

テロン代謝物やプレグネジオールや 17-ケトステロイドなどよりもいくぶん水に溶け易いと示している。

10. 排水ならびに河川水中の天然および合成エストロゲンならびにエストロゲン様化合物の測定
河川水や排水中の汚染物質を測定する場合、まず採取した水を濃縮する操作が必要であり、様々な方法があるが、現在、Sep-pak C18 を用いる固相濃縮方法が簡便で広く利用されている³⁵⁾ (図 8)。トラップした化学物質をエタノール、ジエチルエーテルなどの有機溶媒により溶出した後、溶媒留去し、得られた残渣を、必要あればさらにエストロゲン活性などを指標にして高速液体クロマトグラフィー (HPLC) などにより分画し、エストロゲン活性を示す目的の画分を得る。得られたこれらの画分について多くの場合、ジメチルスルフォキシド (DMSO) やその他の適切な有機溶媒に溶解させた後、目的に応じてレポータージーンアッセイ (組み換え遺伝子酵母法など)、ELISA、GC/MS、LC/MS など種々の方法で測定する。一般的に、レポータージーンアッセイのような生物アッセイ法は、試料に含まれる多くの化学物質のエストロゲン活性を指標にして総エストロゲン作用発現物質量を測定するために用いられ、また、エストロゲンに特異的な抗体を用いる ELISA 法では、特定のエストロゲンあるいはエストロゲン群の簡易検出または定量法として用いられる。一方、後者の機器分析は精度や正確さに優れており、試料中に含まれる様々な化学物質群それぞれについて個別に定量可能となるが、試料中の複合化学物質のエストロゲン作用活性についての情報は十分得られない。

11. 国内外における環境水中天然および合成エストロゲンレベル

1950~70 年にかけて多くの研究者によりヒトの尿中エストロゲンが排水中に排泄され、環境水汚染源となっていることが指摘されてきた。その後、経口避妊薬の使用が増加するにつれ、天然エストロゲンに加え、排水中の合成排卵抑制剤が注目され、その残留調査あるいは排水中でのこれらエストロゲンの酸化的分解や微生物分解さらには簡易なエストロゲン除去処理プラントの改良に関する検討が続けられてきている。

1970 年、Tabak らにより米国の下水処理場での流出水中濃度はエチニルエストラジオール、エストロン、エストリオールおよびエストラジオールを抱合体を含めてそれぞれ $2 \mu\text{g/L}$ 、 $0.025 \mu\text{g/L}$ 、 $0.060 \mu\text{g/L}$ および $0.010 \mu\text{g/L}$ のレベルであることが³⁰⁾、また、Rurainski ら (1977) により南ドイツ地域の飲水に天然および合成エストロゲンレベルが 0.1 および 3.0 ng/L であることが報告されている⁴⁰⁾。

1981 年、Tabak らは米国オハイオ州にある 14 ケ所の市営の下水処理場における夏季と冬季の流入水 (生水) と流出水 (処理水) 中の天然ホルモンと合成排卵抑制剤についての濃度調査を GC および TLC (薄層クロマトグラフィー) を用いて行っている³¹⁾。その結果、流入水中の合成エストロゲンのエチニルエストラジオールおよびメストラノールのレベルは $0.5 \sim 2.25 \mu\text{g/mL}$ の範囲にあり、その平均値は $1.21 \mu\text{g/L}$ と異常なほど高レベルが検出されている。また、冬季の流入水中のエストロゲンレベルは夏季に比べいくぶん高い値を示す結果が得られ、この季節の違いについては、夏季の方が冬季に比し、活性汚泥中の微生物活性が上昇するためエストロゲンの分解率が高くなるためとしている。また、流入水中の天然エストロゲンレベルは合成エストロゲンレベルに比べかなり低い濃度レベルであり、季節による濃度レベルの差も合成エストロゲンと同様な傾向にあるとしている。さらに、

下水処理プラントにおけるこれらエストロゲンの除去率を比較すると合成エストロゲンに比し天然エストロゲンの方がより効率よく除去される結果が得られている(第1段階処理:合成エストロゲン(5~25%)、天然エストロゲン(35~55%)、第1~第2段階処理:合成エストロゲン(20~40%)、天然エストロゲン(50~70%))。一方、家庭からの排水については、合成エストロゲンの排出量は天然エストロゲンに比し低いレベルであるが、その生理活性は天然エストロゲンより高く、また、時代の移り変わりとともに合成エストロゲンの使用量も環境水への蓄積も変化しているので継続的な確認が必要と提言している。

Aherne (1985) らは ELISA 法および RIA 法を用いて英国の 8 ケ所の河川中のノルエチステロン (noehisterone)、エチニルエストラジオール、プロゲステロンの測定を行っている³²⁾。8 ケ所の河川の内、2 ケ所で 17 ng/L のレベルでノルエチステロン(検出限界 10 ng/L)が検出されたもののエチニルエストラジオール(検出限界 5 ng/L)は検出されなかった(表 12)としている。因みに Wood and Richardson (1980) の報告によると、英国やウェールズで処方される合成ホルモン 640 kg の内、ノルエチステロンは 360 kg/年、エチニルエストラジオールは 21kg/年である⁴¹⁾(National Health Service, 1976)。その後、Aherne らはさらに、1989 年に試料採取範囲を拡大し、再度測定を試み(表 13)、ポータブル水中のノルエチステロンは 2 ng/L 以下である結果を得ており、この汚染レベルは、ノルエチステロンの平均 1 日服用量のおよそ 1/250,000 であり、また、エチニルエストラジオールによる汚染レベルは飲水中 5 ng/L であり、1 日服用量のおよそ 1/5,000 であることから、ヒトの影響はないとしている⁴²⁾。

1996 年に Stumpf らは数ヶ所の下水処理場の流入水、流出水、河川および飲料水中の天然および合成エストロゲン濃度について調査しており、流出水では、エストロゲン、メストラノール、エチニルエストラジオールおよび β -シトステロールがそれぞれ 20 ng/L、21 ng/L、62 ng/L および 402 ng/L 以下のレベルであることを、また、河川ではメストラノールとエチニルエストラジオールが 5 ng/L 以下、 β -シトステロールは 56 ng/L 以下であることを確認している。また、いくつかの飲水試料中には β -シトステロール(20~60 ng/L)が検出されたがそれ以外の試料には天然および合成エストロゲンのいずれも検出されなかったと報告している³⁷⁾。また、彼らは Tabak (1970)³⁰⁾、Rurainski (1977)⁴⁰⁾、Shore (1993)³⁴⁾ のデータは分析操作上の pH 調整の点から判断して測定結果には加水分解した抱合体の分も加算されている可能性を指摘している。

一方 Shore ら (1993) はイスラエルのテルアビブ地域の生下水中の天然エストロゲンレベルは 48 ~141 ng/L であり、北イスラエル地域にある Kinneret 湖(水源)から引水している貯留水(飲料水用)中では 14~22 ng/L であったことが報告されている。さらに下水処理された後の農業用灌漑用水中に 39~153 ng/L レベルのエストロゲンが確認され、夏季にはそのレベルが 2~3 倍上昇するとしている³⁴⁾。

Desbrow ら (1998) は、汚水中のエストロゲンの抽出法として従来法に代えて最新の分離法、すなわち固相抽出を組み入れたり、また、その溶出物やさらに HPLC 分離により分画した各画分について簡易な *in vitro* アッセイ法によりエストロゲン活性を調べながら目的画分を選択するなどして汚水中のエストロゲン様化合物の精製法を確立し、イギリスの 7 ケ所の家庭用飲料水の下水処理場の流入水ならびに流出水のエストロゲンの検出濃度レベルを測定している³⁹⁾。その結果、排水抽出物中に天然エストロゲンのエストラジオールとエストロンおよび合成エストロゲンの 17α -エチニルエストラジオールが検出されること、また、エストラジオールおよびエストロンは下水処理後のす

すべての個所の流出水中に検出され、そのレベルは1 ng/L から 80 ng/L (多くは 50 ng/L 付近) であった (表 14)³⁹⁾。また、 17α -エチニルエストラジオール濃度は一般的に低いレベルで多くは検出限界以下を示したが、3箇所の排水では 0.2~7.0 ng/L のレベルが検出されることを報告しており、さらにこれらの結果から下水処理場の下流に棲む魚のピテロゲニン発現作用に影響を与える可能性を示唆している。

Belfroid (1999) らによるオランダでの調査では、表層水中ではエストロゲンレベルは 6 ng/L 以下であり、排水中ではエストロンおよびエストラジオールとも ng/L レベルであるとしている。また、 17α -エストラジオールや 17α -エチニルエストラジオールは検出限界以下であり、エストロゲン抱合体は表層水、排水のいずれにも確認できなかった (表 15、16)⁴³⁾。

Ternes (1999) らは最新型の GC/MS および LC/MS/MS を用いドイツ、カナダおよびブラジルの下水処理場のエストロゲンレベルを調査しており⁴⁴⁾、ブラジルの下水処理場における生下水ではエストラジオールとエストロンがそれぞれ 0.021 μ g/L と 0.040 μ g/L 検出され、1日の処理負荷量は 5 g 程度となる。また、下水処理プラントによるエストロゲンの除去率は、生物フィルター処理ではエチニルエストラジオールで 64% と低いが、活性汚泥 (曝気) 処理ではエストラジオールで 99.9%、エストロンで 83%、エチニルエストラジオールで 78% と良好な結果が得られており、活性汚泥処理の方が生物フィルター処理よりも除去効率が低いことが示された (図 9)。一方、ドイツの下水処理場では生下水にエストラジオールおよびエストロンがそれぞれ 0.015 μ g/L および 0.027 μ g/L 検出されており、1日の処理負荷量は 1 g 程度と算出された。ブラジルの結果と比較するとエストロゲンの除去率はかなり低く、(16α -ヒドロキシエストロンおよびエストラジオールは除去率はそれぞれ 68% および 64%)、特に、エチニルエストラジオールの除去効率は低かった (図 10)。この両国での除去率の違いについては、ドイツでの採水時期が平均気温が -2℃ であるのに対してブラジルでは 20℃ と、両国における気温差によるとしている。また、両国の下水処理においてエストラジオールや 16α -ヒドロキシエストロンはエチニルエストラジオールやエストロンよりも除去され易い傾向が認められている。

下水処理後の流出水中の各エストロゲンレベルをみると、ブラジルでは主として天然エストロゲンのエストロン、エストラジオールおよび 16α -ヒドロキシエストロンとエチニルエストラジオールが ng/L レベルで検出されているが、メストラノールや吉草酸エストラジオールはほとんど検出されていない。ドイツではエストロンレベルが最も高く、最高濃度 0.070 μ g/L で中間値は 0.009 μ g/L であった。一方、カナダではエストラジオールやエチニルエストラジオールの方がエストロンに比し、高いレベルを示しているが (中間値: 0.009 μ g/L) 正確な比較を行うにはもう少しサンプルを増やして検討する必要があるとしている。また、これらの値は Aherne and Biggs (1989)⁴²⁾、Desbrow ら (1998)³⁵⁾ および Routledge et al (1998)¹²⁾ の示している値の範囲にあるとしている。

わが国のエストロゲンによる環境水調査は環境省と建設省で実施している。建設省のデータ⁴⁵⁾をみるとエストラジオールレベルは流入下水では 0.036 μ g/L、流出水では 0.004 μ g/L としている (表 17)。また、環境省の河川水のエストロゲンレベルに関するデータ⁴⁶⁾をみるとエストラジオールが ND~0.011 μ g/L、 17α -エストラジオールが ND~0.040 μ g/L、エチニルエストラジオールが ND~0.002 μ g/L である (表 18)。外国のデータと比較するとエストロゲンレベルはほぼ同程度であるものの、各国でいくぶん汚染エストロゲン種が異なるようである。

12. わが国の新しいタイプの下水処理操作⁴⁷⁾

わが国で行われている公共下水処理施設の中で最も高度な処理操作過程例を図 11 に示した。流入水は、まず、最初の沈殿池に入り、沈殿処理後、その上澄みはエアレーションタンク（暴気槽）に移る。暴気槽は活性汚泥が入った 2 つのタンク部に分かれており、脱窒素を行う前半部で下水中の硝酸態の窒素が脱窒され（窒素ガスに還元する。また、この時、有機物の一部は分解する。）、ついで後半部の硝化槽でアンモニアを酸化し、硝酸化される。次に、活性汚泥で処理された処理水は、第 2 次沈殿池で重力分離により分離し、その上澄を簡単な塩素処理を行った後、最終的に砂濾過を行い放流する。なお、第 2 次沈殿池で沈殿した活性汚泥は再度暴気槽にもどり返送される仕組みになっている。これらの各下水処理過程でのエストロゲン様化学物質の除去能について、ヒトのエストロゲンレセプター遺伝子を組み込んだ酵母アッセイ法（下流に β -ガラクトシダーゼが結合されている）（図 12）と ELISA 法により調べてみると、酵母法による測定結果からは、まず、生下水ではエストラジオール換算で約 500 ng/L であり、沈殿池ではほとんど変化しておらず、曝気槽で急激にエストロゲン活性が低下することが示されている（図 13）。したがって、活性汚泥（微生物処理）によりエストロゲン様化学物質はかなり除去される。また、活性汚泥脱水処理した後、得られた汚泥の脱水濾液中のエストロゲン様化学物質およびエストロゲンレベルは著しく高い値を示し、活性汚泥とエストロゲン様化学物質の吸着はかなり弱い結合であると考えられる（分解はほとんど認められなかった）。また、ELISA 法でのエストラジオールレベルについては図 14 に示したが、約 60 ng/L であり、上述の酵母法のおよそ 1/10 程度であった。

1998 年の建設省の全国の下水処理場の環境ホルモン調査結果を表 21 に示したが⁴⁸⁾、多くの環境汚染化学物質は下水処理操作過程でかなり効率良く除去されている（分解によるのか、生物吸着によるのか判らない）ことが判る。しかし、エストラジオール自体の除去率は他の化学物質に比し、必ずしも高くはないことが判る（表 17）。

一方、上述のような従来から使用されている下水処理操作によるエストロゲンの除去率は低いことからさらに効率的な除去法について検討がなされており、その一つにコアレッセン濾過が挙げられている。本法は濾材にポリプロピレンを細かく砕いた粒子を使い、下水処理水を通導する方法であり、改良型として、さらにこのポリプロピレン材をノルマルヘキサンでコーティングさせることにより、脂溶性物質を効率良くノルマルヘキサンへのトラップを可能とする。この方法で除去し難い物質はフミン質とそれに吸着するためにノルマルヘキサンに溶けない物質があることから、さらに改良型として、前段階に界面活性剤を加える工夫もなされている。

13. 合成エストロゲン剤の使用量あるいは販売量ならびにヒト尿中排泄エストロゲン量に基づいた環境水汚染濃度の予測⁴⁹⁾

1995 年、FDA は製薬企業に対し、患者が使用する薬剤の代わりに医薬品の製造費をもとにした推定環境水汚染レベル（expected introduction concentration : EIC）の算出を依頼した。EIC は、環境評価が正しく行われているかどうかを確認するための初期の算出データとなる。但し、この評価に際して薬剤の体内での代謝は考慮にいれていない。例えば、エチニルエストラジオールに対する EIC は、エストロゲン製剤の年間販売量や使用量（製造量の data が入手できないので）を用い、下記に示す式に従って計算している。

$$\frac{\text{年間使用量}}{\text{L/公的下水処理場への年間流入水量}} = \frac{88 \text{ kg/年}^*}{4.07 \times 10^{13} \text{ L/年}^{**}} = 2.16 \text{ ng/L}$$

* 35 μg (エチニルエストラジオール) × 70,000,000 人 × 252 日

** 1.115 × 10¹¹ L/日 × 365 日

(Center for Drug Evaluation and Research のデータを採用、1995 年)

アメリカでの経口避妊薬 (エストラジオール)、ホルモン補充療法剤 (エストロゲン抱合体)、肥育ホルモン (エストラジオール) の EIC を表 19 に示した。但し、ホルモン補充療法剤のエストロゲン抱合体については 1995 年の小売販売量を用いて算出している。これらによる汚染割合はエチニルエストラジオールより大きいことを示している。また、エチニルエストラジオールの小売販売量から計算した値が使用量からの値よりかなり低いのは小売以外の経路で経口避妊薬が使われていることを示している。

このような方法で算出したデータをもとに Desbrow (1996) による⁴⁸⁾ 英国の排水中のエチニルエストラジオールレベルが 0.2~7.0 ng/L であるとの報告や 2 ng/L のエチニルエストラジオールレベルで雄のニジ鱒にビテロゲニンの誘発が認められるなどの報告 (Jobling ら、1996)⁴⁹⁾ を比較してエストロゲン製剤の環境水汚染レベルは生態系への影響を与えるに十分な濃度であることが推測されるとしている。さらに、他の種々のエストロゲン製剤を合わせると高レベルのエストロゲンによる環境水汚染が予想されるとしている。事実、Desbrow ら (1996) によれば下水処理流出液中エストロゲンレベルが 40 ng/L に達する可能性が示唆される⁴⁸⁾。

D. 考察

アメリカおよびヨーロッパ諸国等を中心に各国での排水、河川水、飲水中のエストロゲンレベルについての文献調査を行った。

環境水のエストロゲンの汚染源としては、ヒトや動物の体内から排泄される各種天然エストロゲン、経口避妊薬、ホルモン補充療法剤および動物の肥育ホルモン剤などが主なものである。環境水レベルとしては天然エストロゲンの方が合成エストロゲン剤よりも高い傾向が認められるが、下水処理プラントでのエストロゲン除去能をみると合成エストロゲンの方が天然エストロゲンに比し、除去能は低い、合成エストロゲンは天然エストロゲンよりも生理活性の高いものが多い。

各国の排水や河川水中のエストロゲンレベルは大方、数十 ng~数 ng レベルにあり、近隣の河川に棲息する雄魚などでのビテロゲニン作用を十分発現するレベルにある。調査地域によっては、飲水 (ポータブル水、井戸水) 中にも低いレベルではあるが、エストロゲンが確認されているが、現段階では飲水中エストロゲンによるヒトへの影響は内在性エストロゲンレベルとの比較から考え、ほとんど無いと評価している。しかし、魚でのビテロゲニン発現においてエストロンやエストラジオールの作用は相乗的であるとの報告があり、他のエストロゲン作用を有する多くの化学物質との混在下での生態系あるいはヒトへの影響は不明である。また、ホルモン感受性の

高い乳幼児の時期での飲水による影響や多量の水を使用する腎透析患者などでは特に注意を払う必要があるかも知れない。

環境水中のエストロゲンレベルの低減には薬剤廃棄についての使用者への教育や指導體制の確立、さらには下水処理プラントのエストロゲン（特に合成エストロゲン）除去機能の向上を図ることが必要となる。

わが国においても環境省や建設省が中心となり、河川水のエストラジオールやエチニルエストラジオールなどの検査結果が出されているが、国内の各地域での下水処理法はそれぞれ異なることから、それぞれの処理法でのエストロゲンの除去能の調査や排水、河川水、地下水や飲水を含めさらに広範囲の実施調査が必要と思われる。また、合成エストロゲン剤ならびに肥育ホルモン剤の使用量や地域在住の人口に基づいたエストロゲン排泄量などのデータに基づいて排水や河川水中の推定エストロゲンレベルを算出し、これらの推定汚染レベルと魚や動物での毒性試験結果との比較により、ヒトでの安全性やリスクの評価を行うこともひとつの重要な課題と考えられる。

調査に当たっては、他のエストロゲン作用物質も含めた総エストロゲン活性を測定できる生物アッセイ法と汚染物質の構造や正確な汚染レベルを把握するための GC/MS、LC/MS さらにはモニタリング法としての ELISA 法などを駆使して効率の良い調査が、また、安全性の評価に当たっては、天然エストロゲンや合成エストロゲンの環境水中での分解やそれら分解物の生理活性の有無あるいは毒性作用についてさらに詳細なデータの集積を行い、それらを加味した評価が必要となる。

E. 結論

主に国外の文献を中心にエストロゲンによる環境水汚染実態の調査を行った結果、汚染源はヒトや動物の体内から排泄される天然エストロゲンと経口避妊薬やホルモン補充療法剤が主であり、その他にも動物の肥育ホルモン剤が掲げられる。これらエストロゲンによる環境水レベルの調査結果から、現段階の汚染レベルが生態系への影響を与える可能性は高いことが示されている。また、飲水を通しての成人への影響についてはヒト体内エストロゲンレベルと比較して安全なレベルとしているが、胎児や乳幼児への影響については言及されていない。わが国においては現在環境省や建設省を中心に部分的な調査は行なわれているようであるが、さらに総合的かつ詳細なエストロゲンによる環境水汚染の調査研究が必須となる。

環境水におけるエストロゲン汚染レベルの低減策としては、病院や家庭用の各個の排水処理設備や市などの下水処理プラントにおけるエストロゲンの除去能向上を図るための改良化や、一方では未使用あるいは余剰の薬剤の廃棄に関しての適切な処理法の教育、指導あるいはガイドラインの提示さらには定期的な環境水中の汚染化学物質のモニタリングなどが今後行政上の検討課題となる。

その他、ごく微量で胎児や乳幼児への影響を及ぼす可能性の高い生理活性の強い医薬品あるいは遺伝子との結合性が強く次世代への影響を与える可能性の高い医薬品についても早急に調査し、検討が必要かも知れない。

参考文献

- 1) Halling-Sørensen B, Nors Nielsen S, Lanzky F, Ingerslev F, Holten Lützhøft HC, Jørgensen SE; Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment—A review, *Chemosphere*, 1998, 36 (2): 357-393
- 2) Daughton CG, Ternes TA; Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?, *Environ. Health Perspect*, 1999, 107 (Supple 6): 907-938
- 3) Kuspis DA, Krenzelok EP; What happens to expired medications? A survey of community medication disposal, *Vet. Human Toxicol.* 1996, 38(1):48-49
- 4) Sharpe RM, Skakkebaek NE; Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract?, *Lancet*, 1993, 341: 1392-1395, → 01/02/07 P-95-2
- 5) Purdom, C.E. Hardiman, P.A., Bye, V.J., Eno, N.C., Tyler, C.R., and Sumpter, J.P., Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works, *Chem. Ecol.*, 1994, 8, 275-285
- 6) Harries, J.E., Sheahan, D.A., Jobling, S., Mattiessen, P., Neall, P., Ruteledge, E.J., Rycroft, R., Sumpter, J.P., and Tylor, T.; A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters, *Environ. Toxicol. Chem.*, 1996, 15: 1993-2002
- 7) Harries, J.E., Sheahan, D.A., Jobling, S., Mattiessen, P., Neall, P., Sumpter, J.P., and Tylor, T., and Zaman, N., Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male front. *Environ*, 1997, *Toxicol. Chem.*, 16, 534-542
- 8) Sheahan, D.A., Bucke, D., Matthiesen, P., Sumpter, J.P., Kirby. M.F., Neall, P. and Waldack, M., The effects of low lwvwl's of 17 α -ethynylestradiol upon plasma vitellogenin levels in male and female rainbow front, *Oncrohynchus mykiss*, held at two acclimation temperatures, 1994, In sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish, Muller, R., Lloyd, R., Eds., Fishing News Books, Blackwell Science Ltd., Oxiford, 99-112

- 9) Roembke, J., Knacker, Th. And Stahlshmidt-Allner, P., Studie über Umweltprobleme in Zusanrmenhang mit Arzneimitteln ; Study about environmental Problems in context with drugs, 1996, F+E Vorhabens Nr. 106 04 121, Umwetbundesamt, Berlin
- 10) Folmer, L.C., Denslow, N.D., Rao, V., Chow, M., Crain, A.D. Enblom, J., Marcino, J. and Guilletle, L. J. ; Jr. Environ. Health Perspect, 1996, 104, 1096-1101
- 11) Jobling, S., Sheahan, D., Osborne, J.A., Matthiesen, P., and Sumpter ; J.P., Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals, Environ. Toxicol. Chem., 1996, 15, 194-202
- 12) Routledge, E.J., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G.C., Waldok M. and Sumpter, J.P., Identification of estrogenic chemicals in STW effluents. In vivo responses in front and roach, Environ. Sci. Technol., 1998, 32, 1559-1565
- 13) Shore, L.S., Shemesh, M., and Cohen, R., The role of oestradiol and oestrone in chicken manure silage in hyperoestrogenism in cattle, Australian Veterinary Journal, 1988, 65, 68
- 14) 内分泌（エンドクリン）系に作用する化学物質に関する調査研究；社団法人日本化学工業協会、社団法人日本化学物質安全情報センター（平成9年）
- 15) 清水直容編著；ステロイドホルモン、中外医学社（1988）
- 16) Arcand-Hoy LD, Nimrod AC, Benson WH, Endocrine-modulating substances in the environment: Estrogenic effects of pharmaceutical products, Int. J. Toxicol., 1998, 17(2): 139-158
- 17) Orme, M.L., Back, D.J., and Breckenridge, A.M.; Clinical pharmacokinetics of oral contraceptive steroids, Clin. Pharmacokinet., 1983, 8, 95-136
- 18) Willams, C.L., and Stancel, G.M.; Estrogens and progestins. In the Pharmacological bases of Therapeutics, ed Goodman and Gilman, 1996, 1411-1437. New York : McGraw Hill
- 19) 特集 合成ステロイドホルモン、日本臨床、1994, 52、3号
- 20) Andrew, W.C.; Continuous combind estrogen/progestin hormcne replacement

therapy, Clin. Ther., 1995, 17, 812-826

- 21) Peterson, L.S.; Contraceptive Use in the United States 1982-90, Advance Data from Vital Statistics, 1995, 260 : 1-16. Hyattsville, MD: Center for Disease Control and Prevention/National Center for Health Statistics.
- 22) 厚生省薬務局監修 ; 薬事工業生産動態統計年報、(1995)
- 23) 動物医薬品、医薬部外品、生産 (輸入) 販売高年報、日本動物薬事協会、(1998)
- 24) 厚生省健康政策編集 ; 薬事工業生産動態統計年報 (平成 11 年)
- 25) Maggs, J.L., and Park, B.K., A comparative study of biliary and urinary 2-hydroxylated metabolites of [6,7-³H] 17 α -ethynylestradiol in women, Contraception, 1985, 32, 173-182
- 26) Speck, U., Wendt, H., Schulze, P.E., and Jentsch, D. ; Bioavailability and pharmacokinetics of cyproterone acetate-¹⁴C and ethinyloestradiol-³H after oral administration as a coated tablet, Contraception, 1976, 14, 151-163
- 27) Kulkarni B.D., and Goldzeiher, J.W. ; A preliminary report on urinary excretion and method isolation of ¹⁴C-ethinyloestradiol metabolites in women, Contraception, 1970, 1, 47-55
- 28) Zondek, B. and Sulman, F.; Inactivation of estrone and diethylstilbestrol by microorganisms, Endocrinology, 1943, 33: 204-208
- 29) Stumm-Zollinger, E., and G. M. Fair. ; Biodegradation of steroid hormones. J. Water Poll. Control Fed., 1965, 37, 1506-1510
- 30) Tabak H.H., Bunch R.L. ; Steroid hormones as water pollutants I. Metabolism of natural and synthetic ovulation-inhibiting hormones by microorganisms of activated sludge and primary settled sewage, Dev. Ind. Microbiol. 1970, 11: 367-376
- 31) Tabak H.H., Bloomhuff R.N., Bunch R.L.; Steroid hormones as water pollutants II. Studies on the persistence and stability of natural urinary and synthetic ovulation-inhibiting hormones and treated wastewaters, Dev. Ind. Microbiol., 1981, 22, 497-519

- 32) Aherne, G.W., English, J., Marks, V.; The role of immunoassay in the analysis of microcontaminants in river samples, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1985, 9(1): 79-83, 1985
- 33) Shore, L.S., Shemesh, M. and Cohen, R.; The role of oestradiol and oestrone in chicken manure silage in hyperoestrogenism in cattle, *Aust. Vet. J.*, 1988, 65: 68
- 34) Shore L.S., Gurevita M, Shemesh M; Estrogen as an environmental pollutant, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1993, 51: 361-366
- 35) Johnson A.C., Williams R.J., Ulahannan T ; Comment on "Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical Fractionation and in vitro biological screening, *Environ. Sci. Technol.*, 1999, 33 (2): 369-370
- 36) Stumpf M, Ternes T.A., Haberer K, Seel P, Baumann W; Nachweis von Arzneimittlrückständen in Kläranlagen und Fließgewässern (Determination of drugs in sewage treatment plants and river water), *Vom Wasser*, 1996, 86: 291-303
- 37) Kabasakalian, P., Britt, P.E., and Yudis, M.D., Solubility of some steroid in water. *J. Pharm. Sci.*, 1966, 55, 642
- 38) Norpoth, K., Nehkorn, A., Kirchner, M., Holsen, H., and Teipel H., Investigations on the problem of solubility and stability of steroid orulation inhibitors in water, wast water and active sludge, *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Org. B.*, 1973, 156, 500-511
- 39) Desbrow C, Routledge E.J., Brighty G.C., Sumpter J.P., Waldock M; Identification of estrogenic chemicals in STW effluent 1. Chemical Fractionation and in vitro biological screening, *Environ. Sci. Technol.*, 1998, 32(11): 1549
- 40) Purainski, R.D. Thesis, H.J., and Zimmerman, W. ; Uber Das Vorkommen Von Naturlichen and Synthetischen ostrogenen in Trinkwasser, *GWF, Gas-Wasser/Abwasser*, 1977, H6 118
- 41) Wood, L.B., and Richardson, M.L. ; Catchment Quality Control, *Prog. Water Technol.*, 1980, 12, 1-12

- 42) Aherne G.W., Briggs R; The relevance of the presence of certain synthetic steroids in the aquatic environment, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1989, 41: 735-736
- 43) Belfroid A.C, Van der Horst A, Vethaak A.D, Schäfer A.J., Rijs G.B.J., Wgener J, Cofino W.P. ; Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands, *Sci. Total Environ.*, 1999, 225 (1-2) 101-108
- 44) Ternes T.A., Stumpf M, Mueller J., Haberer K., Wilken R-D, Servos M.; Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plant — I. Investigations in Germany, Canada and Brazil, *The Science of the Total Environment*, 1999, 225(1), 81-90
- 45) 建設省河川局、建設省都市局下水道部：水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査結果（前期調査）、（1998）
- 46) 平成 11 年度水環境中の内分泌攪乱化学物質（いわゆる環境ホルモン）実態調査結果、平成 12 年 10 月（環境庁水質保全水質管理課）
- 47) 環境ホルモン汚染対策—測定評価から企業対応まで、（株）エヌ・ティ・エス（1999）
- 48) Debrow, C., Routledge, E., Sheehan, D., Waldlock, M., and Sumpter, J., *The Identification and Assessment of Oestrogenic Substance in Sewage Treatment Works Effluents*, P2-i490/7. Bristol, UK: UK Environment Agency.

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

関澤 純、今井 清、松木容彦、吉岡義正、動物実験代替法学会（千葉、11月）
医薬品その他の生理活性物質の環境中運命と環境中生物に及ぼす影響の評価

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許

ダイオキシンに対するモノクローナル抗体（特願 2000-315948号）出願

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 環境水中に検出される医薬品と濃度レベル¹⁾

医薬品	治療(用途)	水環境中濃度			
		排水・下水	河川	飲水	底質
Clofibrate (Clofbric acid)	高脂血症薬		~40 ng/L <0.5~1750 ng/L (ベルリン) <0.5~220 ng/L (ヨーロツパ) <5~180 ng/L		
Dichlofenace	鎮痛薬		15~304 ng/L (ライン川、ドイツ) 38~489 ng/L (その他の川、ドイ		
Ibuprofen	鎮痛薬		<5~41 ng/L (ライン川、ドイツ) 17~139 ng/L (その他の川、ドイ		
Indometacin	鎮痛薬		<5~26 ng/L (ライン川、ドイツ) 17~21 ng/L (その他の川、ドイ		
Erythromycin	抗生物質		~1 μg/L		
Penicilloyl group	抗生物質		>25 ng/L	>10 ng/L	
Sulfamethoxazole	抗生物質		~1 μg/L		
Tetracycline	抗生物質		~1 μg/L		
Oxytetracycline	抗生物質(養魚用)				0.1~11 ng/g
Bleomycin	抗腫瘍薬	11~19 ng/L(下水処理水)	<5~17 ng/L	<5~13 ng/L	
Cyclophosphamide	抗腫瘍薬	146 ng/L(病院の排水処理後)			
Ifosamide	抗腫瘍薬	24 ng/L(病院の排水処理後)			
Methotrexate	抗腫瘍薬	~1 μg/L(下水処理水)	<6.25 ng/L	<6.25 ng/L	
Caffeine	興奮薬(物質)	~1 μg/L(下水処理水) 16~292 μg/L(排水)		>1 μg/L	
Theophiline	興奮薬		~1 μg/L		
Diazepam	抗不安薬	<1 μg/L(下水処理水)	~10 ng/L	~10 ng/L	
Methaqualone	催眠薬	<1 μg/L(下水処理水)			
Morphinan structure	麻薬性鎮痛薬		<1 μg/L		
Norethisterone	合成ホルモン		<17 ng/L 水)		
Testosterone	女性ホルモン	0.8~1.1 nmol/L(イスラエル) (原排水)			
Estrogen	女性ホルモン	0.2~0.5 nmol/L(イスラエル) (原排水)			
Ethinylestradiol	合成ホルモン	<0.2 ng/L(イスラエル) (原排水)	2~15 ng/L 1~3 ng/L(貯留水)	<5 ng/L	

Halling-Sorensen B. et al, Chemosphere, 36, 357-393 (1998)

表2 その他の環境汚染物質データ¹⁾

地下水で確認される物質

- Eckel. et al (1993) ; phenobarbital, meprobamate, phensuximide
 Holm et al (1995) ; 5,5'-dialkylbarbituric acid (max, 0.2 mg/L), sulfonamide
 (max, 5 mg/L), propylphenazone (max, 4 mg/L)

河川で確認される物質

- Watts (1983) ; erythromycin, sulphamethoxazole, tetracyclines, theophiline
 Aherne (1985) ; methotrexate, progesterone, norethisterone, ethinylestradiol
 Steger-Hartmann et al (1996) ; 数種の抗腫瘍薬検出
 Aherne et al (1990) ; "

養魚場の沈殿物中に確認される物質

- Bj ørklund et al ; (1990, 1991) ; 養魚場の沈殿槽中に抗生物質を検出
 Coyne et al (1994) ; "
 Kerry et al (1995) ; "
 Westan et al (1994) ; "
 Samuelsen (1992a, 1992b) ; ; "
 Jacobsen and bergind (1998) ; oxytetracycline, 0.1~4.9 mg/kg/底質

海洋中に確認される物質

- Lee and Arnold (1983) ; 1972~1983, アメリカでは30~280万リットルの汚染水が
 海洋に流入していること分かっているが、まだ海洋中での
 存在、濃度は確認されていない。

土壌中に確認される物質

- Warman and Thomas (1981) ; 養鶏場の土壌から Chlortetracyclineが検出、(抱合体、
 その分解した活性体として)
 Berger et al (1980) ; 食物連鎖を通じての家畜での耐性菌が問題視されている。
 Shore et al (1988) ; testosterone(ニワトリの餌中に検出)と estrogen (成長促進
 ホルモンとして混餌投与)

Halling- Sorensen B. et al, Chemosphere, 36, 357~393 (1998)

表3 天然エストロゲンおよび合成エストロゲンの化学名と物性

一般名	化学名	分子式	分子量(MW)	融点	溶解性(水)
Estrone (エストロン)	3-Hydroxyestra-1,3,5(10)-triene-17-one	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270.36	254.5-256°	0.03 g/100 mL(25°) 有機溶媒に可溶
Estradiol (エストラジオール)	1,3,5-Estratrien-3-ol-17-one	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272.37	173-179°	やや難溶 有機溶媒に可溶
Estril (エストリオール)	Estra-1,3,5(10)-trien-3,16,17-triol 1,3,5-Estratrien-3,16α-,17β-triol	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	288.37	270° ~ 275° ~ 282° ~	難溶 有機溶媒に可溶
Ethinylestradiol (エチニルエストラジオール)	17α-Ethynyl-1,3,5(10)-estratriene-3,17β-diol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296.39	182-184°	難溶 有機溶媒に可溶
Mestranol (メストラノール)	17α-Ethynyl-3-methoxy-1,3,5(10)-trien-17β-ol	C ₂₁ H ₂₆ O ₂	310.42	150-151°	難溶 有機溶媒に可溶
Diethylstilbestrol (ジエチルスチルベストール)	4,4'-(1,2-Diethyl-1,2-ethene-diy)bisphenol	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	268.34	169-172°	難溶 有機溶媒に可溶 (アルコール、エーテル、クロロホルム)
Estradiolbenzoate (エストラジオールベンゾエート)	(17β)-Estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diol	C ₂₅ H ₂₈ O ₃	376.5	191-196°	可溶(特にグルコース液に易溶) 有機溶媒に可溶 (アルコール、アセトン、ジオキサン)
Equilin (エクリン)	3-Hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-17-one 1,3,5,7-Estratetraen-3-ol	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	268.34	238-240°	いくぶん可溶 有機溶媒に可溶 (アルコール、ジオキサン、アセトン)
Equienin (エクレニン)	3-Hydroxyestra-1,3,5,7,9-pentaen-17-one	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	266.32	258-259°	難溶 有機溶媒に可溶 (0.63 g/100 mL アルコール)
Dihydroequilin (ジヒドロエクリン)	Estra-1,3,5(10),7-tetraene-3,17-diol	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270.36	174.5-174.6 (17β型) 205.5-205.6 (17α型)	難溶 有機溶媒に可溶 (アルコール、ジオキサン)

表4 卵胞ホルモン製剤¹⁵⁾

一般名	商品名(会社名)	容量・剤型	備考
安息香酸エストラジオール estradiol benzoate	ベラニンベンツォアート(持田) ベラニンサスペンション(持田)	注: 1 mg/ml 注(水懸): 0.2 mg/ml	
	オバホルモン(帝農)	注(水懸): 0.2 mg/ml 注(水懸): 1 mg/ml	
	エストホルモン(富士製薬)	注: 1 mg/ml 注(水懸): 1 mg/ml 注(水懸): 0.2 mg/ml	
	プロギノンB(シェーリング)	注: 5 mg/ml	
育草酸エストラジオール estradiol valerate	ベラニン・デポー(持田)	注: 5 mg/ml 注: 10 mg/ml	
	プロギノンデポー(シェーリング)	注: 10 mg/ml	
シビオン酸エストラジオール estradiol cypionate	デボ女性(住友-アップジョン)	注: 1 mg/ml 注: 3 mg/ml 注: 5 mg/ml	
ジプロピオン酸エストラジオール estradiol dipropionate	オバホルモンデポー(帝農)	注(油性): 5 mg/ml	
	エストルモンデポー(富士製薬)	注(油性): 5 mg/ml 注(油性): 10 mg/ml	
	エバロンデポー(帝三)	注(油性): 5 mg/ml 注(油性): 10 mg/ml	
	フォリケルデポー(イセイ)	注(油性): 10 mg/ml	
エチニルエストラジオール ethinylestradiol	プロセキソール(帝農)	錠: 0.5 mg/錠	
		錠: 0.02 mg/錠	
メストラノール mestranol	デボシン(雄野機)	錠: 0.02 mg/錠 錠: 0.08 mg/錠	
エストリオール estriol	エストリール(持田)	錠: 0.1 mg/錠 錠: 0.5 mg/錠 錠: 1 mg/錠 注: 1 mg/ml 注(水懸): 10 mg/ml 糖錠: 0.5 mg/錠	
エストリオール estriol	服用新フランセエフF(持田)	錠錠: 0.3 mg/錠, カルバルボン 100 mg/錠, 塩化ベンゼトニウム 2.0 mg/錠, 塩酸ジフェンヒドラミン 9.0 mg/錠, 結晶α-キモトリプシン 1000 単位/錠	
	ホーリン(帝農)	錠: 1 mg/錠 注: 10 mg/ml	
	ホーリンV(帝農)	錠錠: 1 mg/錠	
	オバポーズ(三共)	錠: 1 mg/錠	
	エストリオール(富士製薬)	錠: 0.1 mg/錠 錠: 1 mg/錠 注(水懸): 1 mg/ml 注(水懸): 10 mg/ml	
安息香酸二時酸エストリオール estriol-3-benzoate-16, 17-diacetate	ホーリンデポー(帝農)	注(油性): 5 mg/ml	
トリプロピオン酸エストリオール estriol tripropionate	エストリール・デポー(持田)	注: 10 mg/ml	
	エストリオールデポー(富士製薬)	注: 10 mg/ml	
リン酸ジエチルステルベストロール disodiumphosphate diphosphate	ホンバン(杏林)	錠: 100 mg/錠 注: 50 mg/ml	
ヘキセストロール hexestrol	ヘキスロン(帝農)	錠: 3 mg/錠	
		錠: 10 mg/錠	
リン酸ヘキセストロール hexestrol disodium phosphate	水溶性ロバール(中外)	注: 5 mg/ml	
結合型エストロゲン	ロメダ(持田)	錠: 0.625 mg/錠 錠: 1.25 mg/錠 注用: 20 mg/瓶	
	プレコリン(東洋薬造)	錠: 0.625 mg/錠 錠: 1.25 mg/錠 注用: 20 mg/瓶	
	ハイホリン(帝農)	注用: 20 mg/瓶	
	セファック(三全)	錠: 0.625 mg/錠 錠: 1.25 mg/錠	

表5 卵胞ホルモンとの合剤¹⁵⁾

1) 卵胞ホルモンと黄体ホルモンの合剤¹⁵⁾

商品名(会社名)	剤型	黄体ホルモン成分	卵胞ホルモン成分	備考
ノアルテンD(塩野義)	錠	ノルエチステロン5mg	メストラノール0.05mg	
ノアルテンD1(塩野義) ソフィア-A(帝國) ビポーブA(太田一富士製薬)	錠	ノルエチステロン1mg	メストラノール0.05mg	
ソフィア-C(帝國)	錠	ノルエチステロン2mg	メストラノール0.1mg	
ルテジオン(帝國)	錠	酢酸クロルマジノン2mg	メストラノール0.05mg	
エナビット(大日本)	錠	ノルエチノドレル2.5mg	メストラノール0.05mg	
オビュレン(大日本)	錠	酢酸エチノジオール0.5mg	メストラノール0.1mg	
エデュレン(大日本)	錠	酢酸エチノジオール1mg	エチニルエストラジオール0.05mg	
ドオルトン(シェーリング) プラノバル(ワイス)	錠	di-ノルゲストレル0.5mg	エチニルエストラジオール0.05mg	
EP-ホルモン(帝國) ルテス(持田) イスプロミン(富士製薬)	注	プロゲステロン10mg/ml	安息香酸エストラジオール1mg/ml	
プリモジストン(シェーリング)	注	カブロン酸ヒドロキシプロゲステロン250mg/ml	安息香酸エストラジオール10mg/ml	
ルテスデポー(持田)	注	カブロン酸ヒドロキシプロゲステロン125mg/ml	安息香酸エストラジオール10mg/ml	

2) 男性ホルモンと卵胞ホルモンの合剤¹⁵⁾

商品名(会社名)	剤型	男性ホルモン成分	卵胞ホルモン成分	備考
ダイホルモンS(持田) ボセルモン(帝國) エスジン(富士製薬)	注	テストステロン4.76mg/ml	エストラジオール0.24mg/ml	
エスジンデポー(富士製薬)	注	エナント酸テストステロン60mg/ml, プロピオン酸テストステロン5mg/ml	ジプロピオン酸エストラジオール2mg/ml	
ボセルモンデポー(帝國)	注	エナント酸テストステロン40mg/ml, プロピオン酸テストステロン9mg	吉草酸エストラジオール1mg	
プリモジアンデポー(シェーリング) ダイホルモンドポー(持田) デボ・エス・テイ(北陸)	注	エナント酸テストステロン90.2mg/ml	吉草酸エストラジオール4mg/ml	
デボ両性(住友-アップジョン)	注	シビオン酸テストステロン50mg/ml	シビオン酸エストラジオール2mg/ml	

3) その他の合剤¹⁵⁾

商品名(会社名)	剤型	成分	備考
メサルモン-F(日薬)	錠	プレグネ/ロン1mg, アンドロステンジオン1mg, アンドロステンジオール0.5mg, テストステロン0.1mg, エストロン5μg, 乾燥甲状腺7.5mg	

表6 わが国における性ステロイドホルモン剤の年間生産量²⁴⁾

医薬品

薬 剤	1995 年	1999 年
エストロゲン	30 kg	69 kg (結合型を含む)
エストリオール	40 kg	49.5 kg
テストステロン	41 kg	25.9 kg
プロゲステロン	12 kg	12 kg

薬事工業生産動態統計年報 (厚生省健康政策局編集)

動物薬

薬 剤	1995 年	1998 年
胎盤性性腺刺激ホルモン製剤	645L	371L
脳下垂体前葉性腺刺激ホルモン剤	1503 kg	440 kg
卵細ホルモン剤	226L	
黄体ホルモン剤	486L	314L
複合ホルモン剤	160L	1L
その他のホルモン製剤	1352L	1704L
輸入	1701L	1942L

動物用医薬品、医薬部外品、生産 (輸入) 販売高年報 (日本動物薬事協会)

表7 アメリカにおける合成性ステロイドホルモン剤の年間生産量と販売量 (1995年)¹⁶⁾

薬 剤	使用量 (kg/年) ^{a)}	販売量 (kg/年) ^{b)}
経口避妊薬 (エチニルエストラジオール) (メストラノール)	88	0.4887
ホルモン補充療法剤 (抱合型エストロゲン)	1687.5	1500
成長促進ホルモン剤 (エストラジオール)	579.15	未確認

a) 使用者数および平均使用量から算出

b) IMS アメリカのデータ (1995)

表 8 下水処理場における流入水および流水中の合成排卵抑制剤と天然エストロゲンレベル(31)

排卵抑制剤		天然尿中ホルモン	
下水		下水	
Synthetic Ovulation Inhibitors	Overall Concentration Range And Average	Natural Urinary Hormones	Overall Concentration Range and Average
Norethindrone	0.45 1.20	Androstosterone	5.70 14.04
Norethindrol	0.83 0.35 0.60	Dehydroisandrosterone	0.92 0.58 2.17
Norethindrone acetate	0.54 0.15 0.45	Etiocalone	1.39 3.15 9.05
Medroxyprogesterone acetate	0.27 0.09 0.30	Progesterone	6.10 0.00 0.02
Dimethisterone	0.20 0.01 0.08	Testosterone	0.01 0.00 0.03
Chlormedrone acetate	0.05 0.04 0.15	Estrone	0.02 0.00 0.07
Ethinodiol diacetate	0.09 0.40 1.01	Estradiol	0.03 0.01 0.20
Ethinyl estradiol	0.66 0.50 2.25	β-Estradiol	0.08 0.00 0.02
Mestranol	1.21 0.50 1.94	Pregnenolol	0.01 1.04 12.66
	1.21		6.83

下水		下水	
Synthetic Ovulation Hormones	Overall Concentration Range And Average	Natural Urinary Hormones	Overall Concentration Range and Average
Norethindrone	0.28 1.01	Androstosterone	5.70 14.04
Norethindrol	0.60 0.21 0.66	Dehydroisandrosterone	0.92 0.58 2.17
Norethindrone acetate	0.30 0.10 0.30	Etiocalone	1.39 3.15 9.05
Medroxyprogesterone acetate	0.20 0.06 0.29	Progesterone	6.10 0.00 0.02
Dimethisterone	0.16 0.01 0.07	Testosterone	0.01 0.00 0.03
Chlormedrone acetate	0.04 0.03 0.14	Estrone	0.02 0.00 0.07
Ethinodiol diacetate	0.08 0.28 0.94	Estradiol	0.03 0.01 0.20
Ethinyl estradiol	0.55 0.25 1.78	β-Estradiol	0.08 0.00 0.02
Mestranol	0.81 0.40 1.90	Pregnenolol	0.01 1.04 12.66
	1.05		6.83

*Concentration in micrograms/L.

*Concentration in micrograms/l

*Concentration in micrograms/l