

5. 試験成績

5.1. 用量設定試験

用量設定試験の結果を表 1 に示した。

5.1.1. 菌株の生育阻害と被験物質の析出

クヌギ木酢液処理群は、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株において生育阻害は観察されなかった。また、いずれの用量においても被験物質の析出は観察されなかった。

5.1.2. 復帰変異コロニー数

代謝活性化による場合の TA1535 株において、313 および 1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の用量で、溶媒対照群に比べて約 2.2~2.4 倍の復帰変異コロニー数の増加が認められた。その他の菌株および代謝活性化によらない場合の TA1535 株では、溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

5.2. 本試験

本試験の結果を表 2 に示した。

5.2.1. 菌株の生育阻害と被験物質の析出

クヌギ木酢液処理群は、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株において生育阻害は観察されなかった。また、いずれの用量においても被験物質の析出は観察されなかった。

5.2.2. 復帰変異コロニー数

代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株においても溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

5.3. 確認試験

代謝活性化による場合の TA1535 株を用いた確認試験の結果を表 3 に示した。

5.3.1. 菌株の生育阻害と被験物質の析出

クヌギ木酢液処理群は、いずれの用量においても生育阻害および被験物質の析出は観察されなかった。

5.3.2. 復帰変異コロニー数

すべての用量で、溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められ

なかった。よって、本試験と確認試験の間で結果の再現性が確認された。

6. 考察

用量設定試験において、代謝活性化による場合の TA1535 株で復帰変異コロニー数が溶媒対照群に比べて 2 倍以上を示したが、これは比較される溶媒対照群の変異コロニー数がやや低かったこと（平均コロニー数=5）が原因であると考えられる。事実、本試験および確認試験においては、代謝活性化による場合の TA1535 株で復帰変異コロニー数が溶媒対照群に比べて 2 倍を超えることはなかった。

木酢液には多種の化学物質が含まれていることが知られているが、その中には変異原物質・発ガン物質も含まれる。被験物質のクヌギ木酢液 1 g 中に含まれる主要な変異原物質の含有量は以下の通りである（データは林野庁特用林産対策室より提供された）。

3, 4-ベンツピレン	0.2 ng/g
1,2,5,6-ジベンゾアントラセン	0.1 ng/g 未満
3-メチルコランスレン	0.1 ng/g 未満
ホルムアルデヒド	68 µg/g

よって、当試験で実施した最高用量群（被験物質 5000 µg/プレート）では、各変異原物質が以下の用量で含まれていた計算になる。

3, 4-ベンツピレン	1.0 pg/プレート
1,2,5,6-ジベンゾアントラセン	0.5 pg/プレート未満
3-メチルコランスレン	0.5 pg/プレート未満
ホルムアルデヒド	0.34 µg/プレート

それに対して、各変異原物質が陽性反応を示す最低用量は以下の通りである^{5,6,7)}。

3, 4-ベンツピレン	0.25 µg/プレート
1,2,5,6-ジベンゾアントラセン	25 µg/プレート
3-メチルコランスレン	10 µg/プレート
ホルムアルデヒド	7.4 µg/プレート

以上の数値を比較すると、最高用量群における 3, 4-ベンツピレン、1,2,5,6-ジベンゾアントラセンおよび 3-メチルコランスレンの含有量は、それらの物質が陽性反応を示す最低用量より遥かに少ないことが分かる（約 10⁶ 倍程度）。それに対してホルムアルデヒドの含有量は比較的多い（0.34 µg/プレート）。しかし、陽性反応を示す最低用量（7.4 µg/プレ

ト) の約 20 分の 1 程度であったことから、ホルムアルデヒドによる突然変異の有意な誘発は起こらなかったと考えられる。

7. 試験の有効性

用量設定試験、本試験および確認試験に用いた菌液、被験物質溶液、S9 Mix に雑菌の汚染がないことを確認した。各菌株の溶媒対照群および陽性対照群における復帰変異コロニー数は、当研究所の背景値に基づく管理範囲内であった(付表 2)。また、陽性対照群は溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められた。したがって、用量設定試験、本試験および確認試験は有効であると判断された。

8. 結論

クヌギ木酢液は、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株で溶媒対照群に比べて 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加を示さないと考えられ、本実験条件下におけるクヌギ木酢液の細菌に対する突然変異誘発性は陰性であると結論した。

9. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および計画書に従わなかったこと

試験期間中にコロニーアナライザーの機器更新を行ったため、確認試験は試験計画書に記載した機種(MODEL CA-7II)とは異なる機種(PCA-11DA)で測定を行った。しかし、両者の測定結果に差はなく、試験結果に全く影響はなかった。その他、試験の信頼性に悪影響を及ぼした疑いのある諸要因(環境要因、予期しえなかった事態等)は認められなかった。

10. 参考文献

- 1) Ames, B.N., J. McCann and E. Yamasaki : Mutation Res., 31, 347-364, 1975.
- 2) 安衛法における変異原性試験(労働省安全衛生部化学物質調査課編), 中央労働災害防止協会, 1991.
- 3) Gatehouse, D., S. Haworth, T. Cebula, E. Gocke, L. Kier, T. Matsushima, C. Melcion, T. Nohmi, S. Venitt and E. Zeiger : Mutation Res., 312, 217-233, 1994.
- 4) Matsushima, T., T. Sugimura, M. Nagao, T. Yahagi, A. Shirai and M. Sawamura: Factors Modulating Mutagenicity in Microbial Tests, in: K.H. Norpoth and R.C. Garner (Eds.), Short-term Test Systems for Detecting Carcinogens. Springer-Verlag, pp. 273-285, 1980.
- 5) 微生物を用いる変異原性試験データ集, エル・アイ・シー, 監修: 石館基, 1991
- 6) 環境変異原データ集 1, サイエントリスト社, 監修: 賀田恒夫・石館基, 1980
- 7) Andrews, A.W., L. H. Thibault and W. Lijinsky : Mutation Res., 51, 311-318, 1978.