

都市下水処理場における天然エストロゲンと抱合体の挙動 および塩素処理による除去効果

都市リサイクル工学分野

橋本健

天然エストロゲンは水環境中に極微量に存在し、生物に悪影響を及ぼすことが懸念されるため、研究・調査が行われている。その物質は人のし尿から活性の低い抱合体として排出後、下水処理過程で活性の高い遊離体に変化するため、抱合体の挙動を把握する必要がある。さらに分析法としてGC/MSを用いた方法が提案されているが、検討すべき課題が残されている。そこで本研究では、天然エストロゲンの分析法を検討し、その分析法を用いて下水処理場での実態調査を行うことを目的とした。さらに塩素処理での除去効果を把握するため、室内実験を行った。その結果、流入原水中には遊離体が70%、抱合体が30%程度を占め、下水処理過程でそれらの物質は92~100%除去されていた。室内実験の結果、硫酸抱合体は塩素処理で除去可能であるとわかった。

1. 研究背景と研究目的

環境ホルモン物質は、これまでに多くの研究・調査が行われてきたが、未だ解決できていない課題を抱えている状況にあり、その中でも現在課題として挙げられるのが、天然エストロゲンの問題である。天然エストロゲンは人のし尿から体外に排出される際、硫酸基もしくはグルクロン酸基が付加されてエストロゲン(ER)活性が低い抱合体で排出される。これらの抱合体は、下水処理過程や環境水中で脱抱合され、ER活性の高い遊離体に変化することが懸念されている¹⁾。また、天然エストロゲンとそれらの抱合体の下水処理過程での挙動に関する知見は少なく、グルクロン酸抱合体は分解されやすいと報告されているが、硫酸抱合体については未解明な部分が多い²⁾。そのため、下水処理過程における天然エストロゲンとそれらの抱合体の挙動を把握することが重要である。

現在、それらの物質の分析法としてガスクロマトグラフ/質量分析計(GCMS)を用いた方法が提案されている^{3) 4)}。しかし、分析法で用いる酸処理や誘導体化処理等の前処理条件に関して、定量下限値や測定可能な濃度域の確認など検討すべき課題が残されている。

そこで本研究では、GC/MSを用いた天然エストロゲンと抱合体の分析法を検討し、その分析法を用いて下水処理場で天然エストロゲンとそれらの抱合体の挙動を把握するため、実態調査を行うことを目的とした。さらに、放流前に行う塩素処理でのエストロゲン抱合体の除去効果を把握するため、下水試料を用いて室内実験を行った。

2. 研究対象物質

表 2.1 に研究対象物質であるエストロゲン遊離体 3 種とエストロゲン抱合体 6 種を示す。

表 2.1 研究対象物質

		物質名	略称
遊離体		Estrone	E1
		17β-Estradiol	E2
		Estriol	E3
抱合体	硫酸抱合体	Estrone-3-Sulfate	E1-3S
		Estradiol-3-Sulfate	E2-3S
		Estriol-3-Sulfate	E3-3S
	グルクロン酸抱合体	Estrone-3-Glucuronide	E1-3G
		Estradiol-3-Glucuronide	E2-3G
		Estriol-3-Glucuronide	E3-3G

3. 天然エストロゲンと抱合体の分析法の検討

3.1 GC/MS を用いた分析法の概要

エストロゲン遊離体と抱合体を GC/MS を用いて分析するためには、図 3.1 に示す前処理法を行う必要がある。まず、水試料に固相抽出を行い、2 つの有機溶媒を用いて遊離体と抱合体画分に分ける。そして遊離体は誘導体化処理を行い、GC/MS で測定した。抱合体は酸処理を行って遊離体に変化させ(脱抱合)、誘導体化処理後に、GC/MS で測定した。

さらに下水処理場では、エストロゲン濃度

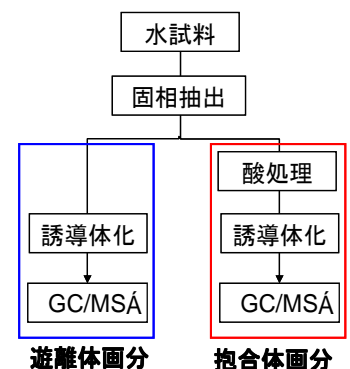


図 3.1 分析法簡略図

が1~500ng/L程度で検出されているが、より高濃度で検出されることも考えられる。しかし、既往文献^{3) 4)}の各前処理条件では、濃縮試料の定量下限値が E1 : 5.4ng/ml, E2 : 6.8ng/ml, E3 : 6.2ng/ml であるため、放流水などで検出されない恐れがある。また、低濃度のエストロゲン抱合体が測定可能であることは確認しているが、高濃度では行っていない。そのため、図 3.1 の誘導体化処理と酸処理条件を検討し、目標定量下限値 : E1, E2, E3 : 1~3ng/ml、さらにエストロゲン抱合体が高濃度 100~500ng/ml で測定可能か確認した。

3.2 誘導体化処理の検討

誘導体化処理では、MTBSTFA と BSTFA を誘導体化剤として用いることが提案されている。MTBSTFA は、BSTFA より定量下限値が低い、E3 遊離体濃度が高くなると、反応が進まずに E3-bis 誘導体と E3-tris 誘導体の2つを生成し、定量が困難になることが考えられる。そこで、E1, E2, E3 遊離体濃度 500ng/ml と 1 μ g/ml で MTBSTFA を用いて誘導体化を行い、E3 誘導体のクロマトグラフ上のピークを確認した。また、BSTFA でも同様の検討を行った。

結果を図 3.2, 図 3.3 に示す。図 3.2, 図 3.3 から、MTBSTFA は遊離体濃度 1 μ g/ml で E3-bis 誘導体と E3-tris 誘導体が検出された。BSTFA は遊離体濃度 1 μ g/ml でも E3 誘導体は1つの誘導体のみが生成されていたので、誘導体化剤として BSTFA を用いることとした。

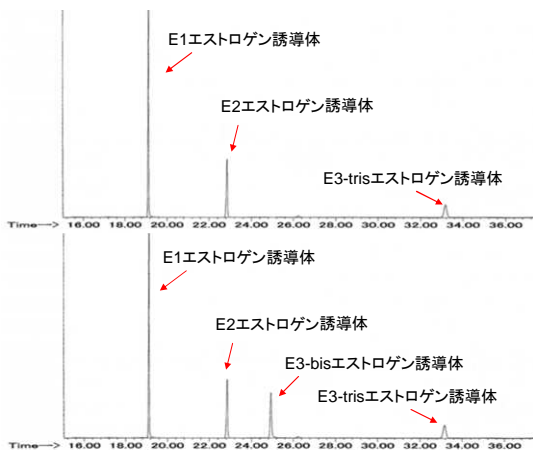


図 3.2 MTBSTFA を用いた E1, E2, E3 遊離体のクロマトグラム
(上 : 遊離体濃度 500ng/ml 下 : 遊離体濃度 1 μ g/ml)

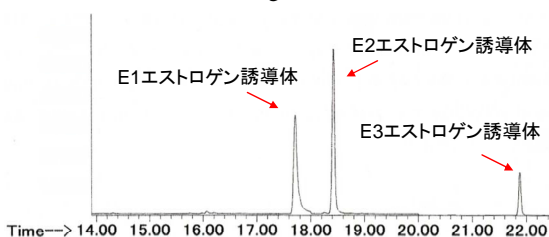


図 3.3 BSTFA を用いた E1, E2, E3 遊離体のクロマトグラム
(遊離体濃度 1 μ g/ml)

しかし、BSTFA を用いて誘導体化処理すると、定量下限値が E1 : 6.3ng/ml, E2 : 9.8ng/ml, E3 : 6.5ng/ml と高いことが課題である。その原因として誘導体化後、精製を行わずに GC/MS で測定しているためではないか考えられる。また誘導体化後に精製を行わないことで、誘導体化剤が GC/MS のカラム汚染を引き起こす要因になる可能性も考えられる。そこで、誘導体化後に精製を行い、標準偏差とシグナル対ノイズ比に基づいた方法で E1, E2, E3 の定量下限値を求めた。

その結果、定量下限値が E1 : 1.82ng/ml, E2 : 2.46ng/ml, E3 : 3.27ng/ml となり、E3 遊離体で目標定量下限値を若干上回ったが、許容範囲内とした。

3.3 酸処理の検討

酸処理では、硫酸抱合体とグルクロン酸抱合体濃度 100~500ng/ml で測定可能か確認を行った。なお、目標回収率の範囲は 60~120%とした。

実験結果を図 3.4 に示す。図 3.4 から、硫酸抱合体とグルクロン酸抱合体は濃度域 100~500ng/ml で目標回収率を満たしており、測定可能であることがわかった。

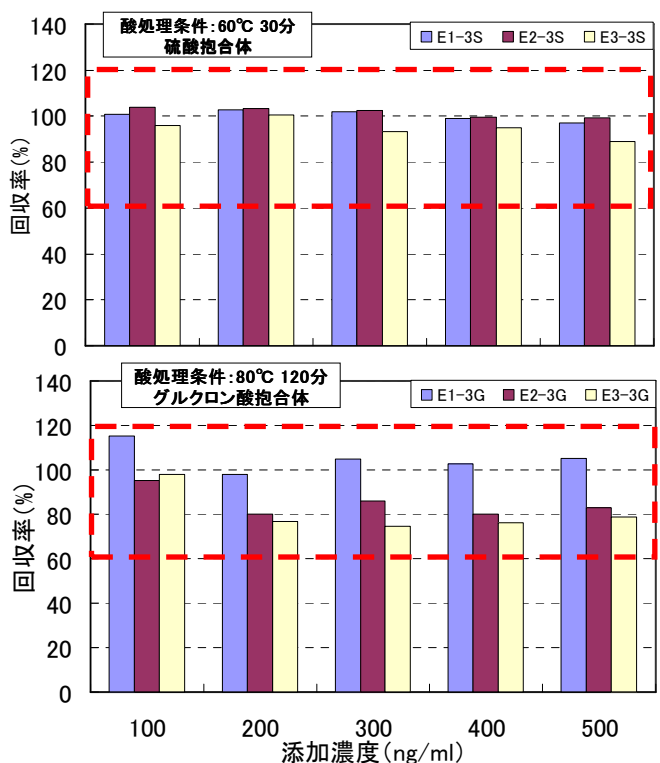


図 3.4 エストロゲン抱合体濃度 100~500ng/ml での回収率

3.4 添加回収試験の実施

本研究で用いる天然エストロゲンと抱合体の分析法を図 3.5 に示す。この分析法で下水試料を用いて添加回収試験を行い、回収率と変動係数を求めた。なお、目標回収率と変動係数は下水試験方法⁵⁾が定める目標回収率 50~120%以内、変動係数 20%以下とした。

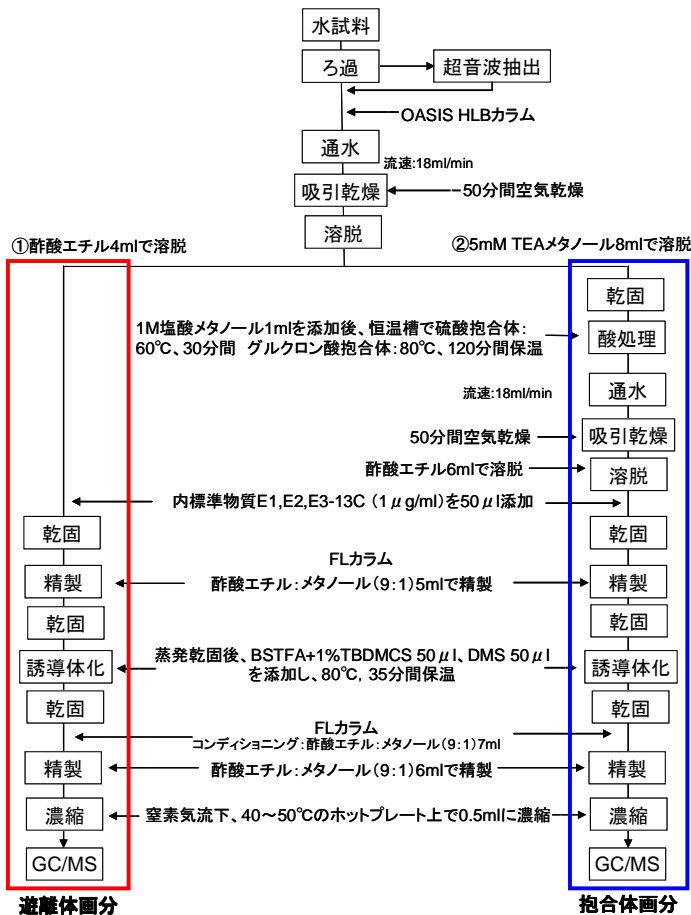


図 3.5 天然エストロゲンと抱合体の分析法

実験結果を表 3.1 に示すが、対象物質 9 種で目標回収率と変動係数を全て満たすことができた。よって、この分析法を用いて下水処理場の調査を行った。

表 3.1 添加回収試験の結果 (n=3)

物質名	回収率(%)				変動係数(%)
	n=1	n=2	n=3	平均	
E1	120	113	112	115	3.2
E2	105	107	102	105	2.1
E3	90	95	108	98	7.7
E1-3S	73	61	66	67	7.9
E2-3S	72	59	63	64	8.2
E3-3S	90	76	73	80	9.3
E1-3G	71	78	76	75	4
E2-3G	50	59	52	54	7.1
E3-3G	65	55	65	61	7.6

4. 下水処理場における実態調査

4.1 調査概要

本調査は大阪府下の下水処理場 5 ヶ所で 9/17, 10/14 ~15 (秋期), 11/19, 1/12~13 (冬期), 2/1~2/2 の計 5 回実施した。9/17 は S 下水処理場、11/19 は K 下水処理場と Sy 下水処理場、2/1 は Sn 下水処理場と I 下水処理場にてスポットで採水を行った。一方、調査期間 10/14~15, 1/12~13 は S 下水処理場、2/1~2/2 は Sy 下水処理場にて 24 時間コンポジットで採水を行った。対象下水処理場の概要は表 4.1 に、採水地点は、図 4.1 に示す 4 地点 (流入原水、初沈流出水、終沈流出水、放流水) で実施した。24 時間コンポジット採水はウォーター-サンプラー 3700 型と 2700 型をそれぞれ 2 台ず

つ使用し、午前 11 時から翌日の午前 10 時までの 1 時間ごとに 300ml ずつ採水してそれぞれ混合した。またスポット採水は現地にて採取した試料をステンレス容器に入れ、密閉して速やかに持ち帰り、図 3.5 の分析法で順次実験を行った。

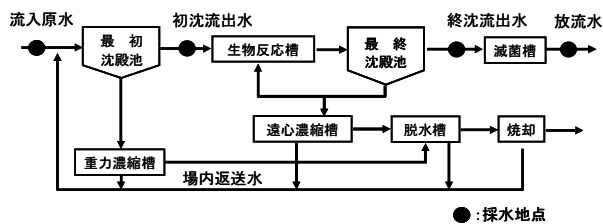


図 4.1 本調査の採水地点

表 4.1 対象下水処理場の概要

処理場	処理方式	処理区域計画人口(人)	H2O処理能力(m3/日)	管きょ延長[m]	計画処理区域面積[ha]	工場排水率(%)
S	標準活性汚泥法	333,900	108,700	489,953	5,696	2.4※
Sy	嫌気無酸素好気法+急速砂ろ過	245,400	91,125	26,510	5,137	24※
K	標準活性汚泥法	460,000	331,000	93,150	6,730	7
Sn	標準活性汚泥法	175,500	123,150	581,124	1,924	23
I	標準活性汚泥法	163,600	76,400	377,864	1,756	12

※の工場排水率の算出は、平成 22 年大阪府下水道統計から処理水量と整備人口、生活汚水量から計算から求めた。

4.2 調査結果と考察

本調査を実施した下水処理場の流入原水、初沈流出水、終沈流出水、放流水で検出された対象物質 9 種の検出濃度の最大値と最小値を表 4.2 に示す。

表 4.2 下水処理場での調査結果

物質名	流入原水 (ng/L)	初沈流出水 (ng/L)	終沈流出水 (ng/L)	放流水 (ng/L)
E1	22.7~39.7	14.3~41.2	5.94~71.6	N.D.~25.3
E2	11.6~39.7	14.4~21.3	N.D.~6.62	N.D.~4.12
E3	123~300	114~177	N.D.~27.9	N.D.~3.61
E1-3S	6.18~18.1	8.61~29.6	N.D.~13.6	N.D.
E2-3S	N.D.~5.85	2.52~5.20	N.D.~3.31	N.D.
E3-3S	32.6~96.0	29.5~62.6	N.D.~6.92	N.D.~3.31
E1-3G	1.82~14.8	N.D.~14.8	N.D.	N.D.
E2-3G	N.D.~4.03	N.D.~3.18	N.D.	N.D.
E3-3G	N.D.~21.1	N.D.~17.5	N.D.	N.D.

4.2.1 流入原水中のエストロゲン濃度と構成比の比較

各下水処理場の流入原水中に含まれる E1, E2, E3, E1-3S, E2-3S, E3-3S, E1-3G, E2-3G, E3-3G のエストロゲン濃度とそれらの構成比を比較した。

結果を図 4.2 に示す。図 4.2 から、各下水処理場の流入原水中に含まれる E1, E2, E3, E1-3S, E2-3S, E3-3S, E1-3G, E2-3G, E3-3G 濃度の総和 (総エストロゲン濃度) では、S 下水処理場がほかの下水処理場より高く、I > Sy > K > Sn 下水処理場の順となった。さらに本調査を実施した下水処理場の流入原水中にはエストロゲン遊

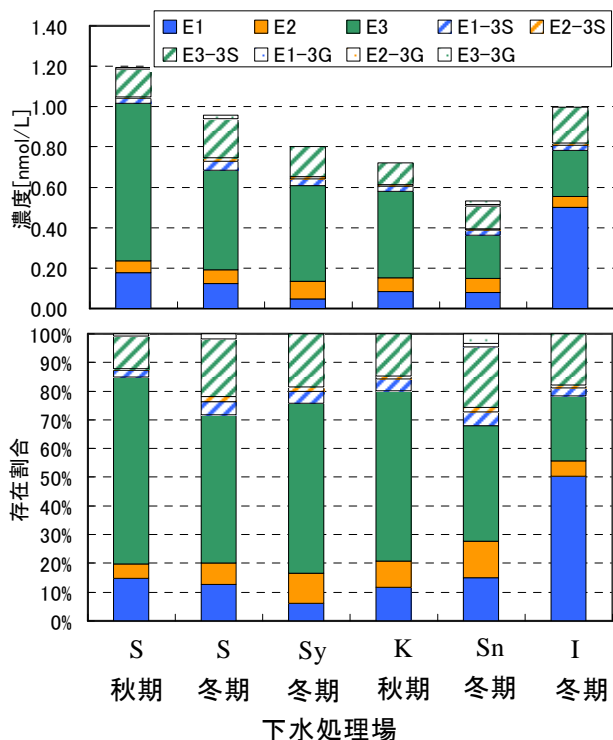


図 4.2 流入原水中の総エストロゲン濃度と構成比
(上図：総エストロゲン濃度 下図：エストロゲン構成比)

離体が約 70%の大部分を占め、エストロゲン抱合体は約 30%程度であった。さらに、S, Sy, K, Sn 下水処理場のエストロゲン遊離体の構成比は、E3 遊離体が約 60～70%の大部分を占め、E1, E2 遊離体は下水処理場によって異なるが、ほぼ E1 遊離体が E2 遊離体より少々高い割合で存在していた。I 下水処理場については、E1 遊離体が大部分を占め、他の下水処理場とは異なる構成比となった。また、硫酸抱合体は全ての下水処理場で E3-3S 抱合体が約 70～80%を占め、次に E1-3S が約 10～15%、E2-3S が 5～8%の割合で存在し、エストロゲン遊離体と同様の傾向を示した。

次に、図 4.3 に総エストロゲン濃度と各下水処理場の工場排水率との関係を示す。図 4.3 から、下水処理場の工場排水率が低いと総エストロゲン濃度が高い傾向を示した。そのため、流入原水中に含まれる総エストロゲン濃度は、家庭汚水中に含まれる人のし尿が排出源であることが示唆された。

そして、各下水処理場の流入原水中のエストロゲン遊離体と抱合体の構成比は、人のし尿中の構成比と比較すると、図 4.4 に示すように大きな差がみられた。特に、し尿中で 80%程度の割合を占めるグルクロン酸抱合体は、流入原水中で殆ど存在せず、し尿中には 10%以下のエストロゲン遊離体が 80%を占めていた。その理由として、グルクロン酸抱合体は下水処理場に流入する前、下水管渠内で脱抱合、あるいは分解している可能性が考えられる。さらに硫酸抱合体はグルクロン酸抱合体に比べ、流入原水中に 20%程度で存在していることから、分解しにくいことが考えられる。

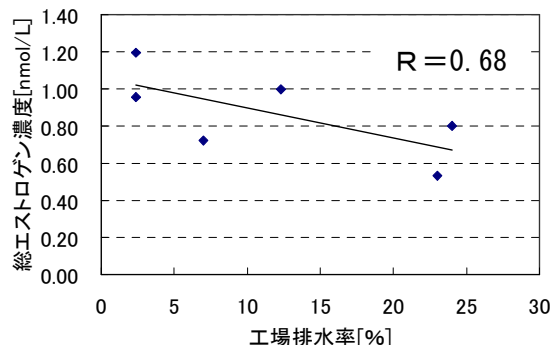


図 4.3 流入原水中の総エストロゲン濃度と工場排水率の相関図

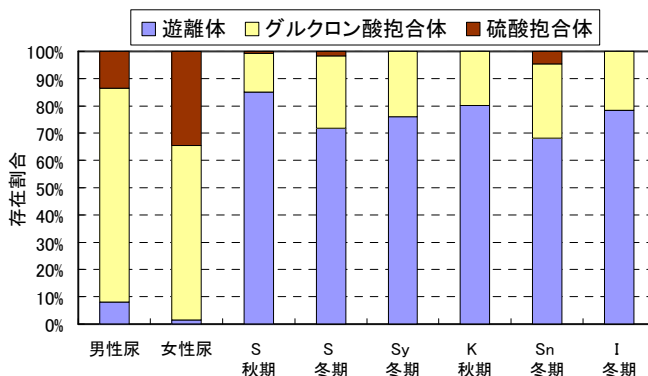


図 4.4 流入原水中と人の尿中に含まれる遊離体と抱合体の構成比

4.2.2 秋期と冬期によるエストロゲン濃度の変動

エストロゲン遊離体と抱合体の流入原水中濃度に季節の違いによる時間ごとの変動があるのか、秋期と冬期に実施した S 下水処理場の調査結果を用いて比較した。

結果を図 4.5 に示す。図 4.5 から、秋期と冬期の 15：00～18：00 と 7：00～10：00 の時間帯で総エストロゲン濃度が高くなる傾向にあった。一方、3：00～6：00 では秋期と冬期で関係なく、他の時間帯より低い傾向にあった。また、時間帯に関係なく総エストロゲン濃度の大部分をエストロゲン遊離体が占め、特に E3 遊離体が高い傾向にあったが、E1, E2 遊離体も秋期と冬期に関係なく一定の割合で推移していた。さらに、エストロゲン抱合体では硫酸抱合体が大半を占め、遊離体と同様、E3-3S 硫酸抱合体が高い傾向にあったが、E1-3S 硫酸抱合体も一定の割合で推移していた。そして、総エストロゲン濃度は秋期のほうが冬期より高い傾向にあった。

次に、秋期と冬期で大半を占めた E1, E2, E3 遊離体と E1-3S, E2-3S, E3-3S 硫酸抱合体の各物質濃度の時間変動の結果を図 4.6 示す。図 4.6 から、E1, E3 遊離体は、全ての時間帯で秋期の方が冬期より高い濃度で流入している傾向にあった。E2 遊離体については、11：00～14：00 で秋期の方が冬期より高い濃度であったが、他の時間帯は秋期と冬期で大きな差はなかった。また、E1-3S, E2-3S, E3-3S 硫酸抱合体は、冬期の方が秋期より高い濃度で流入している傾向があった。特に、E1-3S,

E3-3S 硫酸抱合体は、その傾向が顕著にみられ、E2-3S 硫酸抱合体は、秋期でほとんど検出されていないが、冬期では全ての時間帯でほぼ一定の濃度で推移していた。そのため、硫酸抱合体は下水中の水温が高い秋期の方が水温の低い冬期より脱抱合、あるいは分解されやすいことが考えられる。さらに、E1, E2, E3 遊離体と E1-3S, E2-3S, E3-3S 硫酸抱合体で秋期と冬期による流入原水中での濃度変動が異なる理由として、秋期では硫酸抱合体が下水処理場に流入する前、脱抱合して遊離体に変化しているため、秋期でエストロゲン遊離体の濃度が高くなっていると考えられる。一方、冬期では硫酸抱合体が脱抱合せず、硫酸抱合体の形態のまま下水処理場に流入するため、冬期でエストロゲン遊離体の濃度が低くなる傾向にあるのではないかと考えられる。

4.2.3 総エストロゲン負荷量と除去率

家庭汚水の総エストロゲン負荷量と秋期・冬期の S 下水処理場、Sy 下水処理場の下水処理過程での総エストロゲン負荷量と除去率を図 4.7 に示す。なお、家庭

汚水の総エストロゲン負荷量は、総エストロゲン負荷量原単位 349[nmol/人・日]と S, Sy 下水処理場の処理計画人口[人]から算出した。

図 4.7 から、S, Sy 下水処理場には、家庭からの汚水が下水処理場に流入するまでに総エストロゲン負荷量は、秋期・冬期の S 下水処理場で約 50%, 63%、Sy 下水処理場で約 63%減少していた。さらに下水処理場に流入した総エストロゲン負荷量は、秋期と冬期の S 下水処理場の二次処理系で 73, 85%、塩素処理で 80, 47%、全体で 94, 92%除去されていた。また Sy 下水処理場の一次処理系で 1%、二次処理系で 95%、高度処理で 100%、全体で 100%除去されていた。そのため、下水処理場は流入した総エストロゲン負荷量を約 92~100%を除去しており、負荷低減に寄与していることがわかった。

5. 塩素処理による室内実験

5.1 実験概要

調査結果から、終沈流出水中に硫酸抱合体が検出される下水処理場があった。そのため、終沈流出水を用いて硫酸抱合体が塩素処理でどの程度除去可能なのか

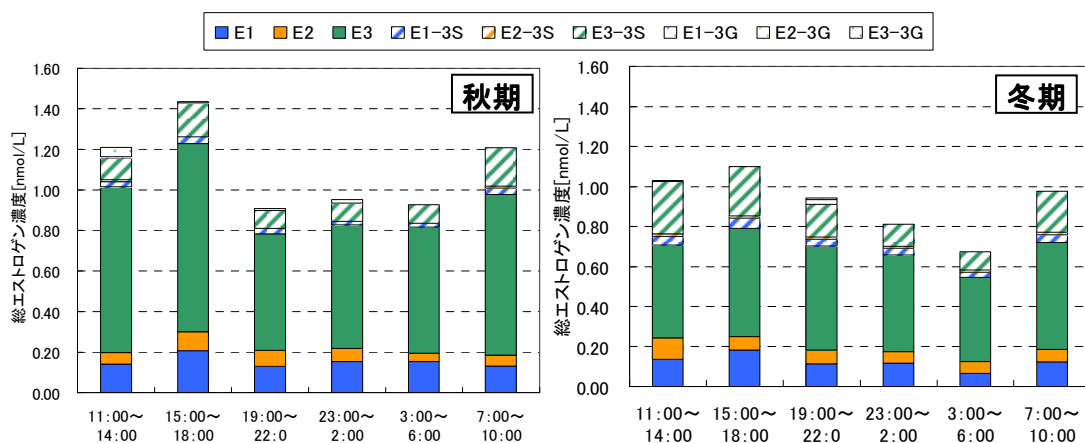


図 4.5 秋期と冬期の総エストロゲン濃度の時間変動

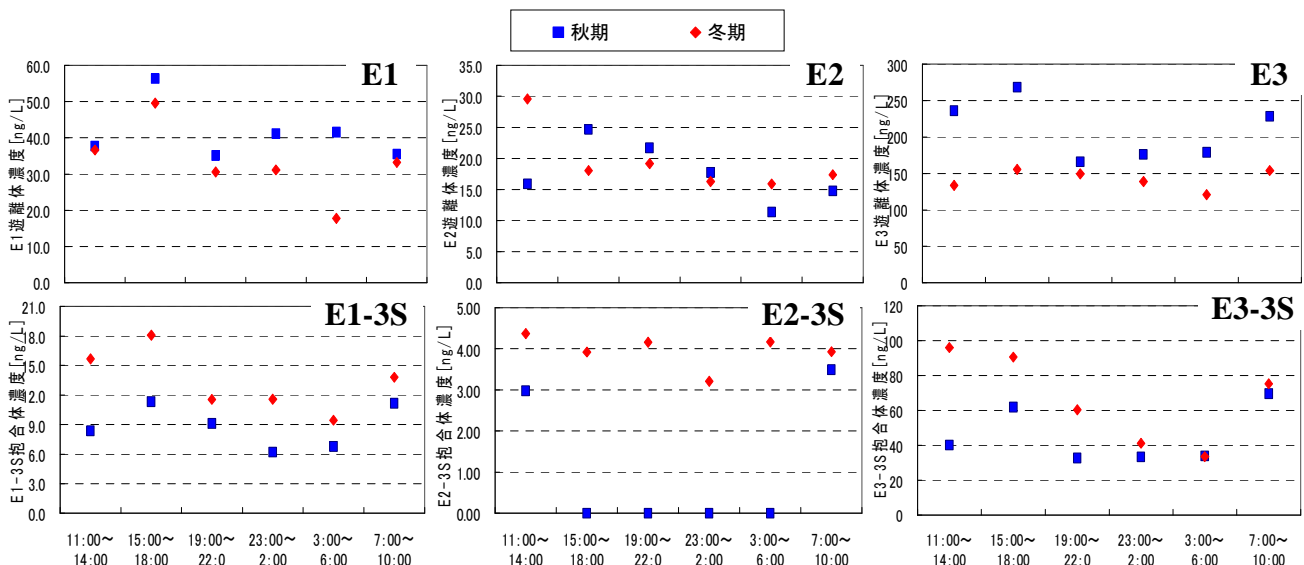


図 4.6 秋期と冬期の E1, E2, E3 遊離体と E1-3S, E2-3S, E3-3S 硫酸抱合体濃度の時間変動

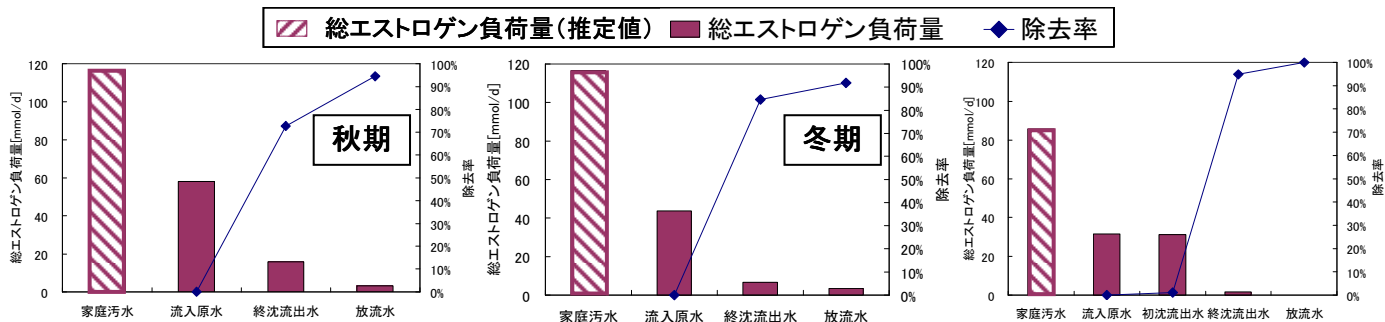


図 4.7 下水処理過程における総エストロゲン負荷量と除去率（左図：S（秋）中央図：S（冬）右図：Sy）

室内実験を行い、確認した。

5.2 実験方法

本実験は模擬消毒槽に終沈流出水 500ml を入れ、E1-3S, E2-3S, E3-3S 硫酸抱合体濃度 100ng/L となるよう、標準溶液を添加して実験を行った。反応時間は 0.5～30 分、残留塩素濃度は 4mg Cl/L で添加し、添加後有機物などと反応したため、0.5～30 分間での残留塩素濃度は約 3.1～3.2mg Cl/L で行った。

5.3 実験結果

図 5.1 に塩素処理室内実験の結果を示す。図 5.1 から、硫酸抱合体は反応時間 5 分までで減少し、その後は緩やかに減少していた。E1, E2 遊離体濃度は反応時間 1 分までで減少し、その後は反応時間 5 分まで増加し、以降は一定に推移していた。そのため、E1-3S, E2-3S 硫酸抱合体が脱抱合したことが考えられる。さらに硫酸抱合体の反応時間 10～15 分での除去率は、E1-3S：38%, E2-3S：21%, E3-3S：13%であった。また、硫酸抱合体濃度 E1-3S：34.3ng/L, E2-3S：17.1ng/L, E3-3S：10.4ng/L 程度が除去可能であるとわかった。

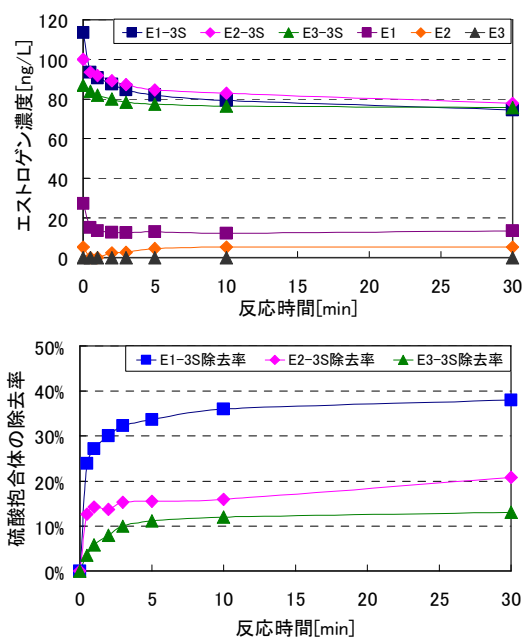


図 5.1 塩素処理による遊離体と硫酸抱合体濃度と除去率（上図：エストロゲン濃度 下図：硫酸抱合体の除去率）

6. まとめ

本研究のまとめを以下に示す。

- 1) 誘導体化処理を検討した結果、E1, E2, E3 遊離体で目標定量下限値を満たすことができた。
- 2) 酸処理を検討した結果、抱合体濃度 100～500ng/ml で測定可能であることがわかった。
- 3) 流入原水中の工場排水率が低いと総エストロゲン濃度が高いため、流入原水中に含まれる総エストロゲン濃度は、家庭汚水中に含まれる人のし尿が排出源であることが示唆された。
- 4) 流入原水中のエストロゲン構成比は、遊離体が約 60～70%の大部分を占め、特に E3 遊離体が高い割合で存在した。抱合体は、硫酸抱合体が殆どを占め、特に E3-3S 硫酸抱合体が高い割合を占めた。
- 5) 流入原水中の E1, E3 遊離体濃度は、秋期の方が冬期より高く、E1-3S, E3-3S 硫酸抱合体濃度は、冬期の方が秋期より高い傾向にあった。
- 6) 下水処理場に流入した総エストロゲン負荷量は、92～100%で除去されていた。
- 7) 塩素処理室内実験の結果、反応時間 10～15 分で硫酸抱合体濃度 E1-3S：34.3ng/L, E2-3S：17.1ng/L, E3-3S：10.4ng/L 程度が除去可能であるとわかった。

参考文献

- 1) 足立ら：17β-エストラジオール及びその抱合体の下水中における挙動，第 34 回に本水環境学会年会講演集，pp.480,2000
- 2) 社団法人日本水環境学会関西支部：アプローチ 環境ホルモンの基礎と水環境における最前線，技術堂出版，pp.21-pp.41, pp.160-pp.165, 2003
- 3) 奥村洋一：GC/MS による天然エストロゲン抱合体の分析法の開発と下水試料への適用，大阪市立大学大学院前期修士論文，2009.3
- 4) Liu Ze-hua：Studies on analytical methods of endocrine disrupting chemicals at a municipal wastewater treatment plant，大阪市立大学大学院後期博士論文，2010.3
- 5) 日本下水道協会：下水試験方法/追補暫定版（内分泌攪乱化学物質編及びクリプトスポリジウム編），pp.59, 2002

討 議 等

◆討議 [矢持教授]

下水管渠内でエストロゲン物質が分解されるのは何故か。

◆回答：家庭污水は、下水管渠を經由して下水処理場に流入しますが、その下水管渠内には家庭污水に由来する夾脱物質などの様々な物質が含まれていることが考えられ、それらの物質によってエストロゲン物質が分解しているのではないかと考えられます。また、下水の水温の影響により、下水管渠内で分解していることも考えられます。さらに、本調査結果から人のし尿中の大部分を占めるグルクロン酸抱合体が殆ど流入原水中に含まれていないことから、グルクロン酸抱合体が特にそれらの影響を受けやすいことが考えられます。

◆討議 [鍋島講師]

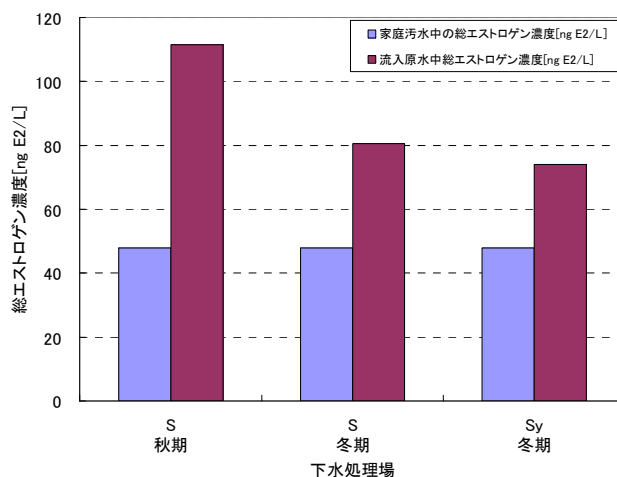
水温の変化は影響するのか。

◆回答：本研究で実施した秋期と冬期の S 下水処理場の流入原水中の硫酸抱合体濃度と遊離体濃度を比較すると、硫酸抱合体は冬期で高く、秋期は低くなり、遊離体は秋期で高く、冬期で低くなる傾向にありました。その理由として、下水の水温が高い秋期では硫酸抱合体が分解あるいは脱抱合していること、また冬期では分解しにくいことが考えられました。そのため、下水の水温の変化はエストロゲン物質の濃度に影響していると考えました。さらに、他の下水処理場の秋期と冬期と下水の水温データから、秋期：約 22～24℃、冬期：約 16～17℃であり、水温差はおよそ 5～8℃程度であったと考えられます。

◆討議 [貫上教授]

家庭污水から下水処理場で ER 活性は高くなっているのか。

◆回答：回答図 1 に、家庭污水と各下水処理場の流入原水中の総エストロゲン濃度を、RBA 値を用いて積算した E2 換算濃度[ng E2/L]の結果を示します。回答図 1 から、家庭污水中より流入原水中に含まれる総エストロゲン E2 換算濃度[ng E2/L]の方が高い結果となりました。



回答図 1 家庭污水と各下水処理場の流入原水中の総エストロゲン濃度[ng E2/L]

◆討議 [矢持教授]

冬期において流入原水から終沈流出水で E1 遊離体が増加しているのはなぜ。

◆回答：流入原水から終沈流出水で E1 遊離体濃度が増加した理由として、流入原水中に含まれる E1-3S, E1-3G 抱合体が脱抱合して E1 遊離体に変化したこと、また E2 遊離体が酸化して E1 遊離体に変化したことから、E1 遊離体濃度が増加したと考えられます。また、測定誤差によることも考えられることから、今後より詳細に検討する必要があると考えています。

◆討議 [水谷准教授]

何故遊離体や硫酸抱合体、グルクロン酸抱合体などを色々と検討したのか。

◆回答：水環境中には遊離体のみでなく抱合体も存在するため、抱合体も含めたエストロゲン物質の挙動を把握する必要があります。そのため、本研究では特に水環境で高く検出されている E1, E2, E3 遊離体 3 種と E1-3S, E2-3S, E3-3S, E1-3G, E2-3G, E3-3G 抱合体 6 種を対象物質としました。