食肉の加熱加工時に形成される 3,4-Benzpyrene についての実験的研究

Experimental Studies on the Formation of 3,4-benzpyrene in meat pyrolysed at high temperature

九州大学医学部衛生学教室 (指導 猿田南海雄教授)

児 玉 泰

Yasushi Kodama

Department of Hygienics, Faculty of Medicine, Kyushu University

(Director: Prof. Namio Saruta)

Experimental studies were performed on the formation of carcinogenic 3,4-Benzpyrene in meat treated under pyrolytic conditions.

(1) As the temperature to which meat is subjected in usual cooking is 300°C to 500°C, the experimental pyrolysis of meat was made at 300°C and 500°C in both aerobic and a nitrogen atmosphere and at 700°C in a nitrogen atmosphere.

(2) Chemical analysis was performed in the following manner on the tarry material obtained from the scorches of meat and the smoke generated, respectively. One kilogram of minced meat was first dried at 110°C for 3 hours, and pyrolysed at the specific temperature. The smoke generated was absorbed in a series of bottles containing acetone or benzene. The solvent was evaporated off under reduced pressure in a nitrogen atmosphere to get a tarry material. The scorches were separated and extracted with acetone in a Soxhlet apparatus for several hours. The acetone extract was then evaporated off to obtain a tarry material.

(3) The tarry material obtained from smoke was washed with 10% NaOH, 10% H₂SO₄ and water. The neutral fraction of tarry material thus obtained was chromatographed repeatedly on activated alumina until it decreased to about 0.5 g. Benzene, cyclohexane, and petroleum ether containing 5% acetone were used as eluents.

(4) The final column chromatogram was carried out using alumina containing 3% H₂O as adsorbent and cyclohexane followed by cyclohexane containing 10 to 30% benzene as eluent. The purification of 3,4-benzpyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons was made by paper chromatography using acetylated paper. The polycyclic aromatic hydrocarbons contained in each eluate fraction were identified and determined by the absorption spectrophotometry reported by Cooper.

(5) The amounts of 3,4-Benzpyrene detected in the smoke and scorches obtained by pyrolysis of meat (1 kg. wet material) were as follows:

4580 µg and 132 µg at 700°C under N₂, 31 µg and 16 µg at 500°C under N₂, and 2 µg in smoke at 500°C under the ordinary atmosphere. No 3,4-Benzpyrene was detected in the tarry material obtained under other experimental conditions.

I. 緒 言

芳香族炭化水素の発癌性に関する研究は、古くは英国における煙突夫の皮膚癌についての Pott¹⁾ の報告に始まり、これは山極、市川²⁾による画期的な初的人工タール癌の成功によって注目されることとなり、ここにその端を発したといえる。更にこれは Cook および Hieger³⁾

等による一連の系統的なタール分析による 3,4-Benzpyrene (以下 3,4-B.p. と略す) の分離となり、その強力な癌原性の実証されるに至った。同時に環境中における分布に関する研究も、幾多の研究者によって開始されたが、その分布は極めて広汎におよび、3,4-B.p. による生活環境の汚染は衛生的、公衆衛生的立場からも憂慮すべき状態にある事が、次第に明らかにされ、増加する

癌, 特に呼吸器癌の一因として今日考えられている。すなわち, 大気汚染と肺癌発生との関係が重大な課題として Hueper⁴⁾, Kotin⁵⁾, Kennaway⁶⁾ および Breslow⁷⁾ 等によって提起された。大気中の発癌性物質として 3, 4-B.p. の分析を, 1952 年に Waller⁸⁾ が London その他の都市空気について行ない, Cooper⁹⁾, Kotin¹⁰⁾, Cambell¹¹⁾, Shore¹²⁾, Sawicki^{13, 14)} 等によっても相次いで報告され, わが国の大気中の 3, 4-B.p. については, 猿田¹⁵⁾, 勝冶¹⁶⁾, 角田¹⁷⁾ 等が報告している。最近においては, 分析法の進歩もあづかって欧米では大気汚染の一指標として測定が行なわれている。又, 実験的な考察も Passay^{18, 19)}, Kotin¹⁰⁾, Cambell²⁰⁾ 等多くの研究者によって行なわれてきた。この汚染をもたらす 3, 4-B.p. の発生源である排気ガス, 煙突ガス, カーボンブラック, タバコ煙に対する分析や, 動物実験も数多くなされており, その結果 3, 4-B.p. の検出, 癌の形成をみているが, 多環芳香族炭化水素の生成に必要な加熱, 燃焼について考えるに, これら以外に一般家庭等における食品の熱処理加工が挙げられ, この処理過程に各種の多環芳香族炭化水素, なかんづく 3, 4-B.p. の如き 癌原性物質が形成されないかという疑問が持たれるのも当然であろう。1939 年 Widmark²¹⁾ は加熱処理した食物中の発癌性物質の存在についてという報告を出しているが, 馬肉, コーヒー, バターを加熱処理して石油エーテル抽出液をマウスに塗布し, 腺癌の発生を認め, Kennaway²²⁾ 等の報告の如く, 造癌物質の生成を暗示するのではないかと述べているが, 滴下部位には癌の発生を認めていない。又 Steiner²³⁾ 等によっても加熱肉, 加熱ゴマ油による発癌が試みられているが, これらではいずれも発癌物質の分析は行なわれていない。しかし倉恒²⁴⁾ はビスケットのこげから 3, 4-B.p. を定量し, 又コーヒー・スズ²⁵⁾ の分析を行なって各種の多環芳香族炭化水素を分離している。さらにその後, 食品の加熱処理と 3, 4-B.p. の問題に関しては Gorelova²⁶⁻³⁰⁾, Tilgner³¹⁾, Bailey³²⁾ 等の燻製食品および燻煙の分析があり, いずれも微量ながら 3, 4-B.p. を検出しており, Bailey 等は Iceland の胃癌が日本やフィンランドに匹敵する程の高率の発生を認める一因ではないかとまで論じている。Davies³³⁾ 等は澱粉を 370~390°C で熱処理し, 蛍光分析の結果, 生成する“こげ”の中に微量の 3, 4-B.p. を検出している。燻製品中の多環芳香族炭化水素は燻蒸が, その材料として, のこくずや動物糞が用いられる時は, 長い場合には 8~12 週間, 短い場合でも数日にわたってなされるので, その時発生した煙中の多環芳香族炭化水素が魚や肉等に付

着するものであって, 食品自体が温度変化によって生成したものではない。それゆえ, 著者は食肉を一般家庭において処理する温度で熱加工した場合にも, 一般有機物の燃焼時に発生するような各種多環芳香族炭化水素が形成されるか否か, 特に発癌性 3, 4-B.p. の形成の有無を中心としてローストパンを用いての空気中における熱分解と空気供給の無い窒素気流中における熱分解を 300°, 500° 及び 700°C (窒素気流中のみ実施) についてそれぞれ実施し, 形成される煙及び“こげ”の分析を試みた。温度条件として前記の温度を選択した理由は, 一般家庭及び焼肉食品店における熱加工について, 種々の条件で測定せる結果, 焼肉食品店のステンレス管中にニクロム線を入れた加熱加工器の場合, 発熱体の表面温度は 500~570°C で, その上部 6cm の焼肉部の空気温度は約 350°C であり, さらに一般家庭での調理時における鍋の表面温度は約 250°C の場合が多く認められた。高温部として 700°C を選んだのは加熱温度が上昇した場合を考えたことと, Badger³⁴⁾ 等が簡単な脂肪属および芳香族炭化水素の熱分解を 700°C で試みているため, これとの比較も考慮して実施した。

II. 実験方法

1. 試薬

(1) ベンゼン

片山化学工業株式会社製, 試薬 1 級。約 1/10 量濃硫酸を加え, 硫酸層に着色を認めなくなるまでよく振盪し, ついで水洗し, 無水硫酸ナトリウムを加えて乾燥し, 分留管を附して再蒸留を行ない, 残留液に蛍光を認めぬことを確認してから用いた。(80~81.5°C)

(2) サイクロヘキサン

片山化学工業株式会社製, 試薬 1 級。250°C に 24 時間放置して活性化した片山工業株式会社製カラム用シリカゲル (100 メッシュ) を 10.0×30.0 cm のカラムに充填し, サイクロヘキサン 5l を通して混入ベンゼンを除去し, 分留管を附して再蒸留を行ない, 残留液に蛍光を認めず, かつ分光光度計でベンゼンの吸収のないことを確認した。これは主として分析の最終段階において使用した。分析過程前半においては分留管を附して再蒸留したものを使用した。(80~81°C)

(3) 石油エーテル

片山化学工業株式会社製, 試薬 1 級。濃硫酸で硫酸層が着色しなくなるまで洗滌し, 水, 水酸化ナトリウム, 水で順次洗滌した後, 無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し, 分留管を附し残留液に蛍光を認めなくなるまで再蒸

留を行なった。(45~70℃)

(4) アセトン

片山化学工業株式会社製，試薬 1 級。粉末過マンガン酸カリウムの微量を加えて振盪して，3 日間放置し，脱色しなくなるに至って，二酸化マンガンを濾去し，無水炭酸カリウムで脱水乾燥後，蛍光を認めなくなるまで再蒸留を行なった。(56℃)

(5) アルコール

片山化学工業株式会社製，試薬 1 級。分留管を附して 2 回蒸留を行ない，残留液に蛍光を認めぬことを確認した。(78.2℃)

(6) 無水醋酸

片山化学工業株式会社製，試薬 1 級。残留液に蛍光を認めなくなるまで再蒸留を行なった。(140.5℃)

(7) トルエン

片山化学工業株式会社製，試薬 1 級。分留管を附して残留液に蛍光を認めなくなるまで再蒸留を行なった。(110℃)

(8) 活性アルミナ

和光純薬工業株式会社製。一般にはクロマトグラフィー用標準酸化アルミナ (200~300 メッシュ) を 130℃ で 3 時間加熱し活性化して使用した。非活性アルミナはこれに適量の蒸留水を加えて調製した。分析過程の前半の段階において使用する場合は 250℃ で 24 時間放置して活性度を高めた。

(9) シリカゲル

片山化学工業株式会社製。クロマトグラフィー用 (100 メッシュ) シリカゲルを 250℃，24 時間の加熱を行なって活性化した。

(10) 対照用芳香族炭化水素

3,4-B.p. (Light 社製)，Anthracene (片山化学工業株式会社製)，Pyrene (Light 社製) 等はカラムクロマトグラフィーにより精製した。

(11) ペーパークロマト用濾紙

東洋科学産業株式会社製 No. 50, 40×40 cm。

(12) アセチルペーパー

Spotswood³⁵⁾ の報告による方法の一部を変更してアセチル化を行なった。すなわち 1/2 大の (11) 濾紙 (20×40 cm) 30 枚を巻いて広口クロマト容器に入れ，これに無水醋酸 1200 ml，チオフェンを含ませ精製ベンゼン 1500 ml，濃硫酸 1.5 g よりなるアセチル化液を入れ，時々振盪して室温 (15°~20℃) にて 24 時間放置後，アセチル化液を捨て無水アルコールに時々振盪しながら一昼夜浸漬した。ついでアルコール液を除き，流水にて 8 時間洗滌後風乾した。

(12) 窒素ガス

福岡酸素株式会社製，高純度 (99.9%)。

2. 実験機器及び装置

(1) 加熱分解装置

図 1 に示す如く，加熱分解部は空気中の場合にはローストパンの蓋を改良して排煙管を附し，又表面温度計の挿入口を設け，ガスによる加熱を行なった。窒素気流中の場合には石英フラスコと電気炉を使用した。

(2) 島津製携帯用表面温度計 SPS 形

(3) 東芝蛍光検査灯 FI3L 型 (3650 Å)

(4) 日立自記記録分光光度計 EPS 3 型

(5) 東洋科学産業株式会社製角型フラクションコレクター (SF 200A 型)

(6) その他 Soxhlet 抽出装置，カラムクロマトグラフィー器具，減圧蒸留装置，ガラス器具等は常法による洗滌後蒸留アセトンで洗滌して紫外線下に蛍光を認めぬものを使用した。

3. 加熱分解

空気中での加熱分解は図 1 に示す如く，一般家庭で用いられるローストパン (直径 25 cm 鉄板製：蓋はロー引き) を使用し，蓋，中央部にある空気調節孔つき持手の部分を取りはずし，排煙口をとりつけて発生煙の吸収管に連結した。吸収管部は補助瓶，アセトン約 100

図 1 加熱分解装置

ml の吸収液を入れた 300 ml ガス吸尿管 6 本, ベンゼン約 100 ml を吸収液とする同型吸尿管 3 本, 補助瓶 1 本よりなり, 吸尿管は氷冷し, ガスメーター, 真空ポンプを連結した。

窒素気流中における分解の際は加熱分解部に石英 1 l 丸型コルベンを用いて, 窒素ポンプ, ガスメーター, 加

熱部, 吸収部の順に連結して加熱は電気炉を使用した。電流およびガスの焰を加減して, あらかじめ加熱分解の所定温度に調節した。

ガス加熱の場合には定温に達した後, 食肉の投入を行なった。定温度の維持が危惧されたが, 図 2 (a)~(e) に示す如く, 焰の調節によりほぼ一定に保つことが出来た。食肉はあらかじめミンチとなし, 電気乾燥器により 110°C で 1/3~1/4 の重量になるまで半乾燥状態となし, 空気中の場合は食肉 1 kg を 4 回に分けて, 鍋面に均等にばらまかれるように手早く投入し, 直ちに蓋をして発生煙の捕集を行ない, 煙の発生が止んでさらに新たに投入した。

窒素気流中の場合には, あらかじめ処理肉の全量を補助容器に入れ, 窒素を送入しながら少量ずつを分解フラスコに投入した。窒素の送入は平均 1.5~2.0 l/min で行ない, 空気中の場合は空気との接触を良好にする為と煙の吸収をよくする目的で通気量を窒素の 5 倍となるよ

図 2 加熱処理温度

(a)

(b)

(c)

(d)

(e)

うにし、平均 8~10 l/min で行なった。加熱処理時間は分解温度の高低によって変動するが 1 kg につき 1 時間を目標とした。空気中の加熱の場合、ローストパンおよびガスの使用では 700°C は得られず、電気炉を使用して 700°C で半乾燥肉の投入を行なうと瞬時に燃焼するので、同装置による空気中 700°C の加熱分解は行なわなかった。500°C においても電気炉、石英フラスコの使用は途中で燃焼し、一定温度での加熱分解が出来ないので家庭用ローストパンを用いて、空気量を前記の如く調節した条件下で実験した。アセトン液第 1, 第 2 吸引管は茶褐色を呈し、以下第 5 吸引管まで黄色を呈し、紫外線下において観察する時、第 7 吸引管位まで青紫色の螢光を認めた。吸引液は合一し、吸引管はアセトンで洗滌し、洗滌液も吸引液と合一する。ローストパン、石英フラスコ中に残存する“こげ”は冷却後、取り出して秤量し全量を分析に使用した。

4. 分 析

(i) 煙の分析

各温度条件の下に窒素気流中、および空気中で加熱分解された食肉の発生煙と“こげ”の分析がなされたが、その分析過程はカラムクロマトグラフィー、ペーパークロマトグラフィーによる分離を中心としたもので、細部に多少の差はあるも本質的には差を認めぬため、本実験で最も多く多環芳香族炭化水素の生成を認めた窒素気流中 700°C の加熱分解について記述し、他はこれと異なる点についてのみ附記する。

すなわち、食肉 500 g をミンチとし、110°~115°C の電気乾燥器にて約 3 時間乾燥を行なって得られた試料を、窒素ガスを平均 1.57 l/min の速度で送入しながら加熱分解を行ない、発生煙を前記装置の吸引管に吸引せしめた。アセトン吸引液および吸引瓶の洗滌液を窒素気流中、減圧にて留去後、ベンゼン吸引液も同時に留去して 45 g の黒褐色タール状物質を得た。これにベンゼン 300 ml を加えて、さらに 10% 水酸化ナトリウム液 100 ml ずつでくり返し振盪して酸性成分を除去した後、10% 硫酸 100 ml ずつでくり返して振盪抽出し、アルカリ成分の除去を行ない、ついで水洗した。用いた水酸化ナトリウム液、硫酸液は再びベンゼンで再抽出し、抽出液は原液に合一した。原液は水洗後、無水硫酸ナトリウムを加わえて一昼夜放置して脱水後、窒素気流中にて減圧濃縮してタール状物質の中性成分 23 g を得た。つぎにこれをカラムクロマトグラフィーをくり返すことによってアルミナに吸着される部分の可及的な除去を試みた。すなわち、中性部分を少量のベンゼンに溶かして強活性アル

ミナ 300 g を充填したカラム (5.0×20 cm) に流し込んで吸着させ、容器はさらに少量のベンゼンで数回くり返して洗い、アルミナ柱に吸着後、ベンゼンを展開液として展開溶出させた。展開速度は比較的早く、特異な吸着帯は認められず、アルミナ柱全体が均一に茶褐色に着色し、紫外線下においても同様であった。展開先端がカラム下端より 5 cm になってから約 3 l のベンゼン留液を得た。予備試験の結果、タールの茶褐色物質が 3,4-B.p. 等の多環芳香族炭化水素の特異的な螢光を隠蔽する作用は大で、ススおよび都市降下塵中のタールや自動車排気ガスのカラムクロマトグラフィーにおいて認められるような、分離した螢光層はなく、1 mg の 3,4-B.p. の存在も螢光からは確認し難い。また同径のアルミナ柱を用いて、同一条件で 3,4-B.p. 単独と、タール物質微量に 3,4-B.p. を加えたものを展開して比較し、流速を調べた結果、アルミナの活性を低下させる傾向がうかがわれた。これよりアルミナカラムを用いて、紫外線下に分離した螢光層を認めるまでの精製は不能と考えられたが、分光光度計によって、各種多環芳香族炭化水素の特異的な吸収ピークを認めるまでの精製は、カラムのくり返しによってかなりの程度まで行なえることが明らかになったので、本試験においても以下同様のカラムクロマトグラフィーを実施することにした。

第 1 回カラムの溶出ベンゼン液は茶褐色を呈し、紫外線下においては青紫色の螢光を認めた。窒素気流中、減圧下、約 40°C の条件でベンゼンを留去して得られたタール状物質 15 g を第 2 回のカラムクロマトグラフィーにかけた。第 2 回のカラムクロマトグラフィーは強活性アルミナ 200 g を用いて (3.5×25.0 cm)、少量のベンゼンに溶かしたタール状物質を吸着させ、ベンゼンにて展開溶出を行ない 4.0 l を溶出させて、前回同様に窒素気流中減圧下に濃縮すると約 5 g のタール状物質が残し、タール状物質の相当量が前 2 回のカラムクロマトグラフィーによって吸着除去されたことになる。予備試験により、この条件下の加熱分解では相当量の多環芳香族炭化水素が形成されていることが明らかであり、第 2 回のカラムクロマトグラフィーで得られたタール状物質の 1/2 量で多環芳香族炭化水素の検出には十分であって、かつタール状物質の量を減少せしめる方が分析が容易であるので、5 g のタール状物質をベンゼンにて正確に全量 20 ml とし、その 1/2 量の 10 ml を用いて以下の分析に使用した。

第 3 回カラムクロマトグラフィーも第 2 回と同様、強活性アルミナ 200 g (3.0×26.0 cm) を用いてベンゼン

による展開溶出を行ない, 3.0l のベンゼンを溶出させ, 窒素気流中における減圧濃縮を行ない, 得られたタール状物質は 2.0g であった。第4回カラムクロマトグラフィーは強活性アルミナ 200g (3.0×26.0cm) を用いて, アセトン含有の石油エーテルを用いて展開した。5% アセトン含有石油エーテルで展開を行なえば 3,4-B.p., Coronene 等まで溶出することが他の実験より明らかであるので, 5% アセトン石油エーテル 1.5l で展開溶出を行なった。溶出液は黄色であり, 窒素気流中で濃縮すると赤褐色油状物質が残り, まだ最終的なカラムクロマトグラフィーを行なうに十分な状態ではない。すなわちフラクションコレクターを用いての分離は管径 1.0~1.5cm のカラム管を用いて行なうので, タール状物質は 0.5g 程度にならないければ, 肉の加熱加工によって得られたタール状物質の場合, 分離がよく行なわれない。

前記4回までのカラムクロマトグラフィーによって茶褐色物質の大部分は除去されているので, 比較的早く溶出する部分と, 遅く溶出する部分に溶出液を2分する目的で, 再度強活性アルミナ 200g (3.0×26cm) のカラム柱を用いてベンゼンによる第5回カラムクロマトグラフィーの展開を行なうと, 可視光線下で赤褐色, 紫外線下で黄緑色を呈して比較的ゆっくり下降する部分が認められたので, これより前部を (A), 以後を (B) として溶出ベンゼン液を分けた。溶出量は (A) で 1.2l, (B) では 2.5l であった。次に (A), (B) 両液を別々に窒素気流中で減圧濃縮して, それぞれ次のカラムクロマトグラフィーにかけた。すなわち第6回カラムクロマトグラフィーは 10% 含水アルミナ 80g を用いたカラム柱 (3.0×17.2cm) に吸着させた後, サイクロヘキサン 3.0l で展開し, この溶出液は前回までと同様に窒素気流中において減圧濃縮した。3,4-B.p. 等の多環芳香族炭化水素は (A) に含まれることが予備試験で明らかなので, (A) についての最終的なカラムクロマトグラフィーを行なうこととした。しかしながらこの段階においても茶褐色物質の除去は十分でなく, これの存在によってアルミナの活性が低下し, その結果一部の多環芳香族炭化水素は活性アルミナ, サイクロヘキサンを用いたカラムクロマトグラフィーでこの茶褐色物質と同時に溶出する傾向にあるので, 第7回クロマトグラフィーは強活性アルミナ (250℃, 24時間活性) 35g を充填したカラム柱 (2.0×20cm) でサイクロヘキサンによる展開を行なった。先端部に茶褐色の特に濃い層が移動するので, この茶褐色先端部が下端より 5cm になってから 500ml 溶出せしめた茶褐色層部 (Aa) と溶媒を 50% ベンゼンサイクロ

ヘキサンに変えて 1l 溶出せしめた後半部 (Ab) の2部に分けた。それぞれについて, 従来と同様の窒素気流中濃縮を行ない, 別々に最終的なカラムクロマトグラフィーを行ない, フラクションコレクターによって分取した。(Aa) 部は 2% 含水, アルミナ 30g を用いて 1.8×20cm のアルミナ柱を作り, これに (Aa) 部を少量のサイクロヘキサンに溶かして吸着させ, 容器は前回までと同様に少量のサイクロヘキサンで蛍光を認めなくなるまで数回洗ってカラム柱に吸着させた。展開溶媒としてサイクロヘキサンを使用した, 茶褐色物質のために多環芳香族炭化水素の流速も大であるので, 3g ずつ分取を行なった。溶液は水浴上で濃縮乾燥後, 減圧デシケーターに一昼夜放置し, サイクロヘキサンにて正確に 5又は 10ml とした後, ベックマン自記分光光度計を用いて可紫部および紫外部の吸収スペクトルを測定した結果 Acenaphthylene, Anthracene, Phenanthrene, Pyrene, Fluoranthene を確認した。(Ab) 部に関しては 2% 含水のアルミナ 40g を用いて 1.6×28cm のカラム柱を作って吸着後 20% ベンゼン含有のサイクロヘキサンによって展開を行ない, 5g ずつをフラクションコレクターによって分取した。溶出液は水浴上窒素を送入して蒸発乾燥せしめ, シリカゲルを乾燥剤としたデシケーターで減圧下に一昼夜放置して乾燥した。つぎにサイクロヘキサンにて正確に 10ml の溶液としてベックマン分光光度計によって可紫部および紫外部の吸収を測定し, 1,2-Benzanthracene, Chrysene, 3,4-B.p., 1,2-Benzpyrene, Perylene, Benz(k)fluoranthene, Anthanthrene を確認した。(Aa) および (Ab) について得られた吸収曲線は, 標準物質のサイクロヘキサン溶液の吸収曲線, 倉恒の報告による吸収曲線, および Robert A. Friedel "Ultraviolet Spectra of Aromatic Compounds"³⁶⁾ の吸収曲線と比較することによって同定した。しかしこの段階では, 各多環芳香族炭化水素の純粋な状態での分離には成功しなかった。従って炭化水素に特有なピークを用いて Cooper の報告した baseline technique による定量を実施した後, 類似の吸収を示したフラクションを合一して, 水浴上窒素ガス中濃縮を行なった後, アセチル化ペーパー (20×40cm) の下端 5cm の基線上に毛細管で点滴する。さらに微量のベンゼンで容器に附着残留する多環芳香族炭化水素を紫外線下に蛍光を認めなくなるまでよく溶出せしめて, アセチル化ペーパー上に点滴した。展開溶媒としてエタノール: トルエン: 水 (17: 4: 1 v/v) を用いて上昇法により 20℃, 12時間, 約 30cm の展開を行なった。展開後紫外線下に観察して蛍光

部分を記録して切り取り、紫外線下に蛍光を認めなくなるまで温ベンゼンでくり返して抽出を行ない抽出液を合一した。抽出液はアルミナの小柱を通過させて、ベンゼンで蛍光部をすべて溶出させ、不純物質を除去した。多環芳香族炭化水素を含有するベンゼン液は水浴上で蒸発乾涸させ、シリカゲルを乾燥剤としたデシケーター中に減圧下で一昼夜放置後、サイクロヘキサンにて正確に一定量 (10~20 ml) としてベックマン分光光度計により可視および紫外部の吸収を測定し、その特異ピークによる定量を行なった。フラクシオンによる分離後の定量値とアセチル化ペーパーによる分離定量後の値および回収率は表 1 に示すとおりである。図 3~図 14 はフラクシオンコレクターによる分離後の吸収曲線およびアセチル化ペーパーによって精製後の吸収曲線、さらに標準物質の吸収曲線を示したものである。食肉の 700°C 窒素気流中における熱分解時に生成する煙に含有される各種多環芳香族炭化水素の食肉 1 kg 当りの量は表 2 に総括したとおりである。なお Cooper の方法による定量の場合に用いた多環芳香族炭化水素の波長は次のとおりであり、括弧内は baseline を引いた波長を示す。

Acenaphthylene	340 m μ (336.5~343 m μ)
Anthracene	376 m μ (366~386 m μ)
Phenanthrene	292.8 m μ (287~300 m μ)
Pyrene	334.5 m μ (326~341 m μ)
Fluoranthene	287 m μ (284~292 m μ)
1,2-Benzanthracene	288.2 m μ (282.5~294 m μ)
Chrysene	268 m μ (261.5~275 m μ)

表 1 アセチル化ペーパーによる分離後の回収率

	フラクシオン分離後の 定量値	アセチル化ペーパー分離後の 定量値	回収率
Anthracene	2037 μ g	1874 μ g	92.0
Phenanthrene	5689	(蛍光なし)	
Pyrene	1705	1540	90.3
1,2-Benzanthracene	1492	1242	83.3
Chrysene	1844	(蛍光なし)	
3,4-B. p.	(1) 1146	(1) 864	75.4
	(2) 66	(2) 54	81.8
1,2-B. p.	58	41	70.7

3,4-B. p.	384.5 m μ (374~392 m μ)
1,2-Benzpyrene	330.8 m μ (324~338 m μ)
1,12-Benzperylene	383 m μ (372~392 m μ)
Perylene	435 m μ (418~445 m μ)
Benz(k)fluoranthene	401 m μ (396~407 m μ)
Anthanthrene	428 m μ (424~433 m μ)

各温度における煙の分析は、前記 700°C の窒素の場合と同様に酸およびアルカリによる洗滌を行なった後に、活性アルミナのカラムクロマトグラフィーをくり返して行ない、タール中に含有される各種の多環芳香族炭化水素の同定、定量に妨害となる各種物質の可及的除去を行ない、0.5 g 程度に精製した後に、フラクシオンコレクターによる分離を実施した。空气中、窒素中の 300°C および 500°C における食肉熱分解は、食肉 1 kg について実験を行なった。又空气中での加熱分解および窒素気流中の 300°C における発生煙に含まれるタール状物質の量

 表 2 食肉 1 kg からの生成量 (μ g)

	700°C		500°C			300°C	
	煙 (窒素気流中)	こげ (窒素気流中)	煙 (窒素気流中)	こげ (空気中)	こげ (窒素気流中)	煙 (窒素気流中)	こげ (窒素気流中)
Acenaphthylene	11,180						
Anthracene	8,150	190					
Phenanthrene	22,750	682	51				
Pyrene	6,820	520	15	3	42	6	trace
Fluoranthene	5,160	268	14		11		
1,2-Benzanthracene	5,960	322	76				
Chrysene	7,380	512	20				
3,4-Benzpyrene	4,580	132	31	2	16		
1,2-Benzpyrene	1,620	116	18				
1,12-Benzperylene		40					
Perylene	1,112	6					
Benz(k)fluoranthene		30					
Anthanthrene		24					

図 3 Acenaphthylene

図 6 Pyrene

図 4 Anthracene

図 7 Fluoranthene

図 5 Phenanthrene

図 8 1,2-Benzanthracene

図 9 Chrysene

図 12 Perylene

図 10 3,4-Benzpyrene

図 13 Benz(k)fluoranthene

図 11 1,12-Benzpyrene

図 14 Anthanthrene

は、加工食肉同一量に対して 700°C の約 1.5 倍量であって、かつアルミナカラムクロマトグラフィーの反復によっても除去され難いことが予備試験で認められたので、第3回カラムクロマトグラフィーは 250°C で 24 時間加熱して活性化した 100 メッシュのシリカゲル 150 g のカラム柱 (3.0×25 cm) に吸着させ、ベンゼンによる展開を行なった結果、赤茶褐色部の除去がかなり良好に出来た。しかしながら 700°C 窒素気流中における加熱分解と比較して、カラムクロマトグラフィーでの蛍光部の展開速度が促進される傾向があり、分離が良好でなかった。ゆえにフラクションによる分離を行なう前段階においてアセチル化ペーパーを用いて、上昇法によりエタノール：トルエン：水 (17:4:1) の溶媒で 30 cm の展開を行なった。赤褐色部はペーパークロマトグラフィーの先端部に集まるので先端より約 3 cm を切り取り、残部を温ベンゼンによって再抽出し、濃縮をしてからカラムクロマトグラフィーを行なった。

(ii) “こげ” の分析

食肉 0.5 kg の 700°C における窒素気流中加熱分解によって得られる軽質多孔質の“こげ”の重量は 17.0 g であった。窒素気流中において水浴上で 30 時間のアセトン抽出を行ない、抽出液に蛍光を認めなくなった後に窒素気流中水流ポンプ減圧下で溶媒を完全に留去し、タール状物質 1.5 g を得た。留液は紫外線によって検査するもほとんど蛍光は認められなかった。産生されるタール量が少ない場合には強活性アルミナカラムクロマトグラフィーによって、非芳香族炭化水素の除去が行なえることを明らかにしたので、“こげ”の抽出により得られたタール状物質は 10% アルカリ、10% 硫酸による洗滌を行わずに、タール状物質を少量のベンゼンに溶かして、直接カラムクロマトグラフィーを行なった。すなわち、第1回カラムクロマトグラフィーは強活性アルミナ 40 g をカラム管に充填して (2.1×19 cm) とし、タール状物質のベンゼン溶液を注いで吸着せしめ、ベンゼン約 1.5 l で展開を行なうと褐色物質は上層に固定された。したがって煙の分析の場合の如く茶褐色物質が同時に展開溶出してカラム全体を覆い、紫外線下に均一な蛍光を発して、判別を困難とするような状態には至らなかったが、分離層の明確な判別は依然として困難である。多環芳香族炭化水素を含有すると考えられる溶出ベンゼンは黄色にて紫外線下に観察すると青紫色の蛍光を発した。このベンゼン液は窒素気流中、減圧下において水浴上 40°C で濃縮し、さらに第2回カラムクロマトグラフィーにかけた。5% 含水アルミナ 30 g を充填した 1.8

×25.0 cm カラムを用い、展開溶媒は 50% ベンゼン含有のサイクロヘキサンを用いて約 1 l の溶出を行なった。溶出液を上記と同方法によって濃縮して最終のカラムクロマトグラフィーにかけた。すなわち 2% 含水アルミナ 30 g を用いて 1.8×18 cm のカラム柱を作り、第2回カラム後に得た茶色の油状物質を吸着させ、フラクションコレクターによる分取を行なった。“こげ”の抽出タール分析においても展開流速が著者の試みた都市降下塵等の分析に比較して促進される傾向にあるので、フラクション No. 1~No. 25 はサイクロヘキサンによって展開し、5 g ずつ分取した。さらに No. 26~No. 50 は 5% ベンゼン含有のサイクロヘキサン 10 g にて展開、以下 No. 51~No. 60 は 10% ベンゼンサイクロヘキサン、No. 70~No. 80 は 20% ベンゼンサイクロヘキサンの順で展開分離、各フラクション毎に水浴上で溶媒を留去、減圧デシケーター中に一昼夜放置、更にサイクロヘキサンにて正確に 10 ml とし、分光光度計による可視部、紫外部の吸収を測定した。その結果、多環芳香族炭化水素の混在の認められるものもあり、それらのうち多環芳香族炭化水素、特異のピークを示す試料については含量の測定を行なった。後に類似の吸収を示したフラクションを合一して、溶媒を水浴上で留出し、全容をベンゼンにて正確に 10 ml とし、そのうち 5 ml をとって濃縮して煙の場合と同様に 20×40 cm のアセチル化ペーパーを用いて分離精製を行なった。紫外線下に展開濾紙を観察して蛍光部分を切り取り、もはや蛍光が認められなくなるまでベンゼンによる再抽出をくり返し、抽出液は小アルミナ柱をベンゼンで通過後、再び溶媒のベンゼンを留去し、減圧デシケーター中で一昼夜放置、最後にサイクロヘキサンにて一定量として分光光度計によって測定した。食肉 1 kg から得られた“こげ”の芳香族炭化水素の量は表 2 に示す。以上の如く 700°C において窒素気流中で加熱処理を受けた食肉の“こげ”からは各種の多環芳香族炭化水素が検出されたが、著者が試みた他の条件下に得られた“こげ”からは各種の多環芳香族炭化水素を認めるに至らなかった。すなわち、食肉 1 kg の熱加工で得られた“こげ”からアセトンによって抽出されたタール状物質の第1回カラムクロマトグラフィーにおいて茶褐色部分はアルミナカラム柱の上層に強く吸着され、ベンゼンにて溶出する物質の蛍光は極めて弱く、かつ多環芳香族炭化水素特異の蛍光分離層は認められなかった。

(iii) 回収試験

本研究においては食肉加工時に 3,4-B.p. が生成され

るか否かについての分析を主目的としたのであるが、クロマトグラフィーの反復によって損失を伴うことはまぬがれ難く、そのため極めて微量しか含まれない芳香族炭化水素が最終的な段階において検出し得ぬ場合が考えられる。従って上記の諸条件で定量された芳香族炭化水素の量は最小値と考えられる。3,4-B.p. のアセチル化ペーパーによる RF 値は小さく、単離は良好に行なえ、表 2 に示す如く 700°C の窒素気流中での加熱分解により得られた“こげ”からは芳香族炭化水素が分離検出されているが、その他の条件下によって得られた“こげ”からは 3,4-B.p. 等は検出出来なかった。その理由については極めて微量のために分析過程中において損失されるとも考えられ、更に Falk³⁷⁾ 等がカーボンブラックの活性について報告しているように、著者の場合にも加熱加工して出来た芳香族炭化水素が“こげ”の中に共存している炭化物に吸着された結果、Soxhlet 抽出の場合に溶出ししないのではないかと考えられる。

従って、著者はそれを吟味する目的で次の回収試験を行なった。3,4-B.p. 204 μg と Anthracene 193 μg を含むベンゼン溶液各々 1 ml ずつを、空气中 500°C で得られた“こげ”60 g に加えてデシケーター中に一昼夜放置して、ベンゼンを除き、Soxhlet によって 8 時間のアセトン抽出を行ない、窒素気流中で抽出液を濃縮後 3% 含水アルミナ 30 g を用いた 1.8×14 cm のカラムに吸着させ、5% ベンゼンサイクロヘキサンで Anthracene を展開溶出させた後、30% ベンゼン含有サイクロヘキサンで 3,4-B.p. を溶出させた。溶出液は窒素気流中減圧で溶媒を留去し、サイクロヘキサンで一定容として可視部の吸収を測定し、定量した。対照として同時に同径の同一カラムを用いて、上記吸着試験に使用した Anthracene 及び 3,4-B.p. 原液 1 ml ずつをとってカラムクロマトグラフィーを行なった。この両者の比較によって“こげ”による吸着損失を知った。さらに、原液の吸光度と、対照のそれとの比較によって 1 回のカラムクロマト通過による損失を知った。その結果 3,4-B.p. の場合は対照が 193 μg 、吸着試験が 187 μg であって、回収率はそれぞれ 193/204=94.5%、186/204=91.6% を示し、“こげ”による吸着は殆んど認められなかった。カラムによる損失は管径およびアルミナ量、更に紫外線下で判別出来るか否かによるが、著者の予試験では 83.0~94.5% の回収率であり、はなはだしい損失は起らないと結論出来る。Anthracene についての前述の吸着試験の結果は、カラム通過後 150 μg 、“こげ”吸着分 145 μg で 3,4-B.p. 同様“こげ”による吸着は考えられない

が、回収率 150/193=78%、145/193=75% で、カラムを通過させることによる損失がある。これは水浴上加温によって溶媒の留去を行なう時に飛散損失したのではないかと考えられる。さらに、前述の如きアセチル化ペーパーによって分離後、ベンゼンで再抽出する際の回収率は Phenanthrene, Chrysene 等紫外線下の蛍光の無いものや、弱いものについては十分に行ない得ないが、蛍光の明確な物質について得られた結果は、表 1 の如く 75~100% の回収率である。アセチル化ペーパーによる 3,4-B.p. の RF 値は小で分離は良好であり、回収率は 80~90% であった。以上の如く紫外線下に多環芳香族炭化水素固有の蛍光を認める場合の回収率は良好であるが、食肉熱加工によって生成する煙から得られたタールのごとく、芳香族炭化水素の蛍光を隠蔽して特有の分離層が認められない場合や、分析過程の酸、あるいはアルカリによる処理の回収率に及ぼす影響を求めるために 3,4-B.p. の検出されない（窒素気流中 300°C の加熱加工）煙から得られたタール状物質に新たに 3,4-B.p. を添加、回収試験を試みた。煙の吸収液を留去後、得られたタール 39 g に 3,4-B.p. 510 μg を溶かしたベンゼン 10 ml を加えて、700°C 窒素気流中の加熱分解による発生煙の分析法と同一の操作を施した。第 7 回カラムクロマトグラフィー後に得られた値は 264 μg 、回収率 264/510=52% であった。

Ⅲ. 実験結果

窒素気流中 700°C、500°C および 300°C、空气中 500°C および 300°C の条件において食肉の加熱分解を行ない、発生する煙と“こげ”の分析定量の結果は表 2 に示す如くである。本実験は 3,4-B.p. の生成の有無についての分析を第 1 とし、同時にその他の有機物の熱分解産物として認められる代表的な多環芳香族炭素についての分離定量を行なったもので、アルキル置換体、含窒素多環炭化水素の分離は試みなかった。

Ⅳ. 考察

有機物の不完全燃焼によって、各種の炭化水素が生成され、中でも強力な発癌性を有する 3,4-B.p. の存在は環境と癌に関する問題を提起しているが、3,4-B.p. の分離は、1933 年に Cook, Hewett および Hieger³⁸⁾ 等によって 2 トンの石炭タールを用いて系統的な分析が行なわれ、約 60 g の分離に成功して以来、有機物の加熱分解との関係において、自然界での分布に対する究明が多くの研究者によって開始されるに至った。3,4-B.p. が有

機物の加熱分解において生成される炭化水素の中で特に重視されてきたのは、その発癌性が極めて高いことと、分布が広汎におよぶことに基づくものであり、その分布に関する文献を渉猟するにコールタールやその分留物の分析³⁸⁻⁴⁰⁾, Cahnmann⁴¹⁾ によるシェールオイルの分析がなされて、多くの 3,4-B. p. が見出されており、スに関しては Tipler⁴²⁾ および Goulden が 100 g 中に 30,000 μg を検出すると共に、わが国では倉恒²⁴⁾, 勝治²⁶⁾ が報告を行なっている。さらに有機物の燃焼による 3,4-B. p. 発生に関するものとしては自動車の排気ガスについての分析が Kotin⁴³⁾, Falk⁴⁴⁾ 等によってディーゼルエンジンおよびガソリンエンジンについて負荷を加えた場合、回転速度を変化させた場合等、諸種の条件下でなされた研究があり、堤⁴⁵⁾, 角田⁴⁶⁾ 等も排気ガスの分析結果を報告している。

近年、肺癌との関係においてしばしば論ぜられるタバコに関しても、分析上多くの困難はあったが、Cooper & Lindsey⁴⁷⁾, Hoffman & Wynder⁴⁸⁾, Van Duuren⁴⁹⁾ 等によってその分析がなされ、Gilbert & Lindsey⁵⁰⁾ はタバコの成分を実験的に加熱分解して得られたタールについての分析を行ない、生成量の比較を試みその結果を報告している。このように我々の生活環境での物質燃焼により、3,4-B. p. が生成される機会は極めて多いといわざるを得ないのであって、実際に都市の空気中より、または降下塵中よりの 3,4-B. p. 分離が、Waller⁸⁾ によって London その他 8 都市について、また Cooper⁹⁾ によって Salford, Kotin¹⁰⁾ 等により Los Angeles, Shore¹²⁾ 等によっても town air からなされており、わが国では北九州地区の降下塵については猿田¹⁵⁾, 勝治¹⁶⁾ が、北海道では角田¹⁷⁾ が報告している。

食品に関連する 3,4-B. p. 関係の既報文献としては、工場排水に汚染された“かき”から分離した Cahnman, 倉恒⁵¹⁾ 等の報告や、Zechmeister⁵²⁾ 等の“ふじつぼ”からの検出等、特異な例を除いては加熱過程に関与したものがほとんどである。すなわち倉恒²⁴⁾ はビスケットの“こげ” 100 g 中に 7.2~1.1 μg の 3,4-B. p. を見出し、コーヒーすず²⁵⁾ の分析によって kg 当り 200 および 400 μg の 3,4-B. p. を見出している。Davies³³⁾ 等は金属浴で加熱して 370°C~390°C に達したレトルト中で澱粉末の加熱分解を行ない、生成する“こげ” 100 g 中に 0.2 μg の 3,4-B. p. が含まれることを、螢光分析の結果報告している。これとやや趣を異にするが、北欧諸国にて食事に供せられる燻製品に関する報告は、Bailey³²⁾ 等が Iceland の燻製食品を分析した結果、湿性重量 1000 g

に対し、羊肉で 1.3 μg , マス 2.1 μg , タラ 0.5 μg , red fish 0.3 μg の 3,4-B. p. を検出し、一部地方において年間を通じて食事によく供せられるマスに一番多く見出したと報告し、これは 250 本のタバコ煙から得られる量に匹敵すると述べている。燻製品中および、燻煙、燻蒸室の空気中に含まれる 3,4-B. p. 量の定量は、近年 Dikun, Gorelova 等²⁶⁻³⁰⁾ によって報告されている。食肉の加熱加工時の 3,4-B. p. 生成に関する著者の本実験の一部は既に学会に報告してきたが、最近 Lijinsky 等⁵³⁾ は charcoal による加熱加工を行ない、“こげ”中にステーキ 1 kg 当り 8 μg の 3,4-B. p. を見出したことを報告し、同時に芳香族炭化水素の分析を行なっているが、実験方法について考察するとき、精製イソオクタンで charcoal に火をつけ、6 インチの距離でステーキを作った両面の“こげ”をとり、Soxhlet 抽出を行ない、溶媒の分配係数を利用して分離後シリカゲルを用い、さらに *NN'*-ジメチルフォルムアミドによるペーパークロマトグラフィーを行なっている。温度の記載がないので、著者の報告との比較はなし難いが、“溶けた脂肪が炭火の上にしたたり落ちて高温で分解されることが多環炭化水素の見い出される原因らしく、その時煙に含有される炭化水素が煙が昇るにつれて肉に付着する。”と報告していることより考えると、脂肪のしたたり落ちることによって、肉は煙と焰につつまれた状態で処理されたと思われる。この点、食肉が一般家庭等で加熱加工される温度での 3,4-B. p. の生成の有無に関し、衛生学的な考察を加えようと試みた著者の方法と異なるのであるが、一般家庭における食肉処理温度で得られる“こげ”中に 3,4-B. p. の生成は認められないという著者の実験結果と同様の推論を下している。

有機物の高温加熱加工時に如何にして 3,4-B. p. が生成されるかという考察が Badger³⁴⁾ 等によって報告されている。タバコの煙や有機物の不完全燃焼時に Acetylene が検出されることから、(1) Acetylene, Ethylene の簡単な型から、(2) Butadiene 又は Vinylacetylene → (3) Styrene 又は Ethylbenzene → (4) Phenylbutadiene 又は *n*-Butylbenzene, Tetralin を経て、3,4-B. p. が段階的に作られていくのではないかと考えているが、炭素数 10 個のものに最初分解して、つぎに C₆-C₄ 単位のものとなって、これが重要な中間物質になると考えるのが妥当ではないかと述べて、これを確認する実験を種々の中間物質を使って試みているが、*n*-Butylbenzene の様な C₆-C₄ 構造をもったものが最も多くの 3,4-B. p. 量を与えることが明らかにされ、さらに

C₄ のものが pyrene 核のものと反応して 3,4-B. p. を生成するのも重要な反応の過程ではないかと述べている。要するに加熱分解して小分子の炭素化合物となり、free radicals を生じて再合成が行なわれるとする考え方に対する実験的考察であり、そのような反応を起こすに必要な最低の温度条件は、何程と考えればよいかということになるが、同一温度条件にても、加熱分解を行なう基本物質が異なることによって生成される 3,4-B.p. 量も変動するため、温度条件のみによる規定では充分とはいえないが、既報文献より考察するに、250°C 以上の条件で前記のごとき分解が起こるものと解される。

有機物質の加熱によって得られるタール中には、3,4-B. p. 等の癌原性物質が上記の過程によって得られるのではないかと推察されることより、加熱分解の結果得られるタールを用いて試みられた発癌実験の報告がなされている。すなわち、Kennaway⁵⁴⁾ は Acetylene, Isoprene, 石炭等を種々の温度で処理して得られるタールを用いて発癌性の比較実験を試みて 1925 年に発表し、さらに人の皮膚を高温処理して得られるタールを塗布してマウスに発癌を認めており、さらに高温処理の cholesterol を 70 匹のマウスに塗布して 18 匹に腫瘍を認めている。ところで食品を高温処理して得られるタールについての実験的な考察は、1939 年 Widmark²⁴⁾ によって報告されたものがあるが、275°C で処理をした馬肉、バター、コーヒーの、アルコール又は石油エーテル抽出液による発癌実験を 241 匹のマウスを用いて 360 日間試み、コーヒー抽出液で 2 匹、焙ったバター抽出液で 1 匹、焼馬肉では石油エーテル抽出液で 2 匹、アルコール抽出液で 4 匹、計 9 匹 40% の乳癌の発生を認めている。しかし塗布部位にはほとんど変化がみられず、これは恐らく物質が皮膚から吸収されて乳腺組織に至るためであろうと述べている。その他加熱食品による実験として Steiner 等²³⁾ は加熱加工した食肉、コレステロール、アクロレイン、ゴマ油を用いて発癌実験を試み、300°C 以下の温度で加工されたものには発癌はないが、350°C 以上加熱したゴマ油では、マウス 9 匹中に 3 匹の癌発生を認めたと報告している。Sulman 等⁵⁵⁾ は燻製ソーセージを 2 年間ねずみに与えて腫瘍の発生は認めなかったが、燻製品を常用する場合にはその発癌性を考慮することが必要であると述べている。

3,4-B. p. を用いての胃癌の発生に関する研究報告も数多く見られるが、胃に腫瘍の形成を認めた報告は少なく疑問視されるものが多い。したがってこれらの動物実験からも明らかなごとく、3,4-B.p. が加熱加工食品に認

められたからといって、これが直ちに人間の胃癌と直接の連繋があるとするのは早計にすぎるように思われる。これらの点に関しては今後の研究によって次第に解明されるべきであろうが、その前段階として、食品加熱加工によって実験的に発癌性物質の形成が認められるか否かはまだ究明すべき問題であり、この意味において著者は、食肉を一般家庭等で処理される温度で加熱分解を試み、発生煙および“こげ”について、今日強力な癌原性をもつと知られている 3,4-B. p. の分析を試みた次第である。

V. 総括および結論

食肉を高温加熱処理することによって発生する煙および“こげ”についての分析を試み、強力な癌原性を有する 3,4-B.p. の検索を主眼とする実験を窒素気流中、700°C, 500°C, 300°C, 空气中 500°C, 300°C で試みた。すなわち、

(1) 空气中の加熱分解は、家庭用ローストパンの温度調節孔および持手の部分を改良して排煙口を付し、ガスにてあらかじめ所定の温度となし、細切食肉 1 kg を 110°C, 3 時間で半乾燥状態とした後、4 回に分けて投入し、加熱分解を行ない、煙はアセトン、ベンゼンに吸収させた。窒素気流中における実験では、加熱部に電気炉を使用した。送入空気流速および窒素流速は、それぞれ 8~10 l/min および 1.5~2.0 l/min である。

(2) 煙の吸収液は溶媒を留去してタール状物質を得、“こげ”は Soxhlet 抽出器を用いて、窒素気流中アセトン抽出を行なった後、アセトンを留去してタール状物質を得た。煙より得られたタール状物質は酸、アルカリ、水の順で洗滌を行なって中性部分を得、“こげ”より得られたタールは直接活性アルミナ、非活性アルミナを吸着剤とし、ベンゼン、サイクロヘキサン、アセトン含有石油エーテル等を展開液としたカラムクロマトグラフィーをくり返し行なって、吸着部の可及的な除去を施した。空气中で加熱処理した煙および 300°C 窒素気流中で処理した煙より得られたタールは、赤褐色の溶出部分が多いため、シリカゲルを吸着剤としたカラムクロマトグラフィー、アセチル化ペーパーによるペーパークロマトグラフィーを組み入れることによって赤褐色部のかなりの除去を行ない得た。

(3) 最終的なカラムクロマトグラフィーは 2% 含水アルミナを吸着剤とし、サイクロヘキサン、ベンゼン含有のサイクロヘキサンによる展開を行ない、フラクションコレクターによって 5 g 乃至 10 g ずつ分取し、水浴

上で溶媒の留去をなし、シリカゲルを乾燥剤とする減圧デシケーターで一昼夜放置後、サイクロヘキサンにて一定量として自記記録分光光度計による可視部、紫外部の吸収を測定し Cooper の baseline technique で多環芳香族炭化水素を定量した。

(4) 類似の吸収を有するフラクシオンは合一して、濃縮後、アセチル化ペーパーを用いて、エタノール: トルエン: 水 (17: 4: 1) の混合溶媒で上昇法によって展開し、紫外線下に分離層を記録後、切り取って、ベンゼンで再抽出後、小アルミナ柱をベンゼンにて通過させ、ベンゼン液を留去後、乾燥剤シリカゲルの減圧デシケーターで一昼夜乾燥後、一定量のサイクロヘキサンに溶かして可視部および紫外部の吸収を測定した。

(5) 分析の結果、癌原性 3, 4-B. p. は食肉 1 kg に対して、窒素気流中 700°C, 500°C で煙中に、それぞれ 4580 µg, 31 µg, “こげ” 中にそれぞれ 132 µg, 16 µg, 空气中 500°C の煙に 2 µg が検出された。しかし窒素気流中 300°C および空气中加熱処理の 500°C “こげ”, および 300°C の煙と “こげ” には検出されなかった。

(6) その他の有機物の加熱分解によって得られると同様の多環芳香族炭化水素が分離定量された。窒素気流中 700°C での生成量が多いが、加熱温度が 500°C, 300°C となるに従って急激に減少し、300°C では trace の pyrene が認められたにすぎない。又空气中の 500°C, 300°C では多環芳香族炭化水素の生成はほとんど認められず、最終カラムによって得られたフラクシオンから、300°C では多環芳香族炭化水素の特異的なピークは認め難く、アセチル化ペーパーによる分離で RF 値の小さい 3, 4-B. p., pyrene が 500°C の煙から分離し得たのみである。

(7) 食肉の加熱処理時の温度が高く、かつ空気供給が極めて不十分な実験室での実験では、加熱分解によって 3, 4-B. p. の生成する事が示されたが、一般家庭での日常の食肉の加熱加工時に果たしてこれが幾何量形成されるかは不明である。又この程度の 3, 4-B. p. 生成が癌の発生に関して、どの程度の影響を有するかは今後の究明に待たねばならない。

稿を終るにあたり、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師猿田南海雄教授に深甚なる謝意を捧げると共に、御助言、機器その他、御協力を頂きました、公衆衛生学教室倉恒匡徳教授に深謝致します。又御協力頂きました衛生学教室、公衆衛生学教室員各位に感謝します。

本論文の要旨は昭和 38 年及び 39 年度日本衛生学会総会において発表し、又研究の一部は文部省科学研究費によりました。

参考文献

- 1) Pott, 吉田富三: 癌の発生 第2版, 日本医書出版株式会社より引用
- 2) 山極, 市川: 東京医学会雑誌, 15; 295, 1915
- 3) Cook, J. W., Hewett, C. L. and Hiefer, I.: The Isolation of a Cancer-producing Hydrocarbon from Coal Tar. J. Chem. Soc. Part 1; 395, 1933
- 4) Hueper, W. C.: Role of Occupational and Environmental Air Pollutants in Production of Respiratory Cancers. A. M. A. Arch. Pathology. 63; 427, 1957
- 5) Kotin, P.: Role of Atmospheric Pollution in Pathogenesis of Pulmonary Cancer: Review, Cancer Res., 16; 376, 1956
- 6) Kennaway, E. L. and Kennaway, N. M.: Studies of the Incidence of Cancer of the Lung and Larynx. Brit. J. Cancer 5; 153, 1951
- 7) Breslow, L.: Air Pollution and Cancer (Proceedings of the Fourth National Cancer Conference 1960), 141, American Cancer Society, Inc., New York, 1961
- 8) Waller, R. E.: The Benzpyrene Content of Town Air. Brit. J. Cancer 6; 8, 1952
- 9) Cooper, R. L.: The Determination of Polycyclic Hydrocarbons in Town Air. Analyst, 79; 573, 1954
- 10) Kotin, P., Falk, H. L., Mader, P. and Thomas, M.: Aromatic Hydrocarbons 1. Presence in the Los Angeles Atmosphere and the Carcinogenicity of Atmospheric Extracts. A.M.A. Arch. Indust. Hyg. 9; 153, 1954
- 11) Cambell, J. M. and Kreyberg.: The Degree of Air Pollution in Norwegian Towns. Brit. J. Cancer. 10; 481, 1956
- 12) Shore, V.C. and Katz, M.: Identification of Some Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in the Atmosphere. Anal. Chem. 28; 1399, 1956
- 13) Sawicki, E., Elbert, W., Stanley, I. W., Hauser, T. R. and Fox, F. T.: Detection and Determination of Polynuclear Hydrocarbons in Urban Airborne Particulates—1, The Benzpyrene Fraction, Int. J. Air Poll. 2; 273, 1960
- 14) Sawicki, E., Elbert, W., Hauser, T. R., Fox, F. T. and Stanley, T. W.: Benzo(a)pyrene Content of the Air of American Communities. Indust. Hyg. J. 21; 443, 1960
- 15) 猿田南海雄, 児玉 泰: 北九州地区降下塵中の 3, 4-Benzpyrene 量について 福岡県における大気汚染 第1号 87, 第2号 107, 第3号 71

- 16) 勝治建一：煤及び大気塵埃中の 3,4-Benzpyrene に就て。福岡医学雑誌 49; 1804, 1958
- 17) 角田文男：発癌性炭化水素による大気汚染に関する研究（第1編：多環芳香族炭化水素による大気汚染に関する研究），北方産業衛生 29; 21, 1963
- 18) Passey, R. D.: Experimental Soot Cancer. Brit. M. J. 2; 1112, 1922
- 19) Passey, R. D. and Carter-Braine, J.: Experimental Soot Cancer. J. Path. and Bact. 28; 133, 1925
- 20) Cambell, J. A.: Cancer of Skin and Increase in Incidence of Primary Tumours of Lung in Mice Exposed to Dust Obtained from Tarred Roads. Brit. J. Exper. Path. 15; 287, 1934
- 21) Widmark, E. M. P.: Presence of Cancer-producing Substances in Roasted Food. Nature, London, 143; 984, 1939
- 22) Kennaway, E. L. and Sampson, B.: Tumors of the Skin and Mammary Gland Caused by Pyrogenous Products of Cholesterol. J. Path. Bact. 31; 609, 1928
- 23) Steiner, P. E., Steele, R. and Koch, F. C.: The Possible Carcinogenicity of Overcooked Meats, Heated Cholesterol, Acrolein and Heated Sesame Oil. Cancer. Res. 3; 100, 1943
- 24) Kuratsune, M.: Benzo(a)pyrene Content of Certain Pyrogenic Materials. J. Nat. Cancer. Inst. 16; 1485, 1956
- 25) Kuratsune, M. and Hueper, W. C.: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Coffee Soots. J. Nat. Cancer. Inst. 20; 37, 1958
- 26) Gretskeya, O. P., Emskanova, A. V., Dikun, P. P. and Gorelova, N. D.: Relations Between the Condition of Smoke Generation and Content of 3,4-Benzopyrene in the Smoke and in the Smoked Fish. Rybn. Khoz. 38; No. 3, 56, 1962 (Cited from C. A.)
- 27) Gorelova, N. D. and Dikun, P. P.: Content of 3,4-Benzopyrene in Fish Smoked with the Aid of Different Types of Smoke Generator. Vopr. Onkol. 7, No. 12, 71, 1961 (Cited from C. A.)
- 28) Gorelova, N. D., Dikun, P. P. and Lapshin, I. I.: 3,4-Benzopyrene in liquids Used in the Process of Fish Smoking. Voprosy Onkol. 5; 341, 1959 (Cited from C. A.)
- 29) Gorelova, N. D. and Dikun, P. P.: 3,4-Benzopyrene in Some Varieties of Smoked Fish. (Fluorescent-Spectral Analysis) Voprosy Onkol. 4; 398, 1958 (cited from C. A.)
- 30) Gorelova, N. D. and Dikun, P. P.: 3,4-Benzopyrene in Smoked Sausage and Bologna (Fluorescent-Spectral Analysis) Voprosy Onkol. 4; 405, 1958 (Cited from C. A.)
- 31) Tilgner, D. J.: Smoke-Curing Processes. Fleischwirtschaft 10; 649, 1958 (Cited from C. A.)
- 32) Bailey, E. J. and Dungal, N.: Polycyclic Hydrocarbons in Icelandic Smoked Food. Brit. J. Cancer. 12; 348, 1958
- 33) Davies, W. and Wilmshurst, J. R.: Carcinogens Formed in the Heating of Foodstuffs. Formation of 3,4-Benzopyrene From Starch at 370~390°C. Brit. J. Cancer 14; 295, 1960
- 34) Badger, G. M., Kimber, R. W. L. and Spotswood, T. M.: Mode of Formation of 3,4-Benzopyrene in Human Environment. Nature. 187; 663, 1960
- 35) Spotswood, T. M.: The Chromatography of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Acetylated Paper. J. Chromatography. 2; 90, 1959
- 36) Friedel, R. A.: Ultraviolet Spectra of Aromatic Compounds. John Wiley & Sons, Inc., New York. Chapman & Hall, Limited, London.
- 37) Falk, H. L. and Steiner, P. E.: The Adsorption of 3,4-Benzpyrene and Pyrene by Carbon Blacks. Cancer Res. 12; 1, 40, 1952
- 38) Berenblum, I. and Schoental, R.: Brit. J. exp. Path., 24; 232, 1943
- 39) Bun-Hoi: Presence of 3,4,8,9-Dibenzpyrene in Coal Tar. Nature, 182; 4643, 1158
- 40) Deekoom, P. P.: The Assay of 3,4-Benzpyrene in Artificial Liquid Fuel Products by Means of Fluorescence Spectroscopy, Vopr. Onkol., 4; 3, 283 (Cited C.A.)
- 41) Cahnmann, H. J.: Detection and Quantitative Determination of Benzo(a)pyrene in American Shale Oil. Anal. Chem. 27; 1235, 1955
- 42) Goulden, F. and Tipler, M. M.: Experiments on the Identification of 3,4-Benzpyrene in Domestic Soot by Means of the Fluorescence Spectrum. Brit. J. Cancer 3; 157, 1949
- 43) Kotin, P., Falk, H. and Thomas, M.: Aromatic Hydrocarbons. (2) Presence in the Particulate Phase of Gasoline-Engine Exhausts and the Carcinogenicity of Exhaust Extracts. A. M. A. Arch. Indust. Hyg. and Occupat. Med. 9; 164, 1954
- 44) Kotin, P., Falk, H. and Thomas, M.: Aromatic Hydrocarbons. (3) Presence in the Particulate Phase of Diesel Engine Exhausts and the Carcinogenicity of Exhaust Extracts. A. M. A. Arch. Indust. Health. 11; 113, 1955
- 45) 堤 達也：排気ガス中の多環芳香族炭化水素について。薬学研究 32; 708, 1960
- 46) 角田文男：発癌性炭化水素による大気汚染に関する研究。（第2編 自動車排気ガス中の発癌性炭化水素 3,4-Benzpyrene に関する研究）。北方産業衛生 29; 35, 1963
- 47) Cooper, R. L. and Lindsey, H. J.: 3,4-Benz-

- pyrene and Other Polycyclic Hydrocarbon in Cigarette Smoke. Brit. J. Cancer, 9; 304, 1955
- 48) Hoffmann, D. and Wynder, E. L.: On the Isolation and Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Cancer, 13; 1062, 1960
- 49) Van Duuren, B. L.: Identification of Some Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Cigarette Smoke Condensate. J. Nat. Cancer. Inst. 21; 1, 1958, Ibid. 21; 623, 1958
- 50) Gilbert, J. A. S. and Lindsey, A. J.: The Thermal Decomposition of Some Tobacco Constituents. Brit. J. Cancer. 11; 398, 1957
- 51) Cahnmann, H. J. and Kuratsune, M.: Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oysters Collected in Polluted Water. Anal. Chem. 29; 1312, 1952
- 52) Zechmeister, L. and Koe, B. K.: The Isolation of Carcinogenic and Other Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Barnacles. Arch. Biochem. Biophysics, 35; 1, 1952 and 41; 396, 1952
- 53) Lijinsky, W. and Shubik, P.: Benzo(a)pyrene and Other Polynuclear Hydrocarbons in Charcoal-Broiled Meat. Science. 145; 53, 1964
- 54) Kennaway, E. L.: Experiments on Cancer Producing Substances. Brit. Med. J. (11), 1, 1925
- 55) Sulman, E. and Sulman, F.: Cancer Research 6; 366, 1946

(受付 1965 年 1 月 25 日)

海 外 文 献 抄 録

抗生物質製造作業者のアレルギー症状

Magnanelli, p. Rombola, G., Med. Lavoro, 55: 604, 1964.

ペニシリン, ストマイ, 及びテトラサイクリンを製造している製薬会社で, 作業者のアレルギー症状発生率を調査した。抗生物質の製造と梱包に従事している 88 名中, 現在あるいは過去にアレルギー症状を経験した者は 31 名。その内, 接触皮膚炎の 19 例は, いずれも抗生物質の検査, 定量等を化学実験室で行っていた者で, 原因はおそらく抗生物質ではなく, 他の試薬類と思われる。残りの 12 例は, 気管支喘息 6, アレルギー性鼻炎 3,

皮膚症状 3 で, 気管支喘息の 6 例はすべてアレルギー性鼻炎又は皮膚症状を伴っていた。これら 12 例の内, 8 例には, ストマイとペニシリンが特異的原因となっており, テトラサイクリンが原因と思われる例はなかった。性や年齢との関係は特に見出されない。発症の時期は, 原因と目される抗生物質に接触する様になってから数年後の例が大部分であるが, 数例は就業直後に発症した。作業の種類との関係をみると, 抗生物質の粉末の発生する職場で発症率が高く, 気道粘膜からの吸収がアレルギー症状を起し易いと考えられる。

(慶大 桜井)