

# ノニルフェノールの分析法 フローシート

## <項目>

ノニルフェノール

## <操作>

1000 ml 分液ロート

- 検水 500 ml
- 塩化ナトリウム 25 g
- 塩酸で pH 3 以下に調整
- ジクロロメタン 100 ml

振とう 10 分間

ジクロロメタン層    水層

— ジクロロメタン 50 ml

振とう 10 分間

ジクロロメタン層

水層

あわせる

すてる

脱水 無水硫酸ナトリウム

300 ml ナス形フラスコ

濃縮 ロータリーエバポレーター

5% シリカゲルカラムクロマトグラフィー (5 g)

ジクロロメタン：ヘキサン (30:70 V/V) 50 ml 洗淨

ジクロロメタン：ヘキサン (60:40 V/V) 100 ml 溶出

濃縮 ロータリーエバポレーター

内標準液 (ナフタレン- $d_8$  及びフェントレン- $d_{10}$  の 0.5  $\mu\text{g/ml}$  ヘキサン溶液) 0.5 ml

測定 GC/MS-SCAN

ブランクとして市販のミネラルウォーター 500 ml を分液ロートにとり同様に試験。

備考： 使用する器具はアセトンで洗淨した。  
無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムはアセトンで洗淨し、風乾後 210 °C で 2 時間加熱した。

## <測定機器操作条件>

機 種：SATURN 2000 [Varian]

カラム：DB-5MS [GL Science Co.]  $\phi$  0.25 mm  $\times$  30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$

導入系：スプリットレス  
温度：注入口 280 °C  
カラム 60 °C (2分保持) → 10 °C/min 昇温 → 250 °C (10分保持)  
トランスファーライン 170 °C  
トラップ温度 150 °C  
キャリアーガス：ヘリウム、1.5 ml/min  
イオン化法：EI

<設定質量数>

測定対象物質	分子量	定量イオン (m/z)	保持時間 (分)
ノニルフェノール	220.35	207	15.2~15.7
フェナントレン-d <sub>10</sub> (内標準)	188.23	188	16.43

## ビスフェノール A 分析法のフローシート

### <項目>

ビスフェノール A

### <サロゲート>

ビスフェノール A-d<sub>16</sub>

### <操作>

500 ml 透明摺り分液ロート

検水 250 ml

サロゲート物質 0.025 µg (0.05 mg/L を 0.5 ml)

密栓混合

塩化ナトリウム 15 g

6 mol/l 塩酸で pH 3 以下に調整

ジクロロメタン 25 ml

振とう 5 分間

ジクロロメタン層 水層

ジクロロメタン 25 ml

振とう 5 分間

ジクロロメタン層

水層

あわせる

すてる

脱水 無水硫酸ナトリウム

200 ml ナス形フラスコ

濃縮 ロータリーエバポレーター

窒素気流下乾固

水及びアセトニトリルの混液(6:4v/v) 0.5 ml に溶解

測定 LC-MS

ブランクとして市販のミネラルウォーター 250 ml をジクロロメタンで洗浄後同様に試験。  
妨害の認められた試料についてはシリカゲルカートリッジカラムによる追加精製を行った。

備考：使用する器具はアセトンで洗浄した。  
無水硫酸ナトリウムはジクロロメタンで洗浄した  
塩化ナトリウムは 300 °C で 3 時間加熱した。

<測定機器操作条件>

機種：1100Series MSD [Agilent technologies]

カラム：Zorbax Eclipse XDB-C18 5  $\mu\text{m}$ 、 $\phi 2.1 \text{ mm} \times 15 \text{ cm}$  [Agilent technologies]

カラム温度：40  $^{\circ}\text{C}$

移動相：A液 0.01 %酢酸 B液 アセトニトリル

B(%) 35 %(10分保持)  $\rightarrow$  (5分)  $\rightarrow$  95 %(2分保持)

流量：0.2 ml/min

イオン化法：ESI、負イオンモード

フラグメンター電圧：140 V

ネブライザーガス：窒素 35 psi

乾燥ガス：窒素 10 l/min、350  $^{\circ}\text{C}$

キャピラリー電圧：3500 V

設定質量数：m/z 227 (ビスフェノールA)、241 (ビスフェノールA- $\text{d}_{16}$ )

注入量：10  $\mu\text{l}$

## 多環芳香族炭化水素類の分析法フローシート

### <項目>

ベンゾ [a]ピレン、インデノ[1, 2, 3, cd]ピレン、ベンゾ [b]フルオランテン、ベンゾ [k]フルオランテン、ベンゾ [g, h, i]ピレン、フルオランテン

ジベンゾ [a, h]アントラセン、アントラセン、ベンゾ [a]アントラセン、ピレン、ベンゾ [j]フルオランテン、クリセン、ベンゾ [e]ピレン

### <サロゲート>

ベンゾ [a]ピレン-d<sub>12</sub>、インデノ[1, 2, 3, cd]ピレン-d<sub>12</sub>、ベンゾ [b]フルオランテン-d<sub>12</sub>、ベンゾ [g, h, i]ピレン-d<sub>12</sub>、フルオランテン-d<sub>10</sub>

ジベンゾ [a, h]アントラセン-d<sub>14</sub>、ベンゾ [a]アントラセン-d<sub>12</sub>、ピレン、クリセン-d<sub>12</sub>

### <操作>

1000 ml 分液ロート

- 検水約 500 ml
- サロゲート 2 物質各 0.04 μg (2 mg/L の混合溶液を 20 μl)

密栓混合

- 塩化ナトリウム 15 g
- ヘキサン 100 ml

振とう 5 分間

ヘキサン層

水層

— ヘキサン 50 ml

振とう 5 分間

ヘキサン層

水層

脱水 硫酸ナトリウム

すてる

200 ml ナス形フラスコ

濃縮 ロータリーエバポレーター

窒素ガ-ジ 乾固

定容

- 内標準物質添加 p-ターフェニル-d<sub>14</sub> 0.04 μg (0.04 mg/L 溶液を 1 ml)

測定 GC-MS

ブランクとして精製水 500 ml を分液ロートにとり同様に試験。

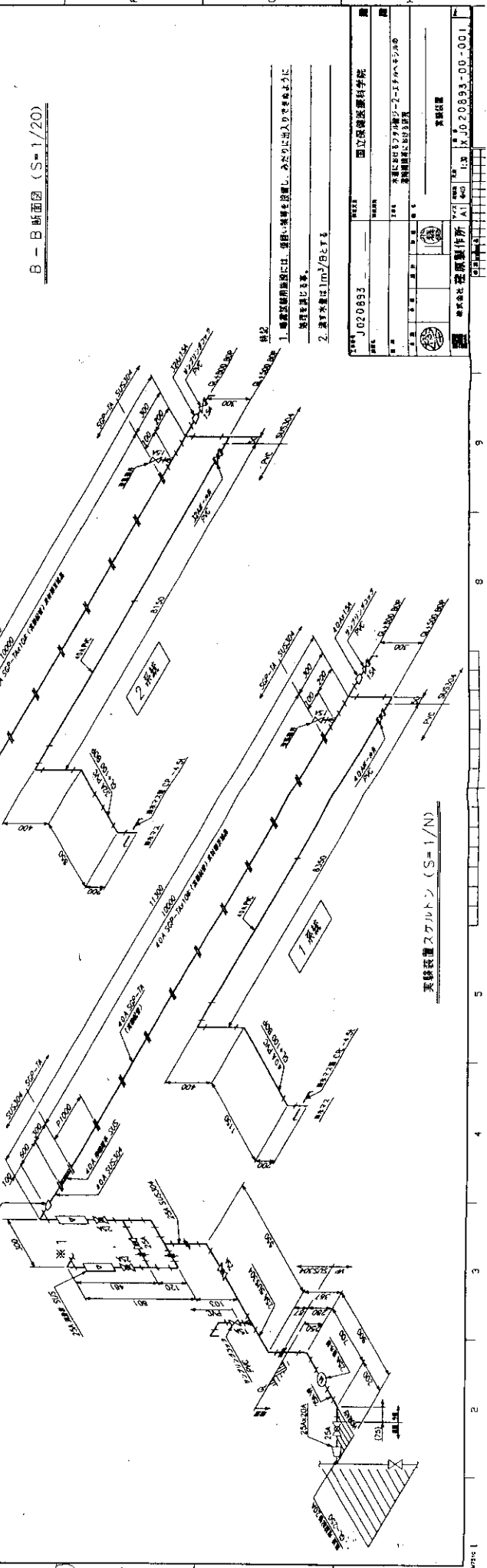
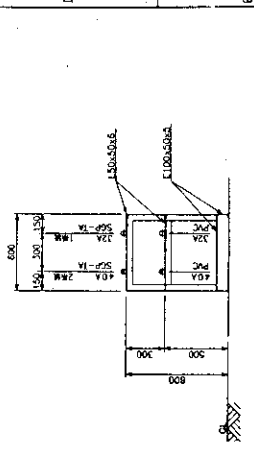
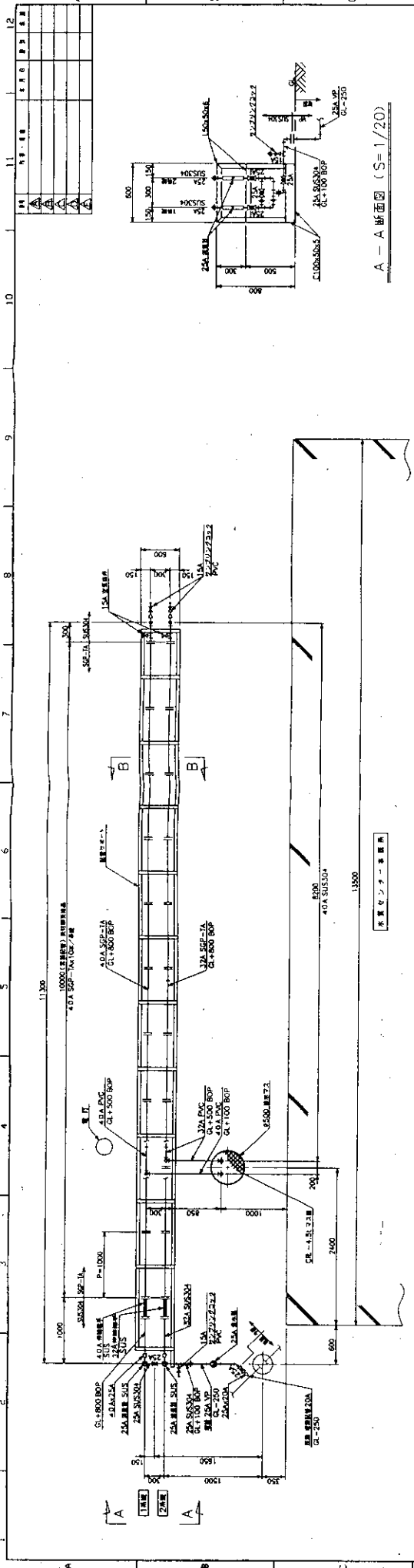
<測定機器操作条件>

機 種 : 6890/5793 [Agilent Technologies]  
 カ ラ ム : DB-5ms [Agilent Technologies]  
           φ 0.25 mm×30 m、膜厚0.25 μm  
 導 入 系 : スプリットレス  
 温 度 : 試料注入口 270℃  
           カラム 60℃(2分保持)→20℃/min 昇温→120℃  
                     →7℃/min 昇温→310℃(10分)  
 ガス流量 : ヘリウム(キャリアーガス) 1.0 ml/min  
 イオン源温度 : 230℃  
 イオン化法 : EI

<設定質量数>

測定対象物質	分子量	定量イオン (m/z)	保持時間(分)
ベンゾ [a]ピレン	252	252	28.92
ベンゾ [a]ピレン-d <sub>12</sub>	264	264	28.85
ベンゾ [b]フルオランテン	252	252	28.01
ベンゾ [b]フルオランテン-d <sub>12</sub>	264	264	28.03
ベンゾ [k]フルオランテン	252	252	28.09
ベンゾ [g, h, I]ペリレン	276	276	31.87
ベンゾ [g, h, I]ペリレン-d <sub>12</sub>	288	288	31.81
インデノ [1, 2, cd]ピレン	276	276	32.48
インデノ [1, 2, cd]ピレン-d <sub>12</sub>	288	288	32.41
フルオランテン	202	202	19.83
フルオランテン-d <sub>10</sub>	212	212	19.77
ベンゾ [j]フルオランテン	252	252	28.03
ベンゾ [e]ピレン	252	252	28.77
クリセン	228	228	24.62
クリセン-d <sub>12</sub>	240	240	24.55
ベンズ [a]アントラセン	228	228	24.73
ベンズ [a]アントラセン-d <sub>12</sub>	240	240	24.65
ジベンズ [a, h]アントラセン	278	278	31.98
ジベンズ [a, h]アントラセン-d <sub>14</sub>	292	292	31.91
アントラントレン	276	276	32.82
p-ターフェニル-d <sub>14</sub> (内標)	244	244	21.36

## 別添 2 実験装置図面



1. 構造図面には、重心位置を示し、必要に応じて出入り力を示す。
2. 設計図書は1m<sup>2</sup>/8.5t

図番	J020893
図名	国立保健医療科学院
設計者	国立保健医療科学院
作成者	国立保健医療科学院
承認者	国立保健医療科学院
図面番号	A1-000
図面名称	実験装置スケルトン
図面スケール	1/30
図面作成日	XJ020893-00-001



分担研究報告書 8

多環芳香族炭化水素類 (PAHs) の塩素消毒生成物の  
AhR活性評価

分担研究者 国包章一  
研究協力者 相澤貴子、胡 建英、金 曉輝

# 多環芳香族炭化水素類(PAHs)の塩素消毒生成物の AhR 活性評価

国立保健医療科学院 国包章一

横浜市水道局 相澤貴子

北京大学環境学院 胡建英 金曉輝

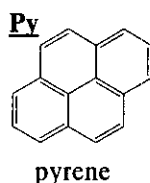
## 1. 前言

PAHs は環境中に広く存在する発ガン性、変異原性物質である。近年、特に内分泌かく乱化学物質としても注目されている。今までの論文報告を整理すると、PAHs の内分泌かく乱作用メカニズムは3つに分類される。すなわち、(1) エストロゲンレセプター (ER) との直接結合によって、エストラジールの作用を妨害する抗エストロゲン作用<sup>1)</sup>；(2) AhR レセプター (AhR) との結合により、CYP 系酵素を誘導して E2 を代謝させる内分泌かく乱作用<sup>2)</sup>；(3) PAHs がエストロゲンレセプターと結合することによる内分泌かく乱作用<sup>3)</sup> である。水道水中に残留する PAHs は水道原水の汚染と配管材質からの溶出に由来するとされ、浄水処理の観点からは、塩素処理過程での分解等を含む PAHs の挙動を明らかにする必要がある。我々は今まで NP、BPA および E2 の塩素処理過程における挙動について検討しており、それらの分解生成物のエストロゲン作用モードや強度が元の物質のそれと異なることを明らかにしてきた。

本研究では、PAHs のうち、その汚染のマーカーとしても使われている pyrene について、機器分析手法を用いて、その塩素分解生成物の同定を行った。さらに AhR と Arnt を組み込んだ酵母株 YCM3 を用いて、塩素分解生成物の AhR レセプター活性について評価した。

## 2. 実験方法

### 2.1 対象 PAHs



### 2.2 反応経路に関する計算方法

pyrene と次亜塩素酸との反応解析に必要な部分電荷、HOMO 軌道密度の計算には半経験分子軌道法プログラムの CAChe MOPAC(CAChe Scientific 社)の PM3 ハミルトニアンを用いた。

### 2.3 塩素処理条件

2L の超純水に 0.2mg の pyrene (約 100 $\mu$ g/l) を溶解させ、NaClO (約 2mg/l) を添加し、25 $^{\circ}$ C で反応させた。反応液の pH は 7.3 に調整した。一定の塩素反応時間ごとに試料各々 0.5L を採水し、Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> で残留塩素を消去した。7ml の CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>OH、5ml の水で C18 固相カートリッジをコンデ イションングし通水した後、8ml の CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で抽出した。窒素パージで抽出液の溶媒を完全に除去し、1ml の C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> で転溶した。0.5ml の抽出液を GC/MS 測定に用いた。残った 0.5ml の抽出液の溶媒を完全に除去して、DMSO で 0.05ml にメスアップし、AhR 活性の測定に供した。

### 2.4 GC/MS 分析条件

pyrene の分解生成物の同定は、GC/MS (Hewlett Packard 5971MSD;HP-5MS (30mx0.25mmx0.25μm)) を用いて行った。

## 2.5 AhR 活性の測定

本研究では Miller ら<sup>4)</sup> が開発した酵母法により対象 PAHs の AhR 結合活性を測定した。酵母 YCM3 株に人 AhR と Arnt 遺伝子を染色体 III に融合し、AhR と Arnt が galactose 調節 GAL1,10 プロモータで表し、AhR/Arnt 仲介の転写活性が β-galactosidase 活性で評価される方法である。

測定過程は基本的に文献と同じである<sup>4,5)</sup>。YCM3 酵母を 30℃で tryptophan 除外した合成グルコース培地で一晩培養した。200μl の 2%galactose 培地に 50μl の前培地液を加えた後に、2.5μl の PAHs の DMSO 溶液を添加して、30℃で 8 時間培養した。培養液 150μl を 96 穴のマイクロプレートに移し、プレートリーダーで 595nm で菌液の濁度を測定した。残りの培養液 100μl を 15000rpm で 5 分間遠心分離を行った後、上清を捨て、1mg/ml Zymolyase を含む Z-バッファ 200μl を加え、ボルテックスした後、30℃で 20 分静置した。40μl の 4mg/ml ONPG 溶液を加え、ボルテックスした後、30℃で反応を開始させた。30 分後、100μl の 1MN<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を加え、反応を停止させた。15000rpm、5 分間遠心した後、上清 150μl をプレートリーダーで 415nm と 570nm の吸光度を測定した。

Galactosidase 活性の評価は、次式を用いて行った。

$$\text{Unit}=1000(A_{415}-1.75A_{570})/(t*v*A_{595})$$

## 3. 実験結果および考察

### 3.1 臭素イオン無添加系での pyrene の塩素処理

GC/MSを用いて、pyreneの塩素分解性について検討した。図-1は臭素イオン無添加系における、反応時間65時間後の処理水のGC/MSクロマトグラムである。図から分かるようにpyreneと塩素との反応は遅く、反応時間65時間後でもpyreneが依然として検出された。保持時間26分と28.2分のピークは、それぞれmono-chloro pyreneとdi-chloropyrene (二種類の異性体) である。臭素イオン無添加系においても微量であるが、臭素化物が検出された。図-2は保持時間27.2分に表れたピークのマススペクトルで、mono-bromo pyreneであると考えられる。マススペクトルは省略するが、monobromo monochloro pyreneも同定された。これら臭素化物が検出された原因は、NaOCl水溶液中にBr-が不純物として含まれていたことによると考えられる。

pyrene の塩素化反応の塩素置換位置と di-chloro pyrene の二つの異性体構造について、pyrene の HOMO 軌道密度の観点から検討した。図-3 に、pyrene の部分電荷を示す。これまでの NP、BPA 及び E2 と次亜塩素酸との反応メカニズムに関する研究から、次亜塩素酸と有機化合物との反応は、電荷が支配的であることが明らかになっている。従って、pyrene と次亜塩素酸との反応では次亜塩素酸において正電荷を持つ塩素原子は、優先的に pyrene 分子上における電荷がより負である炭素原子に攻撃し、塩素付加反応が起こることが考える。すなわち、最も優先的

に攻撃される原子は部分電荷が-0.101である炭素原子であり、この結果、2-mono-chloro pyreneが生成すると考えられる。

生成された 2-mono-chloro pyrene は、さらに次亜塩素酸と反応する。その反応点を決めるために、2-モノクロロ pyrene 分子の部分電荷も計算した(図-2 (b))。この図から分かるように、反応性が最も高い部位は部分電荷が-0.101の炭素原子であり、di-chloro pyrene のうち 2,7-di-chloro pyrene が最も生成される可能性が高いと推測される。次に反応性が高い部位は部分電荷が-0.0901の炭素原子で、この結果、1,2-di-chloro pyrene が生成されると推測される。

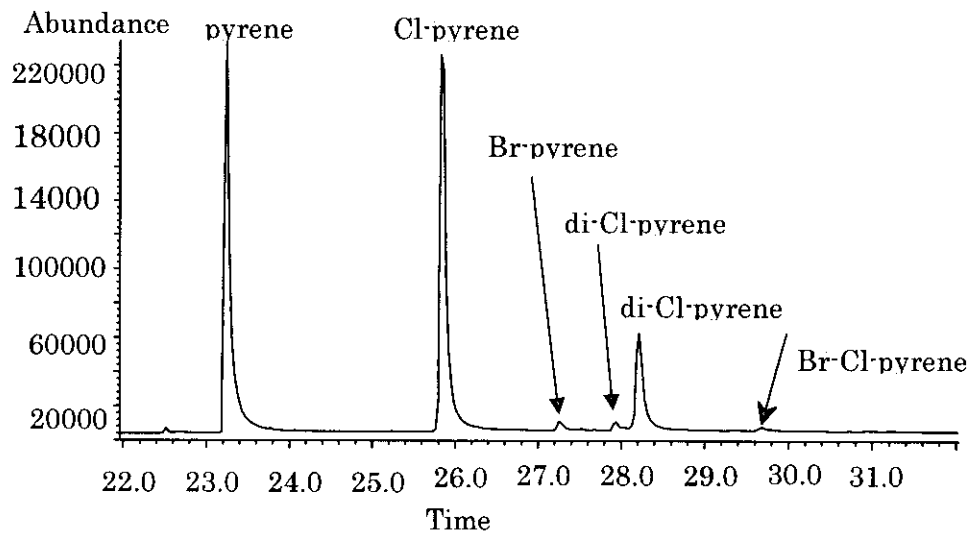


図-1 pyreneと塩素反応のGC-MSクロマトグラム。反応時間：65時間；pH=7.3；[NaOCl]=2mg/l；[pyrene]=100ug/l。

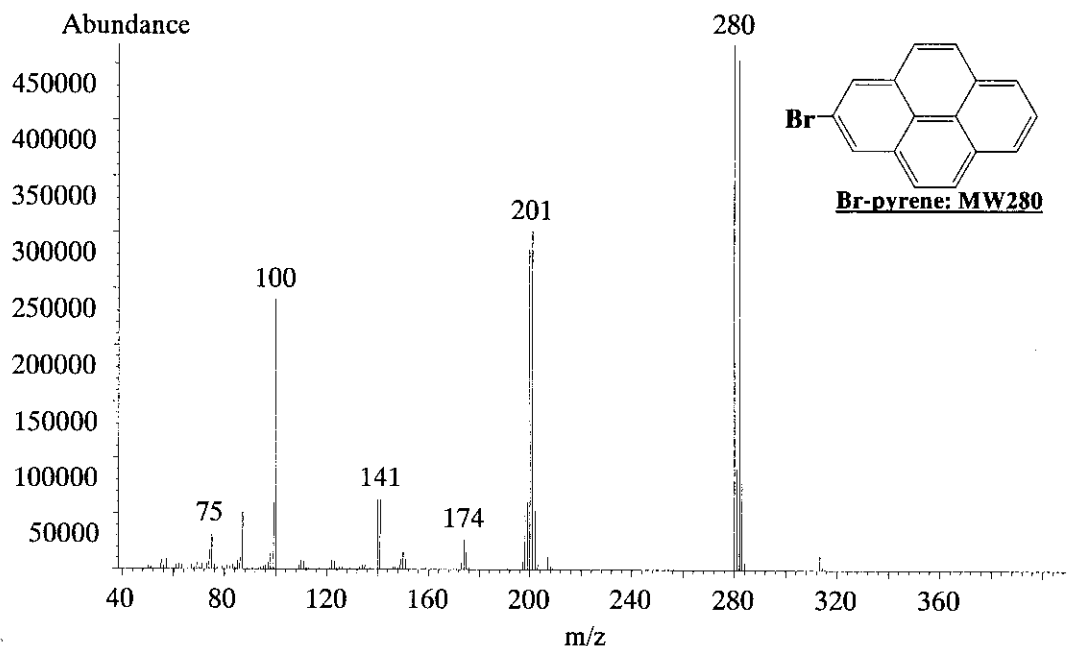


図-2 反応時間 65 時間後混合液中の生成物のマススペクトル。保持時間 13.181 分



影響され、臭素イオン濃度が高いほど pyrene の反応性が高くなることが分かった。臭素イオン無添加の場合、反応時間 65 時間後に約 25% の pyrene が残存しているが、1mg/l の臭素イオンを添加した場合、反応時間 1 時間後の pyrene の残存率は 20% 以下であった。臭素イオン濃度が 0.2mg/l の場合、反応時間 6 時間後の pyrene の残存率は 20% 以下であった。

臭素イオン添加系における、pyrene と塩素との分解生成物の同定を行った。図-6 は臭素イオン 1mg/l を添加した場合の、反応時間 24 時間後の pyrene の塩素処理水の GC-MS クロマトグラムをである。図から分かるように、2-chloro-pyrene、di-chloro-pyrene、bromo-pyrene と bromo-chloro-pyrene (二種類の同位体) が検出された。これらの物質に加えて、保持時間が 24.3 分、24.7 分に 2 つのピークが検出された。図-7 にこれら 2 つのピークに対応するマススペクトルを示すが、この図よりこれら 2 つのピークは 2 種類の di-bromo-pyrene であると推測された。3.1 の場合と同様に、pyrene および bromo-pyrene の部分電荷を計算したところ、これら 2 つのピークは 2,7-di-bromo-pyrene および 1,2-di-bromo-pyrene であると推測された。図 6 に示されているように、臭素イオン添加系における pyrene の塩素処理分解生成物の中で、最も生成量が多いのは 2-bromo-pyrene であると考えられた。

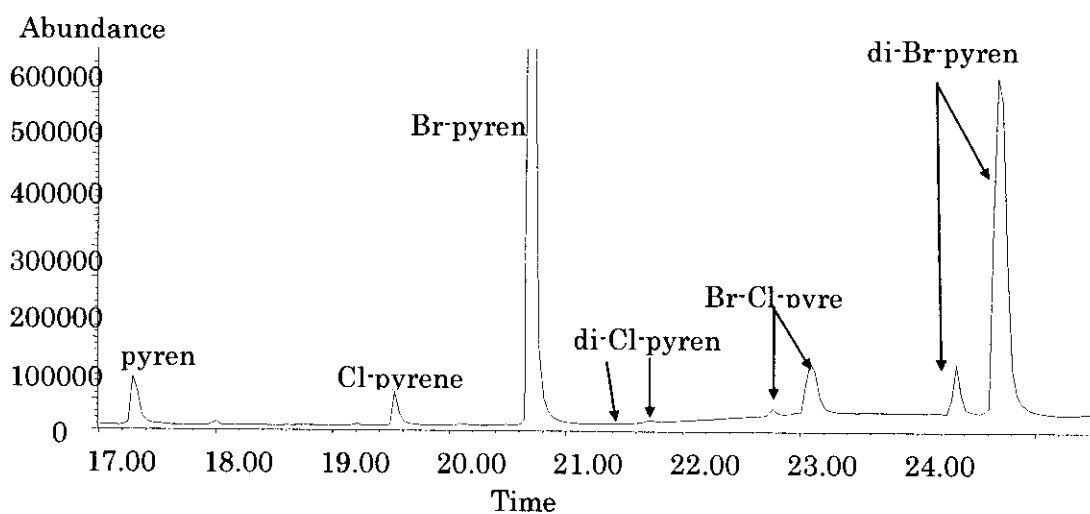


図-6 pyrene と塩素反応の GC-MS クロマトグラム。反応時間：65 時間；pH=7.3；  
[NaOCl]=2mg/l；[pyrene]=100µg/l。

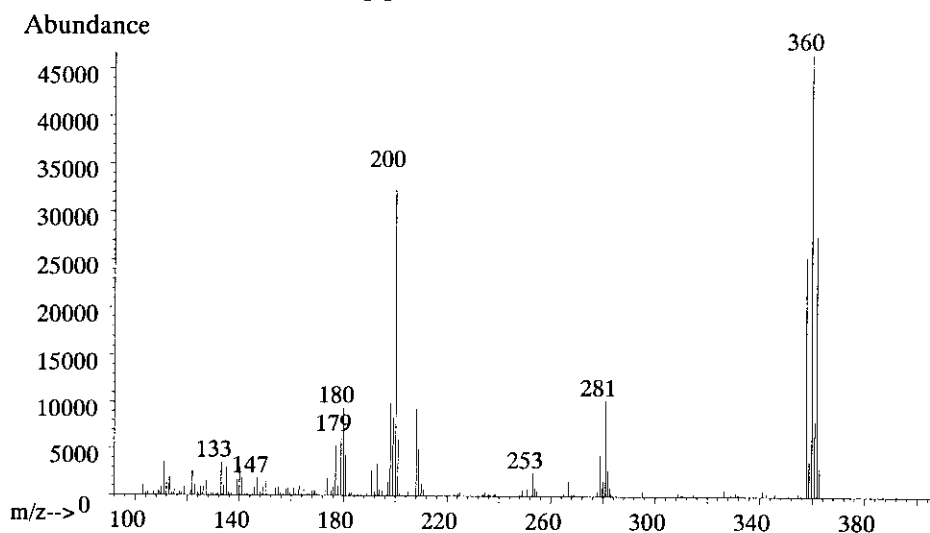


図-7 反応 24 時間後混合液中の生成物のマススペクトル。保持時間 24.7 分

臭素イオン添加系における、各塩素反応時間の濃縮試料を GC/MS (SIM モード) で測定したときの pyrene およびその分解生成物のピーク面積値を図-8 に示す。反応時間 6 時間後において、pyrene 濃度は半分に減少し、2-bromo-pyrene が最も多く生成されていた。その後、2-bromo-pyrene は、反応時間の経過と共に減少していく傾向が認められた。2-chloro-pyrene の経時変化が 2-bromo-pyrene のそれと類似していたのに対し、その他の 3 種類の分解生成物の場合、反応時間の経過と共に生成量は増加した。ただし、反応時間 41 時間後においても最も生成量が多い物質は 2-bromo-pyrene であった。

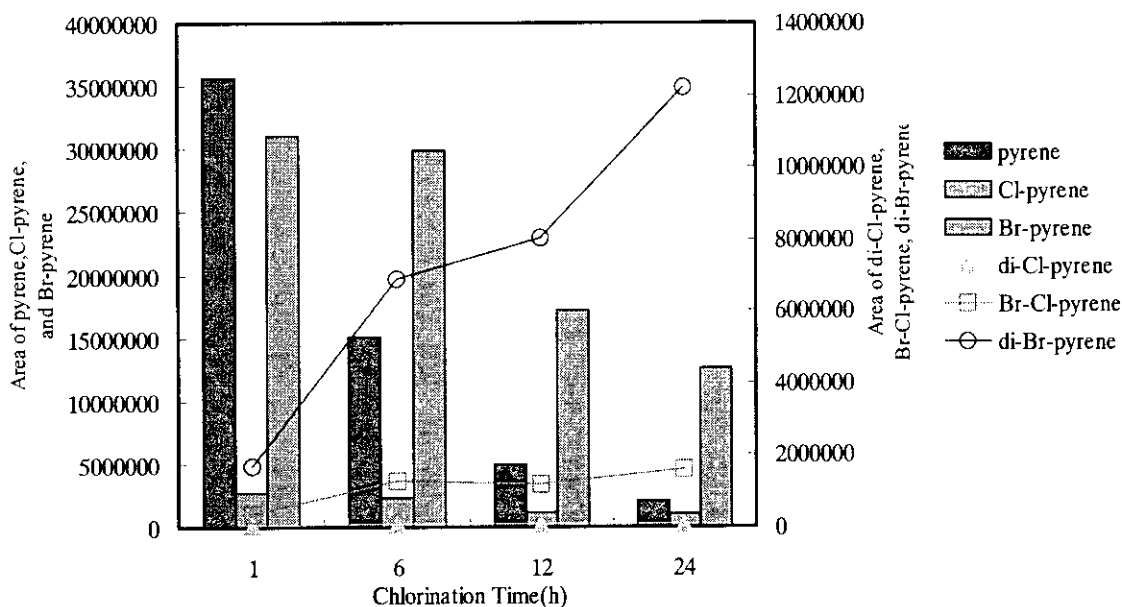


図-8 臭素イオン添加系における塩素処理による pyrene 副生成物の生成量の経時変化  
 $[Br^-]=1\text{mg/l}; [NaOCl]=1.6\text{mg/l}; \text{pH}=7.22; 25^\circ\text{C}$

図-9 に、pyrene およびその分解生成物の部分電化および GC/MS を用いたそれら各物質の経時変化の結果に基づいた、pyrene と塩素との反応経路を提案する。

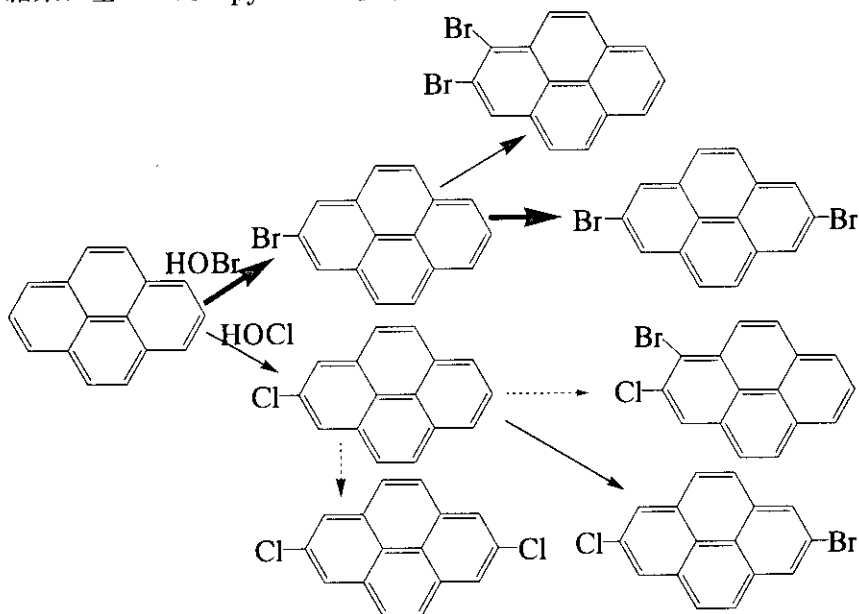


図-9 pyrene の塩素反応経路

### 3.3 塩素処理による pyrene の AhR 活性への影響

酵母 YCM3 株を用いて、各反応時間の pyrene 塩素分解生成物の AhR 活性の評価を行った。図-10 に臭素イオン無添加系における、塩素処理前および塩素反応時間 65 時間後の処理水の濃縮液の AhR 活性を示す。図から分かるように濃縮倍率を横軸にした場合に、反応前後で AhR 活性がほとんど変わらなかった。しかし、横軸を反応後の残留 pyrene 濃度にした場合、反応時間 65 時間後の処理水の AhR 活性強度は反応前のそれより大きく、分解生成物による寄与と考えられた。

図-11 に、臭素イオン添加系における塩素処理前後の pyrene の AhR 活性を示す。反応時間 41 時間後の AhR 活性は反応前のそれより若干高いことが示された。AhR 活性に寄与する物質の検討を行うために、市販の Br-pyrene を購入し、その AhR 活性を測定した (図-11 (右図))。Br-pyrene の活性が pyrene より高かったことから、反応時間 41 時間後の処理水の AhR 活性が反応前のそれより高くなった原因となる物質は Br-pyrene であることが示唆された。

今後は分解生成物の毒性評価について、より詳細に検討する予定である。

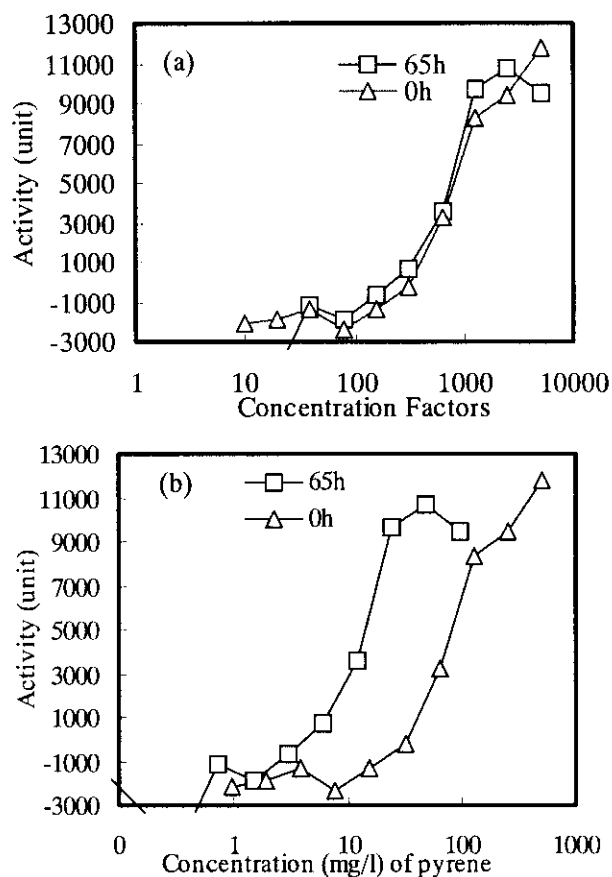


図-10 臭素イオン無添加系における塩素処理前後の pyrene の AhR 活性

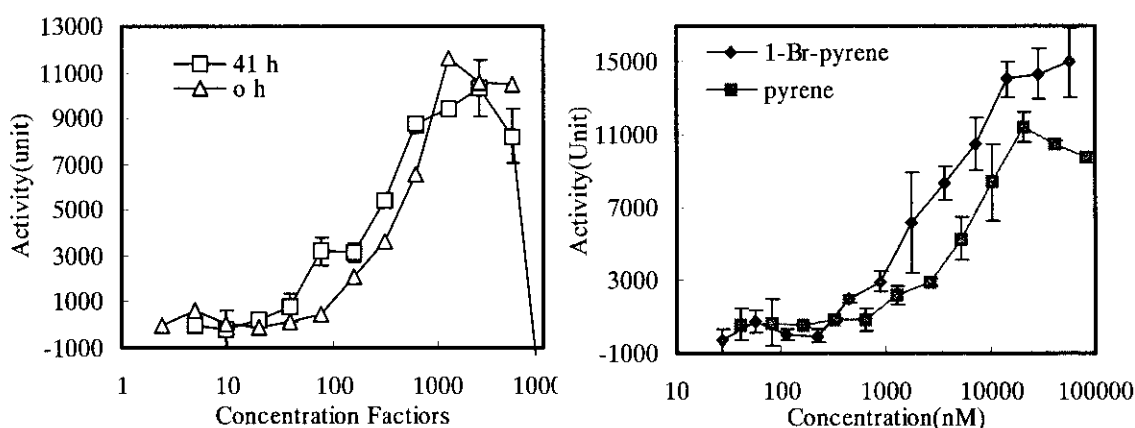


図-11 臭素イオン添加系における塩素処理前後の pyrene の AhR 活性と、pyrene および bromo-pyrene の AhR 活性



## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 1. 論文発表

- 1) 小松一弘、中島典之、古米弘明 (2003) 凝集フロックへの吸着原理に基づいた水道原水中の溶存有機物の特性評価、環境工学研究論文集、Vol.40、pp.237-245.
- 2) Y. Kawamura, Y. Ogawa, T. Nishimura, Y. Kikuchi, J. Nishikawa, T. Nishihara and K. Tanamoto (2003) Estrogenic activities of UV stabilizers used for food contact plastics and benzophenone derivatives by the yeast two-hybrid assay, J. Health Sci., Vol.49, pp.205-212.
- 3) 西村哲治、金子裕美、平川江美、安藤正典、西川淳一、西原力 (2003) 生物システムに作用する化学物質の機能と3次元構造相関の解明 (第二次)、(平成12年度～平成14年度) 国立医薬品食品衛生研究所報告第121号、pp.100-103.
- 4) T. Oka, N. Adachi, T. Shinkai, K. Sakuma, T. Nishimura and K. Kurose (2003) Bisphenol A induces apoptosis in central neural cells during early development of *Xenopus laevis*, Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol.312, pp.877-882.
- 5) T. Nishimura, S. Iizuka, N. Kibune and M. Ando (2004) Study of 1,4-dioxane in the total diet using the maeket-basket method, J. Health Sci., Vol.50, pp.100-107.
- 6) C. Sakamoto, Y. Okada, H. Kanazawa, E. Ayano, T. Nishimura, M. Ando, A. Kikuchi and T. Okano (2004) Temperature- and pH-responsive aminopropylsilica ion-exchange columns grafted with copolymers of N-isopropylacrylamide, J. Chromatogr., Vol.1030, pp.247-253.
- 7) H. Jinno, T. Tanaka-Kagawa, N. Hanioka, S. Ishida, M. Saeki, A. Soyama, M. Itoda, T. Nishimura, Y. Saito, S. Ozawa, M. Ando and J. Sawada (2004) Identification of novel alternative splice variants of human constitutive androstane receptor (hCAR) and characterization of their expression in the liver, Mol. Pharmacol., Vol.65, pp.496-502.
- 8) E. Ayano, H. Kanazawa, M. Ando and T. Nishimura (2004) Determination and quantitation of ulfonylurea and urea herbicides in water samples using liquid chromatography with an electrospray mass detector, Anal. Chim. Acta, Vol.507, pp.211-218.
- 9) B. C. Lee., M. Kamata, Y. Akatsuka, M. Takeda, K. Ohno, T. Kamei, Y. Magara (2003) Effects of chlorine on the decrease of estrogenic chemicals, Water Research, Vol.38, pp.733-739.
- 10) J. Hu, S. Cheng, T. Aizawa, Y. Terao and S. Kunikane (2003) Products of aqueous chlorination of 17 $\beta$ -estradiol and their estrogenic activities, Environmental Science and Technology, Vol.37, pp.5665-5670.
- 11) 伊藤禎彦、中西岳、早坂剛幸 (2003) 塩素処理によるエストロゲン様作用の変化と試料調製法に関する実験的考察、水道協会雑誌、Vol.72、No.4、pp.10-20.
- 12) 伊藤禎彦、早坂剛幸、岡田朋之 (2003) 蛍光分析による琵琶湖水と塩素処理水中フミン物質の回収性の検討、用水と廃水、Vol.45、No.6、pp.24-28.

### 2. 学会発表

- 1) 西村哲治、安藤正典、西川淳一、西原力、橋本安弘 (2003) 核内受容体リガンドアッ

セイによる内分泌攪乱化学物質の評価、第6回日本環境学会シンポジウム講演集、  
p.184 .

- 2) 中島典之、Yongyod Thaveemaitree、古米弘明、国包章一 (2004) 浄水汚泥、スラム等の熱分解GC/MSによる有機物組成解析結果とDEHP含量との関係、第55回全国水道研究発表会講演集、(発表予定)
- 3) Y. Thaveemaitree, F. Nakajima, H. Furumai, S. Kunikane (2004) Relationship between di-(2-ethylhexyl) phthalate concentration and chemical structure of organic matter on solids in drinking water treatment processes, the Proceedings of 4th IWA World Water Congress. (発表予定)
- 4) 竹田誠、宮谷伸之、亀井翼、眞柄泰基 (2004) 酵母とヒメダカを用いた2種類のバイオアッセイにおける化学物質のエストロゲン様作用の比較、第38回日本水環境学会年会講演集、p.664.
- 5) 伊藤和徳、大野浩一、亀井翼、眞柄泰基 (2004) 浄水処理におけるエストロゲン様活性制御のための塩素処理条件の検討、第38回日本水環境学会年会講演集、p.436.

20031281

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。