

福岡市内河川水における向精神薬の実態調査*

小原 浩史**・宗 かのこ**
平野 真悟**・中牟田 啓子**

キーワード ① LC-MS/MS ② 向精神薬 ③ 一斉分析法 ④ 河川水 ⑤ 生態リスク評価

要 旨

「麻薬及び向精神薬取締法」¹⁾ によって規制されている物質の中から、標準品として入手可能であり、一斉分析が行われていない22物質の向精神薬類について、LC-MS/MSを用いた一斉分析法を開発した。また、平成23年5月に福岡市内を流れる各河川環境基準点の最下流域14地点において実態調査を行った。調査の結果、14河川中7河川において11物質の向精神薬が検出された。さらに、調査対象の向精神薬22物質について、甲殻類を用いた遊泳阻害試験を行い水生生物に対する生態リスク評価を試みた。

1. はじめに

昨今、下水放流水や河川水等の水環境中からさまざまな PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) が検出されている²⁻⁵⁾。PPCPs は日常的に多種多様の物質が使用され服用後尿などから排泄されるが、比較的親水性で難分解性の物質が多いため、活性汚泥を用いて処理を行う一般的な下水処理場では除去されにくい⁶⁾。このため、水生生物等水環境への影響が懸念され新たな環境汚染物質として注目をされている⁷⁻⁸⁾。

PPCPs の中で医薬品類は生理活性を持つように設計されているものが多い。とくに向精神薬は精神科等での治療や、手術における麻酔で用いられ、極微量で中枢神経系に影響を与える化学物質である。また、うつ病患者数は10年前に比べ倍増⁹⁾しており、その治療に使われる向精神薬の使用量も増加傾向であるが、水環境中の実態調査や水生生物への影響調査はあまり行われていない。

そこで今回、液体クロマトグラフタンデム質量分析装置(LC-MS/MS)を用いた向精神薬類の一斉分析法を開発し、福岡市内を流れる各河川環境基準点における実態調査を行うとともに、甲殻類を用いた生態リスク評価を行ったので報告する。

2. 調査方法

2.1 調査対象物質および試薬

「麻薬及び向精神薬取締法」によって規制され、国内で流通している39物質¹⁰⁾の中から標準品として入手可能であった22物質を調査対象とした(表1)。標準品のうち、モダフィニル、メチルフェニデート、ペンタゾシン、アルプラゾラムについてはシグマ アルドリッチ製を、その他の向精神薬については和光純薬工業(株)製を用いた。また、内部標準物質(サロゲート化合物)として、アルプラゾラム-D5、エスタゾラム-D5、クロナゼパム-D4、クロルジアゼポキシド-D5、ジアゼパム

*Survey on Psychotropic Drug in River Water of Fukuoka City

**Koji OHARA, Kayoko SO, Shingo HIRANO, Keiko NAKAMUTA (福岡市保健環境研究所) Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

表1 調査対象物質と内部標準物質およびその測定イオン

分類	調査対象物質		内部標準物質	
	物質名	MRM	内部標準物質名	MRM
一 種	モダフィニル	167>165	トリアゾラム-D4	347>312
	メチルフェニデート	234> 84	トリアゾラム-D4	347>312
二 種	フルニトラゼパム	314>268	ジアゼパム-D5	290>198
	ペンタゾシン	286> 69	トリアゾラム-D4	347>312
三 種	アルプラゾラム	309>205	アルプラゾラム-D5	314>286
	エスタゾラム	295>205	エスタゾラム-D5	300>272
	クロチアゼパム	319>154	ジアゼパム-D5	290>198
	クロナゼパム	316>214	クロナゼパム-D4	320>274
	クロバザム	301>224	ジアゼパム-D5	290>198
	クロルジアゼポキシド	300>282	クロルジアゼポキシド-D5	305>286
	ジアゼパム	285>193	ジアゼパム-D5	290>198
	トリアゾラム	343>308	トリアゾラム-D4	347>312
	ニトラゼパム	282>180	ニトラゼパム-D5	287>241
	ブラゼパム	325>140	ブラゼパム-D5	330>276
	フルラゼパム	388>315	ミダゾラム-D4	330>295
	プロチゾラム	395>316	トリアゾラム-D4	347>312
	プロマゼパム	316>182	トリアゾラム-D4	347>312
	ミダゾラム	326>291	ミダゾラム-D4	330>295
	メダゼパム	271> 91	ミダゾラム-D4	330>295
	ロフラゼパム	361>259	ジアゼパム-D5	290>198
ロラゼパム	321>275	ロラゼパム-D4	325>279	
ロルメタゼパム	335>289	ジアゼパム-D5	290>198	

-D5, トリアゾラム-D4, ニトラゼパム-D5, ブラゼパム-D5, ミダゾラム-D4, ロラゼパム-D4の10物質を選定し、標準品として Cerilliant 製(100mg/L メタノール溶液)を用いた。その他の試薬としては、ギ酸(和光純薬工業(株)製 LC/MS 用), ギ酸アンモニウム(和光純薬工業製 高速液体クロマトグラフ用(1 mol/L)), 超純水(和光純薬工業製 PFOS・PFOA 分析用), アセトニトリル, メタノール(関東化学(株)製 LC/MS 用)を用いた。

2.2 標準液等の調整

向精神薬22物質の標準品を、それぞれメタノールに溶解し1000mg/Lの標準原液を調整した。これをメタノールで希釈し、0.01mg/Lの混合標準原液を調整した。

内部標準物質の標準品をメタノールで希釈し、0.05mg/Lの内部標準物質混合標準原液を調整した。

混合標準原液および内部標準物質混合標準原液をメタノールで希釈混合し、検量線用標準溶液を調整するとともに、各向精神薬の濃度については0.0005mg/L, 内部標準物質は0.005mg/LのIDL測定溶液を調整した。

表2 LC-MS/MS 測定条件

使用カラム	ジーエルサイエンス製 Inertsil ODS-4 内径2.1mm×長さ100mm×粒径2μm
注入量	15μL
移動相流量	0.25m L/min
ESI(+)移動相	A : 0.05%ギ酸+10mmol/L ギ酸アンモニウム B : アセトニトリル
グラジエント条件	B20%→56%(26min)平衡化10min
安定化時間	10min
乾燥ガス温度	350°C
乾燥ガス流量	10L/min
MS1温度	100°C
MS2温度	100°C
Nebulizer	50psi

2.3 装置および測定条件

LC-MS/MS の, LC 部は1200Series (Agilent 製), MS 部は6410Triple Quad (Agilent 製)を用いた。LC-MS/MS 分析において使用した内部標準物質および測定イオンの質量数を表1に, 測定条件を表2に示す。

2.4 分析方法

試料600mLに内部標準物質混合標準原液を60μL添加し, ガラス繊維ろ紙(Whatman 製 GF/C)でろ過後, ろ液500mLを分取し, 水質分析用全自動固相抽出装置(ジーエルサイエンス製のAQUA Trace ASPE 699)を用い固相抽出を



図 調査地点

行った。固相カラム(Waters製 Sep-Pak tC18)はメタノール10mL および超純水10mL でコンディショニングを行った後、10mL/minの流速で通水し、超純水10mLで洗浄、窒素ガスにて乾燥を行い、メタノール5mLで溶出させた。溶出液を0.5mL以下まで濃縮し、超純水で0.5mLに定容したものを分析試料とした。

2.5 調査地点および調査日

福岡市内を流れる各河川最下流の環境基準点14地点で調査を行った。調査地点を図に示す。調査は平成23年5月に行い、各河川とも海水の影響を受けないよう干潮時にサンプリングを行った。

2.6 オオミジンコの遊泳阻害試験および予測無影響濃度の算出方法

遊泳阻害試験はOECDのテストガイドライン¹¹⁾に準拠し行った。希釈水はISO試験水¹²⁾を30分間曝気後使用し、試験水は希釈水に被験物質(メタノール溶液)を添加したものをを用いた。対

照区試験としてISO試験水にメタノールを添加したものを行い、助剤による影響がないことを確認した。また、被験物質の最高濃度についてはメダゼパムが2mg/L、モダフィニル、ペンタゾシン、アルプラゾラム、ニトラゼパム、プロチゾラム、ロフラゼパム酸エチルが5mg/L、ジアゼパムが7.5mg/L、クロチアゼパム、プラゼパム、ミダゾラムが12mg/L、それ以外の物質については25mg/Lとした。試験には、ふ化後24時間以内のオオミジンコ(*D. magna*)を用い、暗所で48時間静置後に遊泳阻害を観察した。さらに、遊泳阻害試験結果からプロビット法を用い48h-EC₅₀を求め、これにアセスメント係数1000を除いて予測無影響濃度(PNEC: Predicted No Effect Concentration)¹³⁾を算出した。

表3 機器の検出下限値(IDL)および測定方法の検出下限値(MDL)定量下限値(MQL)

分類	物質名	機器の下限値		測定方法の下限値		
		CV(%)	IDL	CV(%)	MDL	MQL
一 種	モダフィニル	2.3	0.04	7.8	0.12	0.40
	メチルフェニデート	2.3	0.03	6.1	0.11	0.37
二 種	フルニトラゼパム	1.4	0.02	5.4	0.05	0.18
	ペンタゾシン	2.7	0.04	6.3	0.12	0.42
三 種	アルブラゾラム	2.8	0.04	2.6	0.04	0.14
	エスタゾラム	4.7	0.07	6.7	0.11	0.36
	クロチアゼパム	1.5	0.02	5.4	0.11	0.36
	クロナゼパム	2.7	0.04	6.2	0.10	0.34
	クロバザム	2.9	0.05	5.1	0.12	0.39
	クロルジアゼボキシド	4.6	0.07	3.3	0.06	0.19
	ジアゼパム	1.9	0.03	7.1	0.12	0.41
	トリアゾラム	4.9	0.08	3.0	0.05	0.16
	ニトラゼパム	5.9	0.09	5.5	0.10	0.32
	ブラゼパム	1.2	0.02	3.3	0.05	0.18
	フルラゼパム	1.9	0.03	4.2	0.09	0.30
	プロチゾラム	5.2	0.08	3.6	0.06	0.21
	プロマゼパム	5.4	0.09	5.5	0.10	0.33
	ミダゾラム	1.8	0.03	5.5	0.10	0.32
メダゼパム	2.3	0.04	8.7	0.13	0.44	
ロフラゼパム	1.7	0.03	5.4	0.14	0.47	
ロラゼパム	4.5	0.07	1.8	0.03	0.11	
ロルメタゼパム	4.2	0.07	2.6	0.05	0.18	

IDLの単位は $\mu\text{g/L}$ 、MDL、MQLの単位は ng/L (試料換算濃度)

3. 結果および考察

3.1 一斉分析法の検討

LC-MS/MSにIDL測定溶液を繰り返し8回注入し、その標準偏差より分析機器の検出下限値(IDL: 3σ)を求めた(表3)。今回測定したすべての成分でCV%は10%未満とばらつきが少なく、IDLは0.02から0.09 $\mu\text{g/L}$ の範囲であった。

向精神薬濃度が5 ng/L になるよう調整した超純水を用い、添加回収試験($n=5$)を行った(表4)。固相カラムの回収率はプロマゼパムが66%とやや低いものの、それ以外の物質については72%から120%の範囲内と良好であった。

内部標準物質を添加後、向精神薬濃度が0.5 ng/L となるように調整した河川水($n=5$)を前処理し、その標準偏差より、測定方法の検出下限値(MDL: 3σ)および定量下限値(MQL: 10σ)を求めた(表3)。今回測定したすべての物質でCV%は10%未満とばらつきが少なく、試料換算濃度でMDLは0.03から0.14 ng/L の範囲、MQLは0.11から0.47 ng/L の範囲であった。以上のことから、今回開発した向精神薬22物質のLC-MS/MS一斉分析法では、固相抽出を用いることで、0.5 ng/L 以下(試料換算濃度)の低濃度の

表4 添加回収試験結果

分類	物質名	CV(%)	回収率(%)
一 種	モダフィニル	4.6	92
	メチルフェニデート	4.0	72
二 種	フルニトラゼパム	7.5	96
	ペンタゾシン	14	86
三 種	アルブラゾラム	8.3	98
	エスタゾラム	6.4	96
	クロチアゼパム	6.1	97
	クロナゼパム	14	100
	クロバザム	5.4	99
	クロルジアゼボキシド	6.6	120
	ジアゼパム	8.3	95
	トリアゾラム	9.0	100
	ニトラゼパム	3.9	94
	ブラゼパム	6.3	95
	フルラゼパム	10	94
	プロチゾラム	6.0	96
	プロマゼパム	14	66
	ミダゾラム	7.9	91
メダゼパム	13	84	
ロフラゼパム	7.3	99	
ロラゼパム	7.3	83	
ロルメタゼパム	8.6	82	

分析が可能と考えられた。

3.2 実態調査結果

地点別向精神薬調査結果を表5に示す。

調査対象物質別にみると、第一種に指定されているモダフィニル、第二種に指定されているペン

表5 地点別向精神薬調査結果

分類	物質名	唐原川 浜田橋	多々良川 名島橋	須恵川 休也橋	宇美川 塔の本橋	御笠川 千鳥橋	那珂川 那の津大橋	樋井川 旧今川橋	金屑川 飛石橋	室見川 室見橋	名柄川 興徳寺橋	十郎川 壱岐橋	七寺川 上鯉川橋	江の口川 玄洋橋	瑞梅寺川 昭代橋
一 種	モダフィニル	N.D.	0.19	N.D.	N.D.	0.43	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	メチルフェニデート	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
二 種	フルニトラゼパム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ペンタゾシン	N.D.	0.31	N.D.	N.D.	0.81	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
三 種	アルプラゾラム	N.D.	0.28	N.D.	N.D.	0.71	0.15	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	エスタゾラム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.18	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	クロチアゼパム	N.D.	0.13	N.D.	N.D.	0.23	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	クロナゼパム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	クロバザム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	クロルジアゼボキシド	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ジアゼパム	N.D.	0.14	N.D.	N.D.	0.46	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.44	N.D.	N.D.	N.D.
	トリアゾラム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ニトラゼパム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ブラゼパム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	フルラゼパム	0.31	0.76	N.D.	N.D.	2.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.21	13
	プロチゾラム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	プロマゼパム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ミダゾラム	N.D.	0.43	N.D.	N.D.	0.19	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.14	N.D.	N.D.	1.8
	メダゼパム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ロフラゼパム酸エチル	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ロラゼパム	N.D.	1.6	N.D.	N.D.	4.9	0.66	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.1	N.D.
	ロルメタゼパム	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.7	0.25	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.: 検出下限値(MDL)未満 単位: ng/L

タゾシン, 第三種に指定されているアルプラゾラム, エスタゾラム, クロチアゼパム, ジアゼパム, フララゼパム, プロマゼパム, ミダゾラム, ロラゼパム, ロルメタゼパムと調査対象物質の半数である11物質が検出された。また, その濃度範囲は0.13から13ng/Lであった。もっとも多くの地点から検出されたのはフルラゼパムで, 約3割の河川(5河川)から検出され, 濃度範囲は0.21から13ng/Lであった。次に多く検出されたのは, ロラゼパムとミダゾラムで, それぞれ4河川から検出され, 濃度範囲は0.66から4.9ng/L, 0.14から1.8ng/Lであった。なお, 今回の調査で検出された最高濃度はフルラゼパムの13ng/Lであった。

採水地点別にみると御笠川の千鳥橋では今回検出した11物質すべてが, 多々良川の名島橋ではエスタゾラム, プロマゼパム, ロルメタゼパムを除く8物質が, 那珂川や瑞梅寺川でも数物質が検出された。これは, 多々良川の名島橋, 御笠川の千鳥橋および那珂川的那の津大橋については, 上流に下水の放流水が流れ込むため, その影響が考えられた。また, 瑞梅寺川などは上流域に下水道があまり普及していない他市町村があるため, 下水放流水の影響がない河川についても向精神薬が検出したものと推察された。

一方, 須恵川, 宇美川, 樋井川, 金屑川, 室見川, 名柄川, 七寺川の7河川ではいずれの向精神

薬も検出されなかった。これらの7河川で向精神薬が検出なかった理由としては, 上流域に下水放流水等の汚染源がないためだと考えられた。

なお, 本市下水道の普及率は平成22年度末現在99.5%(人口普及率)¹⁴⁾であるため, 市内からし尿等の家庭排水が直接河川に流れ込むことはほとんどない。

3.3 生態リスク評価

オオミジンコの遊泳阻害試験を行った結果, 第一種, 第二種向精神薬6物質については, 設定した濃度において明確な影響が見られなかったが, 第三種向精神薬のクロチアゼパム, ジアゼパム, ブラゼパム, フララゼパム, ミダゾラム, メダゼパムの6物質について遊泳阻害が確認され, 48h-EC₅₀はそれぞれ, 8.36, 5.96, 7.83, 17.3, 6.70, 1.56mg/Lであり, これより求められたPNECはそれぞれ, 8.36, 5.96, 7.83, 17.3, 6.70, 1.56 μ g/Lであった。

河川で検出された向精神薬の濃度は最高13ng/Lであることから, 検出濃度はPNECの値を大きく下回っており, 各向精神薬単独での生態影響は認められなかった。しかし, 河川や下水処理水等の水環境中には向精神薬のみならず, さまざまな化学物質が混在することから, これらの複合影響が懸念される。

4. ま と め

LC-MS/MS を用いた向精神薬22物質の一斉分析法を開発した。添加回収試験の結果、回収率はプロマゼパムが66%とやや低いものの、それ以外の物質については72から120%の範囲内と良好であった。また、河川水を用いて定量下限値を求めた結果、試料換算濃度で0.11から0.47ng/Lの範囲であり、今回開発した向精神薬22物質のLC-MS/MS一斉分析法で0.5ng/L以下(試料換算濃度)の低濃度の分析が可能と考えられた。

平成23年5月に福岡市内を流れる各河川環境基準点の最下流域14地点において実態調査を行った結果、14河川中7河川からフルラゼパム、ロラゼパム、ミダゾラム、ロルメタゼパムなど11物質の向精神薬が検出され、その最高濃度はフルラゼパムの13ng/Lであった。

オオミジンコを用いた遊泳阻害試験から算出したPNECを実態調査結果と比較すると、検出濃度がPNECの値を大きく下回っていたため、環境中での各向精神薬単独の生態影響は認められなかった。

— 参 考 文 献 —

1) 麻薬及び向精神薬取締法(昭和28年3月17日法律第14号)

- 2) 田中宏明, 金一昊, 奥田隆, 福永彩: 欧米での水環境に残留する医薬品類に関する研究状況, 用水と廃水, Vol. 50 No. 7, 48-58, 2008
- 3) 亀田豊: 人工香料および紫外線吸収剤による水環境の汚染と地球温暖化の影響, 用水と廃水 Vol. 50 No. 7, 81-87, 2008
- 4) 山本敦史, 三嶋大介, 北野雅昭: 都市型河川中の医薬品の存在, 第16回環境化学討論会講演要旨集, 770-771, 2007
- 5) 高田秀重: 新興汚染物質としての医薬品・化粧品, Vol. 50 No. 7, 35-36, 2008
- 6) 中田典秀, 真名垣聡, 高田秀重: 日本および熱帯アジア諸国の水環境における医薬品汚染の現状, Vol. 50 No. 7, 37-47, 2008
- 7) 浦瀬太郎: 医薬品類の下水処理プロセスにおける除去特性, Vol. 50 No. 7, 65-71, 2008
- 8) 山本裕史, 関澤純, 鐘迫典久, 平井慈恵, 石橋弘志, 有菌幸司: 医薬品類とパーソナルケア製品(PCPs)の水棲生物への影響, 用水と廃水, Vol. 50 No. 7, 72-80, 2008
- 9) 厚生労働省: 患者調査 傷病別年次推移表, うつ病 <http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kanja/10syoubu/suihyo18.html#04>
- 10) 厚生労働省医薬食品局 監視指導・麻薬対策課: 試験研究施設における向精神薬取扱いの手引(平成24年2月)
- 11) OECD Guideline For Testing of Chemicals 202, *Daphnia* sp., Acute Immobilization Test and Reproduction Test, 1984
- 12) 福岡市: 福岡市保健環境研究所報, 第36号, 51-54, 2011
- 13) 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), p. 19-29
- 14) 福岡市: 水処理センター管理年報, 2010