

CERI

最終報告書

オクタメチルシクロテトラシロキサン (被験物質番号 K-1788) のコイにおける濃縮度試験

(試験番号 : 505113)

2007年2月28日

財団法人化学物質評価研究機構

本文書は正本を正確に電子化したものです。

財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所

2007年2月28日

試験責任者

CERI

最終報告書

オクタメチルシクロテトラシロキサン（被験物質番号 K-1788）のコイにおける濃縮度試験

（試験番号：505113）

2007年2月28日

財団法人化学物質評価研究機構

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 オクタメチルシクロテトラシロキサン (被験物質番号 K-1788) の
コイにおける濃縮度試験

試験番号 505113

上記試験は以下のGLPに従って実施したものです。

- (1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成15年11月21日、薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号)に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (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。

2007 年 2 月 28 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 オクタメチルシクロテトラシロキサン（被験物質番号 K-1788）の
コイにおける濃縮度試験

試験番号 505113

本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証します。

なお、監査又は査察の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告しました。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2006年11月24日	2006年11月24日
試験計画書	2006年11月27日	2006年11月27日
試験計画書の変更	2007年1月31日	2007年1月31日
	2007年2月1日	2007年2月1日
	2007年2月6日	2007年2月6日
急性毒性試験	2006年11月28日	2006年11月28日
脂質含量測定時	2006年11月30日	2006年12月1日
	2006年12月1日	2006年12月1日
原液調製操作時	2006年12月1日	2006年12月4日
試験水分析操作時	2006年12月12日	2006年12月13日
供試魚分析操作時	2006年12月26日	2006年12月26日
部位別試験	2007年1月31日	2007年1月31日
排泄試験	2007年2月2日	2007年2月2日
生データ、最終報告書草案	2007年2月27日	2007年2月27日
最終報告書	2007年2月28日	2007年2月28日

2007年2月28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	5
2. 急性毒性試験の実施	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	27
5. 試験結果	28
6. 考 察	32
7. 備 考	33

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	Calculation table for analysis of test water (Level 1)
Table-8	Calculation table for analysis of test water (Level 2)
Table-9	Calculation table for recovery and blank test (analysis of test fish)
Table-10	Calculation table for analysis of test fish (Level 1)
Table-11	Calculation table for analysis of test fish (Level 2)
Table-12	Calculation table for analysis of test fish (Control)
Table-13	Calculation table for analysis of test fish in depuration test (Level 1)
Table-14	Calculation table for analysis of test fish in depuration test (Level 2)
Table-15	Calculation table for analysis in each part of test fish (Level 1)
Table-16	Calculation table for analysis in each part of test fish (Level 2)
Reference 1	Analytical results of dilution water

Figures

- Fig.1 Correlation between exposure period and bioconcentration factor
(Level 1)
- Fig.2 Correlation between exposure period and bioconcentration factor
(Level 2)
- Fig.3 Concentration-mortality curve
- Fig.4-1 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for calibration curve
(analysis of test water)
- Fig.4-2 Calibration curve of test item (analysis of test water)
- Fig.5 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for blank test
(analysis of test water)
- Fig.6 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for test water
- Fig.7-1 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for calibration curve
(analysis of test fish)
- Fig.7-2 Calibration curve of test item (analysis of test fish)
- Fig.8 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for recovery and blank test
(analysis of test fish)
- Fig.9 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for test fish (Level 1)
- Fig.10 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for test fish (Level 2)
- Fig.11 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for test fish (Control)
- Fig.12 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for test fish in depuration test
(Level 1)
- Fig.13 Total ion chromatograms of GC-MS analysis for test fish in depuration test
(Level 2)
- Fig.14 Depuration curve (Level 1)
- Fig.15 Depuration curve (Level 2)
- Fig.16 Total ion chromatograms of GC-MS analysis in each part of test fish
(Level 1)
- Fig.17 Total ion chromatograms of GC-MS analysis in each part of test fish
(Level 2)
- Fig.18 Mass spectrum of test item
- Fig.19-1 IR spectrum of test item measured before experimental start
- Fig.19-2 IR spectrum of test item measured after experimental completion
- Fig.20 NMR spectrum of test item
- Reference 2 IR spectrum supplied by AIST

表 題	オクタメチルシクロテトラシロキサン (被験物質番号 K-1788) のヨ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 (〒839-0801) 福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号
試験目的	K-1788のヨ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」 (平成15年11月21日、薬食発第1121002号、平成15・11・13製局第2号、環保企発第031121002号) 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) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」 (平成15年11月21日、薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号) に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」 (2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」 (November 26, 1997)

要 約

試験の表題

オクタメチルシクロテトラシロキサン (被験物質番号 K-1788) のコイにおける濃縮度試験

試験条件

急性毒性試験

供 試 魚	ヒメダカ
ばく露期間	96時間
ばく露方法	半止水式 (8~16時間毎に換水)

濃縮度試験

供 試 魚	コイ
試験濃度	第1濃度区 2.5 µg/L
	第2濃度区 0.25 µg/L
ばく露期間	60日間
排泄期間	15日間
ばく露方法	連続流水式
分析方法	ガスクロマトグラフィー—質量分析法

試験結果

96時間LC50値 >5.60mg/L

定常状態における濃縮倍率

第1濃度区 3200倍

第2濃度区 3000倍

排泄半減期 第1濃度区 8.8日

第2濃度区 6.5日

各部位における濃縮倍率

濃度区	部位	濃縮倍率
1	外皮	4000
		3300
	頭部	5600
		4400
内臓	10000	
	6800	
可食部	2400	
	2000	
2	外皮	4700
		2400
	頭部	7200
		6600
内臓	19000	
	16000	
可食部	3800	
	2700	

1.5 被験物質の確認

質量スペクトルにより構造を推定し、被験物質であることを確認した (Fig.18参照)。また、赤外吸収スペクトル及びNMRスペクトルにより、独立行政法人 産業技術総合研究所の有機化合物スペクトルデータベースに記載のスペクトルと一致することを確認した (Fig.19, 20参照、Reference 2参照)。

1.6 保管条件及び保管条件下での安定性確認

保管条件	室温暗所保存
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.19参照)。

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. 急性毒性試験の実施

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 *Oryzias latipes*

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

財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所

(住所 〒839-0801 福岡県久留米市官ノ陣三丁目2番7号)

供試魚受入日 2006年 9月21日

(3) じゅん化条件

期間等

供試魚の受入時に目視観察をして異常のあるものを除去し、じゅん化水槽へ搬入し薬浴を実施した。その後、水温 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ の流水状態で40日間じゅん化した。その間異常のあるものは除去した。再度選別して薬浴を実施した後、流水状態で25日間じゅん化した。

薬浴

じゅん化水槽へ搬入して、水産用OTC (塩酸オキシテトラサイクリン) 50mg/Lと塩化ナトリウム6g/Lの混合薬浴を24時間実施した。再度選別して、水産用OTC 50mg/Lと塩化ナトリウム6g/Lの混合薬浴を24時間実施した。

(4) 体重

平均 0.34g

(5) 全長

平均 3.4cm

(6) 感受性試験

同一ロット (TFO-060921) 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0.511mg/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

試験用水の水質については2007年1月29日に採水し、測定を行った結果をReference 1に示す。試験用水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15年5月30日改正 厚生労働省令第101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 原液調製法

(1) 分散剤

HCO-40

N,N-ジメチルホルムアミド

(2) 調製方法

被験物質とその10倍量のHCO-40を*N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解して被験物質濃度として5000mg/Lの原液を調製した。

2.5 試験条件

(1) 試験濃度

5.6mg/L及び対照区

(2) 試験水槽

ガラス製ガロンびん (密閉系)

(3) 試験液量

3.85L×2/濃度区

(4) 供試魚数

10尾/濃度区 (5尾/水槽で2水槽使用した。)

(5) 試験温度

ばく露開始時	24.0°C
換水前	24.7~24.8°C

(6) 溶存酸素濃度

ばく露開始時	8.0mg/L
換水前	4.7~4.9mg/L

(7) pH

ばく露開始時	8.2
換水前	7.7~7.8

(8) ばく露期間

96時間

(9) ばく露方法

半止水式 (8~16時間毎に換水)

2.6 試験の実施

実施場所	アクアトロン室B
試験実施日	2006年11月27日 ~ 2006年12月 1日

2.7 96時間LC50値の算出

Doudoroff法で行った。

2.8 試験結果

被験物質の96時間LC50値 >5.60mg/L² (Fig.3参照)

*2 この際の使用した分散剤 (N,N-ジメチルホルムアミド) の濃度は、約1120mg/L となり、その分散剤の96時間LC50値が11200mg/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

定常状態における濃縮倍率が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 *Cyprinus carpio*

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

財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所

(住所 〒839-0801 福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号)

供試魚のふ化日 2006年 6月11日

じゅん化開始日 2006年10月 3日

(3) じゅん化条件

期 間 等

受入槽でふ化仔魚を試験魚サイズまで養成後、じゅん化水槽へ搬入して薬浴した。その後、水温 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 未満の流水状態で27日間じゅん化した。その間異常のあるものは除去した。再度選別して試験水槽へ移し、薬浴した。その後、同温度の流水状態で30日間じゅん化した。

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。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。

(4) 全 長

6.6~10.9cm

(5) ロ ッ ト

TFC-061003

(6) 年 齢

当才魚

(7) 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

ばく露期間	第1及び第2濃度区 70L容ガラス製揮発性物質用試験水槽 対照区 70L容ガラス製試験水槽
排泄期間	70L容ガラス製試験水槽

(3) 試験水量

ばく露期間	原液0.02mL/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

500mL容ガラス製びん
交換頻度 2~3回/月

(5) 試験温度

第1濃度区	24.2~24.9℃
第2濃度区	24.0~24.9℃
対照区	24.1~24.9℃

(6) 溶存酸素濃度

第1濃度区	6.0~7.8mg/L
第2濃度区	6.0~7.8mg/L
対照区	7.2~7.9mg/L

(7) pH

第1濃度区	7.4~7.8
第2濃度区	7.5~7.9
対照区	7.7~7.9

(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	52尾（実験開始時）
対照区	14尾（実験開始時）

(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

15日間

理由：排泄半減期が得られたため。

(12) 実施場所

アクアトロン室A

3.4 原液調製法

(1) 分散剤

2.4の(1)と同じ。

(2) 調製方法

第1濃度区

2.4の(2)と同様にして2500mg/Lの被験物質溶液を調製し、*N,N*-ジメチルホルムアミドで希釈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

2.4の(2)と同様にして2500mg/Lの被験物質溶液を調製し、*N,N*-ジメチルホルムアミドで希釈して被験物質濃度として25.0mg/Lの原液を調製した。

対照区

HCO-40を*N,N*-ジメチルホルムアミドで希釈して、HCO-40濃度として2500mg/Lの原液を調製した。

3.5 試験濃度

各濃度区は以下の被験物質濃度とした。同時に、対照区を設定した。

第1濃度区 2.5 µg/L

第2濃度区 0.25µg/L

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週1回測定記録した。

(4) 溶存酸素濃度

溶存酸素計を用いて週1回測定記録した。

(5) pH測定

pH計を用いて実験期間中に6回測定記録した。

(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ガスクロマトグラフィー—質量分析法 (GC-MS) により行った。

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)^{*3}に分けて行った。

排泄試験の供試魚分析は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。

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。また、脂質含量測定用として6尾を追加で取り上げ、3群 (2尾1群)とした。さらに、定常状態における供試魚の脂質含量を把握するため、排泄1日後における第1、第2濃度区の供試魚を別途6尾取り上げ、3群 (2尾1群)に分けて、脂質含量測定を行った。

*3 個体ごとの分析では、分析感度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

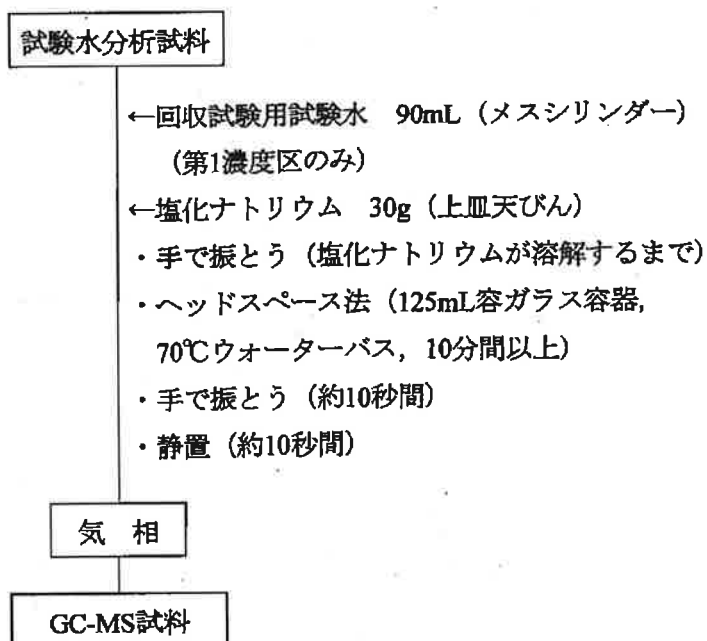
試験水槽から

第1濃度区 10mL

第2濃度区 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、ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS) 試料とした。

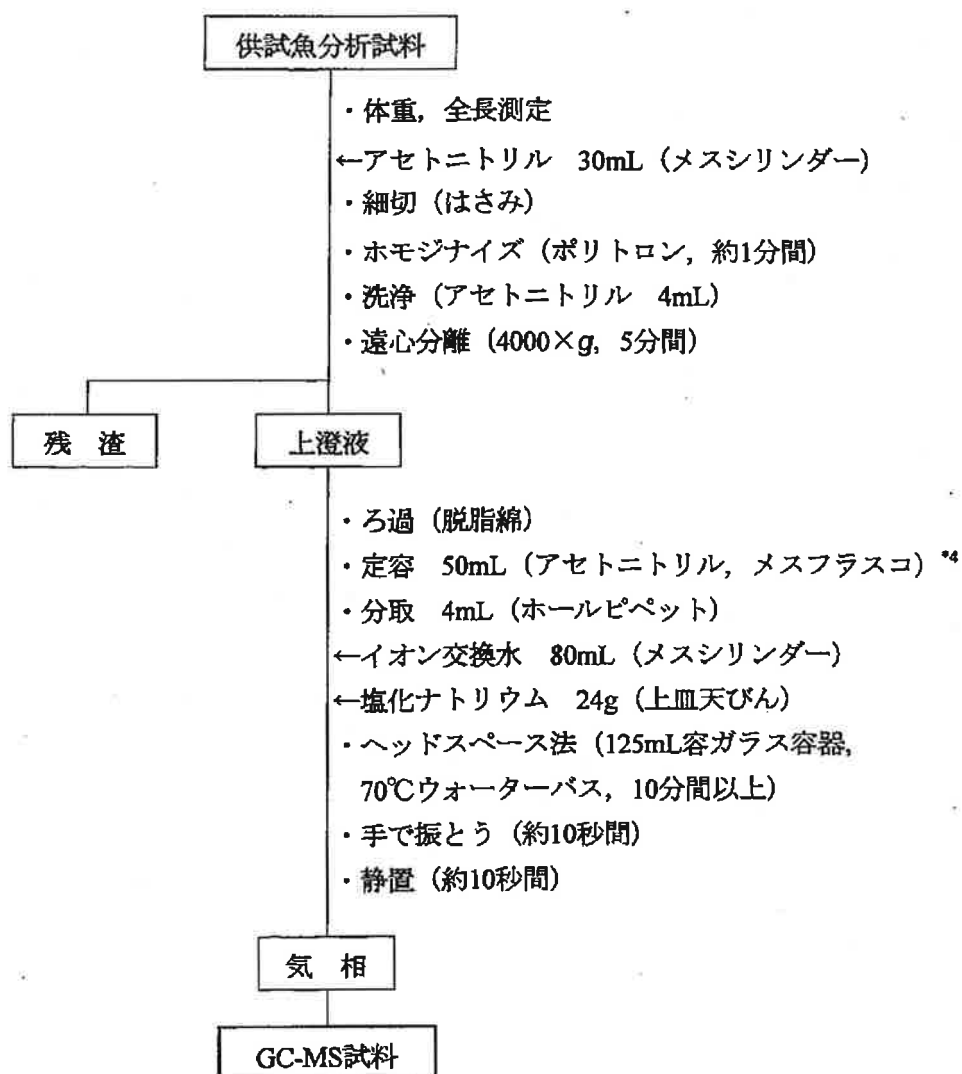
フロースキーム



(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。

フロースキーム



*4 供試魚分析において被験物質濃度が検量線の範囲を超えたため、定容50mLの試料を適宜希釈した。

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超えた場合は、その範囲にはいるように希釈し分析した(*4参照)。GC-MS試料中の被験物質濃度は、標準試料及びGC-MS試料のトータルイオン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-7, 8, Fig.6, Table-10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 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
ガスクロマトグラフ部	サーモクエスト製 TRACE GC
質量分析計部	サーモクエスト製 Polaris Q
<u>ガスクロマトグラフ条件</u>	
カ ラ ム	HP-INNOWAX 膜厚 0.25 μ m (Agilent Technologies製) 30m \times 0.25mmI.D. フェーズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	40 $^{\circ}$ C (0min) \rightarrow 100 $^{\circ}$ C (0min) (昇温速度 10 $^{\circ}$ C/min)
キャリアガス	ヘリウム
スプリット流量	10mL/min
カ ラ ム 流 量	1mL/min
注 入 口 温 度	60 $^{\circ}$ C
注 入 量	0.2mL
注 入 法	ヘッドスペース法
導 入 法	スプリットモード
スプリット比	1/10
<u>質量分析計条件</u>	
イオン化法	電子イオン化法 (EI)
検 出 法	選択イオンモニタリング (SIM)
測定イオン(m/z)	281 (M-CH ₃) ⁺ 265 (M-OCH ₃) ⁺ 249 (281-CH ₂ OH) ⁺ } (Fig.18参照)
イオン源温度	250 $^{\circ}$ C
イオン化電圧	70V
トランスファーライン温度	200 $^{\circ}$ C

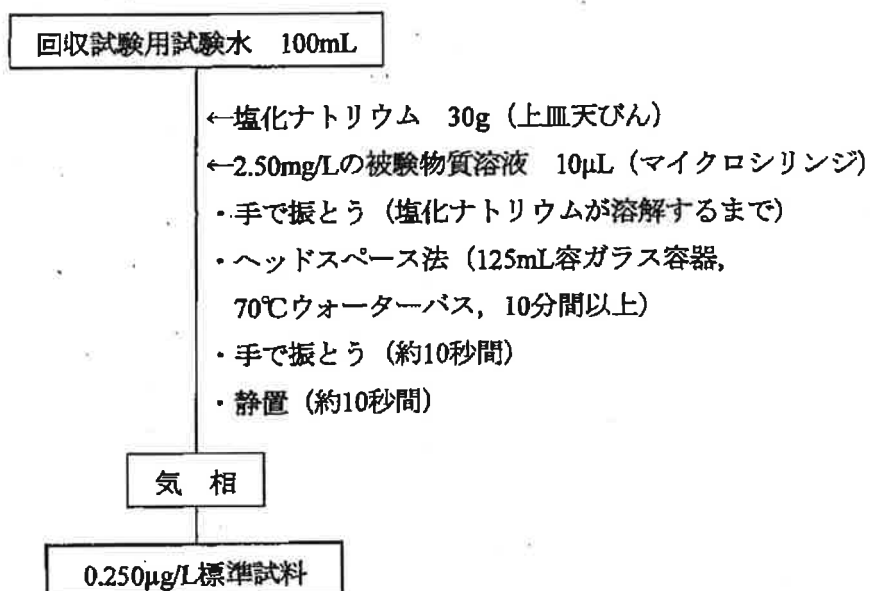
(2) 標準試料の調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための標準試料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、*N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これを*N,N*-ジメチルホルムアミドで希釈して2.50mg/Lの被験物質溶液を調製し、下記のフロースキームに従って前処理操作を行い、0.250 μ g/Lの標準試料とした。

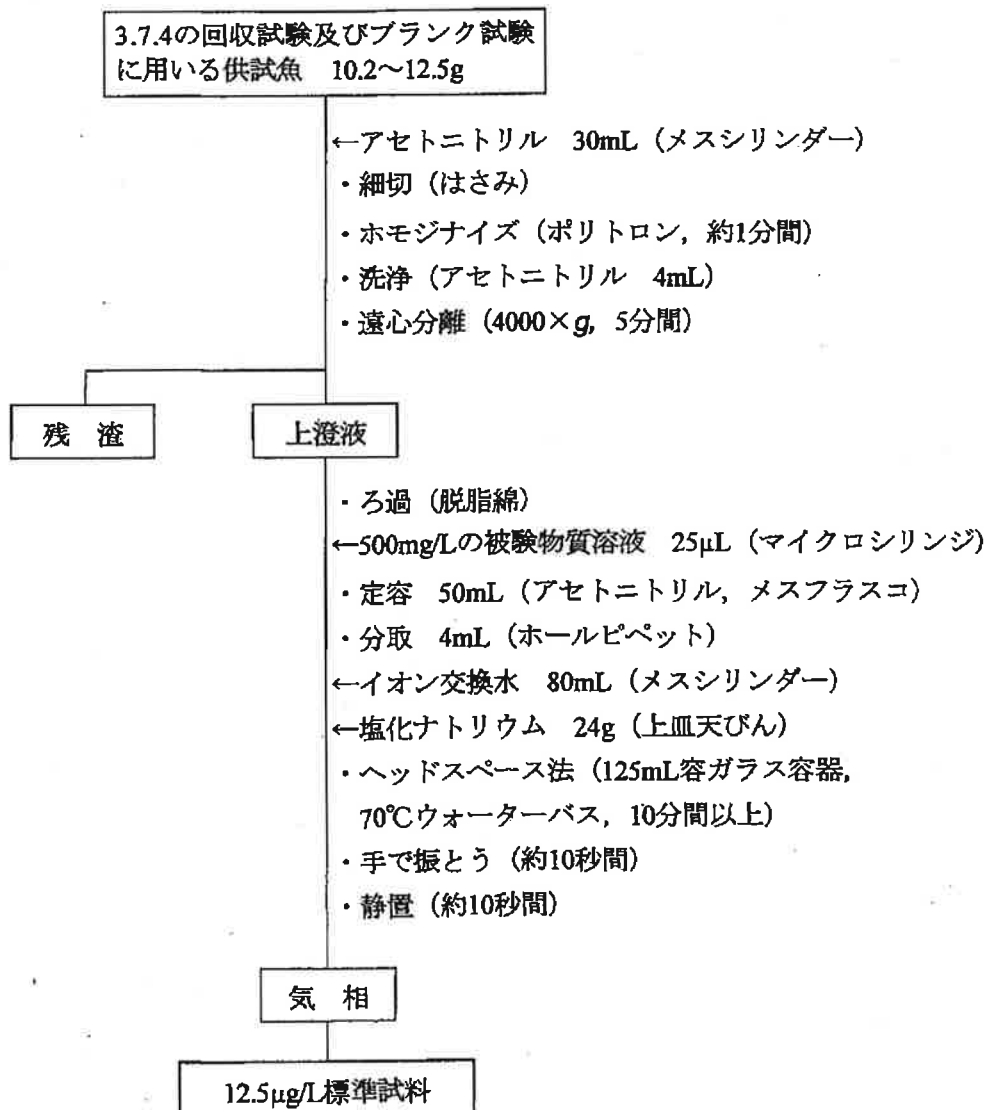
フロースキーム



(b) 供試魚分析

被験物質100mgを正確にはかりとり、*N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これを*N,N*-ジメチルホルムアミドで希釈して500mg/Lの被験物質溶液を調製し、下記のフロースキームに従って前処理操作を行い、12.5 μ g/Lの標準試料とした。

フロースキーム



(3) 検量線の作成

(a) 試験水分析

(2)(a)の標準試料の調製と同様にして0.125、0.250及び0.500 $\mu\text{g/L}$ の標準試料を調製した。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トータルイオン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300（被験物質濃度0.0078 $\mu\text{g/L}$ ）とした（Fig.4参照）。

(b) 供試魚分析

(2)(b)の標準試料の調製と同様にして6.25、12.5及び25.0 $\mu\text{g/L}$ の標準試料を調製した。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トータルイオン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（Fig.7-1-1参照）。また、ばく露11日後の供試魚分析において被験物質のピーク形状がそれ以前のものと異なったため、(2)(b)の標準試料の調製と同様にして6.25、12.5及び25.0 $\mu\text{g/L}$ の標準試料を調製し、再度検量線を作成し定量性を確認した（Fig.7-1-2参照）。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して3000としたとき、被験物質濃度はFig.7-1-1及びFig.7-1-2の検量線でそれぞれ、0.17 $\mu\text{g/L}$ 及び0.12 $\mu\text{g/L}$ であった。従って、本試験の供試魚分析の定量下限は被験物質濃度の大きい0.17 $\mu\text{g/L}$ （Fig.7-1-1）を採用した。

3.7.4 回収試験及びブランク試験

(1) 方法

試験水分析は前処理が希釈のみのため回収試験は行わなかった。また、被験物質を加えない回収試験用試験水についてブランク試験を行った。一方、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、魚(10.6~11.5g)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、各々のブランク試験においてトータルイオンクロマトグラム上、被験物質ピーク位置にはピークは認められなかった。供試魚分析操作における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、Fig.5、8参照)。

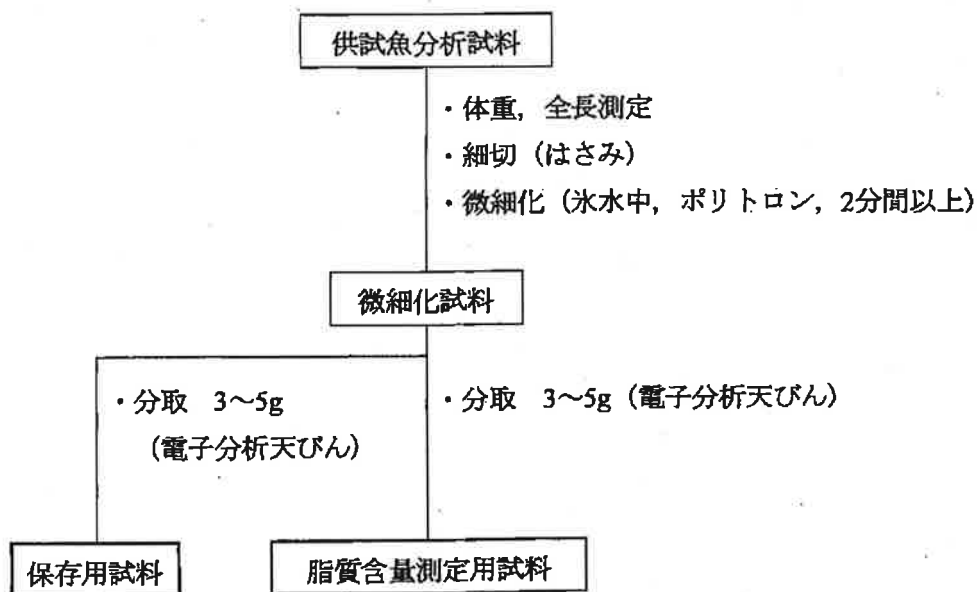
供試魚分析操作における回収率(被験物質12500ng添加)

93.9%, 85.8% 平均 89.8%

3.7.5 供試魚中の脂質含量

脂質含量の測定は、対照区の供試魚を用いて実験開始前及び実験終了後に行った。また、排泄1日後における第1、第2濃度区の供試魚についても同様に行った。1回当たりの採取尾数は6尾とし、3群（2尾1群）に分けて測定した。採取した供試魚は以下のフロースキームにより前処理操作を行い、脂質含量の測定用試料とした。これ以降の操作はクロロホルム/メタノール抽出操作から行った。

フロースキーム



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-7, 8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定量下限濃度

3.7.3(3)(a)の検量線の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 0.078 µg/L

第2濃度区 0.0078 µg/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-10, 11, 12, 13, 14, 15, 16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定量下限濃度

3.7.3(3)(b)の検量線の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}は供試魚体重を10gとしたとき19ng/gと算出される。

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

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) 又は供試魚体重 (g)

D : 最終液量 (mL)

E : 分取比

計算結果は有効数字2ケタに丸めた。

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

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

- $\overline{C_w}$: 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) m回目の濃縮倍率の平均値

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

BCF_m : m回目の濃縮倍率の平均値 (群数2(a,b))

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

ただし、不検出がある測定日の濃縮倍率の平均値は求めない。

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_{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) 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の平均被験物質濃度 (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	7.7 倍
第2濃度区	86 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84%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 μg/L)

濃度区	4日後	11日後	25日後	39日後	53日後	60日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
1	2.53	2.59	2.59	2.60	2.35	2.42	2.51 (0.103)	7	6
2	0.230	0.223	0.235	0.209	0.229	0.225	0.225 (0.0089)	8	

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第1濃度区において2400~3900倍、第2濃度区において2400~6200倍であった。

Table-2 濃縮倍率

() 内は平均値

濃度区	11日後	25日後	39日後	53日後	60日後	Table	Fig.
1	2900	3800	3000	3100	2500	10	9
	2400 (2600)	3900 (3800)	3800 (3400)	3300 (3200)	3100 (2800)		
2	4500	6000	3400	2900	3000	11	10
	4600 (4500)	6200 (6100)	3500 (3400)	2800 (2800)	2400 (2700)		

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を確認するために、濃縮倍率の変動をTable-3に示した。

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		39日後	53日後	60日後	3回の平均
1	平均濃縮倍率	3390.9	3171.3	2824.1	3128.8
	3回の平均からの乖離率 (%)	8.3765	1.3599	9.7364	
2	平均濃縮倍率	3441.1	2840.2	2719.9	3000.4
	3回の平均からの乖離率 (%)	14.687	5.3388	9.3482	

上記の結果から、39、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、第1濃度区において設定値の98%、第2濃度区において88%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	39日後	53日後	60日後	平均	Table	Fig.
1	2.60	2.35	2.42	2.46	7 10	6
2	0.209	0.229	0.225	0.221	8 11	

(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 3200倍

第2濃度区 3000倍

5.4 排泄試験

61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、排泄試験開始1、2、5及び15日後の供試魚中被験物質の残留率（%）を算出した（Table-13, 14、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、排泄半減期は第1濃度区で8.8日、第2濃度区で6.5日であった。

Table-5 排泄試験における残留率

(単位 %)

濃度区	1日後	2日後	5日後	15日後	Table	Fig.
1	73	69	86	12	13	12
	53	54	69	40		
2	66	87	37	16	14	13
	99	118	40	25		

5.5 部位別試験

61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。

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（ばく露39日後、53日後及び60日後）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.
1	外皮	9840	4000	15	16
		8080	3300		
	頭部	13800	5600		
		10900	4400		
内臓	25100	10000			
	16700	6800			
可食部	5890	2400			
	4840	2000			
2	外皮	1040	4700	16	17
		523	2400		
	頭部	1600	7200		
		1460	6600		
内臓	4190	19000			
	3510	16000			
可食部	851	3800			
	593	2700			

5.6 供試魚の脂質含量

対照区における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	3.18%
実験終了後	4.22%

また、排泄試験1日後の第1及び第2濃度区の平均脂質含量は以下のとおりであった。

第1濃度区	5.36%
第2濃度区	6.56%

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

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+33%であり、開始時の±25%の範囲を超えた。その原因の一つとして、ばく露期間が60日及び排泄期間が15日と長期間であったことにより成長に伴い脂質含量が変動したことが考えられる。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。

7. 備 考

試験に使用した主要な装置・機器及び試薬等

(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
		日本精密科学製	型 SP-Y-2500
溶存酸素測定装置	:	飯島電子工業製	型 ID-100
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 CP324S
		メトラー製	型 AB204-S
		エー・アンド・ディ製	型 FA-2000
フーリエ変換赤外分光光度計	:	島津製作所製	型 IRPrestige-21
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
ウォーターバス	:	東京理化器械製	型 SB-9
		東京理化器械製	型 NTT-2200

試 薬

アセトニトリル	:	和光純薬工業製	HPLC用
N,N-ジメチルホルムアミド	:	ナカライテスク製	試薬一級
塩化ナトリウム	:	マナック製	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	: 東京理化工機製	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)		
	: アズワン製	型 CM-200
	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 DTC-21
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	: 関東化学製	試薬一級

最終報告書

2,2,4,4,6,6,8,8-オクタメチルシクロテトラシロキサン (被験物質番号 K-1788) の
コイにおける濃縮度試験

(試験番号 : 505177)

2010年3月

財団法人化学物質評価研究機構

本文書は正本を正確に電子化したものです。

財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所

2010年3月11日

試験責任者

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 2,2,4,4,6,6,8,8-オクタメチルシクロテトラシロキサン (被験物質番号 K-1788)
のコイにおける濃縮度試験

試験番号 505177

上記試験は以下の GLP に従って実施したものです。

- (1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」 (平成 15 年 11 月 21 日、薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正) に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (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。

2010 年 3 月 10 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 経済産業省

試験の表題 2,2,4,4,6,6,8,8,-オクタメチルシクロテトラシロキサン(被験物質番号 K-1788)
のコイにおける濃縮度試験

試験番号 505177

本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証します。

なお、監査又は査察の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告しました。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2009年11月20日	2009年11月20日
試験計画書	2009年11月25日	2009年11月25日
試験計画書の変更	2010年1月13日	2010年1月14日
	2010年1月27日	2010年1月27日
	2010年2月9日	2010年2月9日
原液調製操作時	2009年11月27日	2009年11月30日
試験水分析操作時	2009年11月30日	2009年11月30日
供試魚分析操作時	2009年12月17日	2009年12月17日
部位別試験	2010年1月28日	2010年1月28日
排泄試験	2010年1月29日	2010年1月29日
生データ、最終報告書草案	2010年3月2日	2010年3月2日
最終報告書	2010年3月10日	2010年3月10日

2010年3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
GLP 基準	1
試験日程	1
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. 濃縮度試験の実施	5
3. 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	15
4. 試験結果	16
5. 備 考	18

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	Calculation table for analysis of test water (Level 1)
Table-8	Calculation table for analysis of test water (Level 2)
Table-9	Calculation table for recovery and blank test (analysis of test fish)
Table-10	Calculation table for analysis of test fish (Level 1)
Table-11	Calculation table for analysis of test fish (Level 2)
Table-12	Calculation table for analysis of test fish (Control)
Table-13	Calculation table for analysis of test fish in depuration test (Level 1)
Table-14	Calculation table for analysis of test fish in depuration test (Level 2)
Table-15	Calculation table for analysis in each part of test fish (Level 1)
Table-16	Calculation table for analysis in each part of test fish (Level 2)
Reference 1	Analytical results of dilution water

Figures

- Fig. 1 Correlation between exposure period and bioconcentration factor (Level 1)
- Fig. 2 Correlation between exposure period and bioconcentration factor (Level 2)
- Fig. 3-1 Chromatograms of GC-MS analysis for calibration curve
(analysis of test water)
- Fig. 3-2 Calibration curve of test item (analysis of test water)
- Fig. 4 Chromatograms of GC-MS analysis for blank test
(analysis of test water)
- Fig. 5 Chromatograms of GC-MS analysis for test water
- Fig. 6-1 Chromatograms of GC-MS analysis for calibration curve
(analysis of test fish)
- Fig. 6-2 Calibration curve of test item (analysis of test fish)
- Fig. 7 Chromatograms of GC-MS analysis for recovery and blank test
(analysis of test fish)
- Fig. 8 Chromatograms of GC-MS analysis for test fish (Level 1)
- Fig. 9 Chromatograms of GC-MS analysis for test fish (Level 2)
- Fig. 10 Chromatograms of GC-MS analysis for test fish (Control)
- Fig. 11 Chromatograms of GC-MS analysis for test fish in depuration test (Level 1)
- Fig. 12 Chromatograms of GC-MS analysis for test fish in depuration test (Level 2)
- Fig. 13 Depuration curve (Level 1)
- Fig. 14 Depuration curve (Level 2)
- Fig. 15 Chromatograms of GC-MS analysis in each part of test fish (Level 1)
- Fig. 16 Chromatograms of GC-MS analysis in each part of test fish (Level 2)
- Fig. 17 Mass spectrum of test item
- Fig. 18-1 IR spectrum of test item measured before experimental start
- Fig. 18-2 IR spectrum of test item measured after experimental completion

表 題

2,2,4,4,6,6,8,8-オクタメチルシクロテトラシロキサン (被験物質番号 K-1788) 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

(〒839-0801) 福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号

試験目的

K-1788 のコイにおける濃縮性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」(平成15年11月21日、薬食発第1121002号、平成15・11・13製局第2号、環企発第031121002号、平成18年11月20日最終改正)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)"

GLP 基準

本試験は以下の基準を適用した。

- (1)「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成15年11月21日、薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環企発第031121004号、平成20年7月4日最終改正)に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2)"OECD Principles of Good Laboratory Practice" (November 26, 1997)

試験日程

試験開始日	2009年11月25日
実験開始日	2009年11月27日
実験終了日	2010年2月9日
試験終了日	2010年3月10日

要 約

試験の表題

2,2,4,4,6,6,8,8-オクタメチルシクロテトラシロキサン (被験物質番号 K-1788) のコイにおける濃縮度試験

試験条件

濃縮度試験

供試魚 コイ
 試験濃度 第1濃度区 2.5 µg/L
 第2濃度区 0.25 µg/L
 ばく露期間 60日間
 排泄期間 12日間
 ばく露方法 連続流水式
 分析方法 ガスクロマトグラフィー—質量分析法

試験結果

定常状態における濃縮倍率

第1濃度区 3300倍
 第2濃度区 4000倍

排泄半減期 第1濃度区 7.0日
 第2濃度区 8.2日

各部位における濃縮倍率

濃度区	部位	濃縮倍率
1	外皮	4000
		3200
	頭部	4600
		4300
内臓	15000	
	13000	
2	外皮	2700
		2200
	頭部	3100
		3400
内臓	5300	
	6000	
可食部	16000	
	12000	
可食部	5200	
	4400	

2. 濃縮度試験の実施

定常状態における濃縮倍率が 1000 倍を超えたため、部位別試験及び排泄試験を行った。

2.1 供試魚

魚種	コイ <i>Cyprinus carpio</i>
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
供給源	財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所
じゅん化条件	水産用 OTC (塩酸オキシテトラサイクリン 川崎三鷹製薬製) 及び塩化ナトリウム (塩事業センター製) を用いて薬浴した後に、以下の条件でじゅん化した。
期間	41 日間
水温	25±2°C未満
	じゅん化期間中の全体の死亡率は 5%未満であった。
全長	6.2~10.3 cm
ロット	TFC-090917
年齢	当才魚
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。

2.2 試験用水

種類	久留米事業所敷地内で揚水した地下水
水質確認	試験用水の水質については 2010 年 1 月 6 日に採水し、測定を行った結果を Reference 1 に示した。試験用水は、測定した 41 項目のうち、アルカリ度及び電気伝導度を除く 39 項目について、試験用水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 15 年 5 月 30 日改正 厚生労働省令第 101 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)"

2.3 試験及び環境条件

試験水供給方法	久留米事業所組立流水式装置	
試験水槽	ばく露期間	
	第1及び第2濃度区	70 L 容ガラス製揮発性物質用水槽
	対照区	70 L 容ガラス製水槽
	排泄期間	70 L 容ガラス製水槽
試験水量	ばく露期間	
	原液 0.02 mL/分及び試験用水 2000 mL/分の割合で 2880 L/日を試験水槽に供した。	
	排泄期間	
	試験用水 2000 mL/分で 2880 L/日を試験水槽に供した。	
原液タンク	500 mL 容ガラス製褐色びん	
	交換頻度	1~2 回/2 週
試験温度	第1濃度区	24.0~24.8℃
	第2濃度区	23.8~24.9℃
	対照区	24.3~24.9℃
溶存酸素濃度	第1濃度区	5.7~7.2 mg/L
	第2濃度区	5.8~7.0 mg/L
	対照区	6.8~7.3 mg/L
pH	第1濃度区	7.6~7.8
	第2濃度区	7.6~7.8
	対照区	7.6~7.8
照光時間	白色蛍光灯による人工照明 (14 時間明/10 時間暗)	
供試魚数	第1及び第2濃度区	52 尾 (実験開始時)
	対照区	14 尾 (実験開始時)
ばく露期間	60 日間	
	設定理由	60 日間で定常状態に達したため
排泄期間	12 日間	
	設定理由	排泄半減期が得られたため
実施場所	アクアトロン室 A	

2.4 原液調製法

分散剤 HCO-40
N,N-ジメチルホルムアミド

調製方法

第1濃度区 供試試料とその10倍量のHCO-40を*N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解して、2500 mg/Lの被験物質溶液を調製し、さらにこれを*N,N*-ジメチルホルムアミドで希釈して被験物質濃度として250 mg/Lの原液を調製した。

第2濃度区 第1濃度区で調製した2500 mg/Lの被験物質溶液を*N,N*-ジメチルホルムアミドで希釈して被験物質濃度として25.0 mg/Lの原液を調製した。

対照区 HCO-40を*N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解して、HCO-40濃度として2500 mg/Lの原液を調製した。

2.5 試験濃度

分析感度を考慮して、各濃度区は以下の被験物質濃度とした。同時に、対照区を設定した。

第1濃度区 2.5 µg/L

第2濃度区 0.25 µg/L

2.6 観察、測定及び清掃

供試魚の観察 1日に2回（休日は1回）観察記録した。

試験水量 1日に1回測定記録した。

試験温度 週1回測定記録した。

溶存酸素濃度 週1~2回測定記録した。

pH測定 実験期間中に6回測定記録した。

清掃 コイの排泄物等を1日に1回程度除去した。

2.7 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ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）により行った。

2.7.1 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回当たりの分析試料は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6回行い、1回当たりの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)^{*1}に分けて行った。さらに、ばく露47日後において、脂質含量測定用として4尾を取り上げ、2群(2尾1群)に分けて測定した。

最後の連続した3回の測定では、48時間以上の間隔となるように供試魚を採取し、最後の測定は60日後とした。

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。

排泄試験の供試魚分析は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。

対照区は実験開始前及び実験終了後に行い、1回当たりの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)に分けて分析した。さらに、両分析において、それぞれ脂質含量測定用として別途6尾を取り上げ、3群(2尾1群)とした。

*1 分析感度が十分得られないため2尾1群とした。

2.7.2 分析試料の前処理法

(1) 試験水中の被験物質

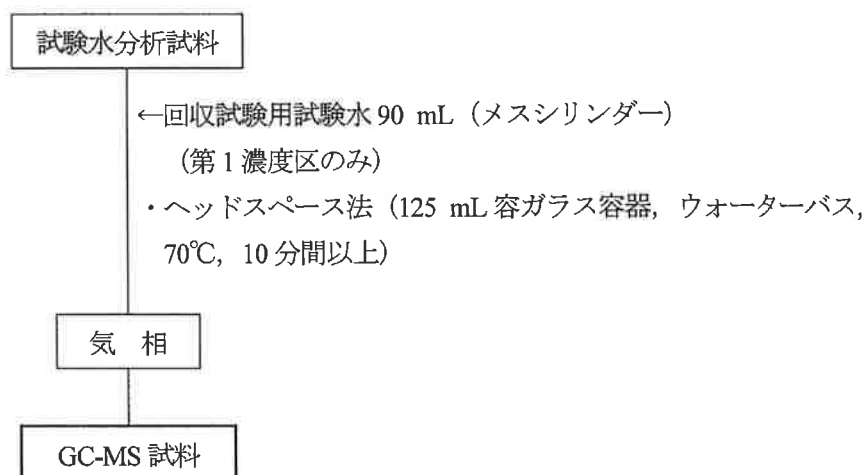
試験水槽から

第1濃度区 10 mL

第2濃度区 100 mL

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。

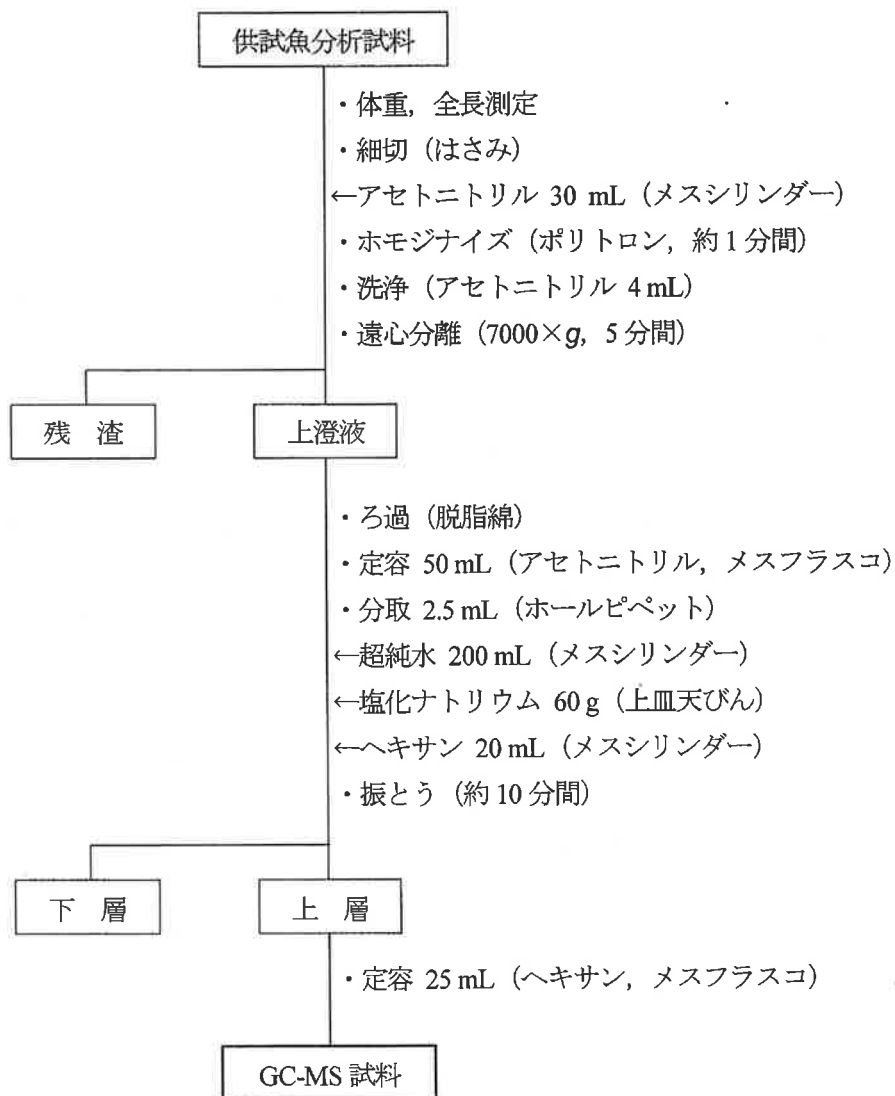
フロースキーム



(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。

フロースキーム



2.7.3 被験物質の定量分析

GC-MS 試料中の被験物質濃度は、標準溶液及び GC-MS 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 (Tables-7, 8, Fig. 5, Tables-10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, Figs. 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16 参照)。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超えた場合は、その範囲にはいるように希釈し分析した。

(1) 定量条件

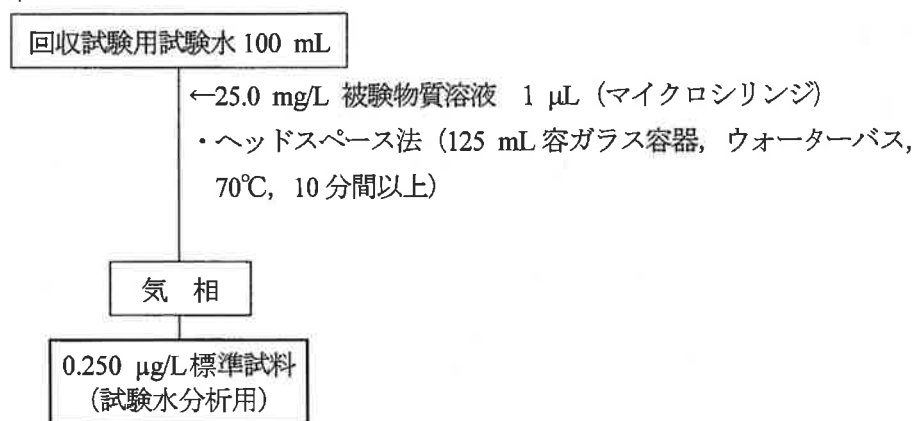
機 器	ガスクロマトグラフー質量分析計
ガスクロマトグラフ	Agilent Technologies 製 6890N
質量分析計	Agilent Technologies 製 5975B MSD
<u>ガスクロマトグラフ条件</u>	
カ ラ ム	HP-5MS 膜厚 0.25 μm (Agilent Technologies 製) 60 m \times 0.25 mm I.D. フェーズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	40 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) \rightarrow 220 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) (昇温速度 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)
注 入 口 温 度	60 $^{\circ}\text{C}$
キャリアガス	ヘリウム
制 御 モ ー ド	流量
カ ラ ム 流 量	1.2 mL/min
平 均 線 速 度	28 cm/sec
[試験水分析]	
試 料 導 入 法	パルスドスプリット (パルス圧: 180 kPa パルス時間: 1.1 min)
スプリット比	10:1
スプリット流量	12 mL/min
全 流 量	15.7 mL/min
注 入 量	200 μL
[供試魚分析]	
試 料 導 入 法	パルスドスプリットレス (パルス圧: 180 kPa パルス時間: 1.1 min)
パ ー ジ 流 量	60 mL/min
パ ー ジ 時 間	1 min
全 流 量	63.7 mL/min
注 入 量	2 μL
<u>質量分析計条件</u>	
イオン化法	電子イオン化法 (EI)
検 出 法	選択イオンモニタリング (SIM)
測 定 イ オン	TIC ($m/z=249$ [281- CH_3OH] $^+$, 265 [M- OCH_3] $^+$, 281 [M- CH_3] $^+$) (Fig. 17 参照)
インタフェース温度	230 $^{\circ}\text{C}$
MS 四重極温度	150 $^{\circ}\text{C}$
イオン源温度	230 $^{\circ}\text{C}$
イオン化電圧	70 V

(2) 標準溶液の調製

(a) 試験水分析

供試試料 100 mg を正確にはかりとり *N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解して 1000 mg/L の被験物質溶液を調製した。これを *N,N*-ジメチルホルムアミドで希釈して 25.0 mg/L の被験物質溶液を調製した。これを用いて以下のフロースキームにより前処理操作を行い、0.250 µg/L の標準試料とした。

フロースキーム



(b) 供試魚分析

供試試料 100 mg を正確にはかりとり、ヘキサンに溶解して 1000 mg/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 25.0 µg/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 0.125、0.250 及び 0.500 µg/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 1000 (被験物質濃度 0.0099 µg/L) とした (Fig. 3 参照)。

(b) 供試魚分析

(2)(b)の標準溶液の調製と同様にして 12.5、25.0 及び 50.0 µg/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 1000 (被験物質濃度 0.11 µg/L) とした (Fig. 6 参照)。

2.7.4 回収試験及びブランク試験

(1) 方法

試験水分析は前処理が希釈のみのため回収試験は行わなかった。また、被験物質を加えない回収試験用試験水についてブランク試験を行った。一方、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、細切した魚 (10 g) 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、各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、各々の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。供試魚分析操作における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、Figs. 4, 7 参照)。

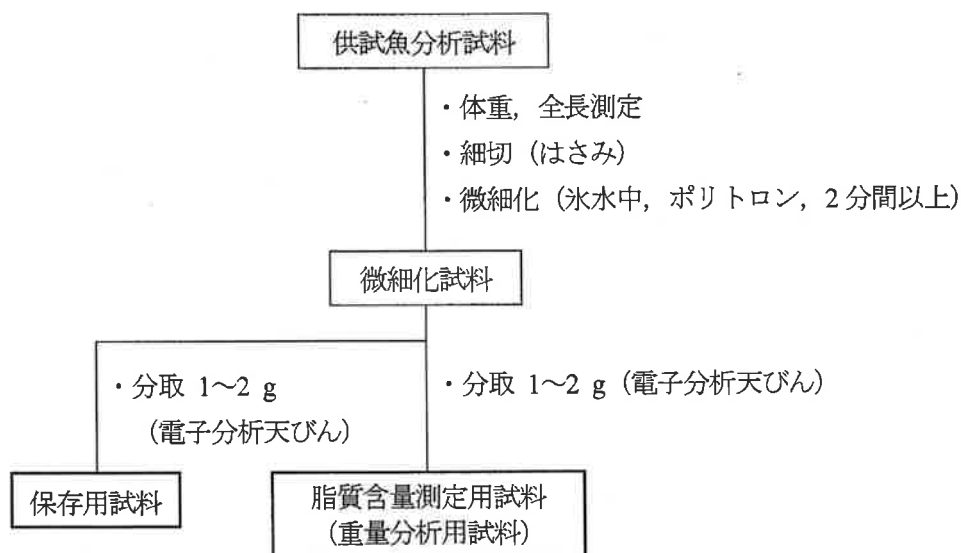
供試魚分析操作における回収率 (被験物質 12500 ng 添加)

89.7%, 86.9% 平均 88.3%

2.7.5 供試魚中の脂質含量

実験終了後における供試魚の脂質含量が開始時の±25%以内であるか否かを確認するために、脂質含量の測定は、対照区の供試魚を用いて実験開始前及び実験終了後に行った。1回当たりの採取尾数は6尾とし、3群 (2尾1群) に分けて測定した。また、実験期間中の脂質含量を測定するために、脂質含量の測定は、第1、第2濃度区の供試魚を用いてばく露47日後に行った。採取尾数は4尾とし、2群 (2尾1群) に分けて測定した。採取した供試魚は以下のフロースキームにより前処理操作を行い、脂質含量の測定用試料とした。これ以降は常法に従い、クロロホルム/メタノール抽出操作を行い、脂質含量 (容器を含む) を測定した。

フロースキーム



2.7.6 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

Tables-7, 8 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定量下限濃度

2.7.3(3)(a)の検量線の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*2 はそれぞれ、

第1濃度区 0.099 µg/L

第2濃度区 0.0099 µg/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

Tables-10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 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定量下限濃度

2.7.3(3)(b)の検量線の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*2 は供試魚体重を 10 g としたとき 6.2 ng/g と算出される。

$$*2 \text{ 被験物質定量下限濃度 (}\mu\text{g/L 又は ng/g)} = \frac{A}{\frac{B}{100} \times \frac{C \times E}{D}}$$

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) 又は供試魚体重 (g)

D : 最終液量 (mL)

E : 分取比

計算結果は有効数字 2 ケタに丸めた。

2.7.7 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

$$\overline{Cw} = \{Cw(1) + \dots + Cw(n)\} / n$$

\overline{Cw} : 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)

Cw(1) : 1 回目の試験水中被験物質濃度 (µg/L)

Cw(n) : n 回目の試験水中被験物質濃度 (µg/L)

2.7.8 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

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

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

\overline{Cw} : 濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度 (µg/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 (µg/L)

(2) 濃縮倍率の算出

$$BCF = C_f / \bar{C}_w$$

- 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)
 \bar{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) m 回目の濃縮倍率の平均値

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

- BCF_m : m 回目の濃縮倍率の平均値 (群数 2(a,b))
 $BCF_{a,b}$: 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

ただし、不検出がある測定日の濃縮倍率の平均値は求めない。

2.7.9 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： $V(m-2), V(m-1), V(m) \leq 20 (\%)$

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

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

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

- $V(m-2), V(m-1), V(m)$: 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
 \bar{BCF} : $\{BCF(m-2) + BCF(m-1) + BCF(m)\} / 3$

2.7.10 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) 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

$$\bar{C}_{ws} = \{C_w(n-2) + C_w(n-1) + C_w(n)\} / 3$$

- \bar{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) ($\mu\text{g/L}$)
 $C_w(n)$: 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) 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)

(3) 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の平均被験物質濃度 ($\mu\text{g/L}$)

2.7.11 算出可能な濃縮倍率

2.7.6(4)で求めた供試魚中の被験物質定量下限濃度より、下記の倍率以上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 Table-1 に示した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 2.6 倍

第2濃度区 27 倍

2.7.12 脂質含量の算出法

脂質含量は次式により求めた。

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

T_0 : 容器の質量 (g)

T : 容器を含む脂質重量 (重量分析用試料) の質量 (g)

S : 供試魚微細化試料の分取量 (g)

2.8 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。

3. 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。

4. 試験結果

4.1 試験水中の被験物質濃度

試験水中の被験物質濃度を Table-1 に示した。被験物質濃度は設定値の 84%以上が保持され、そ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 µg/L)

濃度区	3日後	7日後	20日後	32日後	46日後	54日後	60日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
1	2.45	2.45	2.33	2.39	2.35	2.46	2.28	2.39 (0.067)	7	5
2	0.220	0.211	0.224	0.250	0.250	0.248	0.241	0.235 (0.0164)	8	

4.2 濃縮倍率

濃縮倍率を Table-2 に、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第 1 濃度区において 1700~5800 倍、第 2 濃度区において 3400~8100 倍であった。

Table-2 濃縮倍率 () 内は平均値

濃度区	7日後	20日後	32日後	46日後	54日後	60日後	Table	Fig.
1	1700	4300	5000	3300	3000	3000	10	8
	1800	5200	5800	3400	3300	4000		
	(1800)	(4700)	(5400)	(3400)	(3100)	(3500)		
2	6100	7600	5700	4400	3400	4300	11	9
	5700	8100	5800	4300	3900	3500		
	(5900)	(7800)	(5700)	(4300)	(3700)	(3900)		

4.3 定常状態における濃縮倍率

濃縮倍率の変動を Table-3 に示し、値を丸めずに 5 ケタの数値を用いて定常状態に達したかどうかを確認した。

Table-3 濃縮倍率の変動

濃度区		46日後	54日後	60日後	3回の平均
1	平均濃縮倍率	3353.8	3132.2	3502.1	3329.4
	3回の平均からの乖離率 (%)	0.73388	5.9217	5.1878	
2	平均濃縮倍率	4309.5	3668.4	3923.6	3967.2
	3回の平均からの乖離率 (%)	8.6285	7.5305	1.0979	

上記の結果から、46、54 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 1~9%と 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、第1濃度区において設定値の94%、第2濃度区において98%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	46日後	54日後	60日後	平均	Table	Fig.
1	2.35	2.46	2.28	2.36	7, 10	5
2	0.250	0.248	0.241	0.246	8, 11	

(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 3300倍

第2濃度区 4000倍

4.4 排泄試験

62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。

排泄試験における残留率を Table-5 に示した。

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、排泄試験開始1、4、7及び12日後の供試魚中被験物質濃度より算出した (Tables-13, 14, Figs. 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 Figs. 13, 14 に示した。

これらの結果から、排泄半減期は第1濃度区で7.0日、第2濃度区で8.2日であった。

Table-5 排泄試験における残留率 (単位 %)

濃度区	1日後	4日後	7日後	12日後	Table	Fig.
1	92	64	45	26	13	11
	62	83	60	27		
2	98	85	53	35	14	12
	73	66	42	36		

4.5 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 2.7 と同様とした。

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.
1	外 皮	9440	4000	15	15
		7650	3200		
	頭 部	10800	4600		
		10100	4300		
内 臓	36100	15000			
	30000	13000			
可食部	6440	2700			
	5190	2200			
2	外 皮	764	3100	16	16
		847	3400		
	頭 部	1310	5300		
		1470	6000		
内 臓	3890	16000			
	2960	12000			
可食部	1290	5200			
	1070	4400			

4.6 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り、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-15%であり 25%以内であった。

第 1 濃度区	47 日後	6.43%
第 2 濃度区	47 日後	5.84%
対 照 区	実験開始前	4.89%
	実験終了後	4.15%

4.7 供試魚の外観観察等

異常は認められなかった。

5. 備 考

試験に使用した主要な装置・機器及び試薬等

(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	: フロム製	301M
溶存酸素測定装置	: 飯島電子工業製	ID-100
pH 計	: 東亜ディーケーケー製	HM-21P

(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	:	10 頁参照	
天びん	:	ザルトリウス製	BP301S
		ザルトリウス製	CP324S
		エー・アンド・デイ製	FA-2000
フーリエ変換赤外分光光度計	:	島津製作所製	IRPrestige-21
振とう機	:	タイテック製	SR-2W
		タイテック製	SR-2DW
ホモジナイザー (ポリトロン)	:	キネマチカ製	PT3100
遠心分離機	:	日立工機製	CR21G
ウォーターバス	:	東京理器器械製	NTT-2200

試薬

超純水	:	水道水を超純水製造システムで処理した水	
アセトニトリル	:	和光純薬工業製	HPLC 用
ヘキサン	:	関東化学製	残留農薬試験・PCB 試験用 300
<i>N,N</i> -ジメチルホルムアミド	:	ナカライテスク製	試薬一級
塩化ナトリウム	:	マナック製	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

ホモジナイザー (ポリトロン)	:	キネマチカ製	PT3100
天びん	:	ザルトリウス製	BP301S
		ザルトリウス製	CP324S
		メトラー製	AB204-S
真空ポンプ	:	真空機工製	DA-20D
		真空機工製	DAH-20C
		真空機工製	DTC-41
真空デシケータ	:	井内盛栄堂製	VL
ホモジナイザー (オートセルマスター)	:	アズワン製	CM-200
ロータリーエバポレーター	:	東京理器器械製	N-1000K2

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	:	関東化学製	試薬一級