

試 験 報 告 書

ビス(トリブチルスズ)オキサイド(被験物質No.K-645)の
コイによる濃縮度試験

昭和60年3月29日

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター

〔試験実施機関〕

名 称 : 財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター
所 在 地 : (〒131) 東京都墨田区東向島四丁目1番1号
電話番号 : (03) 614-1106 (直通)
代 表 者 : 化学品安全センター 所 長 [REDACTED]

(1) 試験施設

名 称 : 財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター
九州試験所
所 在 地 : (〒830) 福岡県久留米市中央町19番14号
電話番号 : (0942) 34-1500

(2) 運営管理者など

運 営 管 理 者 九州試験所 所 長 [REDACTED]

試 験 責 任 者 九州試験所 蓄積試験課 副長 [REDACTED]

試 験 担 当 者 九州試験所 蓄積試験課 [REDACTED]

魚 飼 育 担 当 者 九州試験所 蓄積試験課 [REDACTED]

報 告 書 要 旨

1. 試験の内容 : コイによる化学物質の濃縮度試験
2. 被験物質 : ビス(トリブチルスズ)オキサイド
(被験物質No.K-645)
3. 試験方法及び条件

3.1 試験方法

環 保 業 第 5 号 } <魚介類の体内における化学物質の濃縮度
薬 発 第 6 1 5 号 } 試験>による。
49基局第392号

3.2 試験条件

試験濃度 : 第1濃度区 0.5 $\mu\text{g}/\ell$
 第2濃度区 0.05 $\mu\text{g}/\ell$
飼育期間 : 12週間
流水量 : 1155 ℓ /日
分析方法 : 原子吸光分光光度法

4. 試験結果

濃縮倍率 第1濃度区 : 2550~12100倍
 第2濃度区 : 2880~11200倍

目 次

	頁
1. 試験の目的	1
2. 試験方法	1
3. 試験期間	1
4. 被験物質	1～2
5. 供試魚	3
6. 飼育条件	3
7. 試験濃度及び原液調製法	4
8. 試験水及び供試魚中の被験物質の分析	4～10
9. 濃縮倍率の算出	11
10. 試験結果	11～12
参考データ	13～14
付表	
付図	

1. 試験の目的

既存化学物質の安全性確認の一環としてビス(トリブチルスズ)オキサイド(被験物質No K-645)のコイに対する濃縮度試験を実施し、濃縮性の程度についての知見を得る。

2. 試験方法

環 保 業 第 5 号
薬 発 第 6 1 5 号 } 〈魚介類の体内における化学物質の濃縮度
49基局第392号 } 試験〉による。

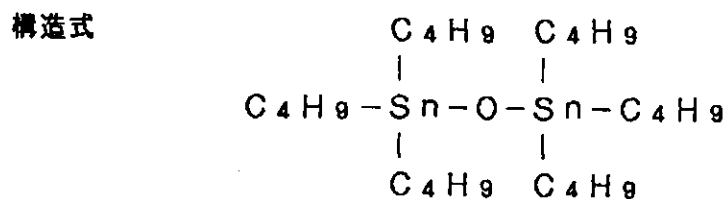
3. 試験期間

昭和59年10月1日～昭和60年3月26日
(飼育期間 昭和59年12月13日～昭和60年3月8日)

4. 被験物質

4.1 名 称 ビス(トリブチルスズ)オキサイド
 (被験物質No K-645)
純 度*1 98%以上
入手先 [REDACTED] 一級試薬
ロット番号 A801

4.2 構造式、分子式、分子量



分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{54}\text{OSn}_2$

分子量 596.11

4.3 スペクトル

赤外線吸収スペクトル (図-13 参照)

質量スペクトル (図-14 参照)

核磁気共鳴スペクトル (図-15 参照)

4.4 物理化学的性状

外 観 無色透明液体

比 重^{*1} 1.177

溶解性	水	:	50mg/l (AA法による。)
	n-ヘキサン	:	18/l以上
	クロロホルム	:	18/l以上
	アセトン	:	18/l以上
	エタノール	:	18/l以上
	N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)	:	18/l以上

分配係数 (n-オクタノール/水)

$\log Pow = 3.31$ (OECD法による。)

4.5 ヒメダカに対する48時間LC50値^{*2}

20.8 µg/l (図-1 参照)

*1 試薬添付資料による。

*2 JIS K 0102に定める工場排水試験法「魚類による急性毒試験」に準じ、DMFを使用して調製した試験液により得られた値。

5. 供試魚

名 称 コイ (Cyprinus carpio)
入 手 先 熊本県八代市北村養魚場
ロット番号 TFC 841108
平均体重^{*3} 20.0 g
平均体長^{*3} 9.2 cm
平均脂質含量^{*3} 4.8 %
薬 浴 止水状態にて 0.005% 水産用テラマイシン散水溶液にて 24 時間薬浴を行った。
順 化 25 ℃ × 14 日間

*3 同一順化ロットからの代表供試魚 10 尾に対しての測定値

6. 飼育条件

試験施設 流水式水系環境調節装置
飼育水槽 100ℓ 容ガラス製水槽
流 水 量 1155ℓ / 日
 (原液：希釈水 = 2 ml / 分 : 800 ml / 分)
飼育密度 25 尾 / 飼育水槽 (試験飼育開始時)
飼育期間 12 週間
飼育温度 25 ± 2 ℃
飼育水槽中溶存酸素濃度
第 1 濃度区 : 6.9 ~ 7.8 mg / ℓ (図-11 参照)
第 2 濃度区 : 6.7 ~ 7.8 mg / ℓ (図-12 参照)
 (飯島精密工業製 DOメーター)
給 餌 1 日 2 回に分けて、コイ用飼料 (日本配合飼料株式会社製) を
 魚体重の約 2% 相当量与えた。

7. 試験濃度及び原液調製法

7.1 試験濃度

試験水槽中の被験物質濃度は次のように設定した。

第1濃度区 : 0.5 $\mu\text{g}/\text{l}$

第2濃度区 : 0.05 $\mu\text{g}/\text{l}$

7.2 原液調製法

被験物質をDMFに溶解して1 g/l のDMF溶液を調製した。

これをイオン交換水で希釈して

第1濃度区 : 0.2 mg/l

第2濃度区 : 0.02 mg/l

の各原液10 l を調製した。なお、各原液は飼育期間中、毎週2回調製した。

8. 試験水及び供試魚中の被験物質の分析

8.1 分析内容の概略

8.1.1 試験水分析

第1及び第2濃度区の各試験水槽より分析試料を採取し、前処理を行った後、原子吸光分光光度(AA)法により被験物質を定量分析した。試験水分析は、両濃度区とも飼育期間中、毎週2回計24回行い、1回あたりの分析試料は1点とし、採取後ただちに分析操作を行った。

8.1.2 供試魚分析

第1及び第2濃度区の各試験水槽より分析試料を採取し、前処理を行った後、原子吸光分光光度法(AA)法により被験物質を定量分析した。供試魚分析は、両濃度区とも飼育開始後、2, 4, 6, 8, 10及び12週目の計6回行い、1回あたりの分析試料は2点とし、採取後ただちに分析操作を行った。

8.2 分析試料の前処理

8.2.1 試験水分析試料の前処理

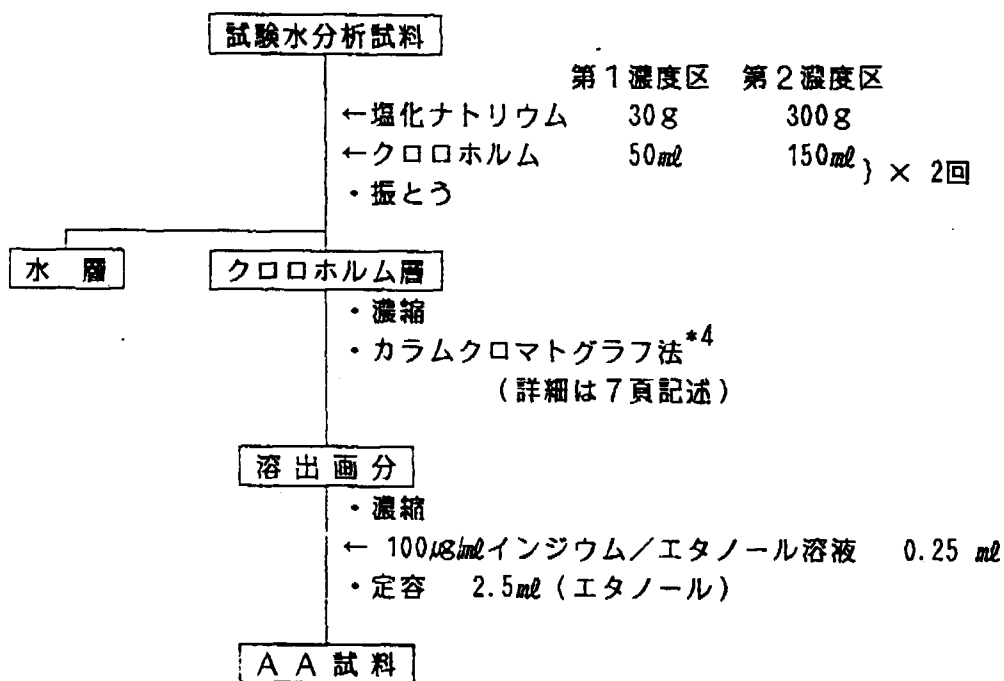
試験水槽より

第1濃度区 : 100 ml

第2濃度区 : 1000 ml

を採取し、以下のフローシートに従って前処理操作を行った。

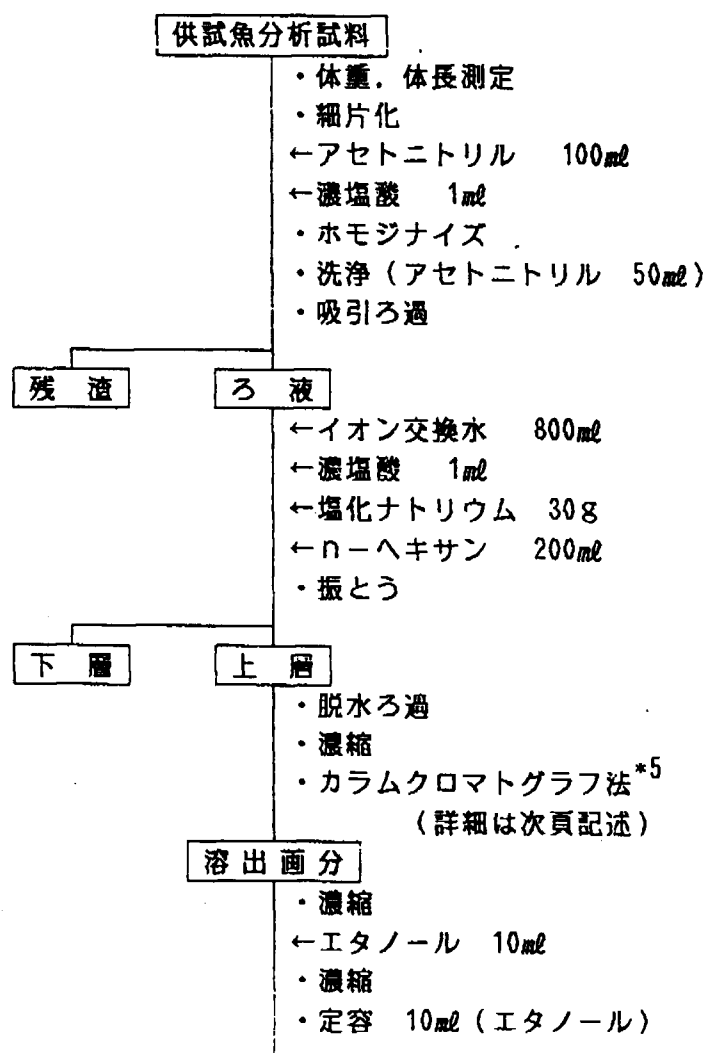
フローシート



8.2.2 供試魚分析試料の前処理

試験水槽より供試魚を採取し、以下のフローシートに従って前処理操作を行った。

フローシート



次頁へ続く

前頁より続く

- ・分取 4ml
- ・定容 20ml (エタノール)

A A 試料

*4 カラムクロマトグラフの条件

クロマト管 20mmφ, ガラス製
充てん剤 無水塩基性アルミナ 5g (ウェルム社製)
(クロロホルムで充てん)

分画法	第1画分	:	濃縮液	全量
	第2画分	:	酢酸エチル	30ml
	第3画分	:	エタノール/n-ヘキサン(1/9 V/V)	50ml

被験物質は第3画分に溶出する。

*5 クロマト管 20mmφ, ガラス製
充てん剤 3%含水塩基性アルミナ 10g (ウェルム社製)
(n-ヘキサンで充てん)

分画法	第1画分	:	濃縮液	全量
	第2画分	:	エーテル/n-ヘキサン(1/1 V/V)	50ml
	第3画分	:	酢酸エチル	50ml
	第4画分	:	エタノール/n-ヘキサン(1/4 V/V)	50ml

被験物質は第4画分に溶出する。

8.3 分析試料の定量

8.2の前処理を行って得られたAA試料は、次の条件により原子吸光分光光度法により定量を行った。被験物質濃度は、チャート上の被験物質のピーク高さを既知濃度の標準溶液^{*6}のピーク高さと比較し、比例計算により求めた。
(図-6, 表-4, 5及び図-9, 10, 表-8, 9参照)

[定量条件]

装 置	2チャンネル原子吸光分光光度計 日本ジャーレルアッシュ社製 型 AA-8200 フレームレスアトマイザー 日本ジャーレルアッシュ社製 型 FLA-100 HU-10		
測定条件	A	B	
波 長	224.6nm	224.6nm	
光 源	HCL	D ₂ ランプ	
電流値	12mA	220mA	
原子化条件			
乾 燥	STEP	22A	30秒
炭 化	STEP	水分析 85A 魚分析 90A	60秒
原子化	FLASH	290A	5秒
Display & Mode	BKG. CONC		
注 入 量	水分析 50μl 魚分析 25μl		
原子化部	カーボンチューブ		

*6 標準溶液の調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための標準溶液の調製は次のように行った。

すなわち被験物質0.1gを精秤し、エタノールに溶解して1g_{ml}の標準溶液とし、さらにこれをエタノールで希釈して水分析は20_{mg}_{ml}(インジウム 10_{mg}_{ml}含有)、魚分析は150_{mg}_{ml}の標準溶液を調製した。

8.4 定量性の確認

(水分析)

8.3の標準溶液調製法と同様にして10 $\mu\text{g/ml}$ 、20 $\mu\text{g/ml}$ 及び30 $\mu\text{g/ml}$ の標準溶液を調製し、これらを8.3の定量条件に従ってAAに注入し、チャート上の被験物質ピーク高さとそれぞれの濃度より検量線を作成した。検量線は原点を通る直線であったことから定量性が良好であることが確認された。

また、検量線より被験物質ピーク高さの測定限界は5 μm (被験物質濃度1.7 $\mu\text{g/ml}$)とした。(図-4参照)

(魚分析)

8.3の標準溶液調製法と同様にして75 $\mu\text{g/ml}$ 、150 $\mu\text{g/ml}$ 及び300 $\mu\text{g/ml}$ の標準溶液を調製し、これらを8.3の定量条件に従ってAAに注入し、チャート上の被験物質ピーク高さとそれぞれの濃度より検量線を作成した。検量線は原点を通る直線であったことから定量性が良好であることが確認された。

また、検量線より被験物質ピーク高さの測定限界は2 μm (被験物質濃度5.0 $\mu\text{g/ml}$)とした。(図-7参照)

3.5 回収試験及びブランク試験

前述した試験水及び供試魚分析における被験物質の回収率を求めるため、飼育水及び魚体ホモジネートに被験物質分散液を添加し8.2及び8.3の操作に準じて添加回収試験を行った。また、被験物質を加えない飼育水及び魚体ホモジネートについて、添加回収試験の場合と同じ操作によりブランク試験を行った。添加回収試験及びブランク試験は、2点について並行測定した。この結果、ブランク試験においてチャート上、被験物質ピーク位置にはピークは認められず、そこで回収率は添加回収試験で得られた2点の値の平均値とした(図-5, 8, 表-3, 7参照)。各分析操作における回収率は次頁のとおりであり、分析試料中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした。

[各分析操作における回収率]

試験水分析（被験物質 50 ng 添加）

第1濃度区 : 89.0%

第2濃度区 : 101 %

供試魚分析（被験物質 7.5 ng 添加）

79.9%

8.6 分析試料中の被験物質濃度の算出及び検出限界

8.6.1 試験水分析試料中の被験物質濃度の算出

試験水分析試料中の被験物質濃度は、表-6の計算式に従って計算した。

8.6.2 試験水中の被験物質の検出限界

8.3の定量条件において検出限界となる被験物質濃度(8.4参照)から、前処理操作での回収率を考慮すると、試験水中の被験物質検出限界濃度はそれぞれ、

第1濃度区 : 0.048 ng/ml

第2濃度区 : 0.0042 ng/ml

と算出される。

8.6.3 供試魚分析試料中の被験物質濃度の算出

供試魚分析試料中の被験物質濃度は、表-10の計算式に従って計算した。

8.6.4 供試魚中の被験物質の検出限界

8.3の定量条件において検出限界となる被験物質濃度(8.4参照)から、前処理操作での回収率を考慮すると、供試魚中の被験物質検出限界濃度は魚体重を30gとしたとき10 ng/gと算出される。

9. 濃縮倍率の算出

濃縮倍率（BCF）は、次式により算出した。

$$BCF = \frac{C_{fn} - C_{fb}}{C_{wn}}$$

C_{fn} : n週目に採取した供試魚分析試料中の被験物質濃度（ $\mu\text{g/g}$ ）

C_{wn} : n週目まで行った試験水分析による実測濃度の平均値（平均水槽濃度）（ $\mu\text{g/l}$ ）

C_{fb} : 空試験における魚体中の被験物質濃度（ $\mu\text{g/g}$ ）

なお、8.6.4で求めた供試魚中の被験物質の検出限界を濃縮倍率で表わすと次のようになる。

第1濃度区 : 25倍

第2濃度区 : 254倍

10. 試験結果

10.1 試験水槽中の被験物質濃度

試験水槽中の被験物質濃度を表-1に示す。

表-1 試験水中の被験物質濃度（実測値）（単位： $\mu\text{g/l}$ ）

	2 W	4 W	6 W	8 W	10 W	12 W	付 表
第1濃度区	0.364	0.382	0.392	0.402	0.408	0.416	表-4
第2濃度区	0.0388	0.0373	0.0381	0.0398	0.0402	0.0410	表-5

10.2 濃縮倍率

濃縮倍率を表-2に示す。

表-2 濃 縮 倍 率

	2 W	4 W	6 W	8 W	10 W	12 W	付 表	付 図
第1濃度区	2550 2600	6070 6010	7770 8140	8580 8230	12100 11600	9200 9620	表-8	図-9
第2濃度区	2880 2990	5980 6580	7410 7540	10400 11100	10900 9730	10100 11200	表-9	図-10

また、表-2の濃縮倍率と飼育期間の関係を図-2, 3に示した。被験物質のコイに対する濃縮性の程度は、濃縮倍率で第1濃度区において2550~12100倍、第2濃度区において2880~11200倍であった。

なお、供試魚は外観観察の結果、異状は認められなかった。

以 上

考データ

体部位別試験

4及8週間目の供試魚を1尾ずつ、頭部、外皮（頭部を除く皮、うろこ、ひれ、消化管、えら）、内臓（消化管以外の臓器）、可食部（上記の部分を除いた（残部））に大別し、各重量を測った後分析を行った。分析法は本試験の分析法に準ずる。

魚体部位別試験結果

		被験物質濃度 (ng/g)	濃縮倍率
第1濃度区	可食部	4W	2280
		8W	3350
	頭部	4W	1730
		8W	2670
	外皮	4W	1610
		8W	2530
	内臓	4W	2800
		8W	2780
第2濃度区	可食部	4W	239
		8W	586
	頭部	4W	67.1
		8W	212
	外皮	4W	135
		8W	326
	内臓	4W	264
		8W	738

世性試験

12週間の試験終了後、正常水（被験物質及び分散剤を含まない水）による排泄性試験を行った。（試験水槽100ℓ、流量400ml/min）

12週間目の供試魚中の被験物質濃度の平均（2尾）を100として3、6、14日目の供試魚中の残留率を示した。

残留率 （ % ）

	3 日 目	6 日 目	14 日 目
第1濃度区	120	106	67.6
第2濃度区	76.5	26.9	64.3

以 上