

## 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

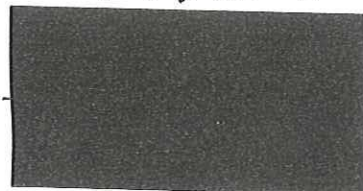
試験の表題 トリエチルジフェニル [別名：トリエチルビフェニル] (被験物質  
番号 K-264C) のコイにおける濃縮度試験

試験番号 505016

本最終報告書（電子媒体上のPDFファイル）は、上記試験の最終報告書を正確にコピー  
したものです。

2004年7月22日

運営管理者



# 最 終 報 告 書

トリエチルジフェニル〔別名：トリエチルビフェニル〕（被験物質番号 K-264C）の  
コイにおける濃縮度試験

（試験番号：505016）

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

試験番号 505016

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

試験番号 505016

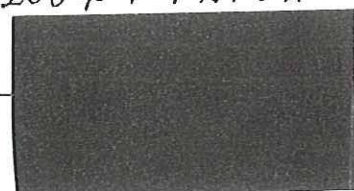
上記試験は財団法人化学物質評価研究機構久留米事業所の信頼性保証部門が監査又は査察を実施しており、監査又は査察を行った内容、日付並びに試験責任者及び運営管理者に報告を行った日付は以下の通りです。

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 12 月 8 日	2003 年 12 月 8 日	2003 年 12 月 8 日
	2004 年 2 月 19 日	2004 年 2 月 19 日	2004 年 2 月 19 日
	2004 年 3 月 1 日	2004 年 3 月 1 日	2004 年 3 月 1 日
	2004 年 3 月 16 日	2004 年 3 月 16 日	2004 年 3 月 16 日
	2004 年 6 月 2 日	2004 年 6 月 2 日	2004 年 6 月 2 日
	2004 年 6 月 28 日	2004 年 6 月 28 日	2004 年 6 月 28 日
試 験 実 施 状 況	2003 年 12 月 9 日	2003 年 12 月 19 日	2003 年 12 月 19 日
	2003 年 12 月 18 日	2003 年 12 月 19 日	2003 年 12 月 19 日
	2003 年 12 月 19 日	2003 年 12 月 19 日	2003 年 12 月 19 日
	2003 年 12 月 26 日	2004 年 1 月 6 日	2004 年 1 月 6 日
	2004 年 1 月 5 日	2004 年 1 月 6 日	2004 年 1 月 6 日
	2004 年 2 月 20 日	2004 年 3 月 1 日	2004 年 3 月 1 日
	2004 年 2 月 24 日	2004 年 3 月 1 日	2004 年 3 月 1 日
	2004 年 2 月 26 日	2004 年 3 月 1 日	2004 年 3 月 1 日
	2004 年 2 月 27 日	2004 年 3 月 1 日	2004 年 3 月 1 日
生データ及び最終報告書	2004 年 7 月 15 日	2004 年 7 月 15 日	2004 年 7 月 15 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 15 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 .....	6
2. 急性毒性試験 .....	8
3. 濃縮度試験の実施 .....	11
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 .....	37
7. 備 考 .....	40

## 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	濃縮倍率の変動(平均脂質含量で補正) [本文中記載]
Table-5	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-6	排泄試験における残留率 [本文中記載]
Table-7	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-8	脂質含量 [本文中記載]
Table-9	回収試験及びブランク試験 (試験水分析) 計算表
Table-10	第1濃度区試験水分析計算表
Table-11	第2濃度区試験水分析計算表
Table-12	回収試験及びブランク試験 (供試魚分析) 計算表
Table-13	第1濃度区供試魚分析計算表
Table-14	第2濃度区供試魚分析計算表
Table-15	対照区供試魚分析計算表
Table-16	平均脂質含量で補正した供試魚分析計算表 (第2濃度区) (ピークD)
Table-17	排泄試験供試魚分析計算表 (第1濃度区)
Table-18	排泄試験供試魚分析計算表 (第2濃度区)
Table-19	部位別試験供試魚分析計算表 (第1濃度区)
Table-20	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	濃縮倍率 (ジエチル-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           試験水分析用検量線
- 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           供試魚分析用検量線
- Fig. 8           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. 9           第1濃度区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム
- Fig. 10          第2濃度区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム
- Fig. 11          対照区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム
- 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1濃度区）
- Fig. 13          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. 14          排泄曲線（第1濃度区）
- Fig. 15          排泄曲線（第2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1濃度区）
- Fig. 17          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. 18-1        被験物質の赤外吸収スペクトル（実験開始前）
- Fig. 18-2        被験物質の赤外吸収スペクトル（実験終了後）
- Fig. 19          提供試料の質量スペクトル
- Reference 3      供試魚分析用検量線（ジエチル-9-メチルフルオレン）
- Reference 4      供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム  
                  （ジエチル-9-メチルフルオレン）

表 題	トリエチルジフェニル [別名：トリエチルビフェニル] (被験物質番号 K-264C) 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-264C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12月 8日
実験開始日	2003年12月19日
実験終了日	2004年 3月12日
試験終了日	2004年 7月15日

## 試験資料の保管

## (1) 被験物質


提供試料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

2004年 7月15日

試験責任者

## 要 約

## 試験の表題

トリエチルジフェニル [別名：トリエチルビフェニル] (被験物質番号 K-264C)  
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 7.95 $\mu\text{g/L}$<br>第2濃度区 0.795 $\mu\text{g/L}$ |
| (3) ばく露期間   | 第1濃度区 60日間<br>第2濃度区 70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質量分析法  |

## 試験結果

(1) 96時間LC50値

&gt; 2.00mg/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	2400	5800
ピークB	1100	1600
ピークC	1800	5300
ピークD	1400	-
ピークE	790	1300

(3) 濃縮倍率

	第1濃度区	第2濃度区
ピークA	1000～2900	2200～7000
ピークB	590～1300	780～1900
ピークC	790～2000	1900～6200
ピークD	710～1700	1400～3700
ピークE	510～1100	540～1600

(4) 排泄半減期

	第1濃度区	第2濃度区
ピークA	4.1日	5.3日
ピークB	2.6日	1.8日
ピークC	3.2日	4.5日
ピークD	2.4日	2.3日
ピークE	-	1.3日

## (5) 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	2900	4700
		3400	4800
	頭部	4100	6900
		4600	7100
B	内臓	5300	5900
		5800	14000
	可食部	1600	2300
		1800	2400
C	外皮	1700	1600
		1800	1800
	頭部	1800	1800
		2100	2300
D	内臓	2100	1500
		2600	4000
	可食部	630	660
		760	710
E	外皮	2100	4400
		2600	4500
	頭部	2800	6500
		3200	6400
F	内臓	3500	4700
		3600	11000
	可食部	1100	2100
		1300	2100
G	外皮	1900	2800
		2400	3100
	頭部	2400	3600
		2700	4000
H	内臓	3000	3100
		3400	7800
	可食部	900	1100
		1100	1400
I	外皮		
	頭部		
J	内臓		
	可食部		

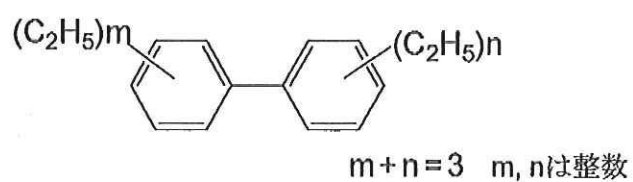
## 1. 被 験 物 質

本報告書においてK-264Cは、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称 トリエチルビフェニル

1.2 構造式等

構造式



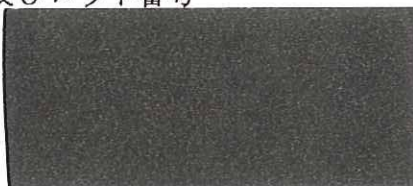
分子式  $C_{18}H_{22}$

分子量 238.37

CAS No. 42343-17-9

1.3 提供者、商品名及びロット番号<sup>\*1</sup>

- (1) 提 供 者  
(2) 商 品 名  
(3) ロット番号



<sup>\*1</sup> 提供者添付資料による。

1.4 純 度<sup>\*2</sup>

(1) 被 験 物 質	79.5%	
(2) 不 純 物	テトラエチルビフェニル	1.0%
	ジエチル-9-メチルフルオレン	15.4%
	その他	4.1%

被験物質は純度で補正して取り扱った。

<sup>\*2</sup> GCによる。

### 1.5 被験物質の確認

赤外吸収スペクトル (Fig. 18参照) 及び質量スペクトル (Fig. 19参照) 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. 18参照)。

### 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>   |
|               |       | 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   | 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    | 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39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 0.20g  |
| (6) 全         | 長     | 平均 2.9cm  |
| (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 24.7～24.8℃<br>換水前 25.0～25.1℃ |
| (4) 溶存酸素濃度 | ばく露開始時 8.1mg/L<br>換水前 7.4～7.5mg/L   |
| (5) pH     | ばく露開始時 7.7～7.9<br>換水前 7.8～7.9       |
| (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

提供試料とその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1.59g/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 8日 ～ 2003年12月12日

## 2.7 96時間LC50値の算出

Doudoroff法

## 2.8 試験結果

被験物質の96時間LC50値  $> 2.00\text{mg/L}^{*3}$  (Fig. 3参照)

\*3 この際の使用した分散剤（2-メトキシエタノール）の濃度は、1260mg/Lとなり、その分散剤の96時間LC50値が15500mg/Lであることから、分散剤の毒性の影響を考慮してこれ以上の高濃度の試験は行わなかった。

### 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。ただし、第1濃度区のピークEについては、濃縮倍率が1000倍未満のため部位別試験及び排泄試験は行わなかった。

#### 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   |
|            |   | 杉島養魚場<br>(住所 〒 866-0024 熊本県八代市郡築一番町 123-2)<br>供試魚受入日 2003年10月22日  |
| (3) 畜      | 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、<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10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)<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>寄生虫駆除としてホルマリン30μL/Lの24時間薬浴を2回<br>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て薬浴した。その後、水温<br>25±2℃の流水状態で14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29日間じゅん化した。 |
|            | 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<br>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 | 6.9～10.5cm  |
| (6) ロ      | ッ | ト   |
|            |   | TFC-031022  |
| (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		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。） 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	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 1～2回/月
(5) 試 験 温 度	第1濃度区 25.0～25.5℃ 第2濃度区 24.8～25.4℃ 対照区 24.8～25.5℃
(6) 溶 存 酸 素 濃 度	第1濃度区 7.7～8.1mg/L 第2濃度区 7.8～8.1mg/L 対照区 8.1mg/L
(7) pH	第1濃度区 7.6～8.0 第2濃度区 7.6～8.0 対照区 7.6～8.0
(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	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	第1濃度区 60日間 理由：60日間で定常状態に達したため。 第2濃度区 70日間 理由：70日間で上昇傾向が認められなかったため。

- (11) 排 泄 期 間      第1濃度区    8日間  
                              第2濃度区    10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398mg/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39.8mg/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て、HCO-40濃度として2500mg/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      7.95 µg/L

第2濃度区      0.795µg/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) p H 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、34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、11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5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E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

供試魚分析はばく露期間中に第1濃度区で5回、第2濃度区で6回行い、1回当りの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)<sup>\*4</sup>に分けて行った。

排泄試験の供試魚分析は第1濃度区のピークA～E及び第2濃度区のピークAは5回、第2濃度区のピークB～Eは4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

#### (1) 試験水中の被験物質

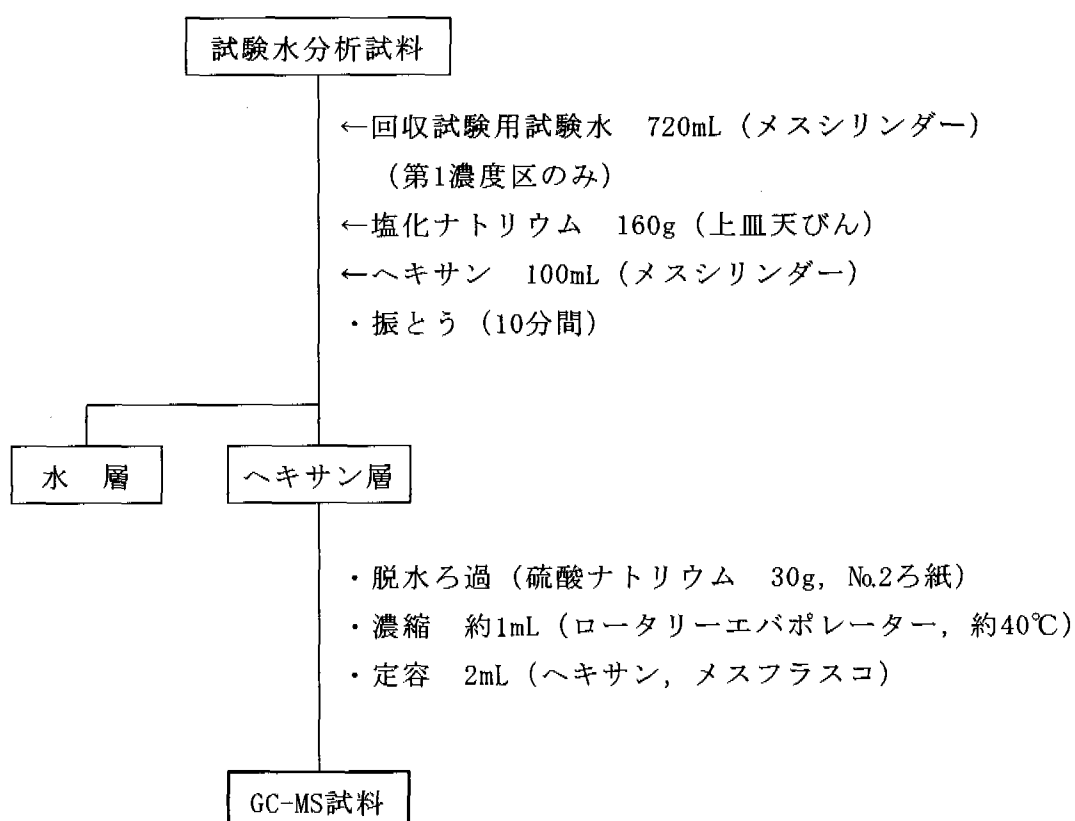
試験水槽から

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。

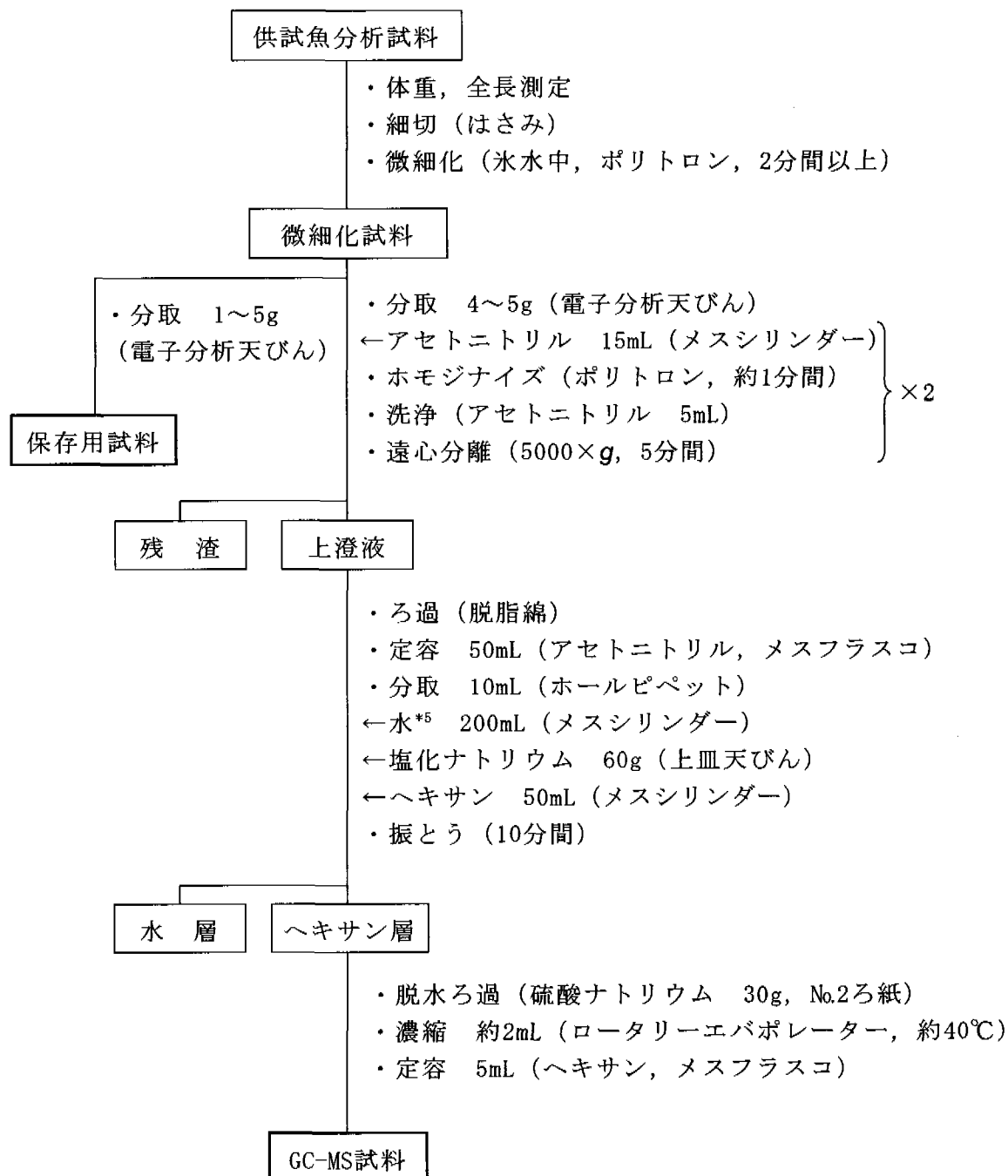
フロースキーム



## (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



\*5 水道水を超純水装置システムを用いて処理した水。

### 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-10, 11、Fig. 6、Table-13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20、Fig. 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17参照)。

#### (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	試験水分析 100℃ (0min) →230℃ (0min) (昇温速度 4℃/min) 供試魚分析 100℃ (0min) ①→180℃ (0min) ②→195℃ (0min) (昇温速度 ①2℃/min ②1℃/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℃
注入力	4μL
注入法	スプリットレス注入法
サージ圧	200kPa
サンプリング時間	1.5min

#### 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)	238[M] <sup>+</sup> (Fig. 19参照)
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。

提供試料100mgを正確にはかりとり、ヘキサンに溶解して795mg/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0.318mg/Lの標準溶液とした。

## (3) 検量線の作成

## (a) 試験水分析

(2)の標準溶液の調製と同様にして0.159、0.318及び0.636mg/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 (mg/L)
ピークA	1000	0.0061
ピークB	1000	0.024
ピークC	10000	0.0077
ピークD	1000	0.0037
ピークE	1000	0.045

## (b) 供試魚分析

(2)の標準溶液の調製と同様にして0.159、0.318及び0.636mg/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.7参照)。

	ノイズレベル	被験物質濃度 (mg/L)
ピークA	1000	0.0054
ピークB	1000	0.020
ピークC	10000	0.0075
ピークD	1000	0.0035
ピークE	1000	0.041

### 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-9, 12, Fig.5, 8参照）。

#### 分析操作における回収率

##### 試験水分析（被験物質 0.636 $\mu$ g添加）

ピークA	98.9%,	93.7%	平均	96.3%
ピークB	96.7%,	98.7%	平均	97.7%
ピークC	95.3%,	86.5%	平均	90.9%
ピークD	95.1%,	88.4%	平均	91.8%
ピークE	108%,	103%	平均	106%

##### 供試魚分析（被験物質 15.9 $\mu$ g添加）

ピークA	92.0%,	91.5%	平均	91.7%
ピークB	94.6%,	96.1%	平均	95.3%
ピークC	91.6%,	92.6%	平均	92.1%
ピークD	89.5%,	91.5%	平均	90.5%
ピークE	86.7%,	80.5%	平均	83.6%

### 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。

また、第1及び第2濃度区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-10, 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。

#### (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\*6はそれぞれ、

第1濃度区	ピークA	0.16 µg/L
	ピークB	0.61 µg/L
	ピークC	0.21 µg/L
	ピークD	0.10 µg/L
	ピークE	1.1 µg/L
第2濃度区	ピークA	0.016µg/L
	ピークB	0.061µg/L
	ピークC	0.021µg/L
	ピークD	0.010µg/L
	ピークE	0.11 µg/L

と算出される。

$$*6 \text{ 被験物質定量下限濃度 (µg/L又はng/g)} = \frac{A}{\frac{B}{100} \times \frac{C \times E}{D}}$$

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-13, 14, 15, 16, 17, 18, 19及び20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\*6は供試魚微細化試料を5gとしたとき

ピークA	29ng/g
ピークB	110ng/g
ピークC	41ng/g
ピークD	19ng/g
ピークE	240ng/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

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

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

$\overline{C_w}$  : 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) 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）

$$\text{BCF}_L = \frac{\text{BCF}}{L} \times L_{\text{ave}}$$

$\text{BCF}_L$  : 平均脂質含量当たりの濃縮倍率

BCF : 濃縮倍率

L : 脂質含量(%)

$L_{\text{ave}}$  : 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、

$$BCF_{Lm} = (BCF_{La} + BCF_{Lb}) / n$$

$BCF_m$  : m回目の濃縮倍率の平均値 (群数2(a, b))

$BCF_{Lm}$  : m回目の濃縮倍率の平均値 (群数2(a, b))  
(脂質含量で補正)

$BCF_{a, b}$  : m回目における各群の濃縮倍率

$BCF_{La, b}$  : m回目における各群の濃縮倍率  
(脂質含量で補正)

$n$  : m回目分析した群数

## 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	4.3倍
	ピークB	16 倍
	ピークC	5.9倍
	ピークD	2.8倍
	ピークE	37 倍
第2濃度区	ピークA	39 倍
	ピークB	150 倍
	ピークC	56 倍
	ピークD	25 倍
	ピークE	330 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81%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	3日後	7日後	21日後	35日後	48日後	60日後	70日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
1	A	7.14	7.27	8.36	8.42	8.41	7.90		7.92 (0.587)	10-1	6
	B	7.57	7.57	8.09	8.25	8.45	8.26		8.03 (0.375)	10-2	
	C	7.40	8.00	8.85	8.43	7.51	7.97		8.02 (0.549)	10-3	
	D	7.65	7.81	8.58	8.44	8.00	8.42		8.15 (0.382)	10-4	
	E	7.13	7.49	8.06	7.92	7.74	8.44		7.80 (0.457)	10-5	
2	A	0.766	0.656	0.710	0.747	0.824	0.833	0.726	0.752 (0.0627)	11-1	
	B	0.774	0.691	0.769	0.774	0.778	0.735	0.646	0.738 (0.0512)	11-2	
	C	0.815	0.703	0.746	0.740	0.702	0.715	0.650	0.725 (0.0506)	11-3	
	D	0.828	0.702	0.763	0.764	0.775	0.773	0.734	0.763 (0.0389)	11-4	
	E	0.753	0.701	0.771	0.716	0.713	0.844	0.710	0.744 (0.0508)	11-5	

## 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	1000～2900倍
	ピークB	590～1300倍
	ピークC	790～2000倍
	ピークD	710～1700倍
	ピークE	510～1100倍
第2濃度区	ピークA	2200～7000倍
	ピークB	780～1900倍
	ピークC	1900～6200倍
	ピークD	1400～3700倍
	ピークE	540～1600倍

Table-2 濃縮倍率

( ) 内は平均値

濃度区	ピーク	7日後	21日後	35日後	48日後	60日後	70日後	Table	Fig.
1	A	1000 1300 (1200)	2900 1800 (2300)	2100 2700 (2400)	2100 2300 (2200)	2600 2500 (2500)		13-1	9
	B	590 650 (620)	1300 1000 (1200)	780 1300 (1000)	1100 1200 (1200)	1200 1200 (1200)		13-2	
	C	790 1000 (900)	1900 1200 (1600)	1400 1900 (1600)	1700 2000 (1800)	1900 1700 (1800)		13-3	
	D	710 820 (770)	1600 1100 (1300)	1100 1500 (1300)	1300 1600 (1400)	1700 1500 (1600)		13-4	
	E	510 530 (520)	1000 1100 (1000)	770 860 (810)	820 940 (880)	680 720 (700)		13-5	
2	A	2200 2400 (2300)	5800 4000 (4900)	3000 5100 (4000)	6200 6000 (6100)	6200 7000 (6600)	5600 3900 (4800)	14-1	10
	B	780 820 (800)	1200 1900 (1500)	950 1100 (1000)	1300 1400 (1300)	1900 1700 (1800)	1500 1300 (1400)	14-2	
	C	2000 1900 (2000)	3300 3300 (3300)	2200 3100 (2600)	4200 4700 (4500)	5500 6200 (5900)	5900 4000 (4900)	14-3	
	D	1400 1500 (1400)	2000 2600 (2300)	1400 1900 (1700)	2500 2600 (2600)	3700 3200 (3500)	2700 2100 (2400)	14-4	
	E	540 640 (590)	1100 1600 (1400)	920 1000 (980)	1200 1600 (1400)	1300 1600 (1400)	1200 1100 (1200)	14-5	

## 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		35日後	48日後	60日後	3回の平均
1	A	平均濃縮倍率	2382.7	2213.6	2530.7	2375.7
		3回の平均からの乖離率(%)	0.29716	6.8230	6.5258	
	B	平均濃縮倍率	1036.8	1165.2	1212.9	1138.3
		3回の平均からの乖離率(%)	8.9180	2.3629	6.5550	
	C	平均濃縮倍率	1637.8	1833.2	1778.7	1749.9
		3回の平均からの乖離率(%)	6.4064	4.7591	1.6472	
	D	平均濃縮倍率	1322.7	1434.7	1577.0	1444.8
		3回の平均からの乖離率(%)	8.4504	0.69692	9.1474	
	E	平均濃縮倍率	814.21	879.03	701.11	798.12
		3回の平均からの乖離率(%)	2.0167	10.138	12.154	
濃度区	ピーク		48日後	60日後	70日後	3回の平均
2	A	平均濃縮倍率	6099.5	6623.7	4759.4	5827.6
		3回の平均からの乖離率(%)	4.6668	13.662	18.329	
	B	平均濃縮倍率	1347.9	1783.4	1361.7	1497.6
		3回の平均からの乖離率(%)	10.000	19.078	9.0782	
	C	平均濃縮倍率	4485.5	5864.5	4941.7	5097.3
		3回の平均からの乖離率(%)	12.001	15.052	3.0516	
	D	平均濃縮倍率	2578.0	3460.7	2399.4	2812.7
		3回の平均からの乖離率(%)	8.3435	23.038	14.694	
	E	平均濃縮倍率	1395.9	1426.5	1172.9	1331.8
		3回の平均からの乖離率(%)	4.8126	7.1120	11.924	

・第1濃度区及び第2濃度区のピークA, B, C, E

上記の結果から、35、48、60日後（第1濃度区）及び48、60、70日後（第2濃度区）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。

・第2濃度区のピークD

上記の結果から、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%を超えた。そこで、濃縮倍率を、3.7.8(3)の式を用いて平均脂質含量 5.41%（Table-8参照）に対する濃縮倍率に換算して再度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-4 濃縮倍率の変動(平均脂質含量で補正)

(得られた結果を5ケタまで表示した値)

濃度区	ピーク		48日後	60日後	70日後	3回の平均
2	D	平均濃縮倍率	2723.7	3663.7	2175.0	2854.1
		3回の平均からの乖離率(%)	4.5712	28.364	23.793	

その結果、48、60及び70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%を超えたため、定常状態における濃縮倍率は算出できなかった。

## (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-5に示されるように、設定値に対して以下のとおりであった。

第1濃度区	ピークA	100%
	ピークB	100%
	ピークC	100%
	ピークD	100%
	ピークE	100%
第2濃度区	ピークA	100%
	ピークB	91%
	ピークC	87%
	ピークE	95%

Table-5 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	35日後	48日後	60日後	平均	Table	Fig.
1	A	8.42	8.41	7.90	8.25	10-1 13-1	6
	B	8.25	8.45	8.26	8.32	10-2 13-2	
	C	8.43	7.51	7.97	7.97	10-3 13-3	
	D	8.44	8.00	8.42	8.29	10-4 13-4	
	E	7.92	7.74	8.44	8.03	10-5 13-5	
濃度区	ピーク	48日後	60日後	70日後	平均	Table	Fig.
2	A	0.824	0.833	0.726	0.794	11-1 14-1	6
	B	0.778	0.735	0.646	0.720	11-2 14-2	
	C	0.702	0.715	0.650	0.689	11-3 14-3	
	E	0.713	0.844	0.710	0.756	11-5 14-5	

## (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	2400倍
	ピークB	1100倍
	ピークC	1800倍
	ピークD	1400倍
	ピークE	790倍
第2濃度区	ピークA	5800倍
	ピークB	1600倍
	ピークC	5300倍
	ピークE	1300倍

## 5.4 排泄試験

66日間（第1濃度区）及び74日間（第2濃度区）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、第1濃度区のピークA～E及び第2濃度区のピークA、B、C、E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、第2濃度区のピークDはばく露終了時（70日後）の供試魚中被験物質濃度の平均値（2尾）を100として、排泄試験開始0.38、1、2、3、8日後（第1濃度区）及び1、2、3、6日後（第2濃度区、ピークB～E）及び1、2、3、6、10日後（第2濃度区、ピークA）の供試魚中被験物質の残留率（%）を算出した（Table-17, 18, Fig. 12, 13参照）。

また、排泄試験における残留率と排泄期間との相関をFig. 14, 15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	4.1日
	ピークB	2.6日
	ピークC	3.2日
	ピークD	2.4日
	ピークE	1.3日
第2濃度区	ピークA	5.3日
	ピークB	1.8日
	ピークC	4.5日
	ピークD	2.3日
	ピークE	1.3日

Table-6 排泄試験における残留率

(単位 %)

濃度区	ピーク	0.38日後	1日後	2日後	3日後	8日後	Table	Fig.
1	A	86 88	71 115	79 86	98 84	23 29	17-1	12
	B	97 92	75 93	60 72	62 57	12 12	17-2	
	C	83 83	64 104	76 77	82 71	16 19	17-3	
	D	83 89	65 105	64 71	73 59	10 11	17-4	
濃度区	ピーク	1日後	2日後	3日後	6日後	10日後	Table	Fig.
2	A	72 103	53 83	70 75	55 67	21 26	18-1	13
	B	85 106	58 67	41 41	13 14		18-2	
	C	89 110	49 78	74 56	39 44		18-3	
	D	111 142	58 77	59 51	23 28		18-4	
	E	81 113	39 64	31 36	- -		18-5	

(-)は不検出を示す。

## 5.5 部位別試験

63日間(第1濃度区)及び74日間(第2濃度区)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-7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-7-1 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	24000	2900	19-1	16
			28200	3400		
		頭 部	33400	4100		
			38000	4600		
		内 臓	43800	5300		
			48100	5800		
		可食部	12900	1600		
			14500	1800		
	B	外 皮	14300	1700	19-2	
			15300	1800		
		頭 部	15300	1800		
			17700	2100		
		内 臓	17500	2100		
			21800	2600		
		可食部	5240	630		
			6360	760		
	C	外 皮	17000	2100	19-3	
			20700	2600		
		頭 部	22100	2800		
			25800	3200		
内 臓		27600	3500			
		28800	3600			
可食部		8880	1100			
		10300	1300			
D	外 皮	15800	1900	19-4		
		20200	2400			
	頭 部	19700	2400			
		22600	2700			
	内 臓	24500	3000			
		28400	3400			
	可食部	7440	900			
		9200	1100			

Table-7-2 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	3730	4700	20-1	17
			3780	4800		
		頭 部	5460	6900		
			5660	7100		
		内 臓	4720	5900		
			11300	14000		
		可食部	1790	2300		
			1900	2400		
	B	外 皮	1150	1600	20-2	
			1290	1800		
		頭 部	1310	1800		
			1630	2300		
		内 臓	1050	1500		
			2910	4000		
		可食部	476	660		
			514	710		
	C	外 皮	3060	4400	20-3	
			3070	4500		
		頭 部	4480	6500		
			4430	6400		
内 臓		3250	4700			
		7590	11000			
可食部		1440	2100			
		1460	2100			
D	外 皮	2150	2800	20-4		
		2380	3100			
	頭 部	2740	3600			
		3070	4000			
	内 臓	2330	3100			
		5900	7800			
	可食部	872	1100			
		1050	1400			
E	外 皮	1180	1600	20-5		
		1110	1500			
	頭 部	1420	1900			
		1290	1700			
	内 臓	-	≤330			
		2270	3000			
	可食部	362	480			
		401	530			

(-)は不検出を示す。

## 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。また、第2濃度区の脂質含量をTable-8に示した。

実験開始前	3.30%
実験終了後	4.73%

Table-8 脂質含量 (単位 %)  
( ) 内は平均値

濃度区	48日後	60日後	70日後	全平均
2	5.45	4.96	6.48	5.41
	4.83	5.29	5.43	
	(5.14)	(5.13)	(5.95)	

## 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、34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、11本のピークが被験物質であると同定された（Fig. 19参照）。各々のピークについて、提供資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。

No.	化学物質名	定量 ピーク	質量数	成分組成 (%)
1	テトラエチルビフェニル		266	0.14
2	テトラエチルビフェニル		266	0.22
3	テトラエチルビフェニル		266	0.15
4	テトラエチルビフェニル		266	0.09
5	テトラエチルビフェニル		266	0.37
6	不明		252	1.01
7	トリエチルビフェニル	A	238	7.22
8	トリエチルビフェニル		238	0.33
9	不明		252	0.81
10	トリエチルビフェニル		238	0.37
11	トリエチルビフェニル		238	0.16
12	トリエチルビフェニル	B	238	3.24
13	トリエチルビフェニル	C	238	50.96
14	トリエチルビフェニル		238	0.17
15	トリエチルビフェニル		238	0.05
16	不明		252	0.06
17	トリエチルビフェニル	D	238	14.98
18	ジエチル-9-メチルフルオレン+不明		236+252	0.31
19	ジエチル-9-メチルフルオレン+不明		236+252	0.13
20	トリエチルビフェニル		238	0.63
21	不明		222	0.26
22	ジエチル-9-メチルフルオレン	(a)	236	3.31
23	トリエチルビフェニル	E	238	1.39
24	ジエチル-9-メチルフルオレン		236	0.40
25	ジエチル-9-メチルフルオレン	(b)	236	3.61

No.	化学物質名	定量 ピーク	質量数	成分組成(%)
26	テトラエチルビフェニル		266	0.09
27	ジエチル-9-メチルフルオレン	(c)	236	4.22
28	ジエチル-9-メチルフルオレン	(c)	236	1.77
29	ジエチル-9-メチルフルオレン	(c)	236	1.35
30	ジエチル-9-メチルフルオレン		236	0.11
31	ジエチル-9-メチルフルオレン		236	0.07
32	ジエチル-9-メチルフルオレン		236	0.53
33	ジエチル-9-メチルフルオレン+不明		236+224	1.24
34	不明		224	0.33

(a)～(c)は参考値として濃縮倍率を算出したピーク。

(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～Eは(1)で示したように同じ分子量を有する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) 第2濃度区ピークDにおける濃縮倍率について

第2濃度区ピークDの濃縮倍率は60日後に最大値を示した後、70日後では低下した。このことから、第2濃度区ピークDの濃縮倍率は最大でも60日後の値である3700倍と考えられる。

(4) 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。

濃度区	7日後	21日後	35日後	48日後	60日後	70日後
1	610 760 (690)	1500 960 (1200)	1100 1400 (1200)	1300 1500 (1400)	1400 1300 (1400)	
2	1400 1400 (1400)	2500 2400 (2500)	1600 2300 (1900)	3000 3300 (3200)	3900 4200 (4100)	3900 2700 (3300)

## (5) 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43%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43%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、給餌方法等の検討を継続し改善を目指している。

## (6) ジエチル-9-メチルフルオレンの濃縮倍率について

提供試料中に含まれる不純物ジエチル-9-メチルフルオレンとして13本のピークが検出された。このうち定量可能な5本のピークについて、カラム温度を $100^{\circ}\text{C}$  (0min)  $\rightarrow$   $230^{\circ}\text{C}$  (0min)（昇温速度 $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ）に、測定イオン(m/z)を236に変更して分析を行い、60日後（第1濃度区）及び70日後の（第2濃度区）の濃縮倍率を算出した（Reference 2参照）。ただし、溶出時間の遅い3本のピークは分離が不十分なため1本のピークとしてまとめて計算した。各ピークは溶出順にピークa～ピークcとした。

濃縮倍率の算出において、供試魚回収率は被験物質ピークA～Eの回収率の平均値、試験水中の被験物質濃度は35、48、60日後（第1濃度区）及び48、60、70日後（第2濃度区）の平均値を用いた。

濃縮倍率（ジエチル-9-メチルフルオレン）

（参考値）

濃度区		ピーク a	ピーク b	ピーク c	Ref.
1	60日後	7400 3500	3100 2000	6100 3500	2-1 4-1
2	70日後	20000 16000	13000 9700	12000 9700	2-2 4-2

## 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	: 17頁参照	
天びん	: ザルトリウス製	型 BP301S
	ザルトリウス製	型 CP324S
	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	: 東京理化学器械製	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	: ザルトリウス製	型 BP301S
	メトラー製	型 AB204-S
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)	: 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 IRPrestige-21
ガスクロマトグラフィー質量分析計	: Thermo Quest製	型 POLARIS Q