



Title	下水処理場における非イオン界面活性剤ノニルフェノールポリエトキシレートとその代謝産物の挙動並びに高度処理に関する研究
Author(s)	浅野, 昌弘
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/967">https://hdl.handle.net/11094/967</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

博士論文

下水処理場における非イオン界面活性剤ノニルフェノールポリエトキシレートとその代謝産物の挙動並びに高度処理に関する研究

大阪大学大学院工学研究科環境工学専攻

生物圏・水環境工学領域

浅野 昌弘

# 目次

緒論	1 頁
第1章 下水処理場における NPE-cs の挙動とそのリスク評価、および高度処理に関する既往研究	
第1節 下水処理場における NPE-cs の挙動に関する既往研究	5 頁
第2節 NPE-cs のリスク評価に関する既往研究	6 頁
第3節 NPE-cs の高度処理に関する既往研究	8 頁
第4節 要約	9 頁
第2章 わが国の下水処理場における NPE-cs の挙動	
第1節 緒言	11 頁
第2節 調査方法	11 頁
第3節 調査結果	13 頁
第4節 考察	15 頁
第5節 要約	18 頁
第3章 酵母 Two-hybrid 法による NPE-cs の内分泌攪乱性の評価	
第1節 緒言	19 頁
第2節 実験方法	19 頁
第3節 実験結果	22 頁
第4節 考察	22 頁
第5節 要約	24 頁
第4章 オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法、紫外線/酸化チタン法による NPE-cs の分解	
第1節 緒言	26 頁
第2節 実験方法	26 頁
第3節 実験結果	28 頁
第4節 考察	30 頁
第5節 要約	32 頁
総括ならびに結論	33 頁
参考文献	37 頁

## 緒論

現在、工業的に生産される化学物質の種類は約 10 万種に上ると言われており、その生産量、種類は増加の一途を辿っている。我々の身の周りにおいても、数多くの化学物質が用いられているが、殊に家庭における消費に関して言えば、界面活性剤ほど多量に使われている化学物質は他にない。現在、わが国においては家庭用と産業用を合わせて国民一人あたり年間 10kg 近くの界面活性剤を消費していると言われており、これらの大部分が排水を介して水環境中へ排出されているものと考えられている。

界面活性剤は、1 分子中に油に馴染みやすい疎水基と、水に馴染みやすい親水基を有する化学物質であり、親水基が水中においてマイナスに解離する陰イオン(アニオン)界面活性剤、プラスに解離する陽イオン(カチオン)界面活性剤、pH によりマイナスに解離したりプラスに解離する両性界面活性剤、イオンに解離しない非イオン(ノニオン)界面活性剤に分類される。わが国においては、1960 年頃からの洗濯機の急速な普及率の高まりに伴ない、合成洗剤の生産量が急増し、その原料として生物学的に分解しにくい陰イオン界面活性剤である分岐型アルキルベンゼンスルホン酸塩(ABS)が使用されるようになったことから、下水処理場や河川において著しい発泡現象が認められ、大きな社会問題となった。その後直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸塩(LAS)が開発され、各地における発泡現象は沈静化されていったが、続いて助剤であるトリポリリン酸塩が富栄養化を促進することが新たな問題となった。この問題についても、リン酸塩の代わりに LAS 等の界面活性剤を 2~3% 余分に添加した無リン洗剤が開発され克服されるに至ったが、合成洗剤の環境影響への懸念は完全には拭い去られていない。例えば、LAS は ABS と比較して発泡現象の発生が少なくなる程度には速く分解するが、完全分解に至るには長時間を要する。このことから、新たな界面活性剤開発がさかんに行われるようになり、LAS より分解速度の速いアルキル硫酸エステル塩(AS)、 $\alpha$ -オレフィンスルホン酸塩(AOS)やアルコールエトキシレート(AE)などの界面活性剤の生産量が増加してきている。わが国における界面活性剤の生産量は 1980 年頃までは陰イオン界面活性剤が占めていたが 1990 年頃から非イオン界面活性剤の生産量が増加し、平成 9 年(1997)の生産量は、陰イオン界面活

性剤が 64.3 万トンであったのに対し、非イオン界面活性剤が 47.3 万トンにも達した<sup>1)2)</sup>。

このうち、エーテル型非イオン界面活性剤であるアルキルフェノールポリエトキシレート (APnEOs)の生産量の約 80%を占めるノニルフェノールポリエトキシレート(NPnEOs)については、家庭用としては殆んど使われていないが、浸透性、分散性に優れているだけでなく、起泡性が小さく臨界ミセル濃度(cmc)が低いことから、界面活性剤としての機能が極めて優れており、繊維・染色工業、医薬品精製工業、石油精製工業等の産業分野において多量に用いられている<sup>3)</sup>。疎水基である分岐型ノニルベンゼンのパラ位に親水基としてオキシエチレン(EO)鎖が結合した化学構造を有する NPnEOs(図 0-1 参照)においても、他の界面活性剤と同様、各産業分野において消費された後には排水を介して下水処理場を含む水環境中へ排出されるわけであるが、近年の研究において、排出された NPnEOs が水環境中に存在する微生物による生分解反応を受け、様々な代謝産物が生成することが報告されている。

下水処理場に流入した親物質 NPnEOs(n=8-18; NP8-18EO とも表記)については、活性汚泥法に代表される好氣的生物処理によって EO 鎖のみが生分解され、EO 鎖の重合度が 1~2 になった NPnEOs(n=1-2; NP1-2EO とも表記)や、さらに EO 鎖の末端がカルボキシル化された NPnECs(n=1-2; この場合の n は EO 重合度+1 (カルボキシル基)を表す。NP1-2EC とも表記)を生成するとされている<sup>3)</sup>。また、これら好氣的生分解の産物が無酸素条件下におかれると、嫌氣的生分解によってノニルフェノール(NP)が生じると考えられている<sup>4)</sup>。さらに、処理水の塩素消毒工程における副産物として、NP1-2EO や NP1-2EC の臭素化物(BrNP1-2EO, BrNP1-2EC)もしくは塩素化物(ClNP1-2EO, ClNP1-2EC)と言ったハロゲン化された代謝産物(ハロゲン化物と表記)を生じることが報告されている<sup>5)6)</sup>。これら以外にも多様な変化が起こっている可能性は否定できないが、これまでに一般化されている NPnEOs の下水処理場における主な生物学的・化学的变化をまとめると図 0-2 のように表すことができる。なお、これ以降、親物質 NPnEOs とその代謝産物、ハロゲン化物を総じて NPE-cs と記述する。

NPE-cs のうち、下水処理場において生じるとされている代謝産物については、界面活性剤である親物質 NPnEOs(n=8-12)と比較して高い生態毒性を有することが、最近の研究から明らかにされてきている<sup>7)8)</sup>。特に、NP においては内分泌攪乱性の疑われる 65 の化学物質の一つとして当初から

リストアップされていたが<sup>9)</sup>、最近の研究において NP が低濃度で魚類の性転換を引き起こすことを認められたことで、環境省は、NP を内分泌攪乱性化学物質の一つと位置付けるに至っている<sup>10)</sup>。また、NP1-2EC や NP2E) についても微弱なエストロゲン様活性を有する可能性についても報告されている<sup>11)</sup>。即ち、NPEOs は、本来は水環境への負荷を低減させる目的で行われる下水処理によって、よりリスクの高い代謝産物に転換され、水環境中に放出されているものとも考えられ、下水処理場における NPE-cs の挙動、およびそのリスクを詳細に把握することが必要とされている。また、リスクの高い NPE-cs に対しては、その処理法について検討することも、極めて重要である。

本論文は、わが国の下水処理場における NPE-cs の挙動、およびそのリスクについて検討するとともに、リスクの高い NPE-cs については、その処理法としてオゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法、および紫外線/酸化チタン法を取り上げ、処理性能を評価したものである。

本研究を 4 章に分け、各章の研究内容をまとめると次のようになる。

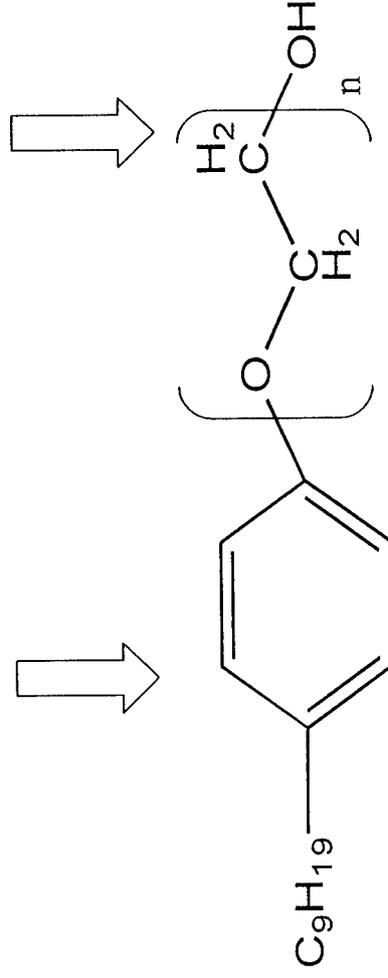
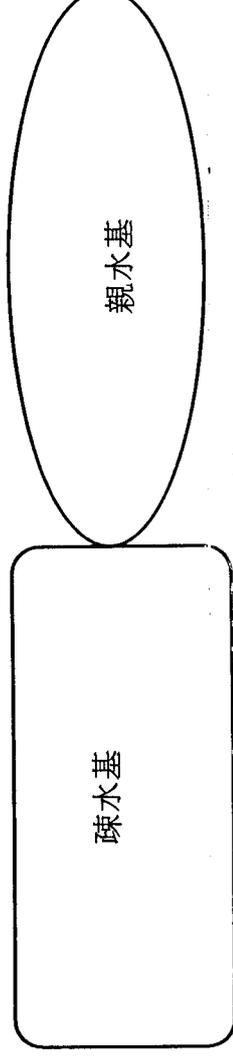
第 1 章においては、下水処理場における NPE-cs の挙動、およびそのリスク評価、また、リスクの高い NPE-cs に対する処理法の検討に関する既往研究を取りまとめ、第 2 章からの各種検討を行う上での問題(研究目的)を明確にした。

第 2 章では、わが国の下水処理場における NPE-cs の挙動を詳細に把握することを目指して、下水処理場から採取された各種下水試料、即ち初沈越流水(PE)、終沈越流水(SE)、滅菌放流水(FE) に含まれる NPE-cs の濃度分布を国内 40 箇所の下水処理場を対象に調査した。また、調査結果のとりまとめから下水処理場における NPE-cs の挙動を把握すると共に各処理場で採用されている処理方式がその挙動に及ぼす影響についても考察を加えた。

第 3 章においては、NPE-cs によるリスクをより正しく評価することを目的として、特に、下水処理水から高頻度で検出される代謝産物、およびそのハロゲン化物を対象に酵母 Two-Hybrid 法による内分泌攪乱性試験を実施し、代謝産物とそのハロゲン化物のエストロゲン様活性、代謝活性化に伴うエストロゲン様活性の変化および、エストロゲン様活性以外の内分泌攪乱性について考察した。

第 4 章では、リスクが高いとされる NPE-cs に対し、オゾン酸化法、紫外線/酸化チタン法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による物理化学的処理を実施し、各処理法による代謝

産物の分解を確認すると共に、分解に関する動力学考察を行った。



ノニルフェノールポリエチレングリコール(NPnEOs)(n;オキシエチレン鎖の重合度)

図 0-1NPnEOs の化学構造

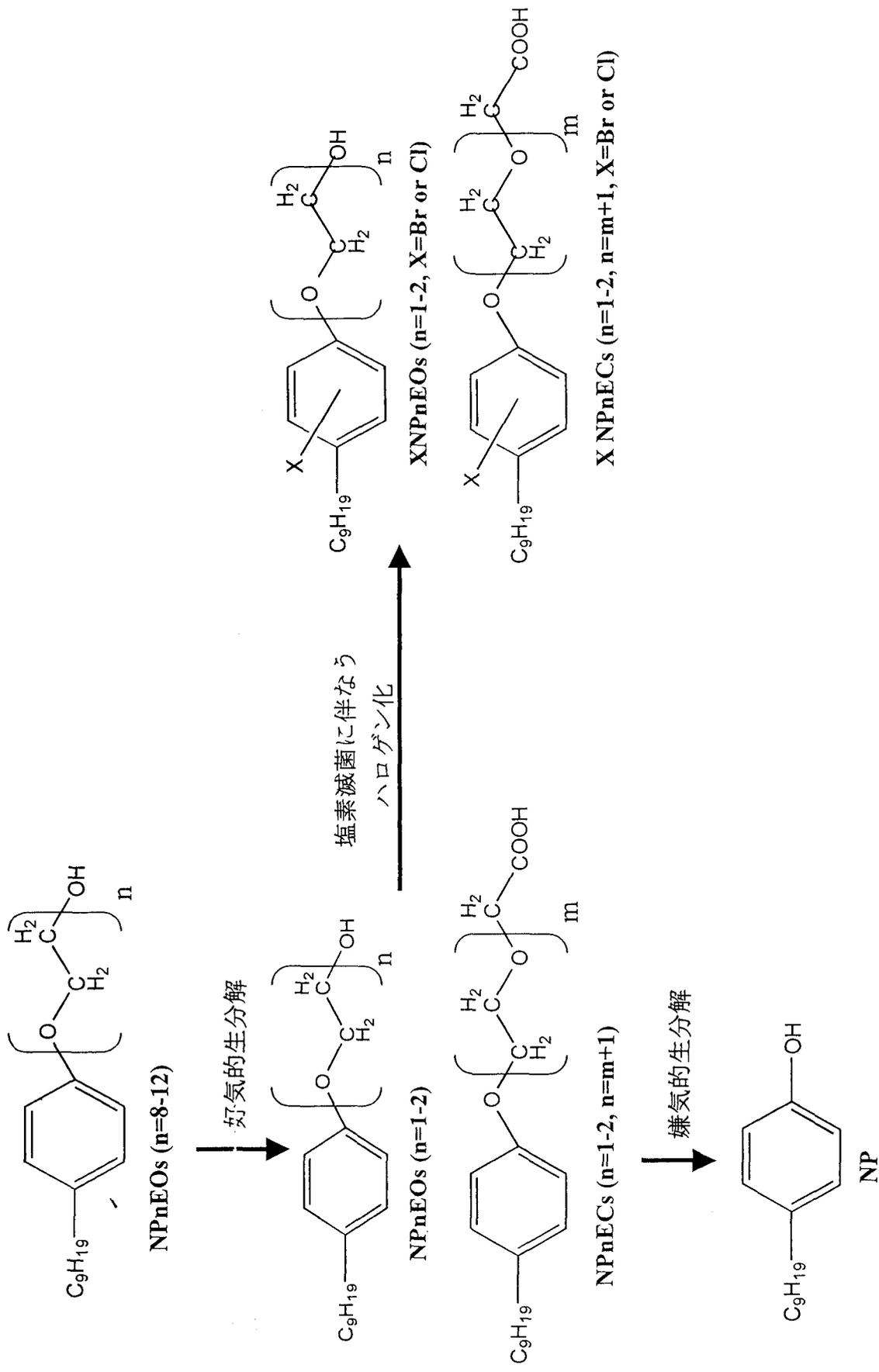


図 0-2 下水処理場における NPnEOs の生分解経路<sup>3)</sup>

## 第1章 下水処理場における NPE-cs の挙動とそのリスク評価、および高度処理に関する既往研究

### 第1節 下水処理場における NPE-cs の挙動に関する既往研究

緒論においても述べた様に、繊維・染色工業、医薬品精製工業、石油精製工業等の各種産業分野において消費された非イオン界面活性剤親物質 NPnEOs は、排水を介して下水処理場へ流入した後、その処理過程において微生物による生分解反応を受け多様な代謝産物を生成する。また、引き続き行われる処理水の塩素消毒工程においてハロゲン化物が生成され、最終的に、これらの NPE-cs が、河川、湖沼および海洋などの水環境中に放出されているものと考えられている。下水処理場において NPE-cs の存在が確認されたのは、1981 年 Giger らによる報告が最初であり<sup>1)</sup>、以来、下水処理場における NPE-cs の消長に関する調査研究が世界各国において実施されている。表 1-1 並びに表 1-2 は、海外並びにわが国の下水処理場における各種下水中の NPE-cs の検出濃度についてまとめたものである。

NPnEOs(n=1-4 または  $n \geq 5$ )については、欧州の下水処理場における流入下水、放流水中の検出濃度がそれぞれ、 $0.26 \sim 938 \mu\text{g/l}$ (流入下水)、N.D.  $\sim 26 \mu\text{g/l}$ (放流水)であったのに対し、わが国においても T.R.  $\sim 810 \mu\text{g/l}$ (流入下水)、 $<0.2 \sim 24 \mu\text{g/l}$ (放流水)のように、大きな差異は認められなかったが<sup>3)4)8)9)22-24)</sup>、米国においてはそれぞれ、 $1600 \sim 2520 \mu\text{g/l}$ (流入下水)、 $56 \sim 104 \mu\text{g/l}$ (放流水)との報告があり、他国と比較して、オーダー以上高い NPnEOs(n=1-18)が検出されたことから、NPnEOs(n=1-18)による流入下水、放流水の高濃度汚染が示唆された<sup>2)</sup>。

また、NP においては 1980 年代からその毒性に対する懸念が高まった故、現在のところ欧米諸国において環境水中濃度として  $1 \mu\text{g/l}$  が APnEOs の使用規制を行うか否かの目安と考えられている<sup>28)</sup>。NP については、海外の下水処理場における流入下水、終沈越流水、放流水中の検出濃度がそれぞれ、 $<0.5 \sim 978 \mu\text{g/l}$ (流入下水)、 $0.45 \sim 44 \mu\text{g/l}$ (終沈越流水)、 $<0.2 \sim 330 \mu\text{g/l}$ (放流水)であったのに対し、わが国においては  $0.7 \sim 75 \mu\text{g/l}$ (流入下水)、N.D.  $\sim 7.7 \mu\text{g/l}$ (終沈越流水)、 $<0.2 \sim 330 \mu\text{g/l}$ (放流水)であり海外の値の方がわが国よりも全体的に高く、1 オーダー以上高い濃度の NP が下水処理場へ流入し、また放流されているものと推察された<sup>3)5)6)8)9)11-13)15-19)23-25)</sup>。特に、スイスや英国の下水処

理場における放流水中の NP 濃度が約 330  $\mu\text{g/l}$  と言う高濃度で検出された<sup>19)20)</sup>ことを反映して、北  
欧諸国においては APnECs の家庭用洗剤への配合が 1995 年に禁止され、また 2000 年までには工業  
用の使用も全廃するとされている<sup>28)</sup>。スイスについては、Ahel らの最近の調査により環境中の  
NPE-cs 濃度が、1980 年代と比較して 1 オーダー以上低下していることを明らかされており<sup>29)</sup>、そ  
の汚染が大幅に改善されていることが予想される。

NPnECs(n=1-3)については、海外の下水処理場における各種下水中の検出濃度がそれぞれ、0.21  
~80  $\mu\text{g/l}$ (流入下水)、2.4~81  $\mu\text{g/l}$ (初沈越流水)、3.2~703  $\mu\text{g/l}$ (終沈越流水)、<N.D.~270  $\mu\text{g/l}$ (放流  
水)であったのに対し、わが国においては僅かしか調査が実施されておらず、比較することが出来  
ない。

また、本節冒頭において述べたハロゲン化物については、海外並びにわが国の下水処理場におい  
ても系統だった調査が実施されておらず、その挙動については殆んど知られていないと言ってもよ  
い。

以上より、NPnECs(n=1-3)やハロゲン化物と言った一部の NPE-cs の下水処理場における消長につ  
いては未だ調査が充分に実施されておらず、わが国のみならず海外各国の下水処理場においても  
NPE-cs の挙動が完全に把握されているとは言えないものと考えられる。

## 第 2 節 NPE-cs のリスク評価に関する既往研究

### 1.NPE-cs の急性毒性評価

化学物質の環境中への排出に伴う生態影響を評価する上では、一般に、バイオアッセイ即ち生物  
学的評価法によるリスク評価が行われる。リスク評価における供試生物材料としては、毒性の発現  
がヒトに近いマウスやラットなどのげっ歯類から、魚類やミジンコなどの水棲生物、バクテリア、  
酵母、哺乳動物細胞などの単一細胞、遺伝子組換え生物や細胞に至るまで幅広く利用されている。  
特に、げっ歯類を用いたリスク評価においては、奇形や発ガン性など、魚類やミジンコにおいては  
増殖阻害や生存率など、バクテリアや酵母では遺伝子障害や突然変異など、哺乳動物細胞では染色  
体障害や細胞機能障害など、遺伝子組換え生物や細胞では内分泌攪乱性などを測定できる試験系が  
確立されており、各種毒性指標が求められている<sup>30)</sup>。

NPE-cs についてもこれまでに様々なバイオアッセイによるリスク評価が実施されている。表 1-3 は NPE-cs について、供試生物への急性毒性を  $LC_{50}$ (半数致死濃度)または  $EC_{50}$ (半数影響濃度)で比較したものである<sup>31)</sup>。NPE-cs の急性毒性を評価した既往研究としては、主に NP がその対象とされているが、一部の研究事例においては代謝産物やそのハロゲン化物についても検討が行われている<sup>32)-37)</sup>。供試生物としては、魚類が最も多く、次いでエビやミジンコなどの甲殻類、貝類、および藻類が用いられていることがわかる。NPE-cs のうち NP についてはいずれの供試生物に対しても最も急性毒性が高いものと推察された。特に、Grass shrimp に対する NP の急性毒性は  $LC_{50}$  にして  $59 \mu g/l$  と非常に高い急性毒性が示された<sup>33)</sup>。また、Japanese killfish を用いた研究事例においては、EO 鎖の短鎖化に伴ない急性毒性が高まる傾向にあり、NP1EC についても EO 鎖の重合度が比較的大きい NP9EO と比較すると高い毒性を有することが報告されている<sup>32)</sup>。NPE-cs において EO 鎖の短鎖化に伴ない急性毒性が高まることについては、同一供試生物(*Daphnia magna*)による NPE-cs の急性毒性試験を行った阪口の研究においても報告されている<sup>31)</sup>。

## 2. NPE-cs の変異原性評価

阪口は、NPE-cs に対し発ガン性と相関性が明らかとなっている変異原性の有無を評価するために、Umu テストによる変異原性試験を実施した<sup>31)</sup>。変異原においては、それ自身が変異原性を示す直接変異原と、哺乳動物の肝ミクロソームによる代謝作用を受けることで初めて変異原性を示す前変異原がある。試験の結果、菌液の被験物質への曝露培養時間が 2 時間、および 5 時間まで延長したところ、いずれの場合においても直接および前変異原性に関する陽性反応が認められなかったことを報告しており、このことから NPE-cs においては変異原性を有さないことが推察された。

## 3. NPE-cs の内分泌攪乱性評価

生体の生命維持に必要不可欠となる内分泌系を攪乱するとされる化学物質、即ち環境ホルモンの存在が 1996 年 3 月に出版された Colborn らの「奪われし未来」において世界各国に紹介されて以来、化学物質の内分泌攪乱性に関する研究事例が急増した。化学物質の内分泌攪乱性に関する問題が大きく取り上げられ始めたことにより、化学物質の内分泌攪乱性を評価するための手法の開発に関す

る研究が世界各国において始まり、現在、供試生物材料としてヒトや動物の体細胞、遺伝子組換え酵母、および血清を用いる方法が開発されている。現在、主に用いられている評価法としては、ホルモンがエストロゲン受容体と結合して転写活性を調節し、レポーター遺伝子の発現量を増加させる性質を利用した方法であり、供試生物材料としてヒト乳がん細胞 MCF-7 の培養細胞や、遺伝子組換え酵母が用いられている。しかしながら、環境ホルモンが内分泌系に与える影響に関しては、生物間において異なることや、内分泌攪乱作用が化学物質により異なる等の理由により、確固たる試験法は存在していない。表 1-4 は NPE-cs の内分泌攪乱性に関する既往研究事例をまとめたものである<sup>31)</sup>。NPE-cs の内分泌攪乱性については、1991 年 Soto らが MCF-7 を用いた試験において NP にエストロゲンと類似の活性を有することが初めて確認され<sup>38)</sup>、その後、Jobling らがニジマスへの生殖異常を引き起こさせる NP の閾値は約  $10 \mu\text{g/l}$  であったことを報告している<sup>39)</sup>。別の NPE-cs については White らが、NP 以外に NP2EO や NP1EC にマスの肝細胞内のビテロゲニン遺伝子発現刺激能力があることを確認し、その際のエストロゲン様活性が発現する濃度が数百  $\mu\text{g/l}$  であったとしている<sup>40)</sup>。さらに、最初に組換え酵母によるエストロゲン様活性測定法を開発した Routledge らは、種々の NPE-cs に対しスクリーニング実施したところ、数種の NPE-cs(NP、NP1EO、NP2EO、NP1EC、NP2EC)にエストロゲン類似作用があることを報告している<sup>41)</sup>。また、Routledge らとは別の組換え酵母法(Two-hybrid 法)により NPE-cs に対しスクリーニングを実施した Nishikawa らも、NP がエストロゲン様活性を有することを確認している<sup>42)</sup>。これらの既往研究から、現状においては NP および EO 鎖の短い NPE-cs にエストロゲン様活性があるというのが一般的な知見となっている。しかしながら、ハロゲン化物のエストロゲン様活性を検討した研究事例はこれまでのところ報告されていない。また、NPE-cs が体内に取り込まれた後に肝臓などで生じる代謝活性化による変化がエストロゲン様活性に及ぼす影響について検討した事例や、エストロゲン様活性以外の NPE-cs の内分泌攪乱性について検討した研究は殆んど行われていない。

### 第 3 節 NPE-cs の高度処理に関する既往研究

ここで定義する高度処理法とは、オゾン、紫外線、酸化チタン、過酸化水素等と言った高度酸化プロセス(Advanced Oxidation Process:AOP)を複合的に組み合わせた酸化処理法であり、「促進酸化

法」とも言う。高度酸化プロセスの研究は1960年代末から始まり、1980年代の半ばに西欧では活発に学会が開催されるようになった。また、わが国においては、従来は水質汚濁防止法上の健康項目として指定されたごく限られた化学物質に対する規制を除き、BODやCODなどの総量的な汚濁指標により水質規制が行われてきたが、1990年頃からトリクロロエチレンやテトラクロロエチレン等を始めとした微量でも極めて有害な微量環境汚染物質の問題が顕在化し、これらの化学物質を処理するための一つ的手段としてAOPの研究や応用が開始された<sup>44)</sup>。

AOPによるNPE-csの処理に関する既往研究としては、親物質NPnEOs(n=8-12)についてはオゾン酸化法、オゾン/過酸化水素法、紫外線/酸化チタン法により分解されることがそれぞれ報告されている<sup>45)-47)</sup>。しかしながら、代謝産物について検討した研究事例は極めて少なく、特に好氣的生物代謝の最終産物として位置付けられるNPnEOs(n=1-3)、およびNPnECs(n=1-3)に関してはこれまでのところ報告はなされていないのが現状である。

#### 第4節 要約

下水処理場におけるNPE-csの挙動とそのリスク評価、およびリスクの高いNPE-csの高度処理に関する既往研究を概観した結果、以下の事項が第2章以降で検討を行うべき問題点(研究目的)であることが明らかとなった。

下水処理場におけるNPE-csの挙動については、わが国ではNPnECs(n=1-3)とハロゲン化物についての調査がほとんど実施されていないことから、今後はこれらの物質を含めた調査を行い、下水処理場におけるNPE-csの挙動をより詳細に把握していくことが重要と考えられた。

また、NPE-csが有するリスクについては、変異原性は有さないものと推測され、急性毒性についてもNPの毒性が最も高く、EO鎖の短鎖化に伴ない毒性が高まる傾向にあることが明らかにされているものの、内分泌攪乱性については未知の部分が残されていることが明らかとなった。具体的にはNPおよびEO鎖の短いNPE-csにエストロゲン様活性のあることが報告されているが、ハロゲン化物のエストロゲン様活性や、NPE-csが体内に取り込まれた後に肝臓などで生じる代謝活性化による変化がエストロゲン様活性に及ぼす影響、エストロゲン様活性以外のNPE-csの内分泌攪乱性に関しては殆んど検討されていないことから、これらの項目について検討していく必要があると考えられ

た。

一方、NPE-cs の高度処理については、親物質 NPnEOs(n=8-12)についてはオゾン酸化法、オゾン/過酸化水素法、紫外線/酸化チタン法により分解されることが報告されているが、リスクの高いNPE-cs の分解に関する検討は、これまでのところ殆んど実施されておらず、ここでの課題とすべきと考えられた。

表1-1海外における下水処理水中のNPE-csの検出濃度\*

NPE-cs	下水の種類	国名	検出濃度( $\mu\text{g/l}$ )		分析方法	試料採取年	出典
			最小	最大			
NPnEOs(n=1-8)	流入下水	米国	1600	2520	HPLC/FL	1988	2)
NPnEOs(n=4-6)	流入下水	スペイン	<33	938	LC/MS	1999	3)
NP1EO	流入下水	米国	36	69	HPLC/FL	1988	2)
NP1EO	流入下水	カナダ	2.9	43	GC/MS	1995,96	8)
NP1EO	流入下水	スペイン	42.7		HRGC/MS	2001	9)
NP2EO	流入下水	カナダ	0.26	24	GC/MS	1995,96	8)
NP2EO	流入下水	スペイン	39.69		HRGC/MS	2001	9)
NPnECs(n=1-2)	流入下水	スイス	<1	14	HPLC/UV	1983	5)
NP1EC	流入下水	カナダ	0.9	8.3	GC/MS	1996,97	10)
NP1EC	流入下水	スペイン	0.21	80	LC/MS	1999	3)
NP2EC	流入下水	カナダ	1.7	20.1	GC/MS	1996,97	10)
NP	流入下水	スイス	21	57	HPLC/UV	1983	12)
NP	流入下水	スイス	21		HPLC/UV	1984	13)
NP	流入下水	スイス	14		HPLC/UV	1984	5)
NP	流入下水	クロアチア	<0.5	419	HPLC/FL	1989~91	14)
NP	流入下水	米国	12	978	HPLC/FL	1989	15)
NP	流入下水	イタリア	2	40	HPLC/FL	1991,92	11)
NP	流入下水	カナダ	1.8	21	GC/MS	1997,98	8)
NP	流入下水	スペイン	40	343	LC/MS	1999	3)
NP	流入下水	スペイン	57.64		HRGC/MS	2001	9)
NP1EO	初沈越流水	スペイン	62.26		HRGC/MS	2001	9)
NP2EO	初沈越流水	スペイン	35.24		HRGC/MS	2001	9)
NPnECs(n=1-2)	初沈越流水	スイス	24	81	HPLC/UV	1983	6)
NPnECs(n=1-2)	初沈越流水	スイス	6	17	HPLC/UV	1983	5)
NP1EC	初沈越流水	カナダ	2.4	17.7	GC/MS	1996,97	10)
NP2EC	初沈越流水	カナダ	3.5	39.3	GC/MS	1996,97	10)
NP	初沈越流水	スイス	21	49	HPLC/UV	1983	12)
NP	初沈越流水	スイス	15		HPLC/UV	1984	13)
NP	初沈越流水	スイス	24	95	HPLC/UV	1983~85	6)
NP	初沈越流水	スイス	21	55	HPLC/UV	1984,85	16)
NP	初沈越流水	カナダ	2.8	30	GC/MS		17)
NP	初沈越流水	カナダ	1.59	10.92	GC/MS	1997,98	18)
NP	初沈越流水	スペイン	72.73		HRGC/MS	2001	9)
NP1EO	終沈越流水	スペイン	48.5		HRGC/MS	2001	9)
NP2EO	終沈越流水	スペイン	8.36		HRGC/MS	2001	9)
NPnECs(n=1-2)	終沈越流水	スイス	71	330	HPLC/UV	1983	5)
NPnECs(n=1-2)	終沈越流水	スイス	79	87	HPLC/UV	1983,85	6)
NP1EC	終沈越流水	カナダ	3.2	703	GC/MS	1996,97	10)
NP2EC	終沈越流水	カナダ	11.1	565.5	GC/MS	1996,97	10)
NP	終沈越流水	スイス	<10	35	GC/FID	1980,81	19)
NP	終沈越流水	スイス	1.0	14	HPLC/UV	1983	12)
NP	終沈越流水	スイス	2.2	44	HPLC/UV	1983~85	6)
NP	終沈越流水	スイス	2.7		HPLC/UV	1984	13)
NP	終沈越流水	スイス	1.0	15	HPLC/UV	1984,85	16)
NP	終沈越流水	イタリア	0.7	4.0	HPLC/FL	1991,92	11)
NP	終沈越流水	スイス	5.0	11	HPLC/UV		5)
NP	終沈越流水	カナダ	0.8	15	GC/MS		17)
NP	終沈越流水	カナダ	0.45	13	GC/MS	1997,98	8)
NP	終沈越流水	カナダ	0.56	2.12	GC/MS	1997,98	18)
NP	終沈越流水	スペイン	58.18		HRGC/MS	2001	9)
NPnEOs(n=3-20)	放流水	イタリア	1.7	6.6	LC/MS	1999	4)
NPnEOs(n=1-18)	放流水	米国	56	104	HPLC/FL	1988	2)
NPnEOs(n=4-6)	放流水	スペイン	N.D.**	10	LC/MS	1999	3)
NP1EO	放流水	米国	0.5	3.4	HPLC/FL	1988	2)
NP1EO	放流水	カナダ	0.072	26	GC/MS	1995,96	8)
NP1EO	放流水	スペイン	0.96		HRGC/MS	2001	9)
NP2EO	放流水	カナダ	0.099	21	GC/MS	1995,96	8)
NP2EO	放流水	スペイン	0.38		HRGC/MS	2001	9)
NPnECs(n=1-2)	放流水	米国	71.9	158	GC/MS	1995	7)
NPnECs(n=1-3)	放流水	イタリア	0.6	15	LC/MS	1999	4)
NP1EC	放流水	イタリア	12.8		GC/MS	1991,92	11)
NP1EC	放流水	スペイン	N.D.**	270	LC/MS	1999	3)
NP2EC	放流水	イタリア	17.1		GC/MS	1991,92	11)
NP	放流水	スイス	<0.2	329	GC/FID	1980,81	19)
NP	放流水	米国	0.8	2.5	HPLC/FL	1988	2)
NP	放流水	米国	<0.2	15.3	HPLC/FL	1989	15)
NP	放流水	英国	<0.2	330	GC/MS	1993,94	20)
NP	放流水	英国	0.13	3.0	GC/FID	1997	21)
NP	放流水	スペイン	0.65		HRGC/MS	2001	9)

\*下水処理水中のAP濃度を改編<sup>27)</sup>

\*\*N.D. 検出下限値未滿

表1-2 日本における下水処理水中のNPE-csの検出濃度\*

NPE-cs	下水の種類	検出濃度( $\mu\text{g/l}$ )		分析方法	試料採取年	出典
		最小	最大			
NPnEOs(n $\geq$ 5)	流入下水	95	810	GC/MS	1998	22)
NPnEOs(n $\geq$ 5)	流入下水	T.R.**	810	GC/MS	1998~2000	23)
NPnEOs(n=1-4)	流入下水	6.1	92	GC/MS	1998	22)
NPnEOs(n=1-4)	流入下水	6.1	270	GC/MS	1998~2000	23)
NP1EC	流入下水	N.D.***	3.4	GC/MS	1998~2000	23)
NP2EC	流入下水	2.5	250	GC/MS	1998~2000	23)
NP3EC	流入下水	5.9	100	GC/MS	1998~2000	23)
NP	流入下水	1.9	4.5	GC/MS	1998	25)
NP	流入下水	0.7	75	GC/MS	1998~2000	23)
NP	初沈越流水	2.0	21	GC/MS	1997,98	26)
NPnEOs(n $\geq$ 5)	終沈越流水	N.D.***	24	GC/MS	1998~2000	23)
NPnEOs(n=1-4)	終沈越流水	0.7	23	GC/MS	1998~2000	23)
NP	終沈越流水	0.08	1.2	GC/MS	1997,98	26)
NP	終沈越流水	N.D.***	1.0	GC/MS	1998~2000	23)
NP	終沈越流水	<0.3	0.7	GC/MS	1998	25)
NPnEOs(t=1-4)	放流水	0.6	22	HPLC/UV	1996,97	24)
NPnEOs(t=1-4)	放流水	0.1	18	GC/MS	1998	22)
NPnEOs( $n\geq$ 5)	放流水	<0.2	24	GC/MS	1998	22)
NP1EC	放流水	N.D.***	11	GC/MS	1998~2000	23)
NP2EC	放流水	N.D.***	29	GC/MS	1998~2000	23)
NP3EC	放流水	N.D.***	48	GC/MS	1998~2000	23)
NP	放流水	N.D.***	1.0	GC/MS	1998~2000	23)
NP	放流水	1.0	7.7	HPLC/FL	1996,97	24)

\*下水処理水中のAP濃度を改編<sup>27)</sup>

\*\*T.R.:検出下限値以上かつ定量下限値未満

\*\*\*N.D.:検出下限値未満

表1-3 NPE-csの急性毒性\*

NPE-cs	供試生物(学名)	LC <sub>50</sub> またはEC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/l}$ )	実験期間	出典
NP13EO	Japanese killfish	48000	48h 放流	32)
NP9EO	Fathead minnow	6600	96h 放流	33)
NP9EO	<i>Daphnia magna</i>	14000	48h 静置	34)
NP9EO	Green algae	12000	96h 静置	34)
NP1EO	Japanese killfish	3000	48h 放流	32)
NP1.5EC	<i>Ceriodaphnia dubi</i>	626	96h 静置	33)
NP2EO	<i>Daphnia magna</i>	160	48h 静置	35)
3rNP2EC	<i>Daphnia magna</i>	65	48h 静置	35)
NP1EC	Japanese killfish	8900	48h 放流	32)
NP1EC	Fathead minnow	2000	96h 放流	33)
NP2EC	Japanese killfish	9600	48h 放流	32)
NP2EC	<i>Daphnia magna</i>	1000	48h 静置	35)
BrNP2EC	<i>Daphnia magna</i>	145	48h 静置	35)
NP	Japanese killfish	1400	48h 放流	32)
NP	Fathead minnow	135	96h 放流	33)
NP	Rainbow trout	109	96h 放流	33)
NP	Bluegill sunfish	203	96h 放流	33)
NP	Glass shrimp	59	96h 放流	33)
NP	Mussel	3000	96h 放流	36)
NP	<i>Daphnia magna</i>	190	48h 静置	37)
NP	Green algae	410	96h 静置	33)

\*NPE化合物の急性毒性に関する既往研究を改編<sup>31)</sup>

表1-4 NPE-csの内分泌攪乱性\*

NPE-cs	試験濃度( $\mu\text{g/l}$ )	評価方法	出典
NP12EO	N.D.**	酵母Screen法	41)
NP1EO	100<	マスのビデロゲン遺伝子発現	40)
NP2EO	100<	マスのビデロゲン遺伝子発現	40)
NP2EO	10000~100000	酵母Screen法	41)
NP1EC	100<	マスのビデロゲン遺伝子発現	40)
NP1EC	1000~10000	酵母Screen法	41)
NP2EC	1000~10000	酵母Screen法	41)
NP	100~1000	MCF-7増殖試験	38)
NP	10	ニジマスの生殖異常	39)
NP	10~100	メダカの生殖異常	43)
NP	100<	マスのビデロゲン遺伝子発現	40)
NP	100~1000	酵母Two-hybrid法	42)
NP	100~1000	酵母Screen法	41)

\*NPE化合物のエストロゲン活性の報告例を改編<sup>31)</sup>

\*\*N.D.エストロゲン様不活性

## 第2章 わが国の下水処理場における NPE-cs の挙動

### 第1節 緒言

緒論や第1章第1節において述べた様に、非イオン界面活性剤 NPnEOs は、排水を介して下水処理場に流入した場合、処理工程において微生物による生分解反応を受けて様々な代謝産物を生成し<sup>12)</sup>、また、下水処理場において実施されている塩素消毒工程においてはハロゲン化された代謝産物を生成することが知られている<sup>34)</sup>。下水処理場における NPE-cs の消長については、欧米諸国において既に多数の調査結果が報告されている。例えば、Ahel らはスイスの下水処理場において、親物質 NPnEOs(n=4-18)に加え、代謝産物として NP1-2EO、NP1-2EC、および NP の消長を詳細に調査している<sup>9)</sup>。一方、わが国においては下水処理場における NPE-cs の汚染の現状が調査されるようになってきたが<sup>6)8)</sup>、NP1-2EC を調査対象に含めている例は少なく、また、塩素消毒工程における副産物とされる臭素化物や塩素化物と言った代謝産物のハロゲン化物までを対象とした調査については報告例がないなど、その挙動が十分に把握し切れていないのが現状である。

そこで本章においては、わが国の下水処理場における NPE-cs の挙動をできる限り詳細に解明することを目的として、全国 40 箇所の下水処理場内における NPE-cs の分布調査を行った結果をとりまとめるとともに、各処理場で採用されている処理方式がその挙動に及ぼす影響についても考察を加えた。

### 第2節 調査方法

#### 1. NPE-cs 標準試薬の調製

NPE-cs 分析の標準物質として、NPnEO(n=4-18)、NPnEOs(n=1-3)および NP については、いずれも東京化成製の試薬 Triton N-101、ポリエチレングリコールモノ-4-ノニルフェニルエーテル(n=2)および 4-ノニルフェノールをそれぞれ使用した。他の NPE-cs の標準物質(NPnECs、BrNPnEOs、BrNPnECs、C/NPnEOs、C/NPnECs)は、牧ら<sup>9)</sup>の手法に従って合成し、オクチルフェノール(OP)を内部標準として火炎イオン化検出器付きガスクロマトグラフィー(島津社製 GC-14B/FID)にて定量した後、分析に用いた。ここで、外部標準試料の調製に用いたメタノール、イソプロパノール、ヘキサン、ジクロロメタンについては、東京化成試薬の高速液体クロマトグラフィー用を、その他の試薬には特級品をそれぞれ用いた。

#### 2. 試料の採取

調査は、平成7(1995)年5月から翌8(1996)年3月にかけて、国内39箇所の公共下水処理場および1箇所の合併浄化槽を対象に行われた。各処理施設からGrabサンプリングにより採取した流入

下水(最初沈殿池越流水: PE)、二次処理水(最終沈殿池越流水: SE)、および高度処理あるいは滅菌放流水(FE)を分析に供した。各試料は、1 l 容ポリ容器に汲み入れ、現場でホルムアルデヒドを体積比にして3%添加した。また、FEについてはチオ硫酸ナトリウム5水和物0.1gを添加し残留塩素を中和し、試料中で化学酸化の進行を防止した。試料の研究室への輸送は4°C下で行い、採取後直ちに分析を行なえなかった試料については、冷蔵庫(4°C)にて保存した。

### 3. NPE-cs の試料からの抽出

試料からのNPE-csの抽出方法として、調査対象とした40箇所の下水処理施設のうち30箇所から提供された下水試料についてはGCBカートリッジ(ジーエルサイエンス社製 SEP Cartridge Carbo-graph (1000mg / 12ml))による固相抽出法を、残りの処理施設から提供された下水試料についてはジエチルエーテルによる液液抽出法を実施した。固相抽出法の場合は、ジクロロメタン/メタノール(10mMのTMAOH (tetramethyl ammonium hydroxideを含む)混合溶液(v/v=9/1)7 ml、メタノール3 ml、超純水(pH=2、HClで調整)30 mlで順にコンディショニングしたGCBカートリッジに、初沈越流水を10 ml、終沈越流水、滅菌放流水については100 ml 通水した。超純水20 mlでカートリッジを洗浄の後、メタノール2 mlを流し、真空で吸引し十分に水分を除去した。NPE-csのうちNPnEOs(n=4-18)、NPnEOs(n=1-3)およびそのハロゲン化物、NPについてはジクロロメタン/メタノール混合溶液(v/v=7/3)7 mlにより、NPnECs(n=1-3)およびそのハロゲン化物はジクロロメタン/メタノール(25  $\mu$ Mの蟻酸を含む)混合溶液(v/v=9/1)7 mlによってそれぞれ抽出した。各々の抽出液は緩やかに窒素を吹きつけて濃縮した後に、NPnEOs(n=4-18)、NPnEOs(n=1-3)およびそのハロゲン化物、NPについてはヘキサン/アルコール混合溶液(v/v=9/1)に再溶解し、NPnECs(n=1-3)およびそのハロゲン化物については酢酸エチルによる再溶解の後、メタノールおよびトリメチルシリルジアゾメタン10%ヘキサン溶液を加えて誘導体化(メチル化)し、これらを機器分析に供した。

また、液液抽出の場合、同一の試料を400 mlづつに分け、一方をNPnEOs(n=4-18)、NPnEOs(n=1-3)およびそのハロゲン化物、NP分析用に、もう一方をNPnECs(n=1-3)およびそのハロゲン化物分析用とした。後者の試料については、抽出の前に予め適当量の塩酸を加えpHを2以下に調整した。次に双方の試料にそれぞれ特級食塩を40 g添加し、これらを1 l 容分液漏斗に移した。ジエチルエーテル80 mlを加え往復振とう器で30分間激しく振盪・混和し、静置後分離した上層のエーテル層を回収した。これを3回繰り返した後、エーテル抽出物を無水硫酸ナトリウムにより脱水し、ロータリーエバポレーター(東京理化学器械社製)によってエーテルを留去した。乾固させた抽出試料のうち、NPnEOs(n=4-18)、NPnEOs(n=1-3)およびそのハロゲン化物、NP抽出試料についてはジクロロメタンに活性アルミナ(1.5%の超純水を含む)を懸濁させたカラムクロマトグラフィーにより、NPnECs(n=1-3)およびそのハロゲン化物抽出試料についてはジエチルエーテルにポリアミドを懸濁させたカラムクロマトグラフィーによりクリーンアップし、前者をメタノールに、後者を0.1%の蟻酸を

含むメタノールにそれぞれ溶出し、再びロータリーエバポレーターによりメタノールを留去後、蒸発・乾固させた。蒸発・乾固させた試料に対し、先の固相抽出後の試料と同様の操作を行った。NPE-csの定量方法は既報に準じ、NPnEOs(n=4-18)、NPnEOs(n=1-3)、NPnECs(n=1-3)については Marcominiら<sup>10)</sup>に準じて高速液体クロマトグラフィー分析(HPLC)に、NP、BrNPnEOs(n=1-2)、BrNPnECs(n=1-2)、C/NPnEOs(n=1-2)、C/NPnECs(n=1-2)については Ahelら<sup>11)</sup>に準じてガスクロマトグラフィー質量分析(GC/MS)に供した。

#### 4. 分析方法

HPLC 分析システムは、東ソー社製 CCPE ポンプ 2 台、ダイナミックミキサーMX-8010、および蛍光検出器 FS-8020 から構成されている。NPnEOs(n=4-18)、NPnEOs(n=1-3)分析時には HPLC 分析システム内にアミドカラム TSK-Gel Amide-80(東ソー社製 カラム長 25cm, 内径 4.6mm)を組み込み、ヘキサン/アルコール混合溶液(v/v=9/1)、アルコール溶液(メタノール/イソプロパノール混合溶液(v/v=7/3))による直線グラジエントモードの順相 HPLC により同定・定量を行った。また、NPnECs(n=1-3)分析時には C8 カラム Wakosil 5C8(和光純薬工業社製 カラム長 25cm, 内径 4.6mm)を HPLC 分析システムに組み込み、メタノール/10mM の TEACI (tetraethyl ammonium chloride)を含むリン酸バッファー(1mM, pH=6.5)混合溶液(v/v=65/35)によるアイソクラチックモードの逆相 HPLC により同定・定量した。なお、HPLC により分離された NPnEOs(n=4-18)、NPnEOs(n=1-3)、NPnECs(n=1-3)のピークは蛍光検出器により検出(励起光波長 225nm, 蛍光波長 295nm)した。

一方、GC/MS 分析システムは、島津社製 GC-17A ガスクロマトグラフ、および QP-5000 マススペクトロメーターから構成され、GC にはヒューズドシリカキャピラリーカラム CBP5-M25-025(島津社製 22m×0.33mm,内径 0.22mm, 薄相膜圧 0.25 μm)が設置されている。キャリアガスとしては高純度ヘリウムを用い、ガス圧 100kPa, 流速 20ml/min に設定の元、カラム先端よりキャリアガスを導入する。GC による化学物質の分離条件(昇温プログラム)としては、70℃にて 3 分間保持させた後に、昇温速度 10℃/min にて 290℃(NPnEOs(n=1-3)およびそのハロゲン化物については 295℃)まで昇温し、同温度にて 5 分間保持の後、再び 70℃まで空冷させるものとした。GC 内インジェクション部分、およびインターフェース部分の温度は、それぞれ 250℃、230℃に設定した。GC において分離された NPE-cs は EI 法(電子衝撃イオン化法)によりイオン化され、SIM 法(選択イオン法)で表 2-1 に示したフラグメントイオンをモニタリングして NPE-cs の定量を実施した。

### 第 3 節 調査結果

表 2-2 に調査対象とした下水処理施設における NPE-cs の分布調査の結果をまとめている。表中には、都合により下水処理場での採取が不可能であった下水試料を除く PE、SE、および FE の各試

料中における NPE-c の濃度を重量濃度、およびモル濃度の両者で表記している。また、図 2-1 には、各試料中の総 NPE-cs 検出濃度(重量濃度)の分布を  $50 \mu\text{g/l}$  毎の累積頻度で示している。

表 2-2 に示された通り、分析することが出来た全ての PE 中に NPE-cs が検出され、我が国の下水が NPnEOs によって普遍的に汚染されていることが明らかとなった。分析された試料の中には、家庭排水のみを処理していた浄化槽からのものも含まれていたことは、NPnEOs が工業目的以外でも使用されていることを示唆している。PE 中から検出された NPE-cs の大部分は、本来親物質である界面活性剤に含まれている NPnEOs(n=4-18)および NPnEOs(n=1-3)であったが、代謝産物である NPnECs(n=1-3)も処理場から採取された PE 試料の約 7 割から検出されたことから、下水管中などで既に NPnEOs の好氣的分解が生じている可能性が示唆された。一方、PE からは NP およびハロゲン化合物は検出されなかった。また、表 2-2 に見られるように、PE 中の総 NPE-cs 濃度は、最低  $10.4 \mu\text{g/l}$  から最高  $1973 \mu\text{g/l}$  と広範囲に渡り、平均では  $296 \mu\text{g/l}$  であったが、特定の濃度域に偏っていることはなかったことから、処理場によって PE の NPnEOs 汚染の程度はかなり異なっていることが明らかとなった。なお、建設省(現、国土交通省)により平成 12 年度に実施された調査においては、PE 中の総 NPE-cs の重量濃度中央値が  $174.2 \mu\text{g/l}$  と報告されており、NPnECs が調査対象とされてはなかったが、NPE-cs の重量濃度のオーダーを考慮すると、本調査の結果とよく一致しているといえる。本調査における生データは本論文末において付録として追記しておく。

下水処理の工程を経た SE および FE 中からも、1 つの FE 試料を除く全ての試料中から NPE-cs が検出限界以上の濃度で検出され、その平均濃度は各々、 $95.4 \mu\text{g/l}$  および  $90.0 \mu\text{g/l}$  であった。また、NPnEOs、NPnECs に加えて、PE 中では検出されなかった NP やハロゲン化合物も多くの処理場で検出されたことから 図 0-2 に示した複雑な生物学的、化学的反応が実際の処理工程において起こっていることが確認されたものといえる。図 2-1 から、PE 中における NPE-cs は調査対象とした下水処理場の 8 割において  $400 \mu\text{g/l}$  以下であったことに対し、SE および FE 中では  $150 \mu\text{g/l}$  以下の低濃度で検出されており、下水処理によって NPnEOs が比較的効率よく除去されているともいえるが、1 処理場を除いて完全な除去は達成されていなかったことから、わが国においても下水処理場が NPE-cs による水環境の汚染源の一つとなっていることが明らかとなった。環境中への放流水である FE 試料の中には、総 NPE-cs 濃度が  $1171 \mu\text{g/l}$  と極めて高いものも認められており、放流水域の生態系に悪影響を及ぼす可能性が懸念される。

表 2-3 には、本調査の結果を、既に報告されている諸外国での調査結果と比較している。ただし、ここでは、NPnEOs、NP に加え、少なくとも NPnECs までを調査の対象として行われたものに限って比較を行っている。これより、わが国の下水処理場への NPnEOs の流入濃度、および水環境中への下水処理場からの NPE-cs の放出濃度はともに、早い時期から下水処理場における NPE-cs の汚染が指摘されていたドイツやスイスの調査結果と比較してかなり低い水準にあり、汚染の程度も必ずしも高くないとも考えられていた。しかし、イタリアの調査結果に比べると、高い水準にあり、

今後もこの問題について注意深く対処していく必要性が示唆された。また、表中に示されたスイスやドイツでの調査結果は若干古いデータであることにも注意しなければならない。スイスでは1986年よりNPnEOsの使用禁止条例が施行され、1997～998年に行われた新たな調査においては、河川中のNPnEOs(n=1-3)やNPnECs(n=1-3)の濃度の大幅な減少が認められている<sup>12)</sup>。また、ドイツでも1995年から使用の自主規制が行われるなど素早い対応がとられていることから、現在では両国のNPE-csによる水環境汚染は大幅に改善されていることが予想される。

## 第4節 考察

### 1. 下水処理場におけるNPnEOsの挙動

本調査においては、PEおよびSE間のNPE-csの量的(濃度)、質的(代謝産物の種類)な変化は主に生物処理による変化を表しており、一方、PEおよびFE間では生物処理に加え高度処理、塩素消毒などを含めた全処理工程で生じる変化を表している。また、SEおよびFE間の差は、生物処理以外の処理による変化に当たる。図2-2(a, b)には、SE/PE間、およびFE/PE間における総NPE-csの除去率(モル除去率)の分布を示した。また、図2-3には、各試料の中で総NPE-csに占めるNPnEOs、NPnECs、NPおよびハロゲン化物の平均比率を図化した。

両図より、処理場に流入したNPE-csは、活性汚泥法などの生物学的処理工程においてNPnEOs(n=4-18)→NPnEOs(n=1-3)→NPnECs(n=1-3)の生分解を受けるとともに、総NPE-csとしては概ね70%以上の良好な除去が達成されていた(全処理場の平均では約60%)。しかし、その後の処理では著しい変換や除去を受けず、放流時での除去率はやや上昇するにとどまっておらず(平均約70%)、下水処理場におけるNPE-csの除去は大部分が生物処理によっていることが明らかとなった。また、微量ではあるものの好氣的生分解では生じることのないNPが、FEおよびSEで検出されているが、これらは沈殿池や汚泥濃縮槽など少なくとも部分的な無酸素部が形成され、嫌氣的生分解が生じた結果と考えられる。さらに、塩素消毒など化学酸化を伴う工程で生じると考えられるハロゲン化物が、塩素消毒や高度処理後のFEのみならずSEからも検出されたことは、場内で処理水(FE)が再利用され、再び生物処理系に返送されたためと説明することができる。ここで図2-2では、NPE-cs濃度がFE中よりもPEやSE中で高く検出され、計算上除去率が0%となった処理場も各々数カ所認められるが、これは、PE、SE、FEの各試料をコンポジットサンプルとして連続採取したのではなく、同一処理場ではほぼ同時刻にGrabサンプルとして一括採取したことに起因するものと考えられる。しかしながら、経時的なサンプリングが可能であった2処理場でNPE-csの日変動を測定した予備検討において、その変動は概ね±20%程度におさまっていたことから(図2-4)、Grabサンプルの分析値もある程度NPE-csの汚染状況を代表しているものと考えている。

生物処理における化学物質の除去(SE/PE)は、一般的には、曝気に伴う空気中への飛散、加水分解など化学的分解、生物による完全分解(無機化)、および汚泥への吸着と余剰汚泥としての排出の

何れかによるが、著者らの行った予備実験(NPnEOs 水溶液の曝気試験)から、NPnEOs に関しては前2者による除去はほとんど行われなことが明らかになっている(図 2-5)。一方、NPnEOs の生分解はEO 鎖側で比較的容易に起こるものの、多分岐型のノニルベンゼンの構造が残留し、無機化は極めて困難であるとの一般的認識があったが、Tanghe ら<sup>13)</sup>、および藤井と浦野<sup>14)</sup>が最終代謝産物の一つであるNP を好気条件下において資化する特殊な細菌の分離に成功し、理論上は生分解によるNPnEOs の無機化が起こりうることを示唆されている。しかし、この場合、NPnEOs が曝気槽で好氣的にNP1-2EOs やNFnECs にまで分解され、さらに沈殿池などで嫌氣的にNP に転換された後、再び曝気槽に返送されて好氣的に完全分解されなければならない。このように異なる多段階の反応の組み合わせでは、各段階が律速となりうるため、効率的な完全分解が達成できるとは考え難い。従って、実際には生物処理での約60%という除去率を説明することはできないものと考えられる。また、Potter ら<sup>15)</sup>は、水環境試料から集積された分解微生物集団により、静置条件下でNP1-2EC が分解されたと報告しているが、その分解速度は極めて遅く、水理的滞留時間(HRT)が5~8時間と短い生物学的処理系において、有意な分解を引き起こされたとは言い難い。他方、Antonio ら<sup>16)17)</sup>やJonkers ら<sup>18)</sup>は、ごく最近になって、図 0-2 に示されていない新たな代謝産物 CAPECs(図 2-6)がNPnEOs の生分解により生じ、下水処理水中などに比較的高い濃度で蓄積することを報告している。この代謝産物はEO 鎖とノニル基の両者がカルボキシル化されたものであり、本調査では分析の対象としていなかった。従って、本研究においては、NPnEOs がCAPECs にまで生分解された場合には、総NPE-cs の除去としてカウントされることから、下水処理場における真のNPE-cs 除去率はここで示した値よりも低かった可能性は十分にある。また、NPnEOs は生分解の進行に従って、脂溶性の高い代謝産物(特にNP1-2EO、NP)となるため、汚泥に吸着・濃縮されやすく<sup>19)</sup>、余剰汚泥として系外に排出されている量も少なくないものと推測されるが、量的な把握は今後の課題となる。他方、FE/SE 間で認められたNPE-cs の10%程度の除去は、消毒工程で用いられる次亜塩素酸ナトリウムや、オゾンなどの高度処理による化学的酸化分解と、場内使用水による希釈によるものと考えられる。

## 2. NPnEOs の除去に及ぼす処理法の影響

### (1) 種々の活性汚泥法による影響

本研究で調査対象とした40の下水処理場の生物処理工程には全て、各種変法を含めた活性汚泥法が採用されていた。そのうち、約7割は標準活性汚泥法であったが、変法としては主に栄養塩類の除去を目的としたA<sub>2</sub>O法、A<sub>2</sub>O法、多段嫌気-好気活性汚泥法が採用されており、小規模施設ではオキシデーションディッチ(OD)法も1箇所あった。これらの生物処理工程の違いがNPnEOs の処理に及ぼす影響を評価するため、標準活性汚泥法とその他の変法における生物処理によるNPE-cs の平均除去率(SE/PE)を比較した(表 2-4)。変法を採用している処理場数は必ずしも多くなかったこ

とから、ここで示した数字は必ずしも統計的に有意であるとはいえないが、多段嫌気-好気活性汚泥法や OD 法における除去率が約 60%と標準活性汚泥法の平均と差がなかったのに対し、AO 法あるいは A2O 法を採用している処理場では平均 74%と高い NPE-cs 除去率が示され、NPnEOs 処理に有効なプロセスであることが示唆された。このことから、NPnEOs の分解には、好気のみでなく嫌気-好気が交互に繰り返す処理の方が有効であるとも考えられるが、AO 法/A2O 法と同様に嫌気-好気処理が繰り返される多段嫌気-好気活性汚泥法では高い除去率が得られておらず、現状では必ずしも正しい推測とはいふことはできない。また、一般的には AO 法/A2O 法は標準活性汚泥法に比べて長い HRT で運転されることから、その影響によるものとも考えられる。ここで、AO 法/A2O 法、多段嫌気-好気活性汚泥法のように嫌気工程を含む処理法では、好気のみ標準活性汚泥法に比べて、NP を生じる頻度が高いものと予想していたが、本研究の範囲では約 4 割の処理場で検出されたものの、処理方式との関連は認められなかった。

## (2) 高度処理の影響

今回調査対象とした下水処理場には、二次処理以上の高度処理を採用している処理場が数箇所あったが、第 4 節 2.(1)で論じた生物学的栄養塩類の除去以外では、生物処理水の化学酸化（オゾン/紫外線処理）、急速ろ過、および活性炭吸着が適用されていた。高度処理が NPnEOs の処理にどの程度有効であるかを評価するため、生物学的栄養塩類除去を除き、これらの高度処理が採用されていた処理場と、採用されていなかった処理場における NPE-cs 除去率（FE/PE）の比較を表 2-5 に示した（急速ろ過を採用していた処理場の 1 つは活性炭吸着を併用）。高度処理が採用されていた処理場では、採用されていなかった処理場に比べてかなり高い除去率が得られており、これらの処理が NPnEOs の処理に極めて有効であることが示唆された。オゾン処理などの化学酸化法で NPE-cs が効率よく分解されることは研究室レベルでは明らかにされていたが<sup>21)</sup> 本調査の結果から実際の処理場でも有効であることが示唆された。しかし、化学酸化処理では毒性を持つ副生成物が生じることがしばしば報告されていることから、総合的なリスクという面では今後詳細な検討を行うことが重要であろう。一方、高度処理として急速ろ過を行っていた処理場でも高い NPE-cs 除去率が得られたが、これは脂溶性が高い NP1-2EO などが吸着した浮遊物質が除去されたことによるものと考えられる。

## (3) 消毒における塩素濃度の影響

下水処理の最終工程である滅菌においては、一般に次亜塩素酸ナトリウム、トリクロロイソシアヌル酸等の塩素剤が使用されているが、この工程で NP1-2EO や NP1-2EC のハロゲン化物が生成されることが知られている<sup>34)</sup>。本研究で対象とした下水処理場でも殆どの場合塩素による消毒が行われており、約 7 割の処理場の FE から臭素化物、あるいは塩素化物が検出された。従来の研究では、

NPE-cs については、塩素消毒工程で主に臭素化物が生成するものと考えられていたが<sup>4)</sup>、本調査ではハロゲン化物が検出された 27 の処理場のうち、22 箇所で塩素化物が臭素化物よりも高い濃度で検出され、非常に興味深い結果となった。表 2-6 には、消毒工程における塩素注入濃度とハロゲン化物の検出頻度、並びに FE 中の総 NPE-cs に占めるハロゲン化物の割合（モル比）の関係をまとめた。概して塩素注入濃度が高くなるほど、ハロゲン化物検出の頻度、NPE-cs に占める割合とも高くなる傾向が認められた。ただし、3.0mg/l 以上の高濃度で塩素を注入していた処理場は 2 箇所と数少ないためか、必ずしもこの傾向には従っていない。塩素化物、臭素化物のリスクについては未だ検討されていないことから、内分泌攪乱性を含めた毒性評価を進めるとともに、現状ではその生成を促進すると考えられる塩素の注入を出来る限り低減することが必要と考えられる。

## 第 5 節 要約

本調査結果から、我が国においても普遍的に NPnEOs が下水処理場に流入しており、処理の過程で生じた代謝産物やハロゲン化物が水環境中に放出されていることが確認された。特に、これまでは必ずしも調査の対象となつてこなかった NPnECs やハロゲン化物も、FE 中から高頻度で検出されたことから、今後は調査対象に含めていくことが重要であることが明らかとなった。NPnEOs の下水処理場における除去率(NPE-cs として)は平均で約 70%であったが、処理場における NPE-cs の除去は大部分が生物処理によっていることが明らかにされた。さらに、生物処理において標準活性汚泥法の変法である AO 法/A<sub>2</sub>O 法を採用している下水処理場においては、NPE-cs の除去効率がより高まることが示された。また、化学酸化、急速ろ過などの高度処理を導入している下水処理場においてもかなり高い NPE-cs 除去率が認められたことから、NPE-cs によるリスクを低減する上で、これらの処理の組み合わせが有効であるものと考えられる。

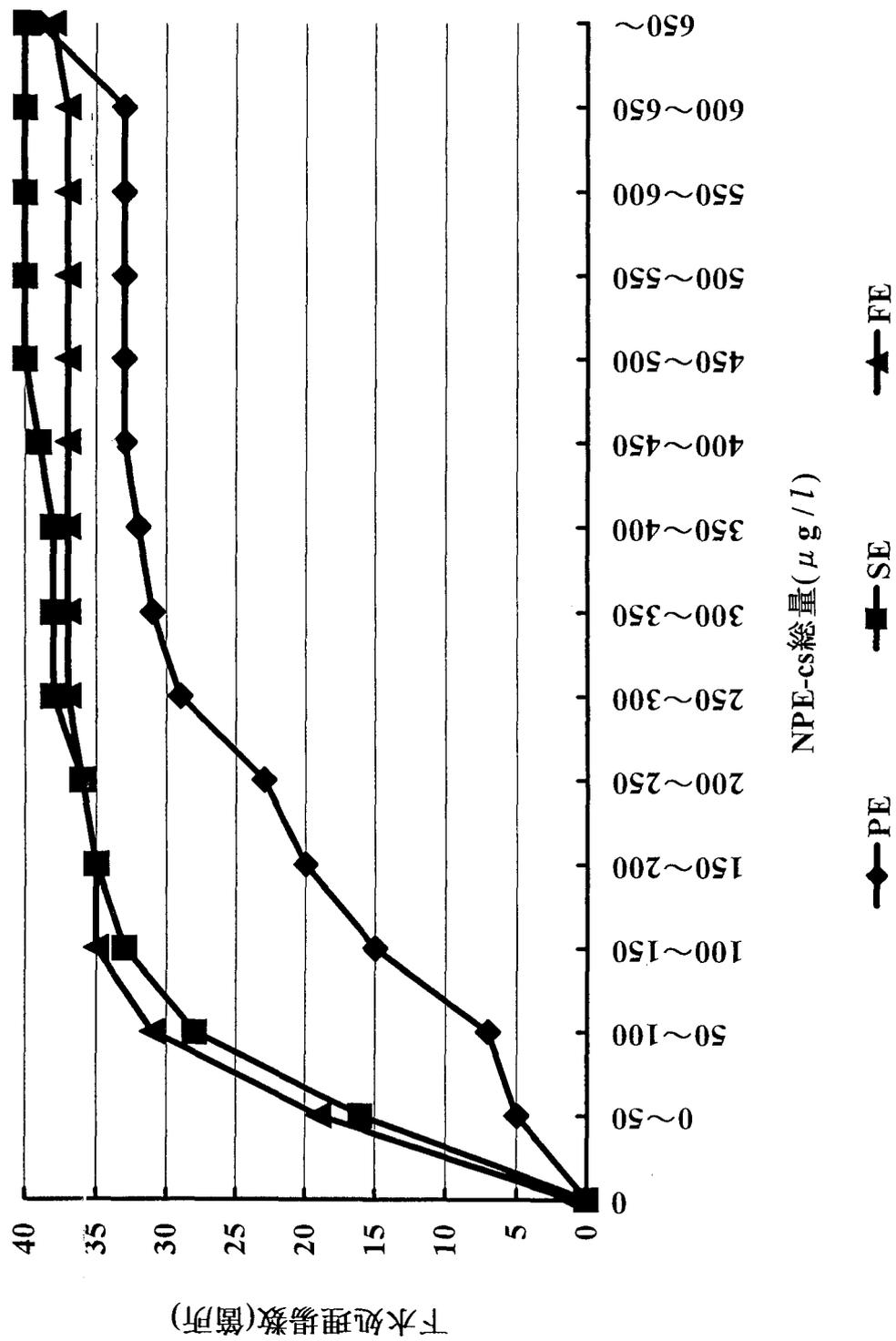


図2-1 下水試料中におけるNPE-cs重量濃度の累積頻度分布

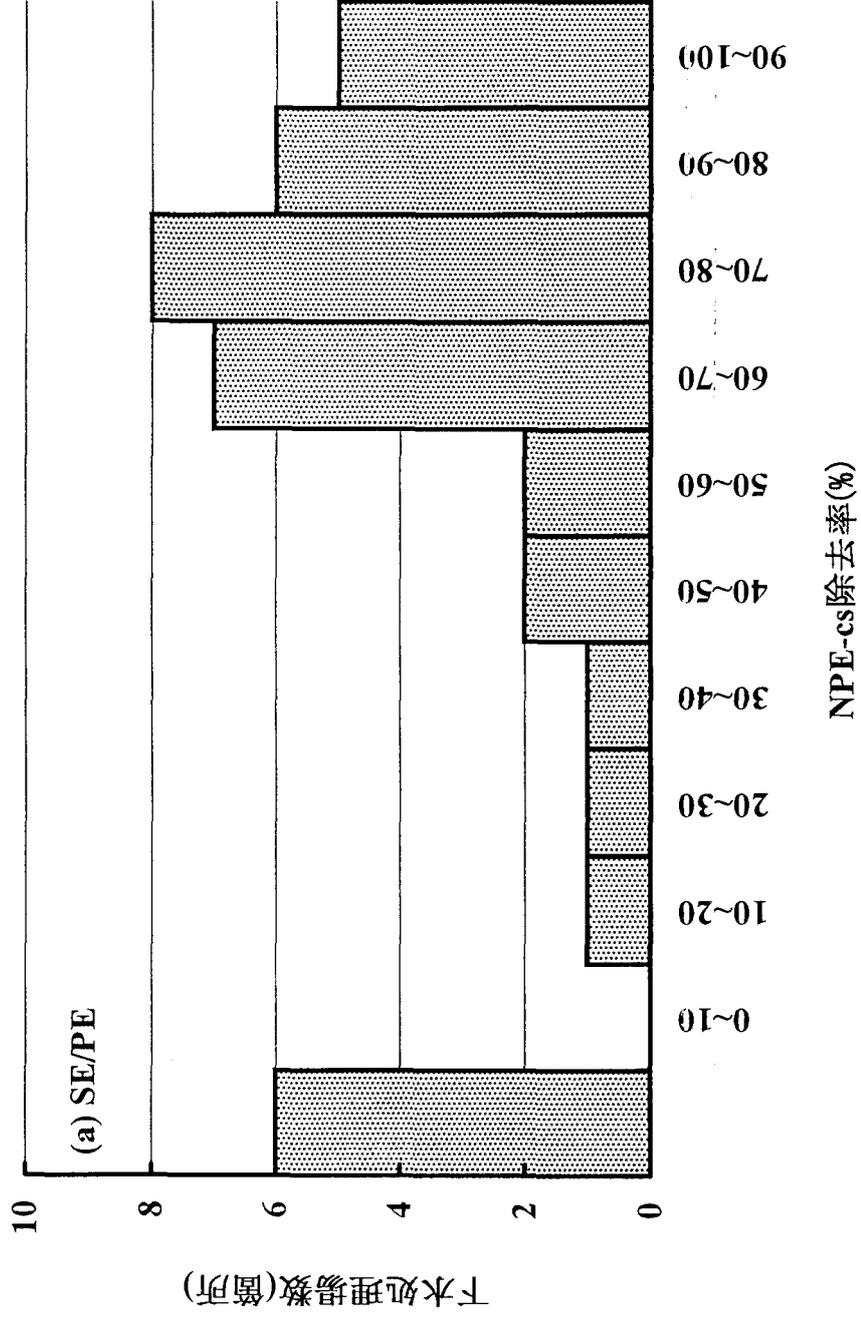
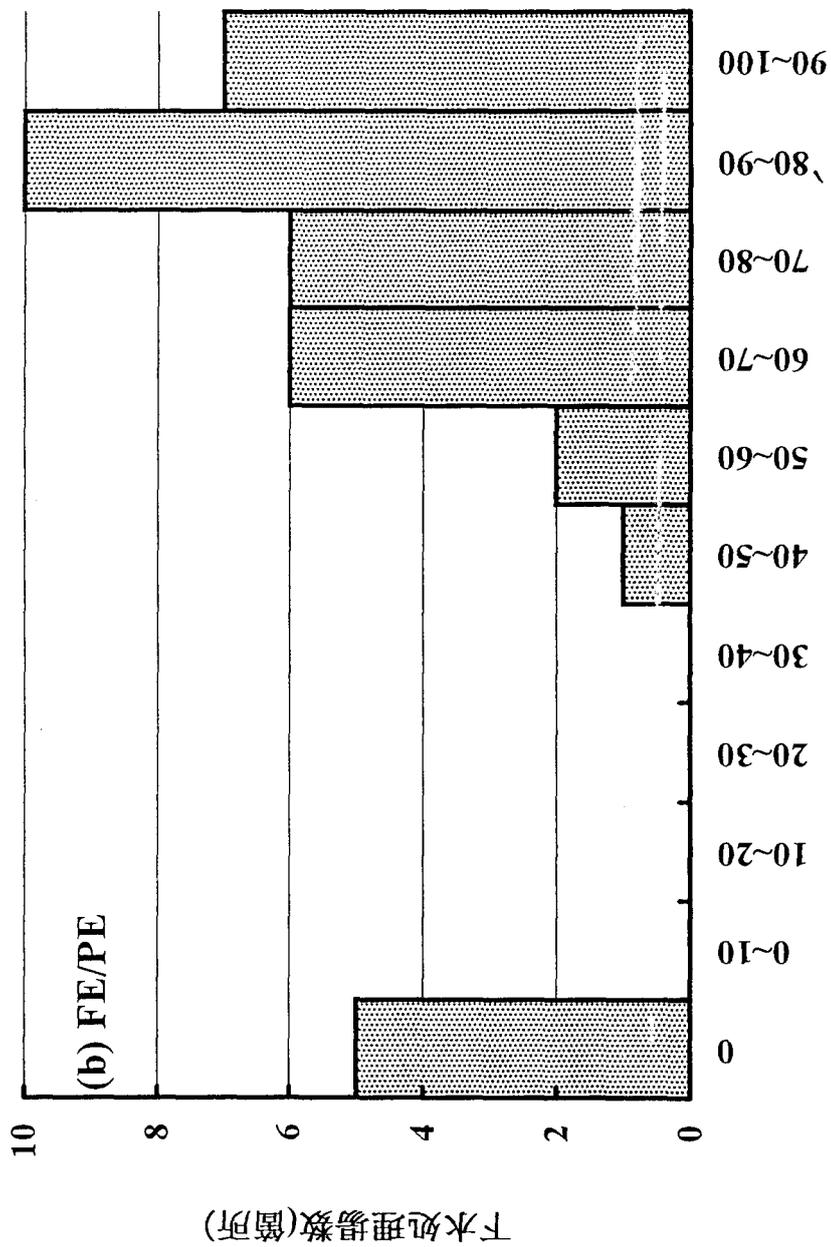


図2-2-a SE/PEにおけるNPE-cs除去率分布(N=39)



NPE-cs除去率(%)

図2-2-b FE/PEにおけるNPE-cs除去率分布(N=37)

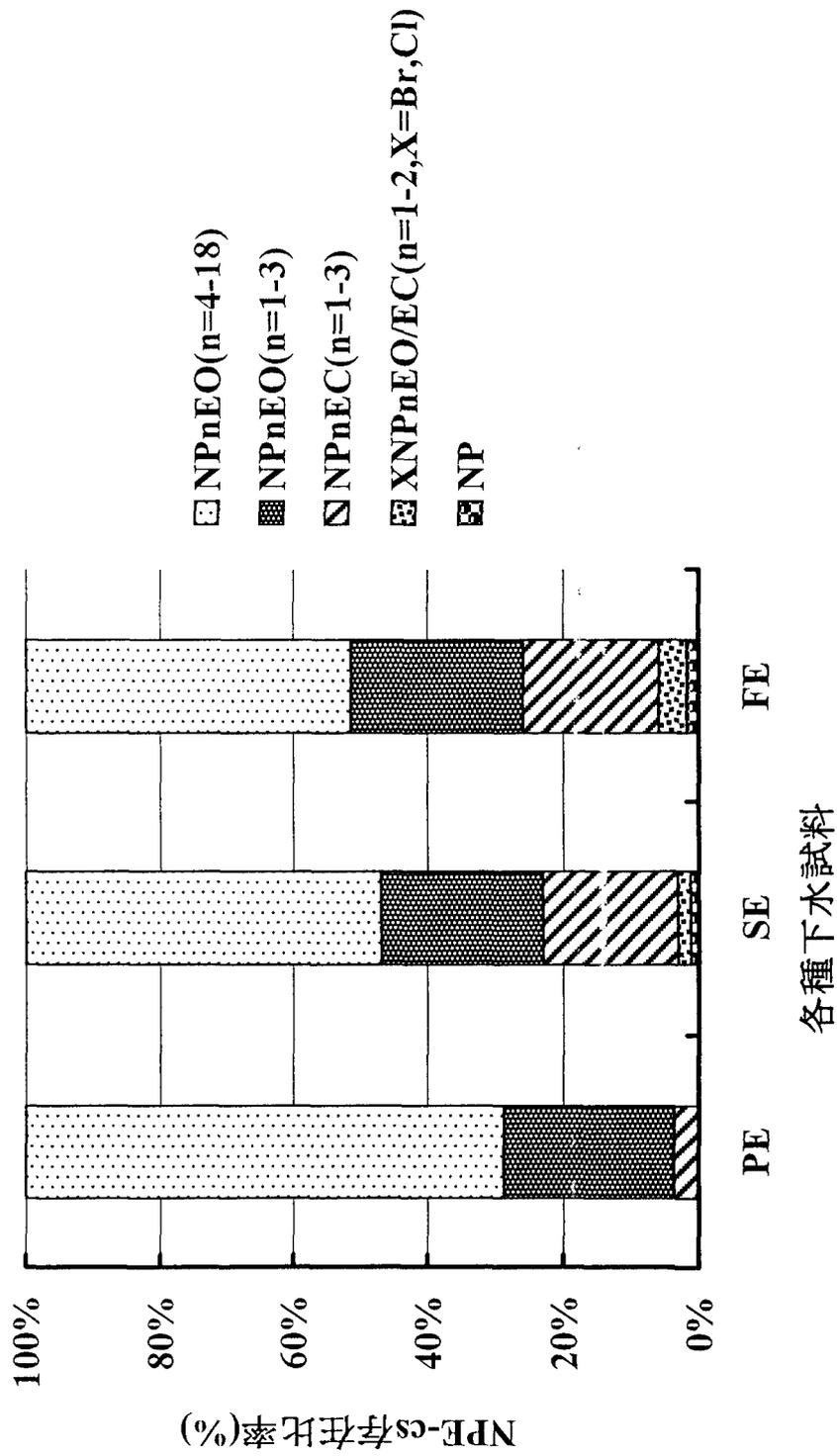


図2-3 下水処理場から採取された各種下水試料中のNPnEOsの平均比率

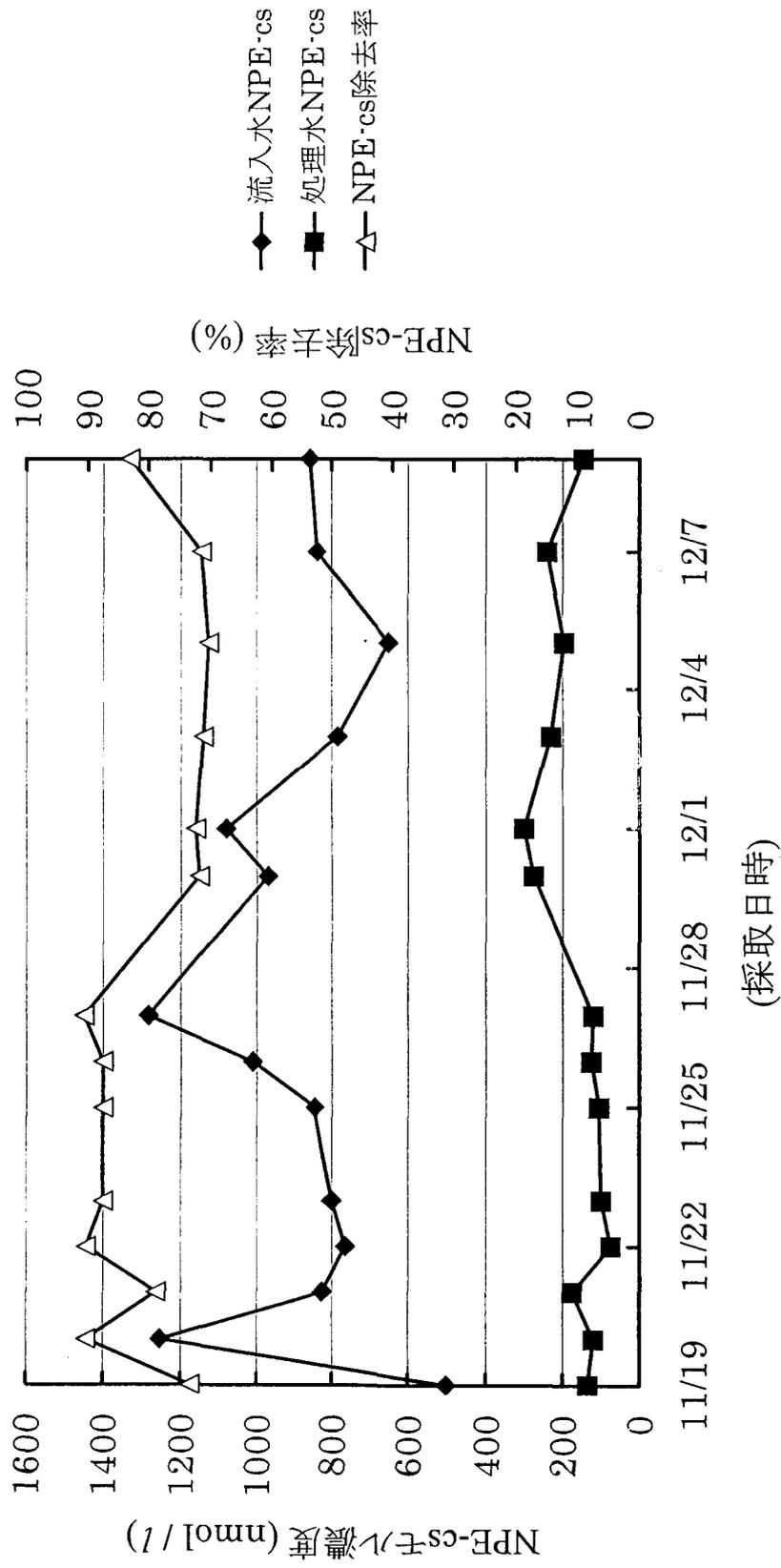


図2-4 流入水, 処理水中のNPE-cs濃度, 及び水相からのNPE-cs除去効率の経時変化<sup>22)</sup>

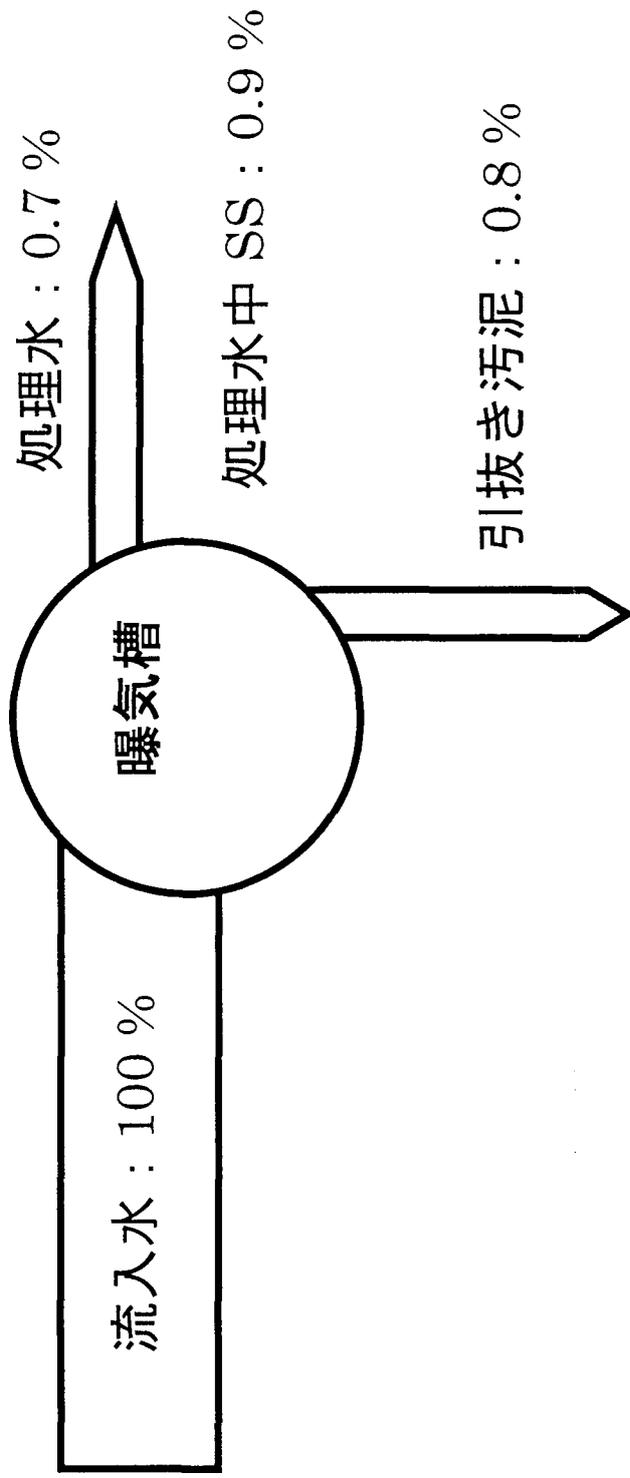
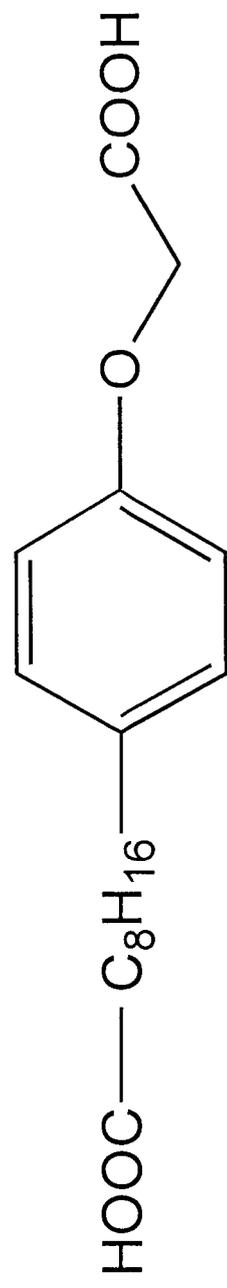


図2-5 NPE-cs添加期間単位時間の曝気相におけるNPE-csのマスフロー<sup>(22)</sup>



CA<sub>8</sub>PE<sub>1</sub>C

図 2-6 CAPECs の化学構造(一例として CA<sub>8</sub>PE<sub>1</sub>C を記載する)<sup>18)</sup>

表2-1 GC/MS-SIM測定イオン

NPE-cs	測定イオン(m/z)	
	定量用	確認用
NP	135	149
NP1EO	179	193
NP2EO	223	-
CINP1EO	169	-
CINP2EO	169	-
BrNP1EO	257	-
BrNP2EO	301	-
Me-NP1EC	207	221
Me-NP2EC	117	251
Me-NP3EC	295	-
Me-CINP1EC	241	-
Me-CINP2EC	285	-
Me-BrNP1EC	285	-
Me-BrNP2EC	331	-

注)"Me-"はそれぞれの化学物質のメチルエステルを表わす。

表2-2 調査対象となった下水処理場から採取された各種試料水中におけるNPE-csの検出状況

下水試料	検出が確認された		検出濃度( $\mu\text{g} / \text{l}$ )		検出濃度( $\text{nmol} / \text{l}$ )		平均値	比率*(%)	最大値	平均値	比率*(%)
	下水処理場(箇所)	最小値	最大値	最小値	最大値	最小値					
<b>初沈越流水(PE)</b>											
NPNpEO(n=4-18)	39 / 39	5.11	1035	238.037	80.684	10.8	1990	398.26	71.23		
NPNpEO(n=1-3)	38 / 39	N.D.	938	54.622	17.108	N.D.	3095	171.12	25.14		
NPNpEC(n=1-3)	22 / 39	N.D.	25.8	2.931	2.207	N.D.	88.3	9.81	3.63		
総量	39 / 39	10.4	1973	295.591	[100]	24.7	5085	579.18	[100]		
<b>終沈越流水(SE)</b>											
NPNpEO(n=4-18)	36 / 40	N.D.	409	77.37	63.993	N.D.	361	97.48	52.98		
NPNpEO(n=1-3)	40 / 40	0.169	42.9	10.77	18.306	0.55	111	29.28	23.81		
NPNpEC(n=1-3)	36 / 40	N.D.	22.9	6.095	15.789	N.D.	69	19.17	19.81		
CINPnEO(n=1-2)	14 / 40	N.D.	6.48	0.549	0.865	N.D.	12.6	1.79	1.36		
CINPnEC(n=1-2)	14 / 40	N.D.	1.43	0.191	0.273	N.D.	19.4	0.96	0.7		
BrNPnEO(n=1-2)	1 / 40	N.D.	0.506	0.012	0.012	N.D.	1.37	0.03	0.02		
BrNPnEC(n=1-2)	11 / 40	N.D.	0.852	0.09	0.231	N.D.	2.21	0.22	0.23		
NP	13 / 40	N.D.	3.9	0.34	0.528	N.D.	17.7	1.55	1.1		
総量	40 / 40	0.2	453.5	95.42	[100]	0.55	436.6	150.5	[100]		
<b>滅菌放流水(FE)</b>											
NPNpEO(n=4-18)	37 / 38	N.D.	245	44.329	56.64	N.D.	385	72.82	46.24		
NPNpEO(n=1-3)	32 / 38	N.D.	60	8.723	19.969	N.D.	394	36.61	24.04		
NPNpEC(n=1-3)	34 / 38	N.D.	1119	34.082	19.084	N.D.	3543	108.12	21.51		
CINPnEO(n=1-2)	14 / 38	N.D.	4.02	0.542	1.034	N.D.	12.1	1.78	1.58		
CINPnEC(n=1-2)	17 / 38	N.D.	3.31	0.328	0.623	N.D.	8.93	0.9	0.8		
BrNPnEO(n=1-2)	1 / 38	N.D.	0.111	0.002	0.007	N.D.	0.325	0.01	0.01		
BrNPnEC(n=1-2)	16 / 38	N.D.	52.4	1.781	1.86	N.D.	28.8	1.41	1.67		
NP	15 / 38	N.D.	1.7	0.218	0.78	N.D.	7.72	0.99	1.6		
総量	38 / 38	N.D.	1171.4	90.008	[100]	N.D.	3556.6	222.6	[100]		

注) 初沈越流水からは、XNPnEO/EC(n=1-2, X=Cl, Br), NPは検出されなかった。

比率\* : PE, SE, FE中に含まれるNPE-cs総量に占める各種NPE-csの割合を表す。

N.D. : 検出下限値以下

表2-3 わが国を含む諸外国の下水処理場におけるNPE-cs除去率

国名(測定年次)	PE中における		FE中における		平均NPE-cs除去率 (FE/PE)(%)	出典
	平均NPE-cs濃度( $\mu\text{g/l}$ )	平均NPE-cs濃度( $\mu\text{g/l}$ )	平均NPE-cs濃度( $\mu\text{g/l}$ )	平均NPE-cs濃度( $\mu\text{g/l}$ )		
日本(1995-6)	296	90			68.0 [71.4]	本研究
スイス(1994)	1400	400			58.9	
イタリヤ(1999)	75.7	4.4			[93.2]	
ドイツ(1985)	727	197			[72.6]	

注) []内数値：重量濃度から除去率を算出、それ以外はモル濃度から算出した。

表2-4 標準活性汚泥法並びにその変法下におけるNPE-cs 除去率

下水処理手法	下水処理場数(箇所)	NPE-cs除去率(SE/PE)(%)
AO法またはA2O法	4	74.0
多段階嫌気-好気活性汚泥法	6	61.3
オキシデーションデイツチ法	1	60.6
標準活性汚泥法	27	59.5

注)A2O法1箇所におけるNPE-cs除去率は80.9%に上る。

表2-5 各種高度処理法下におけるNPE-cs除去率

高度処理手法	下水処理場数(箇所)	NPE-c除去率(FE/PE)(%)
紫外線照射・オゾン添加	1	89.7
急速濾過法	6	85.1
高度処理法不採用	31	68.7

注)2箇所<sup>1</sup>の下水処理場における高度処理法の手法が不明につきデータを削除した。  
急速濾過法を採用している下水処理場の内1箇所については活性炭吸着法を採用している。

表2-6 投入塩素濃度の違いに伴うFE中のハロゲン化物の比率

塩素濃度(mg/l)	ハロゲン化物が検出された下水処理場数(箇所)		ハロゲン化物が検出されなかった下水処理場(箇所)		総NPE-cs(H) <sup>*</sup> に占めるハロゲン化物の比率(%)**
	下水処理場数(箇所)	された	検出された	なかった	
<1.0	18	10	8	2.91	
1.0 ~ 2.0	16	12	4	5.73	
2.0 ~ 3.0	4	4	0	6.35	
3.0 <	2	1	1	0.69	

注)NPE-cs(H)<sup>\*</sup>:NPE-cs(H)はNPを除いたNPE-csを表す。

比率<sup>\*\*</sup>:FE中に含まれるNPE-cs(H)(NPを除く)総量に占めるハロゲン化物の割合を表す。

投入塩素濃度が1.0~2.0mg/lであった下水処理場の内2箇所についてはFE中におけるNPE-csの測定データが未記載につき削除し

### 第3章 酵母 Two-hybrid 法による NPE-cs の内分泌攪乱性の評価

#### 第1節 緒言

第2章においては、下水処理場へ流入する NPnEOs 親物質が、処理の過程における微生物による生分解反応を受け、代謝産物やそのハロゲン化物を形成し水環境中に放出されていることが明らかとなった。このうち NP については既に環境省により内分泌攪乱性化学物質であることが確定されており<sup>1)</sup>、また、NPnECs(n=1-2)や NP2EO についても微弱なエストロゲン様活性を示すことが報告されている<sup>2)</sup>。このことから、NPE-cs の内分泌攪乱性については、水環境中への放出に伴うリスクを評価するうえで非常に重要な研究課題であると言えるが、未だに不明な部分も多く残されている。例えば、ハロゲン化物のエストロゲン様活性を検討した研究事例はこれまでのところ報告されていない。また、NPE-cs が体内に取り込まれた場合を想定し、肝臓などで生じる代謝活性化による変化がエストロゲン様活性に及ぼす影響についても、詳細に検討しておくことが望まれる。しかしながら、S9mix を用いて NP の代謝活性化後のエストロゲン様活性を調べた Yoshihara らの報告<sup>3)</sup>など、NP についての数例の研究が報告されている以外に、他の NPE-cs についての検討は行われていない。さらに、エストロゲン様活性以外の内分泌攪乱性については、Nishikawa ら<sup>4)</sup>が NP についてアンドロゲン(男性ホルモン)様活性を有さないことを明らかにしているが、他の NPE-cs については殆ど研究が行われていないのが現状である。

そこで本章においては、このように不明な部分の多い NPE-cs の内分泌攪乱性をより詳細に解明することを目的として、各種 NPE-cs に対し、酵母 Two-hybrid 法による内分泌攪乱性の評価を行った。特に、下水処理水から高頻度で検出される NPE-cs を選択し、ハロゲン化物のエストロゲン様活性、代謝活性化に伴うエストロゲン様活性の変化およびエストロゲン様活性以外の内分泌攪乱性についても検討を行った。

#### 第2節 実験方法

##### 1. NPE-cs および試薬

非イオン界面活性剤親物質である NPnEOs(EO 鎖平均重合度  $n=18$ (NP18EO)、7.5(NP7.5EO))、代謝産物として NP、NP1EO、NP2EO、NP3EO、NP1EC、NP2EC、ハロゲン化物として Br-NP1EO を内分泌攪乱性評価の対象とした。ここで用いた NPE-cs の構造を図 3-1 に示した。NP18EO、NP 7.5EO および NP については東京化成工業(株)製の市販品を使用した。他の NPE-cs については独自で合成・精製した。NP1EC の合成は、Marcomini ら<sup>5)</sup>の手法に従った。NP1EC は、NP のエタノール溶液に対し、水酸化ナトリウム、水およびクロロ酢酸の混合物を滴下し、1 時間還流下で反応させた後、塩酸を加えて pH4 に調整した反応溶液をエーテルで抽出し、生成物をシリカゲルカラムクロマ

トグラフィー (BW-127ZH(100-270 mesh) : 富士シリシア(株)) により単離して得た。また、NP1EO は、合成した NP1EC を水素化リチウムアルミニウム存在下、テトラヒドロフラン(THF)中において一晩還流下で還元反応させ、反応溶液中のアルミニウム塩をろ過した後、エーテルで抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより単離して標品とした。一方、NP2EO および NP3EO は、NPnEO : n≧2 (東京化成工業(株)) からシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより単離した。NP1EO は同様の方法でも単離可能である。また、NP2EC は、NP2EO を Jones 試薬存在下で 6 時間酸化反応させ、得られた反応溶液を反応後も引き続き 10 時間加熱して合成した。室温まで冷却させた反応溶液に亜硫酸水素ナトリウムを加えてクロムを還元し、水による希釈を行い、エーテルによる抽出の後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより生成物を単離した。Br-NP1EO の合成は牧ら<sup>9)</sup>の手法に従った。即ち、メタノールに溶解した NP1EO に対し、GC(Hewlett Packard 社製 HP5890)で反応をモニタしながら NP1EO が完全に消失するまで臭素水を滴下し、室温下で臭素化反応を行った。反応後、亜硫酸ナトリウムを加え、過剰の臭素を分解した後にエーテルによる抽出を行い、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより生成物を単離した。単離された各 NPE-cs 純物質の化学構造および純度を <sup>1</sup>H-NMR(日本電子社製 JNM-GSX-400 型)、IR(Nicolet 社製 Magna 750) による同定を行うことで確認し、試験に供した。

酵母 Two-hybrid 法による内分泌攪乱性の評価において陽性対照物質として、エストロゲン様活性には 17β-エストラジオール(E2)5 水和物 (RBI 社製)を、プロゲステロン様活性にはプロゲステロン(98%)を、アンドロゲン様活性にはテストステロン(>97%)を、また甲状腺ホルモン様活性には 3,3',5'-トリヨードチロニン(T3)をそれぞれ使用した。

以上の NPE-cs の合成および酵母 Two-hybrid 法による内分泌攪乱性の評価実験においては、特に断りのない限り、和光純薬工業の特級試薬を使用した。

## 2. 酵母 Two-hybrid 法

NPE-cs の内分泌攪乱性は、Nishihara ら<sup>7)</sup>の開発した酵母 Two-hybrid 法によって評価した。試験酵母には、GAL4DNA 結合領域・ホルモンレセプターリガンド結合領域および GAL4 活性化領域・転写共役領域が導入された酵母 Y190 を使用したが、各種内分泌攪乱性の評価を行うため、ホルモンレセプターリガンド結合領域は、エストロゲンレセプター(ER $\alpha$  : 女性ホルモン)、プロゲステロンレセプター(PR : 黄体ホルモン)、アンドロゲンレセプター(AR : 男性ホルモン)あるいは甲状腺ホルモンレセプター(TR : 甲状腺ホルモン)用のものを用いた。図 3-2 は酵母 Two-hybrid 法の概念図を表わしている。

試験酵母を約 5ml の SD 培地に植菌し、30°C で一晩培養したものを前培養液とした。この前培養液 250 $\mu$ l を SD 培地 1ml に植種した後に被検物質の溶液 12.5 $\mu$ l を添加し、よく攪拌後、30°C で 4~24 時間振盪培養することで曝露した。培養終了後、150  $\mu$ l の培養液を 96 穴マイクロプレートに移

し、マイクロプレートリーダーModel 550(BIO-RAD 社製)により酵母細胞濃度の吸光度 OD<sub>600</sub> を測定した。また、別途β-ガラクトシダーゼ活性測定用として培養液 100μl を 1.5ml 容のエッペンドルフタイプのチューブに採取した。採取した培養液を遠心分離後(19,000×g、10 分間)、沈殿物に対して 1mg/ml の Zymolyase 20T(ICN バイオメディカル(株))を含む Z 緩衝液 200μl を添加し、ボルテックスミキサーで強く攪拌した。37°C で 15 分間静置後、β-ガラクトシダーゼの基質である o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド(ONPG: 東京化成工業(株))溶液 40μl を添加・攪拌し、28°C で反応を開始した。基質の添加と同時に反応時間を計測し、発色終了後に 1M の Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 100μl を加えて反応を停止させた。その後、遠心分離 (19,000×g、5 分間) によって得られた上清 150μl に対して、プレートリーダーにて波長 420 および 550 nm における吸光度(OD<sub>420</sub>および OD<sub>550</sub>)を測定し、次式(1)により、所定濃度における被検物質の内分泌攪乱活性をβ-ガラクトシダーゼ活性(unit)として算出した。

$$\beta\text{-galactosidase activity (unit)} = 1000 \times \frac{(OD_{420} - 1.75 \times OD_{550})}{t \times v \times OD_{600}} \quad \text{式 (1)}$$

t: 反応時間(min)    v: 反応液中の前培養液量

被検物質のエストロゲン様活性の評価は、陽性対照物質である E2 の濃度とβ-ガラクトシダーゼ活性との関係を示す用量反応曲線を基準として行った。即ち、E2 の用量反応曲線においてβ-ガラクトシダーゼの最大活性の 10%値を求め、この活性を与える被検物質の濃度を REC10 と定義して指標とした<sup>7)</sup>。ここで、各被検物質について得られた REC10 値の E2 の REC10 値に対する比の逆数は、E2 のエストロゲン様活性を 1 とした場合の被検物質の相対活性を表すことから、これを E2 相対活性(Relative Potency: RP)<sup>8)</sup>としてエストロゲン様活性を評価した。なお、試験した被検物質の濃度範囲でβ-ガラクトシダーゼが E2 の最大活性の 10%を越えなかった場合には、エストロゲン様活性がない(陰性)ものとみなした。また、エストロゲン様活性以外の内分泌攪乱性についても同様に、各種陽性対照物質の用量反応曲線を用いて評価した。

生体内に取り込まれた被検物質の代謝活性化の影響を調べる実験では、哺乳動物の肝ミクロソームによる代謝活性系を模して、6-ベンゾフラボン、フェノバルビタールにより薬物代謝酵素を誘導したラット肝臓から調製した肝臓の S9 分画(オリエンタル酵母(株))および NADPH から成る S9mix 125μl を、被検物質の溶液 12.5μl と試験酵母の前培養液 250μl と共に SD 培地 875μl に添加して曝露を行い、以降は同様の操作にてβ-ガラクトシダーゼ活性を測定して、エストロゲン様活性の変化を調べた。

## 第3節 実験結果

### 1. NPE-cs のエストロゲン様活性

酵母 Two-hybrid 法によって、各種 NPE-cs のエストロゲン様活性を測定した結果を、用量反応曲線として図 3-3 に示す。また、この結果を表 3-1 にまとめた。試験した非イオン界面活性剤 NPnEOs および NPE-cs のうち、β-ガラクトシダーゼ活性が濃度に依存して増大し、有意なエストロゲン様活性(E2 の最大β-ガラクトシダーゼ活性の 10%以上)を示したのは NP のみであり、他の物質はエストロゲン様活性陰性と判断された。なお、NP の用量反応曲線において、高濃度でβ-ガラクトシダーゼ活性の低下がみられたのは、試験酵母の増殖が NP の急性毒性により阻害されたものと推察された。酵母 Two-hybrid 法によるエストロゲン様活性の測定において、高濃度の被検物質が酵母の増殖を阻害し、β-ガラクトシダーゼ活性を低下させる傾向は、他の研究者によっても報告されている<sup>9)</sup>。

### 2. 代謝活性化(S9mix 処理)後の NPE-cs のエストロゲン様活性

生体内に取り込まれた NPE-cs の代謝活性化を模擬し、試験酵母への被検物質の曝露を S9mix 共存下で行ってエストロゲン様活性を測定したところ、図 3-4 に示す用量反応曲線を得た。また、この結果を表 3-2 にまとめた。ここで表 3-2 中、E2 および各被検物質の REC10 および RP は、S9mix 処理を行わなかった E2 の用量反応曲線から求めたものであり、代謝活性化後にどの程度の E2 相当活性を有しているかを示す指標といえる。図に示したとおり、S9mix 処理を行った場合に有意なレベルでβ-ガラクトシダーゼ活性を示した物質は、E2、NP および NP1EO であった。

### 3. NPE-cs のエストロゲン様活性以外の内分泌攪乱性

NPE-cs のエストロゲン様活性以外の内分泌攪乱性を、プロゲステロン、アンドロゲンおよび甲状腺ホルモンについて、同様の酵母 Two-hybrid 法による評価を行った結果を、それぞれ図 3-5、図 3-6 および図 3-7 に示す。図示されたように、ここで試験に供した NPnEOs および NPE-cs のβ-ガラクトシダーゼ活性は、陽性対照の最大活性の 10%に達することはなく、ここで試験した範囲では有意な内分泌攪乱性は認められなかった。

## 第4節 考察

### 1. 他のアッセイ法による NPE-cs のエストロゲン様活性の評価

試験した NPE-cs のうち、酵母 Two-hybrid 法によって唯一エストロゲン様活性が認められた NP は、表 3-1 に示したように、E2 相対活性(RP)が  $2.1 \times 10^{-4}$  と推算された。NP のエストロゲン様活性についてはこれまでも多くの報告があるが、斎藤らは酵母 Two-hybrid 法によるアッセイで RP が 6.0

$\times 10^4$ であったとしている<sup>10)</sup>。また、Sotoらはヒト乳がん由来樹立細胞株であるMCF-7を用いた細胞増殖スクリーニングアッセイ(通称E-screen法)において、NPのRPが $3.7 \times 10^5$ であったとしており<sup>11)</sup>、本研究と類似のエストロゲン様活性が報告されている。

一方、NPnEOsの好氣的生分解の最終代謝産物であるNP1-2EOやNP1-2ECについてエストロゲン様活性を調べた既往の研究報告は極僅かであるが、RoutledgeとSumpterはYES法によって各種NPE-csのエストロゲン様活性を調べ、NPに加えてNP1EC、NP2ECおよびNP2EOにも弱いエストロゲン様活性を認めている<sup>2)</sup>。本研究では、この結果と異なり、NP1EO、NP2EO、NP3EO、NP1ECおよびNP2ECの何れもがエストロゲン様活性陰性と判定された。このように異なる結果が得られたことは、RoutledgeとSumpterが用いたYES法の方が、本研究で使用した酵母Two-hybrid法に比べて、エストロゲン様活性を検出する感度が高い(例えば、E2のエストロゲン様活性検出下限濃度はYES法で $3.0 \times 10^{-3} \mu\text{g/l}^2$ )、酵母Two-hybrid法で $1.7 \times 10^{-2} \mu\text{g/l}$ (本研究)のデータがある)ためとも考えられるが、両アッセイ系のエストロゲン様活性検出のメカニズムが異なることに起因する可能性も否定できない。即ち、YES法は $\text{ER}\alpha$ と被検物質が結合すると $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性が発現するシステムであるのに対し、酵母Two-hybrid法では $\text{ER}\alpha$ に被検物質が結合し、さらにCo-activatorが結合する場合に限って $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性が発現するシステムであることから、NPnEOs(n=1-2)やNPnECs(n=1-2)は $\text{ER}\alpha$ とは緩やかに結合するものの、複合体はCo-activatorとは結合しにくいとも考えられる。いずれにしても本研究の範囲からは、NPnEOs(n=1-3)およびNPnECs(n=1-2)はエストロゲン様活性を有していない、もしくは極めて微弱なエストロゲン様活性しか有していないものといえる。

また、これまでNPnEOs生分解代謝産物のハロゲン化物については、内分泌攪乱性を調べた研究は報告されていなかったが、ここではBrNP1EOを対象としてエストロゲン様活性を測定した。試験に供した濃度の範囲では、BrNP1EOには有意なエストロゲン様活性は認められなかった。塩素化物やNP2EO、NPnECs(n=1-2)のハロゲン化物については実際の検討を行ったわけではないが、本結果から推測すると、NPnEOsの生分解代謝産物のハロゲン化は、エストロゲン様活性を生起させたり、大幅に増加させるものではないことが示唆されたものといえる。

## 2. NPE-csのエストロゲン様活性に及ぼす代謝活性化(S9mix処理)の影響

S9mix処理により、E2のRPは $3.3 \times 10^3$ となり、エストロゲン様活性は元の300分の1程度にまで低下したことになる。同様に、 $2.1 \times 10^4$ であったNPのRPはS9mixで処理することにより $1.2 \times 10^5$ となり(17.5分の1に低下)、代謝活性化によってエストロゲン様活性が低下することが明らかとなった。S9mix処理によってE2およびNPのエストロゲン様活性が低下する現象については、Yoshiharaら<sup>3)</sup>によっても報告されている。以上のことから、E2およびNPはS9mixによる代謝活性化で、エストロゲン様活性のない、もしくは低い物質に分解、変換されるものと考えられた。NPについて

は S9mix 処理後の試料を GC/MS により分析したところ、NP のピーク面積、即ち濃度が低下していることが確認され、この推測を裏付けるものとなった(データ不記載)。しかし、この分析において、NP 以外の特異的なピークは検出されず、S9mix による NP の分解、変換によって生じる代謝産物を同定することはできなかった。

他方、NP1EO については、ここで使用した酵母 Two-hybrid 法ではエストロゲン様活性陰性と判定されていたが、S9mix による代謝活性化を行うことによって有意なエストロゲン様活性(RP で  $6.5 \times 10^{-6}$ )が認められるようになった。代謝活性化によって、化学物質のエストロゲン様活性が高められる現象については、ビスフェノール A についての報告があるが<sup>3)</sup>、NPE-cs については初めての報告となる。S9mix の代謝によって NP1EO のエストロゲン様活性が高められた(あるいは発現した)原因を明らかにするため、S9mix 処理後の試料を GC/MS 分析に供したが、NP1EO 以外の代謝産物のピークを検出することはできなかった。従って、現状では、ここで検出されたエストロゲン様活性がどのような物質に依存するものかは明確ではないが、NP1EO の構造から推測すれば、S9mix 処理によって NP 類似の物質への変換が起こったものとも考えられる。

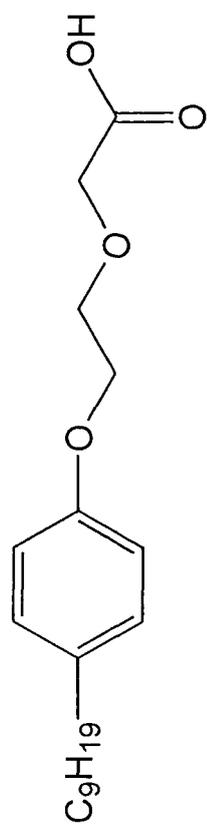
以上のことから、NPE-cs がヒトや動物の体内に摂取され、肝臓などの機能により代謝活性化を受けた場合には、NP のように分解されてエストロゲン様活性が減少するばかりでなく、NP1EO のように元の物質よりもエストロゲン活性が高い物質に転換され、リスクが高まる可能性もあることが明らかとなった。また、E2 と NP の比較から、代謝活性化によるエストロゲン様活性低下の程度は物質によって大きく異なることが明らかとなり、体内では相対的にリスクが変化することが示唆された。これらのことから、今後化学物質の内分秘攪乱性の評価を行っていくうえでは、体内における変化についても十分に検討する必要があるものと考えられた。

## 第 5 節 要約

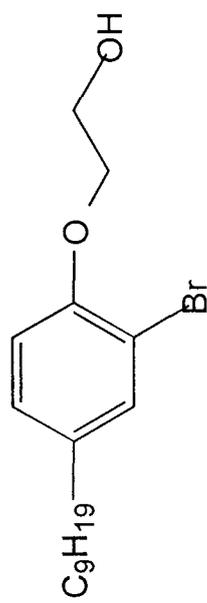
下水処理水中などから検出される NPE-cs として、NP、NPnEOs(n=1-3)、NPnECs(n=1-2)および BrNP1EO を選定し、その内分秘攪乱性を酵母 Two-hybrid 法によって評価したところ、試験に供した NPE-cs のうち、NP については有意なエストロゲン様活性が認められ、その活性は E2 相対活性にして  $2.1 \times 10^{-4}$  であったが、他の化合物は、ここで初めて試験された BrNP1EO を含めてエストロゲン様活性陰性と判断された。また、体内での代謝活性化を模擬し、S9mix で処理した NPE-cs のエストロゲン様活性を測定したところ、NP のエストロゲン活性は 17.5 分の 1 に低下したが、代謝活性化を行わなかった場合には活性が認められなかった NP1EO に有意な活性が認められるようになった(E2 の  $6.5 \times 10^{-6}$  の活性)。これらのことから、代謝活性化による NPE-cs の分解では、元の物質よりもエストロゲン様活性が弱い物質を生じるばかりでなく、よりエストロゲン様活性の強い物質も生成し得ることが示唆された。

一方、NPE-cs のエストロゲン様活性以外の内分秘攪乱性としてプロゲステロゲン様活性、アン

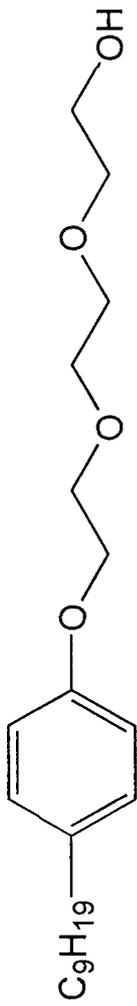
ドロゲン様活性、甲状腺ホルモン様活性を試験したが、何れの物質も有意な活性を示さなかった。



Nonylphenoxyethoxyacetic acid (NP2EC)

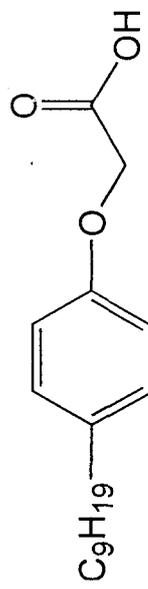


Bromononylphenol monoethoxylate (BrNP1EO)

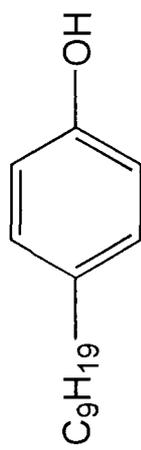


Nonylphenol diethoxylate (NP2EO)

Nonylphenol triethoxylate (NP3EO)



Nonylphenoxyacetic acid (NP1EC)



Nonylphenol (NP)

図 3-1 実験に供した各種 NPE-cs の化学構造式

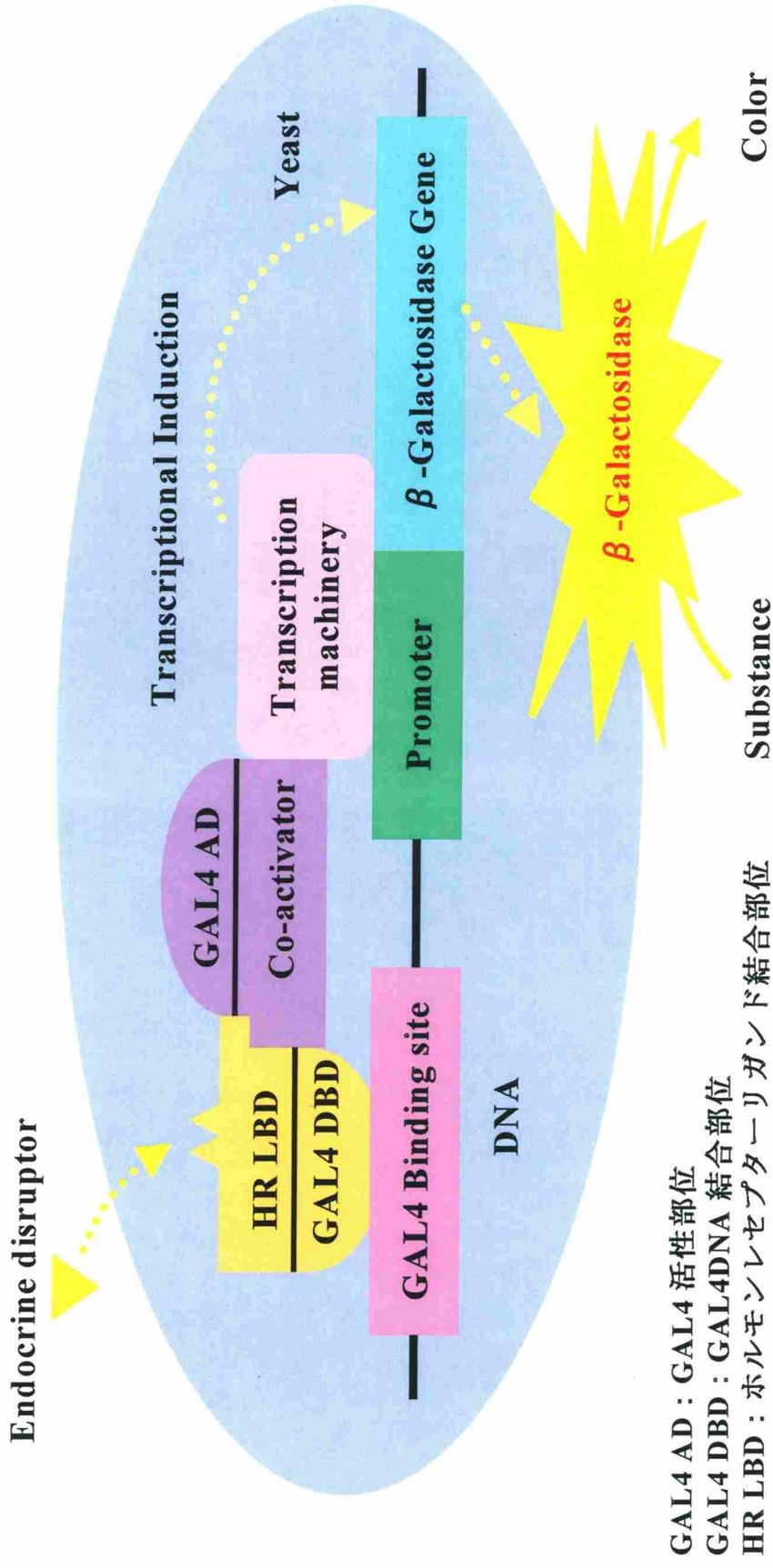


図 3-2 酵母 Two-hybrid 法の概念図<sup>7)</sup>

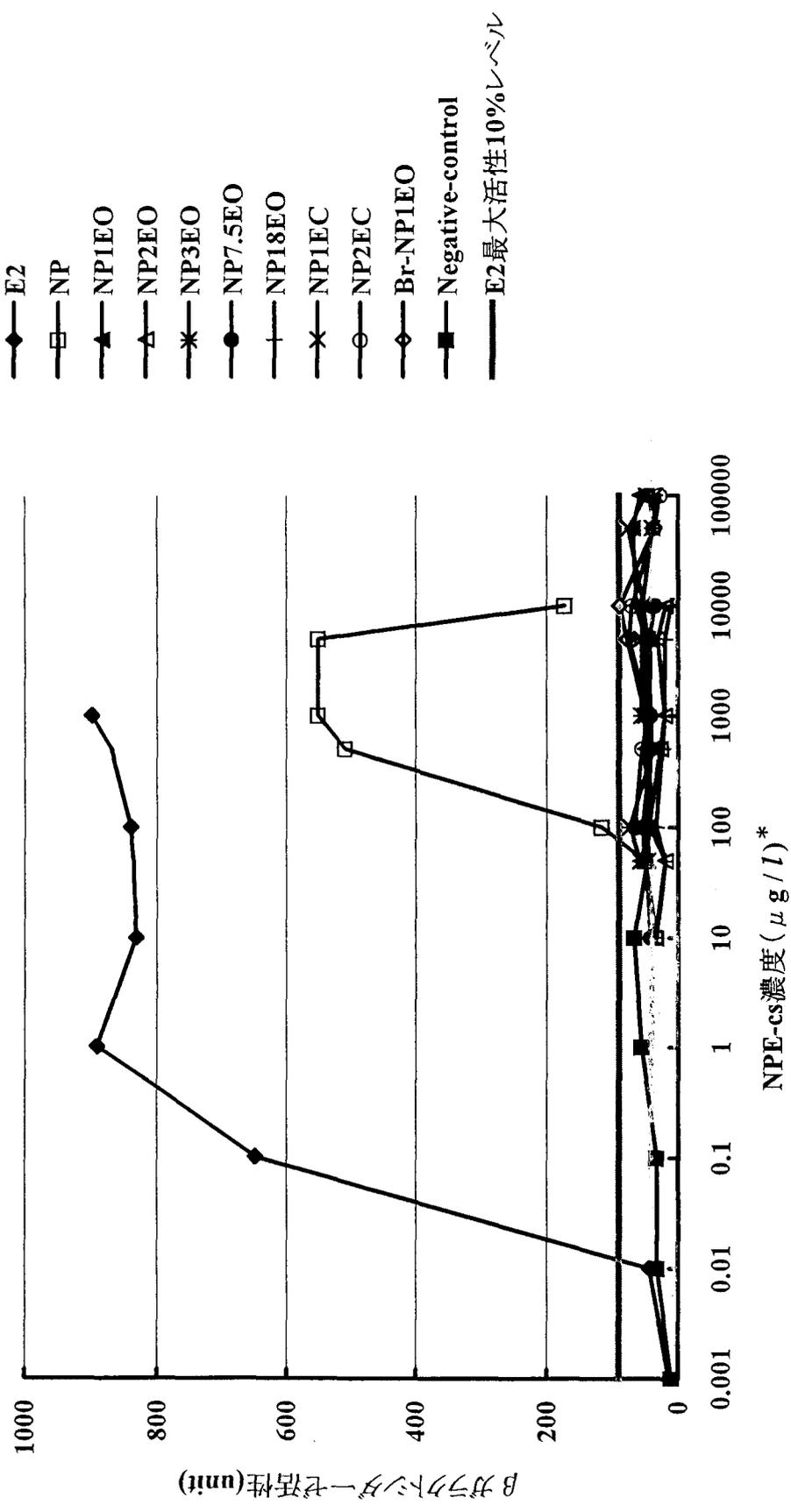


図3-3 エストロゲン様活性測定における各種NPE-csの用量反応曲線  
 \*アッセイ系における終濃度

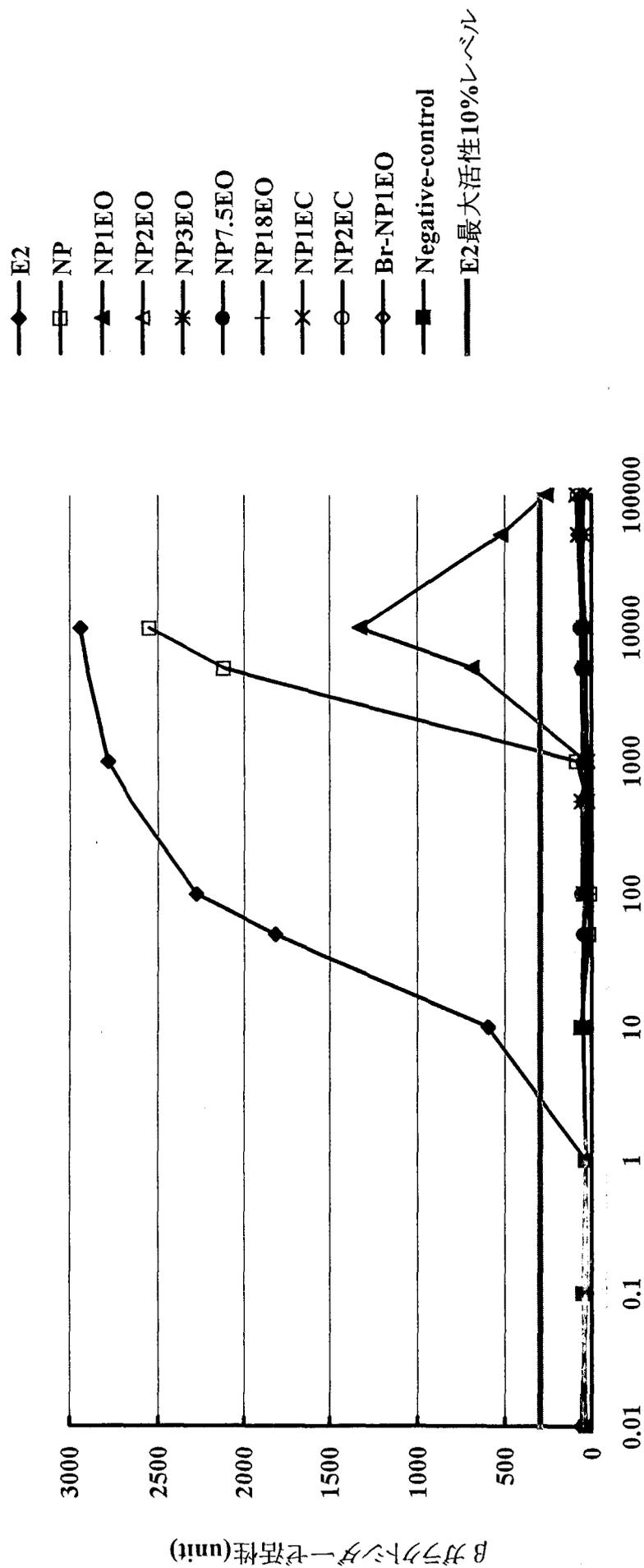


図3-4 代謝活性化後のエストロゲン様活性測定における各種NPE-csの用量反応曲線

\*アッセイ系における終濃度

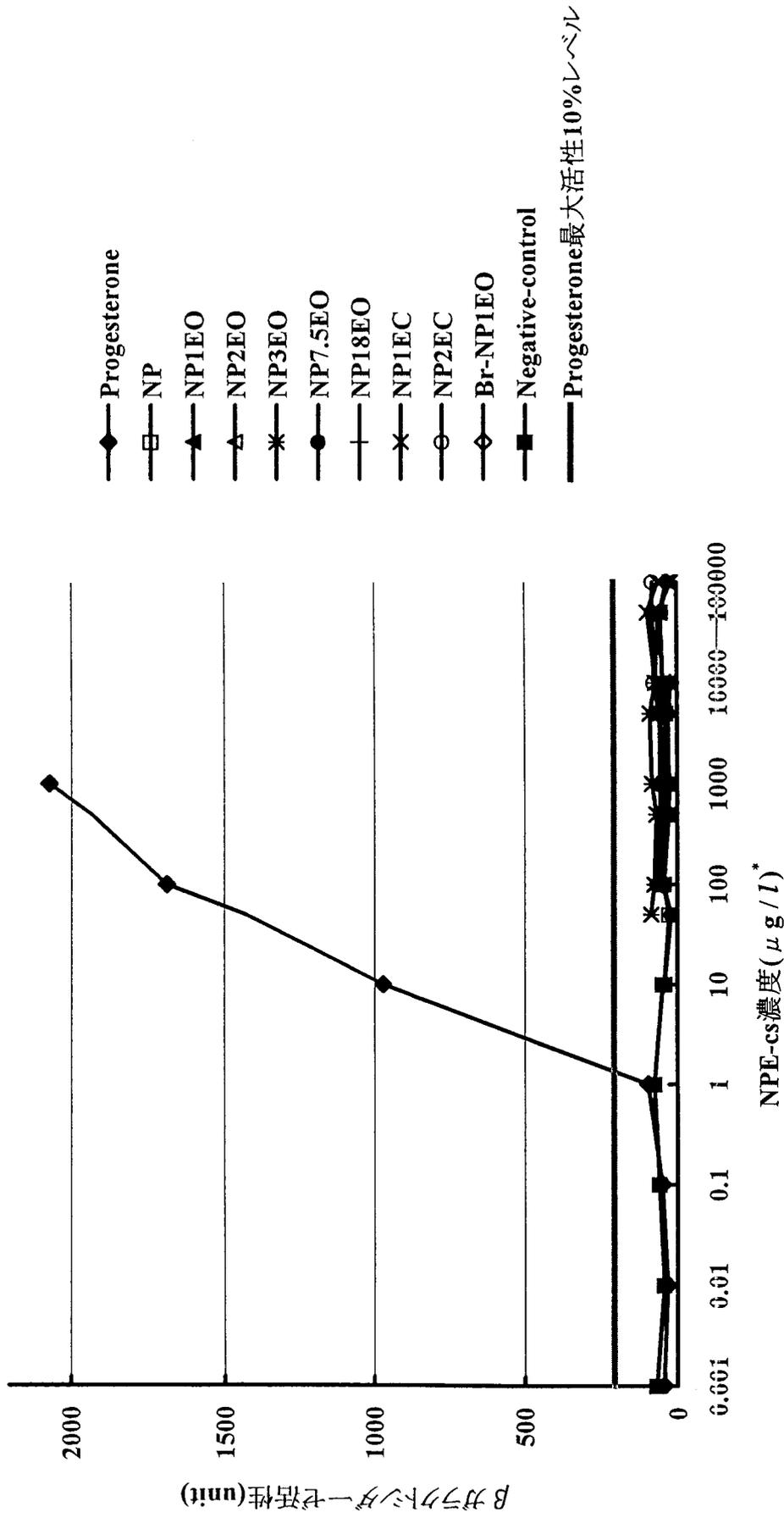


図3-5 プロゲステロン様活性測定における各種NPE-csの用量反応曲線  
\*アッセイ系における終濃度

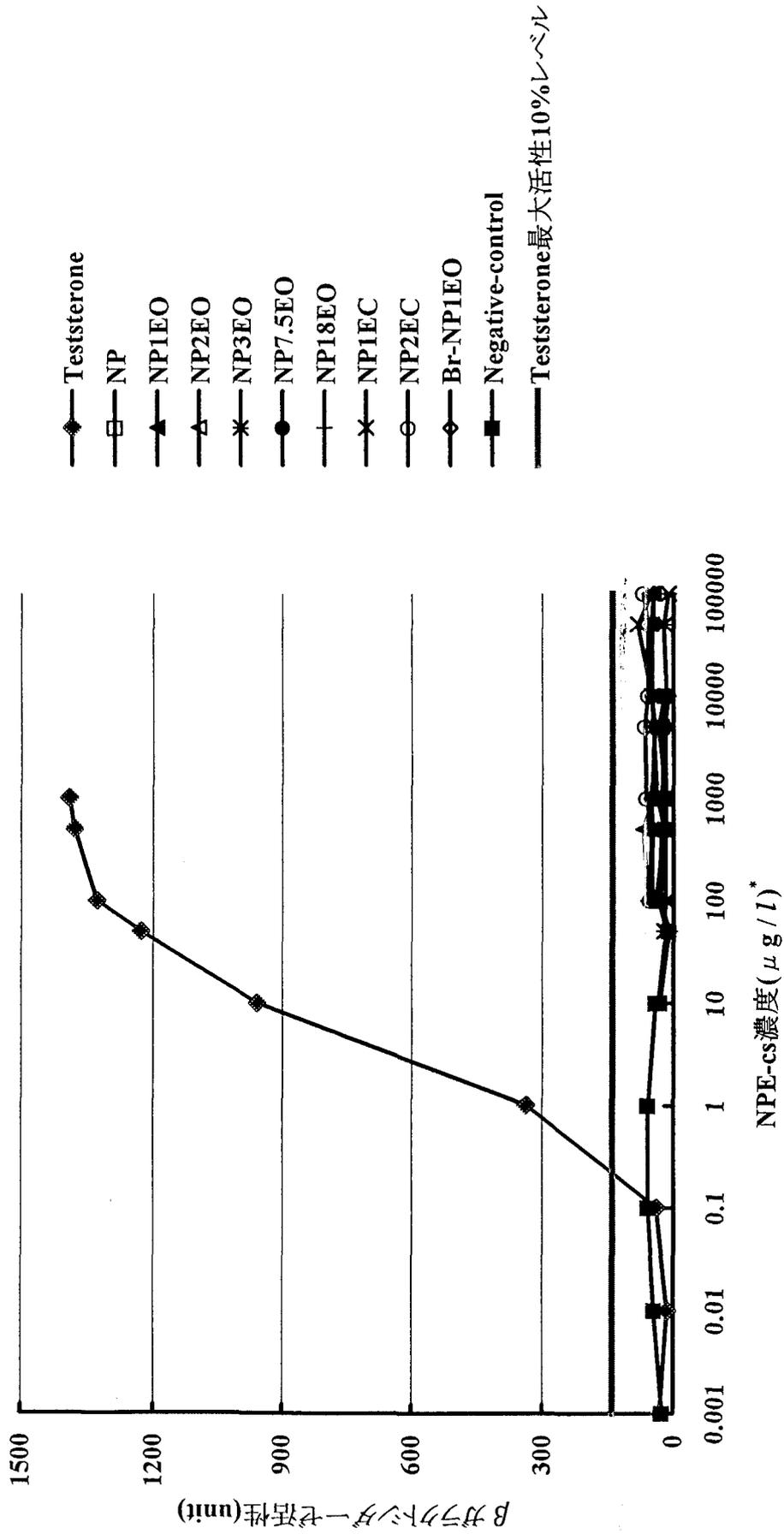


図3-6 アンドロゲン様活性測定における各種NPE-CSの用量反応曲線  
\*アッセイ系における終濃度

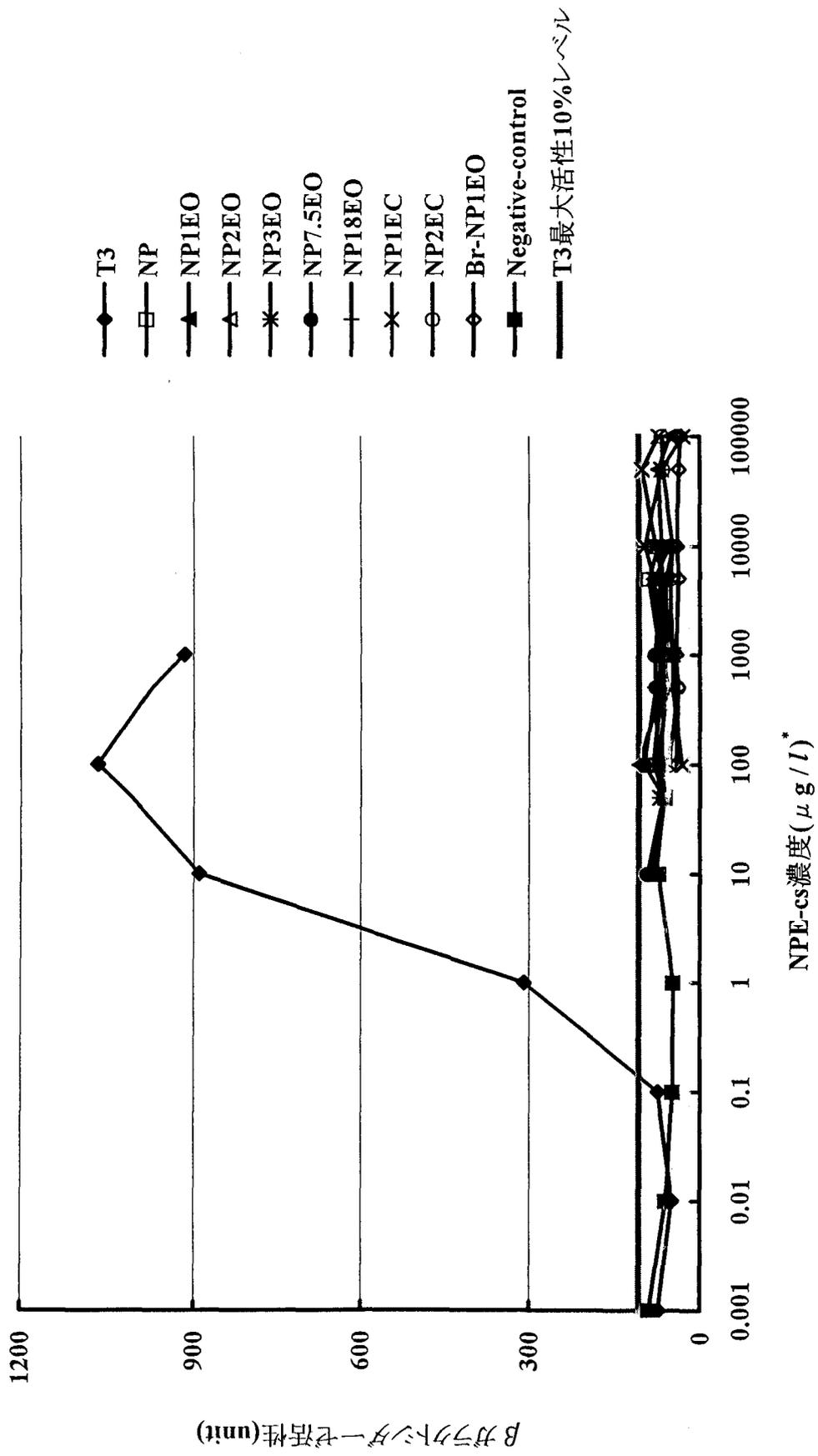


図3-7 甲状腺ホルモン様活性測定における各種NPE-esの用量反応曲線  
 \*アッセイ系における終濃度

表3-1 各種NPE-csのエストロゲン様活性

化学物質	エストロゲン様活性*	REC10** ( $\mu\text{g/l}$ )	RP***
E2	+	$1.7 \times 10^{-2}$	1
NP	+	$8.0 \times 10^1$	$2.1 \times 10^{-4}$
NP1EO	-	N.D.	-
NP2EO	-	N.D.	-
NP3EO	-	N.D.	-
NP7.5EO	-	N.D.	-
NP18EO	-	N.D.	-
NP1EC	-	N.D.	-
NP2EC	-	N.D.	-
Br-NP1EO	-	N.D.	-

エストロゲン様活性\* : +; 陽性, -; 陰性

REC10\*\* : E2の $\beta$ ガラクトシダーゼ活性の最大活性10%値に対応する被検化学物質の濃度

RP\*\*\* : E2の $\beta$ ガラクトシダーゼ活性を1とした場合のE2相対活性

表3-2 代謝活性化後(S9mix処理後)の各種NPE-csのエストロゲン様活性

化学物質	エストロゲン様活性*	REC10** ( $\mu\text{g} / \text{l}$ )	RP <sup>§</sup>
E2	+	5.14	$3.3 \times 10^{-3}$
NP	+	$1.4 \times 10^3$	$1.2 \times 10^{-5}$
NP1EO	+	$2.6 \times 10^3$	$6.5 \times 10^{-6}$
NP2EO	-	N.D.	-
NP3EO	-	N.D.	-
NP7.5EO	-	N.D.	-
NP18EO	-	N.D.	-
NP1EC	-	N.D.	-
NP2EC	-	N.D.	-
Br-NP1EO	-	N.D.	-

エストロゲン様活性\* : + ; 陽性, - ; 陰性

REC10\*\* : E2の $\beta$ ガラクトシトシダーゼ活性の最大活性10%値に対応する被検化学物質の濃度

RP<sup>§</sup> : S9mix処理を行っていないE2の $\beta$ ガラクトシダーゼ活性を1とした場合のE2相対活性

## 第4章 オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法、紫外線/酸化チタン法による NPE-cs の分解

### 第1節 緒言

ここまでの検討で、排水を介して下水処理場へ流入する非イオン界面活性剤親物質 NPnEOs は、標準活性汚泥法を始めとする生物学的処理、および処理水の塩素消毒処理によって、多様な NPE-cs に変換されるが<sup>1)4)</sup>、代謝産物の一部は、親物質 NPnEOs(n=8-12)と比較して高い生態毒性を有することが明らかとなった<sup>5)8)</sup>。従って、NPE-cs による水環境汚染を防止するため、これらの毒性の高い代謝産物の効果的な処理法の確立が急務であると言える。

NPnEOs の処理法に関する既往研究としては、NPnEOs(n=8-12)についてオゾン酸化法、オゾン/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法により分解されることが複数報告されている<sup>9)11)</sup>。しかしながら、代謝産物について検討した研究事例は極めて少なく<sup>11)</sup>、NPnEOs(n=1-3)、および NPnECs(n=1-3)に関してはこれまでのところ報告はなされていない。そこで、本章においてはリスクが高い NPE-cs である NP、NPnEOs(n=1-3)、NPnECs(n=1-3)の効果的な処理方法として、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法を適用する試みを行い、その分解を確認すると共に動力学的な検討を加えた。

### 第2節 実験方法

#### 1. 供試試薬の調整

NPE-cs として NP、NP1EO および NP1EC を分解実験の対象とした。本実験において用いた NPE-cs の化学構造は図 3-1 に示した通りである。また、供試試薬は第3章第2節1に従って調製した。

#### 2. 実験装置

##### (1)オゾン酸化法

図 4-1 に研究に用いたオゾン酸化システムの模式図を示した。システムは酸素ガスボンベ、オゾンナイザ(三菱電機社製 OS-1N)、マスフローコントローラ(大倉電機製 HMSU2091B)、リアクタ(有効

容積 1.5l)から構成され、余剰オゾン計測用の KI 溶液(和光純薬製 3%溶液)タンクと廃オゾン処理用の活性炭吸着装置(和光純薬製オゾン分解用セカード)が装備されている。NP、NP1EO および NP1EC の分解実験においては、オゾナイザを供給酸素ガス圧 0.7 kgf/cm<sup>2</sup>、発生器電圧 54W に設定して運転を行った。NP、NP1EO、NP1EC は、リン酸緩衝液(pH=7)に初期濃度として 0.2~3.2 mg/l となるように数段階に変化させて添加し、これをリアクタに投入した(1.2l)。実験は、オゾナイザにより生成されたオゾン化空気をリアクタ底部の散気球から 0.03l/min で通気し、経時的に通気を停止してサンプルを採取し、抽出・分析に供した。

## (2) 紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法

図 4-2 に紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法のシステム模式図を示した。リアクタには有効容積 700 ml の遮光性ガラス円筒容器を用い、中央部に内径 26mm の石英管を設置して内部に紫外線ランプ(波長: 253.4nm, 4W)を挿入し、また底部から攪拌子により攪拌を行った。NP、NP1EO、NP1EC の分解実験においては、紫外線/過酸化水素法による場合には、過酸化水素水(三菱化学(株))を約 500mg/l となるように添加し、紫外線/酸化チタン法による場合には、酸化チタン粉末(日本アエロジル(株)製 Degusa P-25)を終濃度が 2g/l となるように添加した後に、底部に設置した散気球を用い、エアポンプにより 2~3l/min の流量で空気を送気してリアクタ内へ酸素供給を行った。NP、NP1EO、NP1EC は第 2 節 2.(1)に準じて 700 ml の溶液として調製し、分解実験に供した。経時的に紫外線ランプを消灯、紫外線/酸化チタン法においてはランプ消灯に加えて酸素供給を停止した後にサンプルを採取し、抽出・分析に供した。

## 3. 試料水からの NPnEOs の代謝産物の抽出

試料水中の NP、NP1EO、NP1EC は、第 2 章第 2 節 3 に準じ、ジエチルエーテルにより液液抽出を行った。サンプル 5ml に対し等量(v/v)のジエチルエーテルを添加し、Vortex mixer で 30 秒攪拌の後、往復振とう器にて 120rpm で 15 分間振とうし、遠心分離機(コクサン社製 H-103N)にて 1500rpm で 10 分間遠心分離した。遠心分離後、予め用意した無水硫酸ナトリウムを充填したパスツールピペットを用いてエーテル相を回収し、エーテル相に対し窒素ガスを吹き付けて濃縮した。NP、

NP1EO については濃縮したサンプルをヘキサン/アルコール混合溶液(v/v=9/1)に再溶解させた。また、NP1EC については酢酸エチルにて再溶解の後、メタノールおよびトリメチルシリルジアゾメタン 10%ヘキサン溶液を加えて誘導体化(メチル化)させた。再溶解、あるいはメチル化させたサンプルをガスクロマトグラム質量分析(GC/MS)<sup>12)</sup>に供した。

#### 4. 分析方法

##### (1) 機器分析法

試料水より抽出された NP、NP1EO、NP1EC は、第 2 章第 2 節 4 に従い、GC/MS による定量・定性分析を実施した。

##### (2) 酵母 Two-hybrid 法

NP の紫外線/過酸化水素法による分解に伴うエストロゲン様活性の変化を、第 3 章第 2 節 2 に記述した酵母 Two-hybrid 法<sup>13)</sup>により評価した。試料は第 2 節 3 において抽出したサンプルを 1,4-ジメチルスルオキシド(DMSO)に再溶解させたものであり、試料のエストロゲン様活性の評価を、陽性対照物質である E2 の濃度とβ-ガラクトシダーゼ活性との関係を示す用量反応曲線を基準として行った。即ち、E2 の用量反応曲線においてβ-ガラクトシダーゼの最大活性の 10%値を求め、試験した試料の濃度範囲で 10%値を越えなかった場合には、エストロゲン様活性がない(陰性)ものとみなした。

### 第 3 節 実験結果

#### 1. NPE-cs 分解の経時変化

図 4-3~5 はオゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による NPE-cs の分解曲線を各々表わしたものである。各種処理法において、供試した NP、NP1EO、NP1EC が何らかの分解を受けたことが確認された。また、分解実験の結果から、本条件においては紫外線/過酸化水素法による代謝産物の分解効率が最も高く、次いでオゾン酸化法、最後に紫外線/酸化チタン法の順であることが明らかになった。

## 2. NPE-cs の分解に伴う分解産物の生成に関する検討

オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法のいずれによっても NP、NP1EO、NP1EC が分解されることは明らかになったが、これは必ずしも二酸化炭素や水への完全分解を示したのではなく、何らかの分解産物が生成し、また蓄積している可能性も考えられたため、GC/MS 分析のトータルイオンクロマトグラフを経時的に比較し、特定の産物が生じていないかを調べた。図 4-6 に一例として紫外線/酸化チタン法による NP1EC 処理前後の GC/MS トータルイオンクロマトグラフの比較を示した。図に示された様に、NP1EC のピークの減少が示され、その分解は確認されたが、新たに特定のピークが生じることはなかった。また、他の処理によるいずれの NPE-cs の分解においても同様の結果が示され、この分析の範囲では分解産物は検出下限値以下であった。

## 3. NP 分解におけるエストロゲン様活性の変化

第 3 節 2 で特定の分解産物の生成・蓄積は確認されなかったが、これは処理によって NPE-cs による毒性リスクを低減出来たことを必ずしも示すものではない。そこで、酵母 Two-hybrid 法でエストロゲン様活性の検出が可能であった NP について、分解過程における活性の変化をモニターした。例として NP(4.8mg/l)の紫外線/過酸化水素法処理におけるエストロゲン様活性の変化を調べた結果を示した(図 4-7)。処理の進行に伴って NP のエストロゲン様活性の明らかな低下が認められ、約 3 分後にはエストロゲン様活性 negative のレベルとなった。このことから、少なくとも NP の分解においては、エストロゲン様作用の強い物質の生成はなく、処理によってリスクが低減されたことが確認されたものと言える。

## 4. NPE-cs 分解の動力学的解析

オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による NPE-cs の分解に関する動力学的解析を行った。多様な動力学モデルを適用して解析を行ったが、各種処理法における NP、NP1EO、NP1EC の分解実験においては、代謝産物がいずれの初期濃度においても対数的に減少しており、また、その勾配は初期濃度に関わらずほぼ同様の値を示したことから、分解反応は 1 次反応で最も良く表現されることが明らかとなった。この解析結果を図 4-8~10 に示している。また、

全実験の平均値として得られた1次反応速度定数( $-\log C/C_0=kt$ ; C:処理物質濃度,  $C_0$ :処理物質初期濃度, t:分解時間, k:1次反応速度定数で定義)の算出結果を表4-1に示す。現時点において、算出した1次反応速度定数の大小関係から、オゾン酸化法および紫外線/過酸化水素法においてはNP1EC>NP>NP1EOの順、紫外線/酸化チタン法ではNP>NP1EO>NP1ECの順で高い分解効率が得られたものと言え、処理法によって代謝産物の分解効率が異なっていることが明らかとなった。

#### 第4節 考察

##### 1. オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法によるNPE-csの分解

下水処理場より排出されるNP、NP1EO、NP1ECについてオゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による分解を試み、これらの化学物質の分解を確認するに至ったのは、本研究が初めてである。しかし、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による代謝産物の分解経路の詳細については、明らかにすることが出来なかった。

水野らは、オゾン酸化法およびオゾン/過酸化水素法による親物質NPnEOs( $n \equiv 10$ )の分解が、主に分子状のオゾンによって行われ、芳香環の開裂に伴ない生成する分解産物はさらに低分子化され、最終的には酢酸が生成するものと推察している<sup>10)</sup>。また、Pellzzettiらは、紫外線/酸化チタン法によるNPnEOsの分解においては、芳香環の開裂およびOHラジカルによるEO鎖の酸化が先ず行われるとしており、酸化物や、ポリエチレングリコール、エチレングリコールと言った低分子化された分解産物の生成の後、分解産物は最終的に二酸化炭素にまで完全分解されるものと考察している<sup>11)</sup>。本研究においては、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法によるNP1EO、NP1ECの分解が確認されたものの、分解に伴って生成する分解産物の存在を確認するには至らなかった。従って、各処理法におけるNP1EO、NP1ECの分解経路を推定することは出来ないが、水野ら、およびPellzettiらの研究事例から、NPnEOs親物質と類似構造を有するNP1EO、NP1ECの分解は類似のメカニズムによって行われたものと考えている。一方、紫外線/酸化チタン法によるNPの分解を試みた堀越らは、NPが初期段階に急激に酸化チタン表面に水酸基を中心に吸着し芳香環の開裂、無機化が進行するが、ノニル基側のCO<sub>2</sub>への無機化が遅いことを報告している<sup>14)</sup>。本研究においても、NPがオゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法により分解す

ることを確認しており、やはり同様のメカニズムによる分解が行われたものと推測される。

紫外線/過酸化水素法においてはNPの分解に伴うエストロゲン様活性の低下が認められた。

NP1EO、NP1ECに対しては同様のアッセイを行っていないが故、これらについては明確なことは言及出来ないが、NPの分解により生成が予測される分解産物はリスクの低い化学物質であることが示唆された(図4-7)。オゾン酸化法や紫外線/酸化チタン法においては、NPと同様エストロゲン様活性を有するビスフェノールA(BPA)、女性ホルモン17βエストラジオール(E2)の分解が可能であることと共に、分解に伴ってエストロゲン様活性が低減し、活性を有するような分解産物の生成が認められないことが報告されている<sup>15)16)</sup>。このことから、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法は、代謝産物の分解に対して有効であり、下水処理における有害化学物質のリスク低減に大きく貢献するものと期待された。

## 2. オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法におけるNPE-csの分解効率

オゾン酸化法並びに紫外線/過酸化水素法によるNPE-csの分解においては、NP1ECの分解効率が最も高くNP1EOの分解効率が最も低かったのに対し、紫外線/酸化チタン法においては、NPの分解効率が最も高く、NP1EO、NP1ECの分解効率が低いことが明らかとなった。

各処理法におけるNPE-csの分解反応が主にOHラジカルによる酸化反応であることにも関わらず、オゾン酸化法並びに紫外線/過酸化水素法、そして紫外線/酸化チタン法においてこの様な違いが現れたことについて明確な理由を示すことは出来ないが、オゾン酸化法並びに紫外線/過酸化水素法においてNP1ECの分解効率が最も高かったことについては、カルボン酸の存在下にある酸化反応においては一般的に多量のOHラジカルを生じやすく<sup>17)</sup>、これらのOHラジカルがNP1ECの分解に対し促進的に作用したことによるとも解釈できる。

しかしながら、この推察は紫外線/酸化チタン法におけるNPE-csの分解においては当てはまっていない。本法においては、供試したNPE-csの中で疎水性の高いものほど分解効率が高くなっており、酸化反応が酸化チタン粒子表面において行われることを考慮に入れると、NPE-csの酸化チタン粒子への付着の程度が高いものほど効率良く分解されたものとも考えられた。

本研究においては、各処理法に関する最適化が完全には行われていなかったが、処理法間におい

て NPE-cs の分解効率に関し違いが認められたことから、NPE-cs の組成が様々に異なる下水処理水に対しては、その組成に応じて適正な処理法を選択することが重要であると考えられた。

### 3. オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による NPE-cs の分解に関する動力学的検討

オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による NPE-cs の分解反応は 1 次反応であることが明らかとなった。神谷らは、オゾン酸化法による NP の分解反応が 1 次反応に従うことを明らかにしている<sup>19)</sup>。また、水野らもオゾン酸化法およびオゾン/過酸化水素法による非イオン界面活性剤 NPnEOs の分解反応も擬 1 次反応で表現されることを報告している<sup>10)</sup>。本研究においても、これらの既知研究と類似の動力学的解析の結果が得られたことになる。ここで算出した代謝産物の 1 次反応速度定数は、これらの処理法を実用化する上で、プラント設計の諸元を与える有用なパラメーターになるものと期待される。

## 第 5 節 要約

本研究により、下水処理場より排出されている NPE-cs である NP、NP1EO、NP1EC がオゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法により分解されることが明らかとなった。

各処理法による NPE-cs の分解に伴ない分解産物の生成が予想されたが、本研究の分析の範囲では存在の確認に至らなかったことから、代謝産物の完全分解が行われた可能性も示された。また、NP のエストロゲン様活性が negative のレベルにまで減少したことも確認されたことから、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法が NPE-cs の分解に対し極めて有効であり、そのリスク低減に大きく貢献するものと期待された。ここで、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法においては、NPE-cs の分解効率に関し違いが認められたことから、含まれる代謝産物の組成に応じてこれらの処理法を選択することの重要性が示された。また、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による NP、NP1EO、NP1EC の分解反応は全て 1 次反応で従うことが明らかとなった。本実験により求められた反応速度定数を用いることで、合理的なプラント設計が行われるものと期待される。

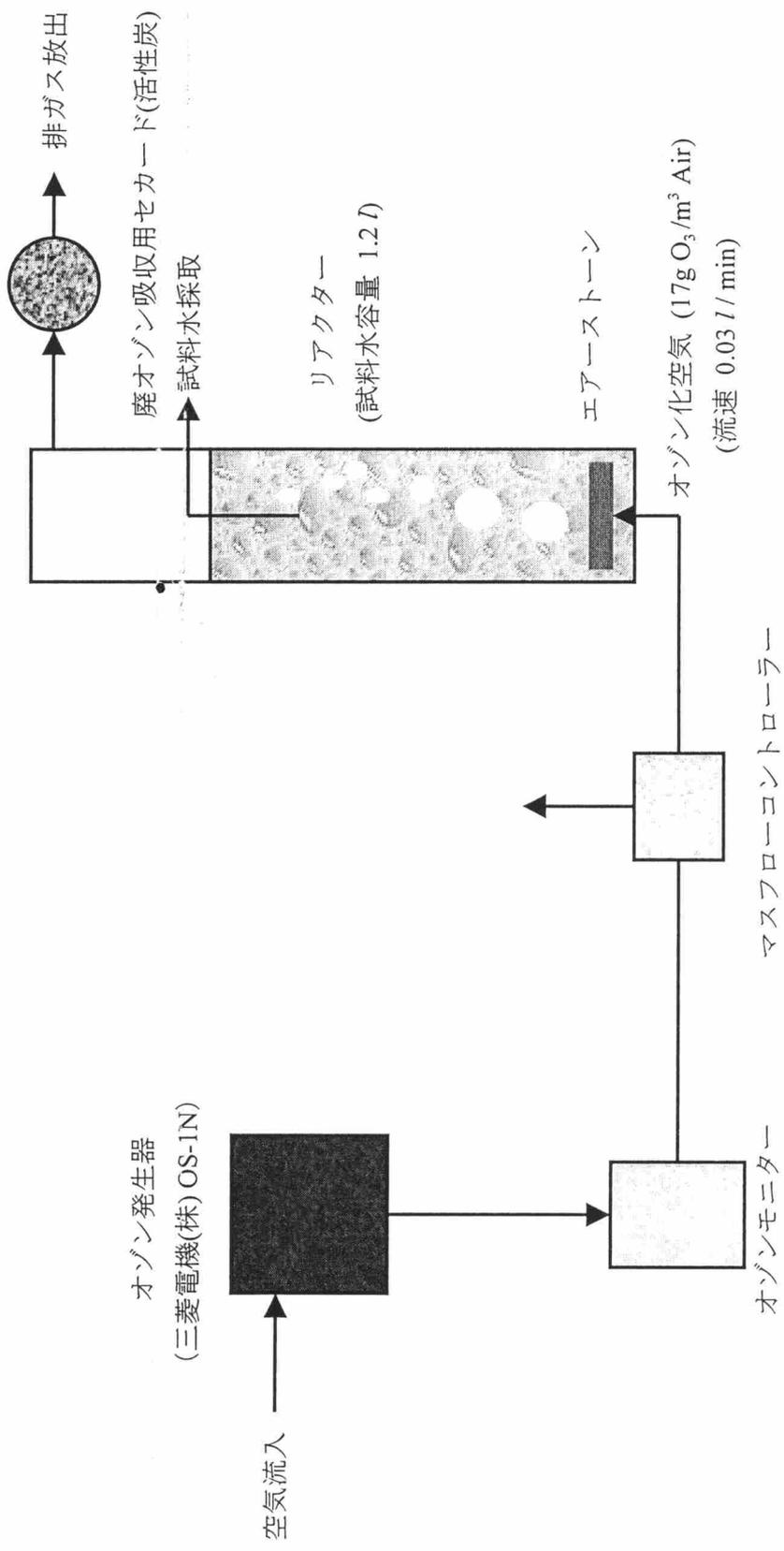


図 4-1 オゾン酸化法のシステム模式図

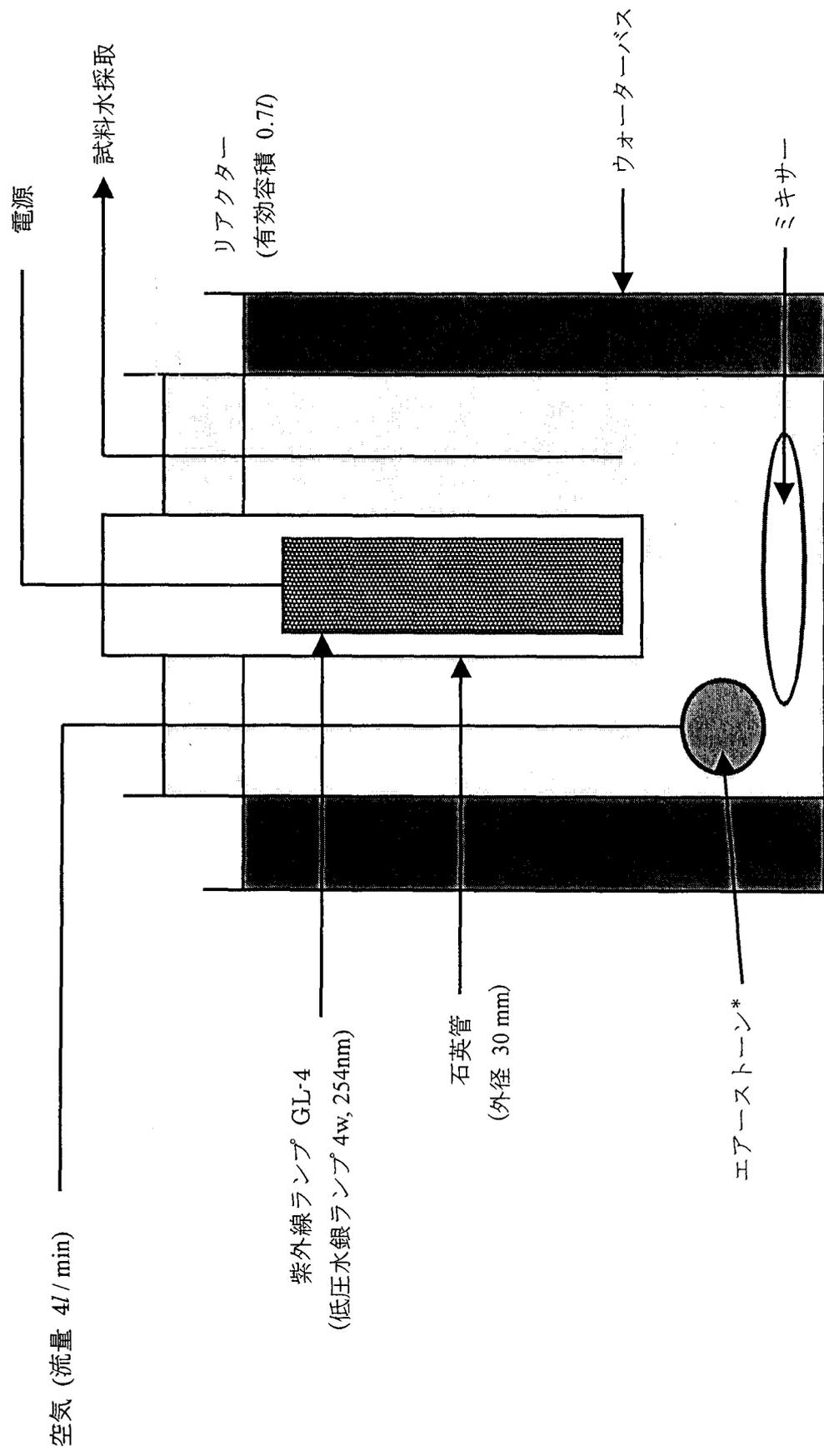


図 4-2 紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法のシステム模式図

\*エアーストーンは紫外線/酸化チタン法においてのみ使用

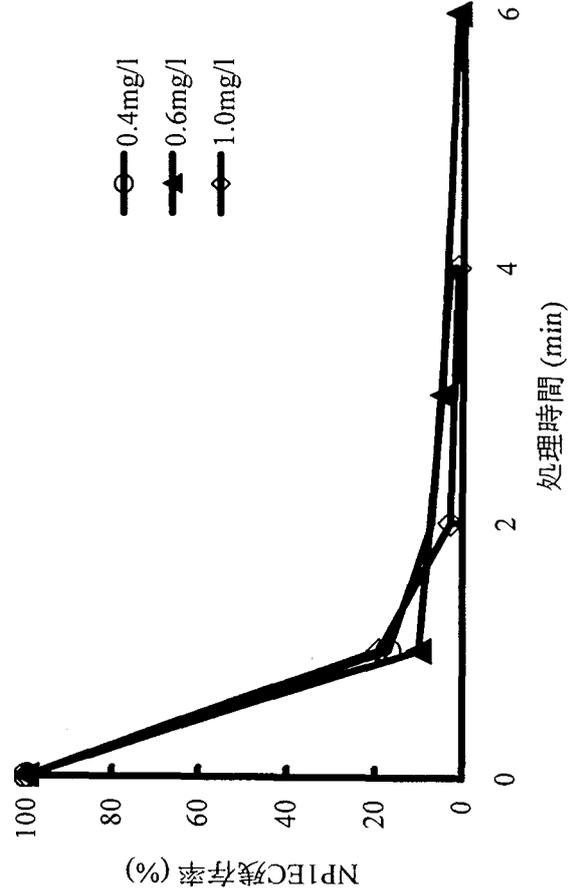
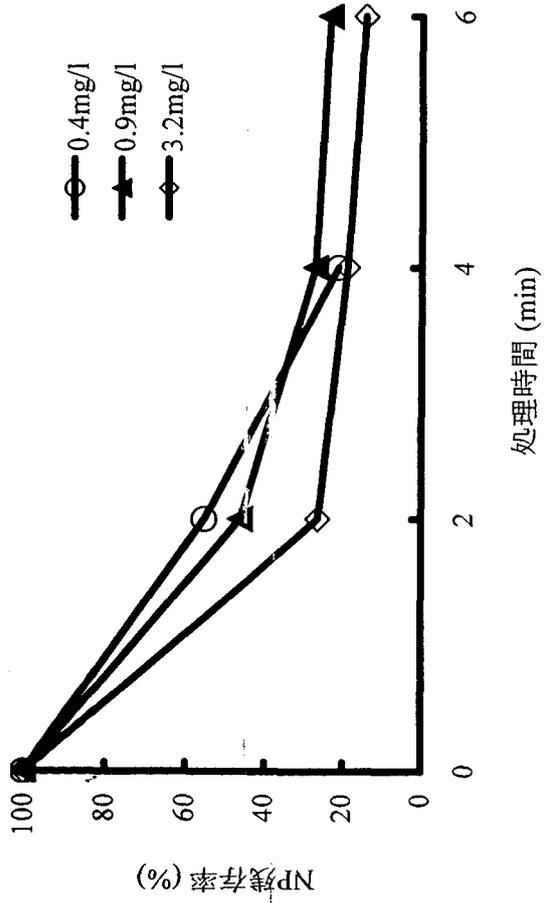
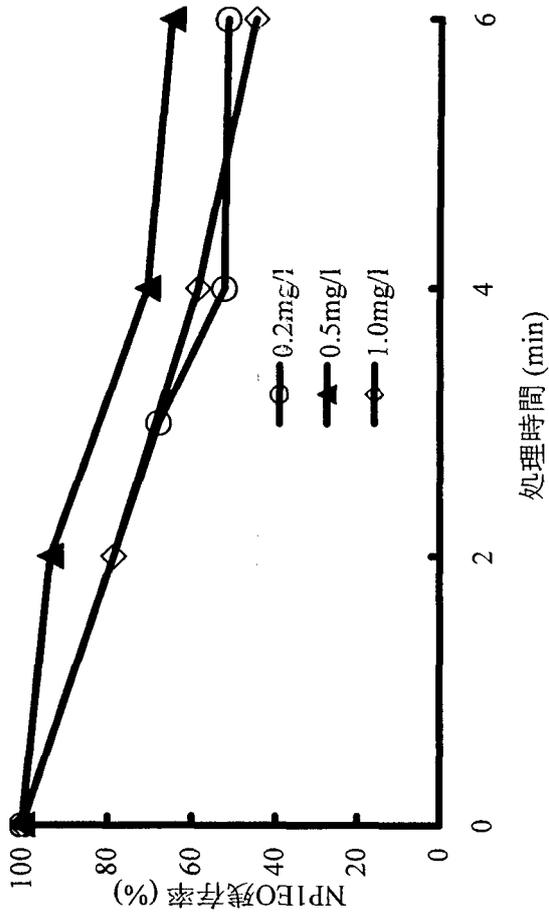


図4-3 オゾン酸化法によるNP1E-csの分解

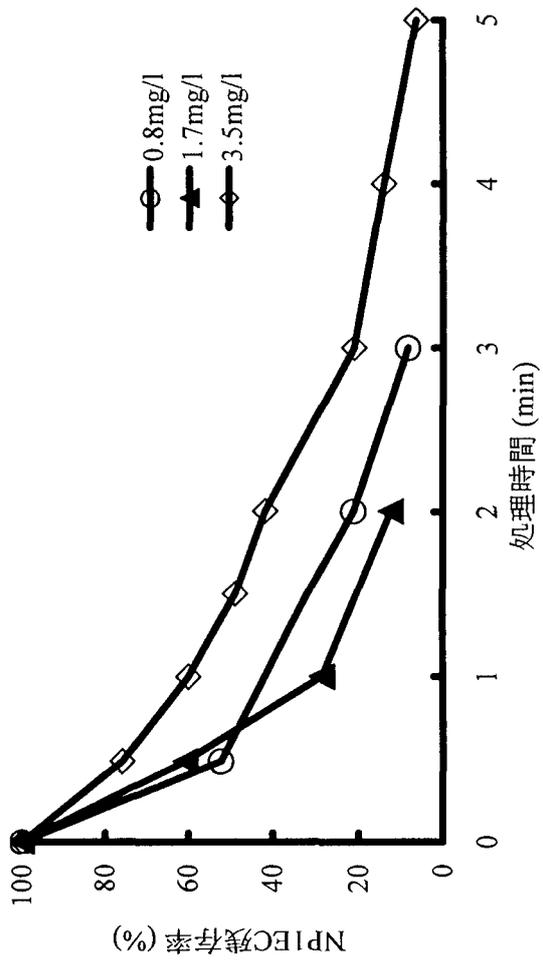
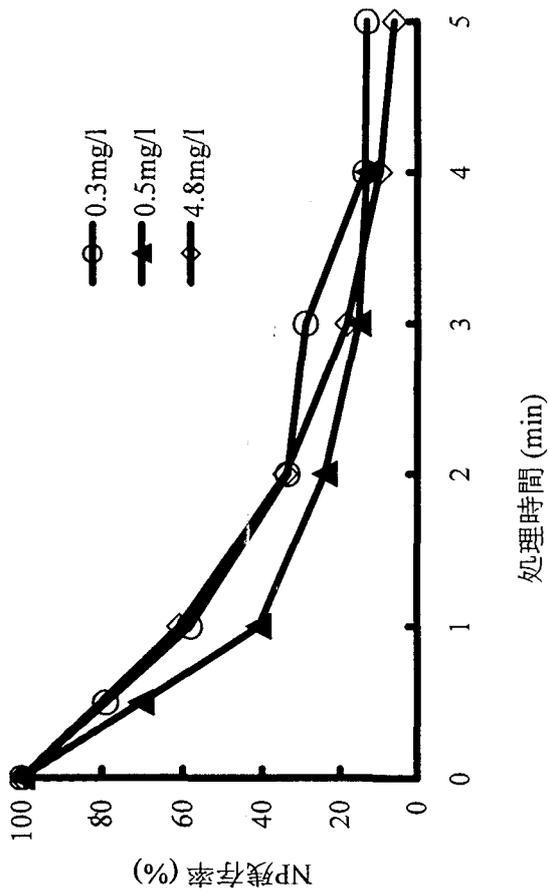
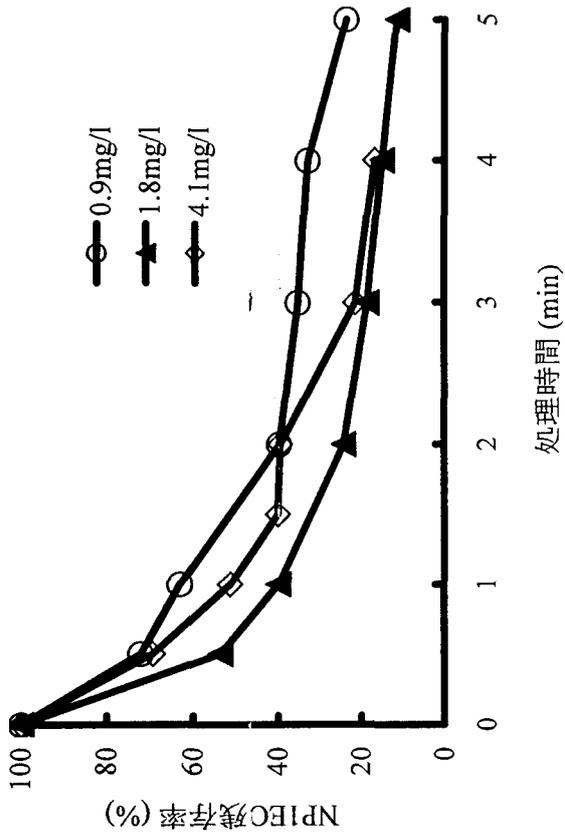


図4-4 紫外線/過酸化水素法によるNP1ECsの分解

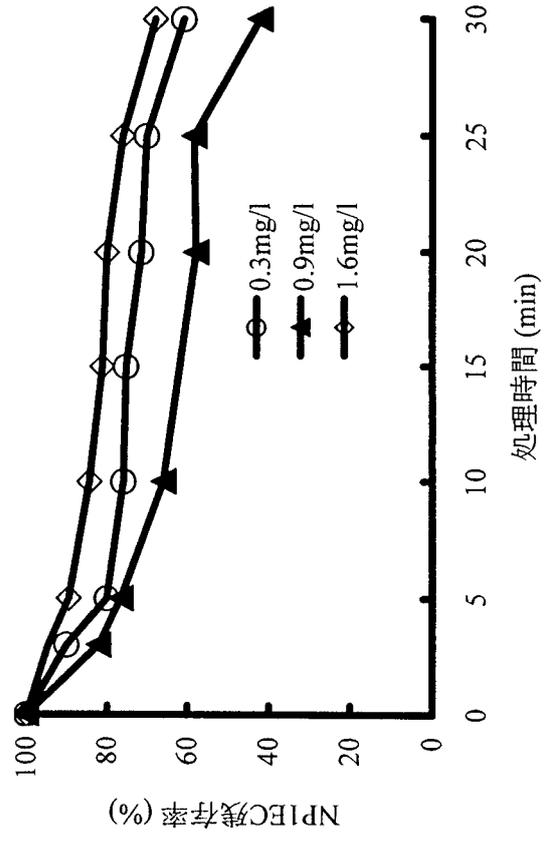
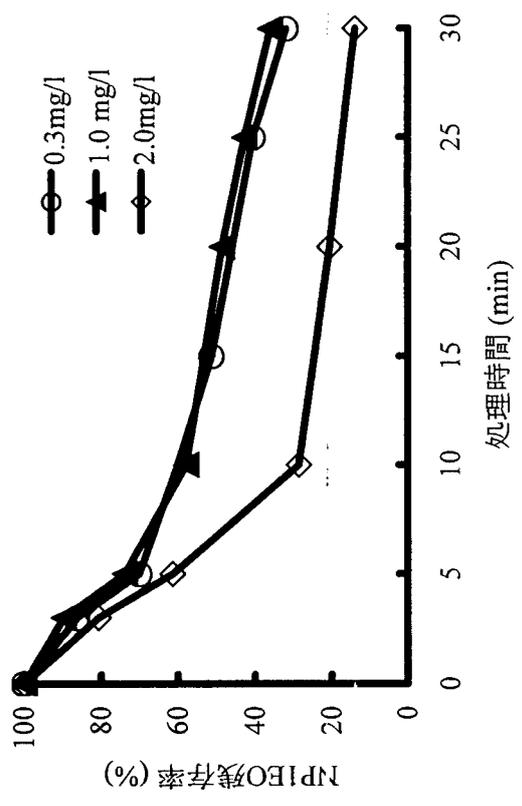
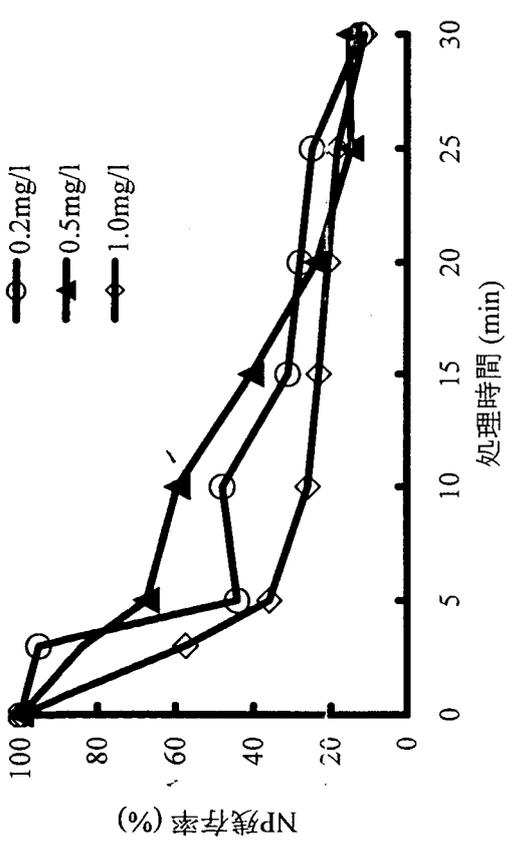


図4-5 紫外線/酸化チタン法によるNP1E-csの分解

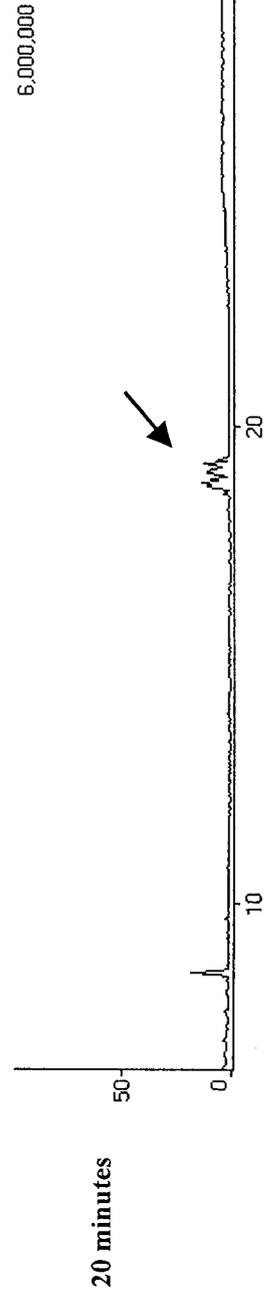
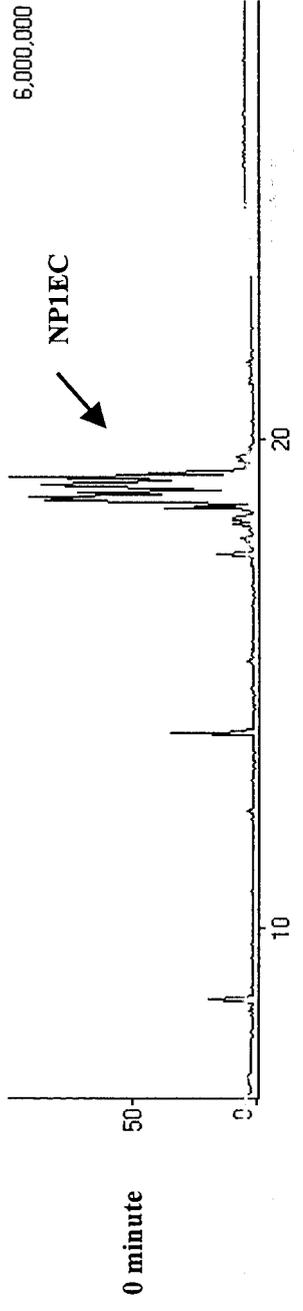


図 4-6 紫外線/酸化チタン法による NP1EC の分解に関する GC/MS トータルイオンクロマトグラム

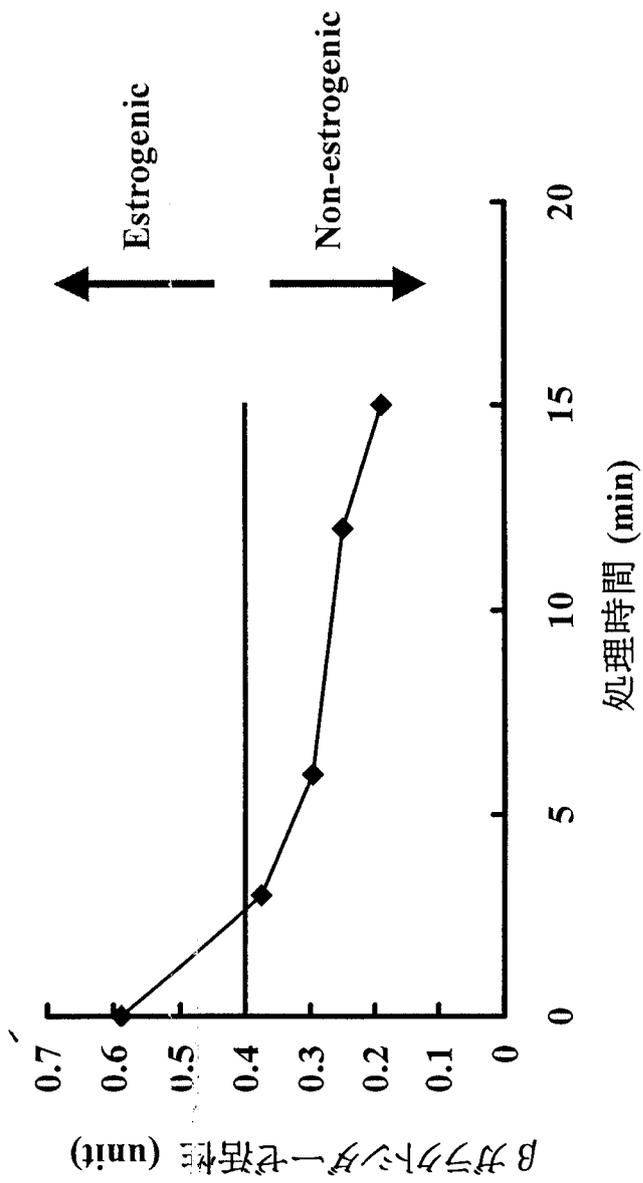


図 4-7 紫外線/過酸化水素法による処理に伴なう NP のエストロゲン様活性の変化

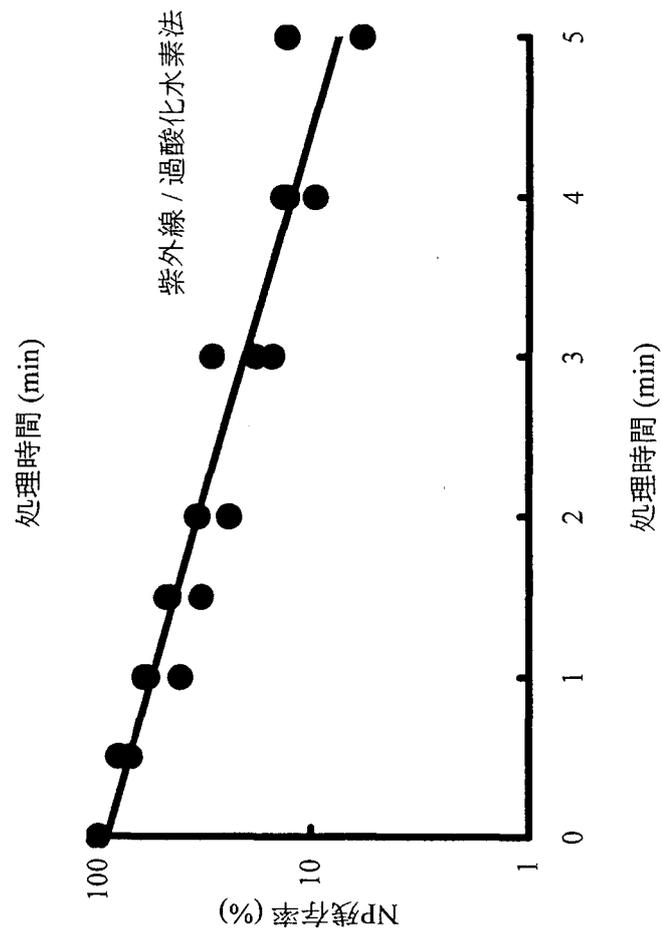
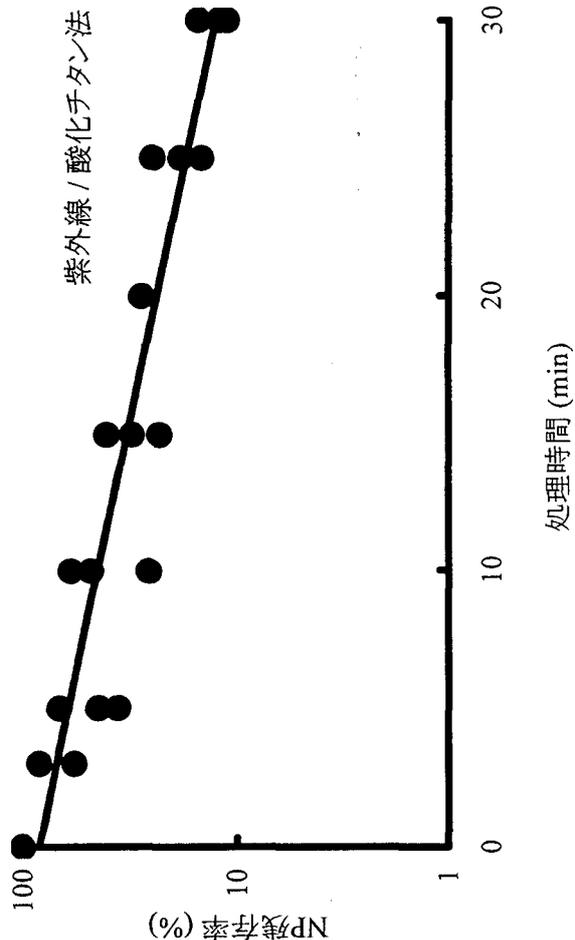
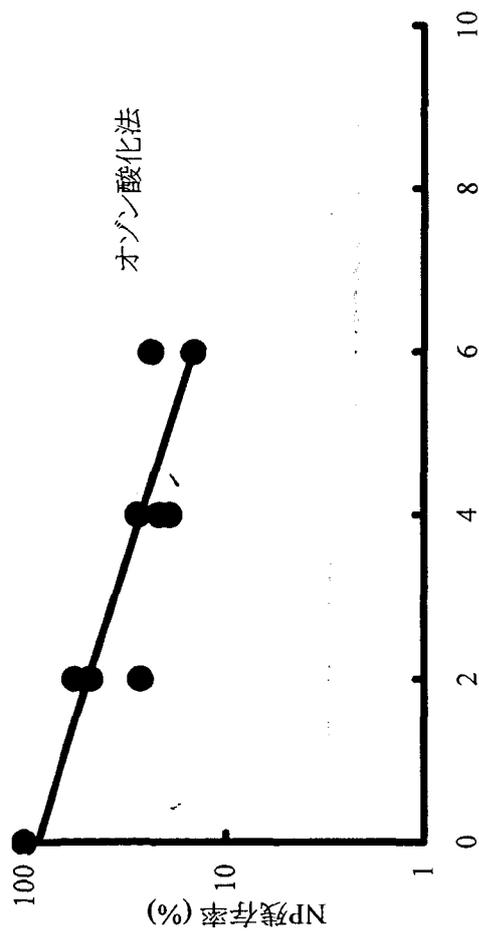


図4-8 各処理法によるNPの分解

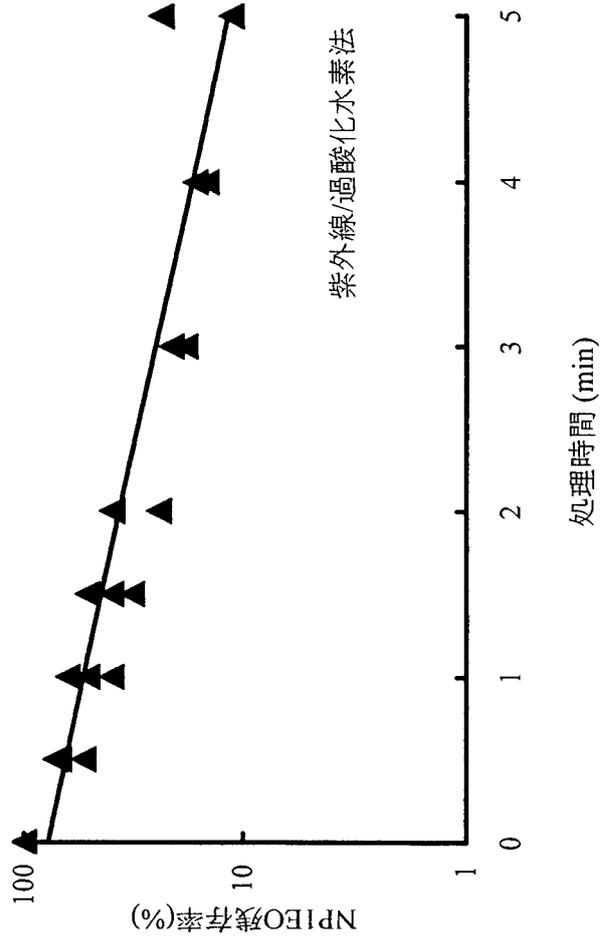
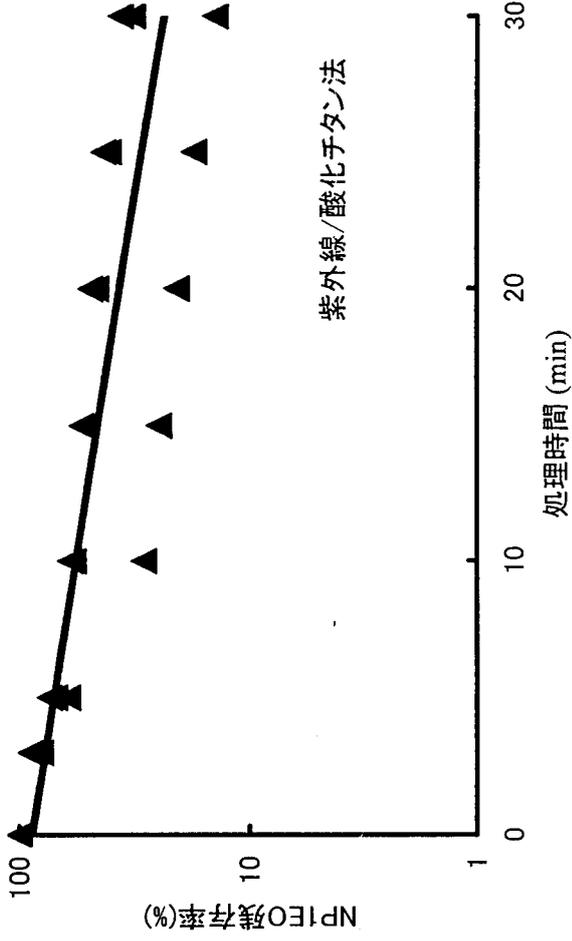
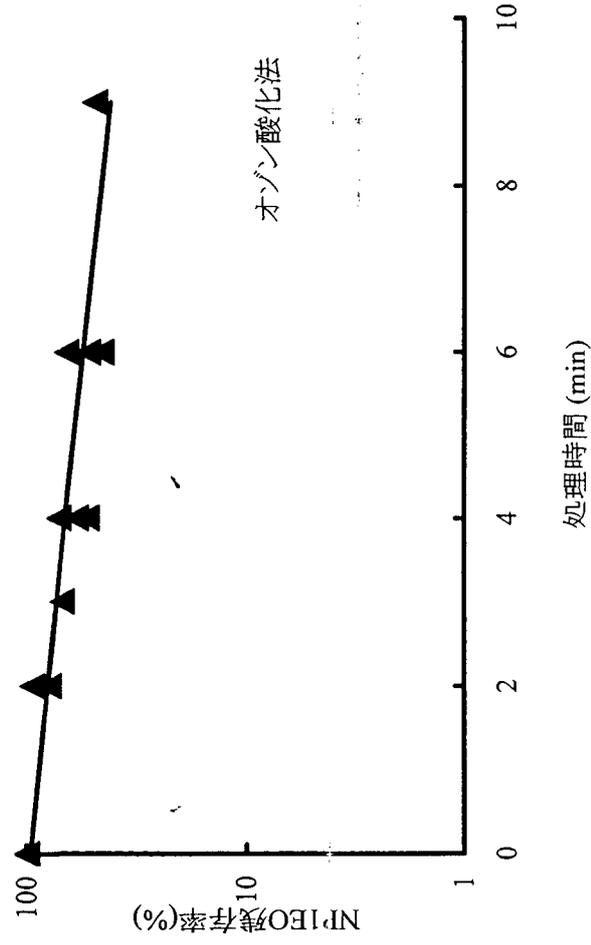


図4-9 各処理法によるNP1EOの分解

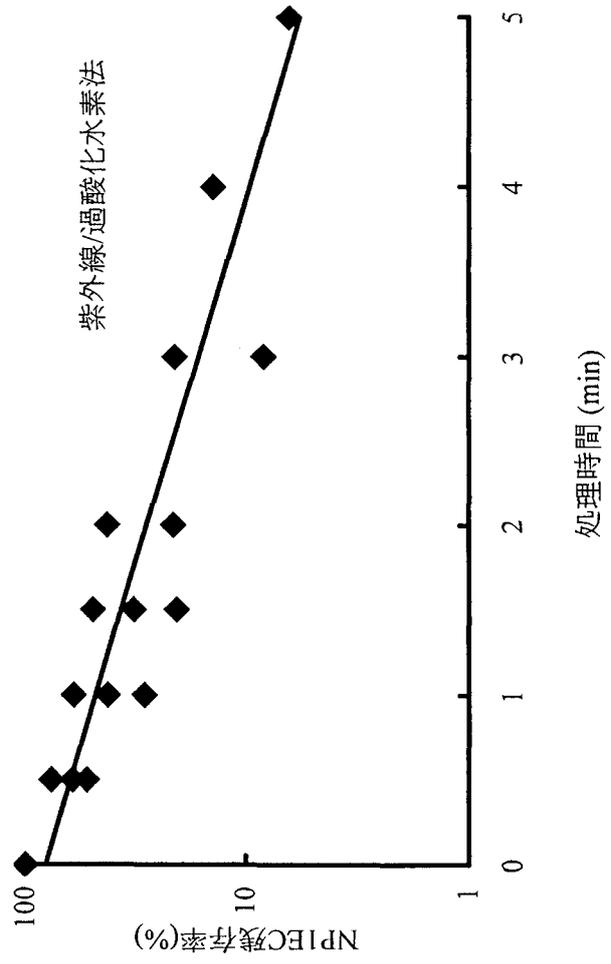
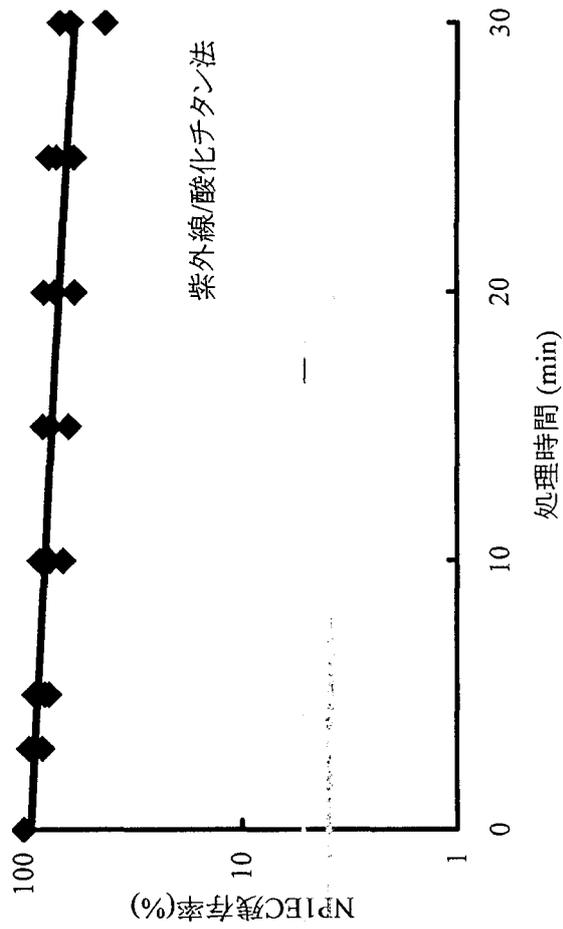
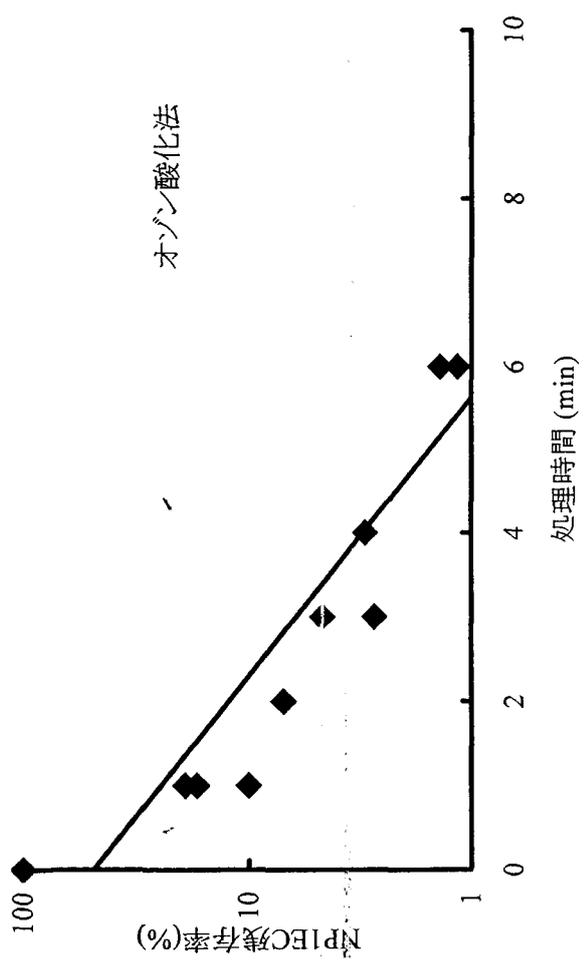


図4-10 各処理法によるNP1ECの分解

表 4-1 オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による NPnEOs の代謝産物の分解反応における 1 次反応速度定数( $\text{min}^{-1}$ )

代謝産物	オゾン酸化法	紫外線 / 過酸化水素法	紫外線 / 酸化チタン法
NP	0.349 ( $r^2 = 0.985$ )	0.498 ( $r^2 = 0.937$ )	0.062 ( $r^2 = 0.930$ )
NP1EO	0.092 ( $r^2 = 0.922$ )	0.422 ( $r^2 = 0.911$ )	0.044 ( $r^2 = 0.815$ )
NP1EC	0.804 ( $r^2 = 0.843$ )	0.545 ( $r^2 = 0.822$ )	0.016 ( $r^2 = 0.798$ )

$r^2$ , 相関係数

## 総括並びに結論

今日に至るまで、下水処理場は、さまざまな人間活動の後に生じる下廃水の放出による水域汚濁を防止する上で重要な役割を担ってきた。しかしながら、近年に見られる産業活動の高度化および生活水準の向上に伴ない、下廃水の汚染状況も多様化の兆しが見られ、従来の下水処理法によっては対処しきれない様々な問題が顕在化してきている。本研究において取り上げた非イオン界面活性剤 NPnEOs においても、下水処理を経てよりリスクの高い代謝産物に転換され、水環境中に放出されていることが既往研究によって報告されており、このことへの対応策を講じるにあたっては、先ず下水処理場における NPE-cs の挙動、およびそのリスクを詳細に把握し、リスクの高さが明らかとなった NPE-cs に対しては、その処理法についても検討する必要がある。

本論文においては、わが国の下水処理場における NPE-cs の挙動、およびそのリスクに関する調査を行い、リスクの高い NPE-cs については、その処理法の実用化を目指し、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法、および紫外線/酸化チタン法の適用による分解を試み、同時にその動力学について検討した。

第 1 章においては、下水処理場における NPE-cs の挙動とそのリスク評価、その高度処理に関する既往研究を概観することにより、以下のことが第 2 章からの各種基礎的検討を行う上での問題点(研究目的)であることを明確にした。

わが国の下水処理場においては、NPnECs(n=1-3)とハロゲン化物についての調査がほとんど実施されておらず、今後はこれらの物質を含めた調査を行い、下水処理場における NPE-cs の挙動をより詳細に把握していくことが重要になるものと考えられた。

また、NPE-cs が有するリスクについては、変異原性は有さないと推測され、急性毒性においては NP の毒性が最も高く EO 鎖の短鎖化に伴ない毒性が高まる傾向にあることが明らかにされているものの、内分泌攪乱性については未知の部分が残されていた。具体的には、ハロゲン化物のエストロゲン様活性や、NPE-cs の代謝活性化による変化がエストロゲン様活性に及ぼす影響、エストロゲン様活性以外の NPE-cs の内分泌攪乱性に関しては殆んど検討されておらず、これらの項目について検

討していく必要があると考えられた。

一方、NPE-cs の高度処理については、親物質 NPnEOs(n=8-12)についてはオゾン酸化法、オゾン/過酸化水素法、紫外線/酸化チタン法により分解されることが報告されているが、リスクの高い NPE-cs の分解に関する検討は、これまでのところ殆んど実施されておらず、ここでの課題とするべきと考えられた。

第2章においては、わが国における NPE-cs の挙動を出来る限り詳細に解明することを目指し、国内 40 箇所の下水处理場における NPE-cs の分布調査を行った結果をとりまとめ、各処理場において採用されている処理方式がその挙動に及ぼす影響についても考察を加えた。

本調査結果から、我が国においても普遍的に NPnEOs が下水処理場に流入しており、処理の過程で生じた代謝産物やハロゲン化物が水環境中に放出されていることが確認された。特に、これまでには必ずしも調査の対象となつてこなかった NPnECs やハロゲン化物も、FE 中から高頻度で検出されたことから、今後は調査対象に含めていくことが重要であることが明らかとなった。NPnEOs の下水処理場における除去率(NPE-cs として)は平均で約 70%であったが、その大部分が生物処理によつてることが明らかにされた。さらに、生物処理において標準活性汚泥法の変法である AO 法/A<sub>2</sub>O 法を採用している下水処理場においては、NPE-cs の除去効率がより高まることが示唆された。また、化学酸化、急速ろ過などの高度処理を導入している下水処理場においてもかなり高い NPE-cs 除去率が認められたことから、NPE-cs によるリスクを低減する上で、これらの処理の組み合わせが有効であるものと考えられた。

第3章においては、NPE-cs によるリスクをより正しく評価することを目的として、NPE-cs のうち特に、高頻度で検出される NP、NPnEOs(n=1-3)、NPnECs(n=1-2)および BrNP1EO について酵母 Two-Hybrid 法による内分泌攪乱性試験を実施し、代謝産物とそのハロゲン化物のエストロゲン様活性、代謝活性化に伴うエストロゲン様活性の変化およびエストロゲン様活性以外の内分泌攪乱性について考察した。

その結果、NP については有意なエストロゲン様活性が認められ、その活性は E2 相対活性にして

2.1×10<sup>-4</sup>であったが、他の化合物は、ここで初めて試験された BrNP1EO を含めてエストロゲン様活性陰性と判断された。体内での代謝活性化を模擬し、S9mix で処理した NPE-cs のエストロゲン様活性を測定したところ、NP のエストロゲン活性は 17.5 分の 1 に低下したが、一方、代謝活性化を行わなかった場合には活性が認められなかった NP1EO については有意な活性が生じ(E2 の 6.5×10<sup>-6</sup> の活性)、代謝活性化による NPE-cs の分解では、元の物質よりもエストロゲン様活性が弱い物質を生じるばかりでなく、よりエストロゲン様活性の強い物質も生成し得ることが示唆された。NPE-cs のエストロゲン様活性以外の内分泌攪乱性としてプロゲストロゲン様活性、アンドロゲン様活性、甲状腺ホルモン様活性を試験したが、何れの物質も有意な活性を示さなかった。

第 4 章においては、リスクが高い NPE-cs である NP、NP1EO、NP1EC の効果的な処理方法として、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法を適用する試みを行い、その分解を確認すると共に動力的な検討を加えた。

下水処理場より排出されている NP、NP1EO、NP1EC がオゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法により分解されることが確認された。各処理法による NPE-cs の分解に伴ない分解産物の生成が予想されたが、本研究の分析の範囲では存在の確認に至らなかったことから、代謝産物の完全分解が行われた可能性も示された。また、NP のエストロゲン様活性が negative のレベルにまで減少したことも確認されたことから、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法が NPE-cs の分解に対し極めて有効であり、そのリスク低減に大きく貢献するものと期待された。ここで、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法においては、NPE-cs の分解効率に関し違いが認められたことから、含まれる代謝産物の組成に応じてこれらの処理法を選択することの重要性が示された。また、オゾン酸化法、紫外線/過酸化水素法および紫外線/酸化チタン法による NP、NP1EO、NP1EC の分解反応は全て 1 次反応に従うことが明らかとなった。本実験により求められた反応速度定数を用いることで、合理的な処理プラント設計が行われるものと期待される。

本研究により、不明な部分の多かった下水処理場における NPnEOs の挙動の概要が明らかとなり、

また、処理系で生じる NPE-cs の内分泌攪乱性物質としてのリスクについて詳細な情報を得ることが出来た。さらにリスクの高い NPE-cs の処理法として、3 種の促進酸化法の適用が可能であることが示され NPnEOs のリスク管理の基本的戦略を提案することが出来た。今後は本戦略の実現に向けて、促進酸化法の最適化を行い、実用プロセスとして確立することが課題と言える。

## 参考文献

### 緒論

- 1) 日本水環境学会(水環境と洗剤研究委員会)編 : 非イオン界面活性剤と水環境-用途、計測技術、生態影響, 技報堂出版 (2000)
- 2) 小林勇 : よくわかる洗剤の話 基礎知識から汚染対策まで, 合同出版 (1989)
- 3) Fujita M. , Ike M. , Mori K. , Kaku H. , Sakaguchi Y. , Asano M. , Maki H. and Nishihara T. : Behavior of nonylphenol ethoxylates in sewage treatment plant in Japan -biotransformation and ecotoxicity-, *Wat. Sci. Technol.*, 42 , 23-30 (2000)
- 4) Giger W. , Brunner P.H. and Schaffner C. : 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants, *Science*, 225, 623-625 (1984)
- 5) Reinhard M. , Goodrich N. and Mortelmans K.E.: Occurrence of brominated alkylphenol polyethoxy carboxylates in mutagenic wastewater concentrates, *Environ. Sci. Technol.*, 16, 351-362 (1982)
- 6) Ventura F. , Figueras A. , Caixach J. , Espadaler I. , Romero J. , Guardiola J. and Rivera J. : Characterization of polyethoxylated surfactants and their brominated derivatives formed at the water treatment plant of Barcelona by GC/MS and FAB mass spectrometry, *Wat. Res.*, 22, 1211-1217 (1988)
- 7) Yoshimura K. : Biodegradation and fish toxicity of nonionic surfactants, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63, 1590-1596 (1986)
- 8) Hall W. S. , Patoczka J. B. , Miranda R. J. , Porter B. A. and Miller E. : Acute toxicity of industrial surfactants to *Mysidopsis bahia*, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 18, 765-772 (1989)
- 9) 環境庁 : 環境ホルモン戦略計画 SPEED'98 (1998)
- 10) 朝日新聞 : 8月3日付 (2001)
- 11) Routledge E.J. and Sumpter J.P. : Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 241-248 (1996)

### 第1章

- 1) Giger W. , Brunner P. H. and Schaffner C. : Persistent organic chemicals in sewage effluents : 1. Identifications of nonylphenol and nonylphenolethoxylates by glass capillary gas chromatography/mass spectrometry, *Chemosphere*, 10 , 1253-1263 (1981)
- 2) Kubeck E. and Naylor C.G. : Trace analysis of alkylphenol ethoxylates, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 400-405 (1990)
- 3) Sole M. , Lopez De Alda Maria J. , Castillo M. , Porte C. , Ladegaard-Pedersen K. and Barcelo D. : Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from the Catalonian area (NE Spain), *Environ. Sci. Technol.*, 34, 5076-5083 (2000)
- 4) Di Corcia A. , Cavallo R. , Crescenzi C. and Nazzari M. : Occurrence and abundance of dicarboxylated metabolites of nonylphenol polyethoxylates surfactants in treated sewage, *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3914-3919 (2000)
- 5) Ahel M. , Giger W. : Determination of alkylphenols and alkylphenol mono- and diethoxylates in environmental samples by high-performance liquid chromatography, *Anal.Chem.*, 57, 1577-1583 (1985)

- 6) Ahel M. , Giger W., Schaffner C. : Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment- II, Occurrence and transformation in sewage treatment, *Wat. Res.*, 28, 1131-1142 (1994)
- 7) Field J. A. , R.L.Reed : Nonylphenol polyethoxy carboxylate metabolites of nonionic surfactants in U.S. paper mill effluent, municipal sewage treatment plant effluents , and river waters, *Environ. Sci. Technol.*, 30, 3544-3550 (1996)
- 8) Bennie D.T. , Sullivan C.A., Lee H.-B. and Maguire R. J. : Alkylphenol polyethoxylate metabolites in Canadian sewage treatment plant waste streams, *Water Qual. Res. J. Canada*, 33, 231-252 (1998)
- 9) Planas C. , Guadayol J.M. , Droguet M. , Escalas A. , Rivera J. , Caixach J. : Degradation of polyethoxylated nonylphenols in a sewage treatment plants. Quantitative analysis by isotopic dilution – HRGC/MS, *Wat. Res.*, 36, 982-988 (2002)
- 10) Lee H.-B., Peart T.E.: Occurrence alkylphenoxyacetic acids in Canadian sewage treatment effluents, *Water Qual. Res. J. Canada*, 33, 19-29 (1998)
- 11) Di Corcia A. , Samperi R. , Marcomini A. : Monitoring aromatic surfactants and their biodegradation intermediates in raw and treated sewages by solid-phase extraction and liquid chromatography, *Environ. Sci. Technol.*, 28, 850-858 (1994)
- 12) Ahel M. , Conrad T. , Giger W. : Persistent organic chemicals in sewage effluents.3.Determinations of nonylphenoxy carboxylic acids by high-resolution gas chromatography/mass spectrometry and high-performance liquid chromatography, *Environ. Sci. Technol.*, 21, 697-703 (1987)
- 13) Brunner P.H. , Capri S. , Marcomini A. , Giger W. : Occurrence and behavior of linear alkylbenzene sulfonates, nonylphenol, nonylphenol mono- and nonylphenol diethoxylates in sewage sludge treatment, *Wat. Res.*, 22, 1465-1472 (1988)
- 14) Krestak R.and Ahel M. : Occurrence of toxic metabolites from nonionic surfactants in the Krka River estuary, *Ecotoxicology and Environmental Safety.*, 28, 25-34 (1994)
- 15) Naylor C.G. : Environmental fate and safety of nonylphenol ethoxylates, *Textile Chemist.Colorist*, 29-33 (1995)
- 16) Giger W. , Ahel M. , Koch M. , Lanbscher H.U. , Schaffner C. and Schneider J. : Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants and of nitrilotriacetate in sewage treatment, *Water Sci. Tech.*, 19,449-460 (1987)
- 17) Lee H.-B. , Peart T.E.: Determination of 4-nonylphenol in effluent and sludge from sewage treatment plants, *Anal.Chem.*, 67, 1976-1980 (1995)
- 18) Lee H.-B. , Peart T.E.: Occurrence and elimination of nonylphenol ethoxylates and metabolites in municipal wastewater and effluents, *Water Qual. Res. J. Canada*, 33, 389-402 (1998)
- 19) Stephanou E. , Giger W.: Persistent organic chemicals in sewage effluents-2. Quantitative determination of nonylphenols and nonylphenol ethoxylates by glass capillary gas chromatography, *Environ. Sci. Technol.*, 16, 800-805 (1982)
- 20) Blackburn M.A. , Waldock M.J. : Concentrations of alkylphenols in rivers and estuaries in England and Wales, *Wat. Res.*, 29, 1623-1629 (1995)
- 21) Lye C.M. , Frid C.L.J. , Gill M.E. , Cooper D.W. , Jones D.M.: Estrogenic alkylphenols in fish tissues, sediments, and waters from the U.K. Tyne and Tees estuaries, *Environ. Sci. Technol.*, 33, 1009-1014

(1999)

- 22) 田中宏明：水環境における内分泌攪乱化学物質の実態調査，水環境学会誌，22，629-632 (1999)
- 23) 栗林栄，岡本達也，後藤雅子：下水処理場における内分泌攪乱化学物質の挙動に関する研究，第38回下水道研究発表会講演集，219-221 (2001)
- 24) 小島節子，渡辺正敏：名古屋市内の水環境中のアルキルフェノールポリエトキシレート(APE)および分解生成物の分布，水環境学会誌，21，302-309 (1998)
- 25) 建設省：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)
- 26) Isobe T., Nishiyama H., Nakada N., Takada H.: Distribution of alkylphenols in aquatic environment in Tokyo, Japan, International Conference on Environmental Endocrine Disrupting Chemicals (2001)
- 27) 日本水環境学会[水環境と洗剤研究委員会]編：非イオン界面活性剤と水環境-用途、計測技術、生態影響，技報堂出版 (2000)
- 28) Rebecca R. : European bans on surfactants trigger transatlantic debate, *Environ. Sci. Technol.*, 31, 316a-320a (1999)
- 29) Ahel M., Molnar E., Ibric S. and Giger W. : Estrogenic metabolites of alkylphenol polyethoxylates in secondary sewage effluents and rivers, Proceedings of the 3<sup>rd</sup> IWA Specialized Conference on Hazard Assessment and Control of Environmental Contaminants., 25-32 (1999)
- 30) 鈴木基之，内海英雄：バイオアッセイ 水環境のリスク管理，講談社 (1998)
- 31) 阪口祐二：非イオン界面活性剤ノニルフェノールポリエトキシレート(NPE)およびその中間代謝物の水環境における挙動と生態影響の評価，大阪大学大学院工学研究科環境工学専攻修士論文 (2000)
- 32) Yoshimura K. : Biodegradation and fish toxicity of nonionic surfactants, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63, 1590-1596 (1986)
- 33) Staples C.A., Weeks J., Hall J. F. and Naylor C.G.: Evaluation of aquatic toxicity and bioaccumulation of C8- and C9-alkylphenol ethoxylate, *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, 2470-2480 (1982)
- 34) Dorn P.B., Salanitro J.P., Evans S.H. and Kravertz L. : Assessing the aquatic hazard of some linear and branched nonionic surfactants by biodegradation and toxicity, *Environ. Toxicol. Chem.*, 12, 1751-1762 (1982)
- 35) 牧秀明：非イオン界面活性剤アルキルフェノールポリエトキシレート(APE)およびその代謝中間体の下水処理場における消長，大阪大学大学院工学研究科環境工学専攻博士論文(1995)
- 36) Granmo A., Ekelund R., Magnusson K. and Berggren M. : Lethal and sublethal toxicity of 4-nonylphenol to the common mussel (*Mytilus edulis L.*), *Environ. Pollution*, 59, 115-127 (1989)
- 37) Comber M.H. I., Williams T.D. and Stewart K.M. : The effect of nonylphenol on *Daphnia magna*, *Wat. Res.*, 27, 273-276 (1993)
- 38) Soto A.M., Juticia H., Wray J.W. and Sonnenschein C. : p-Nonulphenol – an estrogenic xenobiotic released from “modified” polystyrene, *Environ. Health Perspect.*, 92, 167-173 (1991)
- 39) Jobling S., Sheahan D., Osborne J.A., Matthiessen P. and Sumpter J.P. : Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed estrogenic alkylphenolic chemicals, *Environ. Sci. Technol.*, 15, 194-202 (1996)
- 40) White R., Jobling S., Hoare S. A., Sumpter J.P. and Parker M.G. : Environmentally persistent

alkylphenolic compounds are estrogenic, *Endocrinology*, 135, 175-182 (1994)

- 41) Routledge E.J. , and Sumpter J.P. : Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 241-248 (1996)
- 42) Nishikawa J. , Saito K. , Goto J. , Dakeyama F. , Matsuo M. and Nishihara T. : New screening for chemicals with hormonal activities using interaction of nuclear hormone receptor with coactivator, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 154, 76-83 (1999)
- 43) Gray M. A. and Metcalfe C.D. : Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to p-nonylphenol, *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 241-248 (1996)
- 44) 最新高度水処理技術 排水処理から有害物質の除去技術まで, エヌ・ティ・エス (1999)
- 45) Tsuno H. , Yamada H. , Mizuno T. , Hidaka T. , Kosaka K. and Matsui S. : A study on the decomposition of non-ionic surfactants in aqueous solution during ozonation, Proceedings of the 14<sup>th</sup> Ozone World Congress, 237-250 (1999)
- 46) 水野忠雄, 山田春美, 津野 洋 : オゾンおよび過酸化水素併用処理におけるノニルフェノールエトキシレートの分解特性, 水環境学会誌, 25, 46-52 (2002)
- 47) Pellizzetti E. , Minerò C. and Maurino V. , Sclafani A. , Hidaka H. , Serpone N. : Photocatalytic degradation of nonylphenol ethoxylated surfactants, *Environ. Sci. Technol.*, 23, 1380-1385 (1989)

## 第2章

- 1) Fujita M. , Ike M. , Mori K. , Kaku H. , Sakaguchi Y. , Asano M. , Maki H. and Nishihara T. : Behavior of nonylphenol ethoxylates in sewage treatment plant in Japan -biotransformation and ecotoxicity-, *Wat. Sci. Technol.*, 42, 23-30 (2000)
- 2) Giger W. , Brunner P.H. and Schaffner C. : 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants, *Science*, 225, 623-625 (1984)
- 3) Reinhard M. , Goodman N. and Mortelmans K.E.: Occurrence of brominated alkylphenol polyethoxy carboxylates in mutagenic wastewater concentrates, *Environ. Sci. Technol.*, 16, 351-362 (1982)
- 4) Ventura F. , Figueras A. , Caixach J. , Espadaler I. , Romero J. , Guardiola J. and Rivera J. : Characterization of polyethoxylated surfactants and their brominated derivatives formed at the water treatment plant of Barcelona by GC/MS and FAB mass spectrometry, *Wat. Res.*, 22, 1211-1217 (1988)
- 5) Ahel M. , Giger W. and Koch M. : Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-I.Occurrence and transformation in sewage treatment plants, *Wat. Res.*, 28, 1131-1142 (1994)
- 6) 田中宏明 : 水環境における内分泌攪乱化学物質の実態調査, 水環境学会誌, 22, 629-632 (1999)
- 7) 小島節子, 渡辺正敏 : 名古屋市内の水環境中のアルキルフェノールポリエトキシレート(APE)および分解生成物の分布, 水環境学会誌, 21, 302-309 (1998)
- 8) 勢川利治, 山崎洋一, 中川公子, 山内啓二 : 下水処理場における内分泌攪乱化学物質の挙動に関する検討, 第36回下水道研究発表会講演集, 219-221 (1999)
- 9) 牧秀明 : 非イオン界面活性剤アルキルフェノールポリエトキシレート(APE)およびその代謝中間体の下水処理場における消長, 大阪大学大学院工学研究科環境工学専攻博士論文 (1995)
- 10) Marcomini A. and Giger W. : Simultaneous determination of linear alkylbenzenesulfonates,

- alkylphenol polyethoxylates, and nonylphenol by high-performance liquid chromatography, *Anal. Chem.*, 59, 1709-1715 (1987)
- 11) Ahel M. , Conrad T. and Giger W. : Persistent organic chemicals in sewage effluents-3. Determinations of nonylphenoxy carboxylic acids by high-resolution gas chromatography/mass spectrometry and high-performance liquid chromatography, *Environ. Sci. Technol.*, 21, 697-703 (1987)
  - 12) Ahel M. , Molnar E. , Ibric S. and Giger W. : Estrogenic metabolites of alkylphenol polyethoxylates in secondary sewage effluents and rivers, Proceedings of the 3rd IWA Specialized Conference on Hazard Assessment and Control of Environmental Contaminants., 25-32 (1999)
  - 13) Tanghe T. , Dhooge W. and Verstraete W. : Isolation of bacterial strain able to degrade branched nonylphenol, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 746-751 (1999)
  - 14) 藤井克彦, 浦野直人 : 内分泌攪乱化学物質ノニルフェノールを分解する細菌, *化学と生物*, 39, 63-70 (2001)
  - 15) Potter T.L. , Simmons K. , Wu J. , Sanchez-Olivera M. , KostECKI P. and Calabrese E. : Static die-away of a nonylphenol ethoxylate surfactant in estuarine water sample, *Environ. Sci. Technol.*, 33, 113-118 (1999)
  - 16) Di Corcia A. , Costantino A. , Crescenzi C. , Marinoni E. and Samperi R. : Characterization of recalcitrant intermediates from biotransformation of the branched alkyl side chain of nonylphenol ethoxylate surfactants, *Environ. Sci. Technol.*, 32, 2401-2409 (1998)
  - 17) Di Corcia A. , Cavallo R. , Crescenzi C. and Nazzari M. : Occurrence and abundance of dicarboxylated metabolites of nonylphenol polyethoxylate surfactants in treated sewages, *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3914-3919 (2000)
  - 18) Jonkers N. , Knepper T.P. and De Voogt P. : Aerobic biodegradation studies of nonylphenol ethoxylates in river water using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.*, 35, 335-340 (2001)
  - 19) John D.M. , House W.A. and White G.F. : Environmental fate of nonylphenol ethoxylates-Differential adsorption of homologs to components of river sediment, *Environ. Toxicol. Chem.*, 19, 293-300 (2000)
  - 20) Brown D. , de Henau H. , Garrigan J.T. , Gerike P. , Holt M. , Kunkel E. , Matthijs E. , Waters J. and Watkinson R.J. : Removal of nonionics in sewage treatment plants 2, *Tenside Surfactants Detergents*, 24, 14-19 (1987)
  - 21) Ike M. , Asano M. , Belkada F.D. , Tsunoi S. , Tanaka M. and Fujita M. : Degradation of biotransformation products of nonylphenol ethoxylates by ozonation and UV/TiO<sub>2</sub> treatment, Asian waterqual '01 Proceedings I of the 1<sup>st</sup> IWA Asia-Pacific Regional Conference., 635-640 (2001)
  - 22) 加来啓憲 : 非イオン界面活性剤ノニルフェノールポリエトキシレート(NPE)およびその中間代謝物の下水処理場における消長, 大阪大学大学院工学研究科環境工学専攻修士論文 (1999)

### 第3章

- 1) 朝日新聞 : 8月3日付 (2001)
- 2) Routledge E.J. and Sunpter J.P. : Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, *Environ. Toxicol. Chem.*, 15, 241-248 (1996)
- 3) Yoshihara S. , Makishima M. , Suzuki N. and Ohta S. : Metabolic activation of bisphenol A by rat liver S9 fraction, *Toxicol. Sci.*, 62, 221-227 (2001)
- 4) Nishikawa J. , Saito K. , Goto J. , Dakeyama F. , Matsuo M. and Nishihara T. : New screening for chemicals with hormonal activities using interaction of nuclear hormone receptor with coactivator, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 154, 76-83 (1999)
- 5) Marcomini A. , Corcia L.A. , Samperi R. and Capri S. : Reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of linear alkylbenzene sulphonates, nonylphenol polyethoxylates and their carboxylic biotransformation products., *J. Chromatogr.*, 644, 59-71 (1993)
- 6) 牧秀明 : 非イオン界面活性剤アルキルフェノールポリエトキシレート(APE)およびその代謝中間体の下水処理場における消長, 大阪大学大学院工学研究科環境工学専攻博士論文 (1995)
- 7) Nishihara T. , Nishikawa J. , Kanayama T. , Dakeyama F. , Saito K. , Imagawa M. , Takatori S. , Kitagawa Y. , Hori S. and Utsumi H. : Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay, *J. Health Science.*, 46, 282-298 (2000)
- 8) Metcalfe C. D. , Metcalfe T. L. , Kiparissis Y. , Koenig B. G. , Khan C. , Hughes R. J. , Croley T. R. , March R.E. and Potter T. : Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*), *Environ. Toxicol. Chem.*, 20, 297-308 (2001)
- 9) 川越保徳, 福永勲, 西川淳一, 西原力 : 酵母 Two-hybrid 法による埋立処分場浸出水のエストロゲン様活性の測定に関する検討, 第 10 回廃棄物学会研究発表会講演論文集, 928-930 (1999)
- 10) 斎藤正義, 高橋明宏, 矢古字靖子, 田中宏明: 組み替え酵母を用いた下水のエストロゲン様活性の測定-3 株の比較-, 第 38 回下水道研究発表会講演集, 169-171 (2001)
- 11) Soto A. M. , Sonnenschein C. , Chung K. L. , Fernandez M. F. , Olea N. and Serrano F. O. : The e-screen assay as a tool to identify estrogens - an update on estrogenic environmental pollutants, *Environ. Health Perspect.*, 103, 113-122 (1995)

#### 第 4 章

- 1) Fujita M. , Ike M. , Mori K. , Kaku H. , Sakaguchi Y. , Asano M. , Maki H. and Nishihara T. : Behavior of nonylphenol ethoxylates in sewage treatment plant in Japan -biotransformation and ecotoxicity-, *Wat. Sci. Technol.*, 42 , 23-30 (2000)
- 2) Giger W. , Brunner P.H. and Schaffner C. : 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants, *Science*, 225, 623-625 (1984)
- 3) Reinhard M. , Goodman N. and Mortelmans K.E.: Occurrence of brominated alkylphenol polyethoxy carboxylates in mutagenic wastewater concentrates, *Environ. Sci. Technol.*, 16, 351-362 (1982)
- 4) Ventura F. , Figueras A. , Caixach J. , Espadaler I. , Romero J. , Guardiola J. and Rivera J. : Characterization of polyethoxylated surfactants and their brominated derivatives formed at the water treatment plant of Barcelona by GC/MS and FAB mass spectrometry, *Wat. Res.*, 22, 1211-1217 (1988)

- 5) Yoshimura K. : Biodegradation and fish toxicity of nonionic surfactants, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63, 1590-1596 (1986)
- 6) Hall W.S. , Patoczka J.B. , Miranda R.J. , Porter B.A. and Miller E. : Acute toxicity of industrial surfactants to *Mysidopsis bahia*, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 18, 765-772 (1989)
- 7) 朝日新聞 : 8月3日付(2001)
- 8) Routledge E.J. and Stimpert J.P. : Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, *Environ. Toxicol. Chem.*, 15,241-248 (1996)
- 9) Tsuno H. , Yamada H. , Mizuno T. , Hidaka T. , Kosaka K. and Matsui S. : A study on the decomposition of non-ionic surfactants in aqueous solution during ozonation, *Proceedings of the 14<sup>th</sup> Ozone World Congress*, 237-250 (1999)
- 10) 水野忠雄, 山田春美, 津野 洋 : オゾンおよび過酸化水素併用処理におけるノニルフェノールエトキシレートの分解特性, *水環境学会誌*, 25, 46-52 (2002)
- 11) Pellizzetti E. , Minero C. and Maurino V. , Sclafani A. , Hidaka H. , Serpone N. : Photocatalytic degradation of nonylphenol ethoxylated surfactants, *Environ. Sci. Technol.*, 23, 1380-1385 (1989)
- 12) Ahel M. , Conrad T. and Giger W. : Persistent organic chemicals in sewage effluents-3. Determinations of nonylphenoxy carboxylic acids by high-resolution gas chromatography/mass spectrometry and high-performance liquid chromatography, *Environ. Sci. Technol.*, 21, 697-703 (1987)
- 13) Nishihara T. , Nishikawa J. , Kanayama T. , Dakeyama F. , Saito K. , Imagawa M. , Takatori S. , Kitagawa Y. , Hori S. and Utsumi H. : Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay, *J. Health Science*, 46, 282-298 (2000)
- 14) 堀越智, 渡辺奈津子, 日高久雄 : ノニルフェノールの光触媒酸化メカニズム, 第38回油化学討論会講演要旨集, 92 (1999)
- 15) 神谷俊行, 広辻淳二, 山内登起子, 藤田正憲 : 内分泌攪乱化学物質に対するオゾン処理の基礎特性, *下水道協会誌*, 39, 105-118 (2002)
- 16) Ohko I. , Ando I. , Niwa C. , Tatsuma T. , Yamamura T. , Nakashima T. Kubota Y. and Fujishima A. : Degradation of bisphenol A in water by TiO<sub>2</sub> photocatalyst, *Environ. Sci. Technol.*,35, 2365-2368 (2001)
- 17) 櫻井英樹 : 岩波講座 現代化学への入門 8-有機化合物の反応, 岩波書店 (2002)

## 謝辞

本研究の遂行と、本論文の作成にあたり、終始御懇篤なるご指導とご助言を賜りました大阪大学大学院 工学研究科 教授 藤田正憲博士に、心より感謝の意を表します。

また、本論文の査読並びに御校閲を賜り、その完成に多くの貴重なご助言を頂いた大阪大学大学院 工学研究科 教授 野島正朋博士、大阪大学大学院 工学研究科 教授 加賀昭和博士、大阪大学 保全科学研究センター 教授 田中稔博士、大阪大学大学院 工学研究科 助教授 池道彦博士に謹んで感謝の意を表します。

また、本研究に関して、終始御指導、並びに有益なご助言を頂きました富山県立大学短期大学部 助教授 立田真文博士、大阪大学大学院 工学研究科 技官 山岡ゆり子氏、同、事務補佐官 多胡知子氏に深謝致します。

さらに、御尽力、並びに有益なご助言を頂きました大阪大学大学院 工学研究科 助教授 益山新樹博士、北海道大学 触媒化学研究センター 鳥本司博士、独立行政法人 国立環境研究所 水圏環境部 牧 秀明博士、龍谷大学理工学部 教授 松下隆之博士、龍谷大学理工学部 教授 竺文彦博士に謹んで御礼を申し上げます。

なお、共同研究者として御尽力を賜りました、大阪大学保全科学研究センター 助手 角井伸次博士、株式会社日本フォトサイエンス 環境装置部 石山栄一氏、三菱電機先端技術総合研究所 山内登起子氏、同、中崎幸一氏、大阪大学大学院 工学研究科 加来啓憲氏、阪口祐二氏、Fadila Djouadi Belkada 氏、Nguyen Viet Hung 氏、石川修氏に深く感謝致しますと共に、本研究において直接間接のご協力を頂いた大阪大学大学院工学研究科第5講座の諸兄諸氏に厚く御礼申し上げます。

最後に、本研究活動に理解を示し、また終始多大なる支援を賜りました我が両親に心より感謝致します。

## 本研究に関する報文並びに学会発表

### 投稿論文

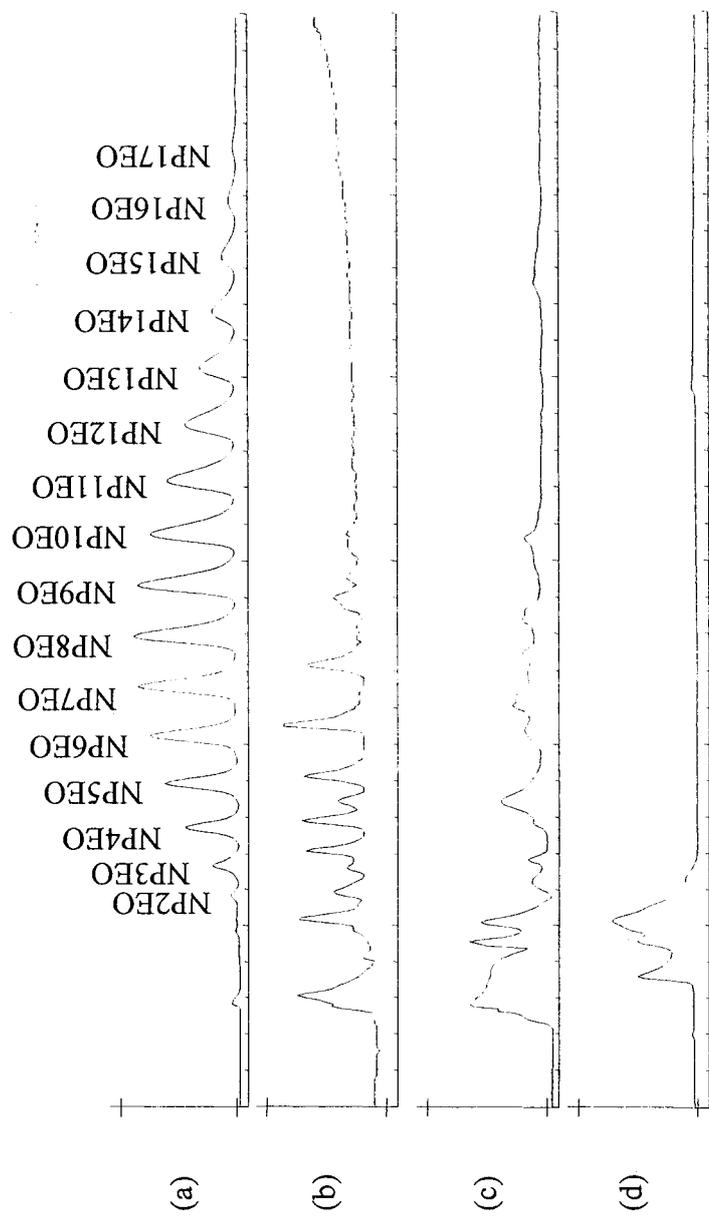
- 1) Fujita M. , Ike M. , Mori K. , Kaku H. , Sakaguchi Y. , Asano M. , Maki H. and Nishihara T. : Behaviour of nonylphenol ethoxylates in sewage treatment plants in Japan-biotransformation and ecotoxicity, *Wat. Sci. Technol.*, 42, 23-30 (2000)
- 2) Ike M. , Asano M. , Belkada F. D. , Tsunoi S. , Tanaka M. and Fujita M. : Degradation of biotransformation products of nonylphenol ethoxylates by ozonation and UV/TiO<sub>2</sub> treatment, *Wat. Sci. Technol.*, (印刷中)
- 3) Tateda M. , N. V. Hung, Kaku H. , Asano M. , Ike M. and Fujita M. : Development of a routine analytical procedure for nonylphenol polyethoxylates and their biodegradation products in sludge from sewage treatment plants, *Wat. Sci. Technol.* , 44, 101-106 (2001)
- 4) 浅野昌弘, 加来啓憲, 立田真文, 池道彦, 藤田正憲 : 下水処理場におけるノニルフェノールポリエトキシレートおよびその代謝産物の挙動, *環境技術*, 31, 393-402 (2002)
- 5) 浅野昌弘, 阪口祐二, 池道彦, 角井伸次, 田中稔, 藤田正憲 : 酵母 Two-hybrid 法によるノニルフェノールポリエトキシレート代謝産物の内分泌攪乱性の評価, *環境技術*, (印刷中)
- 6) Asano M. , Belkada F. D. , Ike M. , Tsunoi S. , Tanaka M. and Fujita M. : Comparative studies of ozonation, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UV/TiO<sub>2</sub> treatment of nonylphenol polyethoxylate metabolites, *Wat. Res.* (in preparation)

### 学会発表

- 1) 浅野昌弘, Belkada F.D. , 池道彦, 藤田正憲 : ノニルフェノールポリエトキシレート代謝産物の光触媒分解, 第 34 回日本水環境学会年会, 京都, 3 月 16 日-3 月 18 日(2000)
- 2) 浅野昌弘, 池道彦, 藤田正憲, 角井伸次, 田中稔, 阪口祐二 : 非イオン界面活性剤ノニルフェノールポリエトキシレート(NPE)およびその中間代謝物の生態毒性の評価, 第 35 回日本水環境学会年会, 岐阜, 3 月 14 日-3 月 16 日(2001)

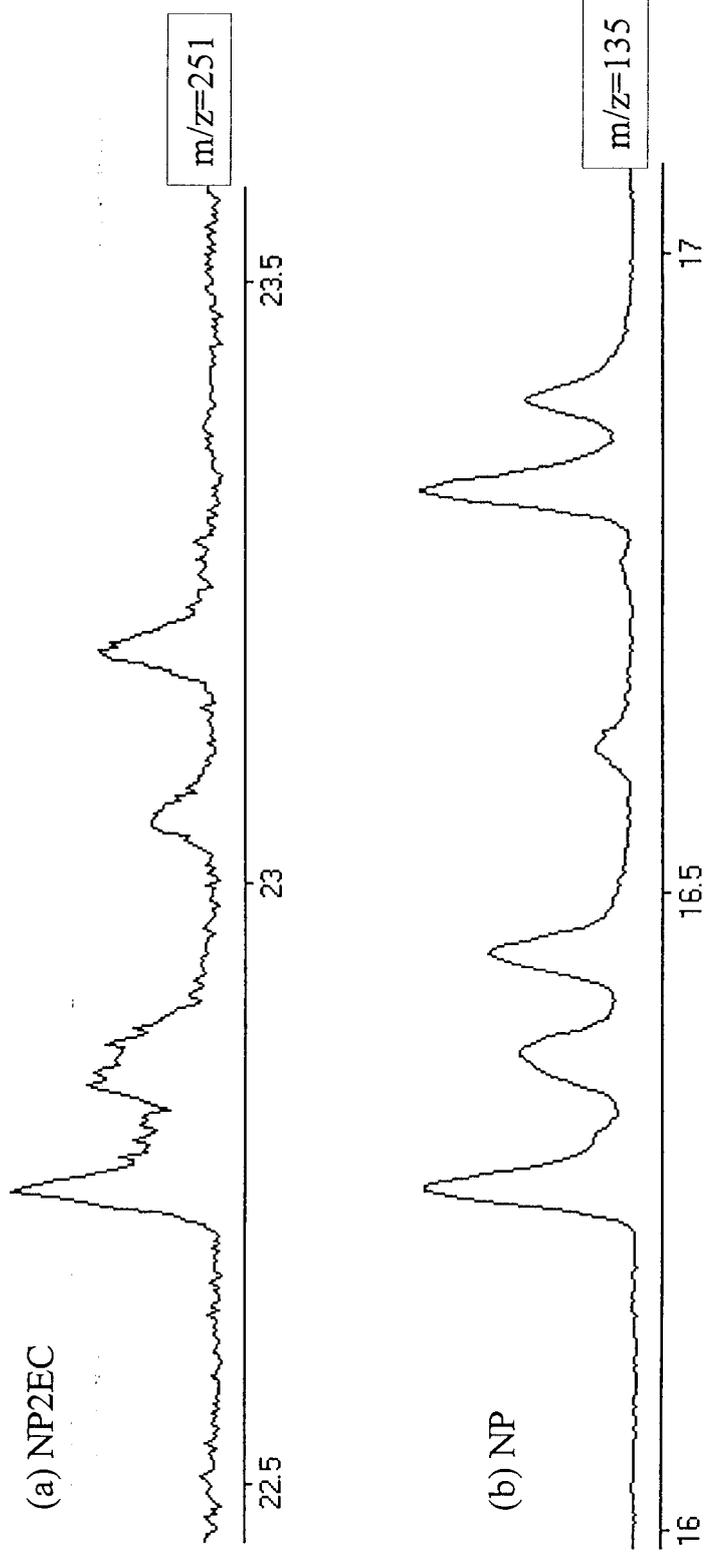
### その他

- 1) Belkada F. D. , Asano M. , Ike M. , Fujita M. : Biodegradation metabolites of alkylphenol polyethoxylate using ozonation, 第 34 回日本水環境学会年会講演集, p 396 (2000)
- 2) 池道彦, 浅野昌弘, 陳旻瑜, Belkada F.D. , 藤田正憲 : ノニルフェノールポリエトキシレート生分解代謝産物およびビスフェノール A の化学分解処理, 第 37 回日本下水道協会下水道研究発表会講演集, pp716-718 (2000)
- 3) 立田真文, 石川修, 浅野昌弘, N.V.Hung, 池道彦, 藤田正憲 : ノニルフェノールポリエトキシレート生分解代謝産物の下水汚泥への吸着, 脱着特性, 第 38 回日本下水道協会下水道研究発表会講演集, p854-856 (2001)
- 4) 立田真文, N.V. Hung, 石川修, 浅野昌弘, 池道彦, 藤田正憲 : ノニルフェノールポリエトキシレート生分解代謝産物の活性汚泥への吸着・脱着特性, 日本水処理生物学会誌別巻, 21, p71 (2001)



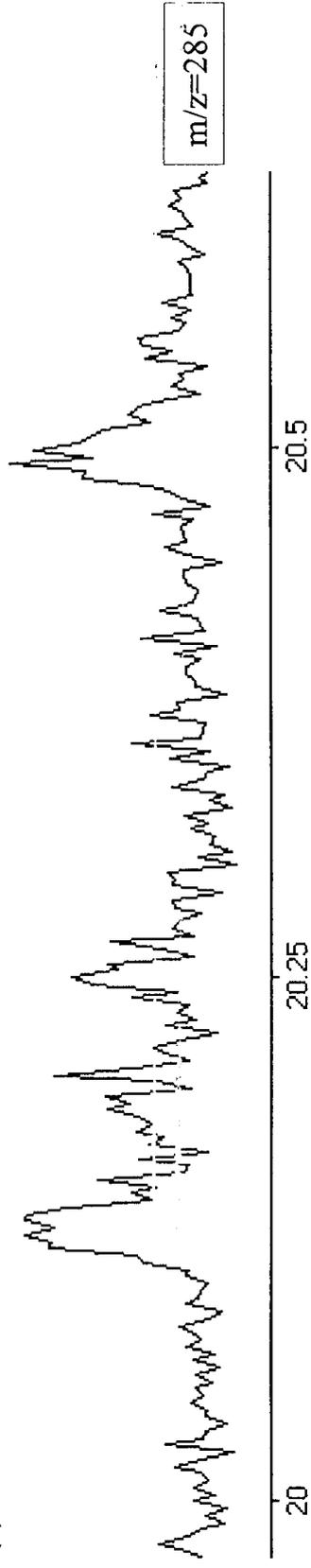
付録 図1 NPnEOs のHPLCクロマトグラム<sup>22)</sup>

(a) 親物質NPnEOs, (b) 初沈越流水(SE), (c) 終沈越流水(PE), (d) 滅菌放流水(FE)  
 \* (b)~(d)は下水処理場(No.15)において採取された下水からのNPnEOs抽出物

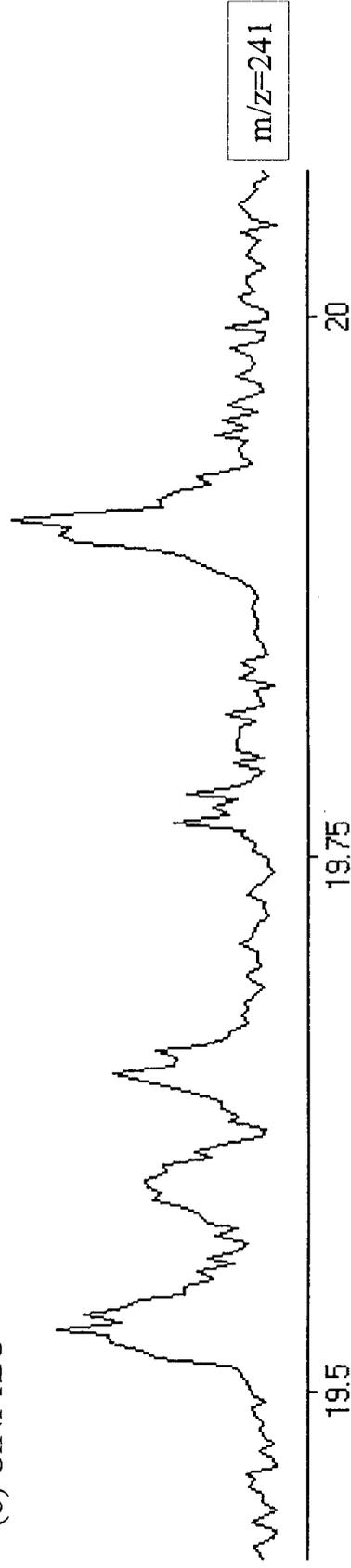


付録 図2-a 下水より検出されたNPE-csのGC/MS-SIMクロマトグラム  
 (a) NP2EC, (b) NP  
 \*(a),(b)は下水処理場(No.18)より採取された滅菌放流水(FE)

(a) BrNP1EC



(b) CINP1EC



付録 図2-b 下水中より検出されたNPE-csのGC/MS-SIMクロマトグラム.

(a) BrNP1EC, (b) CINP1EC

\* (a),(b)は下水処理場(No.37)より採取された滅菌放流水(FE)

付録 日本国内の下水処理場より採取された各種試料水中のNPPE-csの検出濃度(その1)\*

下水処理場 No.	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5				
NPE-cs	( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)								
<b>初沈越流水(PE)</b>									
NPnEO(n=4-18)	-	6.77	14.2	77.0	57.1	5.11	10.8	144	306
NPnEO(n=1-3)	-	3.51	9.96	8.23	24.5	5.31	16.6	63.1	185
NPnEC(n=1-3)	-	0.15	0.54	0.0824	0.296	1.78	6.37	3.12	11.2
総量	-	10.3	24.2	35.2	81.6	12.2	33.8	210	502
<b>終沈越流水(SE)</b>									
NPnEO(n=4-18)	0.124	0.309	N.D.	0.297	0.614	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NPnEO(n=1-3)	0.927	3.01	0.169	0.358	1.16	2.15	6.97	0.918	2.98
NPnEC(n=1-3)	12.4	39.9	N.D.	0.855	2.88	N.D.	N.D.	9.55	32.3
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	0.805	2.14	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	14.2	45.4	0.169	1.51	4.65	2.15	6.97	10.5	35.3
<b>滅菌放流水(FE)</b>									
NPnEO(n=4-18)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NPnEO(n=1-3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NPnEC(n=1-3)	8.47	26.2	1119	3543	1.63	5.55	N.D.	4.33	15.6
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	11.0	28.8	52.4	13.6	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	19.5	55	1171	3557	1.63	5.55	N.D.	4.33	15.6

\*下水処理場におけるNPPE及びその代謝中間体(NPE化合物)の濃度分布を改編<sup>22)</sup>

N.D. 検出下限値未満

付録 日本国内の下水処理場より採取された各種試料水中のNPE-csの検出濃度(その2)\*

下水処理場 No.	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10
NPE-cs	( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)				
<b>初沈越流水(PE)</b>					
NPnEO(n=4-18)	123	83.3	198	139	70.9
NPnEO(n=1-3)	22.4	29.8	56.7	74.9	80.8
NPnEC(n=1-3)	1.39	4.58	6.15	20.2	N.D.
総量	147	118	261	234	170
<b>終沈越流水(SE)</b>					
NPnEO(n=4-18)	409	256	117	78.4	217
NPnEO(n=1-3)	42.9	57.6	24.3	32.4	41.1
NPnEC(n=1-3)	1.6	5.41	8.51	28.0	29.7
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	454	319	150	139	288
<b>滅菌放流水(FE)</b>					
NPnEO(n=4-18)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NPnEO(n=1-3)	0.97	3.39	6.26	21.3	20.9
NPnEC(n=1-3)	0.93	3.13	2.64	8.89	14.9
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	1.9	6.52	8.9	30.2	35.8

\*下水処理場におけるNPnEO及びその代謝中間体(NPE化合物)の濃度分布を改編<sup>22)</sup>

N.D. 検出下限値未満

付録 日本国内の下水処理場より採取された各種試料水中のNPE-csの検出濃度(その3)\*

下水処理場 No.	No. 11 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)	No. 12 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)	No. 13 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)	No. 14 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)	No. 15 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)					
<b>NPE-cs</b>										
<b>初沈越流水(PE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	10.1	21.4	241	428	88.0	152	70.9	137	227	358
NPnEO(n=1-3)	10.7	32.3	N.D.	N.D.	27.0	102	21.6	70.6	26.2	87.9
NPnEC(n=1-3)	1.86	6.35	N.D.	N.D.	5.04	17.7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	20.8	53.7	241	428	120	272	92.5	207	253	446
<b>終沈越流水(SE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	7.13	13.6	232	361	108	187	80.8	143	N.D.	N.D.
NPnEO(n=1-3)	2.03	6.6	22.8	69.2	13.4	45.9	14.1	47.7	32.1	111
NPnEC(n=1-3)	3.39	10.9	0.268	0.857	18.2	56.2	2.55	7.67	3.83	11.4
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	1.25	4.18	N.D.	N.D.	3.83	12.6	1.39	4.65
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.18	0.486	0.631	1.7	1.43	4.02	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.506	1.37	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.101	0.271	N.D.	N.D.	0.852	2.21	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	0.128	0.58	3.9	17.7	1.17	5.33	0.303	1.38
総量	12.6	31.1	257	437	144	308	105	224	37.6	129
<b>滅菌放流水(FE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	N.D.	N.D.	245	385	9.22	15.5	N.D.	N.D.	58.3	88.6
NPnEO(n=1-3)	12.1	394	22.2	68.3	N.D.	N.D.	60	201	8.23	26.8
NPnEC(n=1-3)	1.68	5.61	N.D.	N.D.	1.13	3.67	0.0941	0.296	4.93	15.1
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	1.57	5.26	N.D.	N.D.	2.22	7.45	1.12	3.74
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.272	0.733	0.411	1.11	0.358	0.967	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.136	0.367	N.D.	N.D.	0.188	0.506	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	0.146	0.665	1.7	7.72	0.311	1.41	0.393	1.79
総量	13.8	400	269	461	12.5	28.0	63.2	212	73.0	136

\*下水処理場におけるNPE及びその代謝中間体(NPE化合物)の濃度分布を改編<sup>22)</sup>  
N.D. 検出下限値未満

付録 日本国内の下水処理場より採取された各種試料水中のNPE-csの検出濃度(その4)\*

下水処理場 No.	No. 16 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)	No. 17 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)	No. 18 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)	No. 19 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)	No. 20 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)					
<b>NPE-cs</b>										
<b>初沈越流水(PE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	297	469	226	391	69.6	119	104	158	57	113
NPnEO(n=1-3)	30.9	92.9	24.2	77.2	28.4	91.6	3.22	12.2	9.91	30.3
NPnEC(n=1-3)	N.D.	N.D.	1.63	4.63	17.8	60.5	4.44	15.2	3.08	10.8
総量	328	562	252	473	116	271	111	186	70	154
<b>終沈越流水(SE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	47.0	81.6	24.7	40.4	35	78.1	76.4	118	35.7	62.2
NPnEO(n=1-3)	6.96	21.2	5.49	17.9	18.9	67.7	9.08	28.6	7.54	21.4
NPnEC(n=1-3)	13.0	42.3	N.D.	N.D.	1.29	3.99	0.416	1.29	5.22	16.2
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.652	2.18	1.2	4.02	1.45	4.87	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	0.93	2.51	N.D.	N.D.	0.211	0.569	0.177	0.478	0.717	19.4
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	0.422	1.14	N.D.	N.D.	0.124	0.333	0.148	0.225	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	1.07	4.86	2.6	11.8	0.0642	0.292	N.D.	N.D.
総量	68.3	149	31.9	65.3	59.3	167	87.7	154	49.2	102
<b>滅菌放流水(FE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	35.8	61.9	22.9	38.6	39.4	65.4	43.4	69.6	72.2	127
NPnEO(n=1-3)	5.42	16.5	3.22	10.7	12.7	40.7	7.79	25.2	17.6	55
NPnEC(n=1-3)	16.5	49.7	N.D.	N.D.	2.36	7.21	0.0608	0.198	2.62	7.99
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.374	1.25	1.05	3.52	1.28	4.28	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	1.28	3.45	N.D.	N.D.	0.264	0.712	0.179	0.484	0.727	1.96
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	0.218	0.587	N.D.	N.D.	0.218	0.588	0.107	0.288	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	1.14	5.18	0.624	2.84	0.253	1.15	N.D.	N.D.
総量	59.2	132	27.7	55.7	56.6	121	53	101	93.1	191

\*下水処理場におけるNPE及びその代謝中間体(NPE化合物)の濃度分布を改編<sup>22)</sup>

N.D. 検出下限値未満

付録 日本国内の下水処理場より採取された各種試料水中のNPE-csの検出濃度(その5)\*

下水処理場 No.	No. 21	No. 22	No. 23	No. 24	No. 25					
NPE-cs	( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)									
<b>初沈越流水(PE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	272	497	626	969	249	402	571	974	741	1255
NPnEO(n=1-3)	18.9	58.1	79.2	269	19.2	60.6	174	562	84.1	273
NPnEC(n=1-3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	25.8	88.3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	291	555	705	1238	294	551	745	1536	825	1528
<b>終沈越流水(SE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	39	63.4	122	200	73	121	155	261	135	231
NPnEO(n=1-3)	4.26	14.6	13	40.3	8.46	28.6	19.4	67	22.5	73.6
NPnEC(n=1-3)	0.142	0.486	13.2	40.4	14.6	46.1	3.08	10.1	10.5	32.6
CINPnEO(n=1-2)	0.636	2.13	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	0.196	0.53	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	0.129	0.349	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	0.112	0.509	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	44.5	82	148	281	96.1	195	177	338	168	338
<b>滅菌放流水(FE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	26.3	44.7	117	193	76.2	126	104	180	83.8	138
NPnEO(n=1-3)	2.7	9.52	13.8	45.9	11.2	37.2	13.7	46.3	15.7	52.6
NPnEC(n=1-3)	N.D.	N.D.	14.8	46.9	3.11	10.6	11.9	39.4	33.7	108
CINPnEO(n=1-2)	0.882	2.95	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	0.204	0.928	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	30.1	58.1	146	286	90.5	174	130	265	133	299

\*下水処理場におけるNPE及びその代謝中間体(NPE化合物)の濃度分布を改編<sup>22)</sup>

N.D. 検出下限値未満

付録 日本国内の下水処理場より採取された各種試料水中のNPPE-csの検出濃度(その6)\*

下水処理場 No.	No. 26	No. 27	No. 28	No. 29	No. 30					
NPE-cs	( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)									
<b>初沈越流水(PE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	1035	1990	702	1204	144	236	241	388	330	544
NPnEO(n=1-3)	938	3095	46.1	156	33.8	118	7.57	22.1	60.6	191
NPnEC(n=1-3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4.37	15	0.586	1.67	N.D.	N.D.
総量	1972	5085	748	1360	182	369	250	411	391	735
<b>終沈越流水(SE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	80.4	134	37.9	62.4	38.1	61.7	33.2	54.8	33.4	61.6
NPnEO(n=1-3)	14.3	43.6	5.78	19.9	5.22	17.7	4.8	16.1	5.83	17.6
NPnEC(n=1-3)	18.4	54	5.24	16.4	4.26	11.2	N.D.	N.D.	12.4	38.9
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.303	1.32	0.739	2.47	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.868	2.34
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.27	10.3	0.118	0.538	N.D.	N.D.
総量	113	231	48.9	98.7	50.2	102	38.9	73.9	52.4	120
<b>滅菌放流水(FE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	87.3	143	49.8	82.5	50.9	86.8	25.3	43.8	38.5	66.7
NPnEO(n=1-3)	10.9	35.6	6.67	22.6	9.9	31.7	5.7	19.8	7.69	26.4
NPnEC(n=1-3)	15.4	51.5	6.72	19.4	2.09	6.69	10.7	32.1	1.08	3.58
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.419	1.41	4.02	12.1	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.71	2.03	3.31	8.93	N.D.	N.D.	0.733	2.04
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.405	1.09	N.D.	N.D.	0.67	1.62	0.145	0.391
NP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.757	3.44	0.241	1.1	N.D.	N.D.
総量	114	230	64.3	128	67.4	139	46.6	110	48.1	99.1

\*下水処理場におけるNPPE及びその代謝中間体(NPE化合物)の濃度分布を改編<sup>22)</sup>

N.D. 検出下限値未満

付録 日本国内の下水処理場より採取された各種試料水中のNPPE-csの検出濃度(その7)\*

下水処理場 No.	No. 31	No. 32	No. 33	No. 34	No. 35					
NPE-cs	( $\mu\text{g} / \text{l}$ ) (nmol / l)	( $\mu\text{g} / \text{l}$ ) (nmol / l)	( $\mu\text{g} / \text{l}$ ) (nmol / l)	( $\mu\text{g} / \text{l}$ ) (nmol / l)	( $\mu\text{g} / \text{l}$ ) (nmol / l)					
<b>初沈越流水(PE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	101	186	104	209	303	537	249	441	597	1102
NPnEO(n=1-3)	19.4	66.7	23.9	77.7	22.7	69.5	13.6	46.8	62.8	199
NPnEC(n=1-3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	6.59	23	5.42	16.8	11.2	32.9
総量	121	252	128	287	332	630	268	505	671	1334
<b>終沈越流水(SE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	26.1	45.5	28.5	48.2	64.1	115	6.15	11.1	179	267
NPnEO(n=1-3)	7.8	25.9	5.74	20	2.76	8.3	4.96	14.9	19.6	59.9
NPnEC(n=1-3)	5.13	15.8	15.1	47.8	22.9	69	12.5	39.3	0.782	2.48
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.8	6.02
CINPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.677	1.83	0.73	1.97	N.D.	N.D.	0.145	0.391
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	0.185	0.445	N.D.	N.D.	0.367	0.988	N.D.	N.D.	0.169	0.143
NP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.106	0.482
総量	39.3	87.7	50.1	118	90.9	195	23.6	65.3	202	336
<b>減菌放流水(FE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	25.4	47.4	21.9	38.6	71.7	113	-	-	188	280
NPnEO(n=1-3)	6.95	22.9	6.59	21.4	1.33	4.5	-	-	17.2	52.5
NPnEC(n=1-3)	3.08	9.32	13.3	41.5	0.325	1.04	-	-	0.399	1.23
CINPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	-	N.D.	N.D.
CINPnEC(n=1-2)	0.355	0.957	0.669	1.8	0.591	1.6	-	-	0.145	0.224
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	-	2.09	6.99
BrNPnEC(n=1-2)	0.59	1.58	N.D.	N.D.	0.496	1.34	-	-	0.17	0.458
NP	0.224	1.02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	-	-	0.157	0.715
総量	36.6	83.2	42.4	103	74.5	122	-	-	208	342

\*下水処理場におけるNPPE及びその代謝中間体(NPE化合物)の濃度分布を改編<sup>22)</sup>

N.D. 検出下限値未満

付録 日本国内の下水処理場より採取された各種試料水中のNPE-csの検出濃度(その8)\*

下水処理場 No.	No. 36	No. 37	No. 38	No. 39	No. 40					
NPE-cs	( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) (nmol/l)									
<b>初沈越流水(PE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	98.3	157	391	612	79.9	152	132	242	141	264
NPnEO(n=1-3)	15.8	50.8	29.2	96.4	27.8	86.5	25.2	80.7	12	37.7
NPnEC(n=1-3)	11.9	40.5	N.D.	N.D.	1.15	3.26	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
総量	126	248	420	709	109	242	157	323	153	302
<b>終沈越流水(SE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	40.7	66.8	45.7	76.9	43.9	76	43.5	70.5	43	70.5
NPnEO(n=1-3)	8.14	26	9.57	30.3	3.76	12.5	2.26	7.59	4.31	14.5
NPnEC(n=1-3)	1.35	4.5	4.89	14.9	0.846	2.65	2.57	8.36	1.89	6.14
CINPnEO(n=1-2)	0.917	3.07	N.D.	N.D.	0.787	2.64	6.48	20.1	0.444	1.49
CINPnEC(n=1-2)	0.276	0.746	0.499	1.37	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	N.D.	N.D.	0.321	0.868	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.49	6.78
総量	51.4	101	61	124	49.6	95.2	54.8	107	51.2	99.4
<b>滅菌放流水(FE)</b>										
NPnEO(n=4-18)	30.9	54.4	60.6	103	44.6	81.4	30.1	49.8	26	43.6
NPnEO(n=1-3)	5.43	17.8	4.74	15	6.24	20.9	3.24	10.8	3.27	11.1
NPnEC(n=1-3)	1.17	3.86	3.83	17.8	1.11	3.52	0.409	1.4	N.D.	N.D.
CINPnEO(n=1-2)	2.63	8.72	N.D.	N.D.	0.803	2.69	1.87	6.26	0.275	0.922
CINPnEC(n=1-2)	0.867	2.47	1.38	3.86	0.21	0.567	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEO(n=1-2)	0.111	0.325	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BrNPnEC(n=1-2)	0.405	1.05	0.398	1.08	0.173	0.464	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NP	0.913	4.15	N.D.	N.D.	0.528	2.4	N.D.	N.D.	0.698	3.17
総量	42.4	92.7	71	141	53.6	112	35.7	68.2	30.2	58.7

\*下水処理場におけるNPE及びその代謝中間体(NPE化合物)の濃度分布を改編<sup>22)</sup>

N.D. 検出下限値未満