

最終報告書

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (被験物質番号 K-1843)
のコイにおける濃縮度試験

(試験番号 : 505176)

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 15 日
試験責任者



最終報告書

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (被験物質番号 K-1843)
のコイにおける濃縮度試験

(試験番号 : 505176)

2010年3月

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 経済産業省

試験の表題 2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (被験物質
番号 K-1843) のコイにおける濃縮度試験

試験番号 505176

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 11 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 2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-ドデカメチルシクロヘキサシロキサン（被験物質
番号 K-1843）のコイにおける濃縮度試験

試験番号 505176

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12日	2009年11月13日
試験計画書	2009年11月13日	2009年11月13日
試験計画書の変更	2009年11月19日	2009年11月19日
	2010年1月20日	2010年1月20日
試験計画書からの逸脱	2010年3月11日	2010年3月11日
急性毒性試験	2009年11月17日	2009年11月17日
原液調製操作時	2009年11月20日	2009年11月20日
試験水分析操作時	2009年11月27日	2009年11月30日
供試魚分析操作時	2009年12月1日	2009年12月7日
部位別試験	2010年1月21日	2010年1月21日
排泄試験	2010年1月22日	2010年1月22日
生データ、最終報告書草案	2010年3月8日	2010年3月8日
最終報告書	2010年3月11日	2010年3月11日

2010年3月11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	5
2. 急性毒性試験の実施	6
3. 濃縮度試験の実施	7
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	16
5. 試験計画書から逸脱した事項	16
6. 試験結果	16
7. 考 察	19
8. 備 考	19

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

表 題

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (被験物質番号 K-1843) 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-1843 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、環保企発第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)

試験日程

試験開始日	2009年11月13日
実験開始日	2009年11月20日
実験終了日	2010年2月22日
試験終了日	2010年3月11日

試資料の保管

(1) 被験物質

同一ロットの供試試料が分解度試験終了後にすでに保管されているため、本試験終了後には保管しない。

(2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、試験委託書、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

[Redacted]

[Redacted]

試験担当者 (濃縮度試験の実施)

[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]

[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]

[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]
[Redacted]

飼育管理責任者

[Redacted]

急性毒性試験担当者

[Redacted]

[Redacted]

最終報告書の承認

2010年3月11日

試験責任者

[Redacted]

要 約

試験の表題

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (被験物質番号 K-1843) 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 1 µg/L 第2濃度区 0.1 µg/L
ばく露期間	60 日間
排泄期間	32 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 >1.00 mg/L

定常状態における濃縮倍率

第1濃度区 2300倍

第2濃度区 4000倍

排泄半減期

第1濃度区 25日

第2濃度区 25日

各部位における濃縮倍率

濃度区	部位	濃縮倍率
1	外皮	2600
		2600
	頭部	2700
		2500
内臓	4700	
	5200	
可食部	1300	
	1400	
2	外皮	4400
		4400
	頭部	5400
		6100
内臓	12000	
	12000	
可食部	2800	
	2900	

1. 被験物質

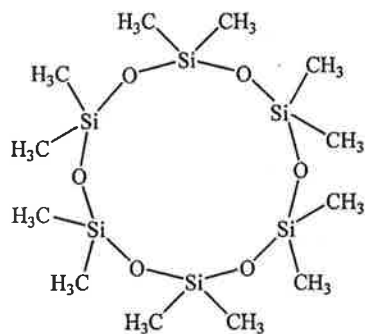
K-1843 は、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-ドデカメチルシクロヘキサシロキサン

1.2 構造式等

構造式



分子式 $C_{12}H_{36}O_6Si_6$
 分子量 444.92
 CAS 番号 540-97-6

1.3 供給者、商品名及びロット番号

供給者

商品名

ロット番号

1.4 純 度

被験物質 99.9% (GC)

不純物 残り 0.1%については不明

被験物質は純度 100%として取り扱った。

1.5 被験物質の確認

赤外吸収スペクトル (Fig. 17 参照) 及び質量スペクトル (Fig. 18 参照) は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。

1.6 保管条件及び保管条件下での安定性確認

保管条件 冷暗所保管

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. 急性毒性試験の実施

2.1 試験方法

JIS K 0102-2008 の 71.の方法に準じて行った。

2.2 供試魚

魚種	ヒメダカ	<i>Oryzias latipes</i>
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	
供給源	財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所	
ロット	TFO-090811	
体重	平均 0.27 g	
全長	平均 3.2 cm	

2.3 感受性試験

同一ロット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 0.686 mg/L であった。

2.4 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)"

2.5 原液調製法

分散剤	HCO-40 2-プロパノール
調製方法	供試試料とその 10 倍量の HCO-40 を 2-プロパノールに溶解して、被験物質濃度として 1000 mg/L の原液を調製した。

2.6 試験条件

試験濃度	1.00 mg/L 及び対照区
試験水槽	円形ガラス製水槽
試験液量	4 L/濃度区
供試魚数	10 尾/濃度区
試験温度	ばく露開始時 24.1°C 換水前 24.9°C
溶存酸素濃度	ばく露開始時 8.0 mg/L 換水前 6.3~6.4 mg/L
pH	ばく露開始時 8.0 換水前 8.1~8.2
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)
ばっ気	なし

2.7 試験の実施

実施場所	アクアトロン室 B
試験実施日	2009 年 11 月 16 日 ~ 2009 年 11 月 20 日

2.8 96 時間 LC₅₀ 値の算出

Doudoroff 法で行った。

2.9 試験結果

被験物質の 96 時間 LC₅₀ 値 >1.00 mg/L (Fig. 3 参照)

この際の使用した分散剤 (2-プロパノール) の濃度は、約 1000 mg/L となり、その分散剤の 96 時間 LC₅₀ 値が 11200 mg/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

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	34 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	6.5~11.9 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。

3.2 試験用水

2.4に同じ。

3.3 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 70L容ガラス製揮発性物質用水槽（水槽上面蓋は開放で使用）
	排泄期間 70L容ガラス製水槽
試験水量	ばく露期間 原液0.04 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	1L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 24.0～25.0℃ 第2濃度区 24.0～25.0℃ 対照区 24.0～25.0℃
溶存酸素濃度	第1濃度区 5.6～7.8 mg/L 第2濃度区 5.9～7.8 mg/L 対照区 6.6～7.8 mg/L
pH	第1濃度区 7.6～7.9 第2濃度区 7.6～8.0 対照区 7.6～8.0
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 48尾（実験開始時） 対照区 12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	32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

3.4 原液調製法

分散剤	2.5に同じ。
調製方法	
第1濃度区	2.5と同様にして1000 mg/Lの被験物質溶液を調製し、さらにこれを2-プロパノールで希釈して被験物質濃度として50.0 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1000 mg/Lの被験物質溶液を、2-プロパノールで希釈して被験物質濃度として5.00 mg/Lの原液を調製した。
対照区	HCO-40を2-プロパノールに溶解し、HCO-40濃度として500 mg/Lの原液を調製した。

3.5 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	1 µg/L
第2濃度区	0.1 µg/L

3.6 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1～2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	実験期間中に第1濃度区及び対照区は8回、第2濃度区は7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。

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）^{*1}に分けて行った。

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。

対照区の供試魚分析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2尾を追加で取り上げ、3群（2尾1群）とした。

*1 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

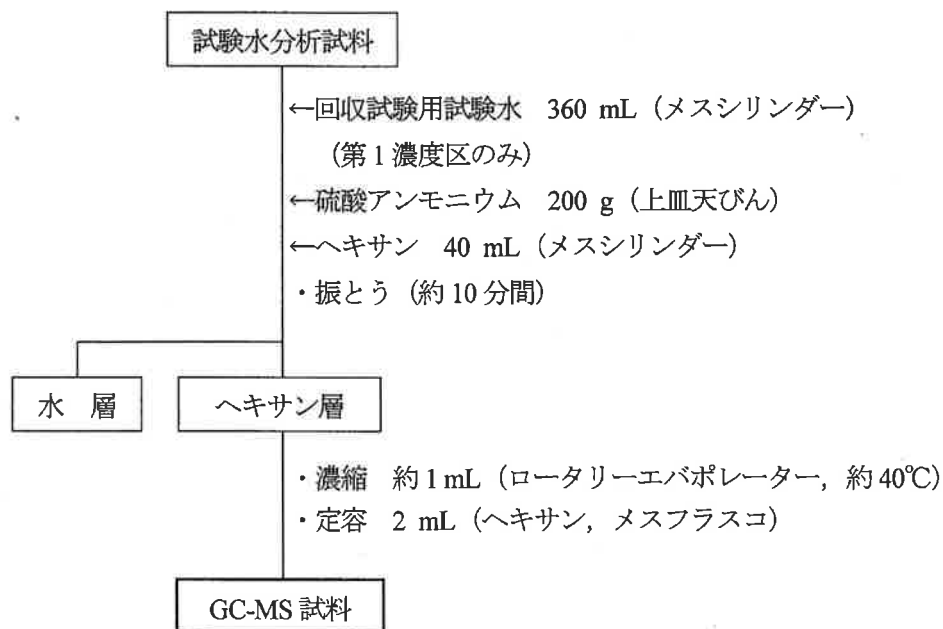
試験水槽から

第1濃度区 40 mL

第2濃度区 400 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。

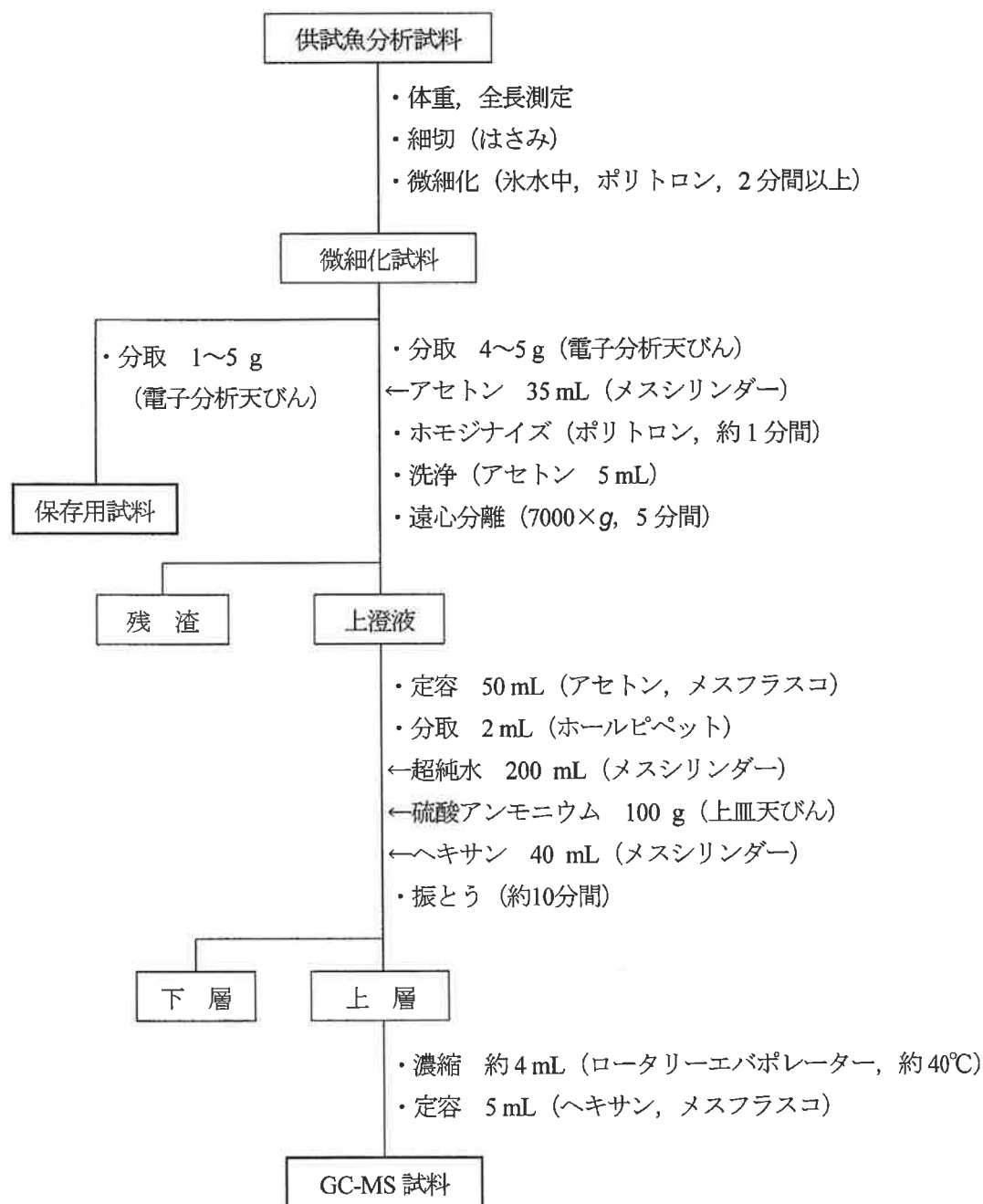
フロースキーム



(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。ただし、部位別試験については、採取した供試魚の体重、全長測定後、各部位に分け、それぞれの重量を測定し、細切した。その後、全試料を用いて、供試魚分析の前処理フロースキームの微細化、保存用試料分取、分析試料の分取は行わずに前処理操作を行った。

フロースキーム



3.7.3 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-8, 9, Fig. 6, Tables-11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 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。ただし、排泄試験における第 1 濃度区 32 日後の b) 及び部位別試験の第 1 濃度区における外皮 a) については検量線の範囲を超えていなかったが希釈して分析した。

(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 300 $^{\circ}\text{C}$ (3 min) (昇温速度 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)
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: 1.10 min)
パ ー ジ 流 量	60.0 mL/min
パ ー ジ 時 間	1.00 min
注 入 口 温 度	150 $^{\circ}\text{C}$
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
注 入 量	1 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	m/z 429, 341 (2 イオンのトータル) (Fig. 18 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

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 20.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 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 10.0、20.0 及び 40.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 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 3700 (被験物質濃度 2.0 $\mu\text{g}/\text{L}$) とした (Fig. 4 参照)。

3.7.4 回収試験及びブランク試験

(1) 方法

3.7.2 の試験水及び供試魚分析操作における被験物質の回収率を求めするため、回収試験用試験水及び細切した魚（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 5 g とした。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、ブランク試験においてクロマトグラム上、被験物質ピーク位置にはピークは認められなかった。分析操作における各 2 点の回収率及び平均回収率は下記に示すとおりであり、平均回収率を分析試料中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした（Tables-7, 10, Figs. 5, 7 参照）。

分析操作における回収率

試験水分析（被験物質 40.0 ng 添加）

93.2%, 91.7% 平均 92.5%

供試魚分析（被験物質 5000 ng 添加）

83.7%, 86.3% 平均 85.0%

3.7.5 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、対照区の供試魚微細化試料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。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。

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

Tables-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定量下限濃度

3.7.3(3)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 0.11 µg/L

第 2 濃度区 0.011 µg/L

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

Tables-11, 12, 13, 14, 15, 16, 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定量下限濃度

3.7.3(3)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は供試魚微細化試料を 5 g としたとき 58 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

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

$\overline{C_w}$: 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

$$BCF = C_f / \overline{C_w}$$

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

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

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

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

(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 ($\mu\text{g/L}$)

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 64倍

第2濃度区 670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。

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

T₀ : 容器の質量 (g)

T : 容器を含む脂質重量 (重量分析用試料) 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. 試験計画書から逸脱した事項

「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する。」としていたが、排泄試験の第1濃度区32日後b)及び部位別試験の第1濃度区における外皮a)において被験物質濃度が検量線の範囲を超えていなかった場合でも希釈し分析を行った。

希釈し分析を行った供試魚分析において被験物質濃度は検量線の範囲内であり、試験の信頼性と完全性に及ぼす影響はないと判断される。

6. 試験結果

6.1 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81%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	7日後	11日後	20日後	34日後	47日後	60日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
1	0.878	0.827	0.896	1.02	0.882	0.945	0.908 (0.0656)	8	6
2	0.0855	0.0806	0.0883	0.0872	0.0868	0.0896	0.0863 (0.00312)	9	

6.2 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 1400~2600 倍、第 2 濃度区において 2400~4700 倍であった。

Table-2 濃縮倍率 () 内は平均値

濃度区	11 日後	20 日後	34 日後	47 日後	60 日後	Table	Fig.
1	1400	1800	2200	2600	2500	11	8
	1500	1700	2000	2500	2300		
	(1400)	(1700)	(2100)	(2500)	(2400)		
2	2400	3100	3900	4700	4100	12	9
	2900	3300	3400	4400	3800		
	(2600)	(3200)	(3700)	(4500)	(3900)		

6.3 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		34 日後	47 日後	60 日後	3 回の平均
1	平均濃縮倍率	2117.4	2540.2	2373.8	2343.8
	3 回の平均からの乖離率 (%)	9.6574	8.3796	1.2777	
2	平均濃縮倍率	3659.5	4542.6	3924.8	4042.3
	3 回の平均からの乖離率 (%)	9.4693	12.376	2.9070	

上記の結果から、34、47 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 1~12%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 95%、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	34 日後	47 日後	60 日後	平均	Table	Fig.
1	1.02	0.882	0.945	0.948	8, 11	6
2	0.0872	0.0868	0.0896	0.0878	9, 12	

(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 2300 倍

第 2 濃度区 4000 倍

6.4 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、5、15 及び 32 日後の供試魚中被験物質濃度より算出した (Tables-14, 15, 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 25 日、第 2 濃度区で 25 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	5 日後	15 日後	32 日後	Table	Fig.
1	89	84	61	49	14	11
	99	117	57	37		
2	112	78	75	42	15	12
	116	86	73	47		

6.5 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 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	2430	2600	16	15
		2470	2600		
	頭部	2540	2700		
		2400	2500		
内臓	4490	4700			
	4930	5200			
可食部	1250	1300			
	1310	1400			
2	外皮	385	4400	17	16
		384	4400		
	頭部	472	5400		
		539	6100		
内臓	1010	12000			
	1020	12000			
可食部	250	2800			
	256	2900			

6.6 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+19%であり25%以内であった。

実験開始前	4.85%
実験終了後	5.78%

6.7 供試魚の外観観察等

異常は認められなかった。

7. 考 察

濃縮倍率について

第2濃度区（試験濃度：0.1 µg/L）の濃縮倍率が第1濃度区（試験濃度：1 µg/L）に比べて、約2倍高い値を示した。しかしながら、フラスコ法による水への溶解度測定（試験番号805665）において水への溶解度は10.6 µg/Lであり、試験濃度は第1濃度区で溶解度に対して10倍低い値であることから、試験濃度設定に問題はないと考えられた。また、設定濃度をさらに下げた試験は、夾雑物の影響により定量分析が困難であったため、これ以下の濃度では実施しなかった。

8. 備 考

試験に使用した主要な装置・機器、特殊器具及び試薬等

(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	SP-D-2500
		日本精密科学製	SP-Y-2500(S)
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	:	12頁参照	
天びん	:	ザルトリウス製	LP4200S
		ザルトリウス製	BP301S
		ザルトリウス製	CP324S
		エー・アンド・ディ製	FA-2000
フーリエ変換赤外分光光度計	:	島津製作所製	IRPrestige-21
ロータリーエバポレーター	:	東京理化工機製	N-1000K2
振とう機	:	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

試 薬

超純水	:	水道水を超純水製造システムで処理した水
アセトン	:	和光純薬工業製 試薬一級
ヘキサン	:	関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用 300
2-プロパノール	:	ナカライテスク製 試薬一級
硫酸アンモニウム	:	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

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	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	:	東京理化器械製	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