

食薬セ研第 12-1897 号

2002 年 3 月 29 日

**ニクロム酸ナトリウム・二水和物の
細菌を用いる復帰突然変異試験**

厚生労働省医薬局審査管理課 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

[目 次]

	頁
要 約 -----	1
緒 言 -----	2
材料および方法 -----	3
1. 被験物質 -----	3
2. 陽性対照物質 -----	3
3. 検定菌 -----	3
4. 試験材料 -----	4
5. 被験物質調製液の調製 -----	5
6. 試験操作 -----	5
7. 判定 -----	6
結果および考察 -----	7
1. 用量設定試験 -----	7
2. 本試験 -----	7
参考文献 -----	9
Tables 1~3	
Figures 1、2	

[要 約]

二クロム酸ナトリウム・二水和物について、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し、陽性の結果を得た。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* の5菌株を用い、プレインキュベーション法により、S9 mix 無添加および添加条件で試験を行った。

用量設定試験を50.0～5000 µg/plate の範囲に公比約3で5用量を設定して行ったところ、S9 mix 無添加および添加条件ともに、いずれの検定菌においても強い生育阻害が認められた。

これらの結果に基づき、S9 mix 無添加条件では、TA100は1.95～62.5 µg/plate、TA1535、TA98 および TA1537 は0.977～62.5 µg/plate、WP2 *uvrA* は7.81～250 µg/plate の範囲に公比2で6あるいは7用量を設定して、2回の本試験を行った。またS9 mix 添加条件では、TA100、TA1535、TA98 および TA1537 は3.91～125 µg/plate、WP2 *uvrA* は15.6～500 µg/plate の範囲に公比2で6用量を設定して、2回の本試験を行った。その結果、TA100、TA98 および WP2 *uvrA* のS9 mix 無添加条件とS9 mix 添加条件、およびTA1537 のS9 mix 無添加条件において、陰性対照値の2倍以上となる復帰変異コロニー数の増加が認められ、用量依存性もみられた。

以上の結果から、二クロム酸ナトリウム・二水和物は、用いた試験系において変異原性を有するもの（陽性）と判定した。

[緒 言]

既存化学物質安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、ニクロム酸ナトリウム・二水和物について、細菌を用いる復帰突然変異試験をプレインキュベーション法¹⁾により実施した。

この試験は、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) におけるヒスチジン要求性から非要求性への復帰突然変異²⁾、ならびに大腸菌 (*Escherichia coli*) におけるトリプトファン要求性から非要求性への復帰突然変異³⁾を指標とした変異原性の検出系である。

試験は、被験物質をそのまま検定菌に作用させる S9 mix 無添加条件および哺乳動物(ラット)のもつ薬物代謝酵素によって産生される被験物質の代謝物の変異原性を試験する S9 mix 添加条件で行った。

この試験は、「新規化学物質等に係る試験の方法について」(昭和 62 年 3 月 31 日、環保業第 237 号、薬発第 306 号、62 基局第 303 号、一部改正平成 9 年 10 月 31 日、環保安第 287 号、衛生第 127 号、平成 09・10・31 基局第 2 号) および「OECD 化学物質試験法ガイドライン 471/細菌を用いる復帰突然変異試験」(1997 年 7 月 21 日採択)に準拠し、「化学物質 GLP」(昭和 59 年 3 月 31 日、環保業第 39 号、薬発第 229 号、59 基局第 85 号、改訂昭和 63 年 11 月 18 日、環企研第 233 号、衛生第 38 号、63 基局第 823 号、平成 12 年 3 月 1 日一部改正、環保安第 41 号、生衛発第 268 号、平成 12・02・14 基局第 1 号)に基づいて行った。

[材料および方法]

1. 被験物質

被験物質である二クロム酸ナトリウム・二水和物[英名: Chromic acid disodium salt dihydrate、ロット番号: 製造]は橙黄色の結晶、固体であり、 から提供を受けた。被験物質の物理化学的性状等を Appendix 1 に示す。被験物質は、使用時まで室温保管した。

2. 陽性対照物質

用いた陽性対照物質および調製法は以下のとおりである。

検定菌ごとに用いた陽性対照物質は、当研究所で十分な蓄積データが得られている物質および用量とし、それぞれを結果の各 Table 中に示した。

2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

(AF2、和光純薬工業㈱ ロット番号:WTQ0059、純度 98%以上)

アジ化ナトリウム (SA、和光純薬工業㈱ ロット番号:ELE2329、純度 98%以上)

9-アミノアクリジン (9AA、Sigma Chem. Co. ロット番号:106F06681、純度 97%以上)

2-アミノアントラセン (2AA、和光純薬工業㈱ ロット番号:DLH6052、純度 90%以上)

AF2、9AA および 2AA はジメチルスルホキシド (DMSO、和光純薬工業㈱、ロット番号: ELL5600 および SEG4422) に、SA は超純水に溶解し、所定の濃度に調製した後-20℃で凍結保存し、調製後 6 か月以内のものを用時に解凍して用いた。

3. 検定菌

上記のガイドラインに従って、*S. typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *E. coli* WP2 *uvrA* を用いた。

S. typhimurium の 4 菌株は 1997 年 8 月 7 日に、*E. coli* WP2 *uvrA* 株は 1997 年 4 月 9 日に日本バイオアッセイ研究センターの から分与された。

検定菌は-80℃で凍結保存したものを扱い、特性確認は各菌株の凍結保存菌の調製時に、アミノ酸要求性、UV 感受性、膜変異 (*rfa*)、アンピシリン耐性因子 pKM101 (プラスミド) の有無および陰性対照と陽性対照の変異コロニー数について調べた。

試験に際して、ニュートリエントブロスNo.2 (Unipath Ltd.) を入れた L 字型試験管

に解凍した種菌を一定量接種し、37°Cで10時間往復振とう培養したものを試験菌液とした。分光光度計（株島津製作所、型式：UV-120-02）により660 nmの吸光度を測定し、試験菌液の増殖を確認した。試験に用いた検定菌の生菌数を段階希釈法により求め、Appendix 2に示した。

4. 試験材料

1) 合成培地

培地は、極東製薬工業(株)製の最少グルコース寒天培地（ロット番号：DZA23901、2001年3月9日製造）を用いた。なお、培地1Lあたりの組成は下記のとおりで、径90 mmのシャーレ1枚あたり30 mLを流して固めたものである。

硫酸マグネシウム・7水和物	0.2 g
クエン酸・1水和物	2 g
リン酸水素二カリウム	10 g
リン酸一アンモニウム	1.92 g
水酸化ナトリウム	0.66 g
グルコース	20 g
大洋寒天（清水食品(株)）	15 g

2) トップアガー

下記の水溶液（A）に（B）または（C）を容量比10:1の割合で混合した。

(A) バクトアガー(Difco Lab.)	0.6 w/v%
塩化ナトリウム	0.5 w/v%
(B) <i>Salmonella typhimurium</i> 用	
L-ヒスチジン	0.5 mmol/L
D-ビオチン	0.5 mmol/L
(C) <i>Escherichia coli</i> 用	
L-トリプトファン	0.5 mmol/L

3) S9 mix

S9 mix 1 mL あたりの組成は下記のとおりで、用時氷冷下で混合して調製した。

S9*	0.1 mL
塩化マグネシウム	8 μmol
塩化カリウム	33 μmol
グルコース-6-リン酸	5 μmol
NADH	4 μmol
NADPH	4 μmol
ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH 7.4)	100 μmol

* : 7 週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットをフェノバルビタール (PB) および 5,6-ベンゾフラボン (BF) の併用投与で酵素誘導して作製した S9 (キッコーマン株、ロット番号 : RAA-445、2001 年 5 月 25 日製造) を購入し、 -80°C で凍結保存し、用時に解凍して用いた。

5. 被験物質調製液の調製

被験物質は、50 mg/mL の濃度で水に溶解することから、試験に際しては、日局注射用水 (株)大塚製薬工場、製造番号 : K9K81) に溶解して最高用量の調製液を調製した後、同溶媒で順次希釈して、速やかに試験に用いた。調製時に、発熱、発泡、変色等の変化はみられなかった。

6. 試験操作

ブレインキュベーション法により、S9 mix 無添加条件および S9 mix 添加条件で試験を行った。

小試験管中に被験物質調製液 0.1 mL、0.1 mol/L ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH 7.4) または S9 mix 0.5 mL、試験菌液 0.1 mL を混合し、 37°C で 20 分間ブレインキュベーションした後、トッパアガー 2 mL を加えて混和し、合成培地平板上に流して固めた。また、被験物質調製液の代わりに溶媒 0.1 mL または陽性対照物質溶液を加えて、それぞれ陰性対照および陽性対照とした。陰性および陽性対照の結果については、同時に実施した他試験と共通に用いた。

培養は 37°C で 48 時間行い、発生した復帰変異コロニー数を、コロニーアナライザー

(システムサイエンス㈱、CA-11) または目視により算定した。被験物質に由来する沈澱の有無は、肉眼により観察した。また、生育阻害の有無については、目視あるいは実体顕微鏡下で、寒天表面の菌叢の状態から判断した。用いた平板は用量設定試験においては、陰性および陽性対照では3枚ずつ、各用量については1枚ずつとした。また、本試験においては、両対照および各用量につき3枚ずつを用い、それぞれの平均値と標準偏差を求めた。陰性および陽性対照の復帰変異コロニー数の平均値を、それぞれ陰性対照値および陽性対照値とした。

なお、最高用量の被験物質調製液 0.1 mL および S9 mix 0.5 mL を、それぞれ合成培地平板上に滴下して、培養終了時に雑菌の混入の有無を調べた。

上記の方法により、用量設定試験は1回、本試験は同一用量について2回実施し、結果の再現性を確認した。

7. 判定

用いた5種の検定菌のうち、1種以上の検定菌の S9 mix 無添加条件あるいは S9 mix 添加条件において、被験物質を含有する平板上における復帰変異コロニー数の平均値が、陰性対照値のそれに比べて2倍以上に増加し、その増加に再現性および用量依存性が認められた場合に、本試験系において変異原性を有するもの(陽性)と判定することとした。

1. 用量設定試験

上記のガイドラインに従って、50.0~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の範囲で公比を約 3 とし、5 段階の用量を設定して用量設定試験を行った (Table 1)。その結果、S9 mix 無添加条件においては、WP2 *uvrA* では 150 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の用量で、その他の検定菌ではすべての用量で生育阻害が認められた。また、S9 mix 添加条件においては、WP2 *uvrA* では 500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の用量で、その他の検定菌では 150 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の用量で生育阻害が認められた。被験物質に由来する沈澱は、S9 mix 無添加条件および S9 mix 添加条件ともに認められなかった。

以上の結果から、本試験における最高用量を S9 mix 無添加条件では、WP2 *uvrA* は 250 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、その他の検定菌は 62.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。また、S9 mix 添加条件では、WP2 *uvrA* は 500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、その他の検定菌は 125 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

2. 本試験

上記の最高用量に基づいて、公比 2 で 6 あるいは 7 用量を設定して 2 回の本試験を行った (Table 2, 3, Figure 1, 2)。その結果、すべての検定菌で、S9 mix 無添加条件および S9 mix 添加条件ともに高用量の 1 あるいは 2 用量で生育阻害が認められた。被験物質に由来する沈澱は、S9 mix の添加の有無にかかわらず認められなかった。

復帰変異コロニー数は、TA100、TA98 および WP2 *uvrA* の S9 mix 無添加条件と S9 mix 添加条件、および TA1537 の S9 mix 無添加条件で、陰性対照値の 2 倍以上に増加し、用量依存性もみられた。TA1537 の S9 mix 添加条件と TA1535 においては、陰性対照値の 2 倍以上となる復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

すべての試験において、最高用量の被験物質調製液および S9 mix への雑菌の混入は認められなかった。また、いずれの検定菌においても陽性対照物質の変異原性が検出され、陽性対照値および陰性対照値は、ともに背景データ (Appendix 3) の変動範囲内 (平均値 $\pm 3 \times$ 標準偏差) であったことから、本試験系の有効性が確認された。

これらの結果から、二クロム酸ナトリウム・二水和物は TA100、TA98 および WP2 *uvrA*

の S9 mix 無添加条件と S9 mix 添加条件、および TA1537 の S9 mix 無添加条件で、復帰変異を誘発するものと考えられる。これらの検定菌に関して、本試験で変異コロニー数が陰性対照値の 2 倍以上となった用量について、変異コロニー数の平均値から陰性対照値を差し引いた値を、用量で除して比活性（誘発復帰変異コロニー数/mg）を求めた（Appendix 4）。その結果、当被験物質の最大比活性は 11667（本試験 I、TA100、S9 mix 無添加条件の 15.6 µg/plate）で、同一条件下における陽性対照物質 AF2 の値の約 3000 分の 1 であった。

なお、二クロム酸ナトリウム・二水和物については、当研究所で実施したチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験でも陽性の結果が得られている⁴⁾。また、その無水物については TA100 を用いた復帰突然変異試験でも陽性の結果が報告されている⁵⁾。関連物質であるクロム酸カリウム（無水物）についても *B. sub. rec+/rec-* を用いた DNA 修復試験、*E. coli*. Hs30R を用いた復帰突然変異試験およびヒトリンパ球、Syrian hamstar 細胞を用いた染色体異常試験で陽性の結果が報告されている⁶⁾。

以上の結果に基づき、二クロム酸ナトリウム・二水和物は、用いた試験系において変異原性を有するもの（陽性）と判定した。

[参 考 文 献]

- 1) T. Matsushima, T. Sugimura, M. Nagano, T. Yahagi, A. Shirai, M. Sawamura, "Short-term Test Systems for Detecting Carcinogens," eds. by K. H. Norpoth, R. C. Garner, Springer, Berlin, 1980, pp. 273-285.
- 2) D. M. Maron, B. N. Ames, *Mutat. Res.*, 113, 173 (1983).
- 3) M. H. L. Green, "Handbook of Mutagenicity Test Procedures," eds. by B. J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols, C. Ramel, Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 1984, pp. 161-187.
- 4) 山影 康次他：「ニクロム酸ナトリウム・二水和物のチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験」, 食薬セ研第12-1901号
- 5) 賀田恒夫・石館 基：環境変異原性データ集1, サイエнтиスト社, 東京, p. 367 (1980)
- 6) 賀田恒夫・石館 基：環境変異原性データ集1, サイエнтиスト社, 東京, p. 341 (1980)

Table 1. Cytotoxicity of chromic acid disodium salt dihydrate in bacteria

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (µg/ plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean ± S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	147	135	133	12	17	14	26	33	18	38	33	26	7	12	10
		(138 ± 8)			(14 ± 3)			(26 ± 8)			(32 ± 6)			(10 ± 3)		
	50.0	11 *			0 *			208			0 *			0 *		
	150	0 *			0 *			29 *			0 *			0 *		
	500	0 *			0 *			0 *			0 *			0 *		
	1500	0 *			0 *			0 *			0 *			0 *		
	5000	0 *			0 *			0 *			0 *			0 *		
S9 mix (+)	0	169	132	142	14	8	13	34	28	29	19	32	26	13	11	12
		(148 ± 19)			(12 ± 3)			(30 ± 3)			(26 ± 7)			(12 ± 1)		
	50.0	345			11			118			86			56		
	150	0 *			0 *			193			0 *			0 *		
	500	0 *			0 *			0 *			0 *			0 *		
	1500	0 *			0 *			0 *			0 *			0 *		
	5000	0 *			0 *			0 *			0 *			0 *		
Positive control	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA		
	Dose (µg/ plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
S9 mix (-)	Number of colonies / plate	592	598	608	505	571	569	239	267	325	423	382	388	362	453	391
		(599 ± 8)			(548 ± 38)			(277 ± 44)			(398 ± 22)			(402 ± 46)		
Positive control	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose (µg/ plate)	1			2			10			0.5			2		
S9 mix (+)	Number of colonies / plate	830	926	1051	348	343	404	964	860	858	448	456	449	283	262	276
		(936 ± 111)			(365 ± 34)			(894 ± 61)			(451 ± 4)			(274 ± 11)		

The purity of the test substance was 100.07 wt%.

This substance contained 0.07 wt% SO₄, 0.008 wt% Cl and 6 ppm Ca as impurities.

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

*:Growth inhibition was observed.

Table 2. Mutagenicity of chromic acid disodium salt dihydrate in bacteria (I)

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (µg/plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean ± S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	151	151	142	9	10	6	33	25	27	28	31	26	13	15	7
		(148 ± 5)			(8 ± 2)			(28 ± 4)			(28 ± 3)			(12 ± 4)		
	0.977	NT			9	7	17	NT			29	21	31	12	16	9
					(11 ± 5)						(27 ± 5)			(12 ± 4)		
	1.95	133	131	120	11	7	14	NT			33	25	33	17	13	16
		(128 ± 7)			(11 ± 4)						(30 ± 5)			(15 ± 2)		
	3.91	175	160	171	13	11	10	NT			32	36	49	17	25	19
		(169 ± 8)			(11 ± 2)						(39 ± 9)			(20 ± 4)		
	7.81	206	191	185	14	15	11	56	75	63	39	62	46	25	16	26
	(194 ± 11)			(13 ± 2)			(65 ± 10)			(49 ± 12)			(22 ± 6)			
15.6	334	331	326	8	11	11	131	143	146	107	71	82	31	35	41	
	(330 ± 4)			(10 ± 2)			(140 ± 8)			(87 ± 18)			(36 ± 5)			
31.3	180	150	137	0 *	0 *	0 *	258	287	262	2 *	5 *	3 *	0 *	0 *	()	
	(156 ± 22)			(0 ± 0)			(269 ± 16)			(3 ± 2)			(0 ± 0)			
62.5	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	195	206	226	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	
	(0 ± 0)			(0 ± 0)			(209 ± 16)			(0 ± 0)			(0 ± 0)			
125	NT			NT			91	73	88	NT			NT			
							(84 ± 10)									
250	NT			NT			0 *	0 *	0 *	NT			NT			
							(0 ± 0)									
S9 mix (+)	0	145	161	145	9	9	12	35	30	34	32	31	28	19	20	11
		(150 ± 9)			(10 ± 2)			(33 ± 3)			(30 ± 2)			(17 ± 5)		
	3.91	125	132	138	14	7	13	NT			18	31	25	8	12	13
		(132 ± 7)			(11 ± 4)						(25 ± 7)			(11 ± 3)		
	7.81	138	110	133	7	13	7	NT			29	28	24	12	16	16
		(127 ± 15)			(9 ± 3)						(27 ± 3)			(15 ± 2)		
	15.6	135	152	140	8	16	9	29	27	20	31	29	30	15	13	15
		(142 ± 9)			(11 ± 4)			(25 ± 5)			(30 ± 1)			(14 ± 1)		
	31.3	196	163	183	12	6	8	44	54	45	38	41	54	28	29	26
	(181 ± 17)			(9 ± 3)			(48 ± 6)			(44 ± 9)			(28 ± 2)			
62.5	534	490	428	12	18	12	125	129	117	110	97	92	14	12	2	
	(484 ± 53)			(14 ± 3)			(124 ± 6)			(100 ± 9)			(17 ± 7)			
125	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	231	231	245	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	
	(0 ± 0)			(0 ± 0)			(236 ± 8)			(0 ± 0)			(0 ± 0)			
250	NT			NT			140	106	126	NT			NT			
							(124 ± 17)									
500	NT			NT			0 *	0 *	0 *	NT			NT			
							(0 ± 0)									
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA		
	Dose (µg/plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose (µg/plate)	1			2			10			0.5			2		
Positive control S9 mix (+)	Number of colonies / plate	487	504	479	559	545	510	161	193	228	353	435	355	340	271	651
		(490 ± 13)			(538 ± 25)			(194 ± 34)			(381 ± 47)			(421 ± 202)		
Positive control S9 mix (+)	Number of colonies / plate	762	759	774	345	334	351	865	676	668	414	452	442	304	231	294
		(765 ± 8)			(343 ± 9)			(736 ± 112)			(436 ± 20)			(276 ± 40)		

The purity of the test substance was 100.07 wt%.

This substance contained 0.07 wt% SO₄, 0.008 wt% Cl and 6 ppm Ca as impurities.

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

*:Growth inhibition was observed.

NT: Not tested

Table 3. Mutagenicity of chromic acid disodium salt dihydrate in bacteria (II)

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (µg/plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean ± S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	129	112	106	7	13	6	33	36	21	19	27	26	18	6	11
		(116 ± 12)			(9 ± 4)			(30 ± 8)			(24 ± 4)			(12 ± 6)		
	0.977	NT			9	9	8	NT			27	23	22	13	14	9
					(9 ± 1)						(24 ± 3)			(12 ± 3)		
	1.95	135	100	120	10	8	8	NT			26	20	30	8	8	5
		(118 ± 18)			(9 ± 1)						(25 ± 5)			(7 ± 2)		
	3.91	146	139	152	11	7	13	NT			33	38	39	7	13	17
		(146 ± 7)			(10 ± 3)						(37 ± 3)			(12 ± 5)		
	7.81	178	153	150	12	20	13	57	66	70	46	44	54	21	25	24
		(160 ± 15)			(15 ± 4)			(64 ± 7)			(48 ± 5)			(23 ± 2)		
15.6	243	224	284	8	4	16	182	120	169	87	77	76	38	34	25	
	(250 ± 31)			(9 ± 6)			(157 ± 33)			(80 ± 6)			(32 ± 7)			
31.3	62	78	51	0*	0*	0*	235	224	219	2*	1*	1*	0*	0*	0*	
	(64 ± 14)			(0 ± 0)			(226 ± 8)			(1 ± 1)			(0 ± 0)			
62.5	0*	0*	0*	0*	0*	0*	185	204	174	0*	0*	0*	0*	0*	0*	
	(0 ± 0)			(0 ± 0)			(188 ± 15)			(0 ± 0)			(0 ± 0)			
125	NT			NT			80	77	94	NT			NT			
							(84 ± 9)									
250	NT			NT			0*	0*	0*	NT			NT			
							(0 ± 0)									
S9 mix (+)	0	159	138	121	8	12	11	32	35	34	30	32	29	16	11	14
		(139 ± 19)			(10 ± 2)			(34 ± 2)			(30 ± 2)			(14 ± 3)		
	3.91	113	134	139	7	18	7	NT			26	22	18	13	9	13
		(129 ± 14)			(11 ± 6)						(22 ± 4)			(12 ± 2)		
	7.81	133	108	129	7	5	12	NT			31	28	19	11	6	11
		(123 ± 13)			(8 ± 4)						(26 ± 6)			(9 ± 3)		
	15.6	136	138	126	19	9	13	35	29	18	20	21	30	13	16	18
		(133 ± 6)			(14 ± 5)			(27 ± 9)			(24 ± 6)			(16 ± 3)		
	31.3	173	163	200	7	12	13	36	48	49	34	47	44	22	26	24
	(179 ± 19)			(11 ± 3)			(44 ± 7)			(42 ± 7)			(24 ± 2)			
62.5	369	419	422	13	20	8	140	121	155	79	77	65	16	14	10	
	(403 ± 30)			(14 ± 6)			(139 ± 17)			(74 ± 8)			(13 ± 3)			
125	0*	0*	0*	0*	0*	0*	238	226	195	0*	0*	0*	0*	0*	0*	
	(0 ± 0)			(0 ± 0)			(220 ± 22)			(0 ± 0)			(0 ± 0)			
250	NT			NT			130	107	140	NT			NT			
							(126 ± 17)									
500	NT			NT			0*	0*	0*	NT			NT			
							(0 ± 0)									
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA		
	Dose (µg/plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose (µg/plate)	1			2			10			0.5			2		
Positive control S9 mix (+)	Number of colonies / plate	464	478	477	560	533	476	191	187	198	402	412	423	577	233	198
		(473 ± 8)			(523 ± 43)			(192 ± 6)			(412 ± 11)			(336 ± 209)		
Positive control S9 mix (+)	Number of colonies / plate	926	794	776	355	391	351	771	866	894	436	445	435	320	319	272
		(832 ± 82)			(366 ± 22)			(844 ± 64)			(439 ± 6)			(304 ± 27)		

The purity of the test substance was 100.07 wt%.

This substance contained 0.07 wt% SO₄, 0.008 wt% Cl and 6 ppm Ca as impurities.

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

*:Growth inhibition was observed.

NT: Not tested

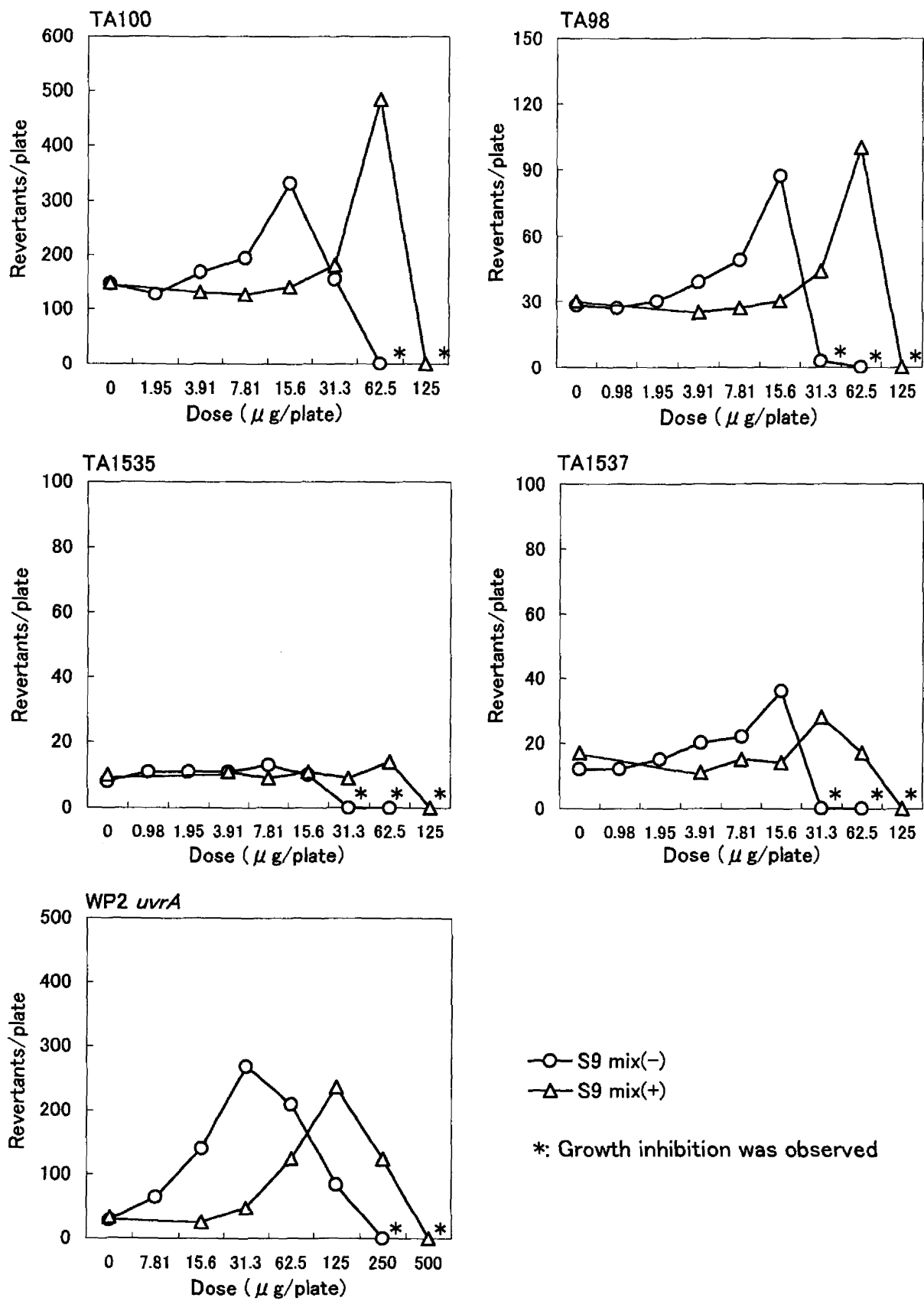


Figure 1. Dose response curves of mutagenicity of chromic acid disodium salt dihydrate in bacteria (I)

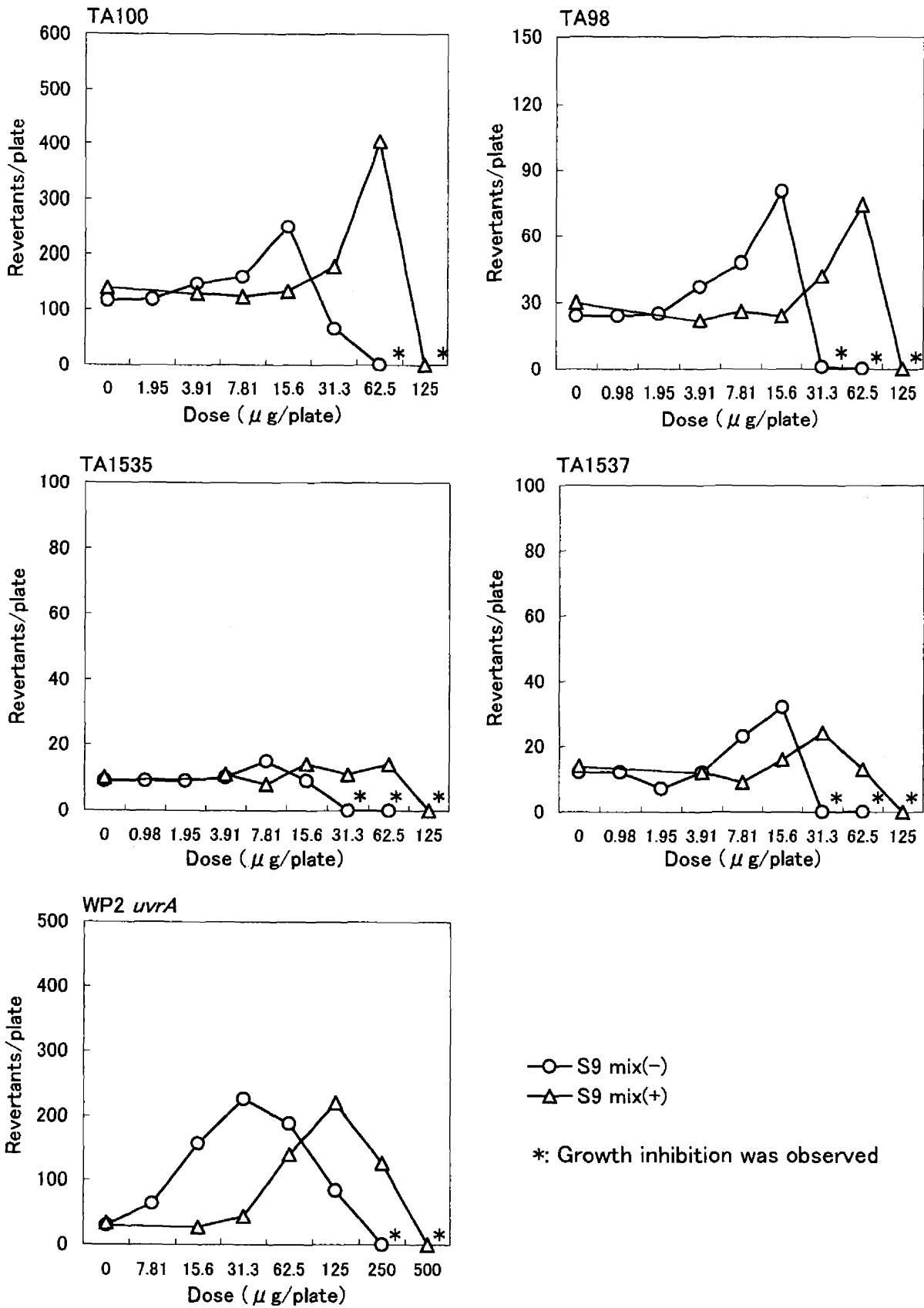


Figure 2. Dose response curves of mutagenicity of chromic acid disodium salt dihydrate in bacteria (II)