

감마선 처리에 의한 에스트로겐 활성 저감 연구

강성욱 · 서재환 · 이병천* · 김수진* · 정진호†

고려대학교 환경생태공학부
*국립환경과학원 위해성평가연구과

Reduction of Estrogenic Activity by Gamma-ray Treatment

Sung-Wook Kang · Jaehwan Seo · Byoung Cheun Lee* · Suejin Kim* · Jinho Jung†

Division of Environmental Science & Ecological Engineering, Korea University

*Risk Assessment Division, National Institute of Environmental Research

(Received 21 July 2010, Revised 11 September 2010, Accepted 29 September 2010)

Abstract

In this study, degradation of estrone (E1) and 17 α -ethynylestradiol (EE2) by gamma-irradiation and subsequent reduction of estrogenic activity as a function of absorbed dose were conducted using the yeast two-hybrid assay. Relative potency of E1 and EE2 compared to estrogenic activity of 17 β -estradiol (E2) was found to be 0.0144 and 0.1605, respectively. More than 90% of E1 and EE2 (both 5.0×10^{-6} M) was removed at an absorbed dose of 5 kGy, but more than 40% of estrogenic activity still remained. The addition of TiO₂ catalyst appeared to improve the removal efficiency of E1 and decrease estrogenic activity while there was no significant effect for EE2. Additionally, the calculated estrogenic activity of E1 and EE2 based on a regression model was well correlated with the observed activity.

keywords : Endocrine disrupting chemicals, Estrogenic activity, Radiation treatment, Yeast two-hybrid assay

1. 서론

내분비계 장애물질(Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs)은 생체의 항상성, 생식, 발생 또는 행동에 관여하는 여러 가지 생체 호르몬의 합성, 분비, 체내수송, 결합, 배설 또는 호르몬 작용 그 자체를 저해하는 성질을 갖는 외인성 물질로서, 생태계 및 인간의 생식기능 저하, 기형, 생장장애, 암 등을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다(이철우 등, 2009; Ankley et al., 1997). 환경부의 2008년도 화학물질 배출량 조사에 따르면, 에스트로겐 활성물질을 포함한 내분비계 장애물질의 주요 배출업종은 고무 및 플라스틱, 화학물질 제조업 등으로 밝혀졌다(환경부, 2010). 그리고 국내 하수종말처리장 5곳의 에스트로겐 활성을 측정된 결과, 주요 기여물질은 estrone(E1)과 17 β -estradiol(E2)인 것으로 나타났다(이병천 등, 2007a, 2007b). 그러나 기존의 하/폐수 처리 공정은 내분비계 장애물질을 효과적으로 제거할 수 없기에 대한 보완책이 요구되고 있다(이지호 등, 2006).

최근 EDCs를 비롯한 다양한 난분해성 물질의 제거에 효과적인 방법으로서 O₃, O₃/H₂O₂, H₂O₂/UV, H₂O₂/Fe²⁺(Fenton), TiO₂/UV, 방사선 처리 등의 고급산화공정(Advanced Oxidation Processes, AOPs)이 각광받고 있다(Andreozzi et al.,

1999; Arslan-Alaton and Alaton, 2007; Kimura et al., 2004). 특히, 전자빔과 감마선 등을 이용한 방사선 처리법은 물의 방사선 분해를 통해 산화 및 환원력이 뛰어난 수산화라디칼(\cdot OH)이나 수화전자(e_{aq}⁻) 등을 생성하여 난분해성 물질을 무해한 화학종으로 분해제거 하는 것으로 알려져 있다(조훈제 등, 2004; Getoff, 1996). 또한 방사선 처리법의 효율 개선을 위하여 금속산화물인 TiO₂ 및 Al₂O₃ 등의 촉매를 병용하여 난분해성 물질의 분해제거 효율을 개선하는 연구도 진행되고 있는데(Gonzalez-Juarez and Jimenez-Becerril, 2006; Jung and Lee, 2002; Krapfenbauer and Getoff, 1999), 방사선을 촉매에 조사하면 촉매 표면에서 전자-정공쌍이 생성되어 유해물질 제거에 효과적인 수화전자와 수산화라디칼을 발생시키는 것으로 알려져 있다.

한편 EDCs 처리에 대한 일부 연구가 분해산물에 의한 위해성을 지적한 바 있지만(Kimura et al., 2006; Lee et al., 2004; Nomiya et al., 2007), 대부분의 연구는 대상 물질의 분해제거에만 국한되어 있었으며 처리된 시료의 에스트로겐 활성도 변화나 분해산물에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 국내 수계 모니터링에서 검출빈도가 높으며 에스트로겐 활성도가 높은 물질로 알려진 estrone(E1)과 17 α -ethynylestradiol(EE2)을 대상으로 감마선 단독처리와 감마선/촉매 병용처리에 의한 분해제거와 에스트로겐 활성 저감에 대한 비교 연구를 수행하였다.

† To whom correspondence should be addressed.
jjung@korea.ac.kr

2. 연구방법

2.1. 감마선 처리와 화학물질 분석

에스트로겐 활성 물질인 E2(98%), E1(>99%)과 EE2(98%)는 Sigma-Aldrich Co.(St Louis, MO, USA)사에서 구입하였으며, 화학적 구조, 분자량, 용해도, 옥탄올/물 분배계수(log K_{ow})는 Table 1에 나타내었다(이지호 등, 2006). 감마선 조사는 한국원자력연구원 정읍 방사선과학연구소에 있는 고준위 ⁶⁰Co 선원(AECL IR79, Canada)을 이용하여 실시하였다. 조사용기는 산기관이 설치된 500 mL 갈색병을 이용하였으며, 100 mL/min의 유속으로 일정하게 공기를 주입하면서 감마선 처리를 실시하였다. 감마선/축매 병용처리에는 TiO₂ P25를 Degussa(Evonik, Germany)사에서 구입하여 사용하였다. 축매는 0.05 g/L를 사용하였으며, 감마선 조사 하루 전에 첨가하여 안정화시켰다(Fukahori et al., 2003; Ohko et al., 2001).

감마선 처리 시료의 농축을 위하여 DSC-18(Supelco, USA) 카트리지를 이용한 고상추출법을 사용하였다. 시료 400 mL를 3~4.5 mL/min의 유속으로 통과시킨 후, 메탄올을 이용하여 용출시켜 분석에 이용하였다. 화학물질의 농도는 가스 크로마토그래피(GC-MSD 7890, Agilent, USA)를 이용하여 분석하였다. 컬럼은 DB-5ms(Agilent, USA)를 이용하였고, 운반가스는 He(99.99%), 컬럼 유속은 1.0 mL/min, sampling time은 2분, 시료 주입량은 3 µL, 시료 주입부 온도는 280°C, mass 및 interface 온도는 290°C로 유지하여 splitless mode로 분석하였다. 컬럼 온도는 2분 동안 100°C를 유지하고, 분당 10°C 비율로 300°C까지 올린 후, 10분 동안 300°C를 유지하여 총 32분을 운영하여 분석하였다. 시료는 70 eV에서 이온화되었으며, 검출에너지는 1.6 kV로 설정하였다. 각 에스트로겐 활성 물질의 GC-MSD 분석 조건은 Table 1에 제시하였다.

2.2. 에스트로겐 활성도 측정

에스트로겐 활성을 측정하기 위하여 yeast two-hybrid assay를 이용하였다(Shiraishi et al., 2003). 실험에 사용된 효모는 human estrogen receptor(hERα)가 도입된 형질변환 효모(Saccharomyces cerevisiae Y190)로서 일본 국립환경연구원의 Shiraishi 박사로부터 분양받았다. 이 방법은 coactivator와 human estrogen receptor 단백질 발현유전자를 효모에 도입하

여 포유동물의 호르몬 작용 메커니즘을 모방한 것이며, reporter 유전자로서 galactosidase계를 이용하고 있다(이병천 등, 2007a). 메탄올에 농축시킨 감마선 조사 시료는 NM-504CIR (n-Biotek, Korea) 농축기를 이용하여 건조한 후에 dimethylsulfoxide(DMSO) 용매로 재용해 시켰다. 본 연구에서는 에스트로겐 활성 측정에 약 8.3%의 DMSO를 사용하였으며, 용매만을 사용한 음성대조실험으로 에스트로겐 활성에 영향을 미치지 않는다는 것을 확인하였다(Li et al., 2008).

대상물질에 의해 활성화된 에스트로겐 유전자의 산물인 β-galactosidase의 발색정량은 Pierce(Thermo, USA)사의 yeast β-galactosidase kit를 이용하여 다음과 같이 실시하였다. 동결 보존한 형질변환 효모를 MSD 배지에 식균하여 30°C에서 24시간 이상 배양한 다음, 여기에 측정시료를 첨가하여 30°C에서 4시간 노출시켰다. 효모의 균체량 산정을 위하여 660 nm에서 흡광도(OD₆₆₀)를 측정하였다. 여기에 측정시료를 첨가하여 30°C에서 4시간 노출시킨 후, buffer가 포함된 yeast extraction reagent를 첨가하여 37°C에서 발색시켰다. 시료의 발색이 일어나면 정지시약을 이용해 발색을 정지시키고 420 nm에서 발색량(A₄₂₀)을 측정하여, assay kit에 명시된 식 (1)을 이용해 에스트로겐 활성도를 산출하였다.

$$Estrogenic\ Activity(EA) = \frac{1,000 \times A_{420}}{t \times v \times OD_{660}} \quad (1)$$

t = time of incubation (min)

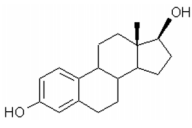
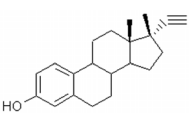
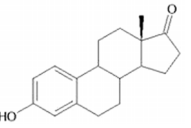
v = volume of cells (mL)

에스트로겐 활성도를 비교 평가하기 위해서 양성대조로서 17β-estradiol(E2)을 사용하였으며, 적정농도인 10⁻⁴~10⁻¹¹ M의 범위에서 측정하였다. E2의 최대 활성도를 100%로 식 (2)를 이용하여 상대 에스트로겐 활성도(REA)를 산출하였다.

$$Relative\ Estrogenic\ Activity(REA) = \frac{EA_{sample}}{EA_{maximum, E2}} \times 100 \quad (2)$$

화학물질 농도에 따른 에스트로겐 활성도를 나타내는 농도-반응 곡선은 SigmaPlot 프로그램(ver. 10.0, Systat Soft-

Table 1. Characteristics and quantitative analysis of 17β-estradiol (E2), estrone (E1) and 17α-ethynylestradiol (EE2)

	E2	EE2	E1
Chemical structure			
Molecular weight (g/mol)	272.4	296.4	270.4
Solubility (mg/L)	3.9 - 13.3	4.8	0.8 - 12.4
log Kow	3.94	4.15	3.43
Retention time (min)	15.665	14.448	13.022
Ionization channel (m/z)	272, 213, 172	213, 160, 296	270, 146, 185

ware Inc. CA, USA)을 이용하여 나타내었다. 화학물질의 농도는 1.0×10^{-10} 에서 1.0 M의 범위에서 각각 7개의 농도로 수행하였으며, 세 번의 반복 실험을 통하여 평균값 \pm 표준편차로 나타내었고, SAS 프로그램(ver. 8.2, SAS Institute Inc. NC, USA)을 이용하여 통계분석을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 에스트로겐 활성도

E1, E2, EE2 농도에 따른 에스트로겐 활성도를 yeast two-hybrid assay로 측정한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 이것을 식 (3)의 회귀식을 이용하여 분석한 결과, 농도-반응 곡선은 높은 상관성(R^2)의 시그모이드(sigmoid)형을 나타내었다.

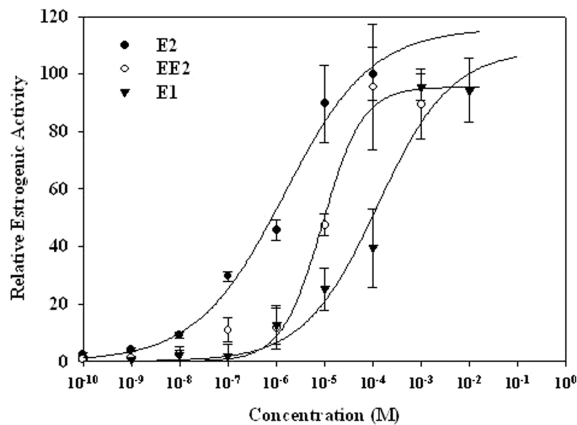


Fig. 1. Concentration-response curve of 17β-estradiol (E2), estrone (E1) and 17α-ethynylestradiol (EE2). The curves were determined using Eq. (2) in text.

$$y = \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^b} \tag{3}$$

- a = maximum relative estrogenic activity
- b = minimum relative estrogenic activity
- x_0 = EC₅₀ (50% effective concentration of estrogenic chemicals)

양성대조로 사용된 E2의 EC₅₀값을 각 화학물질의 EC₅₀값으로 나누어 상대강도(relative potency)를 산출한 결과 (Table 2), EE2와 E1의 각각 에스트로겐 활성도는 E2보다 각각 6배와 70배 정도 낮게 나타났다. 한편, 이병천 등(2007a)은 yeast two-hybrid assay로 측정한 E1과 EE2의 상대강도가 각각 0.882와 0.951로 큰 차이를 보이지 않았다고 보고하였다. 반면, E-screening assay(MCF-7 BUS cell)로 측정한 E1과 EE2의 상대강도는 각각 0.105와 0.893로 차이를 보였다(이지호 등, 2006). 또한 본 연구에서 사용한 효모와 동일한 종을 이용한 최근 연구결과에 따르면, E1과 EE2의 상대강도가 각각 0.03과 0.7로 본 연구결과 같이 큰 차이를

Table 2. Regression parameters for concentration-response curve of 17β-estradiol (E2), estrone (E1) and 17α-ethynylestradiol (EE2). The curves were determined using Eq. (2) in text

	E2	EE2	E1
a	115.9501	95.4480	108.2533
b	-0.4814	-1.0454	-0.5717
x_0 (EC ₅₀ , M)	1.4387×10^{-6}	8.9655×10^{-6}	1.0000×10^{-4}
R ²	0.9666	0.9821	0.9666
Relative potency	1.0000	0.1605	0.0144

보였다(국립환경과학원, 2009). 이상의 결과에서 보면, 에스트로겐 활성은 사용하는 시험종과 측정방법에 따라 차이를 보인다는 것을 알 수 있다.

한편, 감마선 조사에 사용한 E1과 E2 초기농도(5.0×10^{-6} M)의 에스트로겐 활성(각각 15와 33)이 양성대조 물질인 E2(391)에 비해 10% 이하의 매우 낮은 값을 보였다. 따라서 방사선 처리에 의한 에스트로겐 활성 저감을 보다 명확히 규명하기 위해 감마선 처리된 시료를 80배 농축한 다음 yeast two-hybrid assay에 이용하였다.

3.2. 에스트로겐 활성 저감

감마선 처리에 의한 E1의 분해제거 결과(Fig. 2(a)), 0.5 kGy의 흡수선량에서 E1이 80% 이상 제거되었지만, 흡수선량 증가에 따른 처리효율의 증가가 분명하게 나타나지 않았다. 이것은 E1의 초기 농도(5.0×10^{-6} M)가 매우 낮아 감마선 처리에 따른 제거 반응 속도가 매우 빠르기 때문이라고 판단된다(Getoff, 2002; Trumbore et al., 1998). 한편, 0.5 kGy의 낮은 흡수선량에서 감마선/축매 병용처리(89.97%)가 감마선 단독처리(80.68%)보다 더 높은 제거율을 나타냈다 (Fig. 2(a)). 축매를 병용 처리함에 따른 개선은 TiO₂ 축매 표면에서 생성된 전자-정공쌍에 의한 수산화라디칼의 생성으로 인한 분해제거의 촉진 및 나노 축매의 높은 비표면적으로 인한 흡착효과로 추정할 수 있으나(Chitose et al., 2003; Gonzalez-Juarez et al., 2006), 이에 대한 규명을 위해서는 추가적인 연구가 필요하다.

감마선 처리에 의한 E1의 에스트로겐 활성 측정 결과 (Fig. 2(b)), 0.5 kGy의 흡수선량에서 약 50%의 활성도 저감을 보였으며, 감마선/축매 병용처리(60.96%)가 감마선 단독처리(45.24%)보다 더 높은 활성도 저감을 나타냈다. 그러나 높은 흡수선량인 5.0 kGy의 감마선 처리에 의해 E1의 농도가 90% 이상 제거됨에도 불구하고, 처리수의 에스트로겐 활성은 약 60% 정도만 저감되었다. 이는 5.0 kGy의 감마선 처리 이후에도 E1이 1.3×10^{-7} M 이상으로 존재함으로 인하여 여전히 에스트로겐 활성을 나타내는 것으로 판단된다(Fig. 1). Huber 등(2004)의 연구결과에서도 오존 처리에 따라 10 μM의 EE2 초기농도가 90% 이상 효과적으로 제거됨에도 불구하고, 처리 후 시료 내 잔존농도에 따라 여전히 에스트로겐 활성을 나타내는 것으로 보고되었다.

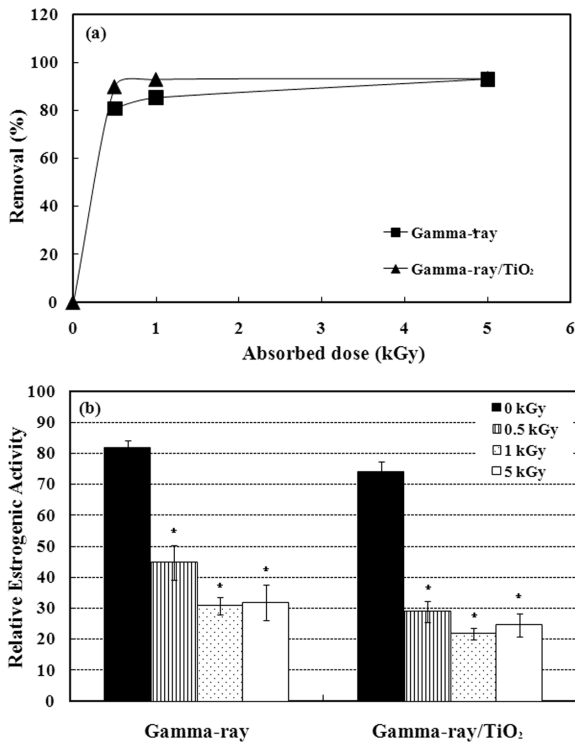


Fig. 2. Chemical degradation (a) and estrogenic activity reduction (b) of estrone (E1, 5.0×10^{-6} M) by gamma-ray treatment. Significant difference (*) was determined using Dunnett's test with a $p < 0.05$.

감마선 처리에 의한 EE2의 분해제거 결과(Fig. 3(a)), 0.5 kGy의 흡수선량에서 90% 이상의 높은 제거 효율을 보였지만, 흡수선량 증가에 따른 처리효율의 증가는 나타나지 않았다. 그리고 E1의 결과와는 달리 TiO₂ 촉매 첨가에 따른 분해제거 개선효과도 나타나지 않았다. Watanabe 등 (2003)은 유사한 구조의 화합물일지라도 TiO₂ 촉매와의 흡착이나 수산화라디칼과의 반응속도 차이로 인하여 광촉매에 의한 분해제거 효율에 차이가 있다고 보고하였다. 그리고 감마선 처리에 의한 EE2의 에스트로겐 활성 측정 결과 (Fig. 3(b)), 0.5 kGy의 흡수선량에서 41.46%의 활성도 저감을 보였으며, 분해제거와 결과와 같이 TiO₂ 촉매의 병용 처리(40.74%)에 따른 개선효과는 나타나지 않았다. 특히 흡수선량 5.0 kGy에서 EE2 초기농도의 약 90% 이상이 제거됨에도 불구하고, 약 3.8×10^{-7} M의 EE2가 잔류함에 따라 약 50% 정도의 에스트로겐 활성만이 저감되었다.

기존의 연구결과에서 에스트로겐성 화학물질의 방사선 처리 과정에서 생성되는 다양한 분해산물이 에스트로겐 활성도에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다(Kimura et al., 2006; Lee et al., 2004; Nishihara et al., 2000). E1, EE2의 경우 각종 방사선 처리에 의해 방향족 고리 및 수산화기가 산화되어 다양한 분해산물이 생성되는 것으로 알려져 있으나(Huber et al., 2004; Ning et al., 2007), 본 연구에서 수행된 감마선 단독처리 및 감마선/촉매 병용처리 모두에서 주요한 분해산물은 관찰되지 않았다. 한편, 감마선 처리 후 잔류하는 E1과 EE2의 농도를 식 (3)에 적용하

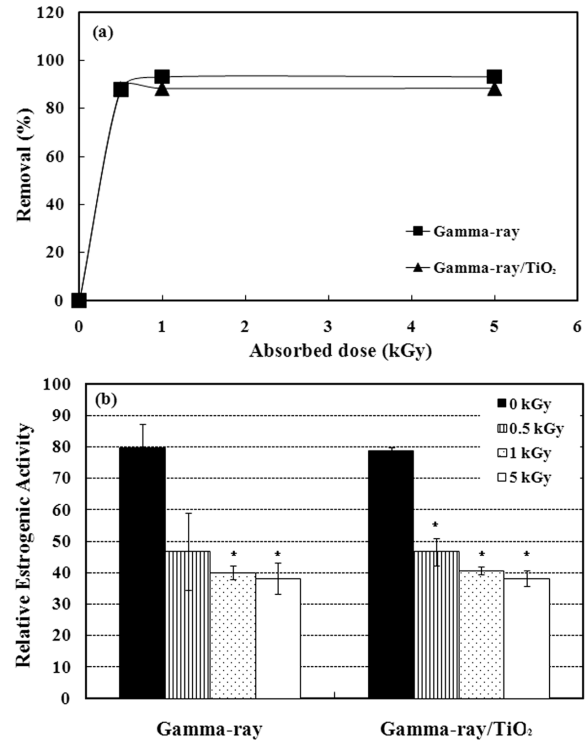


Fig. 3. Chemical degradation (a) and estrogenic activity reduction (b) of 17α-ethynylestradiol (EE2, 5.0×10^{-6} M) by gamma-ray treatment. Significant difference (*) was determined using Dunnett's test with a $p < 0.05$.

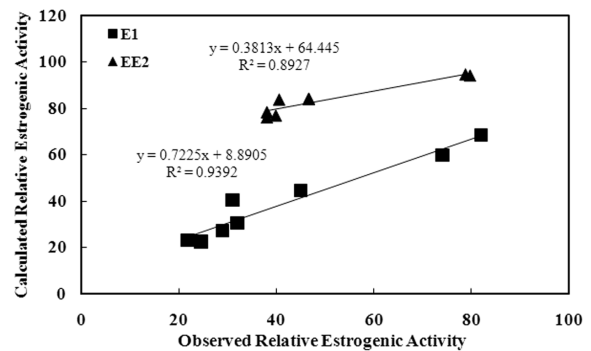


Fig. 4. Relationship between observed and calculated relative estrogenic activity of gamma-ray treated estrone (E1) and 17α-ethynylestradiol (EE2).

여 산출한 에스트로겐 활성도는 실측값과 매우 높은 상관성을 보여주었다(Fig. 4). E1은 실측값과 예측값이 유사하였지만, EE2의 경우 예측값이 실측값보다 더 높게 나타났다. 이병천 등(2007a)은 pH가 낮을수록 에스트로겐 활성도가 저하된다고 보고하였는데, 감마선 조사로 인하여 발생하는 H⁺, H₂O₂ 등이 EE2의 에스트로겐 활성을 저해하였다고 판단된다(Getoff, 2002; Nishihara et al., 2000).

4. 결론

감마선 처리는 E1과 EE2(5.0×10^{-6} M)의 분해제거(5.0

kGy에서 각각 80%와 90% 이상 제거)에 있어서 매우 효과적이었지만, 이들의 에스트로겐 활성은 각각 40%와 50% 이상 잔류하였다. 이것은 유해물질의 분해제거와 에스트로겐 활성 저감이 일치하지 않을 수 있다는 것을 잘 나타내고 있다. 따라서 에스트로겐 활성 제거 측면에서 감마선 단독처리를 개선할 수 있는 촉매나 오존을 병용한 공정에 대한 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것이다.

그리고 TiO₂ 촉매 첨가는 E1의 분해제거와 에스트로겐 활성 저감을 촉진하였지만, EE2에 대해서는 감마선 단독처리와 큰 차이를 보여주지 않았다. 또한, E1과는 달리 EE2는 농도-반응 회귀식을 이용하여 계산한 에스트로겐 활성 값이 감마선 처리 후 측정된 실측값보다 매우 높게 나타났다. 이것은 유해물질의 물리화학적 특성에 따라 분해 기작과 효율이 달라질 수 있으며, 방사분해로 발생하는 활성물질들이 에스트로겐 활성도에 영향을 미친 것으로 판단되는 데, 이에 대한 연구도 추가적으로 진행되어야 할 것이다.

사 사

본 연구는 2009년 한국연구재단의 원자력연구개발사업(과제번호: 2009-0078350)의 지원을 받아 수행되었습니다. 그리고 본 연구에 사용된 제조합 효모(Y190)를 제공해 주신 일본 국립환경연구원의 Fujio Shiraishi 박사에게 감사드립니다.

참고문헌

국립환경과학원(2009). *내분비계장애물질에 대한 생물학적 분석법 적용연구(II): Estrogenic effect 평가를 위한 bio-assay 기법구축*. NIER-2009-19-1075.

이병천, 나진성, 김상돈, Kawai Hukiko, 이철희(2007a). 하수처리장의 내분비계장애물질에 대한 Yeast Two-hybrid assay와 Enzyme-linked Immunosorbent Assay에 의한 에스트로겐 활성도 평가. *대한환경공학회지*, **29**(7), pp. 771-777.

이병천, 이지호, 김현영, Cuong N. Duong, 나진성, 장남익, 김현규, 김상돈(2007b). 국내 5 하수처리장에서 E-screen과 Yeast two-hybrid assay에 의한 에스트로겐 활성도와 내분비계장애물질 농도의 평가. *대한환경공학회지*, **29**(10), pp. 1145-1153.

이지호, 박종열, 나진성, Cuong N. Duong, 이병천, 김상돈(2006). 파일럿 규모의 하수 처리 공정별 E-screen Assay에 의한 에스트로겐 활성과 내분비계 장애물질의 농도 평가. *대한환경공학회지*, **28**(7), pp. 697-703.

이철우, 최경희, 정석원, 김혜림, 서영록(2009). 내분비계장애물질에 대한 이해와 미래 연구방향. *대한내분비학회지*, **24**(1), pp. 7-14.

조훈제, 이선미, 김정규, 정진호(2004). 감마선 처리에 의한 페놀과 2,4,6-트리클로로페놀의 분해제거 비교 연구. *대한환경공학회지*, **26**, pp. 966-969.

환경부(2010). 화학물질배출량 정보공개시스템. <http://ncis.nier.go.kr/total/triopen/default.jsp/>.

Andreozzi, R., Caprio, V., Insola, A., and Marotta, R. (1999). Advanced oxidation processes(AOP) for water purification

and recovery. *Catalysis Today*, **53**, pp. 51-59.

Ankley, G. T., Johnson, R. D., Toth, G., Folman, L. C., Detenbeck, N. E., and Bradbury, S. P. (1997). Development of a research strategy for assessing the ecological risk of endocrine disruptors. *Environ. Toxicol.*, **1**, pp. 71-106.

Arslan-Alaton, I. and Alaton, I. (2007). Degradation of xenobiotics originating from the textile preparation, dyeing, and finishing industry using ozonation and advanced oxidation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **68**, pp. 98-107.

Chitose, N., Ueta, S., Seino, S., and Yamamoto, T. A. (2003). Radiolysis of aqueous phenol solution with nanoparticles. 1. Phenol degradation and TOC removal in solutions containing TiO₂ induced by UV, γ-ray and electron beams. *Chemosphere*, **50**, pp. 1007-1013.

Fukahori, S., Ichiura, H., Kitaoka, T., and Tanaka, H. (2003). Capturing of bisphenol A photodecomposition intermediates by composite TiO₂-zeolite sheets. *Appl. Catal. B-Environ.*, **46**, pp. 453-462.

Getoff, N. (1996). Radiation-induced degradation of water pollutant-State of the art. *Radiat. Phys. Chem.*, **47**, pp. 581-593.

Getoff, N. (2002). Factors influencing the efficiency of radiation-induced degradation of water pollutants. *Radiat. Phys. Chem.*, **65**, pp. 437-446.

Gonzalez-Juarez, J. C. and Jimenez-Becerril, J. (2006). Gamma radiation-induced catalytic degradation of 4-chlorophenol using SiO₂, TiO₂, and Al₂O₃. *Radiat. Phys. Chem.*, **75**, pp. 768-772.

Huber, M., Ternes, T. A., and Gunten, U. V. (2004). Removal of estrogenic activity and formation of oxidation products during ozonation of 17α-ethinylestradiol. *Environ. Sci. Technol.*, **38**, pp. 5177-5186.

Jung, J. and Lee, M. J. (2002). EPR investigation on the efficiency of hydroxyl radical production of gamma-irradiated anatase and bentonite. *Wat. Res.*, **36**, pp. 3359-3363.

Kimura, A., Taguchi, M., Arai, H., Hiratsuka, H., Namba, H., and Kojima, T. (2004). Radiation-induced decomposition of trace amounts of 17β-estradiol in water. *Radiat. Phys. Chem.*, **69**, pp. 295-301.

Kimura, A., Taguchi, M., Ohtani, Y., Takigami, M., Shimada, Y., Kojima, T., Hiratsuka, H., and Namba, H. (2006). Decomposition of p-nonylphenols in water and elimination of their estrogenic activities by ⁶⁰Co γ-ray irradiation. *Radiat. Phys. Chem.*, **75**, pp. 61-69.

Krapfenbauer, K. F. and Getoff, N. (1999). Comparative studies of photo- and radiation-induced degradation of aqueous EDTA. Synergistic effects of oxygen, ozone and TiO₂ (acronym: CoPhoRaDe/EDTA). *Radiat. Phys. Chem.*, **55**, pp. 385-393.

Lee, B. C., Kamata, M., Akatsuka, Y., Takeda, M., Ohno, K., Kamei, T., and Magara, Y. (2004). Effects of chlorine on the decrease of estrogenic chemicals. *Wat. Res.*, **38**, pp. 733-739.

Li, J., Ma, M., and Wang, Z. (2008). A two-hybrid yeast assay to quantify the effects of xenobiotics on thyroid hormone-mediated gene expression. *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**, pp. 159-167.

Ning, B., Graham, N., Zhang, Y., Nakonechny, M., and El-Din

- M. G. (2007). Degradation of Endocrine Disrupting Chemicals by Ozone/AOPs. *Ozone. Sci. Eng.*, **29**, pp. 153-176.
- Nishihara, T., Nishikawa, J., Kanayama, T., Dakeyama, F., Saito, K., Imagawa, M., Takatori, S., Kitagawa, Y., Hori, S., and Utsumi, H. (2000). Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. *Journal of Health Science*, **46**(4), pp. 282-298.
- Nomiyama, K., Tanizaki, T., Koga, T., Arizono, K., and Shinohara, R. (2007). Oxidative degradation of BPA using TiO₂ in water, and transition of estrogenic activity in the degradation pathways. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **52**, pp. 8-15.
- Ohko, Y., Ando, I., Niwa, C., Tatsuma, T., Yamamura, T., Nakashima, T., Kubota, Y., and Fujishima, A. (2001). Degradation of bisphenol A in water by TiO₂ photocatalyst. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, pp. 2365-2368.
- Shiraishi, F., Okumura, T., Nomachi, M., Serizawa, S., Nishikawa, J., Edmonds, J. S., Shiraishi, H., and Morita, M. (2003). Estrogenic and thyroid hormone activity of a series of hydroxy-polychlorinated biphenyls. *Chemosphere*, **52**, pp. 33-42.
- Trumbore, C. N., Youngblade, W., and Short, D. R. (1988). Modeling of gamma-ray radiolysis data at moderate and low solute concentration in aqueous solutions. *Radiat. Phys. Chem.*, **32**(2), pp. 233-239.
- Watanabe, N., Horikoshi, S., Kawabe, H., Sugie, Y., Zhao, J., and Hidaka, H. (2003). Photodegradation mechanism for bisphenol A at the TiO₂/H₂O interfaces. *Chemosphere*, **52**, pp. 851-859.