

---

受理番号	S00-3677
試験番号	43677

## 最 終 報 告 書

ニクロム酸ナトリウム二水和物のコイにおける濃縮度試験

2001年 4月11日

財団法人  
化学物質評価研究機構  
久留米事業所

# 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

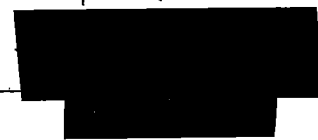
試験の表題 ニクロム酸ナトリウム二水和物のコイにおける濃縮度試験

試験番号 43677

本最終報告書（写し）は、上記試験の最終報告書を正確にコピーしたものです。

2001年4月11日

運営管理者



## 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 ニクロム酸ナトリウム二水和物のコイにおける濃縮度試験

試験番号 43677

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。

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4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 ニクロム酸ナトリウム二水和物のコイにおける濃縮度試験

試験番号 43677

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 2 月 23 日	2001 年 2 月 23 日	2001 年 2 月 23 日
	2001 年 2 月 28 日	2001 年 2 月 28 日	2001 年 2 月 28 日
試 験 実 施 状 況	2001 年 2 月 26 日	2001 年 2 月 28 日	2001 年 2 月 28 日
	2001 年 3 月 7 日	2001 年 3 月 15 日	2001 年 3 月 15 日
	2001 年 3 月 8 日	2001 年 3 月 15 日	2001 年 3 月 15 日
	2001 年 3 月 13 日	2001 年 3 月 15 日	2001 年 3 月 15 日
	2001 年 3 月 14 日	2001 年 3 月 15 日	2001 年 3 月 15 日
	2001 年 3 月 29 日	2001 年 3 月 30 日	2001 年 3 月 30 日
	2001 年 3 月 30 日	2001 年 3 月 30 日	2001 年 3 月 30 日
生データ及び最終報告書	2001 年 4 月 11 日	2001 年 4 月 11 日	2001 年 4 月 11 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 4 月 11 日

信頼性保証部門責任者



## Tables

Table-1	試験水中の被験物質濃度（測定値）〔本文中記載〕
Table-2	濃縮倍率〔本文中記載〕
Table-3	回収試験及びブランク試験（試験水分析）計算表
Table-4	第1濃度区試験水分析計算表
Table-5	第2濃度区試験水分析計算表
Table-6	回収試験及びブランク試験（供試魚分析）計算表
Table-7	第1濃度区供試魚分析計算表
Table-8	第2濃度区供試魚分析計算表
Table-9	対照区供試魚分析計算表
Reference 1	試験用水の水質測定表

## Figures

Fig. 1	ばく露期間－濃縮倍率相関図（第1濃度区）
Fig. 2	ばく露期間－濃縮倍率相関図（第2濃度区）
Fig. 3	急性毒性試験における被験物質濃度－死亡率曲線
Fig. 4	試験水分析用検量線
Fig. 5	回収試験及びブランク試験（試験水分析）CEエレクトロフェログラム
Fig. 6	試験水分析CEエレクトロフェログラム
Fig. 7	供試魚分析用検量線
Fig. 8	回収試験及びブランク試験（供試魚分析）AAチャート
Fig. 9	第1濃度区供試魚分析AAチャート
Fig. 10	第2濃度区供試魚分析AAチャート
Fig. 11	対照区供試魚分析AAチャート
Fig. 12	第1濃度区試験水中の溶存酸素濃度
Fig. 13	第2濃度区試験水中の溶存酸素濃度
Fig. 14	対照区試験水中の溶存酸素濃度
Reference 2-1	被験物質のX線回折チャート（実験開始前）
Reference 2-2	被験物質のX線回折チャート（実験終了後）

## 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 .....	8
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 .....	19
5. 試験結果 .....	19
6. 備 考 .....	21

試験番号 43677

表 題	ニクロム酸ナトリ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	ニクロム酸ナトリ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 2月23日
実験開始日	2001年 2月28日
実験終了日	2001年 3月28日
試験終了日	2001年 4月11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4月11日

試験責任者



# 要 約

## 試験の表題

ニクロム酸ナトリ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      1 mg/L    |
|             | 第2濃度区      0.1mg/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 | 試験水分析    キャピラリー電気泳動法 |
|             | 供試魚分析    原子吸光光度法     |

## 試験結果

- |                  |                   |
|------------------|-------------------|
| (1) 96時間LC50値    | 249mg/L           |
| (2) 定常状態における濃縮倍率 | 第1濃度区      3.6倍以下 |
|                  | 第2濃度区      36 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      二クロム酸ナトリウム二水和物

1.2 化学式等

化学式



式 量      298.00

1.3 入手先、商品名、規格及びロット番号\*1

(1) 入 手 先

(2) 商 品 名

(3) 規 格      試薬特級

(4) ロット番号

1.4 純 度\*1

(1) 被 験 物 質      99.8%

(2) 不 純 物	塩化物(Cl)	0.005%以下
	硫酸塩(SO <sub>4</sub> )	0.02 %以下
	カリウム(K)	0.05 %以下
	銅(Cu)	0.001%以下
	カルシウム(Ca)	0.01 %以下
	鉛(Pb)	0.002%以下
	鉄(Fe)	5ppm以下

被験物質は純度100%として取り扱った。

\*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

常温における性状      黄みの赤の微細結晶

### 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)。

### 1.8 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<br>(住所 〒 830-0049 福岡県久留米市大石町 181)  |
| (3) 蓄養条件   |    | 魚の入手時に目視観察をして異常のあるものを除去し、蓄養槽で薬浴後、流水状態で12日間飼育した。   |
| (4) じゅん化条件 |    | 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、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の水温の流水状態で15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42日間飼育した。 |
| (5) 体重     | 平均 | 0.23g   |
| (6) 全長     | 平均 | 3.1 cm  |
| (7) 感受性試験  |    | 同一ロット (TF0-001220) の供試魚による基準物質PCP-Na [ベ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0.420mg/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2月16日（全有機炭素については2001年3月19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	24.2～24.3℃
	換水前	24.0～24.3℃
(4) 溶存酸素濃度	ばく露開始時	7.9～8.0mg/L
	換水前	6.1～6.4mg/L
(5) pH	ばく露開始時	5.9～6.9
	換水前	6.4～7.4
(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

イオン交換水に溶解して被験物質濃度として2000mg/Lの原液を調製した。

## 2.6 試験の実施

(1) 実施場所	214LC50室
(2) 試験実施日	2001年 2月23日 ～ 2001年 2月27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            249mg/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<br>大きさが扱い易いため。  |
| (2) 供       | 給 源     | 福岡県矢部川漁業協同組合<br>(住所 〒 834-0012 福岡県八女市大字山内 748)   |
|             |         | 供試魚受入日 2000年11月15日   |
| (3) 蓄 養 条 件 |         | 魚の入手時に目視観察をして異常のあるものを除去し、<br>受入槽で薬浴後、流水状態で38日間飼育した。  |
| (4) じゅん化条件  |         | 蓄養後、寄生虫駆除の薬浴を行った後、じゅん化水槽へ<br>搬入し、再度薬浴した後、じゅん化を行った。その間異<br>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43<br>日間飼育した。さらに試験水槽へ移し、薬浴後、同温度<br>の流水状態で19日間飼育した。 |
| (5) 全       | 長       | 7.8～8.9cm  |
| (6) ロ ッ ト   |         | TFC-001115-II  |
| (7) 年       | 齢       | 当才魚  |
| (8) 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<br>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。<br>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	20L容プラスチック製びん 交換頻度 1～2回程度/週	
(5) 試験温度	第1濃度区	25.3～25.8℃
	第2濃度区	25.1～25.5℃
	対照区	24.8～25.6℃
(6) 溶存酸素濃度	第1濃度区	7.9～8.1mg/L (Fig. 12参照)
	第2濃度区	8.0～8.1mg/L (Fig. 13参照)
	対照区	8.1mg/L (Fig. 14参照)
(7) pH	第1濃度区	7.9～8.0
	第2濃度区	7.9～8.0
	対照区	7.8～7.9
(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	28尾 (ばく露開始時)
	対照区	10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アクアトロシ室	

## 3.4 原液調製法

## ・第1濃度区

2.5と同様にして被験物質濃度として400mg/Lの原液を調製した。

## ・第2濃度区

2.5と同様にして被験物質濃度として40mg/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 1 mg/L

第2濃度区 0.1mg/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

試験水の被験物質分析はキャピラリー電気泳動法 (CE)、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)\*3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4尾とし、2群(2尾1群)に分けて分析した。

\*3 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

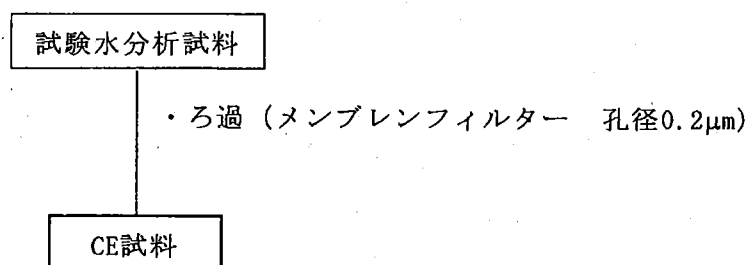
第1濃度区 10mL

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、キャピラリー電気泳動法 (CE) 試料とした。

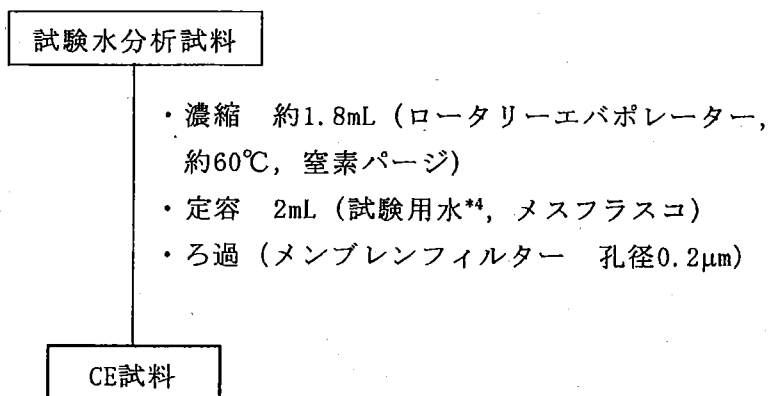
## (a) 第1濃度区

フロースキーム



## (b) 第2濃度区

フロースキーム

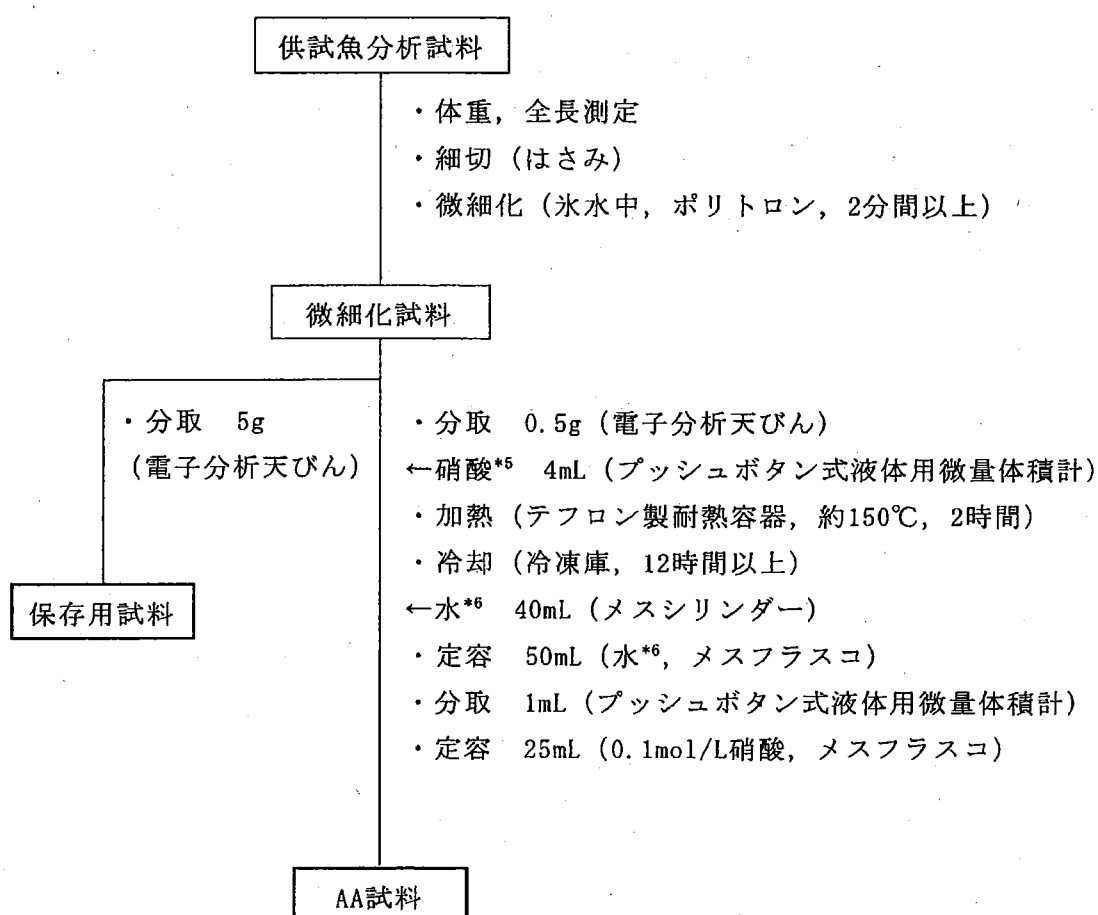


\*4 メンブレンフィルター (孔径0.45μm) を用いて処理したもの。

## (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



\*5 冷蔵庫（約5℃）で冷却したもの。

\*6 水道水を超純水製造システムを用いて処理した水。

### 3.7.3 被験物質の定量分析

#### (1) 試験水分析

前処理を行って得られたCE試料について、下記の定量条件に基づきキャピラリー電気泳動法により被験物質を分析した。CE試料中の被験物質濃度は、標準溶液及びCE試料のエレクトロフェロ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-4, 5、Fig.6参照)。

#### (a) 定量条件

機 器	キャピラリー電気泳動装置
	Hewlett Packard社製 G-1600A
キャピラリー	PVAコーティングキャピラリー
	I/L=56/64.5cm, 50 $\mu$ m I.D. バブルセル
キャピラリー温度	20 $^{\circ}$ C
バッファー	20mmol/Lりん酸緩衝液 <sup>*4,7</sup> (pH8.0)
極 性	Negative
印 加 電 圧	18kV
検 出 波 長	Signal=390/16nm, Reference=off
注 入 法	加圧法
注 入 量	800mbar $\cdot$ s

\*7 20mmol/Lりん酸水素二ナトリウムを6mol/L塩酸でpH8.0に調整。

#### (b) 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を正確にはかりとり、イオン交換水に溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これを試験用水<sup>\*4</sup>で希釈して1.00mg/Lの標準溶液とした。

#### (c) 検量線の作成

(b)の標準溶液の調製と同様にして0.500、1.00及び2.00mg/Lの標準溶液を調製した。これらを(a)の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのエレクトロフェロ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0.08 (被験物質濃度0.050mg/L) とした (Fig.4参照)。

## (2) 供試魚分析

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。AA試料中の被験物質濃度は、標準溶液及びAA試料のチャート上で得られた吸光度を比較し、比例計算して求めた (Table -7, 8, 9, Fig. 9, 10, 11参照)。

## (a) 定量条件

機	器	原子吸光分光光度計			
		日立製作所製 Z-5000			
元	素	クロム			
光	源	ホロカソードランプ			
ランプ	電 流	9mA			
測 定	波 長	425.4nm			
ス リ ッ ト	幅	1.3nm			
フ レ ー ム	タイプ	フ レ ー ム レ ス			
キ ャ ベ ッ ト		パイロチューブA			
キ ャ リ ヤ ー	ガ ス	アルゴン			
ガ ス	流 量	200mL/min (乾燥、灰化、クリーン時)			
		30mL/min (原子化時)			
注 入	量	10 $\mu$ L			
温度プログラム		温度 (°C)		時間 (sec)	
		開始	終了	昇温	継続
	乾 燥	80	140	40	
	灰 化	700	700	20	
	原 子 化	2700	2700		5
	ク リ ー ン	2800	2800		4

## (b) 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を正確にはかりとり、硝酸に溶解して1000mg/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20.0 $\mu$ g/Lの標準溶液とした。

## (c) 検量線の作成

(b)の標準溶液の調製と同様にして10.0、20.0及び40.0 $\mu\text{g/L}$ の標準溶液を調製した。これらを(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。

吸光度の定量下限は、ノイズレベルを考慮して0.0021（被験物質濃度1.3 $\mu\text{g/L}$ ）とした（Fig. 7参照）。

## 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、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、試験水分分析のブランク試験においてエレクトロフェログラム上、被験物質ピーク位置にはピークは認められなかった。また、供試魚分析のブランク試験においてチャート上、分析波長には吸収は認められなかった。供試魚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（Table-3, 6、Fig. 5, 8参照）。

## 分析操作における回収率

## 試験水分分析

第1濃度区（被験物質10 $\mu\text{g}$ 添加）

101 %, 99.8%      平均    100 %

第2濃度区（被験物質2 $\mu\text{g}$ 添加）

87.1%, 84.0%      平均    85.5%

供試魚分析（被験物質500 $\mu\text{g}$ 添加）

89.8%, 90.6%      平均    90.2%

## 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(1)(c)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\*8はそれぞれ、

第1濃度区            0.050 mg/L

第2濃度区            0.0058mg/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(2)(c)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\*8は供試魚微細化試料を0.5gとしたとき3.6μg/gと算出される。

$$*8 \text{ 被験物質定量下限濃度 (mg/L又は}\mu\text{g/g)} = \frac{A}{\frac{B}{100} \times \frac{C \times E}{D}}$$

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

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

$\overline{C_{wt}}$  : 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) m回目の濃縮倍率の平均値

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

BCF<sub>m</sub> : m回目の濃縮倍率の平均値 (個体数又は群数2(a, b))

BCF<sub>a, b</sub> : m回目におけるそれぞれの濃縮倍率

n : m回目に分析した個体数又は群数

## 3.7.9 算出可能な濃縮倍率

対照区の供試魚を実験開始前及び実験終了時に各2群分析した結果、AAチャート上にピークが認められたため、供試魚中の被験物質濃度は、前記4点のブランク濃度の平均値 (4.92µg/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          3.6倍

第2濃度区          36 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<sub>0</sub> : 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、ほぼ設定値が保持された。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	2日後	7日後	12日後	14日後	21日後	28日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
1	1.00	0.999	1.06	0.993	1.00	1.03	1.01 (0.025)	4	6
2	0.102	0.102	0.105	0.0981	0.102	0.0994	0.101 (0.0038)	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3.6倍以下、第2濃度区において36倍以下であった。

Table-2 濃縮倍率

濃度区	7日後	12日後	14日後	21日後	28日後	Table	Fig.
1	3.6以下	3.6以下	3.6以下	3.6以下	3.6以下	7	9
	3.6以下	3.6以下	3.6以下	3.6以下	3.6以下		
2	36以下	36以下	36以下	36以下	36以下	8	10
	36以下	36以下	36以下	36以下	36以下		

### 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。定常状態における濃縮倍率は、第1濃度区で3.6倍以下、第2濃度区で36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	1.50%
実験終了後	1.70%

### 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、特殊器具、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、特殊器具及び試薬

## 装置・機器

キャピラリー電気泳動装置	:	13頁参照	
原子吸光分光光度計	:	14頁参照	
天びん	:	島津製作所製	型 AEX-200B
		ザルトリウス社製	型 BP301S
		メトラートレド社製	型 PB602
ロータリーエバポレーター	:	東京理化器械製	型 N-NJ
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 PT3100
定温乾燥器	:	ヤマト科学製	型 DS-44
ガラス電極pH計	:	東亜電波工業製	型 HM-30S

## 特殊器具

メンブレンフィルター	:	日本ミリポアリミテッド製	
		Millex-LG 孔径 0.2 $\mu$ m	
		JH 孔径 0.45 $\mu$ m	

## 試薬

硝酸 (1.38)	:	関東化学製	電子工業用
6mol/L塩酸	:	和光純薬工業製	容量分析用
りん酸水素二ナトリウム・12水	:	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	: ザルトリウス社製	型 BP301S
ロータリーエバポレーター	: 東京理化器械製	型 N-1
	東京理化器械製	型 N
ホモジナイザー (ポリトロン)	: キネマチカ社製	型 PT3000
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	: キシダ化学製	試薬特級
硫酸ナトリウム (無水)	: 片山化学工業製	試薬一級