衛生化学
EISEI KAGAKU
32 (2) 114-122 (1986)

糞中ステロイドの分析による人畜異同識別

本多正夫,^a 篠原利明^b

新潟県警科学捜査研究所,^a 科学警察研究所^b

Discrimination of Animal Species by Analysis of Mammalian Fecal Steroids

MASAO HONDA^a and TOSHIKI SHINOHARA^b

Criminal Research Laboratory of Niigata Prefectural Police Head Quarters,^a

Shinko-cho 4-1, Niigata, Japan and National Research Institute of

Police Science,^b Sanbancho 6, Chiyoda-ku, Tokyo 102, Japan

(Received October 24, 1985)

The study aims at demonstration of fecal pollution indicator by analysis of the steroids found in human, pig, and cattle feces. The chloromethyldimethylchlorosilane (CMDs)-derivatives of the fecal stanols were specifically separated on Florisil column chromatography by elution with *n*-hexane containing 0.5% ethyl ether (Fraction 1). GC analysis revealed that Fraction 1 had mainly four components, named as Peak (1)—Peak (4). These components were subsequently identified as coprostanol (Peak (1)), and tentatively as methylcoprostanol (Peak (2)), 24-ethyl-5 β -cholesten-3 β -ol (Peak (3)), ethylcoprostanol (Peak (4)) by mass fragment spectrometry (GC-MS).

It was found that the peak height ratio (Peak (4)/Peak (1)) was characteristically different among animal species, suggesting useful indicator of fecal pollution. Mean values of the ratio were given as 0.167 (γ , 0.767; n , 40) for human, 0.569 (γ , 0.703; n , 45) for pig, 1.33 (γ , 0.944; n , 32) for cow, 1.65 (γ , 0.651; n , 10) for ox, and 1.12 (γ , 0.974; n , 10) for Japanese cattle.

Keywords—fecal steroid; pollution indicator; coprostanol; steroid analysis

緒 言

哺乳動物の糞中には腸内細菌によって還元され生成する糞特有のステロイドがあり、コレステロール (cholest-5-en-3 β -ol) から変化したコプロスタノール (5 β -cholestan-3 β -ol) をはじめ、数種の還元ステロイドが Eneroth¹⁻³⁾ により分離証明されている。代表的な糞特有ステロイドであるコプロスタノールを Murtaugh⁶⁾ は排水の人畜汚染指標として測定し、我国においては立川^{7,8)}、小椋⁹⁾ により同様の試みがなされている。著者らは糞中に見出されるステロイドは主に食餌に由来する天然ステロイドとその代謝産物であることに着目し、ヒト及び家畜の糞中特有ステロイドの組成分析を行うことによって汚泥排水中の尿尿の人畜鑑別が可能ではないかと考え研究をはじめた。本報では基礎実験として数種の糞特有ステロイドをカラムクロマトグラフィーにより分離し、それらのステロイドの成分比をヒト、ウシ及びブタについて明らかにし、各成分比から人畜排泄物の判別が可能であることを示した。以下に実験の概要を述べる。

実 験 の 部

1. 標準試料, 試薬類 ガスクロマトグラフィー (GC) 用の標準試料としてコプロスタノール, コレスタノール (5 α -cholestan-3 β -ol), コレステロール, ステグマステロール (24-ethyl-cholest-5, 22-dien-3 β -ol) はガスクロ工業社, エピコプロスタノール (5 β -cholestan-3 α -ol), ステグマスタノール (24-ethyl-5 α -cholestan-3 β -ol) はシグマ社のものを用いた。また, カンベステロール (24-methylcholesterol) 及び β -シトステロール (24-ethylcholesterol) は東京化成社の混合物標品を Hyde¹⁰⁾ の方法に従い各成分に分離精製したものを用いた。ステロイドのシリル化剤にはクロロメチルジメチルクロロシラン (CMDs, ガスクロ工業) を使い, フロリジルは半井化学社の STD-1 (100—200メッシュ) を用いた。その他の試薬はすべて市販特級品を用いて実験を行った。

2. 糞試料からステロイドの分離 糞の採取はヒト (2—50歳) 40例, ブタ (2—6箇月) 45例, ウシ (乳牛

32例, 肉牛20例) 52例について行った. 肉牛はホルスタイン種10例及び和牛10例であった. 各試料からのステロイド抽出は Murtaugh ら⁶⁾ の方法に従った. 新鮮な糞1—5gをナス型フラスコ(100 ml 容)にとり, 1N 水酸化カリウムを含む90% エタノール(50 ml)に懸濁させたのち湯浴上4時間還流ケン化した. ケン化処理後, 上澄液を濾紙(Toyo-No 5A)で分離し, 更に20 mlの同エタノール溶液を用いて洗浄, 濾液を分液ロート(300 ml 容)に移した. 分液ロートに水50 mlを加えたのち50 mlの*n*-ヘキサンを加えて振とう抽出を行いヘキサン層を分離, 更に水20 mlを用いて振とうし洗浄水層を除去した. 洗浄操作を3回行い得られたヘキサン層を共栓付フラスコに移し無水硫酸ナトリウムで脱水した.

3. ケン化物のシリル化 GC用のステロイド誘導体はChapman¹¹⁾によるCMDS法に従い調製した. 共栓付試験管(10 ml 容)にヘキサン5 mlをと, CMDS(0.5 ml)とジエチルアミン(0.25 ml)を加えて密栓し, 激しく振とうしたのち遠心分離(3000 rpm, 3 min)を行い上層液を分離, これをシリル化剤として用いた. なお, 調製したシリル化剤は -15°C で密栓保存すれば2週間は使用可能であった. ついで1—50 μg のケン化処理したステロイドを含むヘキサン溶液をと, 窒素存在下で加温乾固させたのち, シリル化剤0.5 mlを加え密栓し, 4時間以上室温に静置, シリル化を行った.

4. フロリジルカラムクロマトグラフィー 前項3で得られたCMDS誘導体をフロリジルカラムにかけ分画を行った. 予めフロリジル(100 g)を4時間, 125°C で活性化させたのち, 水5 mlを加えて十分に混ぜ合わせ一夜放置した. このうち6gをと, ヘキサンに懸濁させながらガラスカラム(1 cm i.d. $\times$ 30 cm)に充填した. ついで前項3のCMDS誘導体を一旦加温乾固させたのちヘキサン1 mlに再溶解して得られた各試料溶液をフロリジルカラムにかけ, 0.5% エーテルを含むヘキサン溶液25 mlを用いて溶出を行った. 初流の15 mlを除去し, そのあとの溶出液10 ml(Fraction 1)を分取し, 続いて2% エーテルを含むヘキサン15 mlを流し溶出液(Fraction 2)を分取した. 各溶出液から1—2 μl をと, それぞれGC用の試料とした. なお, 対照試料として前項1に示した8種類のステロイドを各5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう混合し, 前項3に従いシリル化したのち, フロリジルカラムによる分画を行った(前項4). はじめの溶出液(Fraction 1, 10 ml)及びあとの溶出液(Fraction 2, 15 ml)をGC用の試料とした.

5. GC条件 GCは以下に示す条件で行った.

装置: GC-9A型(島津製作所), 検出器, ^{63}Ni 線源

ECD付.

カラム: ガラスカラム(2.6 mm i.d. $\times$ 2.5 m)にOV-225とOV-25の混合物(1+0.3%)を充填させ(担体, クロモソルブW, AW-DMCS, 80—100メッシュ), 更に同カラムの出口側10 cmに5% KI/同担体を充填させたもの.

カラム温度: 250°C .

注入口温度: 290°C .

キャリアガス: N_2 (50 ml/min).

6. 質量分析(MS) 装置及び測定条件は以下に示すとおりである.

装置: 電子衝撃イオン化質量分析(EI-MS)装置(M-80型, 日立製作所).

GC条件: カラム(3 mm i.d. $\times$ 1 m), 1% OV-17/クロモソルブW(AW-DMCS), 80—100メッシュ.

カラム温度: 240°C .

注入口温度: 255°C .

キャリアガス: He (50 ml/min).

なお, GC-MSに用いた試料は前項4で得られた最初の画分(Fraction 1)についてのみ行った. この画分のCMDS体を1N水酸化カリウム-70%エタノール溶液で還流下加水分解し再度遊離体としたものについて検討した.

7. 糞の人畜判別指標 ヒト, ウシ, ブタの各検体からステロイドを分離し, 前項4で示した部分精製法によって得られたFraction 1のCMDS誘導体のGCパターンを詳細に検討し, 動物種差による特徴的なピーク高比を測定比較した. すなわち, Fraction 1のGCによって認められるピークのうち, ピーク(4)(24-エチルコプロスタノールと推定, 後述)とピーク(1)(コプロスタノール, 同)の各ピーク高比を測定し, 統計的処理により各ピーク比(ピーク(4)/ピーク(1))の平均値($\bar{x}$), 標準偏差(σx)及びピーク(4)とピーク(1)の各高さの相関係数(r)を求めた.

結果と考察

1. ステロイドの分離

ケン化によって得られたヒト, ブタ, ウシの粗ステロール含有量はそれぞれ新鮮な糞について, 30—200 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった. 松島ら⁹⁾はシリル化剤としてプロモメチルジメチルクロロシラン(BMDS)を用いてGCを行っているが, 著者らはより低いカラム温度でECD-GC分析できるCMDS誘導体を用いて良好な結果を得た. CMDS体を直接フロリジルカラムで分離したところ, Fig. 1に示すように標準試料混合物のうち, コプロスタノール(5 β -3 β -ol)のみがFraction 1に溶出され, 他のステ

Fig. 1. Gas Chromatographic Profile of Standard Mixture of Steroids

(1), coprostanol; A, epicoprostanol; B, cholesterol and cholestanol; D, campesterol; E, stigmasterol; F, β -sitosterol and stigmastanol.

One ml of the mixed standard sample solution (1, A–F, each 5 μ g/ml as CMDS derivatives in *n*-hexane) was applied on a Florisil column (1 cm i.d. $\times$ 30 cm), and immediately passed through with 25 ml of *n*-hexane containing 0.5% ethyl ether (v/v). The first eluate (15 ml) was discarded, and the subsequent eluate (10 ml, Fraction 1) was pooled. The column was then passed through with 15 ml of *n*-hexane containing 2% ethyl ether. The whole eluate (Fraction 2) was pooled. The sequent GC analysis revealed that coprostanol was eluted in Fraction 1 and the other standard steroid compounds were pooled in Fraction 2. Each 1 μ l (0.5 ng) of the sample solution (Fraction 1 or Fraction 2) was applied on GC-column.

GC conditions; GC-9A (Shimadzu) equipped with ECD (^{63}Ni); Column, OV-225 (1%) and OV-25 (0.3%) on Chromosorb W, AW-DMCS, 80–100 mesh (2.6 mm i.d. $\times$ 2.5 m); Column temperature, 250°C; Injection Temperature, 290°C; Carrier gas, N_2 (50 ml/min).

ロール成分はすべて Fraction 2 に溶出分離されることが判明した。

フロリジルカラム上におけるこれらの標準試料の CMDS 体の回収実験を行った結果、ピーク(1) (コプロスタノール) は95%以上、ピークA (エピコプロスタノール, 5 β -3 α -ol), ピークB (コレステロール+コレスタノール, 5 α -3 β -ol), ピークD (カンベステロール), ピークE (スチグマステロール) 及びピークF (β -シトステロール+スチグマスタノール, 24-エチル-5 α -3 β -ol) は80 $\pm$ 10%であり CMDS 誘導体は極めて安定な化合物であることが明らかにされた。ケン化物を直接フロリジルカラムで分離しても分離能が良くないことも判明した。ヒト, ブタ, ウシについて得られた各試料について同様にカラム処理した結果を Fig. 2 (ヒト), Fig. 3 (ブタ) 及び Fig. 4 (ウシ) にそれらの代表的なクロマトグラムとして示す。これらのクロマトグラムからいくつかの特徴が認められた。まず, Fraction 1 にはヒト, ブタ, ウシともコプロスタノール (ピーク(1)) に一致す

Fig. 2. Gas Chromatographic Profile of Human Fecal Steroids

A portion of Fraction 1 or Fraction 2 of human fecal sample (#23 in Table I) was analyzed on GC with the experimental conditions as indicated in the legend to Fig. 1. Four components (Peaks (1)–(4)) were separated from Fraction 1. Peak (1) was identical with coprostanol, and the other three peaks were most probably found to be 24-methylcoprostanol (2), 24-ethyl-5 β -cholesten-3 β -ol (3), and 24-ethylcoprostanol (4) from the results of GC-MS. Peaks A, B, D, E, and F were each identical with the corresponding standard peak at retention time as shown in Fig. 1. Peaks C, unidentified.

Fig. 3. Gas Chromatographic Profile of Pig Fecal Steroids

Peaks (1)–(4) and Peaks A–F were detected from Fraction 1 and Fraction 2 using a sample (#18 in Table II).

GC conditions; the same as indicated in the legend to Fig. 1.

るピークのほか、対照試料とは一致しないピーク(2), ピーク(3)及びピーク(4)が検出された。また, Fraction 2 には対照試料のピークA, B, D, E及びFと一致するピークの他未確認のピークC及び保持時間がピークFより大の位置にいくつかの未知の化合物が検出された。

2. GC-MS による化合物の推定及び確認

Fraction 1 に認められた各ピークについてははじめに

Fig. 4. Gas Chromatographic Profile of Cow Fecal Steroids

GC was carried out using a sample (#12 in Table III) with the same experimental conditions as in Fig. 1.

CMDS 体として EI-MS を測定したところマススペクトルの解析が困難であったので、各試料の Fraction 1 を再度アルカリ加水分解した Free 体について検討した結果、良好なスペクトルが得られた。Fig. 5-a は各試料のピーク(1)の EI-MS の結果を示す。分子イオン (M^+) 388 のほか、ステロイド骨格の特徴的フラグメントピークである m/z 215 及び m/z 233, m/z 373 等が観測された。これらの各フラグメントピークの解析は Ryhage ら¹²⁾ が詳細に検討しており、得られたスペクトル (Fig. 5-a) は対照物であるコプロスタノールのものと完全に一致した。したがって Fraction 1 のピーク(1)はコプロスタノールであると確認された。ピーク(2)のマススペクトル (Fig. 5-b) は M^+ 402 が観測され、この他代表的フラグメントピーク (m/z 215, m/z 233) や脱メチルを受けた m/z 387 がコプロスタノールと共通するところからメチルコプロスタノール (24-methyl-5 β -cholestan-3 β -ol) であると思われる。Eneroth ら¹⁾ も人糞よりメチルコプロスタノールに相当する化合物を単離している。

ピーク(3)のスペクトルには m/z 414 が観測され、またピーク(1), (2), (4)とは異なるスペクトルパターンが得られた。すなわち, m/z 257 のステロイド骨格 (Fig. 6-a) 及び m/z 273, m/z 302 の各フラグメントピークは Eneroth ら²⁾ がスチグマステロール体について解析したデータと一致する。したがってピーク(3)は 24-ethyl-5 β -cholest-22-en-3 β -ol と推定された。この化合物の分子量から m/z 414 は分子イオンと思われる。ピーク(4)はピーク(1)及びピーク(2)と共に 5 β -3 β -ol のフラグメントピーク (m/z 215, m/z 233) を示し, M^+ 416 が観測されることから Eneroth ら¹⁾ の解析した Compound D に相当する。したがってピーク(4)は β -シトステロールが代謝され生成したエチルコプロスタノール (24-ethyl-5 β -chol-

Fig. 5. Mass Fragmentation Patterns of Fecal Steroids

The sample for GC-MS was prepared using Fraction 1 of human, pig, or cattle fecal steroid sample with the following treatment: After removal of *n*-hexane from Fraction 1, the residue (CMDS-derivative) was hydrolyzed in 2 ml of 1N KOH-70% ethanol with refluxing on water bath, and the resultant free steroid compounds were extracted again with 1 ml of *n*-hexane. A portion of the hexane solution was applied on GC-MS.

GC-MS: Apparatus; M-80 (Hitachi) EI-MS.

The spectrum was run with the following conditions: Temperature of ion source, 180°C; electron energy, 20 eV; GC-column; OV-17/Chromosorb W (AW-DMCS), 3 mm i.d. $\times$ 1 m; Column temperature 240°C; carrier gas, He (50 ml/min).

Fig. 6. Mass Fragmentation Patterns of Fecal Steroids

The sample for GC-MS was each prepared using Fraction 1 as described in the legend to Fig. 5. The spectrometric condition was followed by the method as indicated in Fig. 5 (legend).

estan-3 β -ol) と推定された (Fig. 6-b).

以上述べた GC-MS の解析からピーク(1)はコプロスタノールと確認され、ピーク(2), (3), (4)はそれぞれ 24-メチルコプロスタノール, 24-エチル-5 β -コレステレン-3 β -ol, 及び 24-エチルコプロスタノールと一致する結果が得られた。これらのステロイド成分は、動物ステロールとし

てのコレステロール (→コプロスタノール) 及び植物ステロールとして広く分布するカンペステロール (→24-メチルコプロスタノール), スチグマステロール (→24-エチル-5 β -コレステン-3 β -ol), β -シトステロール (→24-エチルコプロスタノール) が腸内細菌の作用により還元

され変化したものと思われる. なお, ヒト, ブタ, ウシの糞中ステロイド成分中 Fraction 2 に分離されるピーク C は確認には到らないが, 24-エチルエピコプロスタノール (24-エチル-5 β -3 α -ol) と一致する成績が得られている. (未発表データ)

TABLE I. Variation of Peak Height Ratio for Human Feces

Sample No.	Sex distinction ^{a)}	Age (year)	Peak (1) (mm)	Peak (4) (mm)	Ratio (Peak (4)/Peak (1))
#1	f	2	148	12	0.081
#2	f	58	155	17	0.110
#3	m	5	109	11	0.101
#4	f	12	43	5	0.116
#5	m	65	137	16	0.117
#6	m	40	182	47	0.258
#7	f	39	184	27	0.147
#8	m	4	210	45	0.214
#9	f	31	116	19	0.164
#10	m	35	50	14	0.280
#11	m	32	81	10	0.123
#12	m	33	133	31	0.233
#13	f	31	129	24	0.186
#14	f	62	126	19	0.151
#15	m	70	130	22	0.169
#16	m	18	121	18	0.148
#17	m	19	142	26	0.183
#18	m	21	149	35	0.235
#19	m	22	175	40	0.229
#20	m	18	185	19	0.103
#21	m	18	134	22	0.164
#22	m	24	130	24	0.185
#23	m	19	73	9	0.123
#24	m	18	80	11	0.138
#25	m	18	184	43	0.234
#26	m	19	195	32	0.164
#27	m	22	119	19	0.160
#28	m	24	54	13	0.240
#29	m	25	130	33	0.254
#30	m	18	149	12	0.081
#31	m	19	186	20	0.108
#32	m	19	153	21	0.137
#33	m	19	170	38	0.224
#34	m	20	105	11	0.105
#35	m	18	117	18	0.154
#36	f	12	49	6	0.122
#37	f	8	80	10	0.125
#38	m	10	52	14	0.269
#39	m	15	210	47	0.224
#40	m	3	125	13	0.104

a) m, male; f, female.

Peak (1), coprostanol; Peak (4), 24-ethylcoprostanol (Tentatively identified).

Mean value of the ratio was given as 0.167 with a correlation coefficient of 0.767.

TABLE II. Variation of Peak Height Ratio for Pig Feces

Sample No.	Sex distinction	Age (month)	Peak (1) (mm)	Peak (4) (mm)	Ratio (Peak (4)/Peak (1))
# 1	-	1.5	51	15	0.294
# 2	-	1.5	149	51	0.342
# 3	-	1.5	82	38	0.463
# 4	-	1.5	130	36	0.277
# 5	-	1.5	138	53	0.384
# 6	-	1.5	195	83	0.426
# 7	-	1.5	93	37	0.398
# 8	-	2	175	61	0.349
# 9	-	2	130	51	0.392
#10	-	2	95	36	0.379
#11	-	2	64	30	0.469
#12	-	2	46	20	0.435
#13	-	2	102	61	0.598
#14	-	2	82	39	0.476
#15	-	3	40	24	0.600
#16	-	3	36	20	0.556
#17	-	3	160	84	0.525
#18	-	3	131	62	0.473
#19	-	3	83	55	0.663
#20	-	3	128	58	0.453
#21	-	4	38	24	0.632
#22	-	4	77	37	0.481
#23	-	4	92	58	0.636
#24	-	4	134	80	0.597
#25	-	4	121	67	0.554
#26	-	4	137	71	0.518
#27	-	5	78	40	0.513
#28	-	5	179	83	0.464
#29	-	5	118	86	0.729
#30	-	5	70	45	0.643
#31	-	5	64	31	0.484
#32	-	5	76	47	0.618
#33	-	6	180	98	0.544
#34	-	6	104	68	0.653
#35	-	6	19	20	0.741
#36	-	6	99	72	0.727
#37	-	6	122	107	0.877
#38	-	6	105	70	0.667
#39	m	-	131	104	0.794
#40	f	-	55	45	0.818
#41	m	-	46	41	0.891
#42	f	-	120	99	0.825
#43	f	-	86	82	0.953
#44	m	-	132	59	0.447
#45	m	-	119	120	1.008

Mean value of the ratio was given as 0.569 with a correlation coefficient of 0.703.

-, Not checked.

3. 糞の人畜判別

ヒトの糞40例についてピーク(4)とピーク(1)の実測値及びピーク高比を Table I に示す. ヒトについてはピーク(1)―(4)が全く検出されない例も多くそれらの試料はすべて除いた. Table I の成績から $\bar{x}=0.167$, $\sigma x=0.057$, $\gamma=0.767$ が求められた.

ブタの糞45例について Table II に示す実測値が得られ, ピーク(4)/ピーク(1)を求め, 各々 $\bar{x}=0.569$, $\sigma x=0.175$, $\gamma=0.703$ が得られた. #39―45 は年齢不明でいずれも adult である. #1―38 は仔ブタで性別は不明である.

Table III にウシ (乳牛32例, 肉牛20例) について行った実測値とピーク高比を示す.

ウシについては種によって飼育目的が異なり, 飼料のステロール成分に差があることが予想されたので, 乳牛 (ホルスタイン) 肉牛 (ホルスタイン), 及び肉牛 (和牛) についてそれぞれ計算した. その結果, 乳牛についてはピーク高比 ($\bar{x}$)=1.33, $\sigma x=0.199$, $\gamma=0.944$, また, 肉牛 (ホルスタイン) は $\bar{x}=1.646$, $\sigma x=0.397$, $\gamma=0.651$ となり, 同 (和牛) については $\bar{x}=1.12$, $\sigma x=0.177$, $\gamma=0.974$ が求められた.

なお, 乳牛の年齢はすべて不明であり, 和牛については性別を確認していない.

以上に示した Table I―III の各平均値をみると, ヒト, ブタ及びウシのピーク高比 ((4)/(1)) には特徴的な差異が認められる. すなわち, ヒトではコプロスタールの

TABLE III. Variation of Peak Height Ratio for Cattle Feces

Sample No.	Age (month)	Peak (1) (mm)	Peak (4) (mm)	Ratio (Peak (4)/Peak (1))
(Cow, Holstein)				
#1	-	41	54	1.32
#2	-	65	108	1.66
#3	-	54	71	1.31
#4	-	39	54	1.38
#5	-	75	116	1.55
#6	-	49	79	1.61
#7	-	49	73	1.49
#8	-	52	75	1.44
#9	-	75	101	1.35
#10	-	86	102	1.19
#11	-	64	92	1.44
#12	-	54	81	1.50
#13	-	71	108	1.52
#14	-	73	108	1.48
#15	-	54	65	1.20
#16	-	73	86	1.18
#17	-	131	151	1.15
#18	-	125	170	1.36
#19	-	55	54	0.98
#20	-	133	166	1.25
#21	-	39	51	1.31
#22	-	142	168	1.18
#23	-	172	155	0.90
#24	-	78	95	1.22
#25	-	79	88	1.11
#26	-	44	68	1.55
#27	-	68	100	1.47
#28	-	125	158	1.26
#29	-	29	51	1.76
#30	-	115	136	1.18
#31	-	62	83	1.34
#32	-	191	187	0.98

TABLE III. (Continued)

Sample No.	Age (month)	Peak (1) (mm)	Peak (4) (mm)	Ratio (Peak (4)/Peak (1))
(Ox, Holstein)				
# 1	6	54	65	1.20
# 2	6	58	69	1.19
# 3	6	26	43	1.65
# 4	6	32	61	1.91
# 5	6	39	54	1.38
# 6	18	28	67	2.39
# 7	18	48	71	1.48
# 8	18	56	69	1.23
# 9	18	26	52	2.00
#10	18	32	65	2.03
(Japanese cattle)				
# 1	4	118	108	0.91
# 2	4	28	36	1.29
# 3	4	39	43	1.10
# 4	4	24	32	1.33
# 5	12	43	39	0.91
# 6	12	172	155	0.90
# 7	12	54	71	1.31
# 8	12	79	88	1.11
# 9	18	62	83	1.34
#10	18	55	54	0.98

-, Not checked.

Mean values of the ratio were given as 1.33 (γ , 0.944) for cow, 1.65 (γ , 0.651) for ox, and 1.12 (γ , 0.974), respectively. γ , correlation coefficient.

成分比が高いためピーク高比 ((4)/(1)) は約0.17となり、ブタ (0.57) 及びウシ (1.1—1.7) と明確に判別できた。この成分比の明らかな差は動物種属による代謝機能の違いとはじめに述べたように食餌による天然ステロール成分の供給の差によるものと考えられる。本研究の成果を実際の尿尿処理廃水の人畜汚染識別に利用するため目下検討を行っている。

結 語

糞中に見出される特異ステロイドの分析を行うことにより人畜尿尿汚染の鑑別を可能とする研究を行った。まず、糞特有ステロイドを分画するカラムクロマト条件を確立させ、ついで特有ステロイドの GC 上のピーク高比

から、ヒト、ブタ、ウシの糞ステロイドの特徴を明確にした。これらの特異ステロイドとしてコプロスタノールのほか、24-メチル、及び 24-エチルコプロスタール、スチグマステロールの還元体 (24-エチル- Δ^{22} -5 β -3 β -ol) の存在が推定された。

謝辞 本研究を行うにあたり御協力戴いた山梨県上九一色村、樋浦牧場、新潟県弥彦村、木村、本間両牧場、本多養豚場の関係各位並びに新潟県警察学校の生徒、県警職員の方々に深謝致します。なお、GC-MS の測定をお願いした科学警察研究所鈴木真一氏に併せてここに謝意を表します。

引 用 文 献

- 1) P. Eneroth, K. Hellström, R. Ryhage, *J. Lipid Res.*, **5**, 245 (1964).
- 2) P. Eneroth, K. Hellström, R. Ryhage, *Steroids*, **6**, 707 (1965).
- 3) P. Eneroth, E. Nyström, *Steroids*, **11**, 417 (1968).
- 4) P. Eneroth, J. Gustafsson, E. Nyström, *Eur. J. Biochem.* (Tokyo), **11**, 456 (1969).
- 5) J. Gustafsson, P. Eneroth, *Proc. R. Soc. London B.*, **180**, 179 (1972).
- 6) J.J. Murtaugh, R.L. Bunch, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **39**, 404 (1967).
- 7) 立川 涼, 伊藤治郎, 脇本忠明, *農化*, **51**, 315 (1977).
- 8) 松島 肇, 脇本忠明, 立川 涼, *分析化学*, **24**, 342 (1975).

-
- 9) 小椋和子, 半谷高久, 用水と廃水, **12**, 1132 (1970).
 - 10) P.M. Hyde, W.H. Elliott, *J. Chromatogr.*, **67**, 170 (1972).
 - 11) J.R. Chapman, *Anal. Chem.*, **45**, 1636 (1973).
 - 12) R. Ryhage, E. Steinhagen, *J. Lipid Res.*, **1**, 383 (1960).