

環境水中のノニルフェノール分析上の問題点

熊谷 宏之

Problems on the Analysis of 4-Nonylphenol in Environmental Water

Hiroyuki KUMAGAI

1. はじめに

ノニルフェノール（以下、NP と示す。）は、直鎖のノニル基、または分岐ノニル基がフェノール環に結合した環式有機化合物であり、ノニル基の分枝の違いおよび置換位置の違いにより理論上 211 の異性体が存在する¹⁾。NP は、非イオン界面活性剤であるノニルフェノールエトキシレート（NPnEO）の合成原料などとして使用され、水環境中に検出される NP は、NP が排出されたものと、NPnEO として排出されたものが分解過程を経て副生成したものとがある^{2,3)}。

NP は、魚類に対して GHS 急性毒性有害区分 I に相当する強い有害性を有し¹⁾、メダカに対し内分泌攪乱作用を有することが強く推察されているが^{4,5)}、2012 年 8 月に環境基本法に基づく「水質汚濁に係る生活環境の保全に関する環境基準」のうち、「水生生物の保全に係る環境基準」の項目に追加された。環境基準値は、水域・類型別に 0.6 ~ 2 $\mu\text{g/L}$ とされ、当県においても水域類型の指定に向け、当センターでは河川と湖沼において 30 地点で年 2 回水質調査を行っている。

NP の測定方法は、環境省告示第 59 号（告示第 127 号による改正）の付表 11 に公定法として示されており、JIS K 0450-60-10⁶⁾に準拠した方法である。この方法は、主成分である分岐型の 4-ノニルフェノール（4-NP）の 13 種類の異性体濃度を求め、その和を NP の濃度とするものである。また、付表 11 の備考には、測定方法の定量下限を 0.06 $\mu\text{g/L}$ と示している。しかし、当センターにおいては、平成 25（2013）年度の調査開始から、その目標定量下限値（0.06 $\mu\text{g/L}$ ）を報告下限値とするのは、精度管理上は妥当性を欠き困難であると評価していた。

そこで、従来の前処理操作のメソッドを見直すとともに、各種ブランク試験などを行い、問題点の把握と課題解決に当たった。その結果、平成 29（2017）年度においては、定量下限値が 0.06 $\mu\text{g/L}$ を満足でき、いくつかの分析上の問題点が確認できたので報告する。

2. 実験方法

2. 1 分析操作法

分析操作のフローを図 1 に示す。

従来の前処理操作においては、付表 11 のとおり濃縮は 1000 倍としていたが、平成 29 年度は、最終濃縮量を 0.5mL から 0.1mL に見直し濃縮は 5000 倍とした。

また、固相カラムからの溶出は、市川ら⁷⁾や藤川ら⁸⁾が報告しているとおり、アセトンからジクロロメタンに見直し、転溶操作を省略した。実験室内でのジクロロメタンの使用は、揮発性有機化合物（VOC）測定に悪影響を及ぼすおそれがあることや、人体への有害性なども懸念される

ため、従来はアセトンからヘキサンに転溶していた。しかし、付表 11 のとおり最終検液をジクロロメタン溶液とした。

さらに、既報⁹⁾では GC-MS/MS 法においてクリーンアップ操作は省略できるとしていたが、抽出液が着色し夾雑物が多いとみられる試料は、クリーンアップ操作を行うことを原則とした。なお、付表 11 のシリカゲルカラムクロマトグラフの作成は多大な労力を要することから、市川ら⁶⁾の報告に倣い、市販のシリカゲルカートリッジを用いた。

2. 2 試薬

4-NP 標準液は、100 mg/L アセトン溶液であるノニルフェノール異性体混合物（和光純薬工業㈱、環境分析用）、4-NP サロゲート溶液は、10 mg/L アセトン溶液である 4-(3,6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノール-¹³C₆ 標準液（関東化学㈱、環境分析用）、4-NP 内標準液（シリンジスパイク溶液）は、1000mg/L ジクロロメタン溶液である 4-n-ノニルフェノール-d₄ 標準品（ジーエルサイエンス㈱）を用いた。

この 3 種類の標準原液を中間濃度に調製し、検量線作成用標準液を調製した。濃度系列は、サロゲートとシリンジスパイクの濃度が 100 $\mu\text{g/L}$ に対して、4-NP の濃度が 10、20、50、100、200、400、1000 $\mu\text{g/L}$ となるよう 2mL バイアル内に約 1mL として段階的に希釈調製した。

アセトン、ジクロロメタンなどの溶媒は、残留農薬 PCB 試験用（和光純薬工業㈱または関東化学㈱）を用いた。

2. 3 GC-MS/MS 分析条件

GC-MS/MS は Agilent Technologies 7000C を使い、多重反応モニタリング（MRM）モードで測定した。分析条件を表 1 に、各対象物質のモニターイオンを表 2 に示す。

2. 4 各種ブランク試験（固相カラム等の比較試験）

ジーエルサイエンス㈱製の 3 種類の固相カラム（PLS-2、PLS-3、PLS-3 GLASS）を用い、図 1 の分析操作法に準じて測定した。ただし、ろ過とクリーンアップ操作は省略した。固相カラム間でブランク値などを比較して、以降の実験で使用する固相カラムを決定した。

また、精製のシリカゲルカートリッジ（Inert Sep SI（500mg/6mL））のほか、脱水用のドライカートリッジ（Inert Sep Slim-J Dry 1.4g）などを用いて、各種ブランク試験を行った。サロゲートを添加し、ジクロロメタンで溶出させブランク値を確認した。

2. 5 定量下限値（MQL）の算出

超純水に標準液を添加し、図 1 の分析操作を 6 回繰り返して分析方法の定量下限値（MQL）を算出した。なお、最終濃縮液（0.1mL 定容）における 4-NP の設定濃度が 50 $\mu\text{g/L}$ となるよう標準液を添加した。

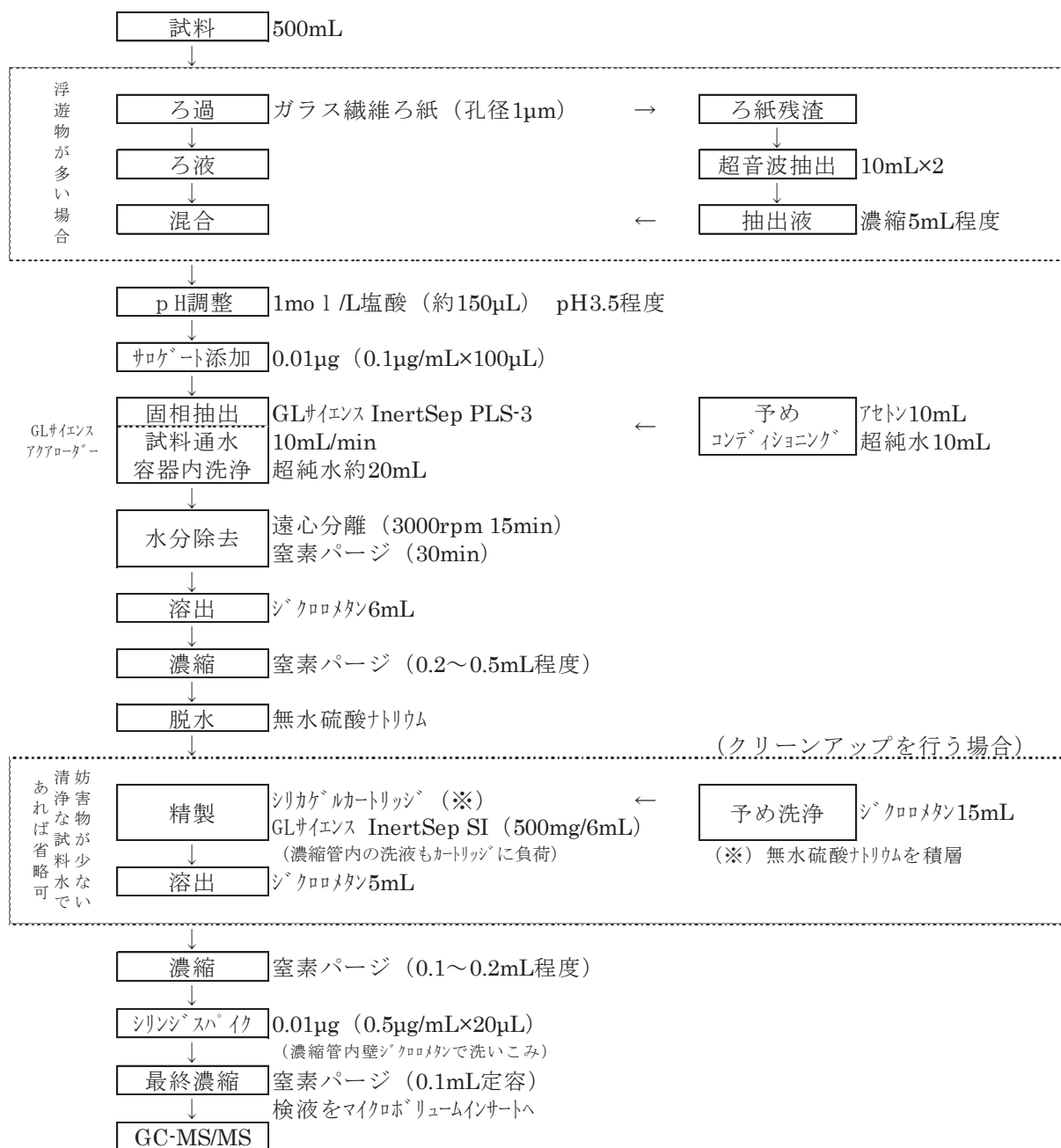


図1 分析操作フロー

表1 GC-MS/MS 分析条件

system :	GC-MS/MS Agilent Technologies 7000C
Column :	Agilent J&W GC Columns VF-5MS 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm
Col. Temp. :	50°C (1 min. hold) - 8°C/min. - 280°C
Carrier Gas :	He 1.2 mL/min. (Constant Flow)
Injection :	Splitless 1 min., 280°C
Detection :	MS MRM
Interface Temp. :	280°C
Injection Vol. :	2 µL
ion source :	280°C

表2 GC-MS/MS モニターイオン

化合物名	トランジション (Target)	トランジション (Qual.)
4-NP01	121 -> 77	121 -> 103
4-NP02	135 -> 107	135 -> 77
4-NP03	135 -> 107	135 -> 77
4-NP04	149 -> 107	149 -> 55
4-NP05	135 -> 107	135 -> 77
4-NP06	149 -> 107	149 -> 55
4-NP07	135 -> 107	135 -> 77
4-NP08	163 -> 107	163 -> 121
4-NP09	149 -> 107	149 -> 55
4-NP10	163 -> 107	163 -> 121
4-NP11	135 -> 107	135 -> 77
4-NP12	191 -> 121	191 -> 107
4-NP13	149 -> 107	149 -> 55
Surr.	155 -> 113	155 -> 127
I.S.	111 -> 80	224 -> 111

備考 4-NP01~13は、4-NPの各異性体番号を表す

2. 6 試料の保存方法の違いによる比較試験

県内中小河川で4-NPが検出されやすい1地点を試験の対象とした。2017年8月に採水し、ガラス瓶にそのまま冷蔵保存した試料と、ステンレス缶に冷凍保存した試料を採取から約3ヵ月後に分析し、その濃度を比較した。

3. 結果および考察

3. 1 各種ブランク試験の結果

3. 1. 1 固相カラムの比較試験

ジーエルサイエンス(株)製の3種類の固相カラム(PLS-2、PLS-3、PLS-3 GLASS)を用いてブランク値を比較した。ブランク試験(分析方法から試料濃度換算)の結果は表3に示すとおり、固相カラム間で差はほとんど認められず、ブランク値(13異性体の和)は0.01 μ g/L程度であった。その値は無視できるレベルではないが、生物特Aの環境基準値(0.6 μ g/L)の10分の1は十分下回っており、小西ら¹⁰⁾が報告したブランク試験の結果(PLS-3では0.022 \pm 0.001 μ g/L)と比べても下回っていた。また、個々の異性体をみると、後で述べる定量下限値(MQL)未満かMQLと同等であった。なお、ガラス製の固相カラムでは自動固相抽出装置(ジーエルサイエンス(株)製アクアローダー)の使用に当たり操作上の難点があった。このため、抽出操作の容易さなど総合的に考慮し、以降の試験においては、従来の標準作業手順どおりPLS-3を用いることとした。

表3 各固相カラムのブランク試験結果

固相カラム	NP濃度 (μ g/L)	サロゲート 回収率(%)
PLS-2	0.010	67
PLS-3	0.011	68
PLS-3 GLASS	0.010	62

3. 1. 2 ブランク値の変動

超純水とPLS-3を用い、5検体(1~2検体を3バッチ)のブランク試験を2回(2017年6月、10月)に時期を分けて行った。その結果は表4のとおりであり、2回とも全ての検体で目標定量下限値(0.06 μ g/L)の5分の1を下回っており、2回目(10月)の方がブランク値およびばらつきとも良好となった。

表4 PLS-3のブランク値の変動 (単位; μ g/L)

検体	6月	10月
BL-1	0.009	0.004
BL-2	0.008	0.003
BL-3	0.007	0.004
BL-4	0.007	0.005
BL-5	0.012	0.005
平均	0.009	0.004
標準偏差	0.002	0.001

3. 1. 3 その他ブランク試験

精製用のシリカゲルカートリッジ(Inert Sep SI (500mg/6mL))、脱水用のドライカートリッジ(Inert Sep Slim-J Dry 1.4g)について、ブランク試験した結果を表5に示す。この結果から、これらのカートリッジをジクロロメタンで適切に洗浄して用いれば問題ないとみら

れる。しかし、溶媒洗浄しなかったドライカートリッジでは、試料濃度換算で目標定量下限値(0.06 μ g/L)の2分の1程度のブランク値が検出された。これは、操作ブランク全体に与える影響が大きく、目標定量下限値(0.06 μ g/L)を満足できないおそれが考えられた。

表5 各種カートリッジ等のブランク試験結果

各種カートリッジ	NP濃度 (μ g/L)	サロゲート 回収率(%)
①Inert Sep SI (洗浄有り)	0.005	85
②Inert Sep Slim-J Dry (洗浄有り)	0.004	104
③Inert Sep Slim-J Dry (洗浄無し)	0.027	93
④PLS-3_slim+Slim-J Dry (洗浄有り)	0.011	74
⑤PLS-3_slim+Slim-J Dry (洗浄無し)	0.045	77

次に、固相カラムのPLS-3をスリムタイプにしたものを用い、ジクロロメタン逆流溶出時にドライカートリッジを連結させてブランク試験を行った。ドライカートリッジを溶媒洗浄しなかった試験では、試料濃度換算で目標定量下限値(0.06 μ g/L)の2分の1を超えるブランク値が検出された(表5の⑤)。一方、溶媒洗浄した試験では、目標定量下限値(0.06 μ g/L)の5分の1と低減しており(表5の④)、PLS-3を用いた同時期(10月)のブランク試験と比べ2倍程度高いが、6月のブランク試験と同程度であった。また、サロゲートの回収率は50%以上を満足しており、固相カラムとドライカートリッジを連結させる方法は有効ではないかとみられる。しかし、操作工程は減らせるものの、検体数が多すぎる場合は逆に煩雑な面もあるほか、バックフラッシュ(逆流)で溶出させることは妨害成分を溶出させやすくするデメリットも考えられる。したがって、実際の環境水試料を用いるなどさらに試験数を増やして検証する必要があると考え、今後の課題とした。

3. 2 分析方法の定量下限値(MQL)

超純水に標準液(最終検液の濃度を50 μ g/Lに設定)を添加し、分析操作を6回繰り返す、得られた分析値を試料濃度に換算して標準偏差(σ)を求め、 σ を10倍して定量下限値(MQL)を求めた。

表6 定量下限値(MQL) (単位; μ g/L)

	定量下限値 (MQL)	目標 定量下限値
NP01	0.001	0.003
NP02	0.004	0.008
NP03	0.005	0.01
NP04	0.001	0.003
NP05	0.002	0.005
NP06	0.0005	0.004
NP07	0.0009	0.004
NP08	0.0009	0.003
NP09	0.001	0.004
NP10	0.0009	0.003
NP11	0.003	0.006
NP12	0.0006	0.003
NP13	0.0008	0.004
4NP(total)	0.02	0.06

表6に示すとおり、定量下限値(MQL)は、各異性体0.0005~0.005 μ g/L、NP合計として0.02 μ g/Lと算出された。また、ブランク試験(5回繰り返す)の結果からも

同様に求めたところ、NP 合計の MQL は同程度であった。この試験結果は、目標定量下限値 (0.06 μ g/L) を満足しており、各異性体の報告下限値を MQL の 2~3 倍程度に設定し、報告下限値を 0.06 μ g/L にすることができた。

この結果を踏まえれば、試料量を半分の 250mL とするか、もしくは、サロゲートの添加量を 2 倍にして濃縮量を 200 μ L とする方法でも差し支えないとみられた。実際、県内中小河川の一部試料では、各異性体とサロゲートとの感度比が 5000 倍濃縮で検量線範囲を超えるものもあり、このような試料では濃縮率を 2500 倍にする方が適当であった。なお、過去のデータをみると、ブランク値が必ずしも十分に低減できていない分析データもみられた。これは、固相カラムのロットによる影響や溶媒洗浄の不足による汚染などが考えられる。公定法の 1000 倍濃縮 (試料量 500mL、濃縮 0.5mL) の方法では、検液のブランク値が標準液の低濃度領域 (10~50 μ g/L) を十分下回り、その精度 (ばらつき) が良好でなければ、目標定量下限値 (0.06 μ g/L) が満足できなくなるおそれがある。MQL は、ブランク値やその変動リスクなどを考慮しており、固相カラムやガラス器具などはアセトン等での洗浄を丁寧に行うことが重要と考えられる。

今回の MQL 算出は、全ての異性体が定量下限値付近 (S/N=10 程度) となるようにして標準液を添加した試験ではない。標準液の各異性体濃度組成はそれぞれ異なり、組成比が最小の NP12 が定量可能となるような最低濃度に合わせて添加したものである。もし、13 種の異性体全てについて、S/N=10 程度となるような試験を行おうとすれば、数段階の添加濃度において繰り返し操作を行うことが必要となる。これは、現実的にかかなり困難を伴う膨大な作業量となってしまふ。

3. 3 GC/MS/MS 測定による感度変動と回収率異常

GC/MS/MS 測定において、標準液濃度系列、河川水試料、標準液中間濃度 (差し込み試験)、河川水試料の順にサンプルを測定した。その感度 (レスポンス) の結果について、一部分を抜粋し表 7 に示す。

表 7 感度変動による回収率異常の例

サンプル	サロゲート (CS)	シリンジスパイク (RS)	レスポンス比 (CS/RS)
5_標準液 (200 μ g/L)	725164	319202	2.27
14_河川水試料-K	1867733	1859658	1.00
22_標準液 (200 μ g/L)	2081878	1739810	1.20

差し込み試験の標準液では、最初に注入した標準液濃度系列に比べ、感度がかかなり増大して変動し、サロゲートとシリンジスパイクの感度比としては 2 分の 1 程度 (回収率として 50%程度) となる異常がみられた。

いくつかの河川水試料については、最初の標準液濃度系列を基に算出した場合、回収率は 50%を大きく下回る結果もみられた。しかし、差し込み試験した標準液を基に回収率を算出したところ、50%以上と改善するものもみられ、最初の回収率は正確性を欠くものと判断された。

なお、河川水試料のシリンジスパイクの感度を見ると、最初に注入した標準液濃度系列に比べ著しく高く、試料の後に注入した差し込み試験 (標準液中間濃度) との比較では同程度であった。また、標準液のクロマトグラムをみると、シリンジスパイクがかかなりテーリングする現象が確認された。ちなみに、回収率異常の現象は認められたものの、差し込み試験の測定対象異性体とサロゲートとの感度比

は、検量線作成時に比べ $\pm 20\%$ 以内の変動であり、相対感度としては許容範囲内であった。

このように、試料溶液と標準溶液とで MS 応答が異なることによる回収率異常の現象は、試料マトリックスの影響によるものと考えられる。つまり、GC/MS/MS 系内の活性点が回収率異常を引き起こしていると考えられる。最初に注入した標準溶液は測定対象物質が活性点に吸着されるのに対して、試料注入後は、マトリックスが活性点をコーティングするため、吸着が抑制され多量の測定対象物質が検出されることだと推察される。

マトリックス効果による回収率異常の対策として、最初に標準液濃度系列を注入する前に、マトリックスを含む試料を注入して活性点をマスクする方法 (起爆注入) が効果的と考え、この対策を講じたところ、改善が認められた。他の対策として、ポリエチレングリコールのような擬似マトリックスを標準液に添加することなども考えられるが、長所や短所を整理し、より効果的な対策を今後講じていく必要がある。

3. 4 試料の保存方法の違いによる濃度差

2017 年 6 月に採取した河川水について、冷蔵保存しておいた 2 地点の試料を約 1 ヶ月後に前処理から再分析した。その結果、最初の分析結果に比べ、2 試料とも半分以下に濃度が低下し再現性が認められなかった。当該 2 試料は報告下限値 (0.06 μ g/L) 以上で最初は検出されたが、サロゲートの回収率が 50%をかかなり下回っていたため再分析したものである。しかし、再現性がみられない原因として、回収率の影響もあると考えたが、それだけで説明できるものか疑問が生じた。

このため、2017 年 8 月の追試験では、6 月に疑義が生じたものと同一地点の試料を採取し、試料の保存方法を変えて比較した。試料採取から約 3 ヶ月後に分析した NP 濃度 (13 異性体の和) の結果を表 8 に示す。

表 8 試料の保存方法と NP 濃度 (単位: μ g/L)

	冷蔵	冷蔵 (塩酸添加)	冷凍
NP01	0.0013	0.0008	0.0047
NP02	0.002	0.002	0.005
NP03	0.006	0.007	0.008
NP04	0.0025	0.0021	0.0063
NP05	<0.0009	<0.0009	0.0019
NP06	0.0016	0.0014	0.0048
NP07	0.002	0.0013	0.004
NP08	0.0013	0.0009	0.0031
NP09	0.0027	0.0022	0.0069
NP10	0.0011	0.0007	0.0027
NP11	<0.001	<0.001	0.003
NP12	<0.0002	<0.0002	0.0006
NP13	0.0007	0.0005	0.0022
4NP(total)	0.0212	0.0189	0.0532

注) 検出下限値未満の異性体はゼロとして合計した。

これをみると、保存方法が冷凍 (一晩で解凍) と冷蔵では 2 倍以上の濃度差が生じ、冷蔵の方が低くなった。また、固相抽出の際に試料水に塩酸を添加して pH3.5 程度に調製するが、予め冷蔵保存の試料に塩酸を添加しても、単に冷蔵したものと同程度の濃度となっており、冷凍と比べ明らかに低くなっていた。

NP は一般的には生物難分解性であるとみられており、公定法の付表 11 において、試料の保存方法や前処理開始の期限などに関する記載はない。しかし、微生物分解による環境中からの消失に関する報告^{11,14)} や NP を分解可能な微生物が河川底質やウキクサ存在下の環境水から分離されたとの報告^{15,16)}などもみられる。さらに、今回の試験結果では、データ数は少ないものの、試料の保存方法の違いによって濃度差が認められ、微生物分解の影響を受ける可能性が示唆された。個々の試料の特性により微生物分解の進行は一様ではないことも考えられるが、もし、再分析を行う必要性が生じた場合、冷蔵保存に一定期間の保存効果がなければ、再分析する意味がなくなる。

なお、各河川と湖沼で 30 検体を年 2 回採水しているが、速やかに分析することは現実的に困難である。現在の実験設備や人員では、多検体を他の分析項目（農薬類や NP 以外の水生生物保全に係る化学物質等）と同時並行的に試験する能力など備わっていない。また、全ての試料を冷凍保存できるスペースもない。今後、分析の信頼性と効率性をどのように両立していくのか、課題となる。

3. 5 クリーンアップの効果

クリーンアップ操作を省略した試料のうち、中小河川の一部で NP07 のピーク同定が困難となり、そのまま自動アサインすると NP07 が報告下限値以上で定量されるケースが生じた。標準液と比べ僅かにリテンションタイムにズレが認められたが、クオリアファイア比 (T/Q 比) は許容範囲内であった。この試料についてクリーンアップ操作を行い GC/MS/MS 測定したところ、図 2 のとおり妨害ピークが消失し支障なく同定することが可能となった。

したがって、GC/MS/MS 測定であっても、一部の中小河川についてはクリーンアップ操作により妨害成分を除去する必要があり、精製操作の省略は必ずしも適当でないことが確認された。

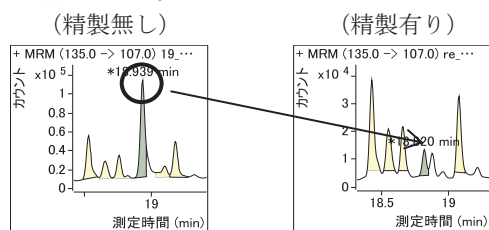


図 2 クリーンアップによる妨害ピークの消失

4. まとめ

河川水等の 4-NP 分析において、公定法の目標定量下限値 (0.06 $\mu\text{g/L}$) を満足するため、従来の前処理操作方法を見直し、各種の試験検討を行った。

その結果、分析方法の定量下限値 (MQL) を 0.06 $\mu\text{g/L}$ 以下にするには、濃縮率を公定法の 1000 倍から 2500 倍以上に見直すことが適当とみられ、ガラス器具や固相カラム等の洗浄などを適切に行いブランク値の低減に努めることが重要と考えられた。このようなブランクリスクなどを考慮すれば、目標定量下限値を 0.06 $\mu\text{g/L}$ とするのが公定法として妥当かやや疑問の余地もある。

また、他に分析上の問題点も確認された。GC-MS/MS 測定においては、マトリックス効果による回収率異常に注意する必要があり、標準液の注入前に試料を予め注入する

などの対策が必要であった。さらに、長期保存試料については保存方法 (冷蔵、冷凍) の違いから濃度差が確認され、単に冷蔵保存だけでは微生物分解の影響を受ける可能性が考えられた。

参考文献

- 1) 一般財団法人化学物質評価研究機構：CERI 有害性評価書 <http://www.cerij.or.jp>
- 2) 磯部友彦、高田秀重：水環境中におけるノニルフェノールの挙動と環境影響、水環境学会誌、203-208(2001)
- 3) W.Gigger, P.H.Brunner, W.Schaffner: Science, 225, 623, 1984.
- 4) 環境省：化学物質の内分泌かく乱作用に関する環境省の今後の対応方針について -ExTEND2016- (平成 28 年 6 月)
- 5) 環境庁環境保健部環境安全課：ノニルフェノールが魚類に与える内分泌攪乱作用の試験結果に関する報告、平成 13 年度第 1 回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料 (2001)
- 6) 日本工業規格：JIS K0450-60-10:2007 工業用水・工場排水中の 4-ノニルフェノールの異性体別試験方法 (2007)
- 7) 市川智宏 他：環境水中ノニルフェノールの測定方法に関する検討、愛知県環境調査センター所報、43, 9-6(2015)
- 8) 藤川和浩 他：ノニルフェノールの分析法の検討、福岡県保健環境研究所年報、41, 97-100(2014)
- 9) 松井亮：河川水中のノニルフェノール分析法の検討、福井県衛生環境研究センター年報、13, 85-86(2014)
- 10) 小西浩之 他：飲料水中のノニルフェノール分析法の検討、東京都健康安全研究センター研究年報、57, 319-323(2006)
- 11) Ekelund R., Granmo A., Magnusson K., Berggren M.: Biodegradation of 4-nonylphenol in seawater and sediment, Environ. Pollut., 79, 59-61(1993)
- 12) Topp E., Starratt A: Rapid mineralization of the endocrine-disrupting chemical 4-nonylphenol in soil. Environ Toxicol Chem 19, 313-318(2000)
- 13) Fujii K., Urano N., Kimura S., Nomura Y., Karube I.: Microbial degradation of nonylphenol in some aquatic environments, Fisheries Sci., 66, 44-48(2000)
- 14) Zhang Y., Sei K., Toyama T., Ike M., Zhang J., Yang M., Kamagata Y: Changes of catabolic genes and microbial community structures during biodegradation of nonylphenol ethoxylates and nonylphenol in natural water microcosms, Biochem. Eng. J., 39, 288-296(2008)
- 15) de Vries Y.P., Takahara Y., Ikunaga Y., Ushiba Y., Hasegawa M., Kasahara Y., Shimomura H., Hayashi S., Hirai Y., Ohta H.: Organic nutrient-dependent degradation of branched nonylphenol by *Sphingomonas* sp. YT isolated from a river sediment sample, Microb. Environ., 16, 240-249(2001)
- 16) 池道彦 他：ウキクサ根圏におけるノニルフェノールの微生物分解—分解菌の分離とその特徴—, 環境技術, Vol.38, No.9(2009)