

| | |
|------|----------|
| 受理番号 | S00-3678 |
| 試験番号 | 43678 |

最 終 報 告 書

三リン酸アルミニウム二水和物のコイにおける濃縮度試験

2001年11月 5日

化学物質評価研究機構
 外資事業所

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 経済産業省

試験の表題 三リン酸アルミニウム二水和物のコイにおける濃縮度試験

試験番号 43678

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。

2001年11月5日

試験責任者

[Redacted Signature]
[Redacted Name]

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 三リン酸アルミニウム二水和物のコイにおける濃縮度試験

試験番号 43678

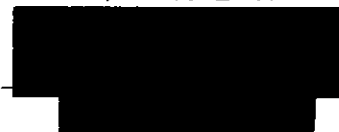
上記試験は財団法人化学物質評価研究機構久留米事業所の信頼性保証部門が監査及び査察を実施しており、監査又は査察を行った内容、日付並びに試験責任者及び運営管理者に報告を行った日付は以下の通りです。

| 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 | 2001年8月24日 | 2001年8月24日 | 2001年8月24日 |
| | 2001年9月6日 | 2001年9月10日 | 2001年9月10日 |
| | 2001年11月5日 | 2001年11月5日 | 2001年11月5日 |
| 試験実施状況 | 2001年8月28日 | 2001年9月5日 | 2001年9月5日 |
| | 2001年9月4日 | 2001年9月5日 | 2001年9月5日 |
| | 2001年9月5日 | 2001年9月5日 | 2001年9月5日 |
| | 2001年9月10日 | 2001年10月1日 | 2001年10月1日 |
| | 2001年9月20日 | 2001年10月1日 | 2001年10月1日 |
| | 2001年9月26日 | 2001年10月1日 | 2001年10月1日 |
| | 2001年9月27日 | 2001年10月1日 | 2001年10月1日 |
| 生データ及び最終報告書 | 2001年11月5日 | 2001年11月5日 | 2001年11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。

2001年11月5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 | 21 |
| 5. 試験結果 | 21 |
| 6. 考 察 | 22 |
| 7. 備 考 | 23 |

試験番号 43678

| | |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 表 題 | 三リン酸アルミニウム二水和物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 (〒830-0023) 福岡県久留米市中央町 19-14 |
| 試験目的 | 三リン酸アルミニウム二水和物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 G L P | (1) 化学物質GLP 「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。 (2) OECD-GLP 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)を適用した。 |

試験日程

| | |
|-------|-------------|
| 試験開始日 | 2001年 8月24日 |
| 実験開始日 | 2001年 9月 4日 |
| 実験終了日 | 2001年10月 2日 |
| 試験終了日 | 2001年11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
試験保管室に保管する。

(2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、指示書、その他必要な資料等は最終報告書と共に、
試験委託者から通知を受けるまでの期間、久留米事業所資料保管室に保管する。





試験関係者

試験責任者


 所属 試験第二課

試験担当者

(濃縮度試験の実施)

飼育管理責任者



急性毒性試験担当者




最終報告書の承認

2001年 11月 5日

試験責任者




要 約

試験の表題

三リン酸アルミニウム二水和物のコイにおける濃縮度試験

試験条件

急性毒性試験

- | | |
|-----------|------------------|
| (1) 供 試 魚 | ヒメダカ |
| (2) ばく露期間 | 96時間 |
| (3) ばく露方法 | 半止水式（8～16時間毎に換水） |

濃縮度試験

- | | |
|-------------|-----------------------|
| (1) 供 試 魚 | コイ |
| (2) 試 験 濃 度 | 第1濃度区 4.735 mg/L |
| | 第2濃度区 0.4735mg/L |
| (3) ばく露期間 | 28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 | > 250mg/L |
| (2) 定常状態における濃縮倍率 | 第1濃度区 4.8倍以下 |
| | 第2濃度区 43 倍以下 |

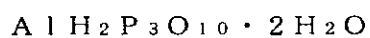
1. 被 験 物 質

本報告書において被験物質は、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称 三リン酸アルミニウム二水和物

1.2 化学式等

化学式*1



式 量 317.94

1.3 入手先、商品名及びロット番号*1

(1) 入 手 先

(2) 商 品 名

(3) ロット番号 10101

1.4 純 度*1

(1) 被 験 物 質 94.7%

(2) 不 純 物 ZnO:2.1% Cd:1ppm以下
As:0.05ppm以下 Pb:2ppm
Cr:1ppm以下 Hg:0.01ppm以下

被験物質は純度で補正して取り扱った。

*1 入手先添付資料による。

1.5 被験物質の確認

X線回折*2 (Reference 2, 3参照) 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 物理化学的性状*1

| | |
|----------|------|
| 常温における性状 | 白色粉末 |
| 比 重 | 2.3 |

*1 入手先添付資料による。

1.7 保管条件及び保管条件下での安定性

- | | |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| (1) 保 管 条 件 | デシケーター中保存 |
| (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, 3参照)。 |

1.8 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11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22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 0.25g |
| (6) 全 長 | 平均 2.9cm |
| (7) 感受性試験 | 同一ロット（TF0-010727）の供試魚による基準物質PCP-Na [ペンタク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0.668mg/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2001年9月3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 | 24.0℃ |
| | 換水前 | 24.0℃ |
| (4) 溶存酸素濃度 | ばく露開始時 | 8.1mg/L |
| | 換水前 | 7.5mg/L |
| (5) pH | ばく露開始時 | 6.2 |
| | 換水前 | 6.5 |
| (6) 供試魚数 | 10尾/濃度区 | |
| (7) ばく露期間 | 96時間 | |
| (8) ばく露方法 | 半止水式（8～16時間毎に換水） | |

2.5 原液調製法

(1) 分散剤

ポリアクリル酸ナトリウム

(2) 調製方法

被験物質とその4倍量^{*3}のポリアクリル酸ナトリウムをクリアミックス（約 1.8×10^4 rpm, 約30分間）を用いてイオン交換水に溶解させ、被験物質濃度として947mg/Lの原液を調製した。

^{*3} 純度補正する前の重さに対する量。

2.6 試験の実施

(1) 実施場所 214LC50室

(2) 試験実施日 2001年 8月27日 ～ 2001年 8月31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 $> 250\text{mg/L}^{*4}$ (Fig. 3参照)

^{*4} この際の使用した分散剤（ポリアクリル酸ナトリウム）の濃度は、1056mg/Lとなり、その分散剤の96時間LC50値が10930mg/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

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 3月13日 |
| | | じゅん化開始日 2001年 7月 5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 31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 | 7.5～9.7cm |
| (5) ロ | ッ | ト |
| | | TFC-010313-IV |
| (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 | |
| (3) 試験水量 | 原液2mL/分及び試験用水800mL/分の割合で1155L/日を試験水槽に供した。 | |
| (4) 原液タンク | 25L容ガラス製びん 交換頻度 1回/週 | |
| (5) 試験温度 | 第1濃度区 | 25.7～25.9℃ |
| | 第2濃度区 | 25.3～25.7℃ |
| | 対照区 | 25.2～25.5℃ |
| (6) 溶存酸素濃度 | 第1濃度区 | 7.8～ 8.1mg/L (Fig.12参照) |
| | 第2濃度区 | 7.9～ 8.1mg/L (Fig.13参照) |
| | 対照区 | 8.1mg/L (Fig.14参照) |
| (7) pH | 第1濃度区 | 8.1～ 8.3 |
| | 第2濃度区 | 8.2～ 8.3 |
| | 対照区 | 8.2～ 8.3 |
| (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 | 29尾 (ばく露開始時) |
| | 対照区 | 12尾 (ばく露開始時) |
| (10) ばく露期間 | 28日間 設定理由：予備試験の結果、28日間で定常状態に達すると予想されたため。 | |
| (11) 実施場所 | 213アクアトロン室 | |

3.4 原液調製法

(1) 分散剤

2.5の(1)に同じ。

(2) 調製方法

・第1濃度区

2.5の(2)と同様にして被験物質濃度として1894mg/Lの原液を調製した。

・第2濃度区

2.5の(2)と同様にして被験物質濃度として189.4mg/Lの原液を調製した。

・対照区

ポリアクリル酸ナトリウムをイオン交換水に溶解して8g/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 4.735 mg/L

第2濃度区 0.4735mg/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。 |

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)*5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。

*5 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

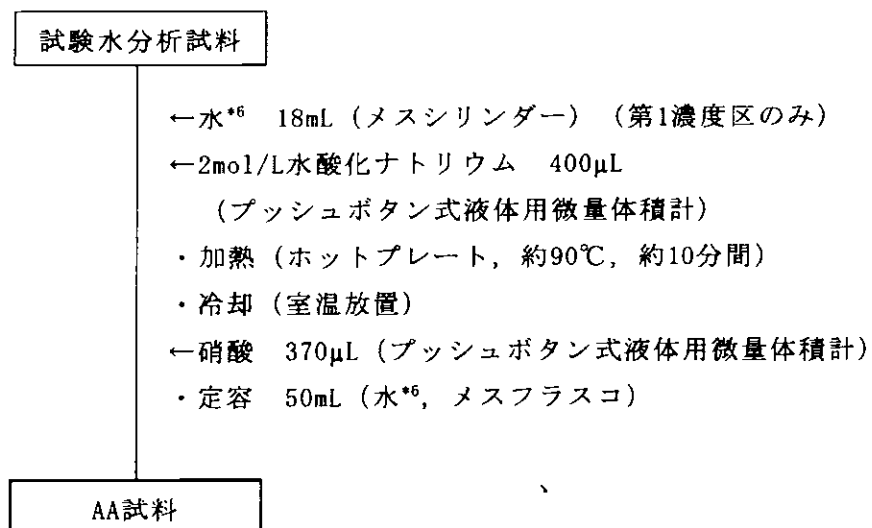
試験水槽から

第1濃度区 2mL

第2濃度区 20mL

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

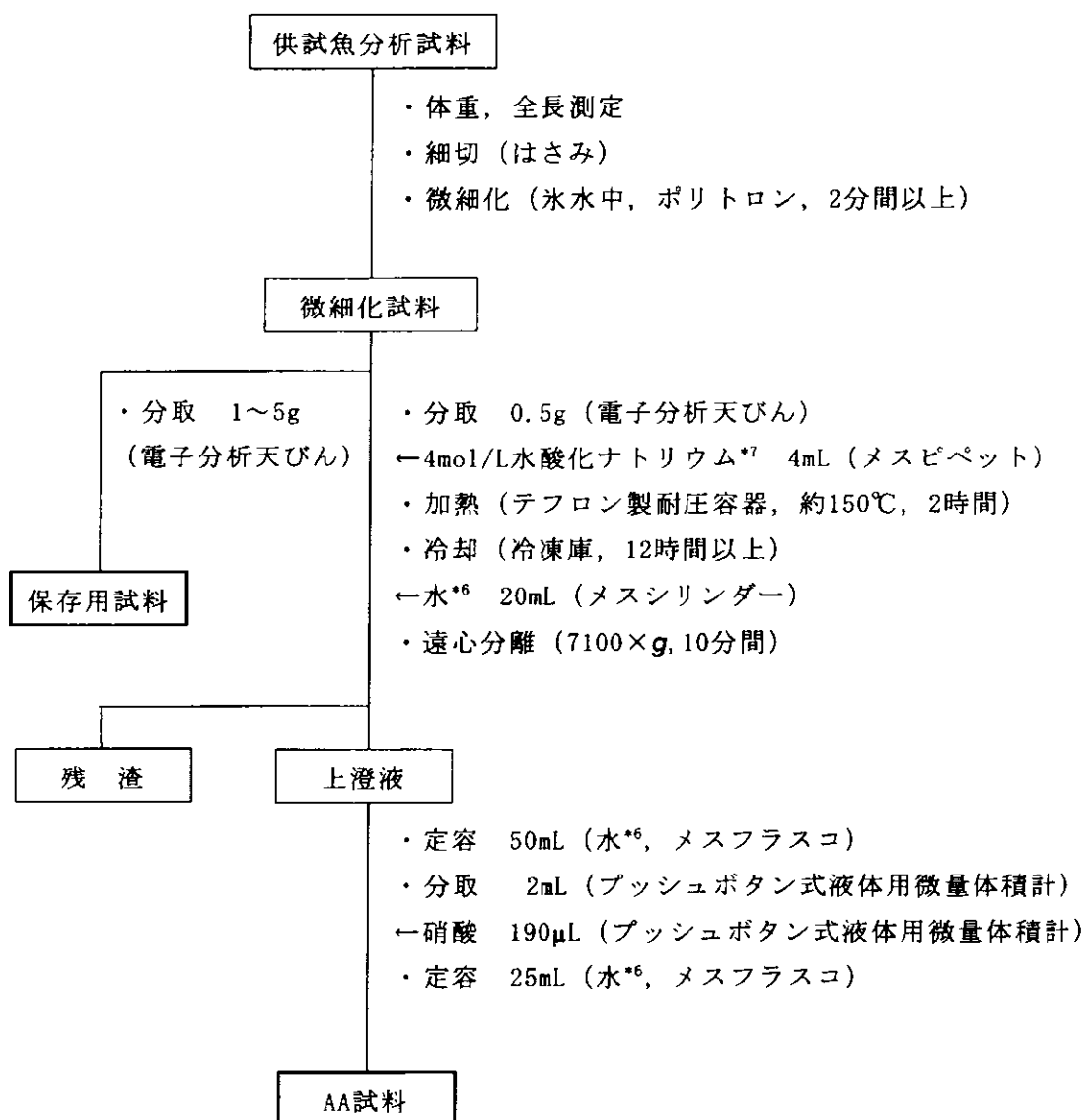


*6 水道水を超純水製造システムを用いて処理した水。

(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



*7 冷蔵庫（約5℃）で冷却したもの。

(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100mg^{*8}を正確にはかりとり、水酸化ナトリウム約4gと水^{*6}約5mLを加えた後、ホットプレート（約90℃，約10分間）で加熱溶解して947mg/Lの被験物質溶液を調製した。これを0.1mol/L硝酸で希釈して0.189mg/Lの標準溶液とした。

*8 純度補正する前の重さ。

(3) 検量線の作成

(2)の標準溶液の調製と同様にして0.0947、0.189及び0.379mg/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チャート上の吸光度と濃度により検量線を作成した。

吸光度の定量下限は、ノイズレベルを考慮して0.0045（被験物質濃度0.013mg/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るため、回収試験用試験水及び細切した魚（10g）に被験物質原液を添加し、回収試験を行った。また、被験物質を加えない回収試験用試験水及び細切した魚について、回収試験と同じ操作によりブランク試験を行った。回収試験及びブランク試験は、第1濃度区試験水分析及び供試魚分析においては2点、第2濃度区試験水分析においては3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、第1濃度区試験水分析のブランク試験においてチャート上、分析波長には吸収は認められなかった。一方、第2濃度区試験水分析及び供試魚分析のブランク試験においてチャート上、分析波長に吸収が認められたため、第2濃度区試験水分析においては3点のブランク値の平均値（0.761 μ g）、供試魚分析においては2点のブランク値の平均値（193 μ g）を差し引いて回収率を求めた。分析操作における各2点（第2濃度区試験水分析においては3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-3, 6、Fig. 5, 6, 8参照）。

分析操作における回収率

試験水分析（被験物質9.47 μ g添加）

第1濃度区 103 %, 101 % 平均 102 %

第2濃度区 80.1%, 81.7%, 87.7% 平均 83.2%

供試魚分析（被験物質2367.5 μ g添加）

75.6%, 80.3% 平均 78.0%

3.7.5 供試魚中の脂質含量

対照区の供試魚微細化試料の保存用試料（3.7.2(2)参照）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-4, 5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*9はそれぞれ、

第1濃度区 0.31 mg/L

第2濃度区 0.038mg/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*9は供試魚微細化試料を0.5gとしたとき20μg/gと算出される。

$$*9 \text{ 被験物質定量下限濃度 (mg/L又は}\mu\text{g/g)} = \frac{A}{\frac{B}{100} \times \frac{C \times E}{D}}$$

A : 検量線上定量下限濃度 (mg/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。

3.7.7 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 (mg/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 (mg/L)

$C_w(n)$: n 回目の試験水中被験物質濃度 (mg/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 (mg/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 (mg/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 ($\mu\text{g/g}$)

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

3.7.9 算出可能な濃縮倍率

対照区の供試魚をばく露開始前及びばく露終了時に各3尾分析した結果、チャート上、分析波長に吸収が認められたため、供試魚中の被験物質濃度は、前記6点のブランク濃度の平均値（19.2μg/g）を差し引いて算出した。

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 | 4.8倍 |
| 第2濃度区 | 43 倍 |

3.7.10 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 mg/L)

| 濃度区 | 1日後 | 6日後 | 9日後 | 14日後 | 22日後 | 28日後 | 平均 (標準偏差) | Table | Fig. |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------|-------|------|
| 1 | 4.63 | 3.59 | 3.97 | 4.22 | 4.22 | 4.24 | 4.14 (0.345) | 4 | 7 |
| 2 | 0.542 | 0.457 | 0.426 | 0.492 | 0.449 | 0.453 | 0.470 (0.0412) | 5 | |

5.2 濃縮倍率

濃縮倍率をTable-2に示した。

Table-2の濃縮倍率とばく露期間との相関をFig. 1及びFig. 2に示した。ばく露期間中の濃縮倍率は第1濃度区において4.8倍以下、第2濃度区において43倍以下であった。

Table-2 濃縮倍率

| 濃度区 | 6日後 | 9日後 | 14日後 | 22日後 | 28日後 | Table | Fig. |
|-----|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------|------|
| 1 | 4.8以下 4.8以下 | 4.8以下 4.8以下 | 4.8以下 4.8以下 | 4.8以下 4.8以下 | 4.8以下 4.8以下 | 7 | 9 |
| 2 | 43以下 43以下 | 43以下 43以下 | 43以下 43以下 | 43以下 43以下 | 43以下 43以下 | 8 | 10 |

5.3 定常状態における濃縮倍率

5.2の結果から、濃縮倍率は100倍未満であったため、28日後には定常状態に達しているとみなした。よって、定常状態における濃縮倍率は、28日後の濃縮倍率（第1濃度区で4.8倍以下、第2濃度区で43倍以下）とした。

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 | 3.54% |
| 実験終了後 | 3.26% |

5.5 供試魚の外観観察等

異常は認められなかった。

6. 考 察

第2濃度区試験水分析ブランク試験において、アルミニウムが平均0.761 μ g検出された。これは試験水中に存在するアルミニウムに由来するもので、第2濃度区の設定濃度に対して8%に相当する。本試験においては、分析対象をアルミニウムとしているため、それらの値は差し引かず、被験物質のばく露量に含めて試験水中の被験物質濃度を算出した。

7. 備 考

試験に使用した主要な装置・機器、試薬等

(1) 試験系（飼育施設）に係わる装置

| | | |
|--------------|-----------|----------|
| 原液供給用微量定量ポンプ | : 東京理化器械製 | 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頁参照 | |
| 天びん | : ザルトリウス社製 | 型 LP4200S |
| | : ザルトリウス社製 | 型 BP301S |
| | : メトラートレド社製 | 型 PB602 |
| 遠心分離機 | : 日立工機製 | 型 CR21G |
| 高温恒温器 | : タバイエスペック製 | 型 PHH-101 |
| クリアミックス | : M TECHNIQUE製 | 型 CLM-0.8S |

試薬

| | | |
|--------------|-----------|-------|
| 水酸化ナトリウム | : 和光純薬工業製 | 試薬一級 |
| 硝酸（1.38） | : 関東化学製 | 電子工業用 |
| ポリアクリル酸ナトリウム | : 和光純薬工業製 | |

(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 | : ザルトリウス社製 | 型 BP301S |
| | 島津製作所製 | 型 AEX-2000B |
| ロータリーエバポレーター | : 東京理化器械製 | 型 N-1 |
| ホモジナイザー（ポリトロン） | : キネマチカ社製 | 型 PT3000 |
| | キネマチカ社製 | 型 PCU11 |
| 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 | : キンダ化学製 | 試薬特級 |
| 硫酸ナトリウム（無水） | : 片山化学工業製 | 試薬一級 |