ノート

食品用プラスチック製品及び玩具中のノニルフェノール

(平成 12 年 1 月 28 日受理)

河村 葉子* 前原 玉枝* 飯嶋 広代* 山田 隆*

Nonylphenol in Food Contact Plastics and Toys

Yoko KAWAMURA, Tamae MAEHARA, Hiroyo IJIMA and Takashi YAMADA

(National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan)

Nonylphenol (NP) was surveyed by GC/MS-SCAN and quantified by GC/MS-SIM in 207 samples of food contact plastics and baby toys. NP was found in 36 samples. Polyvinyl chloride wrapping film and gloves contained the highest levels and frequencies of NP. Next highest was polystyrene disposable cups. NP was also detected in a few polypropylene, polycarbonate, ABS and styrene-butadiene products, though it was not detected in polyethylene, AS or polyvinylidene chloride products. The migration test was carried out for high-residue samples. High concentrations of NP were released into *n*-heptane at 25°C for 60 min. The origin was presumed to be a degradation product of tris(nonylphenyl)phosphite (TNP) or tris(mono and/or dinonylphenyl)phosphite, which are anti-oxidants, because some samples that contained NP also contained TNP.

(Received January 28, 2000)

Key words: 食品用プラスチック製品 food contact plastics; 乳幼児用玩具 baby toys; ノニルフェノール nonylphenol; 器具・容器包装 utensils, containers and packages; ガスクロマトグラフィー/質量分析法—選択イオンモード GC/MS-SIM; 材質試験 material test; 溶出試験 migration test; トリス(ノニルフェニル)フォスファイト tris(nonylphenyl)phosphite; ポリ塩化ビニル polyvinyl chloride; ポリスチレン polystyrene

緒言

ノニルフェノールについては、Soto ら¹⁾ がポリスチレン試験管から溶出してヒト乳ガン細胞 MCF₇ を増殖させ、卵巣摘出ラットの子宮内膜細胞を増殖させるなど、エストロゲン様作用を持つことを報告して注目された。また、White ら²⁾ はノニルフェノールなどのアルキルフェノール系化合物がピテロゲニン遺伝子の発現及び転写を促進すること、Jobling ら³⁾ はノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートの分解物がニジマスの精巣の成長を抑制することを報告し、英国の河川における雄の魚類の雌化⁴⁾ の原因物質がノニルフェノールを含むノニルフェノールエトキシレート関連化合物である可能性を強く示唆した。

ノニルフェノールは、洗浄剤として使用される非イオン界面活性剤ノニルフェノールエトキシレートの分解物であり、主に河川などの環境汚染が問題となっている。

一方、プラスチック製品においては、添加剤である酸化防止剤のトリス(ノニルフェニル)フォスファイトやトリス(ミックスド、モノ及びジノニルフェニル)フォスファイ

ト、界面活性剤のノニルフェノールエトキシレートの製造原料である。そのため、それらの添加剤の不純物として、あるいは分解物として、プラスチック中にノニルフェノールが残存することが考えられる。また、ノニルフェノールがそのまま酸化防止剤として添加されることもある。

著者らは前報⁵⁾ において、ポリ塩化ビニル製ラップフィルム、手袋及び玩具にノニルフェノールが残存していることを報告した。しかし、それ以外の食品用プラスチック製品についても残存が懸念された。そこで、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリカーボネート、ポリスチレン及びスチレン関連樹脂製の器具・容器包装及び玩具について、ノニルフェノールの検索を行い、残存量を定量した。今回定量法として GC/MS-SIM を用いたことから、ポリ塩化ビニル及びポリ塩化ビニリデン製品についても再度分析した。また、残存がみられた試料について、食品擬似溶媒による溶出試験を行った。更に、ノニルフェノールの残存原因を明らかにするため、材質中のトリス(ノニルフェニル)フォスファイト及びノニルフェノールエトキシレートの検索を行ったので報告する。

* 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

実験方法

1. 試料

ポリエチレン製品: ポリ袋, ラップフィルム, 調味料入れ, バラン, 包装食品の袋 (冷凍食品・加工食品・精米・砂糖などの袋, 果実用ネット), 包装食品の容器 (豆腐などの容器, マヨネーズチューブ), その他 (絞り袋, 密閉容器のふた, 手袋, まな板) 合計 53 検体

ポリプロピレン製品: ラップフィルム (おにぎり用), 密閉容器, 食器 (マグカップ, 皿, カップ, れんげ), 調理用器具 (電子レンジ用小鍋, しゃもじ, 茶こし), 包装食品の袋 (パン・菓子・冷凍食品の袋), 包装食品の容器 (プリン・弁当・惣菜・マーガリン容器, 冷凍食品トレイ), その他 (弁当箱, 食品用ケース, ストロー, 電子レンジ用揚げ物袋, あくとりシートなど) 合計 44 検体

ポリカーボネート製品: 乳幼児用食器 (マグカップ, 茶碗), ほ乳びん, 計量カップ 合計 14 検体

一般用ポリスチレン製品: 使い捨てカップ, 食品用ケース, マグカップ, その他 (下ろし金, 油引きの容器) 合計 11 検体

耐衝撃性ポリスチレン製品: 使い捨てカップ, 包装食品の容器 (ヨーグルト・豆腐・即席食品容器) 合計 6 検体

発泡ポリスチレン製品: 使い捨てカップ・どんぶり, 食品用ケース, トレー, 即席食品容器 合計 13 検体

AS 樹脂製品: 食器など (マグカップ, 深皿, 箸, ピッチャー, クールポット, しょうゆ入れ), 調理用器具 (おろし器), その他 (弁当箱, 箸箱のふた) 合計 10 検体

ABS 樹脂製品: 箸箱, 玩具 (ガラガラ, 歯固め, おしゃぶりなど) 合計 7 検体

スチレンブタジエン樹脂製品: 玩具 (ガラガラ, 歯固め) 合計 2 検体

ポリ塩化ビニル製品: ラップフィルム, 包装食品の容器 (果実・野菜用ケース, 梅干し・ところてんなどの容器), 手袋, 玩具 (ソフトトイ, 歯固め, ガラガラ) 合計 40 検体

ポリ塩化ビニリデン製品: ラップフィルム, ケーシングフィルム 合計 7 検体

上記の試料又は試料で包装された食品は, 1995~99 年に東京都, 神奈川県などの小売店で購入した。また, 食品の包装材については, 食品を除いた後よく水洗いをして試料とした。

2. 試薬

ノニルフェノール (4-nonylphenol): 東京化成工業(株)製

トリス(ノニルフェニル)フォスファイト: Aldrich 社製
ノニルフェノールエトキシレート (Igepal® CO-720): エトキシレートの結合数 1~12 の混合物, Aldrich 社製

シクロヘキサン, 2-プロパノール, アセトニトリル, エタノール: 高速液体クロマトグラフ用, 片山化学工業(株)製
n-ヘプタン: 試薬特級, 和光純薬工業(株)製

水: MILLI-Q SP (Millipore 社製) により精製した超純水

ポリスチレン固相カートリッジ: GL-Pak PLS-2, 270 mg/6 mL, ジーエルサイエンス(株)製

フィルター: サンプレップ LCR13-LH (孔径 0.5 μ m, 直径 13 mm) Millipore 社製

3. 装置

ガスクロマトグラフ/質量分析計: ガスクロマトグラフ HP-6890, 質量分析計 HP-5973, コンピューター Kayak XA 以上 Hewlett Packard 社製

4. GC/MS 測定条件

カラム: キャピラリーカラム DB-1 (内径 0.25 mm, 長さ 5 m, 膜厚 0.1 μ m), J & W Scientific 社製の長さ 30 m のカラムを 5 m に切断したもの。

カラム温度: 50°C-20°C/min-300°C

注入口温度: 250°C, トランスファーライン温度: 280°C

キャリアーガス: He, 3.0 mL/min (1 psi 定圧)

注入量: 1 μ L

イオン化電圧: 70 eV, イオン加速電圧: 2.0 kV

測定モード

検索用: SCAN (m/z 40~700)

定量用: SIM (m/z 107, 121, 135, 149)

5. 材質試験

カッター又ははさみで細切した試料 0.5 g に, シクロヘキサン-2-プロパノール (1:1) 混液 10 mL を加え, 37°C で一晩静置後, フィルターでろ過して抽出液とした。抽出液 5.0 mL を 40°C の水浴上で窒素気流下約 0.2 mL まで濃縮し, 50°C のアセトニトリルを 5 mL 弱加えてできる限り溶解した。室温まで放冷した後アセトニトリルを加え 5.0 mL とし, その一部をメンブランフィルターでろ過して試験溶液とした。ただし, ポリカーボネート製品については, 既報⁶⁾の材質試験に従い試験溶液を調製した。試験溶液は, GC/MS-SCAN によりノニルフェノールの検索を行い, 残存が確認された試料について GC/MS-SIM により定量を行った。

6. 溶出試験

試料から 3×8.3 cm の試験片 (両面で約 50 cm²) を作成した。試験温度に保った溶出溶媒 50 mL に浸漬し, 恒温チャンバーに静置して溶出試験を行った。ただし, ラップフィルムは溶出面積 100 cm² の片面溶出器を用い, 試験温度に保った溶出溶媒 100 mL を注ぎ入れ恒温チャンバーに静置した。溶出条件は, 水 60°C 及び 95°C 30 分間, 20% エタノール 60°C 30 分間, *n*-ヘプタン 25°C 60 分間とした。

水を用いた溶出液は, ポリスチレン固相カートリッジに全量を負荷した後, 5 分間通気した。アセトニトリル 5 mL で溶離し, 溶離液は 1 mL に濃縮して試験溶液とした。20% エタノールを用いた溶出液は, 同量の水で希釈した後, 水溶出液と同様に試験溶液を調製した。また, *n*-ヘプタンを用いた溶出液は 1 mL まで濃縮し試験溶液とした。

実験結果及び考察

1. ノニルフェノールの定量

ノニルフェノールはノニル基の分枝が異なる多数の異性体の混合物であるが、各化合物の標準品を入手することはできない。GC/MSではこれらの異性体が多数のピークを示し、しかも各ピークごとにマススペクトルが異なるため、異性体の存在比が標準品と異なる場合には定量は困難となる。一方、HPLC-UVでは、各異性体が1個ずつフェノール基をもつことから検出感度はほぼ同じと考えられ、またピークはほぼ1本となる。そのため、前報⁵⁾では、GC/MS-SCANで検索した後、HPLC-UVにより定量を行った。

今回、各種プラスチックについて、GC/MS-SIMにより測定を行ったところ、検出されたノニルフェノールはほぼ標準品と同じパターンを示した。そこで、HPLC-UVよりも夾雑物による妨害を受けにくいGC/MS-SIMによる定量を試みることにした。

Fig. 1. GC/MS-SCAN and SIM total ion chromatogram of nonylphenol
Nonylphenol: 100 ng
Peak number: see Table 1

ノニルフェノールのGC/MS-SIMによる定量については、磯部ら⁷⁾、Tsudaら⁸⁾が報告しているが、いずれも選択した数種のフラグメントイオンのトータルイオンクロマトグラムにより、ノニルフェノールピーク群の合計面積を求め定量を行っている。しかし、この方法ではノニルフェノールのパターンの違いや夾雑物の影響を判断することができない。そこで、Fig. 1に示すように、ノニルフェノールから6本のピークを選択し、各ピークがノニルフェノール全体を代表すると考え、それぞれのベースピークイオンを用いて定量し、それらの定量値のばらつきが少ないことを確認した後、最高及び最低値を除く4個の平均値を測定値とした。これらのピークの保持時間とベースピークイオン及び特徴的なフラグメントイオンをTable 1に示した。

もし、ばらつきが大きい場合には、夾雑ピークの有無を確認し、夾雑ピークが存在する場合には、その影響を受けていないピークを用いて定量する。また、夾雑ピークが存在せず、検出されたノニルフェノールのパターンが標準品と異なる場合には、この方法では定量できない。ただし、今回の調査では、検出されたすべてのノニルフェノールで6本のピークによる測定値がほぼ一致しており、上記の方法で定量を行った。

6本のピークによるノニルフェノールの検量線は、いずれも0.2~200 ngの範囲で直線性がみられた。また、定量限界は標準溶液で0.2 µg/mL、材質試験で10 µg/g、溶出試験で10 ng/cm²（ラップフィルムでは5 ng/cm²）であった。

材質試験におけるGC/MS-SIMとHPLC-UVの測定結果を比較すると、多くの製品ではほぼ近似した値を示した。しかし、ポリ塩化ビニル製品の一部などでGC/MS-SIMの方が低い値を示したものがあり、HPLC-UVで夾雑ピークを測り込んでいた可能性が示唆された。

2. プラスチック製品中のノニルフェノールの残存

プラスチック製器具・容器包装及び乳幼児用玩具207検体について、ノニルフェノールの残存の有無及び残存量を調べた (Table 2)。

ポリエチレン製品では、ポリ袋、ラップフィルムなど53検体のいずれからも検出されなかった。

ポリプロピレン製品では、密閉容器、食品包装材など44検体のうち、冷凍食品のトレイ1検体から51 µg/g検出された。

Table 1. Retention Times and Fragment Ions of Nonylphenol Isomer Peaks

Peak number	Retention time (min)	Base peak ion (<i>m/z</i>)	Characteristic ions (<i>m/z</i>)				
1	3.49	135	107	136	121	220	91
2	3.56	149	107	121	135	191	220
3	3.59	135	121	149	107	191	136
4	3.67	149	107	121	177	163	150
5	3.73	135	107	136	41	134	95
6	3.75	149	107	121	150	135	55

Table 2. Residue of Nonylphenol in Food Contact Plastics and Toys

Material	Product	Total number	Found number	Found level (μg/g)								
Polyethylene	Plastic bag	19	0									
	Wrapping film	6	0									
	Sauce bottle	4	0									
	Partition of meal (Baran)	3	0									
	Food package (Bag)	11	0									
	Food package (Container)	5	0									
	Miscellaneous	5	0									
Total		53	0									
Polypropylene	Wrapping film (for rice ball)	5	0									
	Airtight receptacle	4	0									
	Tableware	5	0									
	Kitchen utensil	3	0									
	Food package (Bag)	8	0									
	Food package (Container)	8	1	51								
	Miscellaneous	11	0									
Total		44	1									
Polycarbonate	Infant tableware	9	1	84								
	Nursing bottle	4	1	324								
	Measuring cup	1	0									
Total		14	2									
Polystyrene	GPPS	Disposable cup	3	2	252 499							
		Food case	3	2	17 30							
		Mug	2	0								
		Kitchen utensil	3	0								
	HIPS	Disposable cup	3	3	23 88 139							
		Food package (Container)	3	0								
	Foam	Disposable cup, bowl	3	0								
		Food case, tray	3	0								
		Instant food cup	7	0								
	Total		30	7								
AS plastics	Tableware	7	0									
	Kitchen utensil	1	0									
	Miscellaneous	2	0									
Total		10	0									
ABS plastics	Chopstick case	1	0									
	Toy	6	2	114 143								
	Total		7	2								
Styrene-butadiene	Toy	2	1	210								
Polyvinyl chloride	Wrapping film	16	16	10	48	398	440	592	708	820		
				850	946	1,140	1,300	1,500				
				1,950	2,310	2,360	2,600					
	Food container	10	0									
	Gloves	4	4	356	934	1,690	2,390					
	Toy	10	3	392	504	1,300						
Total		40	23									
Polyvinylidene chloride	Wrapping film	3	0									
	Casing film	4	0									
	Total		7	0								

Determination limit: ND < 10 $\mu\text{g/g}$

GPPS: general-purpose polystyrene, HIPS: high-impact polystyrene, Foam: polystyrene foam

AS: acrylonitrile-styrene, ABS: acrylonitrile-butadiene-styrene

Fig. 2. Typical GC/MS-SCAN total ion chromatograms of nonylphenol and tris(nonylphenyl)phosphite detected from plastic samples

(A) GPPS disposable cup; (B) polyvinyl chloride wrapping film; (C) polyvinyl chloride glove; (D) polyvinyl chloride toy

NP: Nonylphenol; TNP: Tris (nonylphenyl)phosphite

ポリカーボネート製品は、乳幼児用食器、ほ乳びんなど14検体のうち、マグカップ1検体から84 $\mu\text{g/g}$ 、ほ乳びん1検体から324 $\mu\text{g/g}$ 検出された。

ポリスチレンのうち、一般用ポリスチレン製品では、使い捨てカップ3検体中2検体から252及び499 $\mu\text{g/g}$ 、食品用ケース3検体中2検体から17及び30 $\mu\text{g/g}$ 検出されたが、マグカップや調理用器具からは検出されなかった。耐衝撃性ポリスチレン製品では、使い捨てカップ3検体すべてから23、88及び139 $\mu\text{g/g}$ 検出されたが、包装食品の容器からは検出されなかった。また、発泡ポリスチレン製品の使い捨てカップ、トレー、即席食品容器など13検体ではいずれからも検出されなかった。このように一般用及び耐衝撃性ポリスチレンの使い捨てカップで検出頻度が高かった。

スチレン関連樹脂のうち、AS樹脂製品ではマグカップ、ピッチャーなど10検体のいずれからも検出されなかったが、ABS樹脂製品7検体では、幼児用パトカー及び歯がため各1検体から114及び143 $\mu\text{g/g}$ 、スチレンブタジエン樹脂製品2検体では、ガラガラ1検体から210 $\mu\text{g/g}$ 検出された。

ポリ塩化ビニル製品については、ラップフィルムでは16検体すべてから10～2,600 $\mu\text{g/g}$ (平均1,120 $\mu\text{g/g}$)、手袋も4検体すべてから356～2,390 $\mu\text{g/g}$ (平均1,340 $\mu\text{g/g}$)、玩具では10検体中ソフトイ3検体から392～1,300 $\mu\text{g/g}$ (平均732 $\mu\text{g/g}$) 検出されたが、食品容器からは検出されなかった。このようにポリ塩化ビニル製ラッ

プフィルム、手袋はともに全検体から検出され、また残存量も他の製品に比べて極めて高かった。

一方、ポリ塩化ビニリデン製品では7検体のいずれからも検出されなかった。

今回は、GC/MS-SCANで検索及び確認を行ってから、GC/MS-SIMにより定量を行った。しかし、GC/MS-SIMにおいて測定している4種類のフラグメントイオン及び特徴的なピークパターンから、GC/MS-SIMのみで確認も十分に可能であった。

3. ノニルフェノールの溶出試験

ノニルフェノールが残存していた一般用及び耐衝撃性ポリスチレン製使い捨てカップ各1検体、ポリ塩化ビニル製ラップフィルム及び手袋各2検体について、食品擬似溶媒による溶出試験を行った。

Table 3に示すように、ポリ塩化ビニル試料の場合、水60℃30分間における溶出量は15～27 ng/cm^2 であった。95℃では31～47 ng/cm^2 と2倍程度高く、20%エタノール60℃30分間では46～122 ng/cm^2 と3～6倍程度高くなった。溶出温度が高いほど、また溶出溶媒の脂溶性が高くなるほど溶出量が増加することが示された。一方、ポリスチレン試料では溶出量が低く、残存量から考えてもポリ塩化ビニルより溶出しにくいと推察された。

n-ヘプタン25℃60分間の溶出では、ポリスチレン、ポリ塩化ビニルのいずれの試料から、296～36,378 ng/cm^2 と極めて高い溶出がみられた。ラップフィルムや手袋1のような薄い試料では、溶出比が100%以上と試料

Table 3. Migration of Nonylphenol into Food Simulants

Material	Sample	Residue ($\mu\text{g/g}$)	Weight per unit area (mg/cm^2)	Migration level (ng/cm^2)			
				Water 60°C, 30 min	Water 95°C, 30 min	20% Ethanol 60°C, 30 min	<i>n</i> -Heptane 25°C, 60 min
Polystyrene (GPPS) (HIPS)	Disposable cup	499	7.82	ND	20	18	2,236 (57)
	Disposable cup	139	8.96	ND	ND	ND	296 (24)
Polyvinyl chloride	Wrapping film 1	1,952	1.34	16	45	104	2,965 (113)
	2	1,304	1.45	15	39	86	2,340 (124)
Polyvinyl chloride	Gloves 1	934	7.50	18	31	46	7,733 (110)
	2	2,386	23.89	27	47	122	36,378 (64)

ND < 10 ng/cm^2 (): percentage of migration ratio = migration level in *n*-heptane / (residue $\times$ weight per unit area) $\times$ 100

中に残存するノニルフェノールの全量が溶出しており、その他のやや厚みのある試料でも残存量の 24~64% であり、脂溶性溶媒に極めて溶出しやすいことが示された。

4. ノニルフェノールの残存原因の検討

プラスチック製品中のノニルフェノールの残存原因として、酸化防止剤のトリス(ノニルフェニル)フォスファイト及びトリス(ミックスド、モノ及びジノニルフェニル)フォスファイト、又は界面活性剤のノニルフェノールエトキシレートが考えられた。なお、トリス(ミックスド、モノ及びジノニルフェニル)フォスファイトにはトリス(ノニルフェニル)フォスファイトも含まれている。

これらの添加剤はノニルフェノールを原料としているため、製剤中に不純物として少量のノニルフェノールを含有しており、またプラスチックに添加された後、製造工程などで分解してノニルフェノールを生成する。

そこで、トリス(ノニルフェニル)フォスファイト及びノニルフェノールエトキシレートの標準品を用いて、GC/MS-SCAN により材質中の検索を行った。その結果、ポリ塩化ビニル製ラップフィルム 5 検体、手袋 1 検体、玩具 1 検体、ポリスチレン製使い捨てカップ 1 検体から少量のトリス(ノニルフェニル)フォスファイトが検出された (Fig. 2)。しかし、ノニルフェノールエトキシレートは全く検出されなかった。

業界自主基準で使用できる添加剤として、ポリカーボネート、ポリスチレン、ABS 樹脂ではトリス(ノニルフェニル)フォスファイト及びトリス(ミックスド、モノ及びジノニルフェニル)フォスファイト、ポリ塩化ビニルでは前者、ポリエチレン、ポリプロピレン、AS 樹脂では後者が収載されている。

以上より、今回プラスチック製品中から検出されたノニルフェノールは、酸化防止剤であるトリス(ノニルフェニル)フォスファイト又はトリス(ミックスド、モノ及びジノニルフェニル)フォスファイトに由来するものと推察された。

結 論

プラスチック製器具・容器包装及び乳幼児用玩具 207 検体について、ノニルフェノールの残存量を GC/

MS-SIM により測定した。その結果、ポリ塩化ビニル製ラップフィルムと手袋で高濃度、高頻度に残存がみられ、ポリスチレン製使い捨てカップでも高頻度に検出された。その他、ポリカーボネート、ポリプロピレン、ABS 樹脂及びスチレンブタジエン製品からも検出されたが、ポリエチレン、AS 樹脂、ポリ塩化ビニルデン製品からは検出されなかった。

ノニルフェノールが残存していたポリスチレン製使い捨てカップ、ポリ塩化ビニル製ラップフィルム及び手袋について溶出試験を行ったところ、水、20% エタノールでも溶出がみられたが、*n*-ヘプタンにより極めて高い溶出が認められた。また、ノニルフェノールを含有する試料から酸化防止剤のトリス(ノニルフェニル)フォスファイトが検出され、製品中のノニルフェノールはこの不純物又は分解生成物と推察された。

トリス(ノニルフェニル)フォスファイト及びそれを含むトリス(ミックスド、モノ及びジノニルフェニル)フォスファイトは、業界自主基準で使用できる添加剤として収載されている。しかし、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリカーボネートなどにおいては、添加量の制限や可塑剤と併用しないことなどが記載されているが、ポリ塩化ビニルではそのような制限はみられない。これらの使用制限の根拠は明らかではないが、今回ポリ塩化ビニル製品で特にノニルフェノールの残存量や溶出量が高かった一因として、使用制限が加えられていなかったことが挙げられよう。

文 献

- 1) Soto, A. M., Justicia, H., Wray, J. W., Sonnenschein, C., *p*-Nonylphenol: An estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. *Environ. Health Perspect.*, **92**, 167-173 (1991).
- 2) White, R., Jobling, S., Hoare, S. A., Sumpter, J. P., Parker, M. G., Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology*, **135**, 175-182 (1994).
- 3) Jobling, S., Sheahan, D., Osborne, J. A., Matthiessen, P., Sumpter, J. P., Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environ. Toxicol.*

- Chem., **15**, 194-202 (1996).
- 4) Purdom, C. E., Hardiman, P. A., Bye, V. J., Eno, N. C., Tyler, C. R., Sumpter, J. P., Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem. Ecol.*, **8**, 275-284 (1994).
 - 5) Kawamura, Y., Tagai, C., Maehara, T., Yamada, T., Additives in polyvinyl chloride and polyvinylidene chloride. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **40**, 274-284 (1999).
 - 6) Kawamura, Y., Koyano, Y., Takeda, Y., Yamada, T., Migration of bisphenol A from polycarbonate products. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **39**, 206-212 (1998).
 - 7) Isobe, T., Satoh, M., Ogura, N., Takada, H., Determination of nonylphenol by GC-MS in environmental samples in Tokyo. *Mizu Kankyo Gakkaishi*, **22**, 118-126 (1999).
 - 8) Tsuda, T., Takino, A., Kojima, M., Harada, H., Muraki, K., Gas chromatographic-mass spectrometric determination of 4-nonylphenol and 4-*tert*-octylphenol in biological samples. *J. Chromatogr. B*, **723**, 273-279 (1999).