

厚生労働省科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
医薬品の環境影響評価ガイドラインに関する研究
分担研究報告書

医薬品の地下水汚染の可能性評価に関する研究

研究分担者 鈴木俊也 東京都健康安全研究センター

研究要旨

下水処理場の二次発酵コンポスト中に検出事例のある非ステロイド系抗炎症薬の ibuprofen、diclofenac、mefenamic acid、人用抗生物質 clarithromycin および抗菌剤 triclocarban 等の医薬品類の農耕地等における地下水汚染の可能性について評価した。既に欧米で活用されている農薬による地下水汚染のシミュレーションモデル (GUS score, jury's criteria, Cohen's criteria) を用いた。その結果、今回対象とした医薬品類は、いずれも地下水汚染の可能性は無いと判定された。今後、地下水中の存在実態との整合性を調べるなどし、判定結果の妥当性を評価する必要がと考えられる。

A. 研究目的

現在検討中のガイドラインに、医薬品の地下水汚染の評価の項目がある。医薬品の地下水汚染のシナリオとして、使用期限切れや飲み残しの医薬品の廃棄による経路が想定される。また、日本では下水汚泥の緑農地還元や建設資材利用による有効利用の推進が求められている。独立行政法人 土木研究所の調査によると、下水処理場 2 箇所を調査し、二次発酵コンポスト中に、非ステロイド系抗炎症薬の ibuprofen、diclofenac、mefenamic acid、人用抗生物質 levofloxacin 及び抗菌剤 triclocarban 等が共通して検出され、これら医薬品類は数ヶ月の熟成期間を経てもコンポストに残留する可能性が指摘されている（平成 20 年度下水道関係調査研究年次報告書集、独立行政法人 土木研究所、平成 21 年 11 月）。この研究結果によれば、下水汚泥の有効利

用による地下水汚染の経路も考えられる。

今年度は、農耕地等における医薬品の地下水汚染の可能性について評価することとした。既に欧米で実用化されている農薬に関する地下水汚染の可能性を評価するための各種シミュレーションモデルを使用して評価を実施することとした。下水処理場のコンポスト中に検出される医薬品類を対象とし、シミュレーションモデルに必要な医薬品の土壤吸着平衡定数 (Koc) と土壤中半減期 ($T_{1/2}$) を実験的に求め、評価を行った。

B. 研究方法

1. 医薬品の地下水汚染の可能性評価

1. 1 対象の医薬品類

調査対象の医薬品は非ステロイド系抗炎症薬の ibuprofen、diclofenac、mefenamic acid、人用抗生物質 levofloxacin、clarithromycin 及び抗菌剤 triclocarban と

した。これらの標準品は和光純薬から購入した。

1. 2 土壌試料

本実験に使用した土壌（黒ボク土、沖積土）は公益財団法人東京都農林水産振興財団 東京都農林総合研究センターから平成23年9月に提供を受けた。土壌試料は2mmメッシュの篩にかけ、水分含量及び医薬品類の分解試験に用いた。また、室温で2日間乾燥し、風乾細土を調製し、最大容水量、陽イオン交換容量及び土壌有機炭素量を調べた。

1. 3 土壌の物理化学的性状

1. 3. 1 水分含量

生土及び風乾細土の水分含量は、土壌を105°Cで12時間乾燥させ、乾燥前後の土壌重量から算出した。

1. 3. 2 最大容水量

乾土10gを円錐形に折りたたんだろ紙にとり、円錐形のガラスロートに入れ、精製水100mLを流し、ロートの下方から流れ出た精製水量を測定することにより求めた。なお、乾土を入れない場合をブランクとした。

1. 3. 3 陽イオン交換容量 (CEC)

風乾細土5gを容量80mLのポリエチレン製の注射型容器（フリッター付）に採り、1mol/L酢酸アンモニウム100mLを容器の上部から流した。ついで、80%メタノール50mLを流し、容器に付着または細土内に残留している酢酸アンモニウムを洗浄した。その後、10%塩化カリウム水溶液を50mLずつ2回流し、溶出液を得た。溶出液は精製水で100倍に希釈し、イオンクロマトグラフでアンモニアイオンを測定した。イオンクロマトグラフ（ICS3000、ダイオネクス社）の分析条件はつぎのとおり。カラム：CS12A、ガードカラム：CS12G、カラム温度：35°C、溶離液（流速）：0.02Mメタンスルホン酸（1.0ml/min）、検出器：電気伝導度、サブレッサー：CSRS300 4mm。

1. 3. 4 土壌有機炭素量 (OC)

風乾細土を容器に採り、CNコーダー MT-700（ヤナコ分析工業製）で測定した。

1. 4 土壌吸着平衡定数

OECDのTG106に準じて測定した。すなわち、風乾細土約1gをガラス製の共栓遠沈管に採り、医薬品の0.01mol/L塩化カルシウム溶液25mL（0.1mg/L～10mg/L）を加え、室温で24時間振とうした後、3000rpmで10分間遠心分離し、上清を得た。上清1mLにギ酸10μL、内部標準としてカルバマゼピン-d10体100mg/Lアセトン溶液10μLを加え、LC/MSで測定した。土壌吸着平衡定数（Kd、cm³/g）は次式により求めた。

$$K_d = \frac{\text{土壌吸着量} (\%)}{100 - \text{土壌吸着量} (\%)} \times \frac{25\text{mL}}{\text{土壌乾燥重量} (\text{g})}$$

有機炭素補正土壌吸着平衡定数（Koc、cm³/g）は次式により求めた。

$$K_{oc} = K_d \times \frac{100}{\text{土壌有機炭素量} (\%)}$$

1. 5 容器内分解試験

OECDのTG307に準じて行った。すなわち、土壌試料（約10g）をプラスチック製の容器にとり、水分含量が最大容水量の50%になるように滅菌精製水を加え、暗所、18°Cで1週間プレインキュベーション後、医薬品を添加し（最終濃度：10mg/kg乾燥土）、暗所、18°Cでインキュベーションし、経時的に医薬品の残存量を測定した。また、2週間ごとに滅菌精製水を加えて土壌水分含量を調整した。土壌からの医薬品の抽出は、アセトニトリル10mLを加え、超音波装置で30分間処理後、振とう器で30分間抽出した。遠心分離（3000rpm、10分）後、アセトニトリル層の一部を採り、窒素ガス気流下で乾固後、0.1%ギ酸-アセトニトリル（10:90、v/v）に

溶解し、内部標準としてカルバマゼピン-d10体100mg/Lアセトン溶液10μLを加えたものを試験溶液とした。試験溶液中の医薬品の分析はLC/MSで行った。

容器内分解試験における土壤中の医薬品の半減期は1次反応式より求めた。

$$C = C_0 \cdot e^{-\lambda t}$$

$$T_{1/2} = 0.693 / \lambda$$

C : t時間後の土壤中医薬品の濃度

C_0 : 土壤中医薬品の初期濃度

λ : 定数

$T_{1/2}$: 半減期 (日)

1. 6 LC/MSの分析条件

HPLC : 2690 (ウォーターズ製)、注入量 : 10 μL、カラム: XTerra MSC18 (2.1 x 150 mm、5 μm、ウォーターズ製)、カラム温度: 40°C、移動相 : 0.1% ギ酸含有 20% CH₃CN (3 分間保持) --- (リニアグラジエント) --- 0.1% ギ酸含有 90% CH₃CN (25 分) --- 0.1% ギ酸含有 90% CH₃CN (3 分間保持)、流速 : 0.2 mL/min。

MS : ZMD (ウォーターズ製)、ソースブロック温度 : 120°C、デソルベーション温度 : 250°C、キャピラリー電圧 : 3 kV、コーン電圧 : 30 - 50 V、測定モード : ESI、検出法 : SIM、各医薬品のモニターイオン (モード) は、Levofloxacin:m/z362(positive)、Clarithromycin:m/z748(positive)、Diclofenac:m/z296(positive)、Ibuprofen:m/z205(negative)、Mefenamic acid:m/z224(positive)、Triclocarban:m/z313(negative) であった。

1. 7 地下水汚染のシミュレーションモデル

農薬の地下水汚染を評価するためのシ

ミュレーションモデルとして、つぎの3モデルを使用することとした。これらモデルは地下水から検出される農薬を汚染の可能性を判定することができる (参考資料)。医薬品についても、これらモデルが適用可能と考えられる。

1) Gustafson's model

Ground water ubiquity score (GUS score)

$$GUS = \log T_{1/2} \cdot (4 - \log K_{oc})$$

GUS < 1.8 : 地下水汚染性無し

GUS 1.8 - 2.8 : 地下水汚染性疑われる

GUS 2.8 > : 地下水汚染性有り

2) Jury's model

つぎの不等式を満たすものは地下水汚染の可能性ありと判定される。

$$K_{oc} < 5.8 T_{1/2} - 27$$

3) Cohen's model

つぎの条件を満たすものは地下水汚染の可能性ありと判定される。

$$K_{oc} < 500 \text{ cm}^3/\text{g} \text{かつ}$$

$$T_{1/2} > 14 \text{ dyas}$$

C. 結果および考察

1. 土壌の物理化学的性状

本実験で使用した土壤の物理化学的性状を表1に示す。東京都内で代表的な土壤と

表1. 土壌の物理化学的性状

	黒ボク土	沖積土
水分含量(%)	29	24
最大容水量()	1.0	0.8
CEC(meq/100g)	50.6	23.8
OC(%)	5.6	2.9
CEC:陽イオン交換容量		
OC:有機炭素		

して、黒ボク土と沖積土がある。黒ボク土は沖積土に比べ、最大容水量、陽イオン交換容量（CEC）、土壤有機炭素量（OC）ともに高かった。

2. 医薬品の土壤吸着性

OECD の TG106 に準じて土壤吸着平衡定数を調べた。予備実験として、土壤と医薬品の水溶液の比率について検討した。TG106 では土壤：水溶液の比率を 1:1、1:5 および 1:25 で行うとされている。黒ボク土と沖積土を用いて試験した結果、1:1 の場合には、遠心分離後の上清の量が少なく、濁っていた。そこで、フィルターによるろ過を試みたが、トリクロカルバンはフィルターに吸着され、正確な分析が難しかった。1:5 および 1:25 の場合には、分析に充分な上清が得られ、Kd がほとんど同じであったことから、風乾細土 1g に対して医薬品の水溶液 25mL (1:25) で試験することとした。

平衡に達するまでの振とう時間について、一般的には 24 時間で十分とされている。対象の医薬品を用いて、4、8 及び 24 時間と平衡時間を変えて調べたところ、黒ボク土および沖積土とともに、いずれの医薬品も 24 時間で最も高い Kd が得られた。

容器に土壤を入れない状態で、医薬品の水溶液をガラス容器に入れ、濃度変動を調べた。24 時間振とう後の水溶液中医薬品濃

度はほとんど変化なく、いずれの医薬品もガラス容器への吸着や水中での加水分解等による化学的な分解は認められなかった。

各医薬品の土壤吸着平衡定数 (Kd および Koc) を表 2 に示す。医薬品の Koc について、黒ボク土は 298 から 10761cm³/g、沖積土が 16055cm³/g であった。Triclocarban の Koc は他の医薬品に比べると 1 オーダー高い結果であった。また、各医薬品とも沖積土の Koc の方が、黒ボク土よりも大きい傾向にあった。Levofloxacin については、今回の測定条件では測定できたのは 10mg/L の水溶液のみであり、確な Koc を求めることはできなかつたが、黒ボク土が約 90000 cm³/g、沖積土が約 170000cm³/g と推察された。

土壤試料約 1g を用いて、医薬品の水溶液を 25mL、濃度範囲を 0.1mg/L～10mg/L として、Freundlich の吸着等温線を測定した（図 1－5）。検討した濃度範囲において相関係数 0.9 と良好な結果であった。各医薬品の K および 1/n を表 2 に示す。

3. 医薬品の容器内分解試験

OECD TG307 に準じて、医薬品の分解性を調べた。土壤中からの医薬品の添加回収率を調べたところ、clarithromycin 95%、diclofenac 84%、ibuprofen 85%、mefenamic acid 95%、triclocarban 102% と、ほぼ良好な回収率が得られること

表2. 医薬品の土壤吸着性

PPCPs	Kd		Koc		K		1/n	
	黒ボク土	沖積土	黒ボク土	沖積土	黒ボク土	沖積土	黒ボク土	沖積土
clarithromycin	62	30	1109	1027	4.6	2.4	0.6	0.7
diclofenac	34	50	602	1734	2.4	2.7	0.7	0.8
ibuprofen	32	35	563	1206	2.5	2.0	0.7	0.8
mefenamic acid	17	45	298	1541	1.5	2.1	0.8	1.0
triclocarban	603	466	10761	16055	42.4	17.0	0.7	0.8

表3. 土壤中 医薬品の容器内分解試験

医薬品	黒ボク土				沖積土			
	λ	$T_{1/2}$ (day)	C_0 (%)	r^2	λ	$T_{1/2}$ (day)	C_0 (%)	r^2
clarithromycin	0.004	>56	-	-	0.004	>56	-	-
diclofenac	1.106	0.9	117	0.966	1.106	0.6	108	0.996
ibuprofen	0.051	11	108	0.994	0.051	13.6	101	0.985
mefenamic acid	0.324	0.8	107	0.995	0.324	2.1	96	0.954
triclocarban	0.004	>56	-	-	0.004	>56	-	-

表4. 医薬品の地下水汚染性

PPCPs	log Koc		$\log T_{1/2}$		GUS Score		Jury' equation	
	0	黒ボク土	沖積土	黒ボク土	沖積土	黒ボク土	沖積土	黒ボク土
clarithromycin	3.0	3.0	1.75	1.75	1.7	1.7	298	298
diclofenac	2.8	3.2	-0.05	-0.22	-0.1	-0.2	-22	-24
ibuprofen	2.8	3.1	1.04	1.13	1.3	1.0	37	52
mefenamic acid	2.5	3.2	-0.10	0.32	-0.1	0.3	-22	-15
triclocarban	4.0	4.2	1.75	1.75	-0.1	-0.4	298	298

GUS Score: $(4 - \log Koc) * \log T_{1/2}$ Jury's equation : $5.8 \times T_{1/2} - 27$

がわかった。

を調べた。土壤中からの医薬品の添加回収率を調べたところ、clarithromycin 95%、diclofenac 84%、ibuprofen 85%、mefenamic acid 95%、triclocarban 102%と、ほぼ良好な回収率が得られることがわかった。

土壤中の医薬品濃度の経時変化を図6に、1次式による解析結果を表3に示す。

Clarithromycin と triclocarban はインキュベーション期間中ほとんど減少が認められず、土壤中での残留性が高いことが示唆された。Ying らの報告によれば、triclocarban の土壤中半減期は 108 日であった。

diclofenac と mefenamic acid は、土壤

中半減期が 2 日以内であり、土壤中で容易に分解されると考えられる。Ibuprofen については、土壤中半減期が十数日であり、土壤中での残留性は比較的低かった。Xu らは 4 種類の土壤を用いて diclofenac や Ibuprofen の土壤中半減期を求め、0.81-20.44 日であったと報告している。

Levofloxacin について、土壤からの抽出がほとんどできず、半減期を求めることができなかった。

4. 医薬品の地下水汚染性

農薬の地下水汚染を予測するためのシミュレーションモデルを使用して、医薬品の地下水汚染の可能性を評価した(表4)。

clarithromycin について、GUS Score は黒ボク土および沖積土ともに 1.7 であり、

地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury の判定基準でも黒ボク土および沖積土とともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、土壤中半減期は 14 日よりも大きかったが、Koc は 黒ボク土および沖積土とともに $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。

diclofenac について、GUS Score は黒ボク土および沖積土とともに 0 よりも小さく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury の判定基準でも黒ボク土および沖積土とともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、土壤中半減期は 0.6 日と 14 日よりも小さく、Koc は 黒ボク土および沖積土とともに $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きかったことから、地下水汚染の可能性はないと判定された。

ibuprofen について、GUS Score は黒ボク土 1.3 および沖積土 1.0 であり、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury の判定基準でも黒ボク土および沖積土とともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、土壤中半減期は 14 日よりも小さく、Koc は 黑ボク土および沖積土とともに $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きかったことから、地下水汚染の可能性はないと判定された。

mefenamic acid について、GUS Score は黒ボク土-0.1、沖積土 0.3 であり、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury の判定基準でも黒ボク土および沖積土とともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、Koc は 黑ボク土 $298\text{cm}^3/\text{g}$ であり、 $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも小さく、沖積土では $1451\text{cm}^3/\text{g}$ で、 $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも

大きかった。しかし、土壤中半減期は黒ボク土および沖積土とともに 14 日よりも小さく、地下水汚染の可能性はないと判定された。

triclocarban について、GUS Score は黒ボク土および沖積土とともに 0 よりも小さく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury 判定基準でも黒ボク土および沖積土とともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、土壤中半減期は 14 日よりも大きかったが、Koc は 黑ボク土および沖積土とともに $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。

levofloxacin について、Koc が $90000\text{ cm}^3/\text{g}$ と非常に大きな値であり、Gustafson や Cohen の判定基準では Koc が $10000\text{ cm}^3/\text{g}$ のものは $T_{1/2}$ にかかわらず、地下水汚染性ないと判定される。

以上の結果から、今回対象とした 6 医薬品は、3 種類の地下水汚染の予測モデルによる評価では、地下水汚染の可能性はないと判定された。今後、地下水中の存在実態調査や文献調査等を実施し、判定結果の妥当性を調査する必要がある。

D. 結論

下水処理場の二次発酵コンポスト中に検出事例のある非ステロイド系抗炎症薬の ibuprofen、diclofenac、mefenamic acid、人用抗生物質 clarithromycin、抗菌剤 triclocarban 等の医薬品類の農耕地等における地下水汚染の可能性について評価した。既に欧米で活用されている農薬による地下水汚染のシミュレーションモデル (GUS score、jury's criteria、Cohen's criteria) を用いた。各シミュレーションモデルに必要な医薬品の土壤吸着平衡定数 (Koc) と土壤を用いた容器内分解試

験による半減期 ($T_{1/2}$) を実験的に求め、地下水汚染の可能性を判定した。その結果、今回対象とした医薬品類は、いずれも地下水汚染の可能性は無いと判定された。今後、地下水中の存在実態との整合性を調べるなどし、判定結果の妥当性を評価する必要があると考えられる。

E. 健康危機情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 鈴木俊也、小杉有希、矢口久美子、保坂三継、小縣昭夫、西村哲治、中江 大 (2011) 水環境中の抗インフルエンザウイルス剤の分析法、東京都健康安全研究センター年報、62、233-236.

2. 学会発表

- 1) Suzuki, T., Kosugi, Y., Nishimura, T. (2011) Comparison of Measured and Predicted Environmental Concentrations of Selected Human Pharmaceuticals in Urban River in Tokyo, 4th IWA ASPIRE.
- 2) Nishimura, T., Hirose, A., Suzuki, T., Kosugi, Y., Kawamoto, T., Yano, M. (2011) Environmental Risk Assessment of Selected Human Pharmaceuticals in Urban Rivers in

Japan、SETEAC North America、32th Annual Meeting.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

H. 参考文献

- 1) 平成 20 年度下水道関係調査研究年次報告書集、独立行政法人 土木研究所、平成 21 年 11 月.
- 2) Ying, G.-G., Yu, X.-Y., Rai, B. C., Kookana, S. (2007) Environmental Pollution 150, 300e305 Biological degradation of triclocarban and triclosan in a soil under aerobic and anaerobic conditions and comparison with environmental fate modeling.
- 3) Xu, J., Wub, L., Chang, A. C. (2009) Degradation and adsorption of selected pharmaceuticals and personal careproducts (PPCPs) in agricultural soils, Chemosphere, 77, 1299-1305.

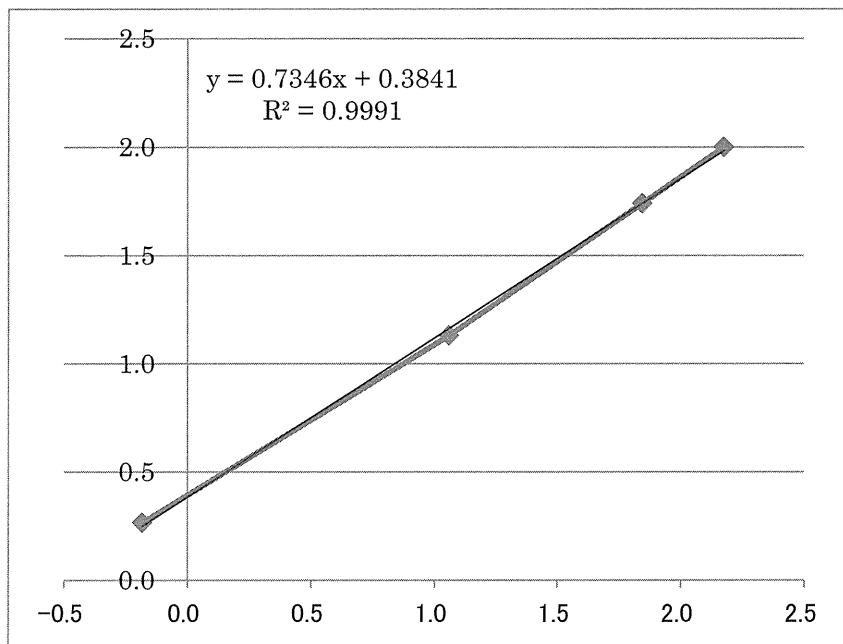
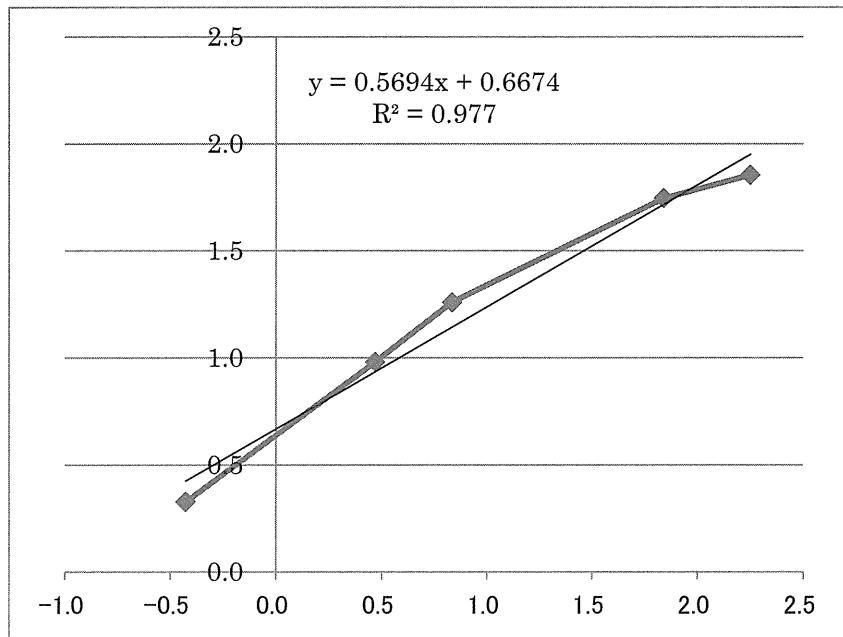


図1 Clarithromycin の Freundlich 吸着等温線
 横軸：水中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{\text{aw}}$)
 縦軸：土壤中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{A\text{soil}}$)
 上段：黒ボク土、下段：沖積土

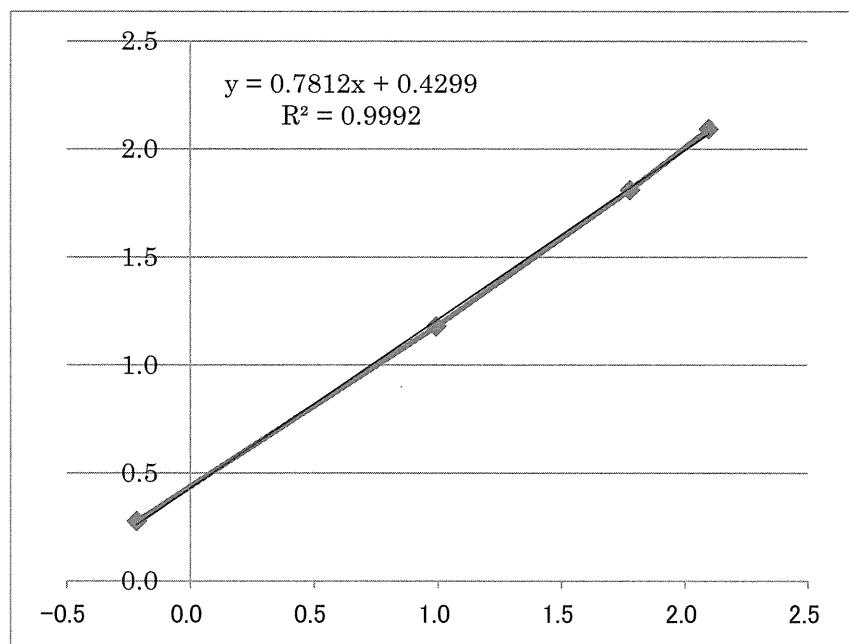
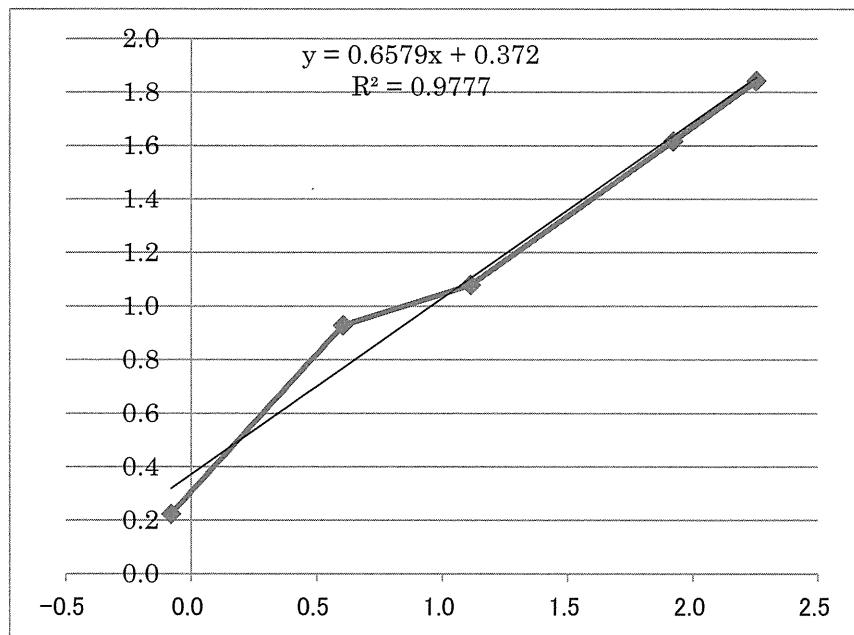


図2 Diclofenac の Freundlich 吸着等温線

横軸：水中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{\text{aw}}$)

縦軸：土壤中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{A\text{soil}}$)

上段：黒ボク土、下段：沖積土

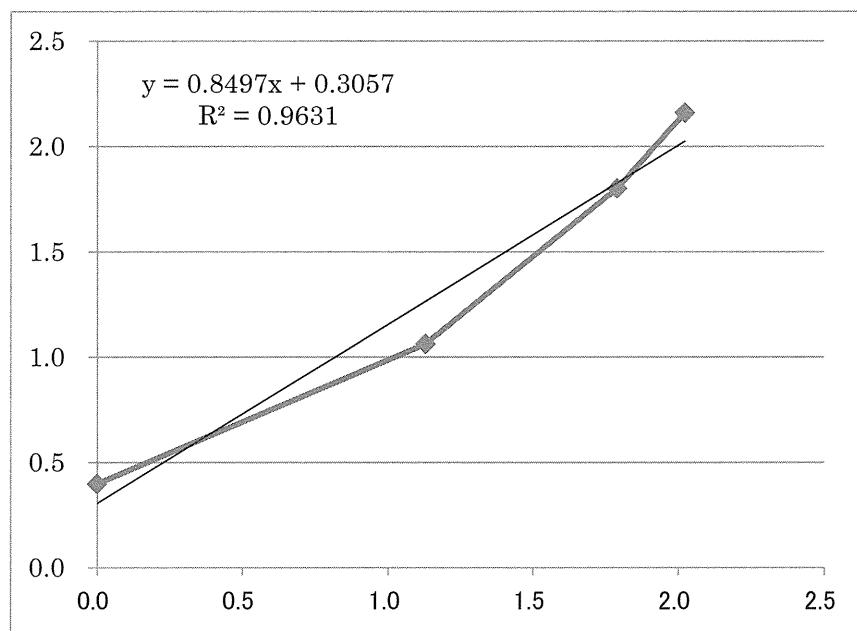
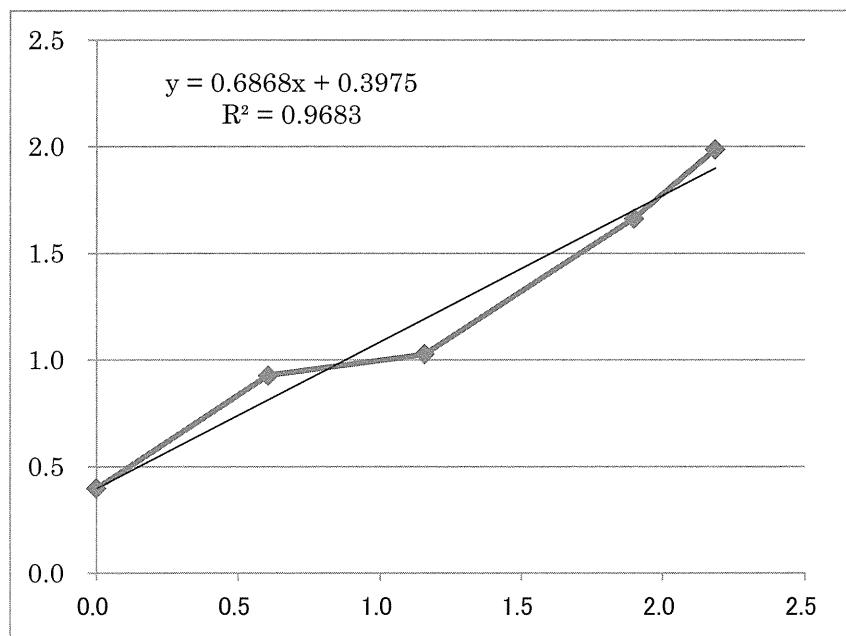


図3 Ibuprofenc の Freundlich 吸着等温線

横軸：水中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{AW}$)

縦軸：土壤中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{ASoil}$)

上段：黒ボク土、下段：沖積土

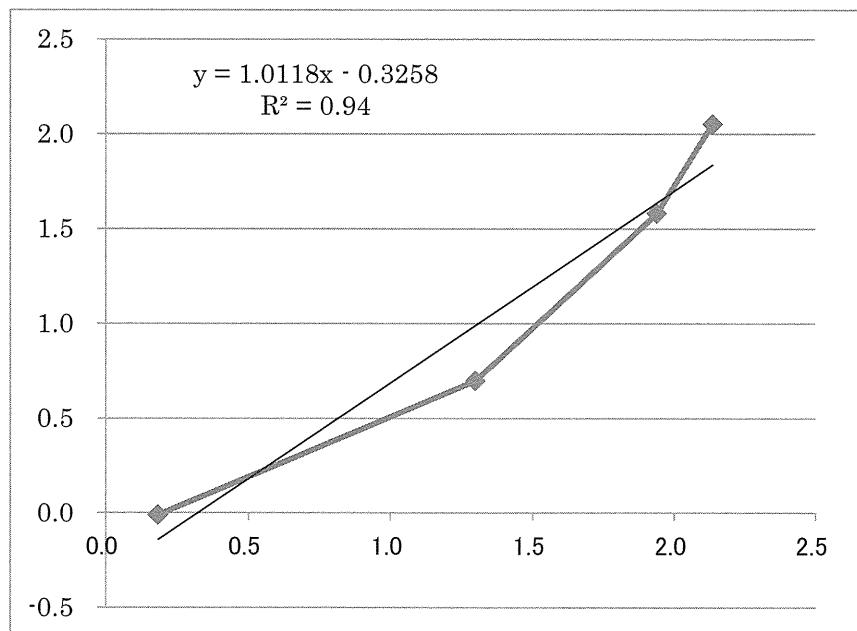
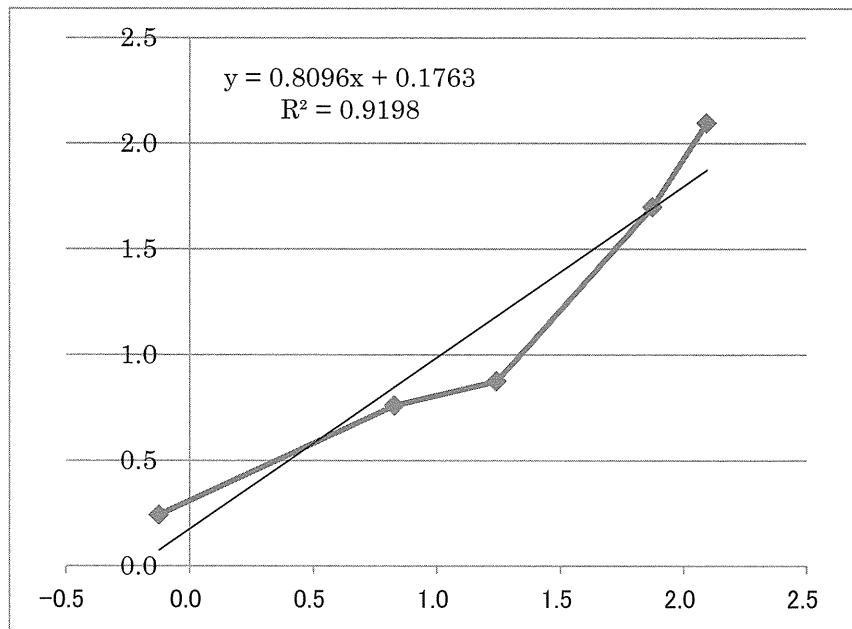


図4 Mefenamic acid の Freundlich 吸着等温線
 横軸：水中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{A_w}$)
 縦軸：土壤中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{A_{Soil}}$)
 上段：黒ボク土、下段：沖積土

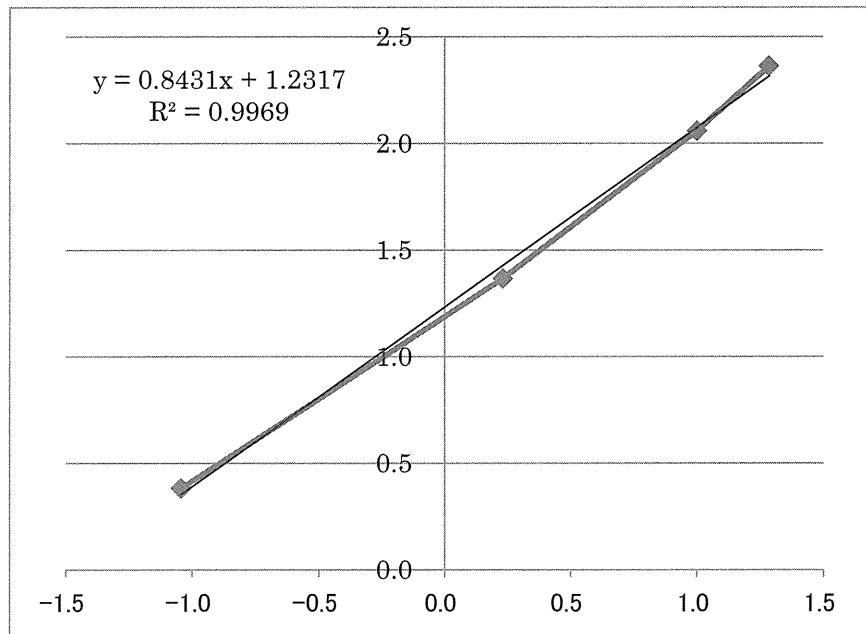
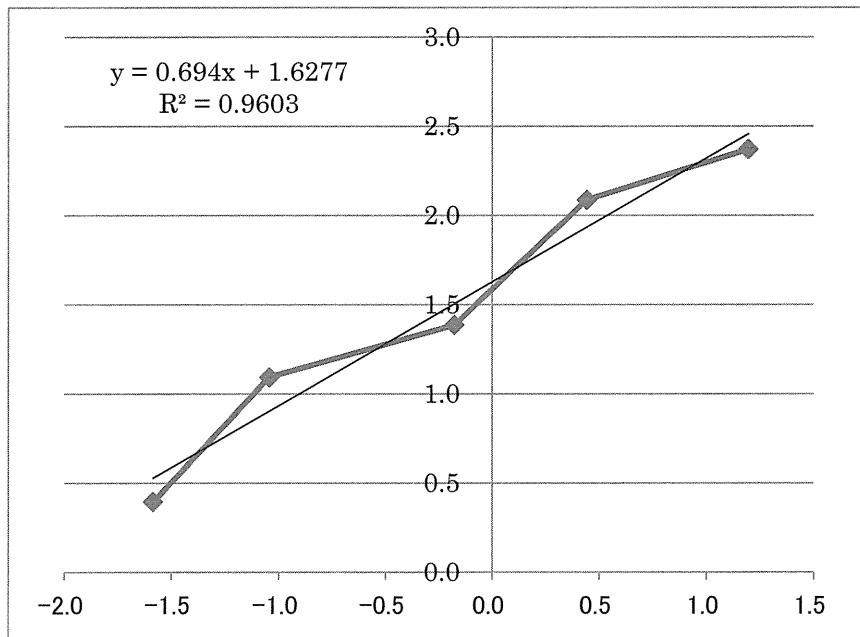


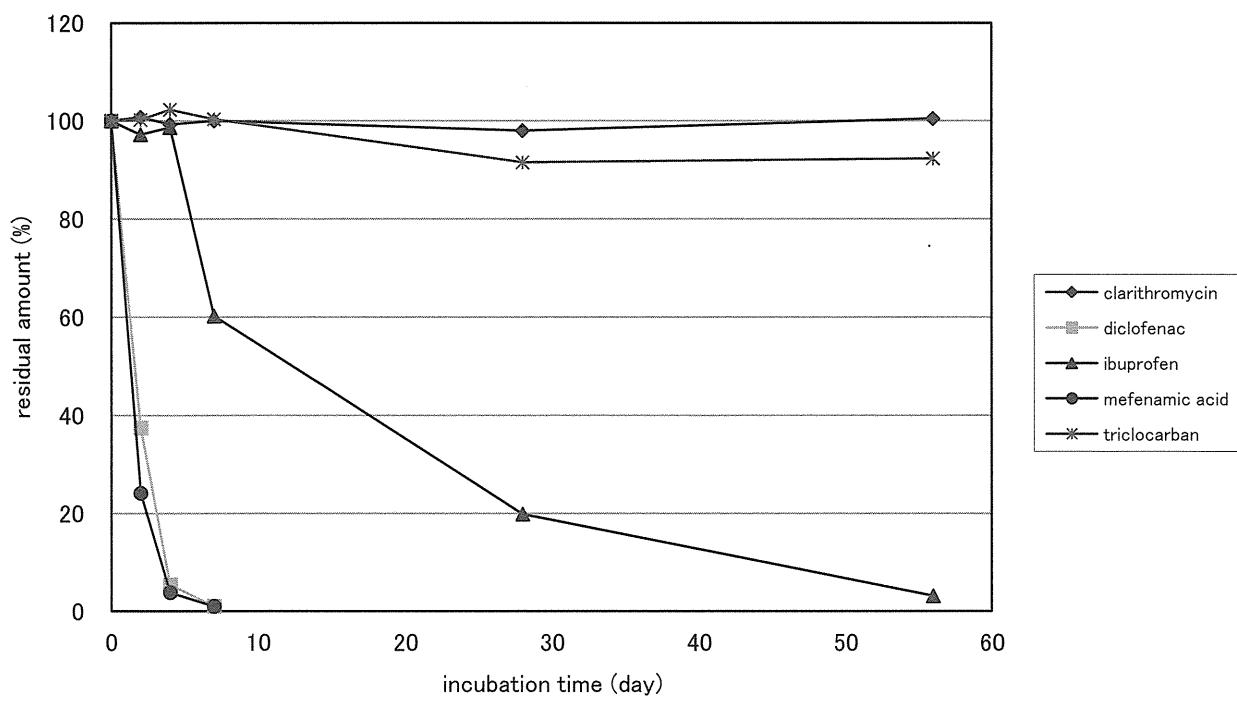
図 5 Triclocarban の Freundlich 吸着等温線

横軸：水中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{A\text{W}}$)

縦軸：土壤中の医薬品濃度の対数 ($\log C_{A\text{Soil}}$)

上段：黒ボク土、下段：沖積土

黒ボク土中医薬品の容器内分解試験



沖積土中医薬品の容器内分解試験

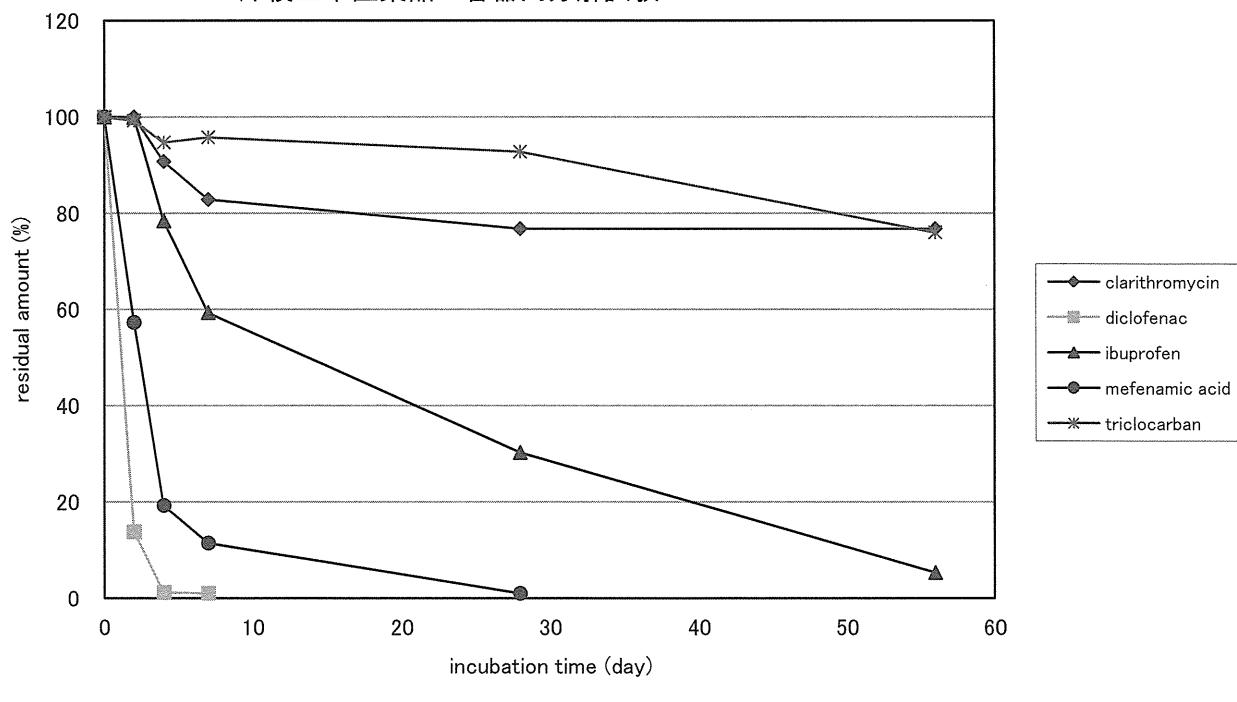


図 6 土壤中の医薬品濃度の経時変化

【参考資料】

今回検討に用いた農薬の地下水汚染を評価するためのシミュレーションモデルの判定結果の整合性に関して、これまでに東京都多摩地域における農薬地下水汚染の実態調査結果と比較した報告(鈴木ら、多摩地域における地下水中の農薬の汚染実態調査、東京都立衛生研究所年報、49号、210-217)がある。実態調査で検出される農薬(ベンタゾン、シマジン、テルブカルブ)は、室内実験から求めた K_{oc} と $t_{1/2(soil)}$ を用いてシミュレーションモデルによる判定を行った場合、いずれもモデルにおいても、地下水汚染の可能性ありと判定され(図7、各モデルの判定基準線よりも右側に位置する)、これらモデルと実態調査との間には整合性が認められている。

農薬の地下水汚染予測モデル

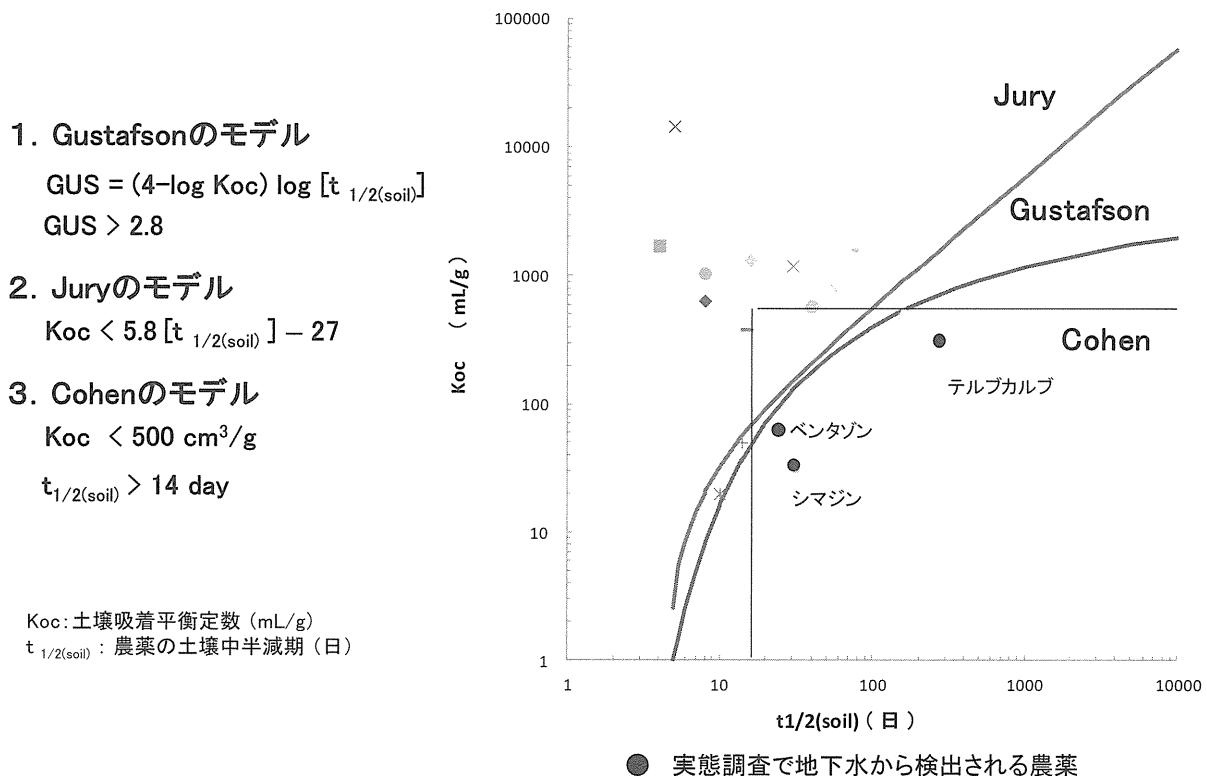


図7 農薬の地下水汚染の予測モデル

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
鈴木俊也、小杉有希、矢口久美子、保坂三継、小縣昭夫、西村哲治、中江 大	水環境中の抗インフルエンザウイルス剤の分析法	東京都健康安全研究センター年報	62	233～236	2011

