



最 終 報 告 書

銀及びその水溶性化合物〔硝酸銀（被験物質番号 K-427）にて試験実施〕の
コイにおける濃縮度試験

（試験番号：50427）

化学物質環境研究所
化学物質環境研究所
化学物質環境研究所

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 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 銀及びその水溶性化合物〔硝酸銀（被験物質番号 K-427）にて試験実施〕のコイにおける濃縮度試験

試験番号 50427

上記試験は、「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」（環境省令第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）及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」（November 26, 1997）に従って実施したものです。

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。

2002 年 6 月 5 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 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 銀及びその水溶性化合物〔硝酸銀（被験物質番号 K-427）にて試験
実施〕のコイにおける濃縮度試験

試験番号 50427

上記試験は、「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）及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」（November 26, 1997）に従って実施したものです。

なお、本陳述書は最終報告書の改訂のため、2002年 6月 5日発行の陳述書に追加発行したものです。

2003 年 6 月 25 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 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 銀及びその水溶性化合物〔硝酸銀（被験物質番号 K-427）にて試験実施〕のコイにおける濃縮度試験

試験番号 50427

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及び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	2002年2月25日	2002年2月25日	2002年2月25日
	2002年3月1日	2002年3月5日	2002年3月5日
	2002年3月6日	2002年3月7日	2002年3月7日
	2002年4月5日	2002年4月5日	2002年4月5日
	2002年4月18日	2002年4月18日	2002年4月18日
	2002年4月22日	2002年4月22日	2002年4月22日
試験実施状況	2002年2月26日	2002年3月1日	2002年3月1日
	2002年3月5日	2002年3月11日	2002年3月11日
	2002年3月6日	2002年3月11日	2002年3月11日
	2002年3月11日	2002年3月11日	2002年3月11日
	2002年3月18日	2002年3月26日	2002年3月26日
	2002年3月25日	2002年3月26日	2002年3月26日
	2002年3月26日	2002年3月26日	2002年3月26日
生データ及び最終報告書	2002年6月5日	2002年6月5日	2002年6月5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。

2002年6月5日

信頼性保証部門責任者

[Redacted Signature]

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 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 銀及びその水溶性化合物〔硝酸銀（被験物質番号 K-427）にて試験実施〕のコイにおける濃縮度試験

試験番号 50427

上記試験の最終報告書の修正箇所について監査を実施し、当該箇所には問題がないことを確認しました。監査の結果については、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 日	報告日（試験責任者）	報告日（運営管理者）
2003 年 6 月 25 日	2003 年 6 月 25 日	2003 年 6 月 25 日

本信頼性保証書は2002年 6月 5日発行の信頼性保証書に追加発行したものです。

2003年 6月25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 G L P	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	4
2. 急性毒性試験	6
3. 濃縮度試験の実施	9
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. 備 考	28

表 題	銀及びその水溶性化合物〔硝酸銀（被験物質番号 K-427）にて試験実施〕のコイにおける濃縮度試験
試験委託者	新エネルギー・産業技術総合開発機構 (〒170-6028) 東京都豊島区東池袋三丁目1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 (〒830-0023) 福岡県久留米市中央町 19-14
試験目的	K-427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	「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〉及び「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」に定める“Bioconcentration : Flow-through Fish Test (Guideline 305, June 14, 1996)”に準拠した。
適用GLP	<p>(1) 化学物質GLP</p> <p>「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）を適用した。</p> <p>(2) OECD-GLP</p> <p>「OECD Principles of Good Laboratory Practice」（November 26, 1997）を適用した。</p>

試験日程

試験開始日	2002年 2月 25日
実験開始日	2002年 3月 6日
実験終了日	2002年 4月 8日
試験終了日	2002年 6月 5日

試験資料の保管

(1) 被験物質


被験物質約5g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 試験第一課

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

試験責任者

2002年 6月 5日

要 約

試験の表題

銀及びその水溶性化合物〔硝酸銀（被験物質番号 K-427）にて試験実施〕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（24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 | 0.4 µg/L |
| | 第2濃度区 | 0.04µg/L |
| (3) ばく露期間 | 第1濃度区 | 28日間 |
| | 第2濃度区 | 33日間 |
| (4) ばく露方法 | 連続流水式 | |
| (5) 分 析 方 法 | 原子吸光光度法 | |

試験結果

- | | | |
|------------------|----------|------|
| (1) 96時間LC50値 | 69.6µg/L | |
| (2) 定常状態における濃縮倍率 | 第1濃度区 | 460倍 |
| | 第2濃度区 | 250倍 |

1. 被 験 物 質

本報告書においてK-427は、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称 硝酸銀

1.2 組成式等

組成式



式 量 169.87

1.3 入手先、商品名、等級及びロット番号*1

- | | |
|-----------|------|
| (1) 入 手 先 | |
| (2) 商 品 名 | 硝酸銀 |
| (3) 等 級 | 試薬特級 |
| (4) ロット番号 | |

*1 入手先添付資料による。

1.4 純 度*1

被 験 物 質 99.9%

被験物質は純度100%として取り扱った。

1. 被 験 物 質

本報告書においてK-427は、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称 硝酸銀

1.2 組成式等

組成式



式 量 169.87

1.3 入手先、商品名、等級及びロット番号^{*1}

(1) 入 手 先

(2) 商 品 名

(3) 等 級 試薬特級

(4) ロット番号

^{*1} 入手先添付資料による。

1.4 純 度^{*1}

被 験 物 質 99.9%

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

X線回折^{*2} (Reference 2参照) により構造を確認した。

^{*2} UBE科学分析センターに測定を依頼した。

1.6 保管条件及び保管条件下での安定性

(1) 保管条件 冷蔵保存

(2) 安定性確認 実験開始前及び終了後に被験物質のX線回折解析チャート^{*2}を比較することにより、保管条件下で安定であることを確認した (Reference 2参照)。

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 |
| | | 小川商店
(住所 〒 830-0049 福岡県久留米市大石町 181) |
| (3) 蓄 | 養 | 条 |
| | 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28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後、じゅん化を行った。その間異常のあるものは除去し、25±2℃の水温の流水状態で7日間飼育した。その後、再度選別及び薬浴を実施した後、流水状態で57日間飼育した。 |
| | 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。再選別後、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 0.30g |
| (6) 全 | 長 | 平均 3.2cm |
| (7) 感受性試験 | | 同一ロット (TFO-011215) 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0.621mg/Lであった。 |

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 | 小川商店
(住所 〒 830-0049 福岡県久留米市大石町 181) |
| (3) 蓄養条件
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28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後、じゅん化を行った。その間異常のあるものは除去し、25±2℃の水温の流水状態で7日間飼育した。その後、再度選別及び薬浴を実施した後、流水状態で59日間飼育した。 |
| 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。再選別後、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 0.30g |
| (6) 全 長 | 平均 3.2cm |
| (7) 感受性試験 | 同一ロット（TF0-011215）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0.621mg/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2002年2月8日に採水し、測定又は分析を行った結果をReference 1に示す（測定頻度1回/6ヶ月）。各項目の測定又は分析値は「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）、「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）、「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」"Fish, Early-life Stage Toxicity Test (Guideline 210, July 17, 1992)"、"「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）又は「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」"Bioconcentration : Flow-through Fish Test (Guideline 305, June 14, 1996)"に記載されている濃度以下であることを確認した。

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	24.1～24.4℃
	換水前	24.2～24.4℃
(4) 溶存酸素濃度	ばく露開始時	8.1mg/L
	換水前	6.3～ 7.1mg/L
(5) pH	ばく露開始時	8.3
	換水前	7.9～ 8.2
(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（24時間毎に換水）	

2.5 原液調製法

被験物質を水*3に溶解して被験物質濃度として1000mg/Lの溶液を調製し、これをイオン交換水で希釈して50.0mg/Lの原液を調製した。

*3 水道水を超純水装置システムを用いて処理した水。

2.6 試験の実施

- (1) 実施場所 214LC50室
- (2) 試験実施日 2002年 2月25日 ～ 2002年 3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 69.6 μ g/L (Fig. 3参照)

3. 濃縮度試験の実施

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 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 〒 830-0023 福岡県久留米市中央町19-14)。
		供試魚のふ化日 2001年12月 9日
		じゅん化開始日 2002年 1月21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、薬浴した後、じゅん化を行った。その間 異常のあるものは除去し、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 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、薬浴後、同温 度の流水状態で28日間飼育した。
	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	6.2～8.2cm
(5) ロ ッ ト		TFC-011209
(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
第1濃度区及び第2濃度区の試験水槽に底から約10cmの高さにプラスチック製の格子状の網を敷き、供試魚が底に沈殿した被験物質に接触しないようにした。
- (3) 試験水量 原液2mL/分及び試験用水1600mL/分の割合で2307L/日を試験水槽に供した。
- (4) 原液タンク 20L容プラスチック製容器
交換頻度 1～2回程度/週
- (5) 試験温度 第1濃度区 24.9～25.5℃
第2濃度区 25.0～25.4℃
対照区 24.9～25.3℃
- (6) 溶存酸素濃度 第1濃度区 7.9～8.1mg/L (Fig. 11参照)
第2濃度区 8.0～8.1mg/L (Fig. 12参照)
対照区 8.1mg/L (Fig. 13参照)
- (7) pH 第1濃度区 7.9～8.0
第2濃度区 7.9～8.0
対照区 7.8～8.0
- (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 30尾 (ばく露開始時)
対照区 16尾 (ばく露開始時)
- (10) ばく露期間 第1濃度区 28日間
第2濃度区 33日間
設定理由：28日間で定常状態に達しなかったため。
- (11) 実施場所 213アクアトロニウム室

3.4 原液調製法

- ・第1濃度区

被験物質を水*3に溶解して被験物質濃度として1000mg/Lの溶液を調製し、これをイオン交換水で希釈して320μg/Lの原液を調製した。

- ・第2濃度区

第1濃度区と同様にして被験物質濃度として32μg/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 0.4 μg/L

第2濃度区 0.04μg/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回目視観察した。 |
| (2) 試験水量 | メスシリンダーを用いて1日に1回測定記録した。 |
| (3) 試験温度 | アルコール温度計を用いて1日に1回測定記録した。 |
| (4) 溶存酸素濃度 | 溶存酸素計を用いて1週間に2回測定記録した。 |
| (5) pH測定 | pH計を用いて1週間に1回以上測定記録した。 |
| (6) 清掃 | 実験期間中は、コイの排泄物、水槽壁の汚れ等を1日に1回程度除去した。さらに水槽に敷いた格子状の網の上に沈殿した被験物質をスポンジあるいはゴム製のヘラで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原子吸光光度法（AA）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

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

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6尾とし、3群(2尾1群)に分けて分析した。

*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

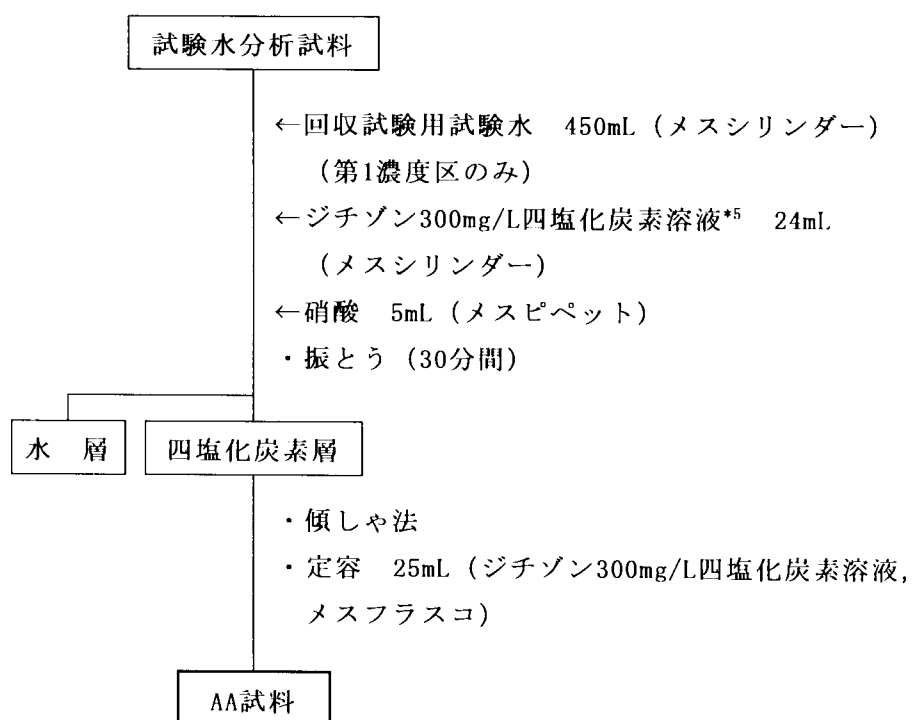
試験水槽から

第1濃度区 50mL

第2濃度区 500mL

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、原子吸光度法（AA）試料とした。

フロースキーム

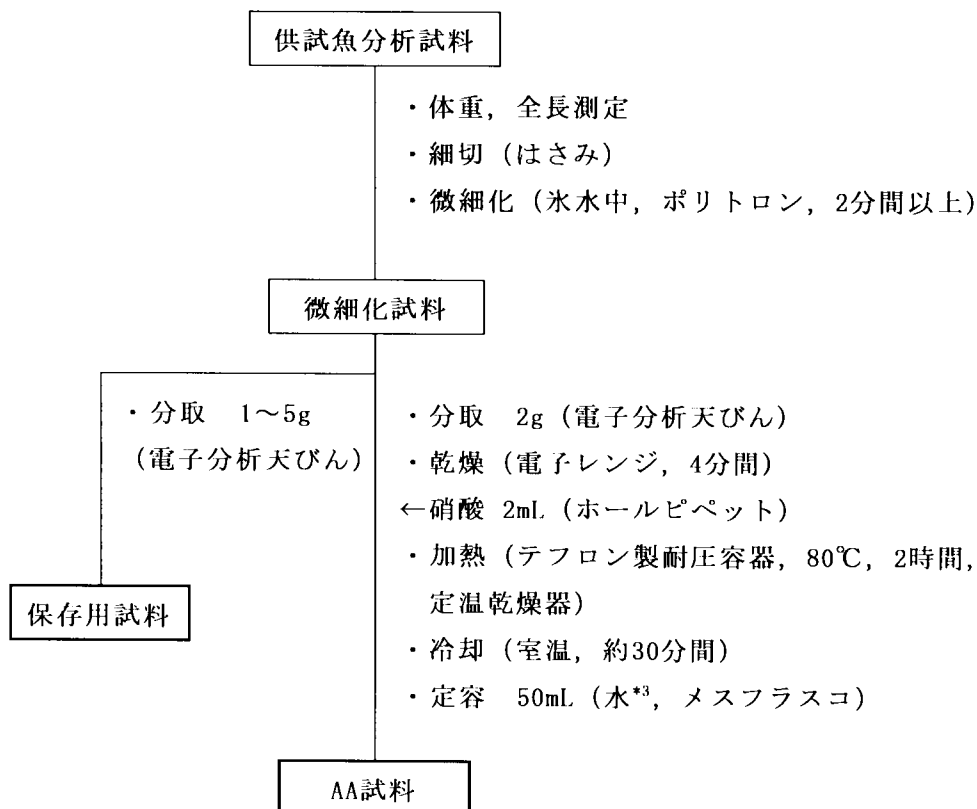


*5 ジチゾン60mgに四塩化炭素200mLの比率で加え、約10分間攪拌したものをNo.2ろ紙にてろ過したもの。

(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、原子吸光光度法（AA）試料とした。

フロースキーム



3.7.3 被験物質の定量分析

前処理を行って得られたAA試料について、下記の定量条件に基づき原子吸光度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。AA試料中の被験物質濃度は、試験水分析においては標準溶液の2点検量線法により求め、供試魚分析においては、前処理操作を行って得られた被験物質を含まない供試魚ブランク試料と標準溶液との2点検量線法により求めた（Table-5, 6、Fig.6、Table-7, 8, 9、Fig.8, 9, 10参照）。

(1) 定量条件

(a) 試験水分析用

機 器	原子吸光分光光度計				
	日本ジャーレル・アッシュ製 SOLAAR M				
元 素	銀				
測 定 方 法	ファーンズ法				
光 源	ホロカソードランプ				
ラ ン プ 電 流	10mA				
測 定 波 長	328.1nm				
ス リ ッ ト 幅	0.5nm				
バックグラウンド補正	ゼーマン				
注 入 量	30μL				
キャリアーガス	アルゴン				
キ ュ ベ ッ ト	ELC				
温度プログラム					
	温度(℃)	継続時間(sec)	昇温速度(℃/sec)	ガス流量(L/min)	
乾 燥1	80	10.0	0	0.1	
乾 燥2	120	10.0	10	0.2	
灰 化	450	10.0	150	0.2	
原 子 化	1100	3.0	0	0	

標準溶液及びAA試料は温度プログラムを開始した後、10秒以内にプッシュボタン式液体用微量体積計を用いて注入した。

(b) 供試魚分析用

機	器	原子吸光分光光度計
		日本ジャーレル・アッシュ製 SOLAAR M
元	素	銀
測 定 方 法		ファーンネス法
光	源	ホロカソードランプ
ラ ン プ 電 流		10mA
測 定 波 長		328.1nm
ス リ ッ ト 幅		0.5nm
バックグラウンド補正		ゼーマン
注 入 量		20μL
キャリアーガス		アルゴン
キ ュ ベ ッ ト		ELC
温度プログラム		

	温度(℃)	継続時間(sec)	昇温速度(℃/sec)	ガス流量(L/min)
乾 燥	140	10.0	3	0.2
灰 化	450	10.0	50	0.2
原 子 化	1400	3.0	0	0

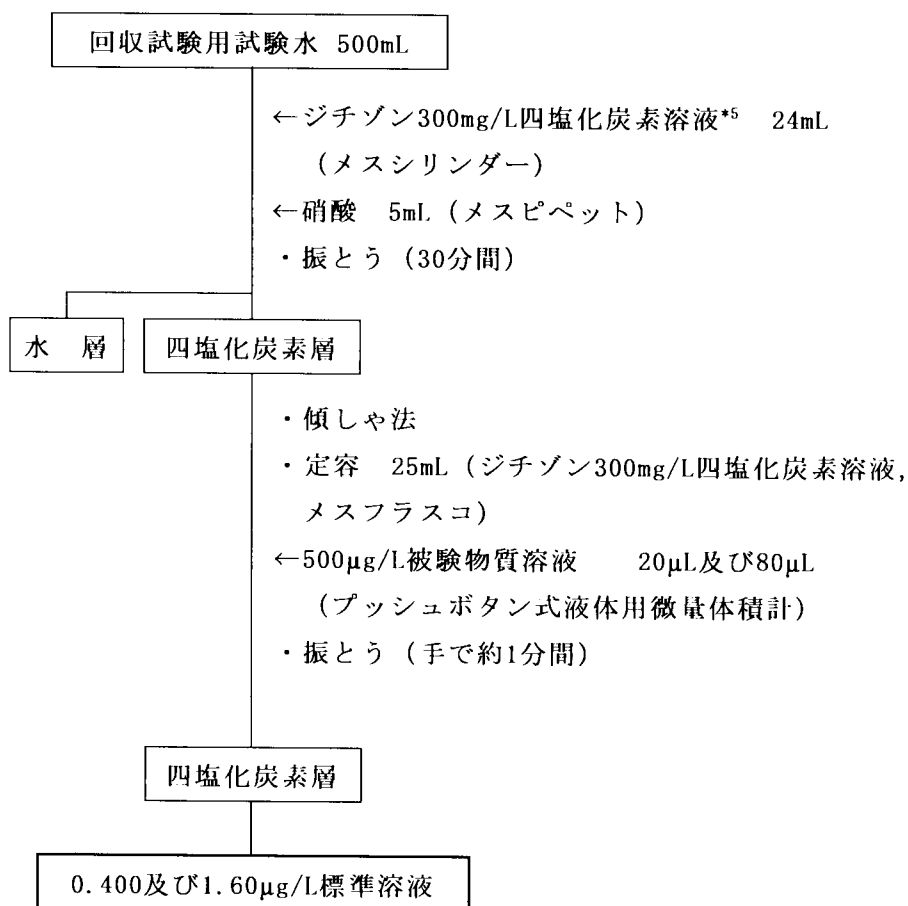
(2) 標準溶液の調製

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。

(a) 試験水分析用

被験物質100mgを正確にはかりとり、水*3に溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これを水*3で希釈して500 μ g/Lの被験物質溶液を調製し、以下のフロースキームに従って前処理を行い、0.400及び1.60 μ g/Lの標準溶液を調製した。

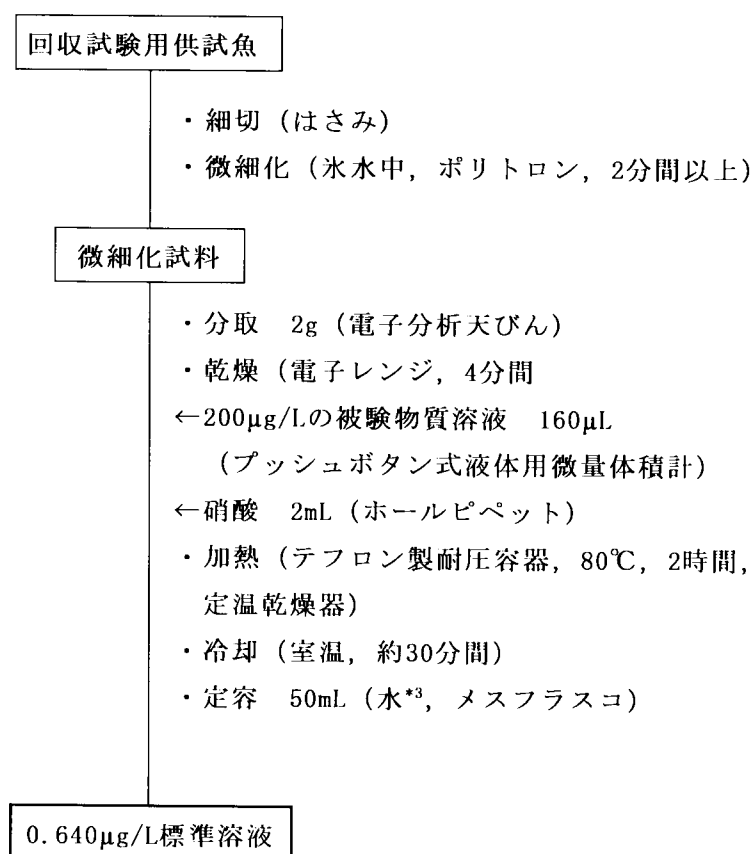
フロースキーム



(b) 供試魚分析用

被験物質100mgを正確にはかりとり、水^{*3}に溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これを水^{*3}で希釈して200 μ g/Lの被験物質溶液を調製し、以下のフロースキームに従って前処理を行い、0.640 μ g/Lの標準溶液を調製した。

フロースキーム



(3) 検量線の作成

(a) 試験水分析用

(2) (a) の標準溶液の調製と同様にして0.400、0.800及び1.60 $\mu\text{g/L}$ の標準溶液を調製した。これらを(1) (a) の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのチャート上の吸光度と濃度により検量線を作成した。

被験物質の定量下限は、0.40 $\mu\text{g/L}$ とした。

(b) 供試魚分析用

(2) (b) の標準溶液の調製と同様にして0.160、0.320及び0.640 $\mu\text{g/L}$ の標準溶液を調製した。これらを(1) (b) の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのチャート上の吸光度と濃度により検量線を作成した。

被験物質の定量下限は、0.076 $\mu\text{g/L}$ とした。

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、ブランク試験においてチャート上、測定波長の吸光度は定量下限以下であった。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-4、Fig. 5参照）。

試験水分析操作における回収率（被験物質20.0ng添加）

92.3%, 101% 平均 96.7%

供試魚分析においては、標準溶液の調製を2.7.3(2)(b)に従って行ったため、回収率は100%として取り扱った。

3.7.5 供試魚中の脂質含量

対照区の供試魚微細化試料を用いて、クロロホルム／メタノール抽出を行い、重量分析により脂質含量の測定を行った。

3.7.6 分析試料中の被験物質濃度の算出及び定量下限

(1) 試験水分析試料中の被験物質濃度の算出

Table-5, 6の計算式に従って計算し、計算結果は有効数字3ケタに丸めて表示した。

(2) 試験水中の被験物質の定量下限濃度

3.7.3(3)の検量線作成で求めた被験物質の定量下限より、試験水中の定量下限濃度*6はそれぞれ、

第1濃度区 0.21 µg/L

第2濃度区 0.021µg/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-7, 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。

(4) 供試魚中の被験物質の定量下限濃度

3.7.3(3)の検量線作成で求めた被験物質の定量下限より、供試魚中の定量下限濃度*6は供試魚微細化試料を2gとしたとき1.9ng/gと算出される。

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

A : 定量下限濃度 (µg/L)

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。

3.7.7 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

$$\overline{C_{wt}} = \{C_w(1) + \cdots + C_w(n)\} / n$$

$\overline{C_{wt}}$: 試験水の全平均被験物質濃度 (μg/L)
 n : 試験水分析の数 (測定回数)
 $C_w(1)$: 1回目の試験水中被験物質濃度 (μg/L)
 $C_w(n)$: n 回目の試験水中被験物質濃度 (μg/L)

3.7.8 濃縮倍率 (BCF) の算出法

濃縮倍率 (BCF) は、以下の式に従って算出した。

(1) 濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度の算出

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

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

$\overline{C_w}$: 濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度 (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) 濃縮倍率の算出

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

BCF : 濃縮倍率
 C_f : 供試魚中被験物質濃度 (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 (μg/L)

(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 (個体数又は群数2(a, b))
 $BCF_{a, b}$: m 回目における各個体又は各群の濃縮倍率
 n : m 回目に分析した個体数又は群数

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 回目における個体数又は群数 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平均被験物質濃度（μg/L）

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。

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、下記の倍率を越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	5.4倍
第2濃度区	54 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75%以上であった。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	5日後	8日後	13日後	19日後	23日後	28日後	33日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
1	0.339	0.301	0.325	0.396	0.394	0.363		0.353 (0.0383)	5	6
2	0.0425	0.0330	0.0295	0.0353	0.0365	0.0350	0.0359	0.0354 (0.00394)	6	

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220倍～600倍、第2濃度区において54倍以下～310倍であった。

Table-2 濃縮倍率

() 内は平均値

濃度区	8日後	13日後	19日後	23日後	28日後	33日後	Table	Fig.
1	220 360 (290)	500 300 (400)	430 430 (430)	480 600 (540)	430 520 (470)		7	8
2	60 54以下 (54以下)	150 85 (120)	240 140 (190)	250 230 (240)	250 310 (280)	280 220 (250)	8	9

5.3 定常状態における濃縮倍率

5.2の結果から、第1濃度区は19、23及び28日後、第2濃度区は23、28及び33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-3に示されるように、第1濃度区において設定値の96%、第2濃度区において90%であった。

Table-3 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	19日後	23日後	28日後	33日後	平均	Table	Fig.
1	0.396	0.394	0.363		0.385	5, 7	6
2		0.0365	0.0350	0.0359	0.0358	6, 8	

(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 460倍
第2濃度区 250倍

5.4 供試魚の脂質含量

供試魚中の平均脂質含量は以下のとおりであった。

実験開始前 3.55%
実験終了後 3.53%

5.5 供試魚の外観観察等

異常は認められなかった。

6. 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	:	東京理化工機製	型 GMW
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

原子吸光分光光度計	:	15, 16頁参照	
天びん	:	ザルトリウス社製	型 BP301S
		メトラー社製	型 AE163
		エー・アンド・ディ社製	型 FA-2000
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）	:	キネマチカ社製	型 PT3100
定温乾燥器	:	ヤマト科学製	型 DS44

試薬

四塩化炭素	:	和光純薬工業製	精密分析用
硝酸	:	メルク社製	Suprapur
ジチゾン	:	和光純薬工業製	試薬特級

(3) 脂質含量測定に使用した装置・機器及び試薬

装置・機器

天びん	:	メトラー社製	型 AE163
		ザルトリウス社製	型 BP301S
ロータリーエバポレーター	:	東京理化工機製	型 N-1
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)	:	片山化学工業製	試薬一級

最終報告書の改訂

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

1. 表 題 銀及びその水溶性化合物〔硝酸銀（被験物質番号 K-427）にて試験実施〕のコイにおける濃縮度試験
2. 試験番号 50427
3. 修正箇所 2. 急性毒性試験
2.2 (4) じゅん化条件 期間等 (6頁)
4. 修正の理由 急性毒性試験担当者作成の「ヒメダカの急性毒性試験」に記載ミスがあったため。
5. 修正の内容 「…その後、再度選別及び薬浴を実施した後、流水状態で57日間飼育した。」を
「…その後、再度選別及び薬浴を実施した後、流水状態で59日間飼育した。」に修正する。
6. 承認

2003 年 6 月 25 日

試験責任者

