

都内水域の環境ホルモン問題に関する研究（その2）

河川におけるエストロゲンの消失の機構

嶋津 暉之 和波 一夫 関 善行* 大原 拓也*

(*埼玉工業大学)

要 旨

下水処理場から排出されたエストロゲンの大半が多摩川を流下する過程で消失する機構を明らかにするため、多摩川中流部の縦断調査と、模擬河川水路を用いた室内実験を行った。その結果、主に次のことが明らかになった。

多摩川中流部の縦断調査の結果から、流下に伴うエストロゲン消失速度を求めると、水温20℃で6ng/L/Hrであって、水温と正の相関関係があった。

模擬河川水路に多摩川の河川水を入れて、エストロゲンを添加し、エストロゲンの減少速度を測定したところ、水温20℃で1ng/L/Hr程度であり、河川水中の微生物や酵素による分解がエストロゲンの消失に果たす役割は比較的小さいと判断された。

多摩川中流部の川底の石礫を模擬河川水路に入れて同様の実験を行ったところ、エストロゲンの減少速度は水温20℃で7ng/L/Hrに上昇した。この結果から河川におけるエストロゲンの消失は主に石礫に付着した微生物の分解によるものと考えられる。

キーワード：エストロゲン、17 β -エストラジオール、エストロン、河川、下水処理場、微生物分解

Study on Endocrine Disrupters in Metropolitan Rivers and Tokyo bay (2)

- Mechanism of Estrogen Disappearance in Rivers -

Teruyuki Shimazu, Kazuo Wanami, Yoshiyuki Seki* and Takuya Ohara*

*Saitama Institute of Technology

Summary

While the estrogen discharged from the sewage disposal plants flows Tamagawa, the most disappears. In order to clarify this mechanism, we conducted the investigation of the Tamagawa middle reach parts and the indoor experiment using the imitation river waterway. The following results were mainly clarified.

- (1) We calculated the estrogen disappearance speed from the investigation results of the Tamagawa middle reach parts. The speed was 6 ng/L/Hr at the water temperature of 20 degrees C, and had positive correlation to water temperature .
- (2) We put the river water of the Tamagawa into the imitation river waterway and measured the reduction speed of estrogen. The speed was about 1 ng/L/Hr at the water temperature of 20 degrees C. Therefore, It was judged that the role of the microbe and enzyme which are contained in river water, was comparatively small in the disappearance of estrogen.
- (3) We put the river bottom stones of the Tamagawa middle part into the imitation river waterway and conducted the same experiment. The reduction speed of estrogen rose to 7 ng/L/Hr at the water

temperature of 20 degrees C. Therefore, it was thought that the disappearance of the estrogen in rivers was mainly based on the decomposition by the microbe which adhered to stones.

Key words : estrogen, 17 -estradiol, estrone, river, sewage disposal plant, microbe decomposition

1 はじめに

当研究所では、1999年度から多摩川を中心に、河川におけるコイ等の生殖異常の実態、その原因物質とされる内分泌かく乱化学物質の河川中の挙動と下水処理場からの排出実態について調査を行ってきた。その結果、内分泌かく乱化学物質のうち、魚類の生殖異常を起こす可能性の高い物質は天然エストロゲン（女性ホルモン）であって、そのほとんどは下水処理場から排出されており、下水処理場放流口付近に生息するコイがエストロゲンの影響を最も強く受けていることが明らかになった^{1), 2)}。

そして、羽村堰より下流の多摩川においてエストロゲンの収支を調査したところ、河口近くまで流下する間に、下水処理場から排出されたエストロゲンの60～80%が消失しており、その消失率は季節によって変動し、水温が高いほど、消失率が大きくなることが明らかになった³⁾。

河川を流下する過程でエストロゲンの大半が消失するのはどのような機構によるものか、その機構を明らかにするためには、エストロゲンの挙動に関して河川の詳細な縦断調査を行うとともに、模擬河川水路を用いた室内実験で河川水の流下を再現してエストロゲンの挙動を調べる必要がある。今回、この機構解明のため、多摩川中流部の縦断調査と、模擬河川水路を用いた室内実験を実施した。この調査と実験により、河川におけるエストロゲンの消失の機構についていくつかの知見が得られたので、その結果を報告する。

2 方法

(1) 多摩川中流部の縦断調査

多摩川中流部にある東京都北多摩一号下水処理場の直上流の稲城大橋から、約3km下流にある二ヶ領上河原堰（以下、二ヶ領堰と記す）までの7地点を対象として、処理場から排出されたエストロゲンの挙動に関する調査を行った。調査地点を図1に示す。この区間は、家庭污水等の流入がわずかであるので、処理場から放流されたエストロゲンの挙動を見るのに適した区間である。この区間の底質はほとんど石礫で覆われている。採水は上流から下流に向かって、河川水の流下の時間に概ね合わせて行った。この調査ではエストロゲンの成分のほかに、参考のため、BOD、COD等の一般項目の挙動についても

調査を行った。調査は2002年5月から2003年3月までの期間において概ね毎月1回の頻度で行った。

(2) 模擬河川水路を用いた室内実験

図2に示す模擬河川水路を実験室内に設置し、多摩川中流部の河川水等を入れて、エストロゲンの挙動を調べる実験を行った。水路内の初期水量は約52Lで、ポンプで水路の出口から入口へ循環させ、水流を維持した。水深は15cm、流速は毎秒約10cmであった。水温は冬期から夏期までの12、20、28の3段階を設定した。水路内には適宜、多摩川中流部の川底から採取した石礫を入れたり、或いは下水処理場の活性汚泥を添加したりして実験条件を変更した。実験開始時にエストロゲンとして17-エストラジオール（以下、エストラジオールと記す）とエストロンをそれぞれ40ng/L程度添加して、この2成分の挙動を調べた。

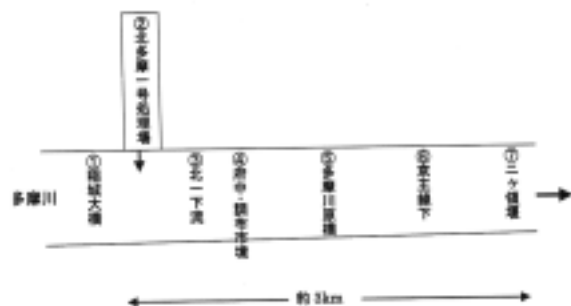


図1 多摩川中流部の縦断調査地点図

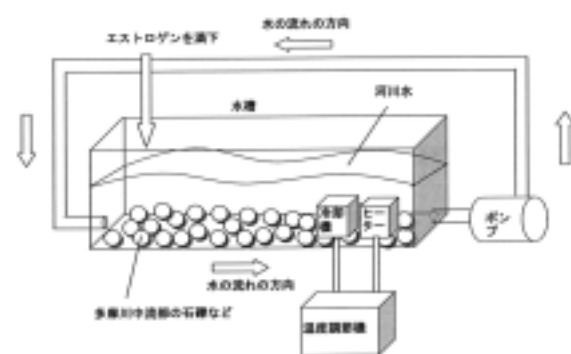


図2 模擬河川実験水路

(3) 分析の方法

ア 多摩川中流部の縦断調査

内分泌かく乱化学物質については既報²⁾の図1のフローで試料の濃縮を行った上で、エストロゲンの主要成分であるエストラジオールとエストロンを分析した。この2成分をELISA法(抗原抗体反応を利用した酵素免疫法)で測定し、一部の試料についてはLC-MS/MS法でも分析を行った。

ELISA法の分析に用いたキットは次のとおりである。

- ・17-エストラジオール: TAKEDA 17-Estradiol ELISAキット
- ・エストロン: TAKEDA Estrogen ELISAキット

TAKEDA 17-Estradiol ELISAキット

エストロンは の分析値から の分析値を引いて求める。

LC-MS/MS法の分析にはHPLCとしてHP-1100(Hewlett Packard製)、MS/MSとして四重極LC/MS/MS Quattro LC(Micromass製)を使用し、カラムはCAPCELL PAK C18(資生堂製)を用いた。

また、エストロゲン総合作用強度をBrunel大学の遺伝子組み換え酵母法で測定し、ELISA法の分析結果のクロスチェックを行った。

その他に、C-BOD、COD、TOC、T-N、NH₄-N、NO_x-N、T-P、PO₄-P、塩素イオン等の一般項目も分析した。分析の方法は窒素・リンの各項目はオートアナライザー、TOCはTOC計、塩素イオンはイオンクロマトグラフを使用し、その他の項目はJIS-K0102にしたがって分析した。

イ 模擬河川水路実験

エストラジオールとエストロンをHPLC(高速液体クロマトグラフ)で分析した。分析条件は次のとおりである。HPLC:資生堂 NANOSPACE S1-1、検出器:パルス式電気化学検出器、分離カラム:医理化製 RP-18T(内径2mm、長さ25cm)、溶離液:水60%/アセトニトリル40%に50mMの過塩素酸ナトリウムを添加してpH2.6に調整したもの、流速:0.2mL/min、試料注入量:10μL

3 結果と考察

(1) 多摩川中流部の縦断調査

ア 夏期と冬期の調査結果

多摩川中流部約3kmの区間7地点について5月から翌年3月まで延べ10回、エストロゲンの挙動を把握するた

めの縦断調査を行った。この調査結果のうち、夏期と冬期の例として8月と12月のエストロゲン2成分をLC-MS/MS法で分析した結果を図3、4に示す。8月、12月ともエストラジオールとエストロンは下水処理場放流水の流入で濃度が急上昇し、その後は流下とともに濃度が低下していくが、8月は12月に比べて濃度の低下幅が大きい。また、処理場放流水のエストロンはエストラジオールの4~5倍の濃度があって、河川水においてもその比はあまり変わらず、エストロゲン2成分は同じような比で変化した。

流下に伴う濃度低下には湧水等が流入して希釈されることによるものも含まれている。湧水等の塩素イオン濃度が放流水流入前の河川水のそれと同じであると仮定すれば、湧水等流入による希釈度を次式から求めることができる。

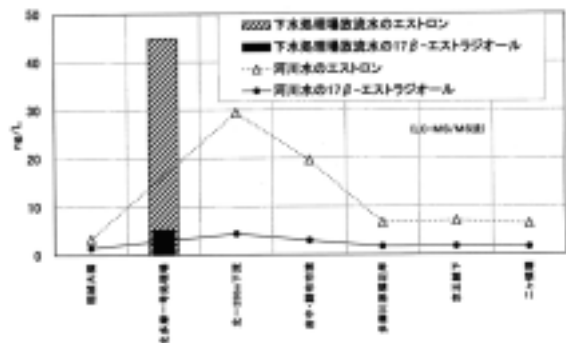


図3 多摩川中流部の縦断調査 (17-エストラジオールとエストロン 8月)

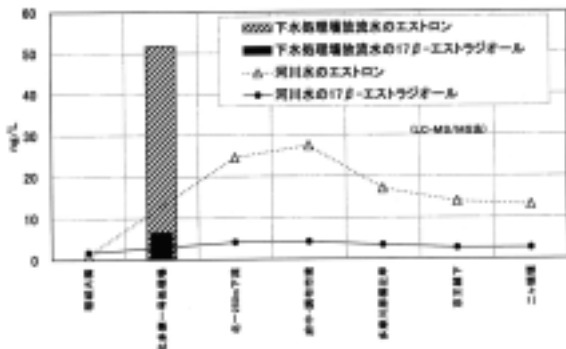


図4 多摩川中流部の縦断調査 (17-エストラジオールとエストロン 12月)

湧水等流入による希釈度 = (K3 - K1) / (K2 - K1)

K1: 放流水流入前の河川水の塩素イオン

K2: 処理場放流水の塩素イオン

K3: 放流水流入後の河川水の塩素イオン

この希釈による濃度低下だけがあった場合、すなわち、河川での分解等による消失がないとした時のエストロゲン濃度を上式から推定した。8月と12月についてこの推定値と測定値を比較した結果を図5～8に示す。8月においては多摩川原橋から下流ではエストラジオール、エストロンとも消失がないとした時の推定値を実際の測定値がかなり下回っており、エストロゲンの消失があることを示している。多摩川原橋での消失率はそれぞれ32%、57%であった。ただし、多摩川原橋より下流では消失率が逆に多少小さくなっている。この理由としては採水の時刻が河川水の流下に対応していないため、処理場放流水質の時間変動の影響が現れたことが考えられる。

一方、12月においてはエストラジオール、エストロンとも、消失がないとした時の推定値と測定値との差は非常に小さく、消失はわずかである。

参考のため、一般項目、すなわち、C-BOD、COD、TOC、T-N、T-Pについても同様に、8月を例にとって消失

がないとした時の推定値と測定値を比較した結果を図9～13に示す。8月以外の月もほぼ同様な傾向であった。COD、TOC、T-N、T-P はいずれも推定値と測定値との差がわずかであって、COD にかかる有機物質、TOC が示す全有機物質、T-N が示す全窒素、T-P が示す全りんについてはこの約3kmの区間では分解や吸着による減少の機構がごくわずかしき働いていない。一方、BOD は他の項目と動きが少し違っている。BOD は多摩川原橋まで測定値と推定値との差がないが、京王線下から下流では測定値は推定値の半分に低下している。同じような傾向は5～7月にもみられたが、9月以降は測定値と推定値の差がほとんどなくなった。BOD は生物によって分解されやすい有機物質の指標であるが、多摩川原橋と京王線下の間だけ、その種の有機物質が生物分解を受けた理由は不明である。

このように、BODを除けば、調査対象の約3kmの区間では、有機物質、窒素、りんとも8月においても減少がわずかであるが、一方、エストロゲンに関しては、8月は大幅に減少し、12月になると、減少率がわずかになっている。このように流下に伴うエストロゲンの挙動は一般項目とは異なっている。

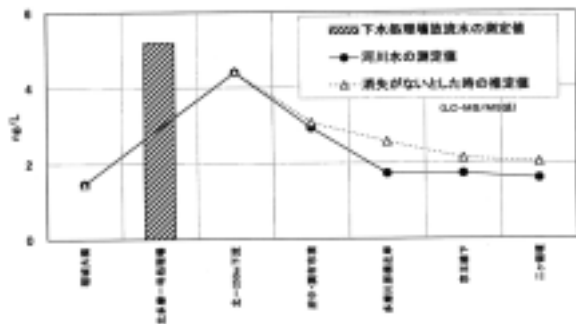


図5 多摩川中流部の縦断調査
(17 エストラジオール 8月)

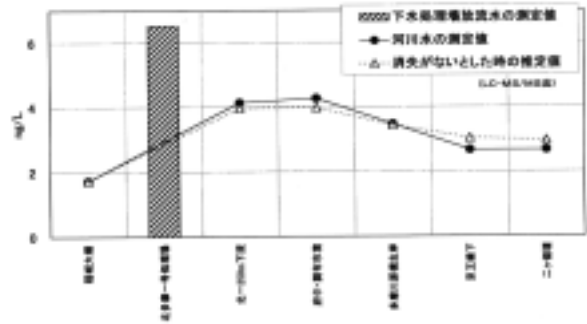


図7 多摩川中流部の縦断調査
(17 エストラジオール 12月)

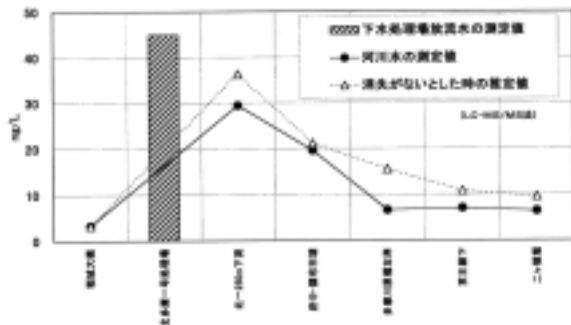


図6 多摩川中流部の縦断調査
(エストロン 8月)

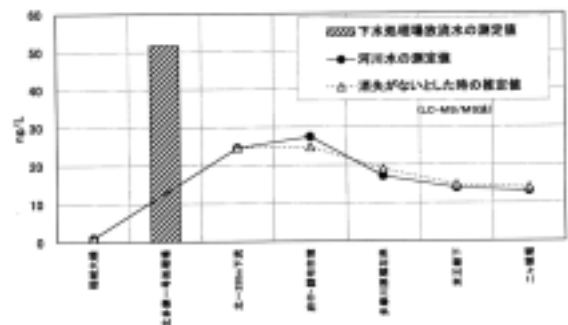


図8 多摩川中流部の縦断調査
(エストロン 12月)

イ エストロゲン減少速度と水温との関係

前出の図3～8は LC-MS/MS 法によるエストロゲンの分析結果を示したものである。LC-MS/MS 法で測定したのは一部の試料であって、毎月の試料は ELISA 法で測定した。LC-MS/MS 法と ELISA 法の測定値の関係を図14、15に示す。エストロンは両者の相関係数が高く、回帰係数は1に近い。エストラジオールはエストロンと比べると、相関係数が若干低い、回帰係数は1に近い。ELISA 法は交差反応性が多少あってエストロゲン以外の物質にも反応することがあるため、LC-MS/MS 法より測

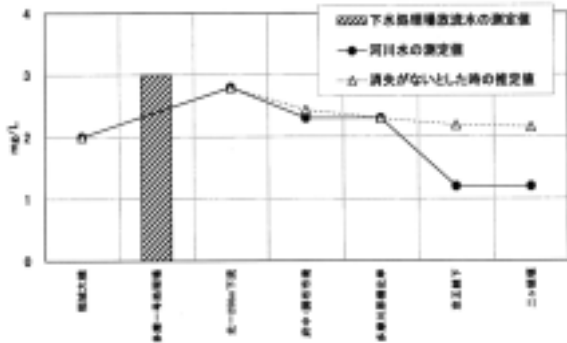


図9 多摩川中流部の縦断調査 (C-BOD 8月)

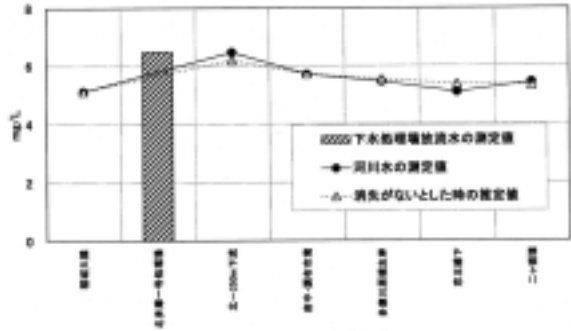


図12 多摩川中流部の縦断調査 (T-N 8月)

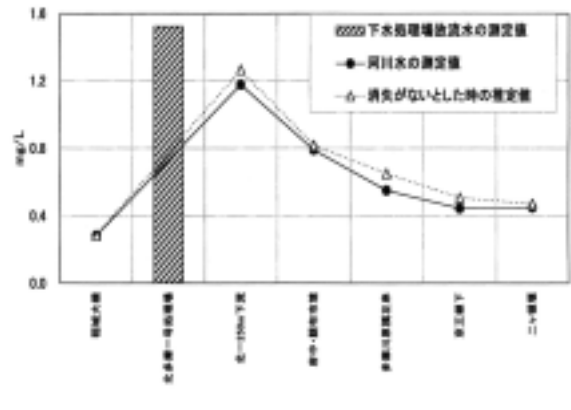


図13 多摩川中流部の縦断調査 (T-P 8月)

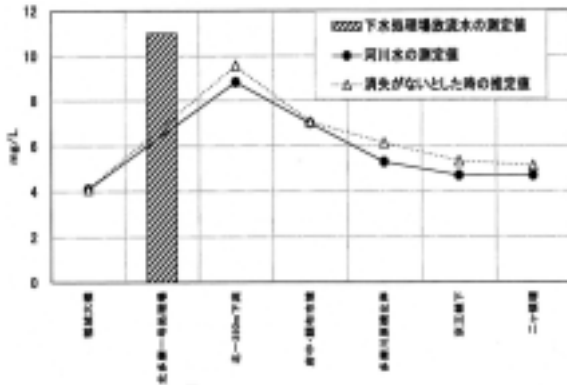


図10 多摩川中流部の縦断調査 (COD 8月)

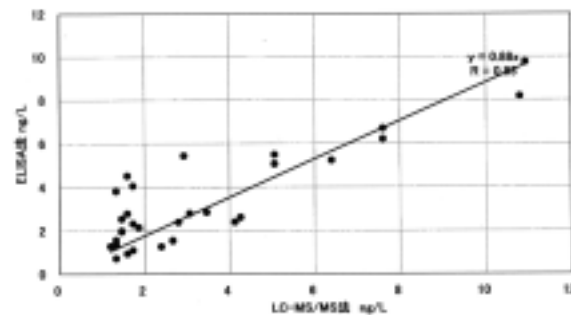


図14 LC-MS/MS法とELISA法 (17-エストラジオール)

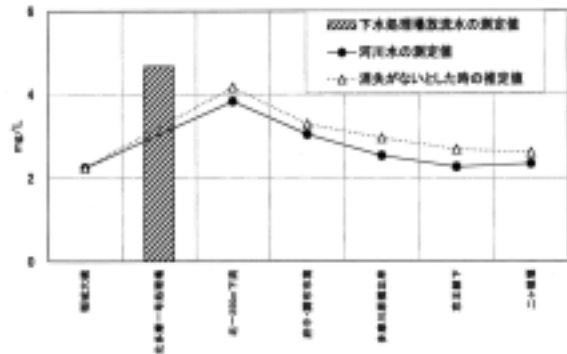


図11 多摩川中流部の縦断調査 (TOC 8月)

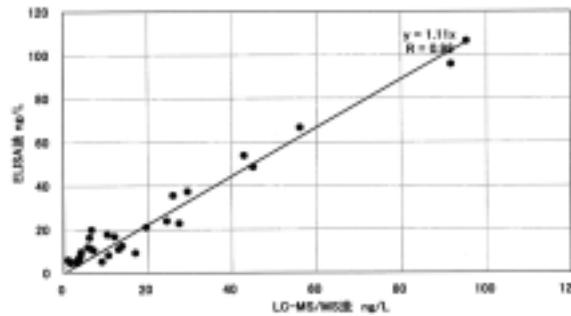


図15 LC-MS/MS法とELISA法 (エストロン)

定値が高めになることが多いが、今回の測定に関してはLC-MS/MS法に近い値が得られている。

そこで、ELISA法による毎月の測定値を用いて、水温とエストロゲン消失濃度との関係について解析を行った。多摩川原橋地点におけるエストラジオール+エストロンの消失濃度（[消失がないとした時の推定値] - [測定値]）と水温との関係を図16に示す。調査区間において京王線下より下流では採水の時刻が河川水の流下に対応していないことが懸念されるので、同図では多摩川原橋地点での消失濃度を取り上げた。

水温とエストロゲン消失濃度との関係は多少のばらつきがあるが、水温が上昇すると、エストロゲンの消失濃度が大きくなる傾向を読み取ることができる。下水処理場放流口から多摩川原橋までの流下時間は概ね1時間であるから、同図の回帰直線から水温とエストロゲン消失速度との関係を求めると、次のようになる。

水温	エストロゲンの消失速度
12	1 ng/ L /Hr
20	6 ng/ L /Hr
28	12 ng/ L /Hr

(2) 模擬河川水路実験

ア 無生物分解と水中微生物・酵素による分解

上述のとおり、多摩川中流部のエストロゲンの挙動調査により、流下とともにエストロゲンが消失し、その消失速度は水温が高いほど大きいことが明らかになった。このエストロゲンの消失に関してはいくつかの機構が考えられる。

無生物分解

河川水中の微生物や酵素による分解

河床の底質に付着した微生物や藻類等への吸着

河床の底質に付着した微生物による分解

この消失の機構を解明するため、実験室内に模擬河川水路を設置して、室内実験を行った。

第一段階は の影響度をみるため、模擬河川水路に蒸留水を入れて、エストラジオールとエストロンを添加し、2成分の濃度変化を調べた（水温20℃）。その結果を図17に示す。エストラジオール+エストロンは24時間以上経過しても、ほとんど濃度が一定である。2成分に分けてみると、20時間の経過でエストラジオールが10%程度減少し、エストロンが10%程度増加している。この増減は、エストラジオールが持つ二つのフェノール基の一つ

がとれてエストラジオールがエストロンに変わったことによるものである（図18）⁴⁾。この変化は、 の無生物分解である可能性が高い。

実験の第二段階として、多摩川中流部の河川水を模擬河川水路に入れてエストロゲンの濃度変化を調べた（水温20℃）。その結果を図19に示す。時間が経過してもエストロンの濃度はほとんど変わらないが、エストラジオールは少しずつ減少し、20時間の経過で約25%減少し

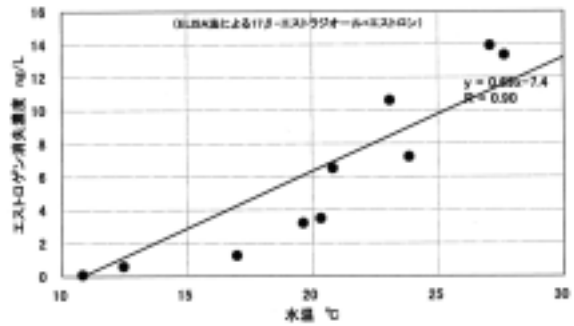


図16 多摩川原橋地点におけるエストロゲン消失濃度と水温との関係

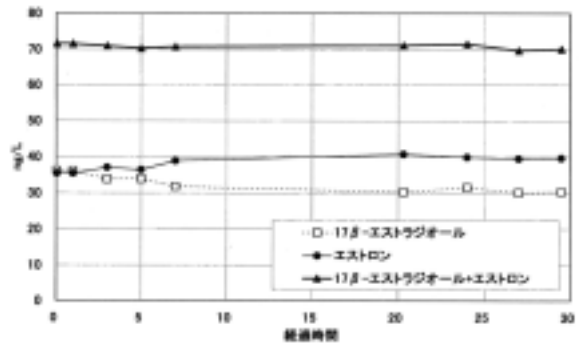


図17 模擬河川水路実験（蒸留水 20℃）

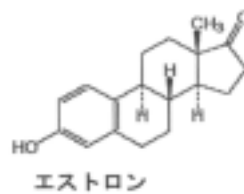
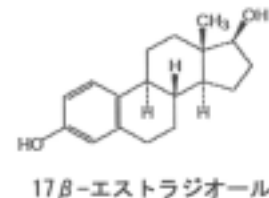


図18 エストロゲンの化学式

ている。エストラジオールがエストロンに変化したとすれば、エストロンがほぼ一定であることは、当初添加したエストロンがエストラジオールと同程度の割合で減少したことを意味する。エストロゲン2成分の減少速度は初期段階でも水温20 で1 ng/L/Hr 程度であり、(1) で求めた消失速度よりかなり小さい。したがって、の河川水中の微生物や酵素によるエストロゲンの分解はエストロゲン消失の中心ではなく、他に大きな要因があると考えられる。

イ 石礫付着微生物等による分解・吸着

実験の第三段階として、多摩川中流部の川底から採取した石礫を模擬河川水路に入れて、同様の実験を行い、エストロゲンの減少を調べた(水温20)。石礫は外径3~10cm のものを40個、水槽の底部に並べた。実験終了後に石礫の付着物をブラシで削り落として、その強熱減量を測定したところ、実験水槽の初期水量1L あたり28mg であった。この実験結果を図20に示す。

エストラジオール、エストロンとも減少速度が非常に大きく、実験開始6時間後までのエストロゲン2成分の平均減少速度は水温20 で7ng/L/Hr であった。エストラジオール、エストロンの減少速度はそれぞれ4.2、2.5ng/L/Hr であって、前者の方が大きい。これは、上述のように、エストロンはエストラジオールからの変換によるものも含めて分解されていくため、見かけ上、エストラジオールより分解速度が遅くなるからだと考えられる。

冬期や夏期を想定して水温を変えて12 と28 の条件でも同様の実験を行い、水温によるエストロゲン減少速度の違いを調べた。その結果を図21~23に示す。

実験開始6時間後までのエストロゲン2成分の平均減少速度を整理すると、次のようになる。

水温	エストロゲンの減少速度
12	2 ng/ L /Hr
20	7 ng/ L /Hr
28	9 ng/ L /Hr

この減少速度は(1) 示した多摩川中流部の消失速度に近い値であるので、河川では底部の石礫がエストロゲンの減少に大きな役割を果たしていることが示唆される。エストラジオールとエストロンに分けて考察すると、エストラジオールは水温12、20、28 の減少速度がそれぞれ1.8、4.0、4.2 ng/L/Hr で、水温の影響が比較的

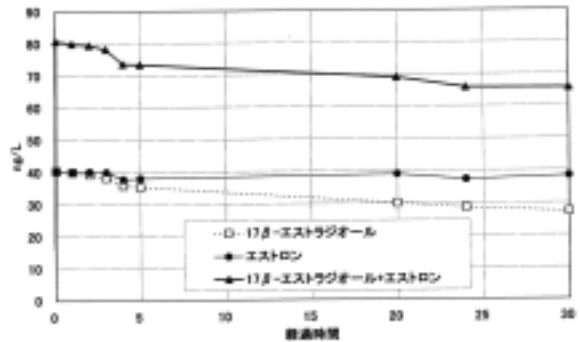


図19 模擬河川水路実験 (河川水のみ 20)

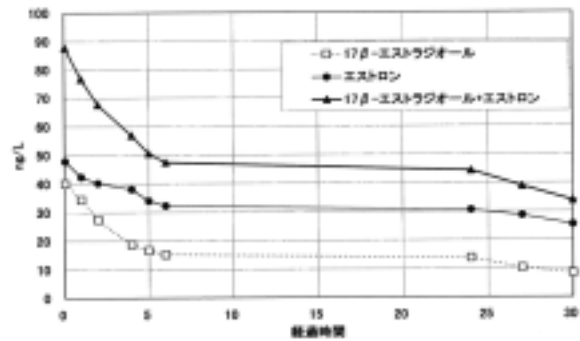


図20 模擬河川水路実験 (底質:多摩川の石礫 20)

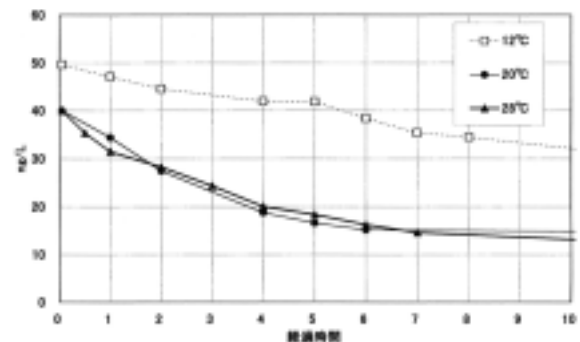


図21 模擬河川水路実験 (底質:多摩川の石礫 17 -エストラジオール)

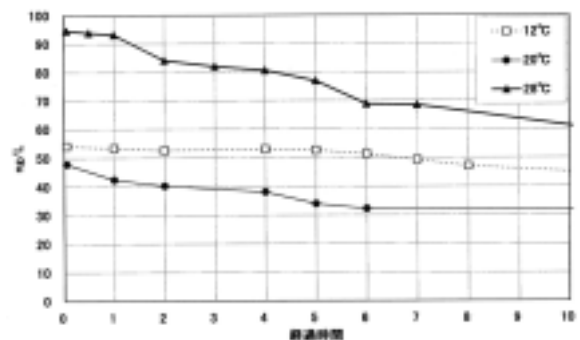


図22 模擬河川水路実験 (底質:多摩川の石礫 エストロン)

小さい。それに対して、エストロンは水温12、20、28の減少速度がそれぞれ、0.5、2.7、4.5 ng/L/Hrで、水温による差が大きい。

以上のとおり、多摩川の石礫を入れると、エストロゲンの減少速度が大幅に上昇した。このことから、河川でエストロゲンを消失させる主力となっているのは、石礫の付着物であると考えられる。石礫には微生物や藻類などが付着している。エストロゲン減少の機構としては微生物・藻類等による吸着と微生物による分解の二通りが考えられるが、水温によって減少速度が変化することを考慮すれば、の可能性が高い。

ウ 活性汚泥（微生物）によるエストロゲンの分解

そこで、微生物が持つエストロゲンの分解力を確認するため、実験の第四段階として、ほとんどが微生物で構成される下水処理場の活性汚泥を模擬河川水路に添加して、石礫なしで同様の実験を行い、エストロゲンの減少速度を調べてみた。活性汚泥は3,000mg/L程度に濃縮したものを添加した。添加量は浮遊物質濃度として実験水槽の初期水量1Lあたり20~22mgで、強熱減量としては16~18mgであった。水温は12、20、28の3段階に設定した。実験の結果を図24~26に示す。

実験開始6時間後でのエストロゲン2成分の減少速度を整理すると、次のようになる。活性汚泥の添加量はイの実験で用いた石礫付着物の強熱減量と比較すると、6割程度にあるにもかかわらず、その添加でエストロゲンの減少速度が大きく上昇した。

水温	エストロゲンの減少速度
12	8 ng/ L /Hr
20	9 ng/ L /Hr
28	12 ng/ L /Hr

水温が12に低下しても、水温20の減少速度とあまり変わらない理由については、水温20や28の場合は微生物の自己酸化がより進んで時間の経過とともに微生物の活性が低下したことが考えられる。実際に、活性汚泥添加の実験を長時間続けると、活性汚泥が分解して、その濃度が次第に低下する傾向がみられ、その傾向は水温が高いほど顕著であった。そして、活性汚泥の濃度が低下しても、その汚泥分解で水中のエストロゲン濃度が上昇することはなかったから、エストロゲンの減少は活性汚泥への吸着ではなく、活性汚泥を構成する微生物の分解によるものであると考えられる。

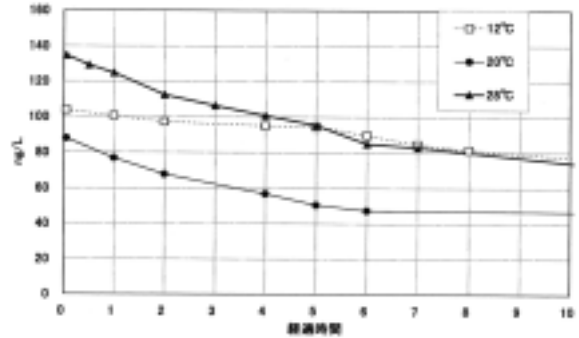


図23 模擬河川水路実験（底質：多摩川の石礫 17 -エストラジオール+エストロン）

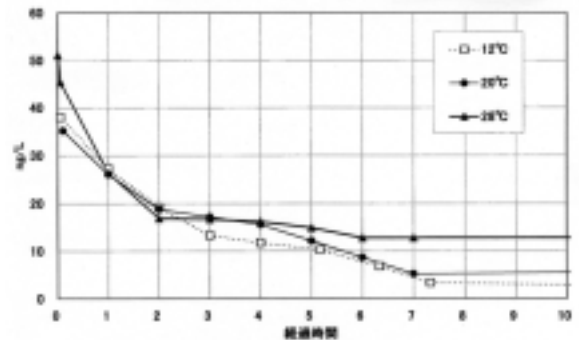


図24 模擬河川水路実験（活性汚泥を添加 17 -エストラジオール）

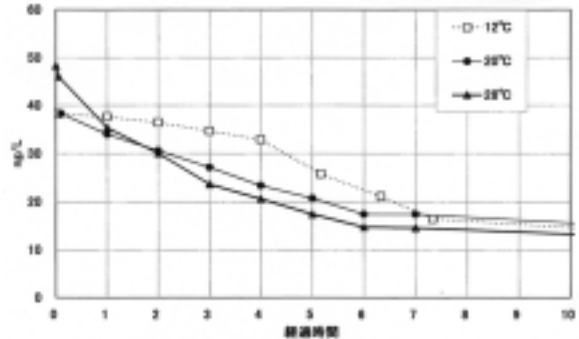


図25 模擬河川水路実験（活性汚泥を添加 エストロン）

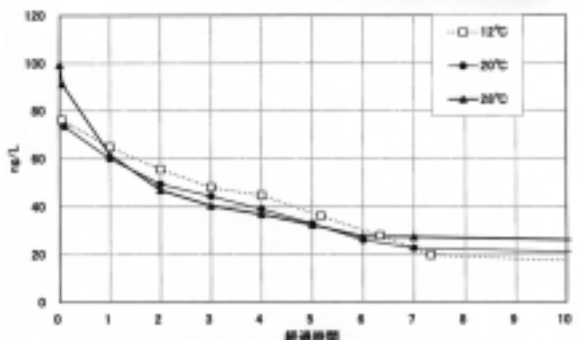


図26 模擬河川水路実験（活性汚泥を添加 17 -エストラジオール+エストロン）

以上の実験の結果、河川におけるエストロゲンの消失は主に、石礫に付着した微生物の分解によるものと判断される。

エ 下水処理場のエストロゲン除去能

2001年度に行った下水処理場のエストロゲン収支調査の結果では、水温約20℃、ばっ気槽の処理時間5～6時間、MLSS（混合液浮遊物質濃度）1,000～1,500mg/Lの場合、流入汚水のエストロゲン60～120ng/Lのうち、除去されるのは30～80ng/Lであって、除去率は45～65%であった⁵⁾。これに対して、今回の模擬河川水路実験はMLSS 20～22mg/Lで20℃のエストロゲン減少速度が8ng/L/Hrであった。この値を下水処理場に当てはめて、ばっ気槽の処理時間と活性汚泥濃度から比例計算すると、下水処理場は2,000ng/L以上のエストロゲン除去能を有することになる。

このように、下水処理場では流入エストロゲンの全量を分解する除去能が十分にあるはずであるが、実際には45～65%の除去率にとどまっている。これは、処理場のばっ気槽ではエストロゲンの微生物分解に対して何らかの阻害因子が働いていることを意味する。この阻害因子を突き止め、それを抑制する手段を見出すことができれば、下水処理場のエストロゲン除去率は100%近くまで上昇するはずである。エストロゲン分解の阻害因子とその抑制手段は今後の研究課題とし、その解明を進めていくことにしたい。

4 おわりに

多摩川を流下する過程でエストロゲンの大半が消失する機構を明らかにするため、エストロゲンの挙動に関して多摩川中流部の縦断調査と、模擬河川水路を用いた室内実験を行った。その結果、主に次のことが明らかになった。

多摩川中流部約3kmの区間について5月から翌年3月まで延べ10回、縦断調査を行ったところ、COD、T-N、T-Pといった一般項目は夏期においてもこの区間での消失がほとんどなかったが、一方、エストロゲンは夏期では40%程度の消失があり、冬期では消失がわずかであった。

この縦断調査の結果から、エストロゲンの消失速度を求めると、水温20℃で6ng/L/Hrで、水温が上昇するほど、消失速度が大きくなる傾向がみられた。

模擬河川水路に多摩川の河川水を入れて、エストロ

ゲンを添加し、エストロゲンの減少速度を測定したところ、水温20℃で1ng/L/Hr程度であり、縦断調査の結果を大幅に下回った。このことから、河川水中の微生物や酵素による分解がエストロゲンの消失に果たす役割は比較的小さいと考えられた。

次に、多摩川中流部の川底の石礫を模擬河川水路に入れて同様の実験を行ったところ、エストロゲンの減少速度は水温20℃で7ng/L/Hrに上昇した。この結果から河川におけるエストロゲン消失は主に石礫に付着した微生物等の分解またはそれらへの吸着によるものと判断された。

石礫の代わりに、下水処理場の活性汚泥を模擬河川水路に加えると、活性汚泥濃度20mg/L程度で、水温20℃のエストロゲン減少速度が9ng/Lに上昇した。これは活性汚泥を構成する微生物の分解によるものであるから、河川におけるエストロゲンの消失も微生物の分解によるものであると考えられる。

今回の実験で得られた活性汚泥のエストロゲン分解速度は下水処理場での除去速度よりはるかに大きく、実際の処理場ではエストロゲンの分解に対して何らかの阻害因子が働いていると考えられるので、その阻害因子の解明が必要である。

本研究におけるLC-MS/MS法の分析は財団法人化学物質評価研究機構への委託により行った。同機構の方々には謝意を表する。

参考文献

- 1) 和波一夫ら：多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究（その8）、東京都環境科学研究所年報 2002, pp.45～55.
- 2) 嶋津暉之ら：多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究（その3）、東京都環境科学研究所年報 2000, pp.165～175.
- 3) 和波一夫ら：多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究（その10）、東京都環境科学研究所年報 2002, pp.65～74.
- 4) 松井三郎ら：天然および人工エストロゲンの下水道と環境中での挙動、季刊化学総説 No.50,2001, pp.86～92.
- 5) 嶋津暉之ら：多摩川等の環境ホルモン問題に関する研究（その11）、東京都環境科学研究所年報 2002, pp.75～83.