

# 福岡市内河川におけるタミフルおよびその代謝物の実態調査

小原浩史・宗かよこ・平野真悟・中牟田啓子

福岡市保健環境研究所環境科学課

## Survey on Tamiflu and its Metabolites in River Water of Fukuoka City

Koji OHARA, Kayoko SO, Shingo HIRANO, and Keiko NAKAMUTA

Environmental Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

### 要約

タミフル (Oseltamivir phosphate 以下 OP) およびその代謝物 (Oseltamivir carboxylate 以下 OC) について、LC-MS/MS を用いた分析法の検討を行い、さらに、2011 年 12 月福岡市内を流れる河川の環境基準点 19 地点で実態調査をした。この結果、御笠川の金島橋や千鳥橋など数地点において OP や OC が検出されたが、それらの上流にある板付橋では両物質とも検出しなかったため、板付橋と金島橋の間にある下水処理場の放流水が影響していると考えられた。このため、御笠川 3 地点 (板付橋、東光寺橋、金島橋)、および御笠川に流れ込む諸岡川 1 地点 (諸岡橋) の合計 4 地点において、2012 年 1 月から 3 月まで詳細調査を行ったところ、OP は最高 180ng/L、OC は 400ng/L 検出された。

**Key Words** : PPCPs Pharmaceuticals and Personal Care Products, タミフル Oseltamivir phosphate, タミフル代謝物 Oseltamivir carboxylate, 液体クロマトグラフタンデム質量分析装置 LC-MS/MS

## 1 はじめに

近年、環境中における PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) の存在に関心が高まっている。PPCPs の中でも医薬品は生理活性を持つものが多く、比較的親水性の高い化学物質であるため、水環境汚染、また、水生生物への影響が懸念されている<sup>1-6)</sup>。

主に冬になると流行するインフルエンザの治療には、OP やリレンザ (Zanamivir) などが用いられる。2009 年には豚由来の新型インフルエンザが大流行し、世界的に大きな問題となったことは記憶に新しい。

OP はプロドラッグであるため、そのままでは生理活性をもたないが、服用後、肝臓の酵素によって活性体へ代謝 (加水分解) され、生理活性をもつ OC になる。なお、OP のバイオアベイラビリティ (生体利用率) は 70 ~ 80% 程度である<sup>7)</sup>。また、活性体は吸収効率が悪いので体内には微量しか吸収せず、尿などから OP と共に大部分が排出される。これら排出された OP や OC は下水処理場を経て河川や海等の水環境中に放出される。

世界的にみて、国内における OP の使用量はかなり多

いものとなっているが、環境実態調査報告は数少ない。そこで、LC-MS/MS を用いた OP および OC の分析法を検討した後、福岡市内を流れる河川について実態調査を行ったので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 調査対象物質および試薬

抗インフルエンザ薬である OP およびその代謝物の OC を調査対象物質とし、標準品は OP が Beta Pharma 製を、OC、タミフル内部標準物質 (OP-d<sub>3</sub>)、タミフル代謝物内部標準物質 (OC-d<sub>3</sub>) については Toronto Research Chemicals 製を用いた。その他の試薬としては、ギ酸 (和光純薬工業製 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 (1mol/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 (関東化学製 LC/MS 用) を用いた。



図1 調査地点図

## 2.2 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 の測定条件を表 1 に示す。

表 1 LC-MS/MS の測定条件

HPLC		
Column	GL Sciences Inertsil Amide 2.1mm×100 mm×3µm	
Column temp.	40 °C	
Mobile phase	A: 0.05% <chem>HCOOH</chem> +10 mM <chem>HCOONH4</chem> B: <chem>CH3CN</chem>	
Gradient profile	B:90%(0min)-0%(15min)	
Flow rate	0.2mL/min	
Post time	15 min	
Injection volume	1µL	
MS/MS		
Ionization	ESI(+)	
Gas Temp.	350 °C	
Gas Flow	10L/min	
MS1 Temp	100 °C	
MS2 Temp	100 °C	
Nebulizer	50psi	
MRM	Target(m/z)	Qualifier(m/z)
	OP : 313>225	313>208
	OP-d <sub>3</sub> : 316>228	316>211
	OC : 285>197	285>138
	OC-d <sub>3</sub> : 288>200	288>183

## 2.3 分析方法

スクリーニング試験として、試料をシリンジフィルター (ADVANTEC 製 DISMIC-25CS Cellulose Acetate 0.45µm) でろ過後、ろ液を LC-MS/MS で測定した。OP のピークが確認された試料については、試料 10mL に内部標準物質として OP- d<sub>3</sub> および OC- d<sub>3</sub> をそれぞれ 5ng 添加し、シリンジフィルターでろ過後、ろ液を分析試料とした。また、OP のピークが確認されなかった試料については、試料 150mL に内部標準物質として OP- d<sub>3</sub> および OC- d<sub>3</sub> をそれぞれ 0.075ng 添加し、ガラス繊維ろ紙 (Whatman GF/C) でろ過後、ろ液 100mL を分取しアスコルビン酸を用いて pH3 程度に調整し、水質分析用全自動固相抽出装置 (ジーエルサイエンス製 AQUA Trace ASPE 699) で固相抽出を行った。固相カラム (Waters 製 Oasis HLB Plus) 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、1mL/min の流速で通水した。通水後、固相カラムを超純水 10mL で洗浄し、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 40°C に加温後、窒素を用いて 0.5mL 程度まで濃縮し、超純水で 1.0mL に定容したものを分析試料とした。

## 2.4 調査地点および調査日

福岡市内を流れる河川の環境基準点 19 地点で実態調査を行った。調査地点を図 1 に示す。2011 年 12 月に調査を行い、各河川最下流の環境基準点については、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。また、OP、OC が検出された御笠川の板付橋、東光寺橋、金島橋および御笠川に流れ込む諸岡川 1 地点（諸岡橋）の合計 4 地点について、2012 年 1 月から 3 月まで詳細調査を行った。詳細調査地点を図 2 に示す。

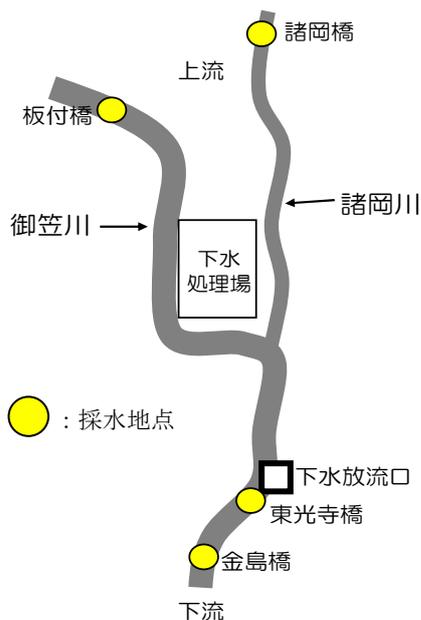


図 2 詳細調査地点図

## 3 結果および考察

### 3.1 装置の検出下限値 (IDL) および定量下限値 (IQL)

LC-MS/MS に濃度 0.1 $\mu\text{g/L}$  の OP、OC を繰り返し 8 回注入し、内部標準法で変動係数(CV%)、IDL(3 $\sigma$ )、IQL(10 $\sigma$ )を求めた。装置の IDL および IQL を表 2 に示す。CV% は OP、OC 共に 5% 未満とばらつきが少なく、IDL は OP が 0.015 $\mu\text{g/L}$ 、OC が 0.011 $\mu\text{g/L}$  であった。

表 2 装置の検出下限値および定量下限値

物質名	MRM	平均	標準偏差	CV(%)	検出下限	定量下限
OP	313>225	0.108	0.0049	4.5	<b>0.015</b>	<b>0.049</b>
OC	285>197	0.106	0.0037	3.5	<b>0.011</b>	<b>0.037</b>

n=8 単位:  $\mu\text{g/L}$

### 3.2 測定方法の検出下限値 (MDL) および定量下限値 (MQL)

サロゲート化合物を添加後、OP および OC が 1 $\text{ng/L}$  と

なるように調整した河川水について固相抽出(100 倍濃縮)を行い、CV%、MDL(3 $\sigma$ )、MQL(10 $\sigma$ )を求めた。測定方法の MDL および MQL を表 3 に示す。CV% は OP、OC 共に 10% 未満とばらつきが少なく、試料濃度換算で MDL は OP、OC 共に 0.16 $\text{ng/L}$ 、MQL は OP が 0.54 $\text{ng/L}$ 、OC が 0.53 $\text{ng/L}$  であった。今回検討を行った LC-MS/MS を用いた OP および OC の分析では、固相抽出を用いることで、0.6 $\text{ng/L}$  以下(試料濃度換算)の低濃度分析が可能と考えられた。

表 3 測定方法の検出下限値および定量下限値

物質名	MRM	平均	標準偏差	CV(%)	検出下限	定量下限
OP	313>225	1.00	0.0054	5.4	<b>0.16</b>	<b>0.54</b>
OC	285>197	1.03	0.0053	5.1	<b>0.16</b>	<b>0.53</b>

n=5 試料濃度換算 単位:  $\text{ng/L}$

### 3.3 添加回収試験

OP、OP-d<sub>3</sub> および OC、OC-d<sub>3</sub> の濃度が 10 $\text{ng/L}$  になるように調整した河川水を用いて添加回収試験(n=5)を行った。添加回収試験の結果を表 4 に示す。すべての物質で回収率は 90% 以上と良好であった。なお、OP、OC については内部標準法 (ISTD) で、OP-d<sub>3</sub>、OC-d<sub>3</sub> については絶対検量線法 (ESTD) で回収率計算を行った。

表 4 河川水への添加回収試験

物質名	MRM	平均	標準偏差	回収率(%)
OP	313>225	11	0.022	<b>105</b>
OC	285>197	9.8	0.028	<b>97.8</b>
OP-d <sub>3</sub>	316>228	9.7	0.024	<b>97.4</b>
OC-d <sub>3</sub>	288>200	9.3	0.022	<b>92.8</b>

n=5 試料換算濃度 単位:  $\text{ng/L}$

### 3.4 実態調査結果

2011 年 12 月に福岡市内を流れる河川環境基準点 19 地点で OP および OC の調査を行った。測定結果を表 5 に示す。

表 5 福岡市内を流れる河川環境基準点における OP・OC 調査結果

採水日	河川名	地点名	OP	OC	採水日	河川名	地点名	OP	OC
2011/12/19	唐原川	浜田橋	<0.6	<0.6	2011/12/20	室見川	室見橋	<0.6	<0.6
	多々良川	名島橋	<0.6	<0.6		金屑川	飛石橋	<0.6	<0.6
	多々良川	雨水橋	<0.6	<0.6		樋井川	旧今川橋	<0.6	<0.6
	須恵川	休也橋	<0.6	<0.6		御笠川	板付橋	<0.6	<0.6
2011/12/20	宇美川	塔の本橋	<0.6	<0.6	御笠川	金島橋	2.0	5.5	
	瑞梅寺川	昭代橋	<0.6	<0.6	2011/12/26	御笠川	千島橋	1.2	4.5
	江の口川	玄洋橋	<0.6	<0.6		那珂川	塩原橋	<0.6	<0.6
	七寺川	上鯉川橋	<0.6	<0.6	那珂川	住吉橋	<0.6	1.4	
2011/12/20	十郎川	老枝橋	<0.6	<0.6	那珂川	那の津大橋	<0.6	1.0	
	名柄川	興徳寺橋	<0.6	<0.6					

ng/L

各地点の OP および OC 濃度をみると、御笠川の金島橋で OP が 2.0 $\text{ng/L}$ 、OC が 5.5 $\text{ng/L}$ 、千島橋で OP が 1.2 $\text{ng/L}$ 、OC が 4.5 $\text{ng/L}$ 、那珂川の住吉橋・那の津大橋では OC がそ

れぞれ 1.4, 1.0ng/L 検出された。その他の地点は OP, OC 共にすべて定量下限値未満であった。

御笠川および那珂川の最上流地点では OP, OC 共に定量下限値未満であったが、御笠川の金島橋、千鳥橋や那珂川の住吉橋、那の津大橋では検出された。この原因として、金島橋、住吉橋の上流に下水処理施設があり、そこから放流される下水処理水の影響が考えられたため、2012 年 1 月から 3 月まで下水処理水が流れ込む御笠川の本流を中心として詳細調査を行った。この結果、下水放流水が流れ込む地点より上流に位置する板付橋の OP がすべて <0.6ng/L, OC が <0.6~2.2ng/L, 御笠川の支流である諸岡橋の OP がすべて <0.6ng/L, OC が <0.6L~1.0ng/L と極微量の検出であったのに対し、下水放流水が流れ込む地点より下流の東光寺橋では OP が 5.0~180ng/L, OC が 13~400ng/L, 金島橋 OP が 3.9~130ng/L, OC が 10~250ng/L と比較的高濃度の値が検出された。

なお、福岡市の下水道処理人口普及率は 2011 年 3 月末時点で 99.5% となっており、河川に直接家庭の下水が流れ込むことはほとんどないと考えられる。

### 3.5 東光寺橋における OP, OC 濃度推移とインフルエンザ定点当りの患者報告数との関係

今回調査を行った中で OP および OC の濃度が一番高かった東光寺橋と、関連性の認められる地区で発生したインフルエンザ定点当りの患者報告数（以後、患者数）の比較を行った。東光寺橋における OP, OC 濃度推移と患者数を図 3 に示す。

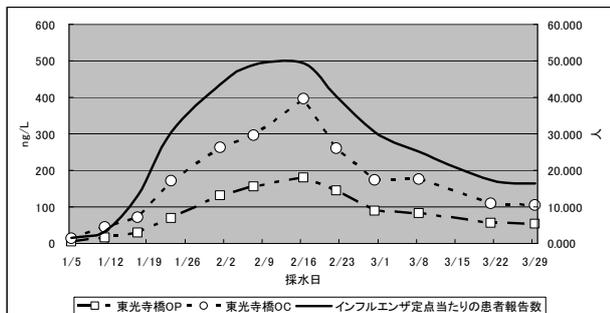


図 3 東光寺橋における OP, OC 濃度推移とインフルエンザ定点当りの患者報告数

OP, OC 濃度は 1 月初旬より増加し、2 月中旬がピークとなり 3 月末にかけ減少した。また、患者数についても同様の傾向が見られ、OP, OC 濃度と相関があること

がわかった。

## 4 まとめ

タミフルおよびその代謝物について LC-MS/MS を用いた分析法を検討した後、福岡市内を流れる河川の実態調査を行った。この結果、下水処理水が流れ込まない河川については OP および OC 共にほとんど検出されなかったが、下水処理水の流れ込む箇所より下流の調査地点については、OP が最高 180ng/L, OC は 400ng/L 検出された。また、OP, OC 濃度推移とインフルエンザ患者数に相関が見られた。

これらより、今回の調査で検出した OP, OC については、人が服用後、尿などから排出されたものが、下水処理場を経由し環境中に放出していると考えられた。

## 文献

- 1) 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
- 2) 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
- 3) 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
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 山本裕史, 関澤純, 鎌迫典久, 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(PPCPs)の水棲生物への影響, 用水と廃水, Vol.50 No.7, 72-80, 2008
- 7) 医薬品インタビューフォーム: 中外製薬(株), 抗インフルエンザウイルス剤 タミフル, 2010 年 7 月(改訂第 24 版)