毒性物質と栄養との関係 (第8報)

妊娠期間中連続投与した PCB の母子体内蓄積量に
及ぼす食餌性カルシウム量の影響

(昭和 52 年 4 月 4 日受理)

大柴 恵一* 藤田 忠雄* 神戸 保*

Interaction between Toxicant and Nutrition (VIII)

Effects of Dietary Calcium Levels on the PCB Deposition in Dam and Fetus of Rats during Gestation

Keiichi ŌSHIBA, Tadao FUJITA and Tamotsu KANBE

(Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences:
21, Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka)

The purpose of this study was to clarify whether dietary calcium levels would be related to the depositions of PCB and calcium in dam and fetus of rats fed with various diets containing 100 ppm PCB (Kanechlor 500). The results obtained were as follows:

- 1) The increase of liver weight in pregnant rats treated with PCB was significantly promoted in the deficiency of calcium in diets.
- 2) It was recognized that the amounts of ash and calcium decreased markedly in the bone and fetus of pregnant rats fed with calcium deficient diet containing PCB.
- 3) In the liver and bone of pregnant rats, the PCB deposition of calcium deficient group was higher about two times than that of calcium normal group.
- 4) Under the administration of calcium deficient diet to pregnant rats, PCB transferred from the dam to the fetus during gestation increased remarkably.
- 5) No significant change was found in external and skeletal abnormalities of the fetuses from all experimental groups.

(Received April 4, 1977)

緒 言

著者らは前報^{1)~7)}までに、生体の栄養状態が異なると BHC の体内蓄積量や代謝などに明らかな差異が生じることを認め報告してきた。

本報では、油症 (PCB 中毒) 患者の中に女性ホルモンの異常を思わせる症状が多いという楠田の報告⁸⁾ やカルシウム (Ca)、リン (P) の代謝にエストロゲン (卵胞ホルモン)⁹⁾ が関係しているなどの報告があるので、Ca の需要が高まり、しかもホルモンのバランスや栄養素の代謝が非妊娠時と異なる妊娠期に PCB を投与した場合、ラットの母体および胎仔への PCB の蓄積量、ならびに Ca の沈着などに、食餌性 Ca 量が影響するか否かを検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1) 使用動物

実験動物として、未經産の生後90±7日 (体重: 240~260 g) の Sprague Dawley (SD) 系雌ラット (日本クレア (株) より購入) 12匹を用いた。

2) 飼育方法

雌ラットの腔脂垢から発情期を判定し、健康な成熟雄ラット (SD 系, 体重: 300~350 g) とともに1匹ずつ1夜同居交配させ、雌ラットの腔栓および腔内精子の存在によって交尾を確認し、この日を妊娠0日とした¹⁰⁾。なお交尾確認までの飼育期間中の飼料には市販の固型飼料 (日本クレア (株) 製 CA-1) を用い、自由摂餌させた。

妊娠ラットを3匹ずつ①Ca 正常, PCB 無投与群 (対

* 大阪市立環境科学研究所: 大阪市天王寺区東上町 21

Table 1. Composition of Test Diets

Constituent	Diets	
	Ca-normal diet (g)	Ca-deficient diet (g)
Casein	20	20
Corn starch	27	27
Sucrose	40	40
Soybean oil 80%, cod liver oil 20% ^{a)}	6	6
Vitamin mixture ^{a)}	1	1
Salt mixture I ^{a)}	4	—
Salt mixture II ^{b)}	—	4
Cellulose powder	2	2
Choline chloride	0.1	0.1

^{a)} Preparation of Tanabe Amino Acid Foundation

^{b)} Salt mixture II (calcium omitted)

KH ₂ PO ₄	34.3 g	MnSO ₄ ·H ₂ O	0.12 g
NaCl	25.1	ZnCl ₂	0.02
MgSO ₄ ·7H ₂ O	10.0	KI	0.0005
Fe(C ₆ H ₅ O ₇)·6H ₂ O	0.62	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·H ₂ O	0.0025
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.16		

PCB concentration in diets, 100 ppm (KC-500).

Table 2. Calcium and Phosphorus Contents in Test Diets

Test diet	Calcium (mg%)	Phosphorus (mg%)
Ca-normal diet	631.8	522.4
Ca-deficient diet	57.3	689.6

照群), ②Ca 正常, PCB 投与群, ③Ca 欠乏, PCB 無投与群, ④Ca 欠乏, PCB 投与群の4群に分け, 繁殖用飼育かごに1匹ずつ個別に収容, 各実験用飼料に切り換え, 毎日25gずつに制限投与した. 実験ラットは飼育期間中, 24±1°の恒温飼育装置, コイトロン EA-7A 特殊型 (小糸工業(株)製) 内で飼育した.

3) 観察方法

体重は7日目ごとに, 摂餌量は毎日1回測定した. 妊娠20日目に断頭瀉血した後, 直ちに開腹し, 臓器, 組織および生存胎子を摘出し, 肉眼的観察ならびに重量の測定を行った. 臓器, 組織は PCB 量, 灰分, Ca, P 量の測定に, 生存胎子は同腹のものを3群に分け, PCB 量, 灰分, Ca および P 量の測定, ならびに骨格標本作製に供した.

4) 実験用飼料

飼料組成は Table 1 に示すとおりである.

Ca 正常飼料はタナベアミノ酸研究基金製の塩混合 (I) を用い, Ca 欠乏飼料は塩混合 (I) から炭酸カルシウムとリン酸水素カルシウム二水塩を除いて調製した塩混合

(II) (組成は Table 1) を用い, 飼料に4%の割合で混合し調製した. 両飼料中の Ca 量の実測値は Table 2 に示すとおりで, Ca 正常飼料では 100 g 中 631.8 mg, Ca 欠乏飼料で 57.3 mg であった. また PCB 添加飼料は PCB (鐘淵化学工業(株)製カネクロール 500 (KC-500), Cl 含量54%) を飼料に対して 100 ppm 濃度になるように脂肪に溶解して添加した.

5) 測定

(i) PCB: 厚生省環境衛生局 PCB 分析研究班の方法¹¹⁾に準じて測定し, 数値化は鶴川らの方法¹²⁾に基づいて行った.

(ii) 灰分: 常法に従って, 乾式灰化法 (550°) により測定した.

(iii) カルシウム: 過マンガン酸容量法¹³⁾により測定した.

(iv) リン: モリブデン青比色法¹³⁾により測定した.

(v) 骨格標本の作製法: Noback ら¹⁴⁾のアリザリンロート染色法に基づいて骨格標本作製し, 骨格異常の有無を観察した.

実験成績

1) 妊娠母獣の体重, 摂餌量, Ca, PCB 摂取量および臓器重量

各実験飼料を摂取した妊娠ラットの体重の推移を Fig. 1 に, 体重, 摂餌量並びに Ca, PCB 摂取量を Table 3 に示した.

体重増加率は Ca 正常群では PCB(−) と PCB(+)

の間に有意の差を認めなかったが, Ca 欠乏群においては Ca 正常, PCB(-) 群に比べて妊娠14日では PCB(-), PCB(+) いずれにおいても, わずかな増加率の低下が見られたが, 妊娠20日目では回復していた。摂餌量, 飼料効率も各実験群間でほとんど差は認められなかった。また摂餌量から算出した Ca ならびに PCB 摂取量は Table 3 に示すように, Ca 摂取量は Ca 正常群で 134.4~138.5 mg/day, Ca 欠乏群で 11.9~12.1 mg/day であり, PCB 摂取量は 0.21 ± 0.03 mg/day であった。

妊娠20日の母獣の臓器重量を Table 4 に示した。

Fig. 1. Growth curve of pregnant rats

Each point represents the mean $\pm$ S.D. of 3 rats

-○-, Ca-normal, PCB (-); -△-, Ca-normal, PCB (+); -●-, Ca-deficiency, PCB (-); -▲-, Ca-deficiency, PCB (+)

* Significantly different from the values of Ca-normal, PCB (-) group at $p < 0.05$ and ** $p < 0.1$

肝重量は妊娠0日の比体重百分率で見ると, Ca 正常群の PCB(-) で4.17%, PCB(+) で5.16%, Ca 欠乏群の PCB(-) で4.06%, PCB(+) で6.41% となり, PCB 投与によって明らかな肝重量の増加が認められた。しかもこの肝重量増加は Ca 欠乏食によりいっそう助長されることが認められた。腎重量は Ca 欠乏群において, PCB(-) で0.93%, PCB(+) で1.10% となり, PCB によりわずかではあるが, 有意に増加することが認められた ($p < 0.05$)。

2) 胎仔の数, 体重, 外形・骨格検査

胎仔の生存数, 生存胎仔体重ならびに骨格異常について観察した結果を Table 5 に示した。

本実験に用いた PCB 投与量や Ca 欠乏食では1腹当たりの生存胎仔数には影響が認められなかった。胎仔重量は PCB 投与により有意に増加するが, 摂取 Ca 量の多少によっては影響を受けなかった。また生存胎仔を外形観察した後, その1部の胎仔について骨格標本を作製し, 骨格(頸椎, 胸椎, 腰椎)の観察を行ったが, 今回の観察範囲内では, 外形異常や骨格異常は1例も認められなかった。

3) 母獣の骨ならびに胎仔中の灰分, カルシウムおよびリン量

母獣の骨の灰分と Ca 量は Table 6 に示すように, Ca 正常群では PCB(-) で22.83%と9.91%, PCB(+) で20.17%と8.94%, Ca 欠乏群では PCB(-) で17.67%と8.14%, PCB(+) で15.40%と7.32% となり, Ca 欠乏食により灰分量と Ca 量が明らかに少ないが, PCB 投与のみによっても有意に減少することが認められた。しかし, P 含量には影響が認められなかった。

一方, 胎仔については Table 7 に示すとおり, Ca 量は Ca 正常群で PCB の有無による影響は認められなかった。しかし, Ca 欠乏群では灰分量と Ca 量が Ca 正常群に比べて明らかに低く, しかもこの Ca 量は PCB

Table 3. Food, Calcium, and PCB Intake of Pregnant Rats

Group	PCB	No. of rats	Body weight		Food intake		Food efficiency ^{a)}	Ca Intake		PCB Intake	
			Day 0 (g)	Day 20 (g)	Total (g/rat)	Per day (g/rat)		Total (mg/rat)	Per day (mg/rat)	Total (mg/rat)	Per day (mg/rat)
Ca-normal	-	3	252 ± 6.5	355 ± 3.0	438 ± 15.0	21.9 ± 2.5	23.6	2770 ± 95	139 ± 15.9	-	-
	+	3	253 ± 5.3	351 ± 3.5	425 ± 14.2	21.2 ± 2.5	23.1	2688 ± 90	134 ± 15.6	4.3 ± 0.14	0.21 ± 0.03
Ca-deficiency	-	3	251 ± 9.0	346 ± 7.9	424 ± 9.5	21.2 ± 2.7	22.5	242 ± 5	12.1 ± 1.6	-	-
	+	3	250 ± 7.2	346 ± 5.3	418 ± 10.6	20.9 ± 2.9	23.0	238 ± 6	11.9 ± 1.7	4.2 ± 0.11	0.21 ± 0.03

Values are mean $\pm$ S.D.

^{a)} Values indicate grams of weight gain per 100 g of food intake.

Table 4. Effect of Dietary Calcium Levels on the Weights of Dam Organs Following the Administration of PCB during Gestation Period of Rats

Group	PCB	Body weight Day 0 (g)	Liver		Kidney		Brain	
			(g)	(% body wt.)	(g)	(% body wt.)	(g)	(% body wt.)
Ca-normal	—	252 ±6.5	10.50 ±0.76	4.17 ±0.19	2.05 ±0.10	0.99 ±0.04	1.90 ±0.10	0.75 ±0.02
	+	253 ±5.3	13.07 ^{a),c)} ±0.25	5.16 ^{b),c)} ±0.02	2.33 ±0.15	0.92 ±0.04	1.73 ±0.06	0.68 ±0.01
Ca-deficiency	—	251 ±9.0	10.23 ^{c)} ±0.51	4.06 ^{c)} ±0.07	2.33 ^{d)} ±0.12	0.93 ^{d)} ±0.02	1.90 ±0.10	0.73 ±0.01
	+	250 ±7.2	16.03 ^{b)} ±0.45	6.41 ^{b)} ±0.03	2.77 ±0.23	1.10 ±0.07	1.90 ±0.00	0.76 ±0.02

Values are mean±S.D. of 3 rats. ^{a)} Significantly different from the values of Ca-normal, PCB(—) group at $p<0.01$; ^{b)} $p<0.001$; ^{c)} Significantly different from the values of Ca-deficiency, PCB(+) group at $p<0.001$; ^{d)} $p<0.05$

Table 5. Effect of Dietary Calcium Levels and PCB Administration on Body Weight and Skeletal Development of Rat Fetuses

Group	Ca-normal		Ca-deficiency	
	—	+	—	+
PCB				
No. of mother	3	3	3	3
No. of live fetuses	40	43	39	40
Body weight of fetuses (g) mean±S.D.	4.83±0.21	5.20±0.28 ^{a)}	4.80±0.29 ^{b)}	5.23±0.38 ^{a)}
No. of fetuses examined	16	19	15	16
No. of skeletal anomalies				
Cervical vertebrae	0	0	0	0
Thoracic vertebrae	0	0	0	0
Lumbar vertebrae	0	0	0	0

^{a)} Significantly different from the values of Ca-normal, PCB(—) group at $p<0.001$.

^{b)} Significantly different from the values of Ca-deficiency, PCB(+) group at $p<0.001$.

Table 6. Ash, Calcium and Phosphorus Contents in Back Bone from Dams

Group	PCB	Ash (%)	Calcium (%)	Phosphorus (%)
Ca-normal	—	22.83±0.67	9.91±0.39	3.40±0.14
	+	20.17±1.31 ^{a),d)}	8.94±0.39 ^{a),d)}	3.39±0.06
Ca-deficiency	—	17.67±0.78 ^{b),e)}	8.14±0.21 ^{c),d)}	3.02±0.22
	+	15.40±0.62 ^{b)}	7.32±0.14 ^{b)}	3.05±0.26

Values are mean±S.D. of 3 rats. ^{a)} Significantly different from the values of Ca-normal, PCB(—) group at $p<0.05$; ^{b)} $p<0.001$ and ^{c)} $p<0.01$; ^{d)} Significantly different from the values of Ca-deficiency, PCB(+) group at $p<0.01$; ^{e)} $p<0.02$

投与により減少した。

4) 母獣の臓器、組織内 PCB 量

臓器、組織内への PCB の分布、蓄積量は Table 8 に示すとおりである。

本実験に供した臓器、組織間では脂肪組織が最も高く、ついで肝臓、骨、腎臓、脳の順に低くなった。また PCB 投与での Ca 正常群と Ca 欠乏群の PCB 蓄積量を比較すると、肝臓で 21.17 $\mu\text{g/g}$ と 43.77 $\mu\text{g/g}$ 、骨で

Table 7. Ash, Calcium and Phosphorus Contents in Fetuses

Group	PCB	No. of fetuses	Ash (%)	Calcium (mg%)	Phosphorus (mg%)
Ca-normal	—	12	1.84±0.07	522±43	319±34
	+	12	1.75±0.08	518±84 ^{d)}	298±54
Ca-deficiency	—	12	1.75±0.08 ^{a)}	416±29 ^{c), d)}	304±17
	+	12	1.71±0.05 ^{b)}	328±35 ^{c)}	302±22

Values are mean±S.D. of 3 rats. ^{a)} Significantly different from the values of Ca-normal, PCB(—) group at $p<0.05$; ^{b)} $p<0.01$; ^{c)} $p<0.001$; ^{d)} Significantly different from the values of Ca-deficiency, PCB(+) group at $p<0.001$.

Table 8. Effect of Dietary Calcium Levels on the PCB Deposition during Gestation Period of Rats

Group	PCB	PCB Deposition ($\mu\text{g/g}$ tissues)				
		Liver	Kidney	Brain	Adipose tissue	Back bone
Ca-normal	—	0.10±0.02	0.07±0.02	0.05±0.02	0.48±0.06	0.09±0.01
	+	21.17±7.57	8.60±1.35	4.63±0.86	325.60±36.26	10.67±1.46
Ca-deficiency	—	0.12±0.02	0.07±0.02	0.05±0.01	0.54±0.08	0.11±0.01
	+	43.77±7.15 ^{a)}	8.67±0.93	5.27±0.40	336.70±42.48	17.73±3.57 ^{b)}

Values are mean±S.D. of 3 rats. ^{a)} Significantly different from the values of Ca-normal, PCB(+) group at $p<0.02$; ^{b)} $p<0.05$.

Table 9. PCB Transfer from Dams to Fetuses of Rats during the Gestation Period

Group	PCB	No. of fetuses	Fetus	
			($\mu\text{g/body}$)	($\mu\text{g/g body}$)
Ca-normal	—	12	0.17±0.06	0.04±0.01
	+	12	18.38±1.87	3.55±0.31
Ca-deficiency	—	12	0.19±0.05	0.04±0.01
	+	12	41.43±7.56 ^{a)}	7.65±1.33 ^{a)}

Values are mean±S.D. of 3 rats. ^{a)} Significantly different from the values of Ca-normal, PCB(+) group at $p<0.001$.

10.67 $\mu\text{g/g}$ と 17.73 $\mu\text{g/g}$ となり, Ca 欠乏食により PCB の蓄積量が肝臓で2.07倍, 骨で1.66倍増加することが認められた。しかし, 他の臓器, 組織では有意な差は認められなかった。

5) 母獣から胎仔への PCB 移行量

母獣から移行した胎仔中の PCB 量を測定し, Table 9 に示した。

Ca 正常群では 18.38 μg , Ca 欠乏群で 41.43 μg の PCB が認められた。したがって, Ca 欠乏食により PCB の移行蓄積量が2.25倍にも増加することが認められた。

考 察

PCB 中毒(油症)患者の中には女性ホルモンの異常を思わせる症状が多いこと, 卵胞ホルモンのエストロゲンが Ca 代謝に関与していることなどが報告されているので, Ca の需要が高まり, しかもホルモンのバランスや栄養素の代謝が非妊娠時と異なる妊娠期に Ca 含量の異なる飼料を与え, PCB 投与の生態影響を観察した。

本実験に用いた飼料中の実測 Ca 量と摂餌量から Ca 摂取量を求めると, Ca 正常群では約 135 mg/day であり, 妊娠期の必要量¹⁵⁾ (120 mg/day) を十分満たしてお

り, Ca 欠乏群では約 12 mg/day と必要量の約 1/10 で明らかに不足した状態にあった。

母獣の臓器重量, ならびに胎仔重量については, 肝重量が PCB 投与により顕著な増加を示し, この肝重量増加は Ca 欠乏食によりいっそう助長されることが認められた。PCB の連続摂取により肝肥大が現れ, それがしだいに脂肪肝に移行して肝障害を起こすことは多くの研究者^{18)~19)}によって認められているが, これらはかなり高濃度の PCB 投与によって認められたものである。しかし, 本実験においては比較的低濃度(飼料中 100 ppm)で, しかも短期間で肝重量の増加が認められた。この原因としては妊娠期と, Ca 欠乏食摂取という特殊条件が付加されたためであろうと考えられる。このことは著者ら⁷⁾が妊娠ラットと非妊娠ラットで肝 β -BHC 量を比較し, 妊娠ラットで顕著に高いことを認めていることと, 肝への PCB 蓄積量が Ca 欠乏食によって, 約 2 倍に増加している事実からも支持される。しかし, Ca が PCB 代謝にいかなる役割を果たしているかは, 本実験成績からは推察し得ないが, Ca が肝での酵素賦活作用を有することから考えるならば, 肝の代謝能に何らかの影響を及ぼしたのかもしれない。

印南ら¹⁸⁾も PCB の毒性に対するビタミン A の影響を検討し, ビタミン A の過剰投与は PCB による肝重量増加をいっそう促進することを認め, また永山ら²⁰⁾も PCB による肝肥大がビタミン B₂ 欠乏時にいっそう顕著に現れることを認めている。

腎重量は Ca 欠乏群の PCB 投与でわずかな増加が認められたが, PCB 蓄積量には有意差が認められなかった。油症患者の剖検例¹⁴⁾においては腎臓と心臓への Ca 沈着が認められているが, 今回の実験では臓器中の PCB 蓄積量に主眼をおいたために, この点については明白でない。

さらに胎仔重量は, PCB 投与により増加するが, 摂取 Ca 量によっては影響を受けないことが認められた。これは油症患者の母親から生れた新生児に small-for-dates baby の傾向がみられるという報告^{21), 22)}とは逆の成績であり, この原因については不明であるが, 油症の場合の原因物質はカネクロール 400 (KC-400, 4 塩化物, 塩素含量 48%) であるのに対して, 本実験に用いた PCB は KC-500 (5 塩化物, 塩素含量 54%) であり, この両物質の代謝の違いが原因であるのかもしれない。藤田らの報告¹⁹⁾ではラット肝ミクロゾームのヘムタンパク質と薬物代謝活性の誘導効果は KC-500 > KC-400 であることが認められており, その他, KC-400 と KC-500 の生体内代謝に可成りの差異があることが, 多くの研究によって証明されている。また胎仔中の無機質, 特に Ca 量が Ca 欠乏群で有意に低下し, しかもこれに PCB 投与が加わるという顕著に低下する。一方, PCB 蓄積量は Ca 欠乏群で Ca 正常群の約 2 倍に増加してい

る。しかし, 摂取量は各実験群間で差は認められない。このことから考えると, KC-500 による胎仔重量の増加は無機質以外の栄養素の代謝異常が原因になっているものと考えられる。

また Ca 欠乏食を与えた母獣の PCB 蓄積量は肝臓と骨で Ca 正常群の約 2 倍に増加していることが明らかとなった。肝臓は栄養素の代謝ならびに薬物代謝の主要器官であり, 骨は Ca 代謝に最も関係の深い器官であるので, Ca 欠乏食投与による両器官での PCB 蓄積量の増加は注目すべき問題であろうと考える。

以上の知見から, 妊娠期においては Ca の摂取量が不足している母体に, PCB 汚染が加わった場合, Ca を十分摂取している場合に比べて, 母仔体内への Ca 沈着が明らかに抑制されると同時に, PCB 蓄積量も顕著に増加するので問題があるものと考えられる。しかし, 本実験においては, 非妊娠時の実験を行っていないので, 妊娠時と非妊娠時での母体にたいする影響は比較することができない。この点については今後検討を加える必要がある。

要 約

SD 系妊娠ラットに妊娠期間中, PCB 100 ppm を添加した Ca 含量の異なる飼料を与え, 母仔体内への PCB 蓄積量, ならびに Ca 沈着などを検討し, 次の結果を得た。

- 1) PCB 投与による母獣の肝重量の増加は Ca 欠乏食によりいっそう助長された。また胎仔重量も PCB 投与によりわずかに増加するが, 摂取 Ca 量によっては影響を受けなかった。
- 2) 母獣の骨, ならびに胎仔中の灰分および Ca 量は Ca 欠乏食により顕著に減少するが, PCB 投与のみによっても減少した。
- 3) 母獣の臓器, 組織内 PCB 量は肝と骨において, Ca 欠乏食により約 2 倍に増加した。
- 4) 胎仔の PCB 蓄積量は Ca 欠乏食を摂取した場合に, 約 2 倍に増加した。
- 5) Ca 欠乏食や PCB 投与による胎仔の生存数の減少, 外形異常, 骨格異常などは認められなかった。

本研究の要旨は第 30 回日本食品衛生学会 (昭和 50 年 10 月, 金沢市) において発表した。

文 献

- 1) 大柴恵一, 川北兵蔵: 食衛誌, **11**, 117 (1970).
- 2) 大柴恵一, 川北兵蔵: 同上, **11**, 445 (1970).
- 3) 大柴恵一, 川北兵蔵: 同上, **13**, 184 (1972).
- 4) 大柴恵一, 川北兵蔵: 同上, **13**, 189 (1972).
- 5) 大柴恵一, 川北兵蔵: 同上, **13**, 383 (1972).
- 6) 大柴恵一, 川北兵蔵: 同上, **14**, 452 (1973).
- 7) 大柴恵一, 藤田忠雄: 同上, **15**, 345 (1974).
- 8) 楠田雅彦: 産科と婦人科, **38**, 1063 (1971).
- 9) Rasmussen, H., Bordier, P.: New Engl. J.

- Med., **289**, 25 (1973).
- 10) 小山良修, 藤井儔子: “動物実験手技” p. 41, (1969), 協同医書出版社.
- 11) 厚生省環境衛生局 PCB 分析研究班: 分析方法に関する研究 (1972).
- 12) 鶴川昌弘, 中村彰夫, 極本 隆: 食衛誌. **14**, 415 (1973).
- 13) 岩尾裕之, 永原太郎: “食品分析法” p. 125, (1955) 柴田書店.
- 14) Noback, C. R., Noback, E.: Stain Technol., **19**, 51 (1944).
- 15) 田嶋嘉雄: “実験動物学 (総論)” p. 122 (1965) 朝倉書店.
- 16) 田中 潔: 福岡医誌. **10**, 347 (1972).
- 17) 大柴恵一, 奥田輝雄, 川北兵蔵, 中山信正: 大阪市衛研報. **31**, 125 (1969).
- 18) 印南 敏, 東条仁美, 宇津木良夫, 中村敦子, 永山スミ子: 栄養学雑誌, **32**, 58 (1975).
- 19) 藤田節治, 辻 宏, 加藤敬太郎, 佐伯清太郎, 塚元久雄: 福岡医誌. **62**, 30 (1971).
- 20) 永山スミ子, 中村敦子, 高木清子, 印南 敏: 栄養学雑誌, **32**, 253 (1975).
- 21) 滝 一郎, 久永幸生, 天ヶ瀬慶彦: 福岡医誌. **60**, 471 (1969).
- 22) 山口敦子, 吉村健清, 倉恒匡徳: 福岡医誌. **62**, 117 (1971).