

最 終 報 告 書

ヘキサブロモシクロドデカン [1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブロモシクロドデカン
(被験物質番号 K-1035) にて試験実施] のコイにおける濃縮度試験

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター 化学品安全研究所

陳 述 書

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター久留米研究所

試験委託者 通商産業省

試験の表題 ヘキサブロモシクロドデカン〔1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブロモシクロドデカン（被験物質番号 K-1035）にて試験実施〕のコイにおける濃縮度試験

試験番号 51035Ⅱ

上記試験は、「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」（環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和59年3月31日、昭和63年11月18日改正）に定める「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」（May 12, 1981）に従って実施したものです。

平成 7 年 12 月 4 日

運営管理者



信頼性保証書

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター久留米研究所

試験委託者 通商産業省

試験の表題 ヘキサブロモシクロデカン [1, 2, 5, 6, 9, 10-
ヘキサブロモシクロデカン (被験物質番号 K-1035)
にて試験実施] のコイにおける濃縮度試験

試験番号 51035Ⅱ

上記試験は財団法人化学品検査協会化学品安全センター久留米研究所の
信頼性保証部門が監査及び査察を実施しており、監査又は査察を行った日付
並びに運営管理者及び試験責任者に報告を行った日付は以下の通りです。

監査又は査察日	報告日 (運営管理者)	報告日 (試験責任者)
平成 4 年 11 月 2 日	平成 4 年 11 月 2 日	平成 4 年 11 月 2 日
平成 4 年 11 月 17 日	平成 4 年 11 月 24 日	平成 7 年 11 月 24 日
平成 4 年 11 月 18 日	平成 4 年 11 月 24 日	平成 7 年 11 月 24 日
平成 4 年 12 月 14 日	平成 4 年 12 月 17 日	平成 4 年 12 月 17 日
平成 4 年 12 月 15 日	平成 4 年 12 月 17 日	平成 4 年 12 月 17 日
平成 7 年 11 月 17 日	平成 7 年 11 月 17 日	平成 7 年 11 月 17 日
平成 7 年 12 月 4 日	平成 7 年 12 月 4 日	平成 7 年 12 月 4 日

本最終報告書は、試験の方法が正確に記載されており、内容が試験計画及び
標準操作手順に従い、かつ、生データを正確に反映していることを保証します。

平成 7 年 12 月 4 日
信頼性保証部門責任者



目 次

	頁
要 約	1
1. 表 題	2
2. 試験委託者	2
3. 試験施設	2
4. 試験目的	2
5. 試験方法	2
6. 優良試験所基準への適合	2
7. 試験期間	3
8. 試験関係者	3
9. 最終報告書作成日	3
10. 最終報告書の承認	3
11. 被 験 物 質	4
12. 急性毒性試験	6
13. 濃縮度試験の実施	8
14. 試験結果	19
15. 参 考 試 験	21
16. 考 察	25
17. 数値の取扱い	25
18. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	25
19. 試資料の保管	25
20. 備 考	26
21. 表及び図の内容	27

付表及び付図

要 約

1. 試験の表題

ヘキサブロモシクロデカン [1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブロモシクロデカン (被験物質番号 K-1035) にて試験実施] のコイにおける濃縮度試験

2. 試験条件

2.1 急性毒性試験

- | | |
|-----------|-------------------|
| (1) 供 試 魚 | ヒメダカ |
| (2) ばく露期間 | 48時間 |
| (3) ばく露方法 | 半止水式 (8～16時間毎に換水) |

2.2 濃縮度試験

- | | |
|-------------|--|
| (1) 供 試 魚 | コイ |
| (2) 試 験 濃 度 | 第1濃度区 成分B 24 $\mu\text{g/L}$
成分C 20.2 $\mu\text{g/L}$
成分E 144 $\mu\text{g/L}$
第2濃度区 成分B 2.4 $\mu\text{g/L}$
成分C 2.02 $\mu\text{g/L}$
成分E 14.4 $\mu\text{g/L}$ |
| (3) ばく露期間 | 14週間 |
| (4) ばく露方法 | 連続流水式 |
| (5) 分 析 方 法 | 高速液体クロマトグラフー質量分析法 |

3. 試験結果


- | | |
|---------------|--|
| (1) 48時間LC50値 | 入手試料濃度250mg/L以上 |
| (2) 濃 縮 倍 率 | 第1濃度区 成分B 834～3070倍
成分C 816～1780倍
成分E 118～418倍
第2濃度区 成分B 3390～16100倍
成分C 3350～8950倍
成分E 479～2030倍 |

4. 被験物質の安定性

被験物質は保管条件下及び試験条件下で安定であることを確認した。

最 終 報 告 書

試験番号 51035Ⅱ

1. 表 題 ヘキサブロモシクロドデカン〔1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブロモシクロドデカン（被験物質番号 K-1035）にて試験実施〕のコイにおける濃縮度試験
2. 試験委託者 名 称 通商産業省
- 住 所 （〒100）東京都千代田区霞が関一丁目3番1号
3. 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久留米研究所
- 住 所 （〒830）福岡県久留米市中央町19-14
 TEL （0942）34-1500
- 運営管理者 
4. 試験目的 K-1035のコイにおける濃縮性の程度について知見を得る。
5. 試験方法 「新規化学物質に係る試験の方法について」（環保業第5号、薬発第615号、49基局第392号、昭和49年 7月13日）に規定する〈魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験〉及び「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」（May 12, 1981）に定める"Bioaccumulation : 305C, Degree of Bioconcentration in Fish"に準拠した。
6. 優良試験所 「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査
 基準への適合 の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」（環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和59年 3月31日、昭和63年11月18日改正）に定める「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」（以下「GLP基準」という。）及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」（May 12, 1981）に適合して行った。

7. 試験期間

(1) 試験開始日 平成 4 年 1 1 月 2 日

(2) ばく露開始日 平成 4 年 1 1 月 2 日

(3) ばく露終了日 平成 5 年 2 月 8 日

(4) 試験終了日 平成 7 年 1 1 月 2 0 日

8. 試験関係者

試験責任者

試験担当者

飼育管理責任者

急性毒性試験担当者

試験資料管理部門責任者

9. 最終報告書作成日

平成 7 年 1 1 月 2 0 日

作成者

10. 最終報告書の承認

平成 7 年 // 月 20 日

試験責任者

氏 名

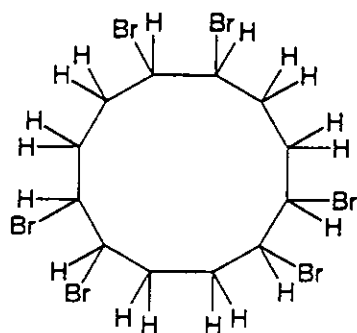
11. 被 験 物 質

本報告書においてK-1035は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

11.1 名 称 1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブロモシクロドデカン

11.2 構造式等

構造式



分子式 $C_{12}H_{18}Br_6$

分子量 641.70

11.3 純 度 94.3%

入手試料は混合物であり、高速液体クロマトグラフィーにより5本のピークに分離され、溶出順に成分A～Eとした。また、各成分のモル吸光係数が等しいと仮定して、各成分の組成比を全ピーク面積に対する各成分のピーク面積比より計算して求めると以下ようになった。なお、成分B、C及びEが被験物質と同じ分子式であることを質量分析法により確認した。本試験では、B、C及びE成分について定量を行った。

成 分	組 成 比 (%)	分 子 式
A	4.2	不 明
B	12.0	$C_{12}H_{18}Br_6$
C	10.1	$C_{12}H_{18}Br_6$
D	1.5	不 明
E	72.2	$C_{12}H_{18}Br_6$

11.4 入手試料の入手先、商品名、等級及びロット番号^{*1}

- (1) 入 手 先 XXXXXXXXXX
- (2) 商 品 名 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
- (3) 等 級 XXXXXX
- (4) ロット番号 AN01

*1 入手先添付資料による。

11.5 被験物質の確認

赤外吸収スペクトル（図－14参照）、質量スペクトル（図－15参照）及び核磁気共鳴スペクトル（図－16参照）により構造を確認した。

11.6 保管条件及び保管条件下での安定性

- (1) 保 管 条 件 冷暗所
- (2) 安定性確認 ばく露開始前及び終了後に被験物質の赤外吸収スペクトルを測定した結果、両スペクトルは一致し、保管条件下で安定であることを確認した（図－14参照）。

11.7 試験条件下での安定性

ばく露開始前に予備検討を行い、試験条件下で安定であることを確認した。

12. 急性毒性試験

本試験に用いた入手試料は、試験番号51035の試験に用いたものと同じであるため、試験番号51035にて行った結果を採用した。

12.1 試験方法

「工場排水試験方法，魚類による急性毒性試験」（JIS K 0102-1986 の 71.）の方法に準じて行った。

12.2 供試魚

- | | | |
|------------|---|--|
| (1) 魚 | 種 | ヒメダカ <u>Oryzias latipes</u> |
| (2) 供 | 給 | 源 |
| | | 中島養魚場
(住所 〒 869-01 熊本県玉名郡長洲町大明神) |
| (3) 蓄 | 養 | 条 |
| | 期 | 間 |
| | 等 | 魚の入手時に目視観察をして異状のあるものを除去し、蓄養槽で薬浴後、流水状態で7日間飼育した。 |
| | 薬 | 浴 |
| | | 20mg/Lエルバージュ（上野製薬製）溶液及び7g/L塩化ナトリウム溶液を用いて止水状態で24時間薬浴を行った。 |
| (4) じゅん化条件 | | じゅん化槽でじゅん化し、その間異状のあるものは除去し、最終的には $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の水温の流水状態で34日間飼育した。 |
| (5) 体 | 重 | 平均 0.21 g |
| (6) 全 | 長 | 平均 3.0 cm |
| (7) 検 | 定 | 田端健二 ^{*2} の方法に準じ、塩化第二水銀検定合格魚と同一ロット（TFO-900523）のものを試験に供した。 |

*2 用水と廃水, 14, 1297-1303 (1972)

12.3 試験用水

(1) 種類

久留米研究所敷地内で揚水した地下水

(2) 水質確認

当研究所にて水温、pH及び溶存酸素は連続測定を行った。また、全硬度、蒸発残留物、化学的酸素要求量、遊離塩素及びアンモニア態窒素並びに有機リン、シアニオン、重金属等の有害物質は6ヶ月に1回定期的に分析した。試験用水を試験に供する場合、分析した項目が全硬度、蒸発残留物については「水道法に基づく水質基準」（平成53年 8月31日 厚生省令第56号）、その他のものについては「水産用水基準」（社団法人 日本水産資源保護協会 昭和58年3月）に記載されている濃度以下であることを確認した（参考資料1参照）。

12.4 試験条件

(1) 試験水槽	円形ガラス製水槽	
(2) 試験液量	4 L / 濃度区	
(3) 試験水温	25 ± 2 °C	
(4) 溶存酸素濃度	ばく露開始時	7.5 mg/L
	ばく露終了時	6.4 mg/L
(5) pH	ばく露開始時	7.4
	ばく露終了時	7.2
(6) 供試魚数	10尾 / 濃度区	
(7) ばく露期間	48時間	
(8) ばく露方法	半止水式（8～16時間毎に換水）	

12.5 原液調製法

(1) 分散剤

氷砂糖

HCO-40

(2) 調製方法

入手試料とその20倍量の氷砂糖及び30倍量のHCO-40をらいかいし、イオン交換水に溶解して、入手試料濃度500mg/Lの原液を調製した。

12.6 試験の実施

(1) 実施場所	LC50測定室
(2) 試験実施日	平成 2年 7月 2日 ～ 平成 2年 7月 4日

12.7 48時間LC50値の算出

Doudoroff法で行った。

12.8 試験結果

48時間LC50値 入手試料濃度250mg/L以上 (図-3参照)

13. 濃縮度試験の実施

13.1 供試魚

- | | | |
|---------------------------------|--------|---|
| (1) 魚 | 種 | コイ <u>Cyprinus carpio</u> |
| (2) 供 | 給 | 源 |
| | | 杉島養魚場 |
| | | (住所 〒 866 熊本県八代市郡築一番町 123-2) |
| | | 供試魚受入日 平成 4 年 9 月 8 日 |
| (3) 蓄 | 養 | 条 |
| | 期 | 間 |
| | 等 | 魚の入手時に目視観察をして異状のあるものを除去し、
受入槽で薬浴後、流水状態で1日間飼育した。 |
| | 薬 | 浴 |
| | | 50mg/L水産用テラマイシン散(台糖ファイザー製)
溶液及び7g/L塩化ナトリウム溶液を用いて止水状態で
24時間薬浴を行った。 |
| (4) じゅん化条件 | | じゅん化槽でじゅん化し、その間異状のあるものは除去
し、最終的に25±2℃の水温の流水状態で25日間
飼育した。さらに試験水槽へ移し、同温度の流水状態で
23日間飼育した。 |
| | | じゅん化終了日 平成 4 年 10 月 9 日 |
| (5) ばく露開始前の体重、体長等 ^{*3} | | |
| | 体 | 重 |
| | 平均 | 22.0g |
| | 体 | 長 |
| | 平均 | 9.3cm |
| | 脂質含有率 | 平均 3.9% |
| | *3 ロット | TFC-920908 の測定値 |
| (6) 餌 | 料 | |
| | 種 | 類 |
| | | コイ用ペレット状配合飼料 |
| | 製 | 造 |
| | 元 | 日本配合飼料株式会社 |
| | 給 | 餌 |
| | 方 | 法 |
| | | 供試魚体重の約2%相当量を1日2回に分けて給餌した。
ただし、供試魚の採取前日は給餌を止めた。 |

13.2 試験用水

12.3に同じ。

13.3 試験及び環境条件

- | | |
|-------------|--|
| (1) 試験水供給方法 | 当研究所組立流水式装置を用いた。 |
| (2) 試験水槽 | 100L容ガラス製水槽 |
| (3) 試験水量 | 原液4mL/分及び試験用水800mL/分の割合で
1158L/日を試験水槽に供した。 |
| (4) 試験温度 | 25±2℃ |
| (5) 溶存酸素濃度 | 第1濃度区 6.1～7.6mg/L (図-11参照)
第2濃度区 6.3～7.7mg/L (図-12参照)
対照区 7.0～7.8mg/L (図-13参照) |
| (6) 供試魚数 | 第1及び第2濃度区 20尾 (ばく露開始時)
対照区 5尾 (ばく露開始時) |
| (7) ばく露期間 | 14週間 |
| (8) 実施場所 | 213アクアトロン室 |

13.4 原液調製法

(1) 分散剤

12.5の(1)に同じ。

(2) 調製方法

・第1濃度区

入手試料1g、氷砂糖20g及びHCO-4030gをらいかいし、イオン交換水に溶解後、25L容ガラス製原液タンクに入れ、イオン交換水で25Lに定容し、試験水槽に供給した。

・第2濃度区

入手試料0.1g、氷砂糖2g及びHCO-4030gをらいかいし、イオン交換水に溶解後、25L容ガラス製原液タンクに入れ、イオン交換水で25Lに定容し、試験水槽に供給した。

・対照区

氷砂糖20g及びHCO-4030gをイオン交換水に溶解後、25L容ガラス製原液タンクに入れ、イオン交換水で25Lに定容し、試験水槽に供給した。

13.5 試験濃度

48時間LC50値及び各成分の分析感度を考慮して、以下のように設定した。
同時に、空試験として対照区を設定した。

単位： $\mu\text{g/L}$

	入手試料	成 分				
		A	B	C	D	E
第1濃度区	200	8.4	24	20.2	3	144
第2濃度区	20	0.84	2.4	2.02	0.3	14.4

13.6 試験水及び供試魚中の被験物質分析

試験水及び供試魚分析は、分析感度を考慮して、成分B、C及びEを分析対象とした。

13.6.1 分析回数

試験水中の被験物質分析は第1、第2濃度区ともばく露期間中、毎週2回計28回行い、1回当たりの分析試料は1点とした。また、供試魚中の被験物質分析は第1、第2濃度区ともばく露開始後、2、4、6、8、10、12及び14週の計7回行い、1回当たりの分析試料は2尾とした。対照区はばく露開始前及びばく露終了時に行い、1回当たりの分析試料は2尾とした。

13.6.2 分析試料の前処理

(1) 試験水

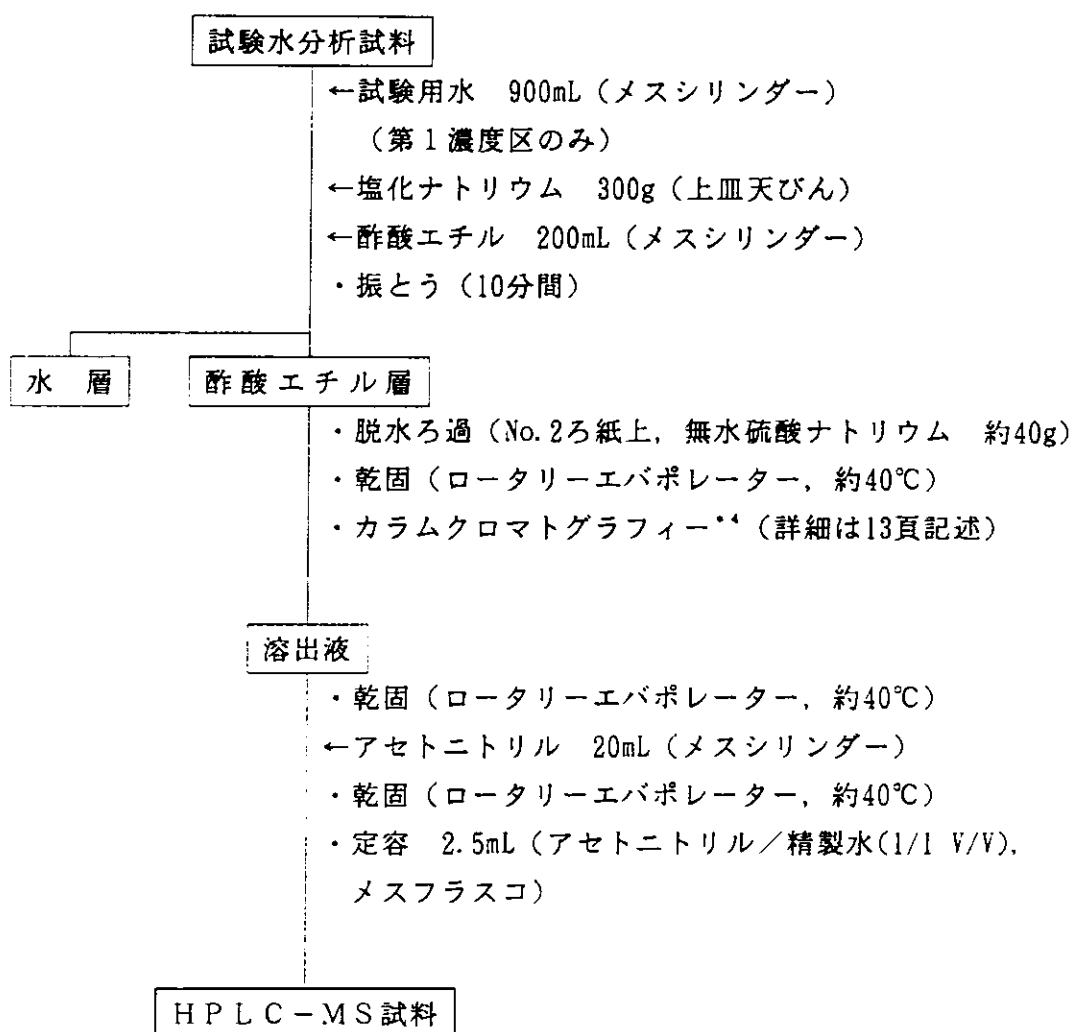
試験水槽から

第1濃度区 100mL

第2濃度区 1000mL

を採取し、以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、高速液体クロマトグラフィー質量分析法（HPLC-MS）試料とした。

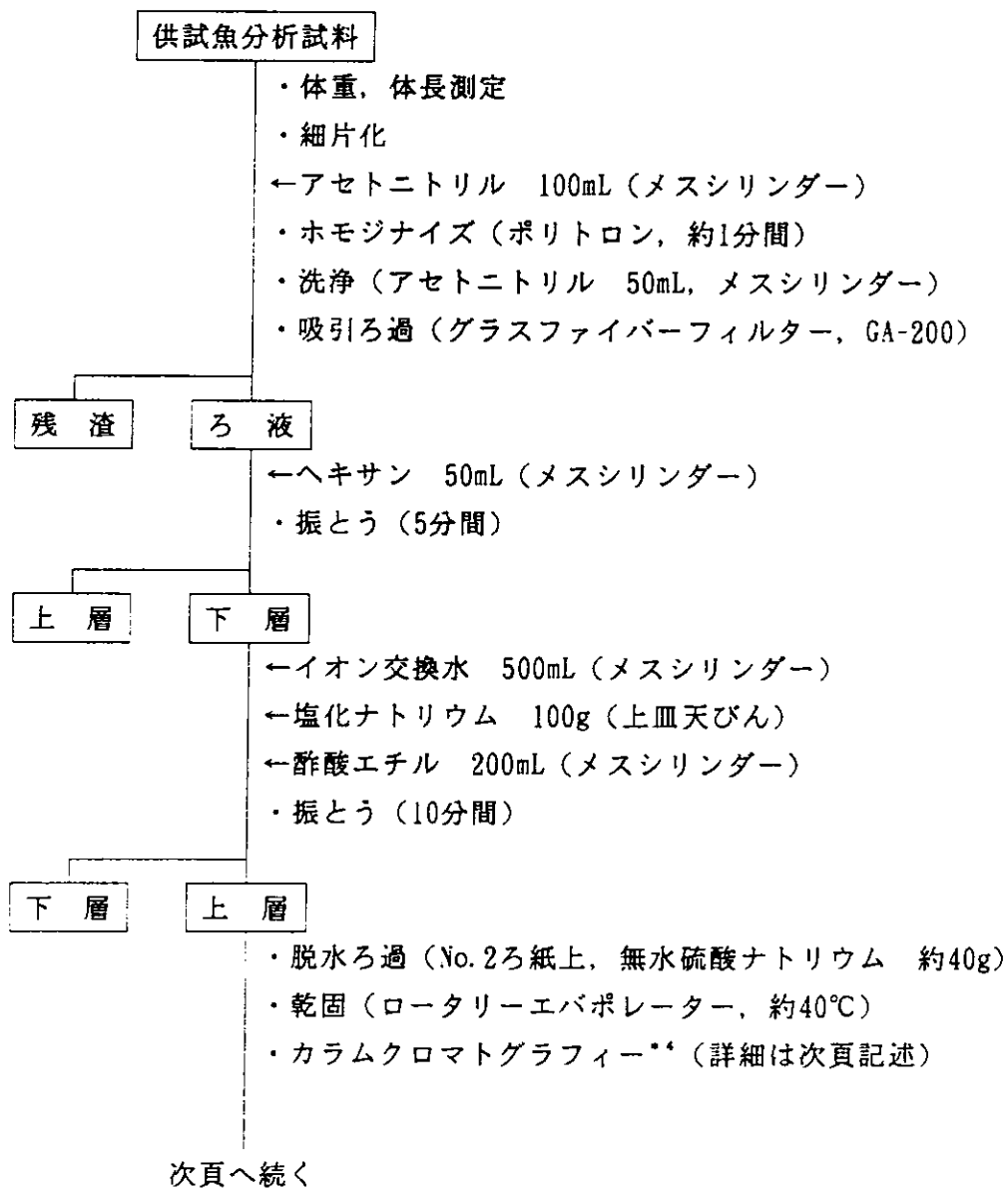
フロースキーム



(2) 供 試 魚

試験水槽から供試魚を採取し、以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、HPLC-MS試料とした。

フロースキーム



前頁より続く

溶出液

- ・定容 100mL (ヘキサン/クロロホルム(1/1 V/V),
メスフラスコ)
- ・分取 30mL (ホールピペット)
- ・乾固 (ロータリーエバポレーター, 約40℃)
- ←アセトニトリル 20mL (メスシリンダー)
- ・乾固 (ロータリーエバポレーター, 約40℃)
- ←アセトニトリル/精製水(1/1 V/V) 約25mL
(駒込ピペット)
- ・ろ過 (メンブランフィルター, 0.45 μ m)
- ・定容 25mL (アセトニトリル/精製水(1/1 V/V),
メスフラスコ)

HPLC-MS 試料

*4 カラムクロマトグラフの条件

クロマト管 20mm ϕ ガラス製

充てん剤 5%含水塩基性アルミナ 5g
(ヘキサンで充てん)

負荷法 ヘキサン約10mLに溶解して負荷した。

溶出法 第1溶出液 ヘキサン 30mL (負荷分を含む)

第2溶出液 ヘキサン/クロロホルム(1/1 V/V) 60mL

成分B、C及びEは第2溶出液で溶出した。

13.6.3 被験物質の定量分析

13.6.2の前処理を行って得られたHPLC-MS試料は、下記の定量条件に基づき高速液体クロマトグラフ-質量分析法により被験物質の定量を行った。供試魚分析の定量はHPLC-MS試料を適宜希釈し、直線性の確認された濃度範囲になるように被験物質濃度を調整した。最終定容液中の被験物質濃度は、マスフラグメントグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた（表-4、5、図-6、表-8、9、10、図-8、9、10参照）。

(1) 定量条件

〈高速液体クロマトグラフ条件〉

機	器	高速液体クロマトグラフ
<u>分離条件</u>		
カ	ラ	ム
		L-column ODS
		15cm×4.6mmφ ステンレス製
溶	離	液
		アセトニトリル/精製水(85/15 V/V)
流		量
		1.0mL/min
注	入	量
		100μL
<u>マトリックス添加条件</u>		
マトリックス溶液		0.5または1%グリセリン/アセトニトリル溶液
流		量
		0.5mL/min

〈質量分析計条件〉

機	器	ガスクロマトグラフ-質量分析計
<u>スプリット条件</u>		
ス	プ	リット法
		空圧スプリッター
ス	プ	リット圧力
		1.3Kg/cm ²
<u>質量分析計条件</u>		
検	出	イオン
		負イオン
測	定	m/z
		721.6
イ	オン	化法
		フリット-FAB法
イ	オン	化ガス
		キセノン

(2) 標準溶液の調製

分析試料中の各成分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。

入手試料 100 mg を正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して入手試料濃度 1000 $\mu\text{g/mL}$ の溶液を調製した。これをアセトニトリル/精製水(1/1 V/V)で希釈して入手試料濃度 8 $\mu\text{g/mL}$ の標準溶液とした。なお、各成分濃度は以下に示すとおりである。

単位: $\mu\text{g/mL}$

成 分		
B	C	E
0.96	0.808	5.78

(3) 検量線の作成

(2)の標準溶液の調製と同様にして入手試料濃度 4、8 及び 16 $\mu\text{g/mL}$ の標準溶液を調製した。これらを(1)の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのマスフラグメントグラム上の各成分のピーク面積と濃度により検量線を作成した。なお、各成分濃度は以下に示すとおりである。

単位: $\mu\text{g/mL}$

入手試料	成 分		
	B	C	E
4	0.48	0.404	2.89
8	0.96	0.808	5.78
16	1.92	1.62	11.6

また、検量線より被験物質ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して以下に示すとおりとした(図-4 参照)。

- ・回収試験及びブランク試験、試験水分析(4～9日目)、
供試魚分析(ばく露開始前対照区)

成分 B 6 (被験物質濃度 0.037 $\mu\text{g/mL}$)

成分 C 7 (被験物質濃度 0.024 $\mu\text{g/mL}$)

成分 E 30 (被験物質濃度 0.15 $\mu\text{g/mL}$)

- ・試験水分析(12～96日目)、

供試魚分析(2～14週及びばく露終了時対照区)

成分 B 6 (被験物質濃度 0.047 $\mu\text{g/mL}$)

成分 C 7 (被験物質濃度 0.027 $\mu\text{g/mL}$)

成分 E 30 (被験物質濃度 0.17 $\mu\text{g/mL}$)

13.6.4 回収試験及びブランク試験

(1) 方 法

13.6.2の試験水及び供試魚分析操作における被験物質の回収率を求めるため、回収試験用試験水及び魚体ホモジネートに被験物質原液を添加し、回収試験を行った。また、被験物質を加えない回収試験用試験水及び魚体ホモジネートについて、回収試験と同じ操作によりブランク試験を行った。回収試験及びブランク試験は、2点について測定した。この結果、ブランク試験においてマスフラグメントグラム上、被験物質ピーク位置にはピークは認められなかった。分析操作における各2点の回収率及び平均回収率は下記に示すとおりであり、平均回収率を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（表－3，7、図－5，7参照）。

(2) 結 果

分析操作における回収率

試験水分析

成分B	79.6%，75.2%	平均77.4%
成分C	82.7%，70.8%	平均76.8%
成分E	98.5%，92.2%	平均95.4%

供試魚分析

成分B	94.8%，95.6%	平均95.2%
成分C	89.1%，99.6%	平均94.4%
成分E	103.0%，89.9%	平均96.4%

回収試験添加量

単位：μg

	入手試料	成 分		
		B	C	E
試験水	20	2.4	2.02	14.4
供試魚	600	72	60.6	433

13.6.5 分析試料中の被験物質濃度の算出及び定量下限

(1) 試験水分析試料中の被験物質濃度の算出

表－6の計算式に従って計算し、計算結果は有効数字3ケタに丸めて表示した。

(2) 試験水中の被験物質の定量下限濃度

13.6.3(3)の検量線作成で求めた被験物質の定量下限より、試験水中の被験物質の定量下限濃度^{*5}はそれぞれ、

・試験水分析（4～9日目）

第1濃度区	成分B	0. 0 0 1 2	μg/mL
	成分C	0. 0 0 0 7 9	μg/mL
	成分E	0. 0 0 3 9	μg/mL
第2濃度区	成分B	0. 0 0 0 1 2	μg/mL
	成分C	0. 0 0 0 0 7 9	μg/mL
	成分E	0. 0 0 0 3 9	μg/mL

・試験水分析（12～96日目）

第1濃度区	成分B	0. 0 0 1 5	μg/mL
	成分C	0. 0 0 0 8 8	μg/mL
	成分E	0. 0 0 4 5	μg/mL
第2濃度区	成分B	0. 0 0 0 1 5	μg/mL
	成分C	0. 0 0 0 0 8 8	μg/mL
	成分E	0. 0 0 0 4 5	μg/mL

と算出される。

(3) 供試魚分析試料中の被験物質濃度の算出

表－11の計算式に従って計算し、計算結果は有効数字3ケタに丸めて表示した。

(4) 供試魚中の被験物質の定量下限濃度

13.6.3(3)の検量線作成で求めた被験物質の定量下限より、供試魚中の被験物質の定量下限濃度*5は供試魚体重を30gとしたとき、成分B 0.14 µg/g、成分C 0.079 µg/g、成分E 0.49 µg/gと算出される。

$$\text{*5 被験物質定量下限濃度 (}\mu\text{g/mL又は}\mu\text{g/g)} = \frac{A}{\frac{B}{100} \times \frac{C \times E}{D}}$$

- A : 検量線上定量下限濃度 (µg/mL)
B : 回収率 (%)
C : 試験水採取量 (mL) 又は供試魚体重 (g)
D : 最終液量 (mL)
E : 分取比

計算結果は有効数字2ケタに丸めた。

13.7 濃縮倍率 (BCF) の算出

表-11の計算式に従って計算し、計算結果は有効数字3ケタに丸めて表示した。

なお、13.6.5(4)で求めた供試魚中の被験物質定量下限濃度より、下記の倍率を越えて濃縮されたとき濃縮倍率の算出が可能となる。

第1濃度区	成分B	6.1倍
	成分C	4.1倍
	成分E	3.5倍
第2濃度区	成分B	7.1倍
	成分C	4.9倍
	成分E	3.6倍

13.8 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401-1961に従った。

14. 試験結果

14.1 試験水中の被験物質濃度

試験水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（ばく露開始時からの測定値の平均値）

（単位 $\mu\text{g/L}$ ）

	粉	2 週	4 週	6 週	8 週	10 週	12 週	14 週	付表	付図
第1濃度区	B	22.4	21.8	21.8	22.2	22.4	22.4	22.9	表 - 4	図 - 6
	C	19.0	19.2	19.4	19.5	19.4	19.1	19.5		
	E	140	138	141	142	141	138	139		
第2濃度区	B	1.96	1.79	1.72	1.79	1.86	1.91	1.98	表 - 5	
	C	1.55	1.46	1.41	1.48	1.53	1.54	1.61		
	E	14.1	13.6	13.3	13.5	13.4	13.3	13.5		

14.2 濃縮倍率

濃縮倍率を表－２に示す。

表－２ 濃 縮 倍 率

	成分	2 週	4 週	6 週	8 週	10 週	12 週	14 週	付表	付図
第 1 濃度区	B	834	1550	1650	2650	1640	3070	2040	表－８	図－８
		965	1470	1970	2580	2470	2150	2660		
	C	816	1410	850	1480	837	1460	1200		
		898	972	1250	1780	1670	1290	1440		
	E	123	182	118	260	200	418	202		
		143	138	168	300	307	243	306		
第 2 濃度区	B	3810	3390	11900	11700	12000	9900	16100	表－９	図－９
		3840	6870	11000	6880	12400	12700	15200		
	C	3370	3740	7090	7870	5060	4520	7860		
		3350	5720	7400	8360	6020	6460	8950		
	E	589	479	1120	1290	1510	1370	2030		
		601	955	996	890	1470	1800	1990		

表－２の濃縮倍率とばく露期間との相関を図－１及び図－２に示した。これらの図より、１４週後には十分平衡に達していると考えられる。また、被験物質のコイに対する濃縮性の程度は、濃縮倍率で以下に示すとおりであった。

第 1 濃度区	成分 B	8 3 4 ～ 3 0 7 0 倍
	成分 C	8 1 6 ～ 1 7 8 0 倍
	成分 E	1 1 8 ～ 4 1 8 倍
第 2 濃度区	成分 B	3 3 9 0 ～ 1 6 1 0 0 倍
	成分 C	3 3 5 0 ～ 8 9 5 0 倍
	成分 E	4 7 9 ～ 2 0 3 0 倍

14.3 供試魚の外観観察等

異状は認められなかった。

15. 参考試験

15.1 試験目的

被験物質の供試魚の各部位への濃縮性の程度及び供試魚からの排泄性の程度の知見を得る。

15.2 部位別試験

15.2.1 試験方法

第1、第2濃度区とも、ばく露開始後14週の供試魚を外皮（頭部を除く皮、うろこ、ひれ、消化管、えら）、頭部、内臓（消化管以外の臓器）及び可食部（前記の部分を除いた残部）の部位に大別した。各部位別試料を13.6に従って分析し、各部位への濃縮倍率を算出した。

15.2.2 試験結果

表-11の計算式に従って計算し、計算結果は有効数字は3ケタに丸めて表示した。

試験結果を以下に示す。

	群	部 位	被験物質濃度 ($\mu\text{g/g}$)	濃 縮 倍 率	付 表	付 図
第1濃度区	B	可食部	37.3	1630	表-12	図-17
		頭 部	127	5540		
		外 皮	101	4390		
		内 蔵	135	5900		
	C	可食部	22.6	1160		
		頭 部	66.8	3430		
		外 皮	53.4	2740		
		内 蔵	80.7	4140		
	E	可食部	29.2	210		
		頭 部	91.9	661		
		外 皮	68.3	491		
		内 蔵	102	735		

	部 位	被験物質濃度 ($\mu\text{g/g}$)	濃縮倍率	付 表	付 図
第 2 濃度区	B	可食部	6.85	表-13	図-18
		頭 部	54.4		
		外 皮	30.2		
		内 蔵	16.6		
	C	可食部	3.22		
		頭 部	33.2		
		外 皮	10.4		
		内 蔵	4.90		
	E	可食部	5.18		
		頭 部	43.4		
		外 皮	21.5		
		内 蔵	10.9		

15.3 排泄試験

15.3.1 試験方法

第1、第2濃度区とも、ばく露開始後14週の供試魚を下記条件の被験物質及び分散剤を含まない試験用水を供給する試験水槽に移して行った。供試魚分析は、移した時から14日後、28日後及び56日後の計3回、13.6に従って行った。

〈試験及び環境条件〉

試験水槽	100L容ガラス製水槽
試験水量	試験用水800mL／分の割合で1152L／日を試験水槽に供した。
試験温度	25±2℃

15.3.2 供試魚中の被験物質の残留率

供試魚中の被験物質の残留率は、以下の式により計算し、計算結果は有効数字3ケタに丸めて表示した。

$$PF_n = \frac{\frac{F_n}{W}}{CF_{14}} \times 100$$

PF_n : 排泄開始後n日の供試魚中の被験物質残留率(%)
F_n : 排泄開始後n日の供試魚中の被験物質絶対量(μg)
W : 魚体重(g)
CF₁₄ : ばく露開始後14週の供試魚中の平均被験物質濃度(μg/g)

15.3.3 試験結果

15.3.2で算出した残留率及び供試魚中の被験物質濃度を以下に（表－14、15、図－19、20参照）、残留率と排泄期間の関係を図－21に示した。

	成分	14日後		28日後		56日後	
		被験物質濃度	残留率	被験物質濃度	残留率	被験物質濃度	残留率
		($\mu\text{g/g}$)	(%)	($\mu\text{g/g}$)	(%)	($\mu\text{g/g}$)	(%)
第1濃度区	B	40.2	74.7	42.6	79.2	—	—
				28.2	52.4		
	C	10.2	39.7	6.75	26.3	1.69	6.6
				2.16	8.4	3.10	12.1
	E	33.1	94.0	12.3	34.9	6.38	18.1
				6.11	17.4	7.49	21.3
第2濃度区	B	29.7	95.8	33.1	107	10.4	33.5
				19.6	63.2		
	C	6.65	48.9	6.05	44.5	—	—
				0.767	5.6		
	E	12.7	46.9	12.8	47.2	1.81	6.7
				8.37	30.9		

半減期（ $t_{1/2}$ ）は下記のとおりであった。

第1濃度区	成分B	38.6日
	成分C	16.2日
	成分E	22.6日
第2濃度区	成分B	38.3日
	成分C	10.5日
	成分E	15.2日

16. 考 察

前回の試験（試験番号 5 1 0 3 5）において成分 C は、試験水及び供試魚ブランクとの分離が不十分であり、定量できなかった。今回、高速液体クロマトグラフー質量分析法により、高感度分析を確立し、前回の 1 / 5 設定で試験を実施し、成分 B、C 及び E について濃縮倍率を算出した。その結果、成分 B、C 及び E すべてにおいて濃度依存が認められた。

17. 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401-1961の方法に従った。

18. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

当該要因はなかった。

19. 試資料の保管

19.1 被験物質

保管用被験物質約 5 g を保管用容器に入れ密栓後、安定に保存しうる期間、当研究所試料保管室に保管する。

19.2 生データ、資料等

試験により得られた分析結果、測定結果、観察結果、その他試験ノート等最終報告書の作成に用いた生データ、試験計画書、指示書、資料等は最終報告書と共に、試験委託者から通知を受けるまでの期間、当研究所資料保管室に保管する。

20. 備 考

20.1 試験に使用した主要な装置・機器、試薬等

(1) 試験系（飼育施設）に係わる装置

原液供給用微量定量ポンプ	:	東京理化器械製	型 GMW
溶存酸素測定装置	:	飯島精密工業製	型 552

(2) 分析及び原液調製に使用した装置・機器、試薬

装置・機器

高速液体クロマトグラフ	:	14頁参照
ガスクロマトグラフィー質量分析計	:	14頁参照
ロータリーエバポレーター	:	東京理化器械製 型 N-1
振とう機	:	入江商会製 TS式 大洋科学工業製 型 SR-IIW
ホモジナイザー（ポリトロン）	:	キネマチカ社製

試薬

塩化ナトリウム	:	マナック製	試薬一級
酢酸エチル	:	関東化学製	試薬一級
無水硫酸ナトリウム	:	片山化学工業製	試薬一級
アセトニトリル	:	片山化学工業製	試薬一級
		和光純薬工業製	HPLC用
ヘキサン	:	和光純薬工業製	試薬一級
クロロホルム	:	キシダ化学製	試薬特級
グリセリン	:	ナカライテスク製	試薬特級
氷砂糖	:	三菱商事製	
HCO-40	:	日光ケミカルズ製	
精製水	:	高杉製薬製	日本薬局方
塩基性アルミナ	:	INCバイオメディカル社製	