく乱物質、界面活性剤、重

金属など、様々な生理活性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合せで長期間ばく露されており、そ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、バイオアッセイにより毒性を評価するとともに、医薬品類による影響について検討を行った。

5.2 調査地点

関東地方及び四国地方の複数の河川及び小水路に調査地点を 54 地点設定し、各地点から 1~3 回、延べ 97 試料を採取した。これらの調査地点には、未処理生活排水や畜産施設の排水、下水処理水等、異なる負荷源の影響を受ける地点が含まれている。

5.3 調査方法

5.3.1 バイオアッセイ

本検討では、4.2 で述べたバイオアッセイのうち、多くの医薬品類に対して高い感受性を示した藻類生長阻害試験（4.2.2）を行った。

わが国の河川においては、生態毒性は比較的低い地点が多く、短期間のバイオアッセイにおいて明らかな影響が検出されることは少ない。また、特に藻類生長阻害試験においては、河川水中に存在する窒素やりん等の栄養塩類の濃度が、毒性値に影響することが知られており²³⁾、毒性がマスキングされてしまう可能性がある。本研究においても、前処理を行わない場合に、有意な影響を示した試料は無かった。

そこで本検討では、固相抽出による前処理を行った。この手法により、対象が固相に吸着、脱離される物質群に限定されるものの、原水より濃縮された状態でのばく露が可能となり、通常では明確にならない毒性を検出することが可能となる。固相カートリッジには、OASIS® HLB Plus (Waters Corp.) を使用し、GF/B (Whatman, Inc.) で濾過した 1000 mL 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 100 µL の DMSO に再溶解することで濃縮試料（原水の 10000 倍濃度）を得た。濃縮試料は、ばく露溶液中の DMSO 濃度が 0.1% を超えないように最大ばく露濃度を原水の 10 倍以下に設定し、公比 2 で等比級数的に希釈した試験系列を作成して試験を行った。

5.3.2 藻類に対する毒性と水質の比較

生長阻害が検出された試料について、毒性単位 (Toxicity Unit: TU=1/EC₅₀) と水質及び医薬品類の生態リスクとの比較を行った。TU は、毒性が強いほど値が大きくなる。また、医薬品類については、4.4

でHQが 0.1 以上と評価された 13 物質のうち、分析を行った 10 物質（Amoxicillin、Erythromycin、Propranolol以外）を対象に総リスクを評価した。本検討においては、各物質のハザード比HQの和(ΣHQ)を医薬品 10 物質の総リスクとみなした。さらに、バイオアッセイで用いた生物種の *P. subcapitata* に対する EC_{50} の値を用いて、アセスメント係数を含まない評価値 ($\Sigma(MEC/EC_{50})$) も算出した。 $\Sigma(MEC/EC_{50})$ は、*P. subcapitata* の半数生長阻害濃度に対するばく露マージン (MOE: Margin of Exposure) の逆数にあたる。

5.4 結果

試験を行った 97 試料のうち、生長阻害が検出されたのは 25 試料（検出率 26%）であり、 EC_{50} の値は河川水原水に対する濃縮倍率として 3.8 倍～55.7 倍 (TU: 0.018～0.26) の範囲であった。TU が 0.1 以上と比較的高かった 5 試料は、何れも終末処理場の放流口や再生水を用いた水路など、下水処理水の影響の大きな地点で、冬季に採水した試料であった。また、生長阻害が検出された 25 試料の ΣHQ の値は、1.0～29 の範囲であった。

有機物量の指標である溶解性有機炭素 (DOC) と毒性単位 (TU) の比較を図 5.1 に、 ΣHQ と TU の比較を図 5.2 に、 $\Sigma(MEC/EC_{50})$ と TU の比較を図 5.3 に、それぞれ示す。TU と DOC の間には、強い正の相関 ($r = 0.78$) がみられるのに対して、TU と ΣHQ の相関は弱かった（それぞれ、 $r = -0.30$ 、 $r = -0.34$ ）。

これらの結果から、今回調査対象とした河川においては、一部で、藻類に対する弱い毒性が見られたが、それらに対する医薬品類の寄与は小さく、他の有機化合物が影響していたものと考えられる。医薬品類のハザード比は最大 29 と大きな値であったが、この値は 10～1000 倍のアセスメント係数を包有しているものであり、少なくとも *P. subcapitata* に対して、個体群レベルで影響する濃度ではなかったと考えられる。ただし、実際の環境中には、*P. subcapitata* より感受性が高い生物種が存在する可能性について留意する必要がある。なお、水生生物に対する生態リスクが懸念される有機物としては、「化学物質の環境リスク初期評価²⁴⁾」や「初期リスク評価書²⁵⁾」において、ノニルフェノールやLASなどが、詳細な評価を行う候補としてあげられている。

5.5 まとめと今後の展開

本研究では、関東地方及び四国地方の複数の河川及び小水路の河川水を対象に、固相抽出による前処

理を行った後、藻類生長阻害試験を実施した。97 試料中、25 試料で生長阻害が検出されたが、 EC_{50} の値は 3.8 倍～55.7 倍であり、1 倍未満の毒性が検出された試料はなかった。藻類に対する毒性の強さを、水質及び医薬品類の生態リスク（ハザード比）と比較した結果、DOC の間には強い正の相関が見られたのに対して、医薬品類ハザード比との相関は弱いことから、本研究で対象とした河川水が示す毒性に対する医薬品類の寄与は小さかったと考えられる。

今後は、多様な種類の生理活性物質が共存する試料の全毒性、総影響について、特に長期影響の視点から評価する手法の検討が必要である。また、医薬品類を含めた生理活性物質の存在が水生生物、生態系にどのような影響を与えているかについて、実際の水環境中に生息している生物、形成されている生態系の視点からも把握、評価する手法の開発が必要と考えられる。

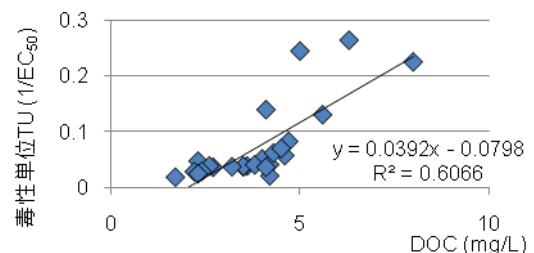


図 5.1 藻類生長阻害試験における毒性と DOC との比較

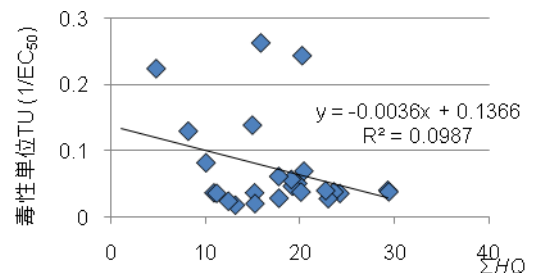


図 5.2 藻類生長阻害試験における毒性と医薬品類 10 物質の ΣHQ との比較

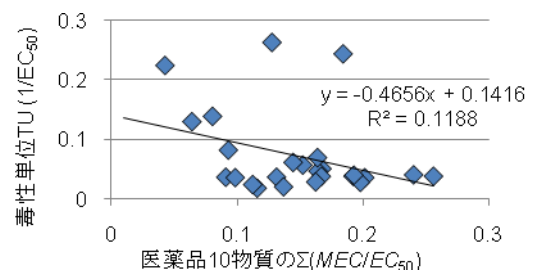


図 5.3 藻類生長阻害試験における毒性と医薬品類 10 物質の $\Sigma(MEC/EC_{50})$ との比較

6. 都市河川水の魚類生態影響の評価

6.1 目的

近年、国際的に生態系保全が強く求められるようになってきており、河川管理者には、河川の水生生態の保全と管理が求められている。水生生物の中で、特に魚類は、水生生物の代表種、経済生物であり、その存在は水質浄化の効果が直接的に実感できるため、魚類の生態保全のために、河川中の生理活性物質の魚類への影響について、把握する必要がある。

そこで、都市河川水でメダカを飼育する連続ばく露試験を行って、従来法（生死や行動異常の判定）よりも高感度な遺伝子レベルで魚類影響を把握するとともに、河川水の生理活性物質等の測定を同時に行い、都市河川の魚類への生態影響と生理活性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

ばく露試験には、土木研究所の実験室で継代飼育しているメダカ（d-rR 系統）を用いた。メダカを用いた理由は、魚類のモデル生物であり、遺伝子情報が充実していること、小型で飼育が容易なことによる。d-rR 系統は、遺伝的に雄が橙色、雌が白色であるため、雌雄の識別が容易である。

影響評価法は、河川水に一定期間雄メダカを流水式でばく露した後、メダカを解剖し、肝臓、エラ、精巣から RNA 抽出後、マイクロアレイ（エコジェノミクス社製メダカアレイ EG750）による網羅的遺伝子発現解析とリアルタイム PCR による変動遺伝子を中心とした定量解析を行った。

6.2.2 河川水の分析対象物質

河川水の分析は、栄養塩類の他、金属類、組み換え酵母によるエストロゲン様活性値および医薬品類について 1 回／週の分析を行った。医薬品類は 2.1 に記載した方法で分析した。

6.2.3 河川水ばく露実験

河川水ばく露実験は、関東地方都市部の河川の水質観測所に、流水式メダカばく露水槽を設置して、既報²⁶⁾と同様の方法で実施した。図 6.1 にばく露水槽の設置位置を示す。この水質観測所の地点の上流側には下水処理場が 8 つ存在しており、河川の流量に占める下水処理水の割合は、50%程度である。ばく露試験では、雄メダカ 35 匹を使用し、比較対照試験として脱塩素水道水でのばく露試験も行った。ばく露期間は 7、14、21 日間とし、平成 20 年 1 月に実施した。

6.3 結果と考察

6.3.1 河川水質分析結果

表 6.1 は、ばく露期間中の河川水の栄養塩類（NO₃-N、PO₄-P）濃度と、対照区の平均濃度より 2 倍以上となった金属類とその濃度である。これらの中で、Fe、Al、Zn の濃度が、対象区より顕著に高く、15 µg/L 以上であった。なお、Zn 濃度は測定期間を通じて河川の環境基準値の 0.03 mg/L（30 µg/L）を下回っていた。

表 6.2 は河川水のエストロゲン物質の濃度とエストロゲン様活性、及び医薬品類の濃度である。エストロゲン様活性は、概ね 10 ~ 30 ng/L の範囲と、河川水としては比較的高い濃度であった。また、エストロゲン類の濃度は、ばく露初期に高く、ばく露期間中に低下する傾向であった。一方、医薬品類については、ばく露期間中に大きな濃度変動は見られなかった（図 6.2）。

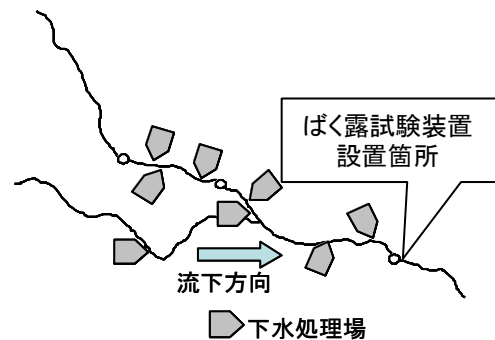


図 6.1 都市河川の調査地点

表 6.1 河川水中の栄養塩と金属濃度

		対照区	曝露区			
		平均値	0日目	7日目	14日目	21日目
NO ₃ -N	[mg/L]	0.2	7.5	7.5	8.3	9.0
PO ₄ -P	[mg/L]	0.04	0.4	0.5	0.5	0.5
K	[mg/L]	5.3	10.1	12.7	10.9	12.0
Mn	[µg/L]	n.d.	24.8	3.1	3.5	2.6
Ni	[µg/L]	n.d.	2.8	3.3	3.0	3.3
Fe	[µg/L]	3.4	34.9	32.4	49.8	33.0
Al	[µg/L]	7.0	35.1	50.8	45.2	36.6
Zn	[µg/L]	3.2	19.0	17.8	17.3	19.6
Li	[µg/L]	0.7	2.6	3.3	2.9	2.6
Cu	[µg/L]	2.0	4.8	6.0	6.2	6.4
Cr	[µg/L]	n.d.	0.6	n.d.	n.d.	n.d.
Mo	[µg/L]	0.8	1.9	1.9	2.5	2.2
As	[µg/L]	n.d.	0.6	0.7	0.6	0.6

6.3.2 メダカ遺伝子の発現解析の結果

ばく露後 7、14、21 日目のマイクロアレイ解析による変動遺伝子の抽出結果を、肝臓、精巣、エラについて、それぞれ図 6.3、図 6.4、図 6.5 に示す。図中の遺伝子は、遺伝子発現倍率が対照区の 2 倍以上または 1/2 以下 (p<0.05) となった遺伝子であり、ばく露期間毎の対照区との倍率で示している。

肝臓では、ばく露 7 日目にビテロゲニン (Vtg I)、コリオゲニン (Chg H、Chg H minor、Chg L) 遺伝子の上昇が顕著であった。これらは、卵形成に関わるエストロゲン応答遺伝子であり、河川水の E1 (エストロン) や、エストロゲン様活性値の変化と同様の傾向を示していることがわかる。ばく露初期の魚類影響は、エストロゲン作用が大きいことがわかる。また、ばく露 21 日目では、エストロゲン応答遺伝子の低下とともに薬物代謝関連遺伝子の増加がみられ、代謝が影響を受けていることがわかる。

精巣では、7 日目において対照区より遺伝子発現強度が低下する遺伝子が多くみられた。低下した遺伝子の中には、免疫関連や精子形成に関わる遺伝子があり、精巣が悪影響を受けていることがわかる。精子形成関連遺伝子の発現比は、河川水のエストロゲン様活性値が低下すると、対照区に近くなっていることから、エストロゲンの影響を受けていた可能性がある。21 日目に遺伝子発現強度が低下している機能不明遺伝子もみられた。

エラでは外因性の薬物代謝関連遺伝子である P450 1A1 遺伝子の発現強度が高くなっていた。P450 1A1 は多環芳香族炭化水素によって誘導することが知られている²⁷⁾。P450 1A1 を誘導した化学物質は不明であるが、河川水中に P450 1A1 誘導物質が存在していたと考えられる。ばく露 7 日目には、浸透圧調整、DNA 合成、細胞周期関連遺伝子に変動がみられた。ばく露 21 日では、これらの遺伝子発現の変動幅は、小さくなる傾向を示した。

図 6.6 は、リアルタイム PCR 法で、主に肝臓のエストロゲン応答遺伝子、エラの薬物代謝遺伝子を中心に遺伝子発現を確認した結果である。解析遺伝子は、エストロゲン応答遺伝子 (Vtg I、Vtg II、Chg H、Chg H minor、Chg L、ERα)、重金属応答遺伝子 (metalotionein)、ガン抑制遺伝子 (P53)、薬物代謝遺伝子 (P450 1A1) である。リアルタイム PCR 法でも、ばく露 7 日目で肝臓の Vtg、Chg 遺伝子の発現強度が強く、エラで P450 1A1 が高くなっていることが確認できた。

表 6.2 河川水中の医薬品類等の濃度

生活活性物質名		対照区 平均値	曝露区 濃度 (ng/L)			
			0日目	7日目	14日目	21日目
E1 (エストロン)	女性 ホルモン	n.d.	26.1	19.5	11.0	11.1
E2 (17βエストラジオール)	女性 ホルモン	n.d.	2.6	2.4	1.7	1.6
E3 (エストリオール)	女性 ホルモン	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
EE2 (エチナルエストラジオール)	合成女性 ホルモン	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
エストロゲン 様活性		0.2	32.8	25.3	12.9	14.0
sulpiride	消化性潰瘍用剤	—	1012.9	1099.5	879.4	1200.0
crotamiton	鎮痛、鎮痒、収れん、消炎剤	—	629.6	645.5	452.3	653.6
clarithromycin	抗生物質	—	195.3	214.2	173.5	235.3
caffeine	強心剤	—	92.9	100.0	468.3	107.4
phenobarbital	催眠鎮静剤、抗不安剤	—	150.2	159.3	193.4	162.4
disopyramide	不整脈用剤	—	103.9	119.2	90.9	124.3
bezafibrate	高脂血症用剤	—	81.5	76.3	101.1	74.2
amoxicillin	抗生物質	—	67.0	68.9	76.3	105.7
levofloxacin	—	—	71.3	96.8	56.2	86.0
indomethacin	解熱鎮痛消炎剤	—	67.0	70.9	48.1	68.9
furosemide	利尿剤	—	67.6	64.3	54.9	66.7
ketoprofen	解熱鎮痛消炎剤	—	86.3	53.4	38.8	53.8
diclofenac sodium	鎮痛、鎮痒、収れん、消炎剤	—	43.7	47.6	37.5	50.0
acetazolamide	利尿剤	—	36.0	40.5	34.5	41.1
carbamazepine	抗てんかん 剤	—	38.2	39.5	32.8	38.5
atenolol	不整脈用剤	—	28.0	33.6	35.0	50.5
theophylline	気管拡張剤	—	31.9	27.0	51.8	33.5
sulfamethoxazole	他の化学療法剤	—	35.0	36.1	30.1	34.6
ethenzamide	解熱鎮痛消炎剤	—	14.6	78.5	19.2	14.4
primidone	抗てんかん 剤	—	27.6	34.1	27.2	35.4
phenytoin	抗てんかん 剤	—	20.6	21.3	17.0	20.9
azithromycin	抗生物質	—	18.3	22.2	17.2	21.9
carbazochochrome	止血剤	—	17.4	17.9	16.2	25.9
mefenamic acid	解熱鎮痛消炎剤	—	17.8	18.2	14.4	19.1
diltiazem	合成抗凝固剤	—	17.1	17.1	15.1	19.0
clofibric acid	解熱鎮痛消炎剤	—	16.1	19.1	14.3	17.5
nalidixic acid	血管拡張剤	—	19.0	14.5	14.6	14.0
acetaminophen	解熱鎮痛消炎剤	—	7.1	7.6	40.6	5.4
N,N-diethyl-m-toluidide	昆虫忌避剤	—	12.6	13.1	12.4	14.1
2-quinoxaline carboxylic acid	合成抗凝固剤 (カルバドックスの代謝物)	—	9.7	10.6	9.4	12.8
ampicillin	抗生物質	—	11.0	9.1	9.7	11.9
naproxen	解熱鎮痛消炎剤	—	12.5	9.9	6.6	12.1
oxytetracycline	抗生物質	—	n.d.	19.3	5.9	4.6
ibuprofen	解熱鎮痛消炎剤	—	8.4	7.2	11.1	7.0
trimethoprim	合成抗凝固剤	—	7.9	9.1	7.2	8.7
dipyridamole	血管拡張剤	—	9.0	7.5	6.9	6.6
tetracyclin	抗生物質	—	7.0	5.6	6.6	7.5
metoprolol	降圧剤	—	5.6	7.1	4.9	6.2
griseofulvin	主にカビ 作用剤	—	5.6	5.2	5.0	7.7
bromovalerylurea	抗不安剤	—	6.7	4.4	5.1	4.1
metoclopramide	他の消化器官用薬	—	5.1	4.4	3.7	4.6
chloramphenicol	抗生物質	—	n.d.	4.2	n.d.	n.d.
mepirizole	不整脈用剤	—	n.d.	4.1	n.d.	n.d.
propranolol hydrochloride	解熱鎮痛消炎剤	—	4.1	3.8	3.2	4.1
pirenzepine	消化性潰瘍用剤	—	3.1	3.7	2.3	3.0
antipyrine	解熱鎮痛消炎剤	—	3.5	2.3	2.7	2.9
spironolactone	利尿剤	—	2.6	5.5	1.3	1.7
fulfenamic acid	他の泌尿生殖器官、肛門用薬	—	2.3	2.4	n.d.	2.4
flovaxate	解熱鎮痛消炎剤	—	2.4	2.4	2.3	2.3
thiamphenicol	合成抗凝固剤	—	n.d.	n.d.	n.d.	2.0
amitriptyline	神経系用剤	—	2.0	1.8	1.9	2.1
isopropylantipyrine	解熱鎮痛消炎剤	—	1.8	1.4	2.5	2.1
sotalol	不整脈用剤	—	n.d.	1.5	1.4	1.5
nicarbazin	—	—	1.3	1.2	1.2	1.1
haloperidol	神経系用剤	—	1.1	1.2	0.6	0.9
-:未測定		医薬品総濃度	3139	3391	3164	3514

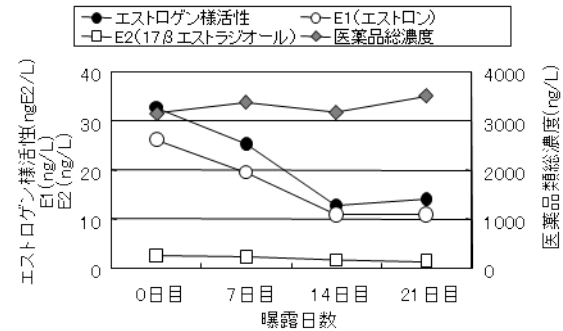


図 6.2 エストロゲン類と医薬品類総濃度の変動

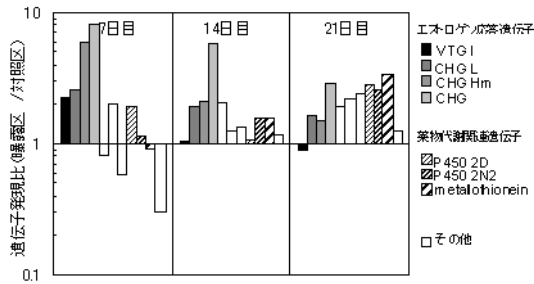


図 6.3 マイクロアレイによる
肝臓の遺伝子発現解析結果

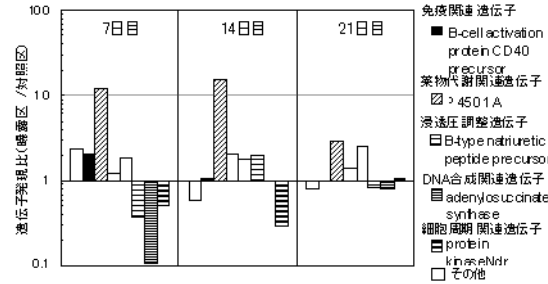


図 6.5 マイクロアレイによる
エラの遺伝子発現解析結果

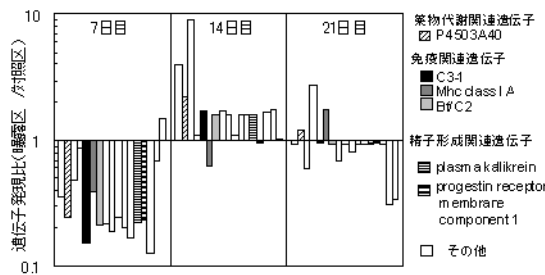


図 6.4 マイクロアレイによる
精巣の遺伝子発現解析結果

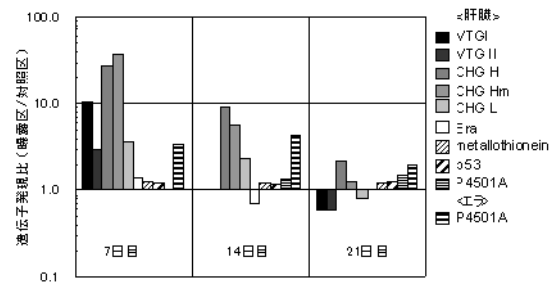


図 6.6 リアルタイム PCR 法による
遺伝子発現解析結果

魚類影響を河川水中の様々な生理活性物質の機器分析の結果から予測することは困難であり、魚類影響の評価はバイオアッセイが有効である。本研究で試みた遺伝子発現を指標とした生物影響評価法は、高感度で、多角的に生体影響を評価できる可能性がある。本実験で発現変動がみられた遺伝子については、雄魚の雌性化、精子形成能、免疫機能の低下などの生体影響のバイオマーカーとして利用できる可能性がある。今後、これらの遺伝子の詳細な機能情報を収集し、個体レベルでみられる生体反応との関連を把握する必要がある。

6.4 まとめ

メダカの流水式ばく露実験から都市河川水の魚類影響について遺伝子レベルでの評価を試みたところ、臓器毎の遺伝子発現の変化から、多角的な魚類影響を評価できることがわかった。肝臓ではエストロゲン作用や薬物代謝能への影響、精巣では精子形成能への影響、エラからは外因性の薬物代謝物質（P450 1A1）の検出が可能であった。今回実験を行った都市河川水は、エストロゲン作用や、外因性の薬物代謝物質を含んでいることが示された。

7. まとめ

医薬品分析法については、生産量が多い医薬品や国内で検出例のある医薬品など 95 物質を選定して、その一斉分析法を開発し、水環境における存在実態、挙動の把握に適用した。

また、抗インフルエンザウイルス剤の Oseltamivir phosphate（タミフル）、及びその活性代謝物 Oseltamivir carboxylate の分析法（下水試料の検出下限値は試料換算濃度で 0.34 ng/L 及び 0.29 ng/L）、ならびに、抗真菌薬 Fluconazole と Itraconazole、抗ウイルス薬 Aciclovir の分析法（下水試料の検出下限値は試料換算濃度で 0.1～0.2 ng/L、汚泥試料の検出下限値は湿重量当たり 0.05～0.1 ng/g-wet）をそれぞれ開発した。これらの医薬品については、今後、下水を含めた水環境中実態の調査継続が必要である。

さらに、抗生物質の Linezolid、Mupirocin、Meropenem、Cefcapene pivoxil の分析法開発を行った。本分析法の実試料への適用において、絶対検量線法から抽出液への標準添加法に定量方法を変更することで、測定時の損失を補正することができた。しかし夾雑成分が引き起こすイオン化抑制の問題は残ったままであり、より操作の簡便な絶対検量線法の適用も踏まえて、夾雑成分を除去する前処理法の検討

が今後の課題としてあげられる。

水環境中での実態把握、挙動解明については、開発した 95 物質の一斉分析法を用いて、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などの河川において実態調査を行った。人為汚染が小さい地点では検出される医薬品数が少なく、かつ濃度も低い、人為汚染が強い地点では、検出される医薬品数が多くかつ濃度も高いという傾向がみられた。また、合成抗菌剤などの動物用医薬品が検出された地点の集水域には養豚場や鶏舎、動物病院などの存在が確認され、これらが排出源となっている可能性が考えられた。下水処理場放流水との比較では、多くの物質は放流水を下回る濃度であったが、下水処理場での除去率の高いCaffeineなど数物質は、未処理排水や処理レベルの低い排水の占める割合が高い地点において、下水処理場放流水の 2 倍以上の値を示す場合が見られた。また、逆に下水処理場での除去がほとんど見られないCrotamitonについても、下水処理水と同レベルで検出される地点があった。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。さらに、試料採取時に観測した流量から排出負荷量を求め、人口一人当たりの排出負荷量を推計した。

また、晴天時と雨天時に医薬品の実態把握調査を行いその流出実態の比較を行った。都市域の小河川においては、調査医薬品 17 物質中多くの医薬品濃度は、雨天時においても晴天時とほぼ同じ値を示し、3 物質は晴天時の 2～3 倍の値を示した。一方、農村地域の小河川においては、地点によって、晴天時の 10 倍以上と大きな濃度上昇を示す物質が見られた。有機性汚濁物質等と同様に、集水域に降雨により流出しやすい医薬品類が存在することが示され、水環境中における医薬品類調査における雨天時調査の重要性が明らかになった。今後、降雨による流出負荷量の把握など、より詳細な調査を行う必要がある。

また、湖沼流入河川の医薬品負荷量から算出した流入河川の平均濃度と湖沼内の医薬品濃度を比較したところ、負荷量から求めた平均濃度に比べ湖沼内の濃度が高い傾向を示すものもみられ、晴天時の河川流入負荷だけでは湖沼流入負荷全体の把握が困難であることが示された。今後は、雨天時の流入負荷も合わせて調査し考察する必要がある。

医薬品類の生態影響については、5 生物種を用いたバイオアッセイを行うとともに、文献調査を行い、

生態毒性データの収集を行い、122 物質について予測無影響濃度PNECを算出した。複数の生物種の中で藻類に対して特に強い毒性を示す医薬品が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討する際のスクリーニングとして、藻類生長阻害試験が活用できると考えられる。

さらに、医薬品類の河川中濃度と、算出した PNEC を用いて生態リスク初期評価を行った結果、抗生物質の Amoxicillin、Clarithromycin、殺菌薬の Triclosan でハザード比 HQ が 10 以上と大きな値を示すなど、7 物質で HQ が 1 以上となり、「詳細な評価を行う候補と考えられる」と判定された。これらの物質については、水環境中での存在実態・挙動の調査を進め、より詳細な生態リスク評価を行う必要があると考えられる。また、複数の生物種の中で藻類に対して特に強い毒性を示す医薬品が多く見られたことから、医薬品類の水生生物に対する生態影響を検討する際のスクリーニングとして、藻類生長阻害試験が活用できる可能性が示された。

環境水の生物影響評価については、複数の河川及び小水路の河川水を対象に、固相抽出による前処理を行った後、藻類生長阻害試験を実施した。約 1/4 の試料で生長阻害が検出されたが、EC₅₀の値は 3.8 倍～55.7 倍であり、1 倍未満の毒性が検出された試料はなかった。また、藻類に対する毒性の強さを、水質及び医薬品類の生態リスク（ハザード比）と比較した結果、DOCの間には強い正の相関が見られたのに対して、医薬品類ハザード比との相関は弱いことから、本研究で対象とした河川水が示す毒性に対する医薬品類の寄与は小さく、医薬品類以外の生理活性物質の影響が大きかったと考えられた。

さらに、メダカの流水式ばく露実験から都市河川水の魚類影響について遺伝子レベルでの評価を試みたところ、臓器毎の遺伝子発現の変化から、多角的な魚類影響を評価できることがわかった。肝臓ではエストロゲン作用や薬物代謝能への影響、精巣では精子形成能への影響、エラからは外因性の薬物代謝物質（P450 1A1）の検出が可能であった。

参考文献

- 1) 厚生労働省医政局：薬事工業生産動態統計年報，平成 14 年，じほう，2003
- 2) 小西千絵，宝輪勲，中田典秀，小森行也，鈴木穰，田中宏明：水環境中 PPCPs の LC-MS/MS による一斉分析法の検討，環境工学研究論文集，43，pp.73-82，2006

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

- 3) 中外製薬株式会社：医薬品インタビューフォーム，タミフルカプセル 75・タミフルドライシロップ 3%（オセロタミビルリン酸塩製剤），改訂第 24 版，p.53，2010
- 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**，pp.685-691，2004
- 5) 小森行也，岡安祐司，鈴木穰：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)，pp.37-44，2007
- 6) Nakada, N., Komori, K., Suzuki, Y., Konishi, C., Houwa, I. and Tanaka, H.: Occurrence of 70 pharmaceutical and personal care products in Tone River basin in Japan, *Water Sci. Technol.*, **56**, pp.133-140, 2007
- 7) Clara, M., Strem, B. and Kreuziger, N.: Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration, *Water Res.*, **38**, 947-954, 2004
- 8) Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., Kiri, K. and Takada, H.: Pharmaceutical chemical and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment, *Water Res.*, **40**, 3297-3303, 2006
- 9) Buerge, I. J., Poiger, T., Muller, M. D. and Buser, H. R.: Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, pp.691-700, 2003
- 10) 小森行也，岡安祐司，鈴木穰：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，pp.91-93，2008
- 11) 岡見吉郎：クリロビッツ抗生物質論，p.169，学会出版センター，1978
- 12) 厚生労働省：キノキサリン-2-カルボン酸，*食品衛生検査指針 動物用医薬品・飼料添加物編* 2003，pp.131-135，（社）日本食品衛生協会，2003
- 13) 動物医薬品協同組合：動物医薬品副作用等情報集，<http://www.nval.go.jp/vet-cop/index.htm>，（2011 年 3 月時点）
- 14) 小森行也，鈴木穰，南山瑞彦：晴天時、雨天時の小河川における医薬品類の存在実態，第 19 回環境化学討論会講演要旨集，p.146，2010
- 15) 小森行也，鈴木穰：湖沼とその流入河川における医薬品存在実態，第 11 回日本水環境学会シンポジウム講演集，p.146，2008
- 16) 小森行也，鈴木穰：湖沼流入河川の医薬品負荷量と湖沼内医薬品濃度の関係，第 12 回日本水環境学会シンポジウム講演集，p.98，2009
- 17) Harada, A., Komori, K., Nakada, N., Kitamura, K. and Suzuki, Y.: Biological effects of PPCPs on aquatic lives and evaluation of river waters affected by different wastewater treatment levels, *Water Sci. Technol.*, **58**, 1541-1546, 2008
- 18) OECD: Test No. 201: Alga, Growth Inhibition Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems, OECD Publishing, 2006
- 19) 吉岡義正：Ecotox-Statics ver.2.x, *環境毒性学会誌*，**4**(2)，p.113，2001
- 20) ASTM: Standard Guide for Conducting the Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX), ASTM Standard E1439-98(2004), West Conshohocken, 2004
- 21) 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 22 年 1 月版，2010
- 22) 小森行也，鈴木穰：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と生態リスク初期評価，*水環境学会誌*，**32**，pp.133-138，2009
- 23) 野見山晴美，中原重紀子，水落敏朗：ミジンコおよび藻類を用いた市内河川水のバイオアッセイ（2005），平成 17 年度福岡市保健環境研究所報，**31**，pp.57-64，2006
- 24) 環境省：環境リスク初期評価実施物質一覧（第 1 巻～第 9 巻），化学物質の環境リスク評価，第 9 巻，<http://www.env.go.jp/chemi/report/h23-01/index.html>，（2011 年 3 月時点）
- 25) 独立行政法人製品評価技術基盤機構：化学物質初期リスク評価書，生態リスクに関する評価結果一覧，<http://www.safe.nite.go.jp/risk/riskhykd101.html>，（2011 年 3 月時点）
- 26) Higashitani, T., Miyajima, K., Nakada, N., Yasojima, M., Tanaka H. and Suzuki Y.: Development of on-site fish exposure system placed in water quality monitoring stations along a river, *Water Sci. Technol.*, **52**(12), pp.275-282, 2005
- 27) 大村恒雄，石村巽，藤井義明：P450 の分子生物学，p.176，講談社，2003

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

Budged: Grants for operating expenses, General account

Research Period: FY2006-2010

Research Team: Water Environment Research Group (Water Quality)

Author: MINAMIYAMA, Mizuhiko, KOMORI, Koya, KITAMURA, Tomokazu,
MURAYAMA, Kouki, SUZUKI, Yutaka, KITAMURA, Kiyoaki

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: environmental risk, pharmaceuticals, analytical method, bioassay, ecological impact assessment