

最 終 報 告 書

被験物質K-823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九州試験所

陳 述 書

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター九州試験所

試験委託者 通商産業省

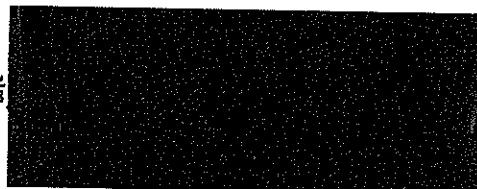
試験の表題 被験物質K-823のコイにおける濃縮度試験

試験番号 50823

上記試験は、昭和59年3月31日付、環保業第39号、薬発第229号及び59基局第85号による「新規化学物質に係る試験の項目等を定める命令第3条に規定する試験施設に関する基準」に従って実施したものです。

昭和62年 / 月30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九州試験所

試験委託者 通商産業省

試験の表題 被験物質K-823のコイにおける濃縮度試験

試験番号 50823

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九州試験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)
昭和61年 7月26日	昭和61年 7月26日	昭和61年 7月26日
昭和61年 8月11日	昭和61年 8月13日	昭和61年 8月14日
昭和61年 8月12日	昭和61年 8月12日	昭和61年 8月14日
昭和61年 8月12日	昭和61年 8月13日	昭和61年 8月14日
昭和61年 8月13日	昭和61年 8月13日	昭和61年 8月14日
昭和61年 9月19日	昭和61年 9月25日	昭和61年 9月25日
昭和61年 9月22日	昭和61年 9月25日	昭和61年 9月25日
昭和61年 9月24日	昭和61年 9月25日	昭和61年 9月25日
昭和62年 1月30日	昭和62年 1月30日	昭和62年 1月30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。

昭和62年1月30日
信頼性保証業務担当者

昭和62年1月30日
信頼性保証責任者

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. 試験期間	3
7. 試験関係者	3
8. 最終報告書の承認	3
9. 被験物質	4
10. 急性毒性試験	6
11. 濃縮度試験の実施	8
12. 試験結果及び考察	20
13. 試資料の保管	22
14. 備 考	22
15. 表の内容	24
16. 図の内容	25
参考データ	27
付表及び付図	

要 約

1. 試験の表題

被験物質K-823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 | <table border="0"> <tr> <td>第1濃度区</td> <td>1</td> <td>mg/l</td> </tr> <tr> <td>第2濃度区</td> <td>0.1</td> <td>mg/l</td> </tr> <tr> <td>第3濃度区</td> <td>0.01</td> <td>mg/l</td> </tr> </table> | 第1濃度区 | 1 | mg/l | 第2濃度区 | 0.1 | mg/l | 第3濃度区 | 0.01 | mg/l |
| 第1濃度区 | 1 | mg/l | | | | | | | | |
| 第2濃度区 | 0.1 | mg/l | | | | | | | | |
| 第3濃度区 | 0.01 | mg/l | | | | | | | | |
| (3) ばく露期間 | <table border="0"> <tr> <td>第1, 2濃度区</td> <td>12週間</td> </tr> <tr> <td>第3濃度区</td> <td>10週間</td> </tr> </table> | 第1, 2濃度区 | 12週間 | 第3濃度区 | 10週間 | | | | | |
| 第1, 2濃度区 | 12週間 | | | | | | | | | |
| 第3濃度区 | 10週間 | | | | | | | | | |
| (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-質量分析法 | | | | | | | | | |

3. 試験結果

- | | | | |
|---------------|-------------|------------|-----------------|
| (1) 48時間LC50値 | 500mg/l以上 | | |
| (2) 濃縮倍率 | 第1濃度区 | 第2濃度区 | 第3濃度区 |
| ピークA | 148 ~ 624 倍 | 1110~2870倍 | 5460~ 5730倍(2週) |
| ピークB | 110 ~ 420 倍 | 840~1980倍 | 4350~ 11100倍 |
| ピークC | 36 ~ 107 倍 | 252~ 616倍 | 1200~ 3480倍 |
| ピークD | 9.5~ 33 倍 | 50~ 130倍 | 280~ 769倍 |
| ピークE | 5.3~ 18 倍 | 21~ 57倍 | 133~ 318倍 |
| ピークF | 2.5~ 8.3倍 | 13~ 27倍 | 75~ 178倍 |

なお、被験物質は混合物であるが、濃度は便宜上、含有率を考慮しないで表示した。また、濃縮倍率はそれぞれの成分ごとに算出した。

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 50823

1. 表 題 被験物質K-823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九州試験所
住 所 (〒830) 福岡県久留米市中央町19-14
TEL (0942) 34-1500
運営管理者 XXXXXXXXXX
4. 試験目的 被験物質K-823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〉による。

6. 試験期間

(1) 試験開始日 昭和61年 7月28日

(2) 試験実施期間	第1, 2濃度区	第3濃度区
供試魚受入日	昭和61年 6月14日	昭和61年 7月15日
じゅん化終了日	昭和61年 7月16日	昭和61年 7月31日
ばく露開始日	昭和61年 7月28日	昭和61年 8月25日
ばく露終了日	昭和61年10月24日	昭和61年11月10日

(3) 試験終了日 昭和62年 1月30日

7. 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

試資料管理責任者

最終報告書作成者

昭和62年 1月30日

8. 最終報告書の承認

試験責任者

氏名

昭和62年 / 月30日

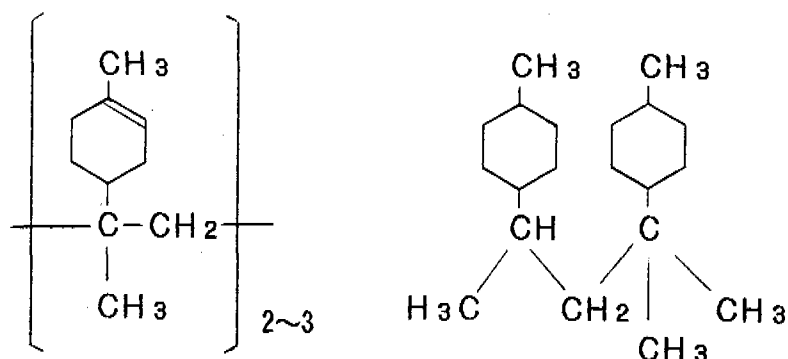
9. 被験物質

本報告書において被験物質K-823は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

9.1 名 称 ジベンテンダイマー若しくはジベンテントリマー又はその水素添加物

9.2 構造式等

構造式



組成式 $C_{7.3}H_{12.6}$ (元素分析による計算値)

被験物質は多成分の混合物であり、マスフラグメントグラム上多数のピークを示した。本試験においては、ガスクロマトグラフィー質量分析計による質量スペクトル(図-18参照)より、親イオンと考えられる質量数に着目し、得られたマスフラグメントグラムの質量数の小さいものからピークA~Fとした。それぞれに対応する推定構造式、分子量及び含有率を表-17に示した。なお、便宜上、本報告書において濃度は被験物質の添加量で示した。各ピークの真の濃度は、この値にそれぞれの組成比を乗じることによって求めることができる。

9.3 純 度^{*1} 100%

*1 添付資料による。

9.4 提供者及びロット番号

(1) 提 供 者

(2) ロット番号

9.5 同 定

赤外吸収スペクトル、質量スペクトル及び核磁気共鳴スペクトルにより構造を確認した。

9.6 物理化学的性状

外 観	無色透明液体	
沸 点 ^{*1}	300℃	
密 度 ^{*1}	0.92 g/cm ³ (20℃)	
溶解性	水	10mg/ℓ以下
	ヘキサン	100 g/ℓ以上
	クロロホルム	100 g/ℓ以上
	酢酸エチル	100 g/ℓ以上
	メタノール	17 g/ℓ

分配係数 (n-オクタノール/水)

log Pow = 5以上

質量スペクトル (図-18参照)

赤外吸収スペクトル (図-19参照)

核磁気共鳴スペクトル (図-20参照)

*1 添付資料による。

9.7 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-19参照)。

9.8 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。

10. 急性毒性試験

10.1 試験方法

JIS K 0102-1981 の 55 の方法に準じて行った。

10.2 供試魚

- | | | |
|------------|---|-------------------------------------------------------------------------------|
| (1) 魚 | 種 | ヒメダカ <u>Oryzias latipes</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) |
| (3) 蓄養条件 | | |
| 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40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7日間以上飼育した。 |
| (5) 体 | 重 | 平均 0.32g |
| (6) 全 | 長 | 平均 3.3 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番号(TFO-860725)のものを試験に供した。 |

*2 用水と廃水, 14, 1297-1303 (1972)

10.3 試験用水

- | | |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (1) 種類 | 九州試験所敷地内で揚水した地下水 |
| (2) 分析及び水質確認 | 当試験所にて水温、pH及び溶存酸素は連続測定を行った。また、化学的酸素要求量、全硬度、蒸発残留物、塩素イオン及びアンモニア態窒素並びに有機リン、シアンイオン、重金属等の有害物質は6ヶ月に1回定期的に分析している。試験に供した用水は、分析した項目が水産環境水質基準(社団法人 日本水産資源保護協会 昭和47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2参照)。 |

10.4 試験条件

- | | |
|------------|----------------------------------|
| (1) 試験水槽 | 円型ガラス製水槽 |
| (2) 試験液量 | 4ℓ / 濃度区 |
| (3) 試験水温 | 25±2℃ |
| (4) 溶存酸素濃度 | ばく露開始時 7.9mg/ℓ
ばく露終了時 5.6mg/ℓ |
| (5) pH | ばく露開始時 8.1
ばく露終了時 7.5 |
| (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) |

10.5 原液調製法

- (1) 分散剤
HCO-40
- (2) 調製方法

被験物質と10倍量のHCO-40をアセトンに溶解後、アセトンを留去し、イオン交換水を加えて1000mg/ℓの原液を調製した。

10.6 試験の実施

- (1) 実施場所 LC50測定室
- (2) 試験実施日 昭和61年 8月11日 ～ 昭和61年 8月13日

10.7 48時間LC50値の算出

Doudoroff 法で行った。

10.8 試験結果

48時間LC50値 500mg/ℓ以上 (図-4参照)

11. 濃縮度試験の実施

11.1 供試魚

11.1.1 第1, 2濃度区用供試魚

- | | |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (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) |
| (3) 蓄 養 条 件 | |
| 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3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78/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23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
7日間以上飼育した。 |
| (5) ばく露開始時の体重、体長等 ^{*3} | |
| 体 重 | 平均 22.6g |
| 体 長 | 平均 9.4cm |
| 脂質含有率 | 平均 4.1% |

*3 ロット番号(TFC-860614)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。 |

11.1.2 第3濃度区用供試魚

- (1) 魚 種 コイ Cyprinus carpio
- (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)
- (3) 蓄 養 条 件
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1日間飼育してその間に薬浴を行った。
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78/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14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
7日間以上飼育した。
- (5) ばく露開始時の体重、体長等^{*4}
- | | | |
|-------|----|-------|
| 体 重 | 平均 | 20.2g |
| 体 長 | 平均 | 9.2cm |
| 脂質含有率 | 平均 | 4.9% |

*4 ロット番号(TFC-860715-I)の測定値

- (6) 餌 料 11.1.1 (6)に同じ。

11.2 試験用水

10.3に同じ。

11.3 試験及び環境条件

- | | |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| (1) 試験水供給方法 | 当試験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 4 ml/分及び試験用水 800 ml/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 6.0～7.6 mg/l (図-15参照)
第2濃度区 6.5～7.8 mg/l (図-16参照)
第3濃度区 6.9～7.8 mg/l (図-17参照) |
| (6) 供試魚数 | 第1, 2濃度区 20尾/濃度区 (ばく露開始時)
第3濃度区 12尾/濃度区 (ばく露開始時) |
| (7) ばく露期間 | 第1, 2濃度区 12週間
第3濃度区 10週間 |
| (8) 実施場所 | 第2アクアトロン室 |

11.4 原液調製法

10.5と同様な方法で、第1濃度区用の場合 200 mg/l、第2濃度区用の場合 20 mg/l及び第3濃度区用の場合 2 mg/lの原液を調製した。

11.5 試験濃度

48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 | 1 mg/l |
| 第2濃度区 | 0.1 mg/l |
| 第3濃度区 | 0.01 mg/l |

に設定した。

11.6 試験水及び供試魚分析

11.6.1 分析回数

試験水分析はばく露期間中、毎週2回第1, 2濃度区は計24回、第3濃度区は計20回行い、1回当りの分析試料は1点とした。また、供試魚分析はばく露開始後、第1, 2濃度区は2, 4, 6, 8, 10及び12週の計6回、第3濃度区は2, 4, 6, 8及び10週の計5回行い、1回当りの分析試料は2尾とした。ただし、第1, 2濃度区12週、第3濃度区8週の分析試料は3尾とした。

11.6.2 分析試料の前処理

(1) 試験水

試験水槽から

第1濃度区 100ml

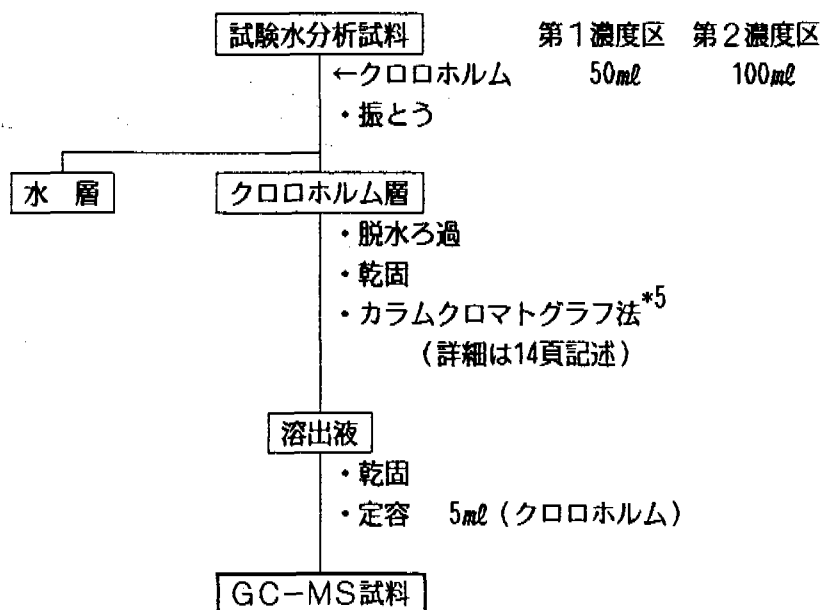
第2濃度区 1000ml

第3濃度区 2000ml

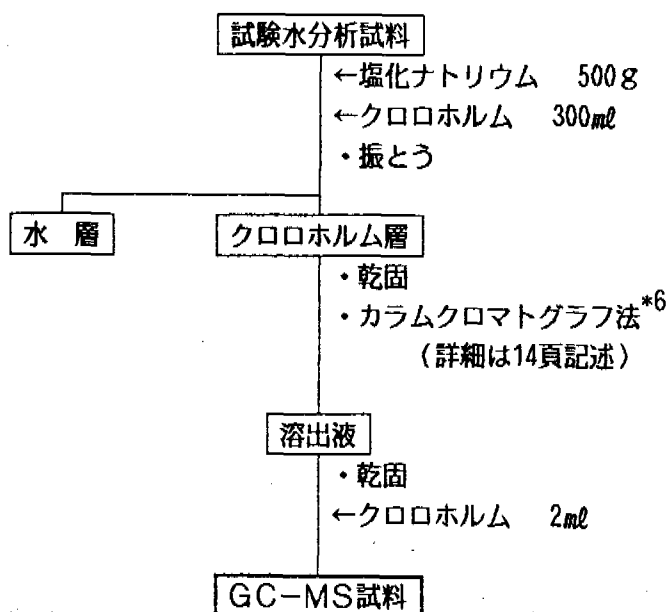
を採取し、以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、ガスクロマトグラフィー質量分析計（GC-MS）試料とした。

フロースキーム

・第1, 2濃度区



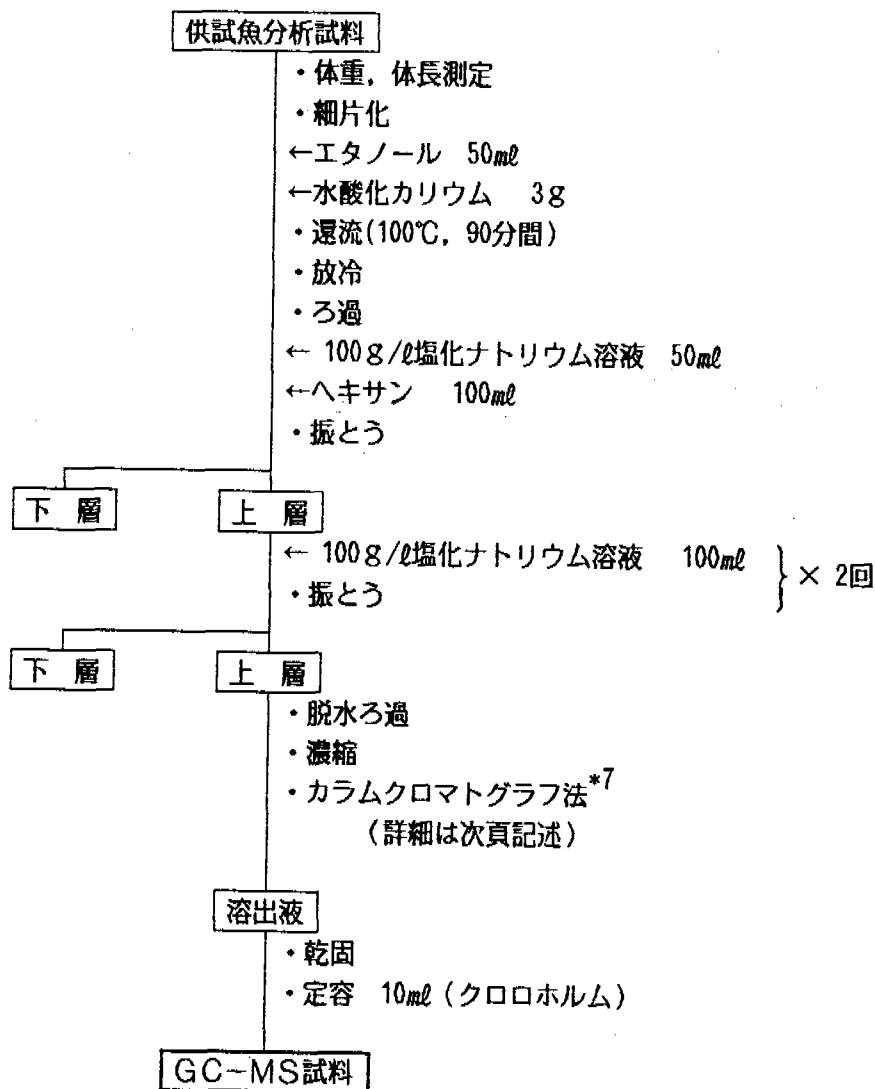
・第3濃度区



(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、GC-MS試料とした。

フロースキーム



*5 カラムクロマトグラフの条件

クロマト管 20mmφ ガラス製
充てん剤 5%含水塩基性アルミナ 10g
(ヘキサンで充てん)

負荷法 ヘキサン20mlで負荷する。

溶出法 第1溶出液 ヘキサン(負荷分を含む) 50ml

被験物質は第1溶出液で溶出する。

*6 カラムクロマトグラフの条件

セップバック 塩基性アルミナ
(ヘキサン10mlで洗淨)

負荷法 ヘキサン2mlで負荷する。

溶出法 第1溶出液 ヘキサン(負荷分を含む) 10ml

被験物質は第1溶出液で溶出する。

*7 カラムクロマトグラフの条件

クロマト管 20mmφ ガラス製
充てん剤 5%含水塩基性アルミナ 10g
(ヘキサンで充てん)

負荷法 試料約5mlとヘキサン約15mlで負荷する。

溶出法 第1溶出液 ヘキサン(負荷分を含む) 50ml

被験物質は第1溶出液で溶出する。

11.6.3 定量分析

11.6.2の前処理を行って得られたGC-MS試料は、以下の条件に基づきガスクロマトグラフ-質量分析法により定量を行った。供試魚分析の定量はGC-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製した。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-5, 6, 7, 図-9, 10, 表-10, 11, 12, 図-12, 13, 14参照）。

(1) 分析機器の定量条件

機 器	ガスクロマトグラフ-質量分析計			
<u>GC条件</u>				
カラム	1m×3mmφ ガラス製			
液相担体	5% SE-30 Chromosorb W (HP)			
カラム温度	200℃→240℃ (10℃/min)			
試料導入部温度	250℃			
キャリアガス	ヘリウム			
流量	40ml/min			
注入量	2μl			
<u>質量分析計条件</u>				
セパレーター温度	280℃			
イオン化電圧	70eV			
イオン源温度	250℃			
測定 m/z	ピークA	268	ピークB	270
	ピークC	272	ピークD	274
	ピークE	276	ピークF	278

(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0.1gを精秤し、クロロホルムに溶解した1000 μ g/mlの標準原液を、さらにクロロホルムで希釈して10 μ g/ml及び20 μ g/mlの標準溶液を調製した。

(3) 検量線の作成

・第1, 2濃度区試験水分析及び第1, 2, 3濃度区供試魚分析

(2)の標準溶液調製法と同様にして10, 20及び40 μ g/mlの標準溶液を調製し、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被験物質ピーク面積と濃度より検量線を作成した。

検量線より被験物質ピーク面積の測定限界値はノイズレベルを考慮して

ピークA 1500 (被験物質濃度 0.89 μ g/ml)

ピークB 6500 (被験物質濃度 1.0 μ g/ml)

ピークC 6000 (被験物質濃度 1.0 μ g/ml)

ピークD 6000 (被験物質濃度 0.93 μ g/ml)

ピークE 5500 (被験物質濃度 0.94 μ g/ml)

ピークF 3500 (被験物質濃度 0.94 μ g/ml)

とした(図-5参照)。

・第3濃度区試験水分析

(2)の標準溶液調製法と同様にして5, 10及び20 μ g/mlの標準溶液を調製し、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被験物質ピーク面積と濃度より検量線を作成した。

検量線より被験物質ピーク面積の測定限界値はノイズレベルを考慮して

ピークA 2500 (被験物質濃度 0.54 μ g/ml)

ピークB 6500 (被験物質濃度 0.52 μ g/ml)

ピークC 6000 (被験物質濃度 0.54 μ g/ml)

ピークD 7500 (被験物質濃度 0.50 μ g/ml)

ピークE 6000 (被験物質濃度 0.51 μ g/ml)

ピークF 3500 (被験物質濃度 0.46 μ g/ml)

とした(図-6参照)。

11.6.4 回収試験及びブランク試験

(1) 方法

前述した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、試験水（対照区）及び魚体ホモジネートに被験物質分散液を添加し、11.6.2及び11.6.3の操作に準じて回収試験を行った。また、被験物質を加えない試験水（対照区）及び魚体ホモジネートについて、回収試験の場合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。回収率は回収試験で得られた2点の値の平均値とした（表-3、4、9、図-7、8、11参照）。分析操作における回収率は以下のとおりであり、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。

(2) 結果

分析操作における回収率

試験水分析 第1、2濃度区（被験物質 100 μ g添加）

	第1濃度区	第2濃度区
ピークA	92.0%	89.4%
ピークB	96.5%	92.4%
ピークC	97.2%	91.4%
ピークD	95.7%	93.4%
ピークE	94.5%	93.6%
ピークF	92.2%	94.0%

試験水分析 第3濃度区（被験物質 20 μ g添加）

ピークA	77.2%
ピークB	70.6%（3～37日目） 53.6%（40～67日目）
ピークC	77.4%（3～37日目） 71.6%（40～67日目）
ピークD	77.5%
ピークE	78.2%
ピークF	78.9%

供試魚分析（被験物質300 μ g添加）

ピークA	96.7%
ピークB	87.0%
ピークC	85.2%
ピークD	87.1%
ピークE	87.3%
ピークF	85.4%

11.6.5 分析試料中の被験物質濃度の算出及び検出限界

(1) 試験水分析試料中の被験物質濃度の算出

表-8の計算式に従って計算し、計算結果は JIS Z 8401-1961の方法を用いて有効数字3ケタに丸めて表示した。

(2) 試験水中の被験物質の検出限界濃度

11.6.3 (3)の検量線作成で求めた被験物質の測定限界値より、試験水中の被験物質の検出限界濃度^{*8}はそれぞれ、

	第1濃度区	第2濃度区	第3濃度区
ピークA	0.049 μ g/ml	0.0050 μ g/ml	0.00070 μ g/ml
ピークB	0.053 μ g/ml	0.0055 μ g/ml	0.00074 μ g/ml (3~37日目) 0.00097 μ g/ml (40~67日目)
ピークC	0.052 μ g/ml	0.0055 μ g/ml	0.00069 μ g/ml (3~37日目) 0.00075 μ g/ml (40~67日目)
ピークD	0.049 μ g/ml	0.0050 μ g/ml	0.00065 μ g/ml
ピークE	0.050 μ g/ml	0.0050 μ g/ml	0.00065 μ g/ml
ピークF	0.051 μ g/ml	0.0050 μ g/ml	0.00058 μ g/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-16の計算式に従って計算し、計算結果は JIS Z 8401-1961の方法を用いて有効数字3ケタに丸めて表示した。

(4) 供試魚中の被験物質の検出限界濃度

11.6.3 (3)の検量線作成で求めた被験物質の測定限界値より、供試魚中の被験物質の検出限界濃度^{*8}は供試魚体重を30gとしたとき、

ピークA 0.31 $\mu\text{g/g}$

ピークB 0.39 $\mu\text{g/g}$

ピークC 0.39 $\mu\text{g/g}$

ピークD 0.36 $\mu\text{g/g}$

ピークE 0.36 $\mu\text{g/g}$

ピークF 0.37 $\mu\text{g/g}$

と算出される。

$$*8 \text{ 被験物質検出限界濃度 } (\mu\text{g/ml 又は } \mu\text{g/g}) = \frac{A}{\frac{B}{100} \times \frac{C \times E}{D}}$$

A : 検量線上測定限界濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

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 JIS Z 8401-1961の方法を用いて有効数字2ケタに丸めた。

11.7 濃縮倍率（BCF）の算出

表－16の計算式に従って計算し、計算結果は JIS Z 8401-1961の方法を用いて1倍以上100倍未満は有効数字2ケタ、100倍以上は有効数字3ケタに丸めて表示した。

なお、11.6.5 (4)で求めた供試魚中の被験物質検出限界濃度より、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	第2濃度区	第3濃度区
ピークA	0.4倍	4.3倍	62倍
ピークB	0.5倍	5.2倍	65倍
ピークC	0.5倍	5.1倍	54倍
ピークD	0.5倍	4.8倍	45倍
ピークE	0.4倍	4.6倍	43倍
ピークF	0.4倍	4.7倍	42倍

12. 試験結果及び考察

12.1 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。

12.2 濃縮倍率

濃縮倍率を表－2に示す。

表－2の濃縮倍率とばく露期間との相関を図－1、2及び図－3に示した。これらの図より、第1、2濃度区は12週後、第3濃度区は10週後にはほぼ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、濃縮倍率として下記のとおりである。

	第1濃度区	第2濃度区	第3濃度区
ピークA	148 ～ 624 倍	1110～2870倍	5460～ 5730倍(2週)
ピークB	110 ～ 420 倍	840～1980倍	4350～ 11100倍
ピークC	36 ～ 107 倍	252～ 616倍	1200～ 3480倍
ピークD	9.5～ 33 倍	50～ 130倍	280～ 769倍
ピークE	5.3～ 18 倍	21～ 57倍	133～ 318倍
ピークF	2.5～ 8.3倍	13～ 27倍	75～ 178倍

供試魚は外観観察等の結果、異常は認められなかった。

また、試験水中の平均被験物質濃度は表-1に示されるように、それぞれの成分について7~9割維持できた。なお、ピークB成分の第3濃度区については6割程度の維持であった。

12.3 考 察

12.3.1 定量について

被験物質は同定データより、環部分の不飽和度の違う分子量 266、268、270、272、274、276、278の成分の混合物であると判断される。それぞれの含有率はガスクロマトグラフでの分離分析が不可能であるため、親イオンのマスフラグメントグラムの面積比より算出した。その際、質量スペクトルによるそれぞれの親イオン相対強度は同じであると考えた。これを表-17に示す。このマスフラグメントグラムよりそれぞれの成分は多くの異性体を含んだものであることがわかる。そのため定量はマスフラグメントグラム上のピーク面積を基に行った。なお、分子量 266の成分については含有率が少ないため、定量対象から除外した。また、分子量 268の成分については分析感度より第3濃度区の分析は2週目までの値のみにとどめた。

12.3.2 試験水中の被験物質濃度設定について

48時間LC50予備値及び分析感度を考慮して、第1濃度区1mg/l、第2濃度区0.1mg/lを設定し、試験を開始したが、各成分ともに濃度依存性を示した（第2濃度区の濃縮倍率は第1濃度区の約5倍）。そこで、新たに第3濃度区として0.01mg/lを設定したが、さらに各成分とも濃度依存性を示した（第3濃度区の濃縮倍率は第2濃度区の約5倍を示した。）。

12.3.3 濃縮性について

12.3.2で述べたように被験物質は本試験の試験水中の被験物質設定濃度において濃度依存性を示した。また、各成分間の濃縮性を比較すると、不飽和度の大きい成分（分子量の小さい成分）ほど濃縮性を認めることができた。

12.3.4 第3濃度区試験水分析について

第3濃度区試験水分析40日目以降、分子量 270、272の2成分のみが試験水中の被験物質濃度の低下を示した。そこで、回収試験操作を再度行ったところ、2成分のみ回収率の低下が見られた。そこで、試験水分析40日目以降新たな回収率を考慮し、試験水中の被験物質濃度を算出した。