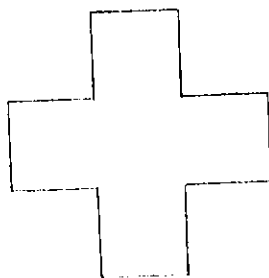


濃縮度試験報告書 - III

1. 試料名 シクロデカン  
(試料名 K-467)

構造式



同定 IR スペクトル (図-20 参照)

性状

外觀 無色結晶

融点 63℃ (試薬資料による)

沸点 118℃/18 mm Hg (共立出版：化学大辞典による)

比重 ( $d_4^{20}$ ) 0.861

純度 100% (一級試薬使用)

分配係数 (n-オクタノール/水)

log Pow 6.19 以上 (LOG法による)

溶解性 対水 1 ppm 以下 (G O法による)

対 n-ヘキサン, クロロホルム, アセトン,  
エタノール, 二硫化炭素 1000 ppm 以上

2. 試験期間

濃縮度試験 昭和56年7月21日~昭和56年12月2日

追加試験 昭和57年6月22日~昭和57年7月7日

3. 試験方法及び条件

環 保 業 第 5 号  
薬 発 第 615 号  
49 基 局 第 392 号  
魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験による

3.1 T L m 試験

(a) 試験魚

ヒメダカ 平均体重 0.31 g 塩化第二水銀検定合格魚<sup>\*1</sup>

\*1 田端健二：用水と廃水，14, 1297~1303 (1972)

(b) 溶解法 (分散剤及び分散法)

分散剤

硬化ヒマシ油 (HCO-20, HCO-40)

溶解法 (分散法)

供試物質 0.2 g と HCO-20, HCO-40 各 20 g をアセトンに溶解した後アセトンを留去する。つぎに脱塩水を加えて全量を 1 L に定容し、200 ppm (w/v) の分散液を調製した。

(c) 試験温度 25 ± 1℃

(d) 試験結果

48時間 T L m 値 : 100 ppm (w/v) 以上

(図-3 参照)

3.2 濃縮度試験

### 3.2.1 試験条件

#### (a) 水系環境調節装置 流水式

試験水槽（揮発性化学物質用濃縮度試験装置を使用）

ガラス製

容 量 100ℓ

流 水 量 1155 ℓ/日

原 液<sup>\*2</sup>：希釈水 = 2 ml/分 : 800 ml/分

\*2 3.1(b)で調製した分散液を希釈して原液とした。

第1濃度区用原液 12 ppm(w/v)

第2濃度区用原液 1.2 ppm(w/v)

#### (b) 試験魚

コイ 平均体重 22.0 g

平均体長 9.7 cm

平均脂質含量<sup>\*3</sup> 5.4 %

\*3 E. G. Bligh and W. J. Dyer, Can. J. Biochem. Physiol.,

37, 911 (1959)

#### (c) 外部消毒及び順化

##### (1) 外部消毒

止水状態で10 ppm塩酸クロロテトラサイクリン水溶液  
で24時間薬浴を行った

##### (2) 順 化

25℃ × 14日間

#### (d) 試験温度 25 ± 1℃

#### (e) 水槽中の溶存酸素量

図一18及び19参照

#### (f) 水槽濃度

設定理由

精度よく定量できる濃度は0.13 ppm（図一10参照）  
である。水分析時の前処理操作において50倍濃縮して  
回収率が85.9%であり、水槽濃度の低下を20%と見  
込み、第2濃度区の水槽濃度を0.003 ppmと設定した。  
第1濃度区は第2濃度区の10倍に設定した。

（計算式） 第2濃度区の水槽濃度は

0.13

⇒ 0.003 ppm になる

$$\frac{1000}{20} \times \frac{85.9}{100} \times \frac{100 - 20}{100}$$

設定値 (単位 ppm w/v)

	供試物質	分 散 剤	
		HCO-20	HCO-40
第1濃度区	0.03	3.0	3.0
第2濃度区	0.003	0.3	0.3

#### 実 測 値

表一1 濃縮倍率を求めるための平均濃度（単位 ppbw/v）

	1 W	2 W	4 W	6 W	8 W	10 W
第1濃度区	27.3	29.3	28.6	29.1	30.3	30.3
第2濃度区	2.53	2.50	2.38	2.42	2.56	2.56

### 3.2.2 分析条件

#### (a) 使用分析機器及び条件

##### ・ 魚体分析

装 置	ガスクロマトグラフ 型—日本電子 JGC-20K
カ ラ ム	3% OV-1 /クロモソルブWAW DMCS 1 m × 2 mm $\phi$ , ガラス製
カラム温度	100 $^{\circ}\text{C}$
キャリアガス	N <sub>2</sub>
検 出 器	FID

##### ・ 水分析

装 置	ガスクロマトグラフ—質量分析計 型—日立 RMU-6MG
GC 条 件	
カ ラ ム	5% OV-17 /クロモソルブWHP 1 m × 3 mm $\phi$ , ガラス製
キャリアガス	He
質量分析計条件	
セシ-タ温度	200 $^{\circ}\text{C}$
イオン化電圧	20 eV
加 速 電 圧	3.2 KV
イオン源温度	180 $^{\circ}\text{C}$
測 定 m/e	97

#### (b) 標準溶液の調製法

##### ・ 魚 体 分 析

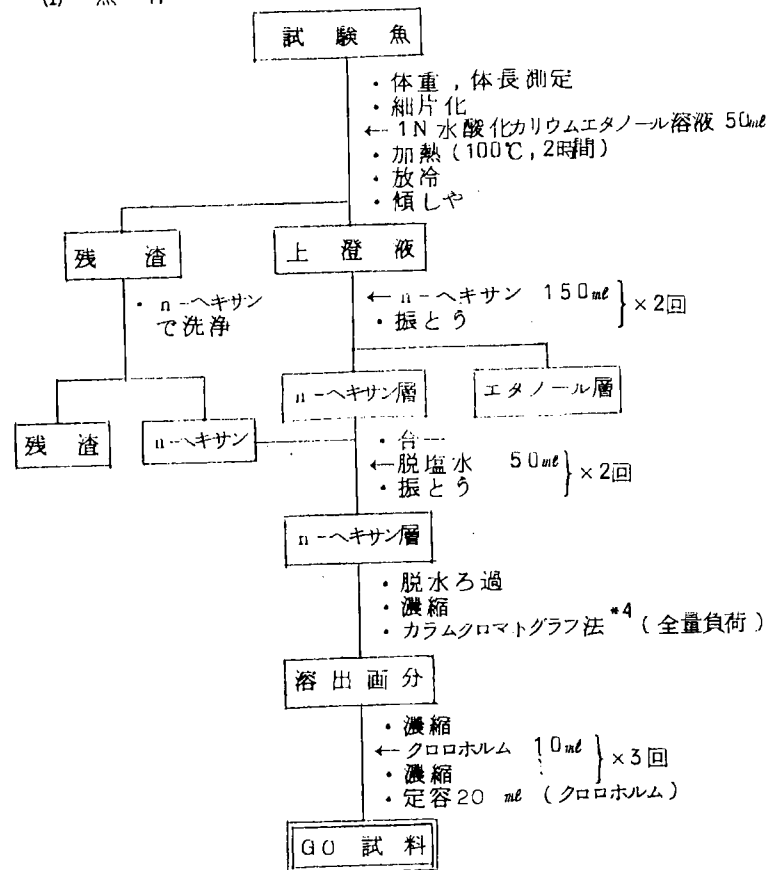
供試物質 100mg を精秤しクロロホルムに溶解後、全量を 100ml に定容して 1000ppm (w/v) の標準液を調製した。これをクロロホルムで希釈して所定濃度の標準溶液を調製した。

##### ・ 水 分 析

供試物質 100mg を精秤し n-ヘキサンに溶解後、全量を 100ml に定容して 1000ppm (w/v) の標準液を調製した。これを n-ヘキサンで希釈して所定濃度の標準溶液を調製した。

(c) 分析試料の前処理

(1) 魚 体



上記操作による回収率 (供試物質 120 μg 添加) 89.8 %

\* 4 カラムクロマトグラフの条件

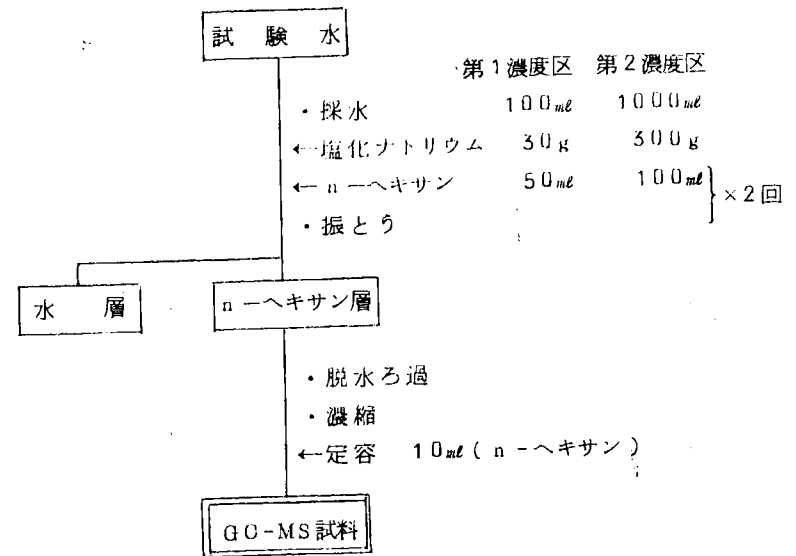
クロマト管 20 mm φ，ガラス製

充てん剤 3%含水塩基性アルミナ 10 g (GmbH&C製)  
(n-ヘキサンで充てん)

分画法：第1画分 n-ヘキサン 50 ml

供試物質は第1画分に溶出する

(2) 試験水



上記操作による回収率 (供試物質 3 μg 添加) 第1区 89.0 %  
第2区 85.9 %

#### 4. 試験結果

##### 4.1 供試魚の状態

外観観察結果 正常

##### 4.2 濃縮度試験の結果

表-2 供試物質の濃縮倍率

	1 W	2 W	4 W	6 W	8 W	10 W
第1濃度区	1550 1100	1950 1780	2460 5880	4150 11100	4150 2890	3010 1360
第2濃度区	2200 1800	2840 2390	4490 4050	3470 3830	4820 3170	3920 14400

なお試験結果の表示について濃縮倍率と定量精度の関係は次の通りである。

	魚体中濃度(ppm)	濃 縮 倍 率	計算方法(ppm)
精度よく定量できる範囲	3.3 以上	第1区 110以上 第2区 1300以上	$\frac{A}{\frac{C}{100} \times \frac{D}{E \times F}}$
参考値の範囲	0.15 ~ 3.3	第1区 4.9 ~ 110 第2区 58 ~ 1300	
検出限界の範囲	0.15 以下	第1区 4.9 以下 第2区 58 以下	$\frac{B}{\frac{C}{100} \times \frac{D}{E \times F}}$

A・精度よく定量できる濃度 = 4.5 ppm (図-4 参照)

B・検出限界の濃度 : 0.2 ppm (図-4 参照)

C・回収率 : 89.8 % E・最終液量: 20 ml

D・魚体重 : 30 g F・分取比 1

以 上

## 試験結果についての考察

### 〔問題点〕

本物質は3回の試験を行い、すべて異なった試験結果が得られている。これらの濃縮倍率のうち真の値はどれかが問題である。3回の試験条件の違いとしては以下のものである。

#### 1. 1回目と2回目

i) 装置として揮散性アクアトロンか通常のアクアトロンか？

ii) *lip. cont.* の違い

iii) 設定濃度の違い

#### 2. 2回目と3回目

分散方法（助剤の量）

その他のこととして魚の季節変動等が考えられる。

これらの各項については以下のように考えられる。

##### (1) 1回目と2回目試験について

i) について

装置の違いについては水槽濃度を実測しているので問題ないと思われる。さらに1, 2回の水槽濃度の低下はほぼ同一である。

ii), iii) について

1回目と2回目のBCFが有意な差があるかどうかは以下のようにして評価できる。

1回目と2回目の平衡時におけるBCFをグラフから読み取ると次のようになる。

1回目 *lip. cont.* 3.3%

第1区(300ppb) 1200倍

第2区(30ppb) 5000 ~ 6000倍

2回目 *lip. cont.* 5.4%

第1区(30ppb) 15000倍

第2区(3ppb) 14000倍

ところでBCFと*lip. cont.*の関係を56年度委託試験結果から見ると以下のようになる。

	BCF		BCF比
	<i>lip. cont.</i> 3.3%	5.4%	
ベンジルエーテル	204	347	= 1.7
ジフェニルメタン	670	1218	= 1.8
2,4,6-トリクロロフェニル -(4'-ニトロフェニル)-エーテル	2496	4617	= 1.8
ポリクロロナフタレン	2986	4993	= 1.7

この値を用いて1回目の第2区(30ppb)のBCFを*lip. cont.* 5.4%に補正すると

$$(5000 \sim 6000) \times 1.8 = 9000 \sim 10800 \text{ 倍}$$

となる。この値を2回目の第1区(30ppb)BCF 15000と比較するとBCFのばらつき、水槽濃度のばらつき等を考慮すれば同一であると考えられる。

結論としては1回目と2回目のBCFはlip. cont.及び実験上のばらつきを考慮すれば同一であると考えられる。従ってBCFとしてはlip. cont. 5.4%の魚を用いると30ppb, 3ppbで濃度依存はなく14000~15000倍と考えられる。(300ppbは濃度依存性あり)

## (2) 分散方法について(特に助剤の使用量)

「分散剤使用による濃縮性への影響」については、当協会で実施した試験の結果をもとに統計的解析を行った結果、分散剤の種類、濃度は濃縮性に影響を与えないという結果が得られている。

(53年6月試験法分科会提出資料)

しかし本供試物について行った2回目と3回目の試験の結果を比較すると濃縮倍率は2回目が平均10000倍以上、3回目は平均4000倍と異なっている。この両方の試験条件の相違は分散剤の量のみであり、分散剤の使用量の違いが結果に影響を与えたことが考えられる。

そこで分散剤の量比を変えて次のような参考試験を行った。

## 参考試験

### 1. 試験方法及び試験条件

- 1) 試験期間 1週間  
試験濃度 100ppb

3) 分散剤 HCO 20+40(1:1) 20倍, 50倍, 100倍, 200倍

(試料に対して)

4) その他試験条件、水分析、魚体分析法は本試験と同様な方法で行った。

### TLm試験

48時間TLm値 100ppm以上(分散剤100倍量使用)

## 2. 試験結果

1) 濃縮倍率を求めるための平均水槽濃度(ppm w/v)

参考表-1

分散剤量	20倍	50倍	100倍	200倍
	0.0788	0.0792	0.0966	0.104

2) 濃縮倍率

参考表-2

分散剤量	20倍	50倍	100倍	200倍
濃縮倍率	1490	1430	994	718
	2390	817	341	417
	1200	942	1020	358

## 3. 考察

補足実験の結果図-1, 表-2のように分散剤の量によって濃縮倍率に依存性があることが明らかとなった。すなわち分散剤の増加とともに濃縮倍率の低下傾向があった。

2回目と3回目の試験結果の相異の主たる原因は分散方法（分散剤の量）によることが今回の補足実験の結果から明白となった。またT L m値についても2回目試験（20倍量使用）の48時間T L m値48.5ppm, 3回目試験（200倍使用）、今回新たに測定した100倍量使用の48時間T L m値は100ppm以上の結果となった。このことは分散方法（分散剤量）によって魚体中への取り込みがおさえられたと考えられる。

2回目と3回日本試験の試験結果の妥当性については、補足実験で明らかなように分散方法（分散剤量）が大きくなると濃縮倍率が低下する。したがって分散可能なできるだけ少ない量で使用した2回目の試験が水槽濃度の低下はみられるが妥当な試験結果と考えられる。

以 上



参考データ

魚体部位別試験

10週間めの試験魚を2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。

部 位 別 試 験 結 果

		供試物質濃度(ppm)	供試物質重量比(%)	部位別重量比(%)
第1濃度区	可食部	46.4 (46.6) 46.7	28.1 (30.1) 32.1	52.1 (52.7) 53.3
	頭 部	174 (165) 156	56.8 (53.9) 51.0	28.1 (26.8) 25.4
	外 皮	52.5 (47.1) 41.6	8.92 (9.16) 9.39	14.6 (16.1) 17.5
	内 臓	103 (122) 141	6.00 (6.59) 7.18	5.02 (4.49) 3.95
第2濃度区	可食部	15.6 (12.6) 9.68	37.9 (33.9) 29.8	53.8 (53.6) 53.4
	頭 部	40.5 (38.6) 36.6	40.6 (44.9) 49.1	22.2 (22.8) 23.4
	外 皮	19.6 (17.1) 14.6	14.3 (14.5) 14.6	16.2 (16.8) 17.4
	内 臓	20.5 (19.8) 19.1	7.17 (6.87) 6.57	7.75 (6.86) 5.97

( )内の数字は平均値を表わす。

排泄性試験

10週間の試験終了後、正常水（供試物質及び分散剤を含まない水）による排泄性試験を行なった。（試験水槽100ℓ、流量800 ml/min）

8週間めの試験魚中の供試物質濃度の平均（2尾）を100として、1,3,7,14日目の試験魚中の供試物質の残留率を示した。

残 留 率 ( % )

	1 日 目	3 日 目	7 日 目	14 日 目
第1濃度区	148 (188) 228	60.5 (68.7) 76.8	48.3 (58.9) 69.4	13.8 (8.59) 3.38
第2濃度区	151 (149) 147	45.7 (58.1) 70.5	8.93 (6.41) 3.89	15.6 (8.78) 1.95