

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：27401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：平成 20 年度～平成 23 年度

課題番号：21510036

研究課題名（和文）下水汚泥および産業廃棄物由来のコンポストに含まれる PPCPs の実態調査と影響評価

研究課題名（英文）Residual levels of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in recycled organic manures produced from industrial discharges and their impact evaluation

研究代表者

篠原 亮太 (Shinohara Ryota)

熊本県立大学・環境共生学部・教授

研究者番号：40316188

研究成果の概要（和文）：本研究では、コンポスト中に残留している医薬品類の汚染レベルの実態解明と植物への移行可能性、およびコンポスト中医薬品の低減方法について研究を行った。その結果、コンポスト中からは幅広い種類の医薬品が検出された。一方でコンポスト中における医薬品の残留レベルは、コンポストの酸素消費量と正の相関をもっていた。さらに、医薬品の植物への移行に関する実験を行い、医薬品が植物へと移行しうることを確認した。

研究成果の概要（英文）：We determined residual levels of pharmaceuticals in recycled organic manures produced from sludge and cattle wastes. Various pharmaceuticals were detected in the recycled organic manures. The numbers and profiles of detected pharmaceuticals were dependent on kinds of the recycled organic manure. There is a significant positive correlation between residual levels of pharmaceuticals and oxygen demands of the recycled organic manures. We confirmed transference of pharmaceuticals to plants by cultivation experiments

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 21 年度	1100,000	330,000	1430,000
平成 22 年度	900,000	270,000	1170,000
平成 23 年度	500,000	150,000	650,000
総計	2500,000	750,000	3200,000

研究分野：環境影響評価・環境政策

科研費の分科・細目：基盤研究（C）

キーワード：残留医薬品；コンポスト；分解；植物；下水汚泥

1. 研究開始当初の背景

医薬品および身体ケア製品（Pharmaceuticals and Personal Care Products: PPCPs）は医療や畜産など幅広い分野で用いられている現代社会に不可欠な化学物質である。その中で医薬品は使用量が多く、また本来の目的として、医薬品は何らかの生理学的活性を有するように分子設計されていることから、ヒトや野生生物への直

接的影響が懸念されている。さらに、環境中に高濃度の医薬品が残留することにより、薬剤に耐性を有する菌が増加することも懸念されている。これらの理由から、医薬品は近年、新たな環境汚染を引き起こす化学物質としての側面が注目されている。

医薬品は、その用途から主にヒト用医薬品と動物用医薬品に大別される。ヒト用医薬品の場合、下水処理場が水環境への直接的な医

薬品の排出源となっている。服用後の医薬品は体内で代謝され、また一部は未代謝態のまま体外へ排出され下水処理場へと流入する。下水処理場では活性汚泥法などの方法を用いて有機物の浄化処理を行っているが、これらの標準的な処理方法は医薬品の完全な分解を念頭においたものではないため、一部の医薬品は分解されずに下水汚泥に吸着した状態で存在するか、下水処理水として河川へと放流される。下水処理場において発生した下水汚泥はリン・窒素等の栄養に富んでおり、さらに循環型社会形成の観点から従来の埋め立て処分が困難になっていることを背景として、肥料として農地へ散布する量が増加している。一方で下水処理水については、特に乾燥地域の国・地域において灌漑用水として利用されている。

家畜に投与された動物用医薬品についても同様に、排泄物の中に含まれ体外に排出される。2009年の環境省の報告によると年間に発生する家畜排泄物は9,000万トンに上り、そのうち約96%が肥料として農地へと散布されている。しかしながら、上述したようにこれらのコンポストや下水放流水中には医薬品が残留している可能性が示唆されている。医薬品が残留したコンポストおよび下水処理水を農地へと継続的かつ大量に散布することは、食物を通じたヒトへの医薬品曝露や環境中における耐性菌の増加を引き起こす可能性がある。

これまでに、下水処理放流水や下水汚泥中における医薬品究類の残留レベルに関しては数多くの報告例が存在する。しかしながら、下水汚泥や畜産廃棄物から製造されたコンポスト中に実際にどの程度の濃度の医薬品が残留しているのかは明らかにされていない。さらに、コンポストや下水放流水から農作物への医薬品の移行可能性、特にヒト用医薬品については限られた情報しか存在しない。

2. 研究の目的

本研究では、①コンポスト中に残留する医薬品の汚染レベルを明らかにすること；②医薬品への植物への移行可能性を検証すること；③コンポスト中医薬品の低減方法としての発酵処理について検証することとした。

3. 研究の方法

再生肥料中に残留する医薬品濃度および挙動の調査

全国からし尿汚泥、下水汚泥、牛ふん、豚ふん、鶏ふんおよび馬ふんを主原料とするコンポスト42種類を収集した。これらの試料を処理し、LC/MS/MSを用いて12種類の残留医薬品濃度を測定した。さらに、各コンポストの腐熟度を表す指標として酸素消費量を

測定し、残留医薬品濃度との関連性を調査した。

植物を用いた医薬品の移行試験

エンドウへの移行性試験

播種から8日後(本葉4~5枚)のエンドウ(*Pisum sativum*)を供試した。下記の2種類の処理区(A・B)を設け、医薬品を添加した水溶液で栽培後、葉、茎、根、子葉の医薬品濃度を分析し、各部位の移行特性を解析した。

(処理区A):試験期間24時間,初期濃度0.25 mg L⁻¹の医薬品混合水溶液で栽培

(処理区B):試験期間72時間,初期濃度1.0 mg L⁻¹の医薬品単体水溶液で栽培

キュウリへの移行試験

播種から14日後のキュウリ(*Cucumis sativus*)を供試した。初期濃度0.25 mg L⁻¹の医薬品混合水溶液を吸水させ、24時間後に子葉より下部の茎を切断し、切断面から浸出してくる木部液を採取・分析後、根からシュート(葉・茎)への移行性の指標、すなわち医薬品の試験溶液に対する木部液の濃度比を算出した。対象医薬品には消費用が高く、環境中からの検出例が多い13種類を選定した。

発酵試験による医薬品の分解試験および中間生成物の同定

Motoyama et al. (2011)において、コンポストの腐熟度と残留医薬品濃度との間に負の相関が示されている。さらに、実験室レベルでの分解実験によってコンポストの発酵に伴いコンポスト中の医薬品が減少すると報告されている。そこで発酵プロセスをより詳細に明らかにするために、畜ふん由来のコンポストを用いて発酵による医薬品の分解試験を行うとともに、その過程において発生する中間生成物の同定を試みた。本試験においては、畜ふん中からの検出報告例がある抗菌剤6種類を対象物質として選定した。牛ふん由来のコンポスト20gをコニカルビーカーに入れ、各医薬品濃度が200 μg kg⁻¹になるように添加した。サンプルを40℃に設定したインキュベータ内に0-20日間静置した。その後、各日数における医薬品の残存量をLC/MS/MSで測定した。

また、中間生成物を同定するために上記6種類の中から尿路感染症の第1選択薬として用いられているsulfamonomethoxine: SMMXおよびtrimethoprim: TMPを対象物質として選定した。コンポスト化前の牛ふんおよびコンポスト化された牛ふん堆肥にSMMXおよびTMPをそれぞれ添加し、20日間の分解実

験を行った。生成物は LC/MS/MS のマススペクトルパターンから同定を試みた。

4. 研究成果

再生肥料中に残留する医薬品の調査

検出される医薬品の種類や濃度はコンポストの種類によって大きく異なっていた。フルオロキノロン類は、し尿汚泥および下水汚泥由来のコンポストから検出された。一方で鶏ふん、豚ふん由来のコンポストからはサルファ剤が検出された。クロルテトラサイクリンは豚ふん由来のコンポストから特異的に高濃度で検出された ($240\text{--}280\ \mu\text{g kg}^{-1}$)。

各コンポストの酸素消費量を測定した結果、酸素消費量はコンポストによって異なっていた。通常、コンポストはその製造過程における発酵処理によって有機物が分解されるために、十分な発酵処理が施されたコンポストであれば酸素消費量は低くなる。さらに、コンポストの酸素消費量と医薬品残留濃度との関係性を調査した結果、酸素消費量が高く腐熟度が低いコンポストほど医薬品の残留濃度が高い傾向にあった (図)。従って、コンポスト化における汚泥や畜ふんの発酵プロセスが残留医薬品の多寡を決定付ける要因ではないかと考えられた。

さらにその後の追加調査において、し尿汚泥と下水汚泥由来のコンポストに残留する医薬品を分析し、各医薬品検出率と化学物質の疎水性の指標であるオクタノール/水分配係数 ($\log K_{ow}$) との関連性を調査した。その結果、 $\log K_{ow}$ が高く疎水性が高い医薬品ほど

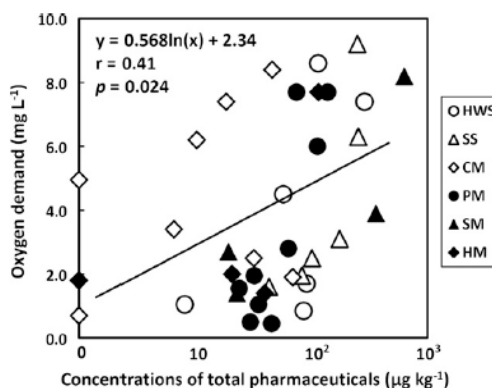


図1 コンポスト中残留医薬品濃度と腐熟度(酸素要求量)との関係

HWS: ヒトし尿汚泥由来、SS: 下水汚泥由来、CM: 牛ふん由来、PM: 鶏ふん由来、SM: 豚ふん由来、HM: 馬ふん由来

コンポスト中からの検出率が高い傾向にあることが明らかになった (図)。これは、下水処理場における活性汚泥処理において疎

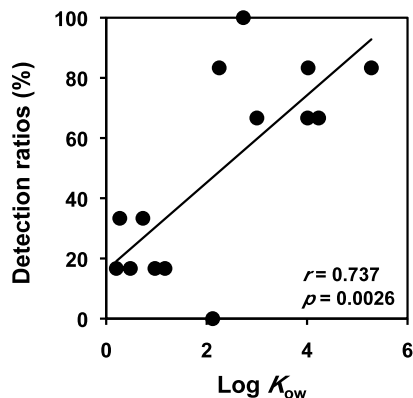


図2 コンポスト中からの残留医薬品の検出率と各医薬品の $\log K_{ow}$ との関係

水性の物質ほど下水汚泥へと容易に吸着するからであると予想された。

植物を用いた医薬品の移行試験

エンドウへの移行

試験溶液に触れていない植物部位(葉・茎)から、対象医薬品13種類のうち10種類が検出された。この結果はコンポストが土壤に散布された際に降雨によって医薬品が浸出し、植物の葉や果実、種子などの部位に移行する可能性を示している。その一方で、植物への移行・蓄積特性には医薬品によって大きな違いが認められた。対象医薬品の中で CBZ: carbamazepine は最も高いシュートへの移行性を示し、対照的に SMXZ: sulfamethoxazole は最も高い根への移行性を示した。そこで、医薬品の試験溶液に対する植物器官の濃度比(濃縮係数)を算出し、処理区 A(試験期間: 24 h、混合水溶液)と処理区 B(試験期間: 72 h、単体水溶液)の値を比較した。処理区 A から B にかけて CBZ の濃縮係数は、葉で有意な増加、茎で有意な減少を示し、CBZ の時間経過に伴う茎から葉への移行が示唆された。サルファ剤の根への濃縮係数は、処理区 A から B にかけて有意な増加を示し ($p < 0.05$)、根への蓄積性が示唆された。根に対する高い移行性は TMP においてもみられたが蓄積性は確認されず、一方で処理区 A から B にかけて茎の濃縮係数は有意な増加 ($p < 0.01$) を示したことから、時間経過に伴う根から茎への移行が推察された。

キュウリへの移行

サルファ剤の試験溶液に対する木部液の濃度比は 0.042 (SMMX)、0.022 (SMXZ)、0.029 (sulfadimethoxine: SDMX) と低値を示し、シュートへの低い移行性はエンドウの結果と一致

した。一方、CTM (濃度比: 1.5)、CPA (濃度比: 0.89)、CBZ (濃度比: 0.69) および TMP (濃度比: 0.41) では他の対象医薬品と比較してシュートへの高い移行性が確認された。しかしながら、エンドウにおいて最も高いシュートへの移行性がみられた CBZ に比べ、CTM および CPA (ciclophosamide) はキュウリシュートへの高い移行性を示し、エンドウと異なる結果が得られた。この要因として、化学物質の移行特性に関わる植物種差の可能性が考えられた。医薬品のエンドウへの移行特性を、化学物質の疎水性の指標である $\log K_{ow}$ と比較した(図 3 a)。エンドウにおいてはシュート/地下部の濃度比、キュウリにおいては木部液/試験溶液の濃度比を用いて、医薬品の $\log K_{ow}$ と根からシュートへの移行性を比較した(図 3 b)。CBZ のような中極性を示す医薬品は、シュートへの高い移行性を有し、一方で TMP やサルファ剤のような高極性を示す医薬品は、脂溶性の細胞膜を透過しにくく、シュートへの移行は根において制限されることが示唆された。また、医薬品の中には水溶液の pH の影響を受けることでイオン化(解離)し、陽イオン/陰イオン態として存在するイオン性の物質も存在する。一般に解離した物質は疎水性が低下するために非解離型の物質よりもカスパー線など細胞への透過率が低下すると考えられる。従って、 $\log K_{ow}$ に加えて各物質のイオン性 (pK_a) と根圏の pH も植物体への医薬品の移行速度に影響を与えられ

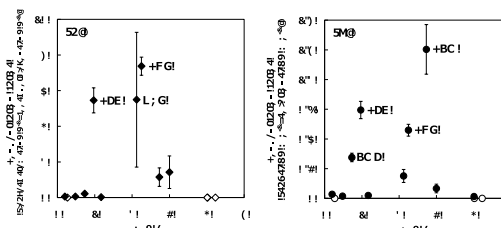


図 3 各医薬品の $\log K_{ow}$ と植物への移行率。
(a) :エンドウにおけるシュート/地下部医薬品濃度比; (b): キュウリにおける木部液/試験溶液中医薬品濃度比

発酵試験による医薬品の分解試験

対象とした 6 種類の抗菌剤は、20 日間の発酵により約 90% がコンポストから除去された (Fig.)。この結果は、Motoyama et al. (2011) において報告されたコンポスト中医薬品残

留濃度と腐熟度との関連性を支持するものである。同時に、コンポスト化の過程における発酵処理が医薬品の除去に極めて重要な役割を果たしていることを改めて示している。

牛ふん由来のコンポストから、対象区では確認されなかったピークが検出された。このピークのマスマスペクトルパターンは、SMXZ の代謝物として既に報告されている N^4 -acetyl sulfamethoxazole のものと一致していた (図 5)。この代謝物は SMXZ のアセチル化体であり、コンポスト中に存在する微生物の作用によって生成した可能性が示唆された。

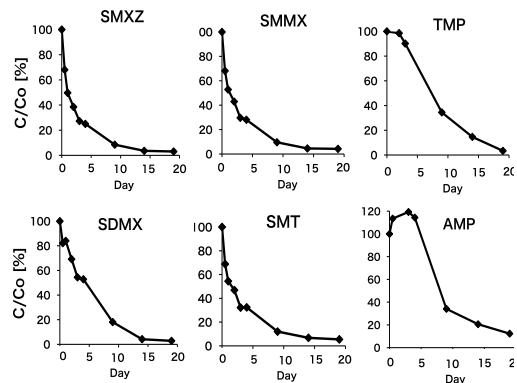


図 4 発酵試験における抗菌剤 6 種の分解

(SMXZ: sulfamethoxazole; SDMX: sulfadimethoxine; SMMX: sulfamonomethoxine; SMT: Sulfamethazine; TMP: trimethoprim; AMP: ampicillin)

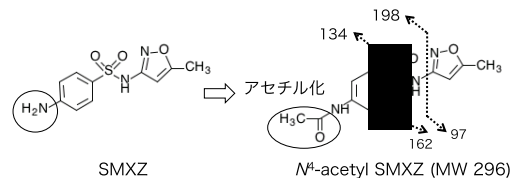


図 5 SMXZ の代謝生成物と推定される N^4 -acetyl sulfamethoxazole の構造

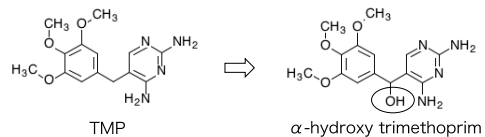


図 6 TMP の代謝生成物と予想される α -hydroxy trimethoprim の構造

一方で TMP の代謝物としては未コンポスト化の牛ふん中から α -hydroxy trimethoprim と推定されるピークが検出された (図 6)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- 篠原亮太, 医薬品類による環境汚染の現状と課題, 公衆衛生, 2010, 74, 300-304
- 野見山桂, 篠原亮太, 下水汚泥・畜産廃棄物を原料とした再生肥料(コンポスト)中の医薬品の存在. 水環境学会誌, 20120, 5, 152-155
- Motoyama M., Nakagawa S., Tanoue R., Sato Y., Nomiyama K. and Shinohara R. Residues of pharmaceutical products in recycled organic manure produced from sewage sludge and solid waste from livestock and relationship to their fermentation level. Chemosphere, 84, 432-438, 2011.

[学会発表] (計 8 件)

- Tanoue R., Motoyama M., Arizono K., Shinohara R. Pharmaceuticals uptake by pea sprouts(*Pisum sativum* L.). Society of Environmental Toxicology and Chemistry Asia Pacific 2010. Poster presentation, p360, Guangzhou, China, 2010.
- 田上瑠美, 篠原亮太. 再生肥料中に残留する医薬品の分析および豆苗 (*Pisum sativum* L.) を用いた医薬品曝露試験による医薬品の植物への吸収. 第 19 回環境化学討論会, 講演集 p462-463, ポスター発表, 名古屋, 2010.
- 中川修平, 本山充希, 中西千夕起, 野見山桂, 篠原亮太. 下水汚泥・畜産廃棄物(牛糞・鶏糞・豚糞・馬糞)を原料とした再生肥料(コンポストを含む)中の抗生物質の分析及び腐熟発酵過程における医薬品の分解. 第19回環境化学討論会, 講演集 p570-571, ポスター発表, 名古屋, 2010.
- 田上瑠美, 野見山桂, 篠原亮太. 再生肥料中に残留する医薬品および豆苗

(*Pisum sativum* L.)への医薬品の移行. 第13回日本水環境学会シンポジウム, 講演集p239, 口頭発表, 京都, 2010.

- 田上瑠美, 野見山桂, 篠原亮太. 再生肥料中に残留する医薬品の分析法の確立および医薬品曝露試験による医薬品の植物への移行. 第2回日韓環境化学シンポジウム, 講演集p129, 口頭発表, 韓国, 2010.
- 田上瑠美, 野見山桂, 篠原亮太. 下水汚泥を主原料とした再生肥料中に残留する医薬品および水耕栽培試験による医薬品の植物への移行. 第14回水環境学会シンポジウム, 講演集 p26, 口頭発表, 仙台, 2011.
- Sato Y., Tanoue R., Motoyama M., Nakagawa S., Shinohara R. Degradation of pharmaceuticals in recycled manure produced from livestock wastes and sewage sludge. 第20回環境化学討論会, 講演集 p100, ポスター発表, 熊本, 2011.
- 田上瑠美, 野見山桂, 篠原亮太. 下水汚泥を主原料とした再生肥料中に残留する医薬品および水耕栽培試験による医薬品の植物への吸収. 第20回環境化学討論会, 講演集 p35, 口頭発表, 熊本, 2011.

[その他]

ホームページ

<http://www.pu-kumamoto.ac.jp/~wer1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

篠原 亮太 (Shinohara Ryota)

熊本県立大学・環境共生学部・教授

研究者番号: 40316188