

医薬品成分の生物分解による分解中間産物に関する研究

○関根 真^{1,*}, 徳村 雅弘², 鹿野 哲之介³, 小沼 晋⁴, 益永 茂樹²

1 横国大院環情, 2 横国大院環情研究院, 3 日本大院理工, 4 日本大理工

Simple assay for identifying toxic biodegradation intermediates from pharmaceuticals, by Makoto SEKINE, Masahiro TOKUMURA, Shigeki MASUNAGA (Yokohama National Univ.), Susumu KONUMA, Tetsunosuke KANO (Nihon Univ.).

1. 緒言

現在、最も汎用的に使用されている排水処理法は活性汚泥法である。排水中の有機汚染物質は、活性汚泥中の微生物により生物分解され浄化されている。生物分解は複雑な反応機構であるため、その分解経路において多種多様な分解中間産物の生成が確認されている。

医薬品成分は極低濃度であっても生理活性が高いという特徴を持つため、その生物分解による分解中間産物も高い毒性を発揮することが懸念される。しかし、生物分解の反応機構は複雑であるため、医薬品成分の生物分解過程に生成するすべての分解中間産物を同定し、その毒性を一つ一つ調べるのは、時間的、および経済的にも現実的ではない。

本研究では、バイオアッセイの一つである Microtox 法を用いることにより、医薬品成分の生物分解過程に生成する分解中間産物を、同定および単離することなく、それらの毒性を包括的に評価する手法の検討を行った。Microtox 法は、海洋性発光バクテリアの発光阻害を指標とし、毒性を評価する方法である。従来の藻類や魚類を用いたバイオアッセイと比較し、毒性を短時間で測定できるうえ、測定者の熟練を必要とせず、装置が小型であるという利点を持っている。

2. 実験方法

本研究では医薬品成分として、下水処理場で検出されているイブプロフェン(IBP)、ナプロキセン(NPX)、ケトプロフェン(KTP)、ジクロフェナック(DCF)を用いた。活性汚泥は神奈川県横浜市都筑水再生センターの返送汚泥を用い、汚泥濃度は 2000 mg L^{-1} とした。液量は 1 L とした。反応容器としてパイレックス製ビーカーを用い、酸素供給のため、エアープンプにより曝気した。活性汚泥混合液の攪拌にはマグネチックスターラーを用いた。混合液に、医薬品成分を添加することで実験を開始した。実験中、シリンジにより混合液を採取し、ガラスろ過フィルターでろ過後、ろ液を分析した。医薬品成分および分解中間産物濃度は、紫外検出器付き液体クロマトグラフ(HPLC-UV)により測定した。毒性の測定は、Microtox 法に準じ、試料添加後 15 分後のバクテリアの発光量の減少率により、発光阻害率を求めて評価した。

3. 結果

IBP の生分解中のクロマトグラムを Fig. 1 に示す。実験初期には溶媒のピーク(保持時間 = 0.762 min)と

IBP のピーク(保持時間 = 2.163 min)のみが検出された。しかし、生分解が進むにつれ、IBP のピークは減少し、代わりに新しいピークが現れた(例えば 24 h 経過後の保持時間 1.337 min のピークなど)。これらは、IBP の分解中間産物と考えられる。このことから、IBP の生分解中において様々な分解中間産物の生成が示唆された。Fig. 2 には、IBP の生分解中の IBP 濃度と発光阻害率を示す。IBP は生物分解により、およそ 24 h で完全に分解されたが、発光阻害率はそれほど減少しなかった。これは、IBP の分解により生成した分解中間産物の毒性によるものだと考えられる。また、実験開始 72 時間後には毒性の増加が見られた。

以上の事より、IBP の生物分解過程には様々な分解中間産物が生成されることを確認し、IBP が完全に分解された後でも、毒性が残留および増加する場合があることが分かった。本手法を用いることにより、分解中間産物を、同定および単離することなく、それらの毒性を評価できる。また、毒性の経時変化とクロマトグラムを比較することで、毒性の高い分解中間産物を含むクロマトグラムのピークの検討がつけられ、その原因物質の特定の手助けとなる。

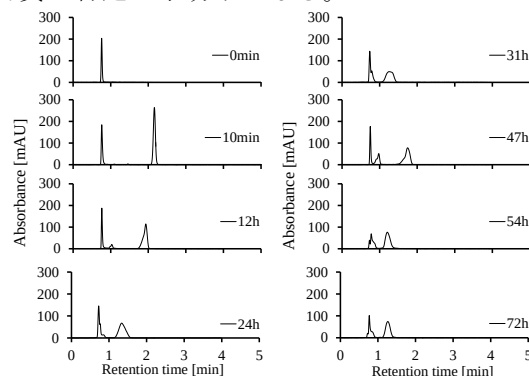


Fig. 1 IBP の生分解中のクロマトグラム

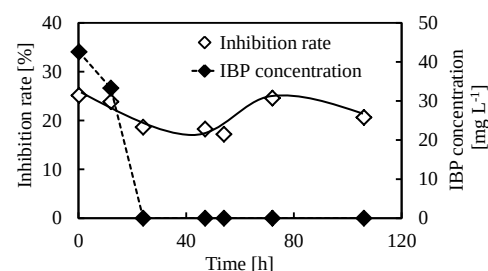


Fig. 2 生分解中の IBP 濃度と発光阻害率の経時変化

*E-mail: sekine-makoto-cw@ynu.ac.jp