

受理番号	S01-3781
試験番号	43781

最 終 報 告 書

4-エチルビフェニルのコイにおける濃縮度試験

2002年 6月10日

財団法人
化学物質評価研究機構
久留米事業所

陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 経済産業省

試験の表題 4-エチルビフェニルのコイにおける濃縮度試験

試験番号 43781

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省令第4条に規定する試験施設に関する基準」（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、平成12年3月1日改正）及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」（November 26, 1997）に従って実施したものです。

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認しています。

2007年6月10日

試験責任者

[Redacted signature]

信 頼 性 保 証 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 経済産業省

試験の表題 4-エチルピフェニルのコイにおける濃縮度試験

試験番号 43781

上記試験は財団法人化学物質評価研究機構久留米事業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内容、日付並びに試験責任者及び運営管理者に報告を行った日付は以下の通りです。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日（試験責任者）	報告日（運営管理者）	
試験計画書	2002年3月11日	2002年3月11日	2002年3月11日	
	2002年3月19日	2002年3月27日	2002年3月27日	
	2002年5月2日	2002年5月2日	2002年5月2日	
	2002年5月7日	2002年5月8日	2002年5月8日	
	2002年5月30日	2002年5月31日	2002年5月31日	
試験実施状況	2002年3月12日	2002年3月20日	2002年3月20日	
	2002年3月15日	2002年3月20日	2002年3月20日	
	2002年3月19日	2002年3月20日	2002年3月20日	
	2002年3月20日	2002年3月20日	2002年3月20日	
	2002年4月9日	2002年4月24日	2002年4月24日	
	2002年4月15日	2002年4月24日	2002年4月24日	
	2002年4月23日	2002年4月24日	2002年4月24日	
	2002年4月24日	2002年4月24日	2002年4月24日	
	2002年5月2日	2002年5月14日	2002年5月14日	
	2002年5月3日	2002年5月14日	2002年5月14日	
	2002年5月14日	2002年5月14日	2002年5月14日	
	生データ及び最終報告書	2002年6月10日	2002年6月10日	2002年6月10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。

2002年6月10日

信頼性保証部門責任者



目 次

	頁
表 題	1
試験委託者	1
試験施設	1
試験目的	1
試験法	1
適用GLP	1
試験日程	2
試験資料の保管	2
試験関係者	2
最終報告書の承認	2
要 約	3
1. 被験物質	4
2. 急性毒性試験	6
3. 濃縮度試験の実施	9
4. 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	26
5. 試験結果	26
6. 考 察	33
7. 備 考	36

表 題	4-エチルピフェニルのコイにおける濃縮度試験
試験委託者	経済産業省 (〒100-8901) 東京都千代田区霞が関一丁目3番1号
試験施設	財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所 (〒830-0023) 福岡県久留米市中央町 19-14
試験目的	4-エチルピフェニルのコイにおける濃縮性の程度について知見を得る。
試験法	「新規化学物質等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、平成10年10月8日改正)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」に定める「Bioconcentration : Flow-through Fish Test (Guideline 305, June 14, 1996)」に準拠した。
適用 G L P	(1) 化学物質GLP 「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省令第4条に規定する試験施設に関する基準」(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、平成12年3月1日改正)を適用した。 (2) OECD-GLP 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)を適用した。

試験日程

試験開始日	2002年 3月11日
実験開始日	2002年 3月19日
実験終了日	2002年 5月 6日
試験終了日	2002年 6月10日

試験資料の保管

(1) 被験物質

被験物質約5gを保管用容器に入れ密栓後、安定に保存しうる期間久留米事業所
試料保管室に保管する。

(2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、試験依頼書、その他必要な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、久留米事業所資料保管室に
保管する。

試験関係者

試験責任者

所属 試験第二課

試験担当者
(濃縮度試験の実施)

飼育管理責任者

急性毒性試験担当者

最終報告書の承認

2002年 6月10日

試験責任者

要 約

試験の表題

4-エチルビフェニルのコイにおける濃縮度試験

試験条件

急性毒性試験

- | | |
|-----------|-------------------|
| (1) 供試魚 | ヒメダカ |
| (2) ばく露期間 | 96時間 |
| (3) ばく露方法 | 半止水式 (8~16時間毎に換水) |

濃縮度試験

- | | |
|-----------|------------------------------------|
| (1) 供試魚 | コイ |
| (2) 試験濃度 | H区 2 µg/L
L区、L-A区及びL-B区 0.2µg/L |
| (3) ばく露期間 | 42日間 |
| (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ィー |

試験結果

- | | |
|------------------|---|
| (1) 96時間LC50値 | 1.10mg/L |
| (2) 定常状態における濃縮倍率 | H区 1200倍
L区 840倍
L-A区 630倍
L-B区 910倍 |
| (3) 排泄半減期 | H区 0.96日 |
| (4) 各部位における濃縮倍率 | Table-6参照 (31頁) |

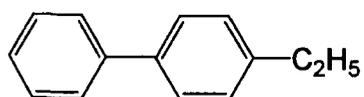
1. 被 験 物 質

本報告書において被験物質は、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称 4-エチルビフェニル

1.2 構造式等

構造式



分子式 C₁₄H₁₄

分子量 182.26

1.3 入手先、商品名、規格及びロット番号*1

- | | |
|-----------|----------------------|
| (1) 入手先 | ████████████████████ |
| (2) 商品名 | ████████████████████ |
| (3) 規格 | ████████████████ |
| (4) ロット番号 | DWL5259 |

1.4 純 度*1

- | | |
|----------|----------|
| (1) 被験物質 | 100% |
| (2) 不純物 | 水分 0.01% |

*1 入手先添付資料による。

1.5 被験物質の確認

質量スペクトル (Fig. 25参照)、赤外吸収スペクトル (Fig. 26参照) 及び核磁気共鳴スペクトル (Fig. 27参照) により構造を確認した。

1.6 物理化学的性状

常温における性状 白色ろう状固体

1.7 保管条件及び保管条件下での安定性

(1) 保管条件 冷蔵保存

(2) 安定性確認 実験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 (Fig. 26参照)。

1.8 試験条件下での安定性

実験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。

2. 急性毒性試験

2.1 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 0102-1998 の 71.）の方法に準じて行った。

2.2 供試魚

- | | | |
|------------|-----|---|
| (1) 魚 | 種 | ヒメダカ <u>Oryzias latipes</u>
選択理由：コイと感受性が類似しており、供試魚として入手し易いため。 |
| (2) 供給源 | | 小川商店
(住所 〒 830-0049 福岡県久留米市大石町 181) |
| (3) 蓄養条件 | 期間等 | 魚の入手時に目視観察をして異常のあるものを除去し、蓄養槽で病気予防及び寄生虫駆除の薬浴を行った後、流水状態で9日間飼育した。 |
| | 薬浴 | 病気予防としてエルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。寄生虫駆除としてホルマリン30μL/Lの24時間薬浴を2回実施した。 |
| (4) じゅん化条件 | 期間等 | 蓄養後、じゅん化水槽へ搬入し薬浴した後、じゅん化を行った。その間異常のあるものは除去し、25±2℃の水温の流水状態で10日間飼育した。その後、再度選別及び薬浴を実施した後、流水状態で20～23日間飼育した。 |
| | 薬浴 | じゅん化水槽ではエルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。再選別後、エルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。 |
| (5) 体重 | | 平均 0.29～0.31g |
| (6) 全長 | | 平均 3.2cm |
| (7) 感受性試験 | | 同一ロット (TF0-020202) の供試魚による基準物質PCP-Na [ヘンタクロフェノールナトリウム 試薬 東京化成工業製] の48時間LC50値は0.577mg/Lであった。 |

2.3 試験用水

(1) 種類

久留米事業所敷地内で揚水した地下水

(2) 水質確認

久留米事業所にて2002年5月9日に採水し、測定又は分析を行った結果をReference 1に示す（測定頻度1回/6ヶ月）。各項目の測定又は分析値は「水道法に基づく水質基準」（平成4年12月21日改正 厚生省令第69号）、「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）、「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」"Fish, Early-life Stage Toxicity Test (Guideline 210, July 17, 1992)"、"水質汚濁に係る環境基準"（平成11年2月22日改正 環境庁告示第14号）又は「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」"Bioconcentration : Flow-through Fish Test (Guideline 305, June 14, 1996)"に記載されている濃度以下であることを確認した。

2.4 試験条件

(1) 試験水槽	円形ガラス製水槽	
(2) 試験液量	4L/濃度区	
(3) 試験温度	ばく露開始時	24.0～24.3℃
	換水前	23.9～24.4℃
(4) 溶存酸素濃度	ばく露開始時	8.1mg/L
	換水前	6.1～7.2mg/L
(5) pH	ばく露開始時	8.2～8.6
	換水前	7.9～8.3
(6) 供試魚数	10尾/濃度区	
(7) ばく露期間	96時間	
(8) ばく露方法	半止水式（8～16時間毎に換水）	

2.5 原液調製法

(1) 分散剤

HCO-40

(2) 調製方法

被験物質とその10倍量のHCO-40をアセトンに溶解しアセトンを留去後、イオン交換水を加えて被験物質濃度として1000mg/Lの原液を調製した。

2.6 試験の実施

- (1) 実施場所 214LC50室
- (2) 試験実施日 2002年 3月11日 ~ 2002年 3月18日

2.7 96時間LC50値の算出

Probit法で行った。

2.8 試験結果

被験物質の96時間LC50値 1.10mg/L (Fig. 5参照)

3. 濃縮度試験の実施

助剤の影響を調べるために、以下の4条件で濃縮度試験を行った。

第1濃度区	H区	} 助剤を使用する条件
第2濃度区	L区	
対照区		
第2A濃度区	L-A区	助剤を使用しない条件
第2B濃度区	L-B区	溶媒を使用する条件

3.1 供試魚

- | | | |
|------------|-----|---|
| (1) 魚 | 種 | コイ <u>Cyprinus carpio</u> |
| | | 選択理由：過去の知見との整合性を考慮するため及び大きさが扱い易いため。 |
| (2) 供給源 | | 杉島養魚場
(住所 〒 866-0024 熊本県八代市郡築一番町 123-2)
供試魚受入日 2002年 1月23日 |
| (3) 蓄養条件 | | |
| | 期間等 | 魚の入手時に目視観察をして異常のあるものを除去し、受入槽で病気予防及び寄生虫駆除の薬浴を行った後、流水状態で19日間飼育した。 |
| | 薬浴 | 病気予防として水産用OTC(塩酸オキシテトラサイクリン) 50mg/と塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。寄生虫駆除としてホルマリン30μL/Lの24時間薬浴を2回実施した。 |
| (4) じゅん化条件 | | |
| | 期間等 | 蓄養後、じゅん化水槽へ搬入し、再度薬浴した後、じゅん化を行った。その間異常のあるものは除去し、25±2℃の水温の流水状態で17日間飼育した。さらに試験水槽へ移し、薬浴後、同温度の流水状態で14日間飼育した。 |
| | 薬浴 | じゅん化水槽では水産用OTC 50mg/Lと塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。試験水槽ではエルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。 |
| (5) 全 | 長 | 6.2~8.2cm |
| (6) ロ | ット | TFC-020123 |
| (7) 年 | 齢 | 当才魚 |

(8) 餌	料	
種	類	コイ稚魚育成用配合飼料
組	成	たん白質含量 43.0%以上 脂質含量 3.0%以上
製	造	元
給	餌	方法
		日本配合飼料株式会社 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24時間は給餌を止めた。

3.2 試験用水

2.3に同じ。

3.3 試験及び環境条件

(1) 試験水供給方法	久留米事業所組立流水式装置を用いて供給した。
(2) 試験水槽	100L容ガラス製水槽
(3) 試験水量	
ばく露期間	H区、L区及び対照区 原液2.0mL/分及び試験用水1500mL/分の割合で 2163L/日を試験水槽に供した。
	L-A区 原液0.2mL/分及び試験用水1500mL/分の割合で 2160L/日を試験水槽に供した。
	L-B区 原液0.1mL/分及び試験用水1500mL/分の割合で 2160L/日を試験水槽に供した
排泄期間	試験用水1500mL/分の割合で2160L/日を試験水槽に 供した。

(4) 原液タンク	H区、L区及び対照区 10L容ガラス製びん（冷蔵庫中で冷却） L-A区 なし L-B区 1L容ガラス製びん 交換頻度 1～3回程度／週
(5) 試験温度	H区 25.2～25.6℃ L区 25.1～25.5℃ L-A区 25.2～25.6℃ L-B区 24.8～25.4℃ 対照区 25.0～25.5℃
(6) 溶存酸素濃度	H区 7.9～ 8.1mg/L (Fig.19参照) L区 8.0～ 8.1mg/L (Fig.20参照) L-A区 8.1mg/L (Fig.21参照) L-B区 8.0～ 8.1mg/L (Fig.22参照) 対照区 8.1mg/L (Fig.23参照)
(7) pH	H区 7.9～ 8.1 L区 7.9～ 8.1 L-A区 7.9～ 8.1 L-B区 7.9～ 8.1 対照区 7.9～ 8.0
(8) 照光時間	白色蛍光灯による人工照明（14時間明／10時間暗）
(9) 供試魚数	H区、L区、L-A区及びL-B区 47尾（ばく露開始時） 対照区 12尾（ばく露開始時）
(10) ばく露期間	42日間 設定理由：予備試験の結果、28日間では定常状態に達しないと予想されたため。
(11) 排泄期間	4日間
(12) 実施場所	213アクアトロン室

3.4 原液調製法

(1) 分散剤

2.5の(1)と同じ。

(2) 調製方法

・H区

2.5の(2)と同様にして被験物質濃度として1.5mg/Lの原液を調製した。

・L区

2.5の(2)と同様にして被験物質濃度として0.15mg/Lの原液を調製した。

・L-A区

対水溶解度の測定法に用いた方法により飽和水溶液を原液として調製した。

・L-B区

被験物質をジメチルスルホキシドに溶解して被験物質濃度として3mg/Lの原液を調製した。

・対照区

HCO-40をイオン交換水に溶解して15mg/Lの原液を調製した。

3.5 試験濃度

96時間LC50予備値及び被験物質の分析感度を考慮して、

H区 2 µg/L

L区、L-A区及びL-B区 0.2µg/L

に被験物質濃度を設定した。同時に、空試験として対照区を設定した。

3.6 観察、測定及び清掃

- | | |
|------------|------------------------------------|
| (1) 供試魚の観察 | 供試魚の健康状態等を1日に2回目視観察した。 |
| (2) 試験水量 | メスシリンダーを用いて1日に1回測定記録した。 |
| (3) 試験温度 | アルコール温度計を用いて1日に1回測定記録した。 |
| (4) 溶存酸素濃度 | 溶存酸素計を用いて1週間に2回測定記録した。 |
| (5) pH測定 | pH計を用いて1週間に1回以上測定記録した。 |
| (6) 清掃 | 実験期間中は、コイの排泄物、水槽壁の汚れ等を1日に1回程度除去した。 |

3.7 試験水及び供試魚の分析

試験水及び供試魚中の被験物質分析は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により行った。

3.7.1 分析回数

(1) 試験水

試験水分析はH、L、L-A及びL-B区ともばく露期間中、最初の供試魚分析までに1回及び供試魚分析と同時に行った。1回当りの分析試料は1点とした。

(2) 供試魚

供試魚分析はH、L、L-A及びL-B区ともばく露期間中に5回行い、1回当りの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)*2に分けて行った。

また、H区において濃縮倍率が1000倍を超えたため、排泄試験を行った。供試魚分析は排泄期間中に4回行い、1回当りの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)に分けて行った。

対照区は実験開始前及び実験終了後に行い、1回当りの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)に分けて分析した。さらに、脂質測定用として2尾を追加で取り上げ、3群(2尾1群)とした。

*2 個体ごとの分析では、脂質含量測定のための保存用試料が十分得られないため2尾1群とした。

3.7.2 分析試料の前処理

(1) 試験水中の被験物質

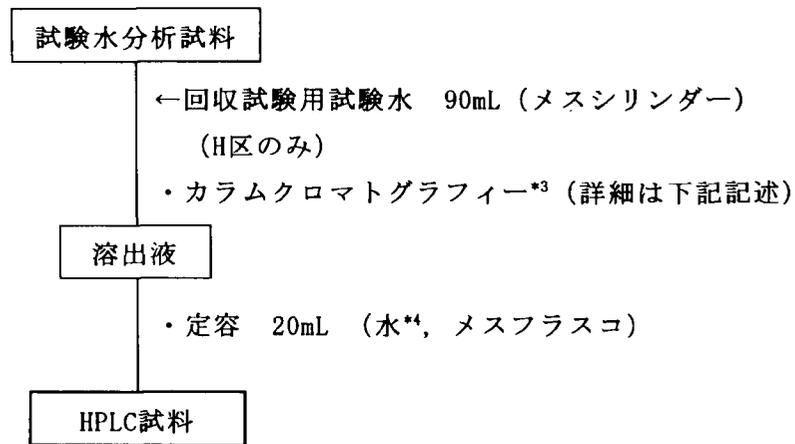
試験水槽から

第1濃度区 (H区) 10mL

第2濃度区 (L、L-A及びL-B区) 100mL

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 (HPLC) 試料とした。

フロースキーム



*3 カラムクロマトグラフの条件

セップパック Cs

(洗浄法 : テトラヒドロフラン, 水*4 各20mL)

負荷法 全量負荷した。

溶出法 第1溶出液 テトラヒドロフラン 10mL

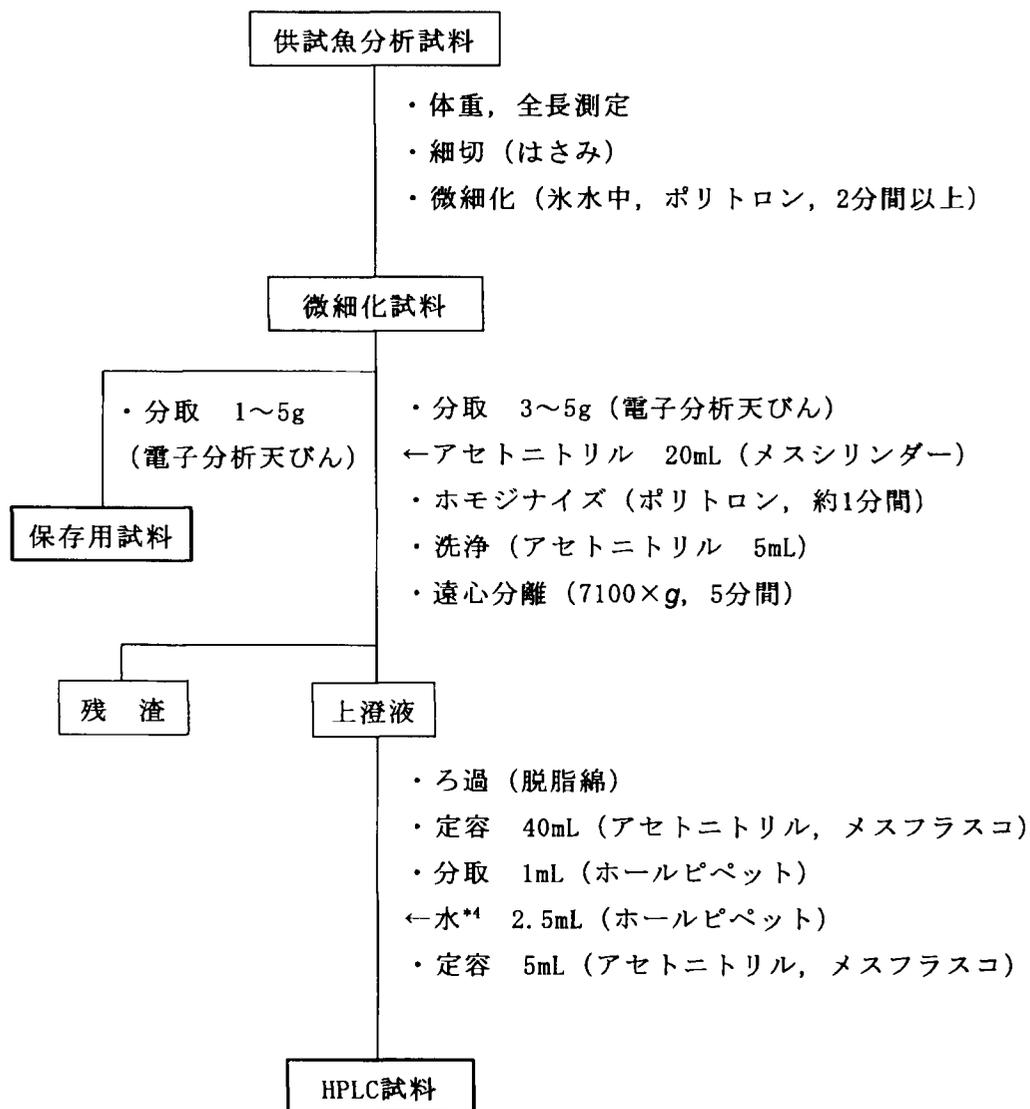
第1溶出液を分析に供した。

*4 水道水を超純水製造システムを用いて処理した水。

(2) 供試魚中の被験物質

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、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）試料とした。

フロースキーム



3.7.3 被験物質の定量分析

前処理を行って得られたHPLC試料について、下記の定量条件に基づき高速液体クロマトグラフィーにより被験物質を分析した。なお、供試魚分析において被験物質濃度が検量線の範囲を越えた場合は、その範囲にはいるように希釈し分析した。HPLC試料中の被験物質濃度は、標準溶液及びHPLC試料のクロマトグラム上で得られたピーク面積を比較し、比例計算して求めた (Table-9, 10, 11, 12、Fig. 8、Table-14, 15, 16, 17, 18, 23, 24、Fig. 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18参照)。

(1) 定量条件

機	器	高速液体クロマトグラフ
ポンプ		島津製作所製 LC-10ADvp
検出器		島津製作所製 RF-10AxL
カラムオーブン		島津製作所製 CTO-10ACvp
オートサンプラー		島津製作所製 SIL-HTc
カラム		L-column ODS
		15cm×2.1mmI. D. ステンレス製
カラム温度		40℃
溶離液		アセトニトリル/水** (70/30 V/V)
流量		0.2mL/min
測定波長		励起波長 265nm (Fig. 24参照)
		蛍光波長 318nm
注入量		10μL
検出器出力		1V/FS

(2) 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。

(a) 試験水分析

被験物質100mgを正確にはかりとり、テトラヒドロフランに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをテトラヒドロフラン/水⁴(1/1 V/V)で希釈して1.00 μ g/Lの標準溶液とした。

(b) 供試魚分析

被験物質100mgを正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリル/水⁴(1/1 V/V)で希釈して5.00 μ g/Lの標準溶液とした。

(3) 検量線の作成

(a) 試験水分析

(2)(a)の標準溶液の調製と同様にして0.800、1.60及び3.20 μ g/L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クロマトグラム上のピーク面積と濃度により検量線を作成した。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して5000 μ V \cdot sec(被験物質濃度0.024 μ g/L)とした(Fig.6参照)。

(b) 供試魚分析

(2)(b)の標準溶液の調製と同様にして2.50、5.00及び10.0 μ g/L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クロマトグラム上のピーク面積と濃度により検量線を作成した。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して13000 μ V \cdot sec(被験物質濃度0.067 μ g/L)とした(Fig.9参照)。

3.7.4 回収試験及びブランク試験

(1) 方法

3.7.2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細切した魚（10g）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細切した魚について、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。

(2) 結果

(1)の方法により測定した結果、ブランク試験においてクロマトグラム上、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（Table-8, 13、Fig. 7, 10参照）。

分析操作における回収率

試験水分析（被験物質20ng添加）

87.5%, 88.2% 平均 87.9%

供試魚分析（被験物質2000ng添加）

91.2%, 92.8% 平均 92.0%

3.7.5 供試魚中の脂質含量

対照区の供試魚微細化試料を用いて、クロロホルム／メタノール抽出を行い、重量分析により脂質含量の測定を行った。

また、第1及び第2濃度区の供試魚微細化試料の保存用試料を用いて脂質含量の測定を行った。

3.7.6 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

Table-9, 10, 11, 12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

3.7.3(3)(a)の検量線作成で求めた被験物質の定量下限より、試験水中の定量下限濃度*5はそれぞれ、

H区 0.056 µg/L

L、L-A及びL-B区 0.0056µg/L

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

Table-14, 15, 16, 17, 18, 23及び24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

3.7.3(3)(b)の検量線作成で求めた被験物質の定量下限より、供試魚中の定量下限濃度*5は供試魚微細化試料を5gとしたとき2.9ng/gと算出される。

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

A : 検量線上定量下限濃度 (µg/L)

B : 回収率 (%)

C : 試験水採取量 (mL) 又は供試魚微細化試料 (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。

3.7.7 ばく露期間における試験水の全平均被験物質濃度の算出法

$$\overline{C_{wt}} = \{C_w(1) + \dots + C_w(n)\} / n$$

- $\overline{C_{wt}}$: 試験水の全平均被験物質濃度 ($\mu\text{g/L}$)
 n : 試験水分析の数 (測定回数)
 $C_w(1)$: 1回目の試験水中被験物質濃度 ($\mu\text{g/L}$)
 $C_w(n)$: n 回目の試験水中被験物質濃度 ($\mu\text{g/L}$)

3.7.8 濃縮倍率 (BCF) の算出法

濃縮倍率 (BCF) は、以下の式に従って算出した。

(1) 濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度の算出

$$\overline{C_w} = \{C_w(n-1) + C_w(n)\} / 2 \quad (\text{供試魚分析1回目})$$

$$\overline{C_w} = \{C_w(n-2) + C_w(n-1) + C_w(n)\} / 3 \quad (\text{供試魚分析2回目以降})$$

- $\overline{C_w}$: 濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度 ($\mu\text{g/L}$)
 $C_w(n)$: 供試魚分析と同時に求めた試験水分析 n 回目の被験物質濃度 ($\mu\text{g/L}$)

(2) 濃縮倍率の算出

$$\text{BCF} = \frac{C_f}{\overline{C_w}}$$

- BCF : 濃縮倍率
 C_f : 供試魚中被験物質濃度 (FBを差し引いた値) (ng/g)
 $\overline{C_w}$: 濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度 ($\mu\text{g/L}$)
 FB : 対照区における実験開始前及び終了後の供試魚中の被験物質又は被験物質の見掛 (ブランク) 濃度の平均値 (ng/g)

- (3) 平均脂質含量当たりの濃縮倍率の算出（脂質含量を測定し、平均脂質含量当たりで計算する場合）

$$BCF_L = \frac{BCF}{L} \times L_{ave}$$

- BCF_L : 平均脂質含量当たりの濃縮倍率
 BCF : 濃縮倍率
 L : 脂質含量(%)
 L_{ave} : 平均脂質含量(%)

- (4) m回目の濃縮倍率の平均値

$$BCF_m = (BCF_a + BCF_b) / n$$

又は、

$$BCF_{Lm} = (BCF_{La} + BCF_{Lb}) / n \quad (\text{平均脂質含量あたり})$$

- BCF_{m, Lm} : m回目の濃縮倍率の平均値（個体数又は群数2(a, b)）
 BCF_{a, b} : m回目における各個体又は各群の濃縮倍率
 BCF_{La, b} : m回目における各個体又は各群の濃縮倍率
 （脂質含量を測定した場合）
 n : m回目に分析した個体数又は群数

3.7.9 定常状態に達したことの確認方法

定常状態に達したことの判断は、48時間以上の測定間隔で連続した3回の測定における濃縮倍率の変動が20%以内とする。（濃縮倍率が100倍未満の場合、濃縮倍率の変動が20%を超えても28日後には定常状態に達しているとみなす。）

定常状態に達したことの判定基準： $V(m-2)$ ， $V(m-1)$ ， $V(m) \leq 20$ (%)

$$V(m-2) = \frac{| \text{BCF}(m-2) - \overline{\text{BCF}} |}{\overline{\text{BCF}}} \times 100$$

$$V(m-1) = \frac{| \text{BCF}(m-1) - \overline{\text{BCF}} |}{\overline{\text{BCF}}} \times 100$$

$$V(m) = \frac{| \text{BCF}(m) - \overline{\text{BCF}} |}{\overline{\text{BCF}}} \times 100$$

$V(m-2)$ ， $V(m-1)$ ， $V(m)$: 濃縮倍率の平均値からの乖離率(%)

$\text{BCF}(m-2)$ ， $\text{BCF}(m-1)$ ， $\text{BCF}(m)$: $m-2$ ， $m-1$ ， m 回目における個体数又は群数 n の濃縮倍率の平均値

$\overline{\text{BCF}}$: $\{ \text{BCF}(m-2) + \text{BCF}(m-1) + \text{BCF}(m) \} / 3$

3.7.10 定常状態における濃縮倍率（BCF_{ss}）の算出法

定常状態における濃縮倍率（BCF_{ss}）は、次の式により算出した。

(1) H及びL-A区

(a) 定常状態における濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度の算出

$$\overline{C_{ws}} = \{C_w(k-n) + \dots + C_w(k-2) + C_w(k-1) + C_w(k)\} / (n+1)$$

$\overline{C_{ws}}$: 定常状態における濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）

$C_w(k-n)$: 濃縮倍率が極大値を示したときの試験水中被験物質濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）

$(n+1)$: 算出に用いる分析の回数

(b) 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度の算出

$$\overline{C_{fs}} = \{C_f(m-n) + \dots + C_f(m-2) + C_f(m-1) + C_f(m)\} / (n+1)$$

$\overline{C_{fs}}$: 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度（ ng/g ）

$C_f(m-n)$: 濃縮倍率が極大値を示したときの供試魚中被験物質濃度（FBを差し引いた値）（ ng/g ）

$C_f(m)$: m回目まで分析したときの最後の供試魚中被験物質濃度（FBを差し引いた値）（ ng/g ）

FB : 対照区における実験開始前及び終了後の供試魚中の被験物質又は被験物質の見掛（ブランク）濃度の平均値（ ng/g ）

$(n+1)$: 算出に用いる分析の回数

(c) 定常状態における濃縮倍率の算出

$$\text{BCF}_{ss} = \overline{C_{fs}} / \overline{C_{ws}}$$

$\overline{C_{fs}}$: 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度（ ng/g ）

$\overline{C_{ws}}$: 定常状態における濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）

BCF_{ss} : 定常状態における濃縮倍率

(2) L及びL-B区

(a) 定常状態における濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度の算出

$$\overline{Cws} = \{Cw(n-2) + Cw(n-1) + Cw(n)\} / 3$$

\overline{Cws} : 定常状態における濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度（原則として最後の供試魚分析までの3回の連続した試験水中の平均被験物質濃度）（ $\mu\text{g/L}$ ）

$Cw(n)$: 供試魚分析と同時に求めた試験水分析n回目の被験物質濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）

(b) 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度の算出

$$\overline{Cfs} = \{Cf(m-2) + Cf(m-1) + Cf(m)\} / 3$$

\overline{Cfs} : 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度（ ng/g ）

$Cf(m)$: m回目の供試魚中平均被験物質濃度（FBを差し引いた値）（ ng/g ）

FB : 対照区における実験開始前及び終了後の供試魚中の被験物質又は被験物質の見掛（ブランク）濃度の平均値（ ng/g ）

(c) 定常状態における濃縮倍率の算出

$$BCF_{ss} = \overline{Cfs} / \overline{Cws}$$

BCF_{ss} : 定常状態における濃縮倍率

\overline{Cfs} : 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度（ ng/g ）

\overline{Cws} : 定常状態における濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）

3.7.11 算出可能な濃縮倍率

3.7.6(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。ただし、試験水中の被験物質濃度はすべての試験水分析における平均被験物質濃度を用いた。

H区	1.8倍
L区	17 倍
L-A区	15 倍
L-B区	18 倍

3.7.12 脂質含量の算出法

脂質含量は次式により求めた。

$$\text{脂質含量 (\%)} = \frac{T - T_0}{S} \times 100$$

T_0 : 容器のひょう量値(g)

T : 重量分析用試料(容器を含む)のひょう量値(g)

S : 供試魚微細化試料の分取量(g)

3.8 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401:1999 規則Bの方法に従った。また、計算処理に用いた数値は途中で丸めずに使用した。

試験水中の被験物質濃度及び供試魚中の被験物質濃度は有効数字3ケタに丸め、濃縮倍率は有効数字2ケタに丸めて表示した。

4. 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。

5. 試験結果

5.1 試験水中の被験物質濃度

試験水中の被験物質濃度はTable-1に示されるように、設定値の71%以上が保持された。また、被験物質濃度の変動は測定値の平均に対して±20%以内に保たれた。

Table-1 試験水中の被験物質濃度

(単位 $\mu\text{g/L}$)

濃度区	9日後	14日後	21日後	28日後	35日後	42日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
H	1.42	1.63	1.80	1.51	1.76	1.82	1.66 (0.165)	9	8
L	0.154	0.151	0.153	0.178	0.188	0.173	0.166 (0.0158)	10	
L-A	0.203	0.168	0.206	0.213	0.164	0.204	0.193 (0.0212)	11	
L-B	0.160	0.165	0.185	0.152	0.163	0.163	0.165 (0.0111)	12	

5.2 濃縮倍率

濃縮倍率をTable-2に示した。

Table-2の濃縮倍率とばく露期間との相関をFig. 1、Fig. 2、Fig. 3及びFig. 4に示した。ばく露期間中の濃縮倍率はH区において660～1600倍、L区において490～1200倍、L-A区において180～1300倍及びL-B区において540～1200倍であった。

Table-2 濃縮倍率

() 内は平均値

濃度区	14日後	21日後	28日後	35日後	42日後	Table	Fig.
H	900	860	1600	1200	660	14	11
	710	850	1100	1500	1200		
	(800)	(850)	(1300)	(1300)	(940)		
L	530	580	540	1000	570	15	12
	950	490	1100	1200	790		
	(740)	(540)	(840)	(1100)	(680)		
L-A	960	1300	540	670	640	16	13
	550	610	300	920	180		
	(750)	(930)	(420)	(800)	(410)		
L-B	690	1100	830	540	1200	17	14
	750	1200	840	910	990		
	(720)	(1100)	(840)	(720)	(1100)		

上記の各濃縮倍率を、3.7.8(3)の式を用いて平均脂質含量(H区3.11%、L区2.76%、L-A区3.21%及びL-B区3.16%) (Table-7参照) に対する濃縮倍率に換算してTable-3に示した。

Table-3 平均脂質含量で補正した濃縮倍率

() 内は平均値

濃度区	14日後	21日後	28日後	35日後	42日後	Table	Fig.
H	880	890	1200	1100	780	19	11
	810	1000	1000	1700	1100		
	(850)	(960)	(1100)	(1400)	(950)		
L	740	700	570	690	740	20	12
	830	540	1100	1200	670		
	(780)	(620)	(840)	(970)	(700)		
L-A	930	1200	430	530	640	21	13
	670	670	390	780	240		
	(800)	(940)	(410)	(650)	(440)		
L-B	740	1100	930	570	860	22	14
	1100	1200	840	990	780		
	(910)	(1200)	(880)	(780)	(820)		

5.3 定常状態における濃縮倍率

(1) H区

5.2のTable-2の結果から、最後の連続した3回の分析における濃縮倍率(平均)は変動が20%を越えた。そこで、平均脂質含量に対する濃縮倍率に換算した(Table-3参照)。

その結果、28、35及び42日後における濃縮倍率(平均)はその3回の分析における濃縮倍率の平均値に対して変動が20%を超えた。

しかし、28日後における濃縮倍率が極大値を示し、これ以降上昇傾向を示さなかったため、定常状態に達していると判断した(Table-2参照)。28、35及び42日後の値を用いて3.7.10(1)に従い定常状態における濃縮倍率を算出した。

(2) L-A区

5.2のTable-2の結果から、最後の連続した3回の分析における濃縮倍率(平均)は変動が20%を越えた。そこで、平均脂質含量に対する濃縮倍率に換算した(Table-3参照)。

その結果、28、35及び42日後における濃縮倍率(平均)はその3回の分析における濃縮倍率の平均値に対して変動が20%を超えた。

しかし、21日後における濃縮倍率が極大値を示し、これ以降上昇傾向を示さなかったため、定常状態に達していると判断した(Table-2参照)。21、28、35及び42日後の値を用いて3.7.10(1)に従い定常状態における濃縮倍率を算出した。

(3) L及びL-B区

5.2のTable-2の結果から、最後の連続した3回の分析における濃縮倍率(平均)は変動が20%を越えた。そこで、平均脂質含量に対する濃縮倍率に換算した(Table-3参照)。

その結果、28、35及び42日後において濃縮倍率(平均)はその3回の分析における濃縮倍率の平均値に対して変動が20%以内であったため、定常状態に達していると判断した。28、35及び42日後の値を用いて3.7.10(2)に従い定常状態における濃縮倍率を算出した。

(4) 定常状態における試験水中の被験物質濃度

定常状態における試験水中の平均被験物質濃度はTable-4に示されるように、H区において設定値の85%、L区において90%、L-A区において98%及びL-B区において80%であった。

Table-4 定常状態における試験水中の被験物質濃度

(単位 $\mu\text{g/L}$)

濃度区	21日後	28日後	35日後	42日後	平均	Table	Fig.
H		1.51	1.76	1.82	0.170	9	8
L		0.178	0.188	0.173	0.180	10	
L-A	0.206	0.213	0.164	0.204	0.197	11	
L-B		0.152	0.163	0.163	0.159	12	

(5) 定常状態における濃縮倍率

定常状態における濃縮倍率は以下のとおりであった。

H区	1200倍
L区	840倍
L-A区	630倍
L-B区	910倍

5.4 排泄試験

H区において、定常状態における濃縮倍率が1000倍を超えたため、44日間ばく露した供試魚を試験用水（被験物質及び分散剤を含まない水）に移し、供試魚中の被験物質を経時的に分析した。

供試魚中の被験物質の残留率は、ばく露終了時（42日後）の供試魚中被験物質濃度の平均値（2群）を100として、排泄試験開始1、2、3及び4日後の供試魚中被験物質の残留率（%）を算出した（Table-23、Fig.15参照）。

また、排泄試験における残留率と排泄期間との相関をFig.16に示した。

これらの結果から、排泄半減期はH区で0.96日であった（Fig.16参照）。

Table-5 排泄試験における残留率

(単位 %)

濃度区	1日後	2日後	3日後	4日後	Table	Fig.
H	25 35	36 1.9	20 0.28	1.2 14	23	15

5.5 部位別試験

H区において、定常状態における濃縮倍率が1000倍を超えたため、44日間ばく露した供試魚を各試験区から2尾ずつ採取し、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）に大別し、各重量を測った後、各部位における被験物質を分析した。分析法は3.7と同様とした。ただし、供試魚前処理フロースキーム中の微細化、保存用試料の分取、分析試料の分取は行わなかった。

各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率をTable-6に示した。なお、試験水中の被験物質濃度は、部位別試験を実施した時までの連続3回の平均被験物質濃度とした。

Table-6 各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率

濃度区	部 位	各部位における被験物質濃度 (ng/g)	濃縮倍率	Table	Fig.
H	外 皮	1610	950	24	18
		2060	1200		
	頭 部	3940	2300		
		3680	2200		
内 臓	2940	1700			
	2930	1700			
可食部	1530	900			
	1880	1100			

5.6 供試魚の脂質含量

供試魚中の平均脂質含量は以下のとおりであった。また、H、L、L-A及びL-B区の脂質含量をTable-7に示した。

実験開始前	3.04%
実験終了後	3.02%

Table-7 脂質含量 (単位 %)
() 内は平均値

濃度区	14日後	21日後	28日後	35日後	42日後	全平均
H	3.16	2.98	4.12	3.41	2.65	3.11
	2.70	2.58	3.45	2.70	3.37	
	(2.93)	(2.78)	(3.79)	(3.05)	(3.01)	
L	2.00	2.29	2.61	4.04	2.13	2.76
	3.15	2.51	2.82	2.75	3.29	
	(2.57)	(2.40)	(2.72)	(3.39)	(2.71)	
L-A	3.29	3.36	4.01	4.08	3.21	3.21
	2.62	2.90	2.41	3.80	2.38	
	(2.95)	(3.13)	(3.21)	(3.94)	(2.80)	
L-B	2.92	3.01	2.82	2.99	4.45	3.16
	2.19	3.09	3.18	2.90	4.01	
	(2.56)	(3.05)	(3.00)	(2.94)	(4.23)	

5.7 供試魚の外観観察等

異常は認められなかった。

6. 考 察

(1) 助剤が濃縮倍率に及ぼす影響

各試験区間の濃縮倍率の平均値に差異があるか否かを調べるために有意差検定を行った。一般に濃縮倍率は、魚体中の脂質含量に依存するため、脂質含量1%当たりの濃縮倍率を有意差検定に用いた。Reference 6より、脂質含量1%当たりの濃縮倍率は全ばく露期間を通して顕著な上昇傾向は認められず、ほぼ同程度の濃縮倍率を示していることから、すべての値を用いて検定を行った。脂質含量1%当たりの濃縮倍率におけるすべての平均値と変動係数を以下に示した。

濃縮倍率の平均値（脂質含量1%当たり）

試験区	平均	変動係数(%)
H	340	25
L	280	28
L-A	200	43
L-B	240	21

分散分析には、SPSS for Windows (SPSS Inc., USA)を用いた。Levene検定により、等分散性が認められたため、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を行った。これより得られた有意確率から、有意水準 $p=0.05$ としたときに有意差があるかどうかを以下に示した。

各試験区における平均値の有意差検定結果

試験区	H	L	L-A
L	0.527		
L-A	0.005	0.151	
L-B	0.607	0.999	0.117

* 有意水準 $p=0.05$ のとき有意差あり

各試験区において、H区とL-A区の組み合わせのみ有意差ありとなった。しかし、各試験区における脂質含量1%当たりのBCFの平均値は助剤なしの試験区 (L-A区) が200倍と最も小さい値であった。よって、本物質の魚体中への取り込みにおいて助剤による障害はないと考えられる。

(2) 供試魚分析における代謝物について

供試魚分析において、クロマトグラム上に被験物質以外のピークが認められた (Fig. 11, 12, 13, 14, 15, 18参照)。このピークは試験水分析、供試魚分析の回収試験及びブランク試験、対照区供試魚分析では検出されていないことから、被験物質の供試魚中代謝物と考えられた。そこで、構造推定を行うことを目的として、液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS) により42日後H区の供試魚分析試料の分析を行った。しかしながら、構造を推定できるスペクトルは得られなかった。

(3) 代謝物の濃縮倍率

参考値として代謝物の濃縮倍率を4.7.8と同様にして算出した。供試魚中の代謝物濃度は、被験物質の標準溶液と供試魚分析試料のクロマトグラム上のピーク面積を比較して算出した。ただし、供試魚からの回収率は100%として算出した (Reference 2参照)。また、濃縮倍率算出のための試験水中濃度は被験物質濃度を用いた。

代謝物の濃縮倍率はH区で200~400倍、L区で110~280倍、L-A区で46~340倍、L-B区で160~330倍であった (Reference 2参照)。

また、代謝物と被験物質の合計濃縮倍率はH区で880~2000倍、L区で640~1500倍、L-A区で220~800倍、L-B区で700~1800倍であった。さらに各部位における代謝物の濃縮倍率をReference 2-3に示した。

Reference 2-1 代謝物の濃縮倍率

濃度区	14日後	21日後	28日後	35日後	42日後
H	260	250	400	340	220
	220	200	300	350	340
	(240)	(220)	(350)	(340)	(280)
L	110	130	160	250	140
	260	140	200	250	280
	(190)	(140)	(180)	(250)	(210)
L-A	230	340	190	190	170
	160	200	91	220	46
	(190)	(270)	(140)	(200)	(110)
L-B	190	270	210	170	330
	160	320	230	220	280
	(180)	(300)	(220)	(190)	(310)

Reference 2-2 被験物質及び代謝物の合計濃縮倍率

濃度区	14日後	21日後	28日後	35日後	42日後
H	1200	1100	2000	1600	880
	930	1100	1400	1800	1400
	(1000)	(1100)	(1700)	(1700)	(1200)
L	1100	710	700	1200	710
	1200	640	1300	1500	1100
	(1200)	(670)	(1000)	(1400)	(890)
L-A	1200	1600	730	860	820
	710	800	390	1100	220
	(950)	(1200)	(560)	(1000)	(520)
L-B	880	1400	1000	700	1500
	910	1500	1100	1100	1300
	(900)	(1400)	(1100)	(920)	(1400)

Reference 2-3 各部位における代謝物の濃縮倍率

濃度区	外皮	頭部	内臓	可食部
H	330	830	730	340
	380	710	640	380

(4) 代謝物の排泄半期間

供試魚中の代謝物の残留率は、ばく露終了時（42日後）の供試魚中における代謝物濃度の平均値（2群）を100として算出した（Reference 3参照）。

これらの結果から、排泄半減期はH区で1.2日であった。

Reference 2-4 排泄試験における代謝物残留率

濃度区	1日後	2日後	3日後	4日後
H	49	75	59	4.7
	62	6.6	0.56	32

7. 備 考

7.1 対水溶解度の測定

7.1.1 試験装置及び器具

送液ポンプ	日立製作所製	L-6000
pHメーター	東亜電波工業製	HM-60S

7.1.2 溶解度測定用カラムの調製

被験物質100mgをアセトンに溶解し、約5gの担体を添加した。その後、ロータリーエバポレーターを用い減圧下でゆっくりアセトンを留去し、充填剤を調製した。この充填剤をステンレスカラムに充填し、溶解度測定用カラムを調製した。

カラム	25cm×8mm I.D.	ステンレス製
担体	CPG (Controlled-Pore Glass, 20/80メッシュ)	
被験物質含量	約2.0wt%	

7.1.3 試験条件

試験水	精製水
試験温度	25±1℃
試験連数	5 (連続する5フラクション)
流量	0.2mL/min、0.4mL/min
捕集方法	約5mLずつを試験管に捕集した。

7.1.4 試験操作

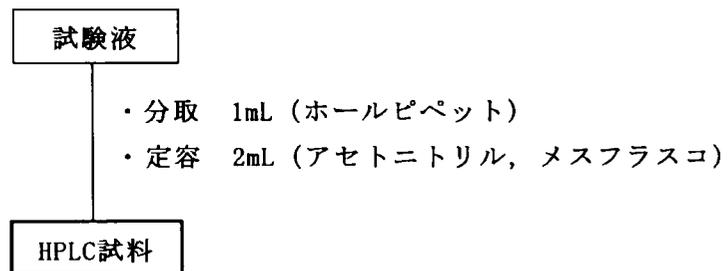
試験温度下において、溶解度測定用カラムに高純度窒素ガスでバブリングしながら試験水を一定流量で流し、溶出した画分を試験管に捕集し試験液とした。各試験液のpHを測定した。なお、試験液を捕集する時期は、溶解度測定用カラムからの被験物質の溶出濃度が平衡に達したことを確認した後とした。

7.1.5 試験液の分析

(1) 試験液の前処理

溶解度測定用カラムから捕集した試験液は、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（HPLC）試料とした。

フロースキーム



(2) 定量分析

前処理を行って得られたHPLC試料について、下記の定量条件に基づき高速液体クロマトグラフィーにより被験物質を分析した。HPLC試料中の被験物質濃度は、標準溶液及びHPLC試料のクロマトグラム上で得られたピーク面積を比較し、比例計算して求めた（Reference 5参照）。

(a) 定量条件

機 器	高速液体クロマトグラフ
ポンプ	島津製作所製 LC-10ADvp
検出器	島津製作所製 RF-10AxL
カラムオーブン	島津製作所製 CT0-10ACvp
オートサンプラー	島津製作所製 SIL-HTc
カラム	L-column ODS 15cm×2.1mmI. D. ステンレス製
溶離液	アセトニトリル/水** (8/2 V/V)
流量	0.2mL/min
測定波長	励起波長 265nm 蛍光波長 318nm
注入量	10μL
検出器出力	1V/FS

(b) 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。

提供試料100mgを電子分析天びんで正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリル/水** (1/1 V/V)で希釈して0.800mg/Lの標準溶液とした。

(c) 検量線の作成

(b)の標準溶液の調製と同様にして0.400、0.800及び1.60mg/Lの標準溶液を調製した。これらを(a)の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのクロマトグラム上のピーク面積と濃度により検量線を作成した（Reference 4参照）。

7.1.6 溶解度の算出

Reference 5の計算式に従って計算した。

7.1.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 : 1999 規則Bの方法に従い、有効数字3ケタで表示した。

7.1.8 試験結果

測定結果を以下に示す。

流 量	pH	溶 解 度 (mg/L)			標準偏差	最大差*6 (%)
		測定値	平均値	全平均値		
0.4mL/min	6.0	1.48	1.50	1.50	0.0447	8.28
	5.8	1.44				
	5.9	1.49				
	6.0	1.56				
	5.8	1.53				
0.2mL/min	6.2	1.47	1.51			
	6.2	1.53				
	6.2	1.57				
	6.3	1.46				
	6.3	1.50				

*6 最大差(%) = (最大測定値 - 最小測定値) / 最大測定値 × 100

7.2 試験に使用した主要な装置・機器、特殊器具、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	:	東京理化工機製	型 GMW
		島津製作所製	型 LC-6A
		日本精密科学製	型 NP-KX-1005
溶存酸素測定装置	:	飯島電子工業製	型 F-102
pH計	:	東亜電波工業製	型 HM-14P

(2) 分析及び原液調製に使用した装置・機器、特殊器具及び試薬

装置・機器

高速液体クロマトグラフ	:	16, 38頁参照	
送液ポンプ	:	36頁参照	
pHメーター	:	36頁参照	
天びん	:	ザルトリウス社製	型 BP301S
		ザルトリウス社製	型 AE-163
		メトラートレド社製	型 PB602
		メトラートレド社製	型 FA-2000
フーリエ変換赤外分光光度計	:	島津製作所製	型 FTIR-8200PC
分光蛍光光度計	:	日立製作所製	型 F-2000
ロータリーエバポレーター	:	東京理化工機製	型 N-1
		ヤマト科学製	型 RE50
ホモジナイザー（ポリトロン）	:	キネマチカ社製	型 PT3000
		キネマチカ社製	型 PT3100
遠心分離機	:	日立工機製	型 CR21G

特殊器具

セップパック C ₈	:	日本ウォーターズ製
-----------------------	---	-----------

試薬

アセトニトリル	:	和光純薬工業製	HPLC用
テトラヒドロフラン	:	関東化学製	HPLC用
精製水	:	高杉製薬製	日本薬局方
ジメチルスルホキシド	:	ナカライテスク製	試薬一級
HCO-40	:	日光ケミカルズ製	
CPG	:	フナコシ製	研究用

(3) 脂質含量測定に使用した装置・機器及び試薬

装置・機器

天びん	: ザルトリウス社製	型 BP301S
ロータリーエバポレーター	: 東京理化工機製	型 N-1
ホモジナイザー (ポリトロン)	: キネマチカ社製	型 PT3000
	キネマチカ社製	型 PT3100
ホモジナイザー (オートセルマスター)		
	: 井内盛栄堂製	型 CM-200
真空ポンプ	: 真空機工製	型 DA-20D
	真空機工製	型 DAH-20C
真空デシケータ	: 井内盛栄堂製	型 VL

試薬

精製水	: 高杉製薬製	日本薬局方
メタノール	: 和光純薬工業製	試薬一級
クロロホルム	: 和光純薬工業製	試薬特級
硫酸ナトリウム (無水)	: シグマ アルドリッチ ジャパン製	試薬一級