

# 最 終 報 告 書

ジエチルジフェニル [別名：ジエチルビフェニル] (被験物質番号 K-264B) のコイにおける濃縮度試験

(試験番号：505015)

信託局  
化学物質評価研究機構  
水質汚濁研究所

## 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 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 ジエチルジフェニル [別名：ジエチルビフェニル] (被験物質番号  
K-264B) のコイにおける濃縮度試験

試験番号 505015

上記試験は以下のGLPに従って実施したものです。

(1) 「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)

(2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)

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。

2004年7月21日

試験責任者



## 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 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 ジエチルジフェニル〔別名：ジエチルピフェニル〕（被験物質番号 K-264B）のコイにおける濃縮度試験

試験番号 505015

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又は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	2003年11月28日	2003年11月28日	2003年11月28日
	2003年12月12日	2003年12月15日	2003年12月15日
	2004年2月12日	2004年2月12日	2004年2月12日
	2004年3月2日	2004年3月2日	2004年3月2日
	2004年6月29日	2004年6月29日	2004年6月29日
	2004年7月14日	2004年7月14日	2004年7月14日
試験実施状況	2003年12月2日	2003年12月18日	2003年12月18日
	2003年12月15日	2003年12月18日	2003年12月18日
	2003年12月16日	2003年12月18日	2003年12月18日
	2003年12月25日	2004年1月23日	2004年1月23日
	2004年1月7日	2004年1月23日	2004年1月23日
	2004年1月22日	2004年1月23日	2004年1月23日
	2004年1月23日	2004年1月23日	2004年1月23日
	2004年2月12日	2004年2月25日	2004年2月25日
	2004年2月13日	2004年2月25日	2004年2月25日
	2004年2月16日	2004年2月25日	2004年2月25日
	2004年2月17日	2004年2月25日	2004年2月25日
	2004年2月19日	2004年2月25日	2004年2月25日
生データ及び最終報告書	2004年7月22日	2004年7月22日	2004年7月22日

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

2004年7月22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 .....	5
2. 急性毒性試験 .....	7
3. 濃縮度試験の実施 .....	10
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 .....	24
5. 試験結果 .....	25
6. 考 察 .....	34
7. 備 考 .....	36

## Tables

Table-1	試験水中の被験物質濃度 [本文中記載]
Table-2	濃縮倍率 [本文中記載]
Table-3	濃縮倍率の変動 [本文中記載]
Table-4	定常状態における試験水中の被験物質濃度 [本文中記載]
Table-5	排泄試験における残留率 [本文中記載]
Table-6	各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率 [本文中記載]
Table-7	回収試験及びブランク試験 (試験水分析) 計算表
Table-8	第1濃度区試験水分析計算表
Table-9	第2濃度区試験水分析計算表
Table-10	回収試験及びブランク試験 (供試魚分析) 計算表
Table-11	第1濃度区供試魚分析計算表
Table-12	第2濃度区供試魚分析計算表
Table-13	対照区供試魚分析計算表
Table-14	排泄試験供試魚分析計算表 (第1濃度区)
Table-15	排泄試験供試魚分析計算表 (第2濃度区)
Table-16	部位別試験供試魚分析計算表 (第1濃度区)
Table-17	部位別試験供試魚分析計算表 (第2濃度区)
Reference 1	試験用水の水質測定表
Reference 2	第1濃度区供試魚分析計算表 (60日後) (不純物モノエチル-9-メチルフルオレン)

## Figures

- Fig. 1           ばく露期間－濃縮倍率相関図（第1濃度区）
- Fig. 2           ばく露期間－濃縮倍率相関図（第2濃度区）
- Fig. 3           急性毒性試験における被験物質濃度－死亡率曲線
- Fig. 4           検量線
- Fig. 5           回収試験及びブランク試験（試験水分析）GC-MSマスフラグメントグラム
- Fig. 6           試験水分析GC-MSマスフラグメントグラム
- Fig. 7           回収試験及びブランク試験（供試魚分析）GC-MSマスフラグメントグラム
- Fig. 8           第1濃度区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム
- Fig. 9           第2濃度区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム
- Fig. 10          対照区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム
- Fig. 11          排泄試験供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム（第1濃度区）
- Fig. 12          排泄試験供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム（第2濃度区）
- Fig. 13          排泄曲線（第1濃度区）
- Fig. 14          排泄曲線（第2濃度区）
- Fig. 15          部位別試験供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム（第1濃度区）
- Fig. 16          部位別試験供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム（第2濃度区）
- Fig. 17-1        被験物質の赤外吸収スペクトル（実験開始前）
- Fig. 17-2        被験物質の赤外吸収スペクトル（実験終了後）
- Fig. 18          被験物質及び不純物の質量スペクトル
- Reference 3      検量線（不純物モノエチル-9-メチルフルオレン）
- Reference 4      第1濃度区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム  
                  （不純物モノエチル-9-メチルフルオレン）

表 題	ジエチルジフェニル [別名：ジエチルビフェニル] (被験物質番号 K-264B) のコイにおける濃縮度試験
試験委託者	独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構 (〒212-8554) 神奈川県川崎市幸区大宮町1310番
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	K-264B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	本試験は以下の試験法に従って行った。 (1) 「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〉 (2) 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」に定める "Bioconcentration : Flow-through Fish Test (Guideline 305, June 14, 1996)"
適用 GLP	本試験は以下の基準を適用した。 (1) 「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) (2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)

## 試験日程

試験開始日	2003年11月28日
実験開始日	2003年12月12日
実験終了日	2004年 2月19日
試験終了日	2004年 7月21日

## 試験資料の保管

## (1) 被験物質

被験物質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

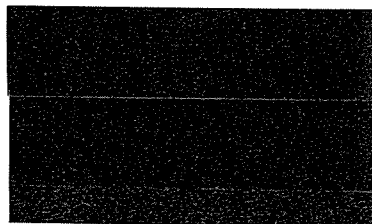
生データ、試験計画書、試験依頼書、その他必要な資料等は最終報告書と共に、試験委託者から通知を受けるまでの期間、久留米事業所資料保管室に保管する。

## 試験関係者

試験責任者



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

2004年7月21日

試験責任者





## 要 約

## 試験の表題

ジエチルジフェニル [別名：ジエチルビフェニル] (被験物質番号 K-264B) 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  | 第1濃度区 5 $\mu\text{g/L}$<br>第2濃度区 0.5 $\mu\text{g/L}$ |
| (3) ばく露期間 | 60日間   |
| (4) ばく露方法 | 連続流水式  |
| (5) 分析方法  | ガスクロマトグラフィーー質量分析法                                    |

## 試験結果

- |                  |           |
|------------------|-----------|
| (1) 96時間LC50値    | 0.916mg/L |
| (2) 定常状態における濃縮倍率 |           |

	第1濃度区	第2濃度区
ピークA	7100	5600
ピークB	2500	1300
ピークC	1900	970
ピークD	4600	3600

- |           |  |
|-----------|--|
| (3) 排泄半減期 |  |
|-----------|--|

	第1濃度区	第2濃度区
ピークA	1.4 日	1.1 日
ピークB	1.1 日	0.88日
ピークC	0.91日	0.74日
ピークD	1.5 日	1.8 日

## (4) 各部位における濃縮倍率

ピーク	部 位	第1濃度区	第2濃度区
A	外皮	7200	1800
		8600	4800
	頭部	12000	5200
		13000	6900
	内臓	14000	4000
		23000	11000
	可食部	4500	2000
		5200	2800
B	外皮	1900	400
		2300	2000
	頭部	2900	1100
		3100	2600
	内臓	3100	770
		6000	3700
	可食部	1300	350
		1400	920
C	外皮	1800	440
		2100	1500
	頭部	2700	790
		2500	2000
	内臓	2800	≤ 30
		5700	2800
	可食部	1100	230
		1100	540
D	外皮	3900	≤ 200
		5000	4400
	頭部	6900	2500
		7000	6500
	内臓	6500	≤ 200
		14000	12000
	可食部	2700	940
		3400	2100

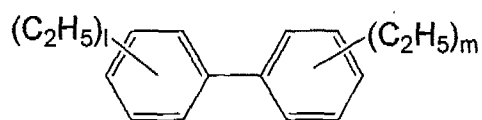
## 1. 被 験 物 質

本報告書においてK-264Bは、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称 ジエチルビフェニル

## 1.2 構造式等

構造式



$l + m = 2$   $l, m$ は整数

分子式  $C_{16}H_{18}$

分子量 210.31

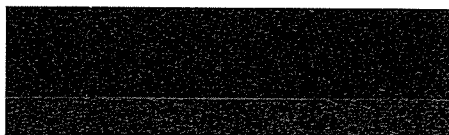
CAS No. 28575-17-9

## 1.3 提供者、商品名及びロット番号\*1

(1) 提 供 者

(2) 商 品 名

(3) ロット番号



\*1 提供者添付資料による。

## 1.4 純 度\*2

(1) 被 験 物 質	96.6%	
(2) 不 純 物	ジメチルフルオレン又はエチルフルオレン	0.8%
	メチルエチルビフェニル	0.1%
	モノエチル-9-メチルフルオレン	0.9%
	トリエチルビフェニル(官報公示整理番号 4-16)	1.2%
	その他	0.4%

被験物質は純度100%として取り扱った。

\*2 GCによる。

## 1.5 被験物質の確認

久留米事業所において赤外吸収スペクトル (Fig.17参照)、質量スペクトル (Fig.18参照) により構造を確認した。

## 1.6 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.17参照)。 |

## 1.7 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><br>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             | 中島養魚場<br>(住所 〒 869-0123 熊本県玉名郡長洲町大字長洲 2029)   |
| (3) 畜養条件<br>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44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<br>期 間 等 | 蓄養後、じゅん化水槽へ搬入し薬浴した。その後、水温25±2℃の流水状態で7日間じゅん化した。その間異常のあるものは除去した。<br>再度選別して薬浴を実施した後、流水状態で32日間じゅん化した。     |
| 薬 浴                 | じゅん化水槽へ搬入して、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。<br>再度選別して、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。 |
| (5) 体 重             | 平均 0.18g  |
| (6) 全 長             | 平均 2.7cm  |
| (7) 感受性試験           | 同一ロット（TF0-031020）の供試魚による基準物質PCP-Na〔ペンタクロ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0.755mg/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2003年11月11日に採水し、測定を行った結果をReference 1に示す（測定頻度1回/6ヶ月）。試験用水の測定を行った各項目は、以下に示す基準のいずれかに適合していることを確認した。

- ① 「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）
- ② 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」"Fish, Early-life Stage Toxicity Test (Guideline 210, July 17, 1992)"
- ③ 「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）
- ④ 「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）
- ⑤ 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」"Bioconcentration : Flow-through Fish Test (Guideline 305, June 14, 1996)"

## 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           | 25.1～25.2℃  |
|            | 換水前              | 25.0℃       |
| (4) 溶存酸素濃度 | ばく露開始時           | 8.1mg/L     |
|            | 換水前              | 7.7～7.9mg/L |
| (5) pH     | ばく露開始時           | 8.0～8.2     |
|            | 換水前              | 7.7～8.1     |
| (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-メトキシエタノール

### (2) 調製方法

被験物質とその5倍量のHCO-40を2-メトキシエタノールに溶解して、被験物質濃度として2000mg/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                2003年12月 1日 ～ 2003年12月 5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                    0.916mg/L\*<sup>3</sup>    (Fig.3参照)

\*3 この際の使用した分散剤HC0-40及び2-メトキシエタノールの濃度は、それぞれ4.58mg/L及び0.458mL/Lとなる。

### 3. 濃縮度試験の実施

濃縮倍率が1000倍を超えたため、部位別試験及び排泄試験を行った。

#### 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<br>大きさが扱い易いため。   |
| (2) 供 給 源            | 福岡県矢部川漁業協同組合<br>(住所 〒 834-0012 福岡県八女市大字山内 748)<br>供試魚受入日 2003年10月14日  |
| (3) 畜 養 条 件<br>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、<br>受入槽で病気予防及び寄生虫駆除の薬浴を行った後、<br>流水状態で14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<br>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<br>30μL/Lの24時間薬浴を1回実施した。                                    |
| (4) じゅん化条件<br>期 間 等  | 蓄養後、じゅん化水槽へ搬入して薬浴した。その後、水温<br>25±2℃の流水状態で18日間じゅん化した。その間異常の<br>あるものは除去した。<br>再度選別して試験水槽へ移し、薬浴した。その後、同温度<br>の流水状態で23日間じゅん化した。 |
| 薬 浴                  | じゅん化水槽では水産用OTC(塩酸オキシテトラサイクリン)<br>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。<br>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<br>混合薬浴を24時間実施した。     |
| (5) 全 長              | 6.5～9.7cm   |
| (6) ロ ッ ト            | TFC-031014  |
| (7) 年 齢              | 当才魚   |
| (8) 餌 料              | コイ稚魚育成用配合飼料   |
| 種 類                  |   |
| 組 成                  | たん白質含量 43.0%以上<br>脂 質 含 量 3.0%以上  |
| 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（休日は1回にまとめた。）<br>に分けて給餌した。<br>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	原液0.04mL/分及び試験用水2000mL/分の割合で2880L/日を試験水槽に供した。
排泄期間	試験用水2000mL/分で2880L/日を試験水槽に供した。
(4) 原液タンク	1L容ガラス製褐色びん 交換頻度 2回/月
(5) 試験温度	第1濃度区 25.0～25.5℃ 第2濃度区 24.8～25.2℃ 対照区 25.0～25.5℃
(6) 溶存酸素濃度	第1濃度区 7.8～8.1mg/L 第2濃度区 7.9～8.1mg/L 対照区 8.1mg/L
(7) pH	第1濃度区 7.3～7.9 第2濃度区 7.3～7.9 対照区 7.3～7.9
(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	第1及び第2濃度区 54尾（ばく露開始時） 対照区 12尾（ばく露開始時）
(10) ばく露期間	60日間 理由：60日間で定常状態に達したため。
(11) 排泄期間	3日間 理由：排泄半減期が得られたため。
(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)に同じ。

#### (2) 調製方法

##### ・第1濃度区

2.5の(2)と同様にして被験物質濃度として250mg/Lの原液を調製した。

##### ・第2濃度区

2.5の(2)と同様にして被験物質濃度として25mg/Lの原液を調製した。

##### ・対照区

HCO-40を2-メトキシエタノールに溶解し、HCO-40濃度として1250mg/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、

第1濃度区        5     $\mu\text{g/L}$

第2濃度区        0.5  $\mu\text{g/L}$

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（休日は1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

試験水及び供試魚の中の被験物質分析はガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）により行った。

提供試料をガスクロマトグラフィー質量分析法で分析したところ、21本のピークが検出された。各々のピークについて同定を行ったところ、分子イオン及びフラグメントイオンの質量数より、8本のピークが被験物質であると同定された。そこで、定量可能な被験物質ピーク4本について定量を行った。ただし、各ピークの濃度は、成分組成を考慮せず、3.7.3(2)標準溶液の調製で示す被験物質濃度として表示した。各ピークは溶出順にピークA～ピークDとした。

#### 3.7.1 分析回数

##### (1) 試験水

試験水分析は第1、第2濃度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

供試魚分析は第1、第2濃度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)\*4に分けて行った。

排泄試験の供試魚分析はピークA、B及びCについては4回、ピークDについては5回行い、1回当たりの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)に分けて行った。部位別試験の供試魚分析は1回行い、採取尾数は2尾とし、1尾ずつ分析した。

対照区は実験開始前及び終了後に行い、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、脂質含量測定用として2尾を追加で取り上げ、3群(2尾1群)とした。

\*4 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 分析試料の前処理法

#### (1) 試験水中の被験物質

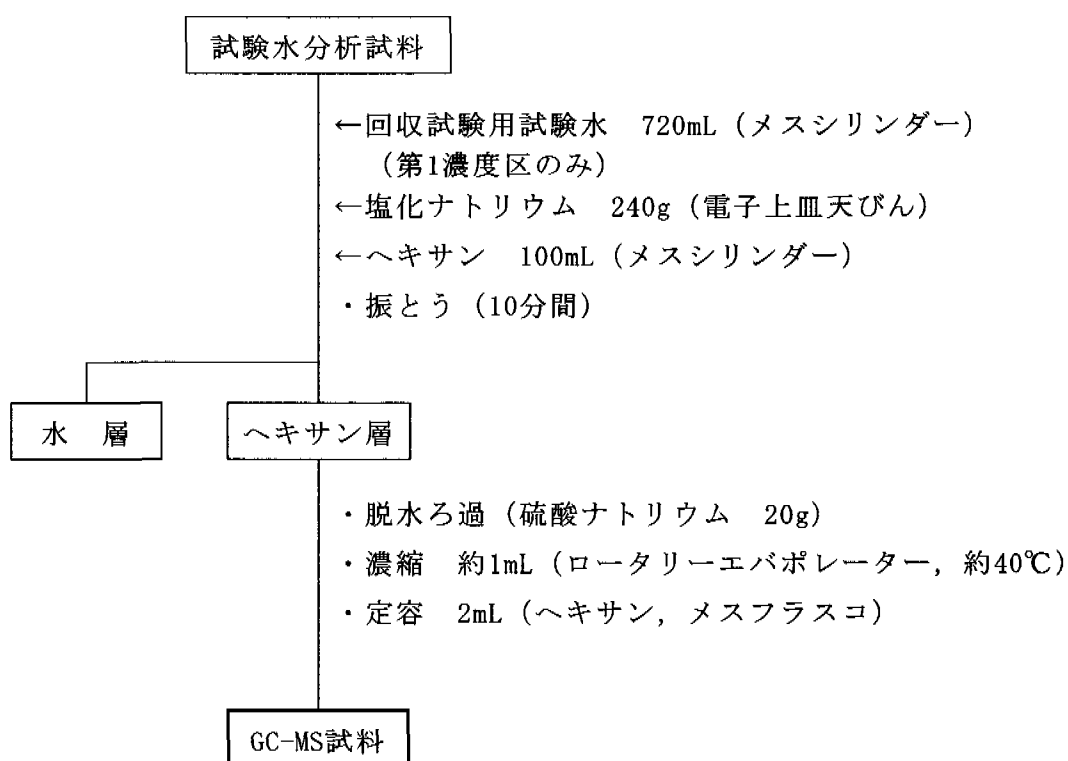
試験水槽から

第1濃度区            80mL

第2濃度区            800mL

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、ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）試料とした。

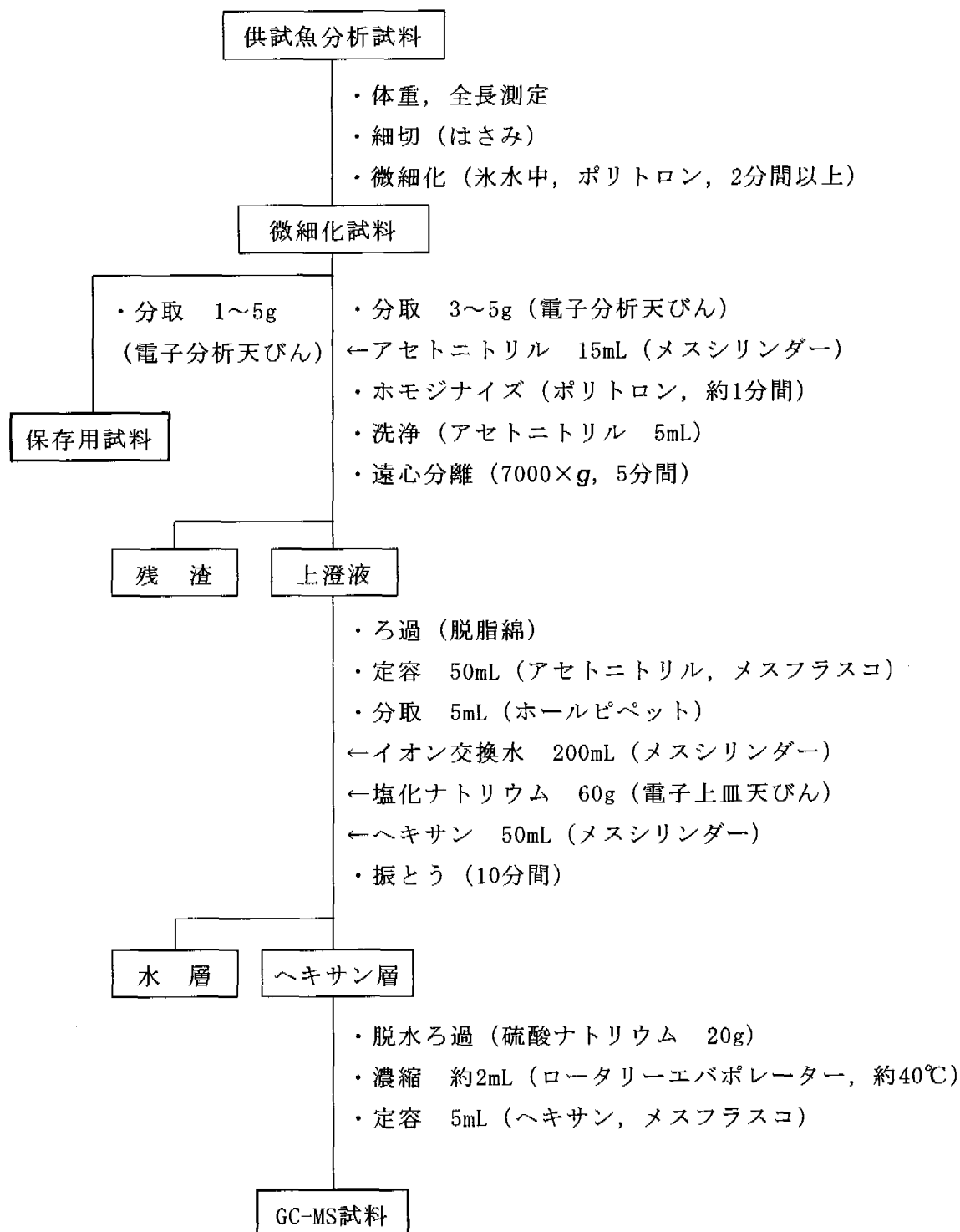
フロースキーム



## (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、ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）試料とした。ただし、部位別試験においては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。

## 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GC-MS試料について、下記の定量条件に基づきガスクロマトグラフィー質量分析法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。GC-MS試料中の被験物質濃度は、標準溶液及びGC-MS試料のマスフラグメン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-8, 9、Fig.6、Table-11, 12, 13, 14, 15, 16, 17、Fig.8, 9, 10, 11, 12, 15, 16参照)。

#### (1) 定量条件

機	器	ガスクロマトグラフー質量分析計
		Thermo Quest製 POLARIS Q

#### ガスクロマトグラフ条件

カ	ラ	ム	DB-WAX J&W Scientific製
			30m×0.25mmI.D. 膜厚 0.25μm フューズドシリカ製
カ	ラ	ム 温 度	100℃ (0min) →230℃ (0min) (昇温速度 4℃/min)
キャ	リ	アガス	ヘリウム
ス	プ	リット流量	30mL/min
カ	ラ	ム 流 量	1.0mL/min
注	入	口 温 度	300℃
ト	ラ	ンスファーライン温度	280℃
注	入	量	4μL
注	入	法	スプリットレス注入法
サ	ー	ジ 圧	180kPa
サ	ン	プ	リン
グ		時間	1min

#### 質量分析計条件

イ	オ	ン 化 法	電子衝撃法 (EI)
検	出	イ オ ン	正イオン
検	出	法	選択イオンモニタリング (SIM)
測	定	イオン(m/z)	210
イ	オ	ン 源 温 度	250℃
イ	オ	ン 化 エ ネ ル ギ ー	70eV

## (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。

被験物質100mgを正確にはかりとり、ヘキサンに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをヘキサンで希釈して0.200mg/Lの標準溶液とした。

## (3) 検量線の作成

(2)の標準溶液の調製と同様にして0.100、0.200及び0.400mg/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マスフラグメン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以下のようにした (Fig. 4 参照)。

	ノイズレベル	被験物質濃度 (μg/L)
ピークA	280	1.5
ピークB	280	0.27
ピークC	280	1.4
ピークD	280	9.2

### 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。供試魚分析の回収試験及びブランク試験における微細化試料の分取量は5gとした。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（Table-7, 10、Fig.5, 7参照）。

#### 分析操作における回収率

##### 試験水分析（被験物質400ng添加）

ピークA	95.6%,	97.9%	平均	96.7%
ピークB	91.7%,	96.1%	平均	93.9%
ピークC	97.0%,	100%	平均	98.5%
ピークD	99.1%,	99.2%	平均	99.1%

##### 供試魚分析（被験物質20000ng添加）

ピークA	95.8%,	98.7%	平均	97.2%
ピークB	96.2%,	94.5%	平均	95.4%
ピークC	99.5%,	99.8%	平均	99.6%
ピークD	98.2%,	97.1%	平均	97.6%

### 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。



### 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-8, 9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)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、

第1濃度区	ピークA	0.040	μg/L
	ピークB	0.0072	μg/L
	ピークC	0.035	μg/L
	ピークD	0.23	μg/L
第2濃度区	ピークA	0.0040	μg/L
	ピークB	0.00072	μg/L
	ピークC	0.0035	μg/L
	ピークD	0.023	μg/L

と算出される。

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

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) 供試魚分析試料中の被験物質濃度の算出

Table-11, 12, 13, 14, 15, 16及び17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)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

ピークA	16	ng/g
ピークB	2.8	ng/g
ピークC	14	ng/g
ピークD	94	ng/g

と算出される。

## 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 (μg/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 (μg/L)

$C_w(n)$  : n回目の試験水中被験物質濃度 (μg/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） ( $\text{ng/g}$ )

$\overline{C_w}$  : 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 ( $\text{ng/g}$ )

#### (3) m回目の濃縮倍率の平均値

$$\text{BCF}_m = (\text{BCF}_a + \text{BCF}_b) / n$$

$\text{BCF}_m$  : m回目の濃縮倍率の平均値（群数2(a, b)）

$\text{BCF}_{a, b}$  : m回目における各群の濃縮倍率

n : m回目に分析した群数

### 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。

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

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

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

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

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

$BCF(m-2)$ ,  $BCF(m-1)$ ,  $BCF(m)$  :  $m-2$ ,  $m-1$ ,  $m$ 回目における群数 $n$ の濃縮倍率の平均値

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

3.7.10 定常状態における濃縮倍率（BCF<sub>ss</sub>）の算出法

定常状態における濃縮倍率（BCF<sub>ss</sub>）は、次の式により算出した。

## (1) 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

$$\overline{C_{ws}} = \{C_w(n-2) + C_w(n-1) + C_w(n)\} / 3$$

$\overline{C_{ws}}$  : 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（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）（μg/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（μg/L）

## (2) 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度の算出

$$\overline{C_{fs}} = \{C_f(m-2) + C_f(m-1) + C_f(m)\} / 3$$

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

$C_f(m)$  : 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）

## (3) 定常状態における濃縮倍率の算出

$$BCF_{ss} = \overline{C_{fs}} / \overline{C_{ws}}$$

$BCF_{ss}$  : 定常状態における濃縮倍率

$\overline{C_{fs}}$  : 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（μg/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、下記の倍率を超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。

第1濃度区	ピークA	3.3 倍
	ピークB	0.61 倍
	ピークC	3.0 倍
	ピークD	20 倍
第2濃度区	ピークA	33 倍
	ピークB	6.1 倍
	ピークC	30 倍
	ピークD	200 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83%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	ピーク	10日後	13日後	27日後	41日後	53日後	60日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
1	A	4.58	4.69	4.93	4.88	4.80	4.70	4.76 (0.133)	8-1	6
	B	4.52	4.72	4.65	4.75	4.74	4.76	4.69 (0.092)	8-2	
	C	4.48	4.62	4.73	4.70	4.60	4.81	4.66 (0.115)	8-3	
	D	4.85	4.51	4.78	4.84	4.58	4.92	4.75 (0.164)	8-4	
2	A	0.448	0.483	0.500	0.490	0.482	0.490	0.482 (0.0179)	9-1	
	B	0.429	0.456	0.452	0.483	0.473	0.491	0.464 (0.0228)	9-2	
	C	0.417	0.431	0.456	0.478	0.473	0.475	0.455 (0.0255)	9-3	
	D	0.475	0.461	0.491	0.481	0.457	0.499	0.477 (0.0165)	9-4	

### 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及びFig. 2に示した。ばく露期間中の濃縮倍率は以下のとおりであった。

第1濃度区	ピークA	6100～7500倍
	ピークB	1500～3000倍
	ピークC	1300～2200倍
	ピークD	3800～5200倍
第2濃度区	ピークA	4300～7300倍
	ピークB	940～2000倍
	ピークC	940～1400倍
	ピークD	3200～4800倍

Table-2 濃縮倍率

( ) 内は平均値

濃度区	ピーク	13日後	27日後	41日後	53日後	60日後	Table	Fig.
1	A	7100 6100 (6600)	7500 7100 (7300)	7500 6800 (7200)	7300 7200 (7300)	7100 6500 (6800)	11-1	8
	B	2300 2000 (2100)	1500 1500 (1500)	2400 2300 (2300)	2500 2300 (2400)	3000 2300 (2600)	11-2	
	C	1900 1700 (1800)	1300 1400 (1300)	1800 1800 (1800)	2000 1900 (1900)	2200 1600 (1900)	11-3	
	D	4400 4200 (4300)	4100 3800 (3900)	4500 4300 (4400)	4500 4900 (4700)	5200 4500 (4800)	11-4	
2	A	6400 7300 (6900)	6100 5200 (5700)	4600 4300 (4500)	6300 5100 (5700)	6200 6600 (6400)	12-1	9
	B	1700 1600 (1700)	1300 2000 (1600)	1300 940 (1100)	1300 1300 (1300)	1300 1700 (1500)	12-2	
	C	1400 1300 (1300)	940 1300 (1100)	970 720 (840)	1000 990 (1000)	970 1300 (1100)	12-3	
	D	3700 3600 (3600)	3600 4800 (4200)	3700 3200 (3500)	3700 3900 (3800)	3200 4200 (3700)	12-4	



## 5.3 定常状態における濃縮倍率

定常状態に達したかどうかの確認を下記のとおり行った。

Table-3 濃縮倍率の変動 (得られた結果を5ケタまで表示した値)

濃度区	ピーク		41日後	53日後	60日後	3回の平均
1	A	平均濃縮倍率	7180.4	7254.9	6786.8	7074.0
		3回の平均からの乖離率(%)	1.5040	2.5564	4.0604	
	B	平均濃縮倍率	2320.5	2437.9	2647.6	2468.6
		3回の平均からの乖離率(%)	6.0005	1.2468	7.2473	
	C	平均濃縮倍率	1814.0	1930.9	1885.1	1876.7
		3回の平均からの乖離率(%)	3.3365	2.8884	0.44818	
	D	平均濃縮倍率	4440.0	4701.8	4847.2	4663.0
		3回の平均からの乖離率(%)	4.7818	0.83171	3.9500	
2	A	平均濃縮倍率	4486.4	5694.2	6414.5	5531.7
		3回の平均からの乖離率(%)	18.896	2.9381	15.958	
	B	平均濃縮倍率	1103.9	1321.8	1506.6	1310.8
		3回の平均からの乖離率(%)	15.780	0.84084	14.939	
	C	平均濃縮倍率	842.68	1011.8	1118.1	990.91
		3回の平均からの乖離率(%)	14.959	2.1153	12.843	
	D	平均濃縮倍率	3466.8	3798.7	3688.0	3651.2
		3回の平均からの乖離率(%)	5.0503	4.0416	1.0087	

上記の結果から、41、53及び60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%以内であったため、定常状態に達していると判断した。それらの結果を用いて、定常状態における濃縮倍率を算出した。

## (1) 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、設定値に対しては以下のとおりであった。

第1濃度区	ピークA	96%
	ピークB	95%
	ピークC	94%
	ピークD	96%
第2濃度区	ピークA	97%
	ピークB	97%
	ピークC	95%
	ピークD	96%

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	ピーク	41日後	53日後	60日後	平均	Table	Fig.
1	A	4.88	4.80	4.70	4.79	8-1, 11-1	6
	B	4.75	4.74	4.76	4.75	8-2, 11-2	
	C	4.70	4.60	4.81	4.70	8-3, 11-3	
	D	4.84	4.58	4.92	4.78	8-4, 11-4	
2	A	0.490	0.482	0.490	0.487	9-1, 12-1	
	B	0.483	0.473	0.491	0.482	9-2, 12-2	
	C	0.478	0.473	0.475	0.475	9-3, 12-3	
	D	0.481	0.457	0.499	0.479	9-4, 12-4	

## (2) 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。

第1濃度区	ピークA	7100倍
	ピークB	2500倍
	ピークC	1900倍
	ピークD	4600倍
第2濃度区	ピークA	5600倍
	ピークB	1300倍
	ピークC	970倍
	ピークD	3600倍

## 5.4 排泄試験

66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、定常状態における供試魚中被験物質濃度の平均値を100として、ピークA、B及びCについては排泄試験開始0.26、1、1.3及び2日後、ピークDについては排泄試験開始0.26、1、1.3、2及び3日後の供試魚中被験物質の残留率（%）を算出した（Table-14, 15、Fig.11, 12参照）。

また、排泄試験における残留率と排泄期間との相関をFig.13, 14に示した。

これらの結果から、排泄半減期は以下のとおりであった。

第1濃度区	ピークA	1.4 日
	ピークB	1.1 日
	ピークC	0.91 日
	ピークD	1.5 日
第2濃度区	ピークA	1.1 日
	ピークB	0.88 日
	ピークC	0.74 日
	ピークD	1.8 日

Table-5 排泄試験における残留率

(単位 %)

濃度区	ピーク	0.26日後	1日後	1.3日後	2日後	3日後	Table	Fig.
1	A	86 120	60 104	45 51	44 48		14-1	11
	B	93 107	53 43	37 45	31 33		14-2	
	C	97 114	52 43	37 50	28 27		14-3	
	D	106 117	69 74	45 55	52 62	25 29	14-4	
2	A	121 117	85 57	59 58	38 39		15-1	12
	B	121 119	60 63	38 38	31 34		15-2	
	C	94 98	40 38	28 23	21 18		15-3	
	D	109 113	88 96	63 50	60 61	36 39	15-4	

## 5.5 部位別試験

62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-6-1 各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率

濃度区	ピーク	部 位	各部位における被験物質 濃度 (ng/g)	濃縮倍率	Table	Fig.
1	A	外 皮	34700	7200	16-1	15
			41100	8600		
		頭 部	57100	12000		
			62600	13000		
	内 臓	66400	14000			
		112000	23000			
	可食部	21500	4500			
		24700	5200			
	B	外 皮	9000	1900	16-2	
			10700	2300		
		頭 部	14000	2900		
			14600	3100		
	内 臓	14700	3100			
		28600	6000			
	可食部	6200	1300			
		6620	1400			
C	外 皮	8330	1800	16-3		
		9720	2100			
	頭 部	12500	2700			
		11900	2500			
内 臓	13300	2800				
	26800	5700				
可食部	5260	1100				
	5370	1100				
D	外 皮	18500	3900	16-4		
		24000	5000			
	頭 部	33100	6900			
		33200	7000			
内 臓	30900	6500				
	68400	14000				
可食部	13000	2700				
	16400	3400				

Table-6-2 各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率

濃度区	ピーク	部 位	各部位における被験物質 濃度 (ng/g)	濃縮倍率	Table	Fig.
2	A	外 皮	853 2340	1800 4800	17-1	16
		頭 部	2530 3360	5200 6900		
		内 臓	1960 5250	4000 11000		
		可食部	974 1360	2000 2800		
	B	外 皮	194 963	400 2000	17-2	
		頭 部	513 1270	1100 2600		
		内 臓	370 1770	770 3700		
		可食部	168 446	350 920		
	C	外 皮	207 727	440 1500	17-3	
		頭 部	378 938	790 2000		
		内 臓	- 1330	≤ 30 2800		
		可食部	108 257	230 540		
	D	外 皮	- 2080	≤ 200 4400	17-4	
		頭 部	1180 3130	2500 6500		
		内 臓	- 5740	≤ 200 12000		
		可食部	451 1000	940 2100		

(-) 不検出を示す

#### 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。

実験開始前	2.62%
実験終了後	4.78%

#### 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) 被験物質の組成比について

提供試料をガスクロマトグラフィー (GC) で分析したところ、26本のピークが検出された。各々のピークについてガスクロマトグラフィー質量分析法で分析したところ、分子イオン及びフラグメントイオンの質量数より、8本のピークが被験物質であると同定された (Fig. 18参照)。各々のピークについて、提供者添付試料とガスクロマトグラフィー質量分析法で分析した分子イオン及びフラグメントイオンの質量数より構造推定された化合物を以下に示す。各成分組成はガスクロマトグラフィーから算出した。

ピーク	化学物質名	定量 ピーク	質量数	成分組成 (%)
1	不明		—	0.01
2	不明		—	0.04
3	不明		—	0.04
4	不明		—	0.05
5	不明		—	0.02
6	トリエチルビフェニル		238	0.40
7	ジエチルビフェニル		210	0.04
8	トリエチルビフェニル		238	0.42
9	トリエチルビフェニル		238	0.34
10	メチルエチルビフェニル and トリエチルビフェニル		196, 238	0.07
11	メチルエチルビフェニル and ジエチルビフェニル		196, 210	0.09
12	ジエチルビフェニル	A	210	13.26
13	不明		224	0.19
14	ジエチルビフェニル	B	210	64.15
15	ジエチルビフェニル		210	1.18
16	不明		224	0.04
17	ジエチルビフェニル	C	210	15.17
18	ジエチルビフェニル	D	210	2.50
19	エチルフルオレン or ジメチルフルオレン		194	0.54
20	ジエチルビフェニル		210	0.29
21	エチルフルオレン or ジメチルフルオレン		194	0.18
22	エチルフルオレン or ジメチルフルオレン		194	0.07
23	モノエチル-9-メチルフルオレン		208	0.50
24	モノエチル-9-メチルフルオレン		208	0.33
25	モノエチル-9-メチルフルオレン		208	0.03
26	メチルエチルビフェニル		196	0.10



## (2) 濃縮倍率について

本試験における濃縮倍率及び定常状態における濃縮倍率は、5.2及び5.3に示したように各ピークで濃縮倍率に差が認められた。被験物質のピークA～Dは(1)で示したように構造異性体であることから、ジエチル基の位置の違いにより濃縮倍率に差が生じたものと考えられるが、ジエチル基の位置の特定は困難であった。

## (3) 加重平均濃縮倍率について

本試験における加重平均濃縮倍率を以下に示す。

( ) 内は平均値

濃度区	13日後	27日後	41日後	53日後	60日後
1	2800	2200	2900	3000	3400
	2500	2200	2700	2900	2700
	(2600)	(2200)	(2800)	(2900)	(3000)
2	2300	1900	1700	1900	1900
	2300	2300	1400	1800	2300
	(2300)	(2100)	(1500)	(1900)	(2100)

## (4) 脂質含量について

本試験における実験終了後の脂質含量（平均値）の変動は、実験開始前に対して82%と±25%を超えた。実験開始前及び実験終了後の脂質含量の平均値が、お互いに差があるかを調べるために、各3点の測定データを用いて分散分析を行った。その結果、有意水準 $p=0.05$ としたとき有意差なしとなった。従って、本試験における82%の変動は、生物個体差（生理的条件や摂餌量等）のばらつきの範囲内であると考えられる。なお、脂質含量の変動及びばらつきについては、摂餌方法等の検討を継続し改善を目指している。

## (5) 不純物の濃縮性について

提供試料中に極微量含まれる不純物モノエチル-9-メチルフルオレンの濃縮性について、60日後の第1濃度区分析試料を以下のとおり確認した。

定量分析条件は標準溶液を1.00mg/L、被験物質定量条件のカラム温度を100℃ (0min) → 230℃ (0min)（昇温速度6℃/min）、測定イオンを $m/z$  208にそれぞれ変更して行った（Reference 3, 4参照）。標準溶液では、2本のピークを確認した。これらは、マスフラグメントグラム上で完全分離できなかったため、トータル面積で定量分析を行った。分析試料については、マスフラグメントグラム上で保持時間の遅いピークのみ濃縮性が確認された。被験物質ピークA～Dの回収率及び試験水濃度（41、53及び60日後の試験水中平均被験物質濃度）の平均値を用いて算出した結果、濃縮倍率は76000倍及び47000倍であった（Reference 2参照）。

## 7. 備 考

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	: 日本精密科学製	型 SP-D-2500
		型 SP-Y-2500(S)
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・機器及び試薬

## 装置・機器

ガスクロマトグラフー質量分析計	: 16頁参照	
天びん	: ザルトリウス製	型 BP301S
	: ザルトリウス製	型 1404MP8
	: メトラー製	型 AB204-S
	: ザルトリウス製	型 1216MP
	: エー・アンド・ディ製	型 FA-2000
ロータリーエバポレーター	: 東京理化工機製	型 N-1000K
振とう機	: タイテック製	型 SR-2W
ホモジナイザー（ポリトロン）	: キネマチカ製	型 PT3100
遠心分離機	: 日立工機製	型 CR21G

## 試薬

アセトニトリル	: 和光純薬工業製	HPLC用
ヘキサン	: シグマ アルドリッチ ジャパン製	残留農薬分析用
2-メトキシエタノール	: 和光純薬工業製	試薬特級
塩化ナトリウム	: マナック製	試薬一級
硫酸ナトリウム（無水）	: 関東化学製	試薬一級
HCO-40	: 日光ケミカルズ製	

## (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	: メトラー製	型 AB204-S
	ザルトリウス製	型 BP301S
ロータリーエバポレーター	: 東京理化学器械製	型 N-1
	東京理化学器械製	型 N-1000K
ホモジナイザー (ポリトロン)	: キネマチカ製	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)	: 関東化学製	試薬一級

## (4) 被験物質の構造確認に使用した装置・機器

フーリエ変換赤外分光光度計	: 島津製作所製	型 FTIR-8200PC
ガスクロマトグラフィー質量分析計	: Thermo Quest製	型 POLARIS Q