

&lt;報 文&gt;

# 廃棄物埋立処分地浸出水のエストロゲン様活性 および変異原性よりみた水質評価\*

芳 倉 太 郎<sup>1)</sup>・北 野 雅 昭<sup>1)</sup>・船 坂 邦 弘<sup>1)</sup>  
 中 間 昭 彦<sup>1)</sup>・福 山 丈 二<sup>1)</sup>・貫 上 佳 則<sup>2)</sup>  
 安 原 昭 夫<sup>3)4)</sup>・井 上 雄 三<sup>3)</sup>

**キーワード** ①埋立処分地浸出水 ②変異原性 ③YES法 ④エストロゲン様活性  
 ⑤ビスフェノールA

## 要 旨

廃棄物埋立処分地浸出水および浸出水処理水の変異原性およびエストロゲン様活性を測定し、これらの水質の評価を行った。

埋立処分地原水では、*S. typhimurium* YG1024菌株に対し、S9mix+の条件下で変異原性が見られ、アミノアレーン等の変異原性物質の存在が示唆された。

埋立処分地原水にYES法によるエストロゲン様活性が見られた。埋立処分地原水中のビスフェノールA濃度は1.1mg/lであり、YES法によるエストロゲン様活性から求めたビスフェノールA等価値は0.41mg/lであった。本埋立地原水のエストロゲン様活性に対するビスフェノールAの寄与率は約38%であった。

埋立処分地浸出水処理水では変異原性およびエストロゲン様活性はみられず、浸出水処理過程で分解、除去が行われたものと思われる。

## 1. はじめに

環境中に放出されている化学物質の中には、ヒトの健康に対し重大な悪影響を及ぼす可能性のある化学物質も存在するため、適切な管理や処理が求められている。とくに、多様な化学物質が含まれる廃棄物最終処分場の浸出水では有意な毒性が認められることが多い<sup>1~4)</sup>。

変異原性試験法<sup>5)</sup>は、種々な毒性試験法の中で化学物質の変異原性をスクリーニングする方法と

して用いられ、環境中の変異原性物質のバイオモニタリング法として重要である<sup>6~12)</sup>。

ニトロアレーンの中には環境中の変異原性物質として強い変異原性を示すものがあり、ジニトロピレン類が明らかにされている<sup>5)</sup>。また、ヘテロサイクリックアミン類の変異原性物質も環境中から単離されている<sup>6)</sup>。このようなニトロアレーン類およびヘテロサイクリックアミン類の変異原性物質の環境中での動態を把握し、ヒトへのばく露

\*Biomonitoring and Evaluation of Water Qualities of Landfill Leachate by Ames Method and YES Method

<sup>1)</sup>Taro YOSHIKURA, Masaaki KITANO, Kunihiro FUNASAKA, Akihiko NAKAMA, Jyouii FUKUYAMA (大阪市立環境科学研究所) Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences

<sup>2)</sup>Yoshinori KANJOU (大阪市立大学院) Osaka City University

<sup>3)</sup>Akio YASUHARA, Yuzou INOUE (独国立環境研究所) National Institute for Environmental Studies

<sup>4)</sup>Akio YASUHARA (現在：東京理科大学) Present address: Tokyo University of Science

を推定することは重要である。Ames 試験用の *S. typhimurium* YG1024 菌株は、ニトロアレーン類、芳香族アミン類に対してそれぞれ高い感受性を示す菌株として用いられている<sup>5)</sup>。

一方、化学物質の内分泌攪乱作用による人体、あるいは生態系への影響が危惧され、化学物質のエストロゲン様活性のスクリーニングや環境中での汚染実態を調べるためのモニタリングが試みられている<sup>13~21)</sup>。このようなエストロゲン様活性を持つ化学物質、環境ホルモンと呼ばれる化学物質の挙動およびその影響を検討し、その監視と制御を図っていくことも重要な課題である。

エストロゲン様活性のスクリーニング法としては E. J. Routledge と J. P. Sumpter の報告した YES (Yeast estrogen screen) 法<sup>13, 17~21)</sup> と J. Nishikawa らの酵母 Two-hybrid 法<sup>14~17)</sup> が用いられている。

YES 法は Glaxo Welco, plc (Herts, U. K.) で開発された遺伝子組換え酵母 *Saccharomyces cerevisiae* を用いた実験系である<sup>13)</sup>。内分泌攪乱化学物質 (Endocrine disrupters, EDs) は生物体内に入るとエストロゲン受容体 (ER) と結合し、この ED-ER 複合体に転写活性化因子 (コアクチベーター) が結合したものが、女性化を導く種々の標的遺伝子群のプロモーターに結合することで、標的遺伝子の転写・発現を活性化させ、女性ホルモンと同様の作用を示す。内分泌攪乱化学物質とエストロゲン受容体の結合を契機とする標的遺伝子の転写を検出することでエストロゲン活性の測定を行なうものである。YES 法での遺伝子組換え酵母は、染色体上に ER の生産をコードする遺伝子 hER (human ER) が組み込まれており、さらにプラスミド上にエストロゲン応答配列 (ERE) とその下流にレポーターとして  $\beta$ -ガラクトシダーゼをコードする LacZ 遺伝子が組み込まれている。内分泌攪乱化学物質が酵母内に入ると、hER 遺伝子から生産された ER に結合し、ED-ER 複合体がプラスミド上の ERE に結合することにより転写が開始され、下流の  $\beta$ -ガラクトシダーゼが生産されるため、その測定によりエストロゲン様活性が評価できる<sup>13, 17)</sup>。

YES 法では、ばく露培養時に基質クロロフェノールレッド- $\beta$ -ガラクトピラノシド (CPRG) を加え、波長 550nm での吸光物質 (Abs. 550nm) の

生成を培養液の直接測定により評価する。発色強度の程度を観察しながらばく露時間を変化させることができる。遺伝子組換え酵母を用いる YES 試験法は簡易な操作により比較的多くの情報が得られる利点を有している<sup>13)</sup>。EDs の検出感度は YES 法の方が酵母 Two-hybrid 法よりも高いともいわれている<sup>17)</sup>。

本法による各種排水中の女性ホルモン様活性の測定とごみ埋立地浸出水の水質評価が行われ<sup>14, 19, 20)</sup>、合成化学物質を主要因とする排水中のエストロゲン様活性の測定や焼却工場排水等の生物学的水質評価が行われている<sup>14, 19~21)</sup>。

今回、廃棄物埋立処分地浸出水について、固相抽出法 (Sep-Pack C18ENV, Waters Ltd.) により有機物質を抽出し、各抽出画分の変異原性活性を Ames 法の *S. typhimurium* YG1024 菌株により測定し<sup>5)</sup>、エストロゲン様活性は YES 法<sup>13)</sup> により測定した。固相抽出画分中の有機物質を GC-MS 法により測定し、毒性を考察するための資料とした。

## 2. 実験方法

### 2.1 変異原性物質および内分泌攪乱物質の抽出方法

埋立処分地浸出水試料は、2002年10月1日に浸出水原水 (調整槽流入原水, G-1) およびその処理水 (塩素投入消毒前, G-2) を採水した<sup>3)</sup>。試料水からの変異原性物質および内分泌攪乱物質の抽出は固相抽出法によった<sup>21, 22)</sup>。

試料調製方法の概略を図 1 に示した。各試料水を、あらかじめ抽出溶媒で洗浄した Sep-Pack C18ENV 固相抽出カラムに通水し、変異原性物質および内分泌攪乱物質を吸着させた。変異原性試験用およびエストロゲン様活性測定用としてそれぞれ、原水浸出水 (G-1) 4 l および処理水 (G-2) 4 l を 2 個直列に配置した固相抽出カラムに通水し、蒸留水 100 ml で固相抽出カラムを洗浄後、約 1 時間吸引乾燥した。ヘキサン 10 ml, ジクロロメタン 10 ml, ジクロロメタン:メタノール (1:1) 2 ml, ジクロロメタン:メタノール (1:1) 8 ml, メタノール 10 ml の順に抽出した。各溶液を窒素気流下で乾固後、変異原性試験, YES 試験を行うまで冷暗所 (5℃) に保存した。各抽出画分を DMSO に溶解したものを変異原性試験, YES

- Sep-Pak プラス ENVC18カラムの洗浄
- ヘキサン10ml, ジクロロメタン10ml, メタノール10ml
- ジクロロメタン：メタノール(1：1)10ml
- メタノール10ml, DW10mlで固相カラム洗浄
- 試料水4L(原水, 処理水)を通水
- 固相カラムをDW100mlで洗浄
- 固相カラムを通気乾燥, 30分
- ヘキサン10ml, ジクロロメタン10ml
- ジクロロメタン：メタノール(1：1)2ml, 8ml
- メタノール10mlで溶出
- 各溶出溶媒の除去
- 窒素気流下, 30℃以下で濃縮
- 生物試験用(DMSO溶解)
- 変異原性試験(Ames法), エストロゲン様活性試験(YES法)
- S9mix+, S9mix-の場合

図1 試料調製方法の概略

試験に供した。

同様な操作方法で変異原性物質およびエストロゲン様物質を試料水500mlから抽出し、抽出溶液を窒素気流下で濃縮後、化学分析用として冷暗所に保存した。

ジクロロメタン：メタノール(1：1)の初期2mlの抽出画分は著しい黄褐色物質が溶出したため、ジクロロメタン：メタノール(1：1)抽出画分は初期2mlの溶出画分と8mlの溶出画分に分けて抽出した。初期2mlの抽出画分は黄褐色物質による着色が著しいため、YES試験および化学分析は行わなかった。

### 2.2 変異原性試験方法

変異原性試験方法は、Amesらの方法に準じ、ニトロピレン、アミノピレンに高感受性を示す*S. typhimurium* YG1024菌株を使用した<sup>5)</sup>。変異原性試験方法は前報に準じた<sup>22)</sup>。

薬物代謝酵素(S9mix)を試験系に添加する場合をS9mix+とし、試験系にS9mixを添加しない場合をS9mix-として行った。

変異原性試験はすべて2枚のプレートを用いて行い、プレート上の復帰変異コロニー数を計数し、その平均値を測定値とした。変異原性陽性の判定は、

a. 自然復帰変異コロニー数(溶媒対照試験にて生じる自然復帰変異コロニー数)の2倍以上の復帰変異コロニー数が認められ、かつ、

b. 試料投与濃度と復帰変異コロニー数との間に正の作用用量関係が認められた場合に変異原性

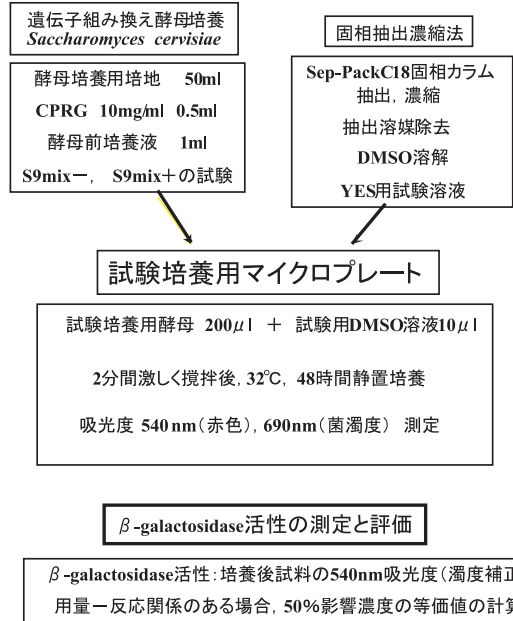


図2 エストロゲン様活性測定方法の概略

陽性とした。

### 2.3 エストロゲン様活性試験方法

エストロゲン様活性の測定は、Routledge & SumpterのYES法によった<sup>13,21)</sup>。遺伝子組換え酵母*Saccharomyces cerevisiae*はGlaxo Welco, plc(Herts, U. K.)から分譲を受けた。実験方法の概略を図2に示した。

標準物質として1μMの17β-エストラジオール(E2と表示)と10mMのビスフェノールA(BPAと表示), p-ニルフェノール(p-NPと表示), ベンズ(a)ピレン(B(a)Pと表示)を用い、DMSOを溶媒として調製した。96wellのマイクロプレート上で原液からDMSOで2倍希釈を繰り返した試料希釈液を調製し、希釈調製した試料を10μlずつ試験培養用マイクロプレートに移した。あらかじめ前培養を行った酵母培養液1mlとCPRG 0.5mlを添加した試験酵母培養培地50mlを作成し、この試験培養培地の200μlを、試験培養用マイクロプレートに分注した。マイクロプレートにシーリングを行い、2分間攪拌後、32℃で48時間培養した。マイクロプレートリーダで540nmおよび690nmの吸光度を測定した。酵母増殖による濁度を補正するために、試料吸光度(540nm)－[培養後試料吸光度(690nm)－培養前Blank吸光

度(690nm)]を計算し、試料540nmの測定吸光度を補正した測定値を $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性とした。

吸光度と投与濃度の値から用量作用曲線を作成し、E2のEC50における作用濃度と投与試料のEC50における濃縮倍率から、試料のE2等価値(E2等価濃度)を算出した。BPAについても、BPAのEC50における作用濃度と、試料の濃縮倍率から試料中のBPA等価値(BPA等価濃度)を算出した。

YES法で、代謝活性化処理(S9mix+)を行う場合には、100mlの試験酵母培養培地に1mlのRat S9(オリエンタル酵母工業株)と1バイアル容量のCofactor-1(オリエンタル酵母工業株)をそれぞれ添加したものを試験培養培地として用いた。

## 2.4 化学物質

固相抽出法で抽出されたヘキサン抽出画分、ジクロロメタン抽出画分、ジクロロメタン：メタノール抽出画分、メタノール抽出画分について、GC/MS法により各画分中に含まれる有機物について検索した。分析条件は次のとおりである。装置：ヒューレットパッカード社製5890Aガスクロマトグラフ+5972質量分析計、測定質量範囲： $m/z$  10~500、注入口温度：280℃、注入方式：スプリットレス注入、パージオフ時間：1min、カラム：スベルコ製PTE-5(長さ30m、内径0.25mm、膜厚0.25 $\mu$ m)、キャリアガス(He)圧力：53kPa、キャリアガス流量：1.0ml/min(50℃)、キャリアガス線速度：36.2cm/sec、オープン温度：50℃で2min保持した後、5℃/minの速度で250℃まで昇温、インターフェース温度：250℃、イオン化電圧：70V。得られた質量スペクトルをWiley/NBSのデータベースで検索して同定を行った。最終試験液の量をすべて1mlに調製し、その1 $\mu$ lをGCに注入した時のピーク面積値を比較した。

## 3. 実験結果および考察

### 3.1 廃棄物埋立処分地浸出水の変異原性

廃棄物埋立処分地の原水(G-1)とその処理水(G-2)の変異原性試験結果を図3に示した。代謝活性化処理(S9mix+)を行った場合に、原水(G-1)では*S. typhimurium* YG1024菌株に対してジ

クロロメタン抽出画分に明確な変異原性が認められ、変異原性活性は1860復帰変異コロニー数/試料水1lであった。ヘキサン抽出画分では変異原性は認められなかったが、ジクロロメタン：メタノール(1:1)抽出画分(2mlの画分と8mlの画分)、メタノール抽出画分では、試料投与量に対してわずかに変異復帰コロニー数の増加が認められたが、与えられた投与量の範囲内では変異原性は認められなかった。S9mix-の場合には、原水(G-1)のいずれの抽出画分においても変異原性は見られず、ジニトロピレン等の芳香族ニトロ化合物等が廃棄物埋立地浸出水中の変異原性に寄与することは少ないと思われる。

このようなことから埋立処分地浸出水の原水(G-1)には*S. typhimurium* YG1024に感受性を示す芳香族アミン化合物が含まれている可能性が示唆された。

浸出水処理水(G-2)の場合には、S9mix+, S9mix-のいずれにおいても変異原性は見られなかった。

廃棄物埋立処分地浸出水中の変異原性物質に関する報告は少ないが<sup>87-12)</sup>、ブルーコットン法で濃縮、抽出された桂川河川水中には*S. typhimurium*

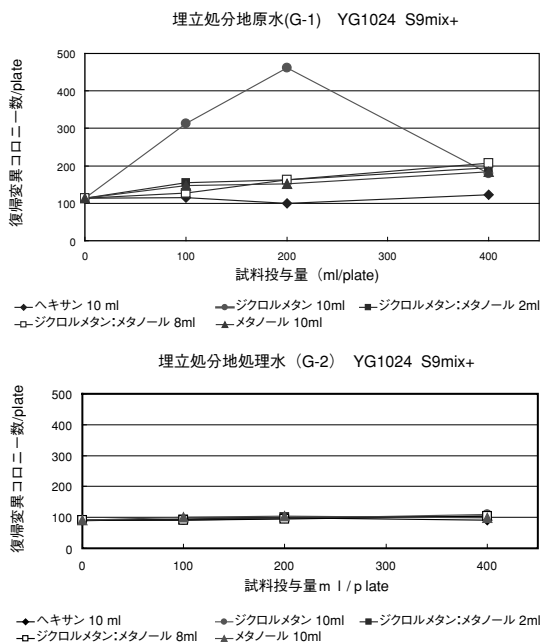


図3 埋立処分地原水(G-1)および処理水(G-2)の変異原性

YG1024菌株にS9mix-の条件化で感受性を示す芳香族ニトロ化合物と代謝活性化(S9mix+)を経て変異原性を示す芳香族アミン化合物等の変異原性物質の存在が明らかにされている<sup>23,24)</sup>。河川水中で報告されている高変異原性物質の芳香族アミン化合物等との関連性等<sup>24,25)</sup>が今後の検討課題と思われる。

### 3.2 廃棄物埋立処分地浸出水のエストロゲン様活性

S9mix-の場合の標準物質のエストロゲン様活性を図4に示した。E2は $2 \times 10^{-10}$ Mから誘導活性が認められ $10^{-8}$ Mで活性が飽和した。BPAでは $2.9 \times 10^{-6}$ M、p-NPでは $5 \times 10^{-7}$ Mからエストロゲン様活性が認められ、本試験法はE2のみならず他の標準物質でもエストロゲン様活性が見られ、本試験法が有効に作用していることが認められた。S9mixを添加した条件下(S9mix+)のBPAおよびp-NP、BaPの測定結果を図4に示した。いずれの標準物質の場合にもエストロゲン様活性が認められた。

浸出水原水(G-1)についてS9mix-の場合のエストロゲン様活性を図5に、S9mix+の場合のエ

ストロゲン様活性を図6に示した。ジクロロメタン抽出画分では、S9mix-, S9mix+のいずれの場合にもエストロゲン様活性が認められた。試料の濃縮倍率が60倍を超えた場合には、試験培養酵母の増殖阻害等によりエストロゲン様活性が低下した。

E2の作用用量曲線と浸出水原水(G-1)試料の投与濃度域の作用用量曲線の、50%作用濃度からE2等価値(E2標準液と試料投与濃度の50%作用濃度、EC50値から算出した)を求めた。原水(G-1)中のE2等価値は30ng/lであった。浸出水処理水(G-2)のエストロゲン様活性は、S9mix-(図5)、S9mix+(図6)のいずれの場合もエストロゲン様活性が見られなかった。

白石らは廃棄物埋立処分場浸出水について、酵母Two-Hybrid法によるエストロゲンアッセイを行い、S9mix-の場合のE2等価値は $2.88 \mu\text{g/l}$ という結果を得ている<sup>14)</sup>。このようなことから、産廃処分場に投棄されたものの中には、ステロイドホルモン以外の複数の化学物質によるエストロゲン様作用が存在することが示唆された。

中嶋らは管理型産業廃棄物処分場浸出水のエス

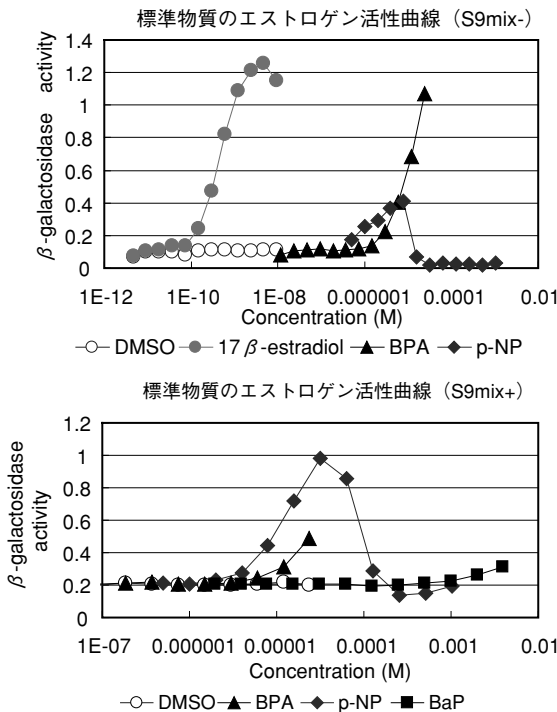


図4 標準物質のエストロゲン様活性(S9mix-, S9mix+)

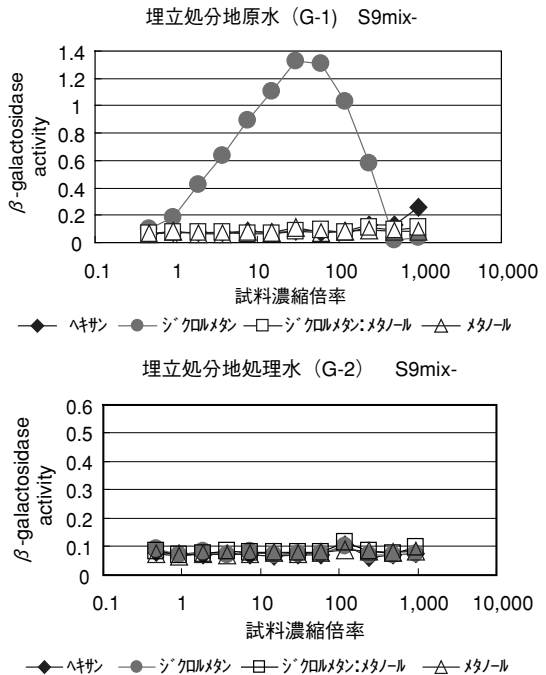


図5 埋立処分地原水(G-1)と処理水(G-2)のエストロゲン様活性(S9mix-)

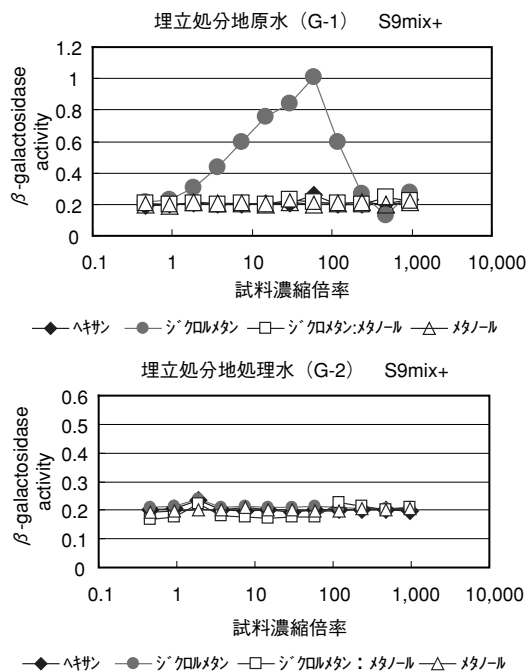


図6 埋立処分地原水(G-1)と処理水(G-2)のエストロゲン様活性(S9mix+)

トロゲン様活性を年間を通じて調査した結果, S9mix-の条件下においてエストロゲン様活性を認め, 一方, S9mix+の条件下でのエストロゲン様活性はいずれの検体からも検出されなかったと報告している<sup>20)</sup>。検出された浸出水中のエストロゲン様活性は, E2等価値で0.2~1.3ng/lの範囲であった。産業廃棄異物処分場では一般廃棄物処分場に比べて, エストロゲン様活性の検出率および活性ともに高く, 浸出処理水においてもエストロゲン様活性の検出が報告されている<sup>20)</sup>。

恩田らのYES法による廃棄物埋立地浸出水中のエストロゲン様活性の報告<sup>19)</sup>によると, ごみ埋立地浸出水中にBPAが2.1mg/lが検出された。YES法でのE2に対するBPAの比活性を0.00005とすると, このBPA濃度はE2等価値[E2標準液と試料の50%作用濃度(EC50値)の比から求めた値]の73%に相当し, エストロゲン様活性には, BPAが大きな割合を占める場合があることを示した<sup>19)</sup>。

今回, 測定した埋立処分地原水(G-1)のBPAを化学分析測定した結果<sup>3)</sup>, BPA濃度は1.1mg/lであった。一方, YES法より求めたBPAのエスト

ロゲン様活性の標準曲線を用い, 原水(G-1)のYES法によるEC50値から求めたBPA等価値は0.41mg/lで化学分析値の37%に相当した。化学分析値とYES法によるBPA等価値は一致しなかったが, 本埋立地のエストロゲン様活性はBPAに由来するものの寄与が大きいと思われる。

浸出処理水にはエストロゲン様活性が見られなかったことから, 浸出処理過程で分解, 除去が行われたと思われる。

### 3.3 固相抽出画分中の有機物質

固相抽出法により抽出された各画分中のGC/MS法でチャート上に明瞭なピークの確認ができた有機物質を表1, 表2に示す。ピーク面積の少ないものは暫定的な同定は行ったが表には示していない。

主要な成分はヘキサン抽出画分とジクロロメタン抽出画分に溶出した。各画分における回収率等が不明のため, ピーク面積値を相互に比較することにより相対的含有量の大小を推測した。フタル酸エステル類は高濃度で検出されているが実験室での人為的汚染の影響も考えられる。炭化水素類を除けば, プラスチック類の添加物に由来すると考えられる化合物が検出された。検出された化合物のうち, 毒性が高いと考えられる物質はフェノール類, 塩素原子を含む化合物(暫定的な同定)と考えられる。未同定の物質も多くあることから, 毒性と有機化合物の関係を明らかにするにはさらに詳細な検討が必要である。

### 4. ま と め

廃棄物埋立処分地浸出水の変異原性物質およびエストロゲン様物質は, 固相カラム抽出法ではジクロロメタン抽出画分に溶出した。

廃棄物埋立処分地浸出水原水(G-1)の変異原性は*S. typhimurium* YG1024菌株, S9mix+の場合に認められ, その活性は1860復帰変異コロニ数/試料水1lであった。S9mix-の場合には, いずれの抽出画分においても変異原性は見られず, 大気中などで報告されているジニトピレンなどの芳香族ニトロ化合物等が水中の変異原性に寄与することは少ないと思われる。河川水中で認められている高変異原性物質PBTA化合物等との関連性が今後の検討課題と思われる。浸出処理水(G-2)で

表 1 埋立処分地原水(G-1)中の有機物質

ヘキササン抽出画分

ドデカン
テトラデカン
1-テトラデセン
ヘキサデカン
1-ヘキサデセン
オクタデカン
1-オクタデセン
ブチルヒドロキシトルエン
エイコ酸
4-エトキシ安息香酸
t-ブチルフェノール
フタル酸ジブチル
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)

ジクロロメタン抽出画分

ドデカン
テトラデカン
2-エチルヘキサノール
ヘキサデカン
オクタデカン
1-オクタデセン
ブチルヒドロキシトルエン
エイコ酸
クレゾール
t-ブチルフェノール
フタル酸ジエチル
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)
フタル酸ジオクチル
フタル酸ジイソオクチル

表 2 埋立地浸出水処理水(G-2)中の有機物質

ヘキササン抽出画分

ドデカン
テトラデカン
1-テトラデセン
ヘキサデカン
1-ヘキサデセン
オクタデカン
1-オクタデセン
ブチルヒドロキシトルエン
エイコ酸
4-エトキシ安息香酸
ドコ酸
フタル酸ジブチル
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)

ジクロロメタン抽出画分

テトラデカン
ヘキサデカン
1-ヘキサデセン
2-(2-プトキシエトキシ)エタノール
オクタデカン
1-オクタデセン
ブチルヒドロキシトルエン
エイコ酸
クレゾール
フタル酸ジブチル
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)

は試料水の投与量範囲(400ml/plate)において、S9mix-、S9mix+のいずれの場合においても変異原性は見られなかった。

浸出水原水(G-1)のYES法によるエストロゲン様活性はS9mix-、S9mix+の場合でそれぞれ認められ、S9mix-の場合のE2等価値は30ng/lであった。一方、BPAのエストロゲン様活性に基づき、原水(G-1)中のBPA等価値を求めると0.41mg/lであった。これはBPAの化学分析測定値1.1mg/lの約37%に相当し、本埋立処分地原水(G-1)のエストロゲン様活性にはBPAの寄与が大きいものと思われる。

— 参考文献 —

1) 庄司 良, 酒井康行, 迫田章義, 山田正人, 毛利紫乃, 安原昭夫, 井上雄三: バイオアッセイを活用する廃棄物最終処分場浸出水の毒性原因物質の推定, 水環境学会誌, 26(10), 643-648, 2003  
 2) 安原昭夫: 最終処分場管理における化学物質リスクの早

期警戒システムの構築, 平成13年度研究報告書, 浸出水中の化学成分の分析, 2-1, 2001

3) 安原昭夫: 最終処分場管理における化学物質リスクの早期警戒システムの構築, 平成14年度研究報告書, 浸出水中の化学成分の分析, 2-1, 2002  
 4) 安原昭夫: 最終処分場管理における化学物質リスクの早期警戒システムの構築, 平成15年度研究報告書, 浸出水中の化学成分の分析, 2-1, 2003  
 5) 能美健彦: 微生物を用いる変異原性試験; 環境モニタリングへの応用と改良, 水環境学会誌, 19(10), 764-769, 1996  
 6) 小野芳朗, 山田正人, 宗宮 功, 小田美光: 焼却廃棄物中の窒素化合物による遺伝毒性, 廃棄物学会誌, 9(4), 115-122, 1998  
 7) 花嶋正孝, 立藤綾子: 変異原性試験による廃棄物埋立地の安全性評価, 廃棄物学会誌, 9(5), 394-403, 1998  
 8) 染谷 孝, 立藤綾子, 松藤康司, 鯉川寿美子, 花嶋正孝: 廃棄物最終処分場の浸出水処理過程における変異原活性の消長, 水環境学会誌, 15(5), 321-326, 1992  
 9) Yoshikura T., Kitano M., Nishio T., Fukunaga I., Masumoto K., Inoue S., Kuroda K. and Inoue Z.: Biological and chemical characterization of organic substances in water purification pond at sea-based solid waste disposal site, *Wat. Sci. Tech.*, 25(11), 425-432, 1992  
 10) 芳倉太郎, 西尾孝之, 福永 勲: 海面埋立廃棄物処分場浸出水余水の変異原性の特異性, 水処理技術, 35(6), 161-172, 1994  
 11) 芳倉太郎: 最終処分場の変異原性物質の挙動とその対

- 策, 環境技術, 31(8), 639-643, 2002
- 12) 芳倉太郎: 埋立処分地浸出水, 負の遺産にしない埋立処分場, pp. 66-69, 新政策, 政策総合研究所, 東京, 2002
- 13) 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
- 14) 白石不二雄, 白石寛明, 西川淳一, 西原 力, 森田昌敏: 酵母two-Hybrid Systemによる簡単なエストロゲンアッセイ系の開発, 環境化学, 10(1), 57-64, 2000.
- 15) 鎌田素之, 平野景子, 大野雪子, 亀井 翼, 真柄泰基: 酵母Two-hybrid法を用いた環境試料のエストロゲン様活性評価に関する研究, 水環境学会誌, 24(12), 865-870, 2001
- 16) 中室克彦, 上野 仁, 奥野智史, 坂崎文俊, 川井 仁, 亀井孝幸, 鶴川昌弘: 環境水のエストロゲン様活性と内分泌攪乱化学物質との関連性, 水環境学会誌, 25(6), 355-360, 2002
- 17) 池 道彦, 鹿角昌平, 小林直樹, 藤田正憲: 微量汚染物質のバイオ技術による測定法; 酵母法による環境ホルモンの測定, 環境技術, 31(8), 589-593, 2002
- 18) 岩崎誠二, 加藤 進, 高橋正昭, 木村哲也, 粟冠和郎, 大宮邦雄, 松田智成, 松井三郎: 英虞湾におけるエストロゲン様物質の挙動, 水環境学会誌, 26(11), 687-692, 2003
- 19) 恩田健介, 宮 昌子, 葛甬生, 田中俊博: 遺伝子組換え酵母を用いた各種排水中の女性ホルモン様活性の測定, 水環境学会誌, 24(11), 750-756, 2001
- 20) 中嶋智子, 白石不二雄, 白石寛明, 大田真由美, 井上 壽: 遺伝子組み換え酵母法を用いた廃棄物埋立処分場からの外因性内分泌かく乱化学物質検出の試み, 日本水環境学会関西支部, 第3回研究発表会・市民シンポジウム講演集, pp. 41-42, 2001
- 21) 中間昭彦, 船坂邦弘, 北野雅昭, 川越保徳, 芳倉太郎, 福永 勲: YES試験法を用いた生活環境中のestrogen活性を持つ化学物質のスクリーニング, 大阪市立環境科学研究所報告, 61, 64-71, 1999
- 22) 芳倉太郎, 藤原康博, 西尾孝之, 鶴保謙四郎, 福山丈二: 廃木材木炭による廃棄物埋立処分地浸出余水の変異原性および除去特性, 全国環境研会誌, 30(4), 246-251, 2005
- 23) 大江 武, 竹内信江: O-アセチル転移酵素高生産株を用いたウムテストおよびAmes試験による河川水の遺伝毒性モニタリング, 水環境学会誌, 20(11), 722-731, 1997
- 24) Ohe T., Takeuchi N., Watanabe T., Tada A., Nukaya H., Terao Y., Sawanishi H., Hirayama T., Sugimura T., Wakabaayashi K.: Quantification of Two Aromatic Mutagens, PBTA-1 and PBTA-2, in the Yodo River System, *Environ. Health Perspectives*, 107(9), 701-704, 1999
- 25) Moriwaki H., Harino H., Hashimoto H., Arakawa R., Ohe T., Yoshikura T.: Determination of aromatic amine mutagens, PBTA-1 and PBTA-2, in river water by solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of CHROMATOGRAPHY A*, 995, 239-243, 2003
- 26) Yasuhara, A., Shiraiishi, H., Nishikawa, M., Yamamoto, Nakasugi, O., Okumura, T., Kenmotsu, K, Fukui, H., Nagase, M., Kawagoshi, Y.: Organic components in leachates from hazardous waste disposal sites, *Waste Manage. Res.*, 17, 186-197, 1999