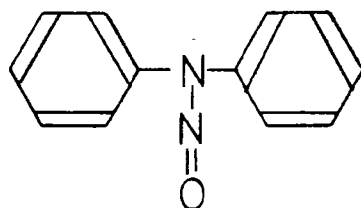


濃縮度試験報告書

1. 試料名 N-ニトロソジフェニルアミン (試料 No K-373)
構造式



同定 IRスペクトル (図-15 参照)

性状

外観 橙褐色フレーク状固体

融点(°C) 64~66°C 比重 1.23

溶解性 対水-不溶

対ベンゼン、クロロホルム、ジクロロメタン

アセトン、アセトニトリル-可溶 1000 ppm

対メタノール、エタノール、n-ヘキサン 不溶

(注) 上記の数値まで溶解性を確認

2. 試験期間 昭和54年11月10日~昭和55年2月18日

3. 試験方法及び条件

環 保 業 第 5 号

発 第 6 1 5 号

49基局第392号

魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験による。

3.1 T L m 試験

- (a) 試験魚

ヒメダカ 平均体重 0.24g 塩化第二水銀検定合格魚*

* 田端健二：用水と廃水，14，1297~1303(1972)

- (b) 溶解法

分散剤

硬化ヒマシ油 (HCO 20、HCO 100)

溶解法 (分散法)

供試物質 0.5g と硬化ヒマシ油 (HCO 20、HCO 100)

各々 5g をアセトン 30 ml に溶解した後、アセトンを

留去する。つぎに水を加えて全量を 1.0 l にし、500

ppm (W/V) の原液を調製した。

- (c) 試験温度

25 ± 1°C

- (d) 試験結果

48時間 T L m 値：6.4 ppm (W/V)

(図-3 参照)

3.2 濃縮度試験

3.2.1 試験条件

(a) 水系環境調節装置 流水式

試験水槽

ガラス製 容 量 100 l 流量 576 l/日

原液：希釈水 = 4 ml / 分 : 400 ml / 分

(b) 試験魚

コ イ 平均体重 28.4 g

平均体長 10.8 cm

平均脂質含量 2.8 % *

* E. G. Bligh and W. J. Dyer, Can. J. Biochem. Physiol., 37, 911 (1959)

(c) 外部消毒及び順化

(1) 外部消毒

止水状態で10 ppm 塩酸クロロテトラサイクリン
水溶液で24時間薬浴を行った。

(2) 順 化

25℃ × 14日間

(d) 溶解法(分散剤及び分散法)

3.1 (D) に同じ

(e) 試験温度

25 ± 1℃

(f) 水槽中の溶存酸素量

図-13及び14参照

(g) 水槽濃度

設定理由

精度よく定量できる濃度は、約1.63 ppm(図-4参照)である。水分析時の前処理操作において100倍濃縮して回収率が87.4%であり、予備飼育14日間の結果より水槽濃度の低下を10%と見込み、第2濃度区の水槽濃度を0.02 ppmと設定した。第1濃度区は第2濃度区の10倍に設定した。

(計算式) 第2濃度区の水槽濃度は

$$\frac{1.63}{100} \times \frac{87.4}{100} \times \frac{90}{100} = 0.02 \text{ ppm になる}$$

設 定 値 (単位: ppm W/V)

	供試物質	分 散 剤	
		HCO 20	HCO 100
第1濃度区	0.20	2.00	2.00
第2濃度区	0.02	0.20	0.20

実 測 値

表-1 濃縮倍率を求めるための平均濃度(単位: ppm W/V)

	2 W	3 W	4 W	6 W
第1濃度区	0.193	0.195	0.197	0.196
第2濃度区	0.0176	0.0181	0.0181	0.0182

3.2.2 分析条件

(a) 使用分析機器及び条件

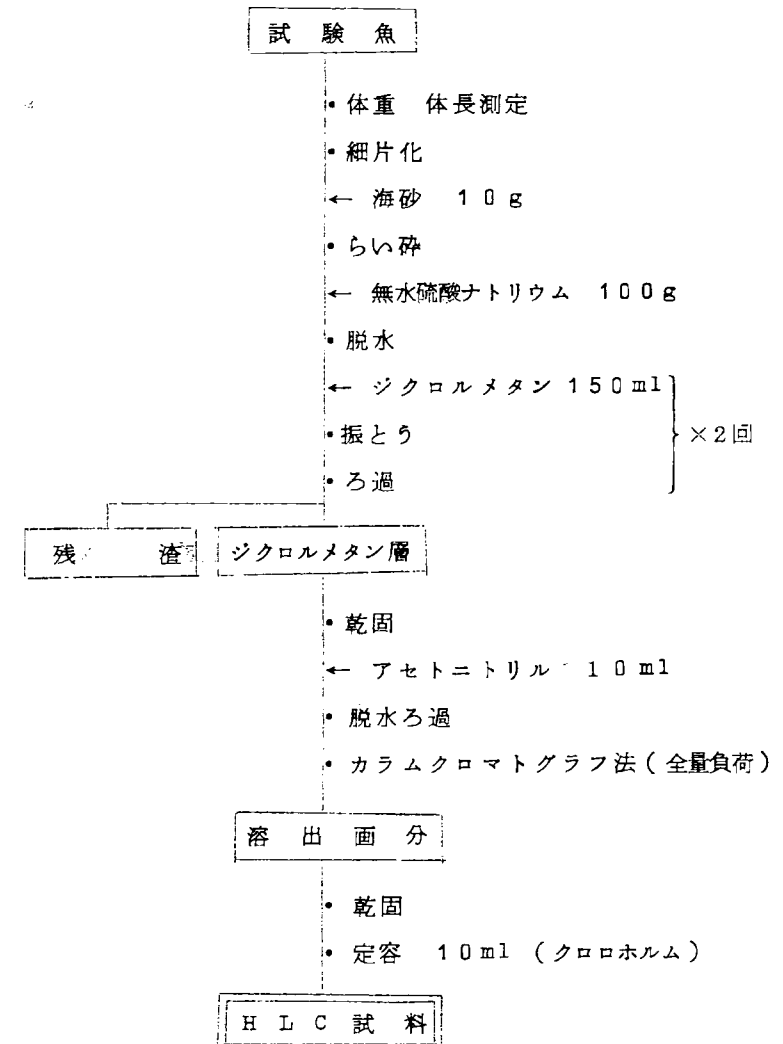
装 置	高速液体クロマトグラフ 型—C B C組立
カ ラ ム	ステンレス製 8 mmφ × 0.5 m
固 定 相	G P C Shodex —A 8 0 1
溶 離 液	クロロホルム
検 出 器	UV—VIS分光光度計 294 nm

(b) 標準溶液の調製法

供試物質をクロロホルムに溶解して1000 ppm標準溶液を調製し、冷蔵庫で保存した。

(c) 分析試料の前処理

(1) 魚 体



カラムクロマトグラフの条件

クロマト管 20 mm φ ガラス製

充てん剤 無水中性アルミナ 10 g

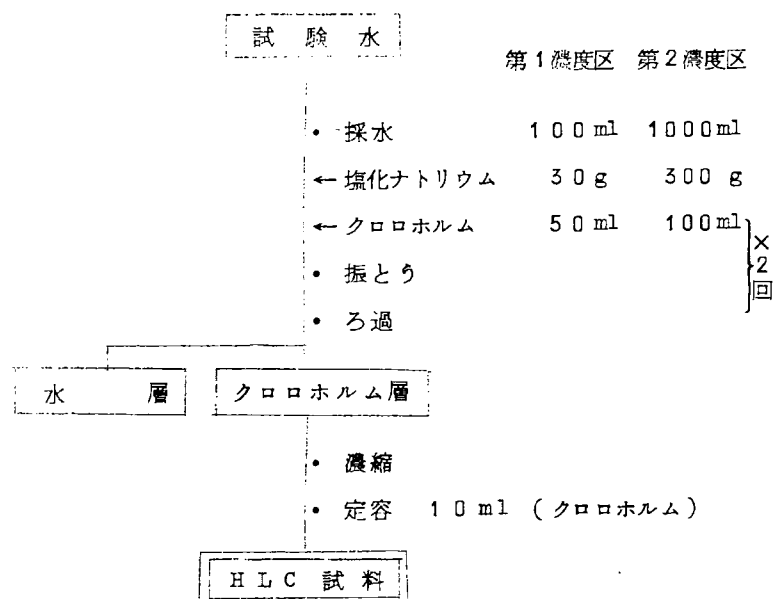
(アセトニトリルで充てん)

分画法：第1画分 アセトニトリル 10 ml

第2画分 アセトニトリル 20 ml

供試物質は第2画分に溶出する。

(2) 試験水



4. 試験結果

4.1 供試魚の状態

外観観察結果 正常

4.2 濃縮度試験の結果

表-2 供試物質の濃縮倍率

	2 W	3 W	4 W	6 W
第1濃度区	2.6 2.4	1.8 1.8	1.4 4.2	1.5 8.1
第2濃度区	(3.8) (2.0)	(2.1) (6.9)	(1.7) (4.6)	(1.8) (1.0)

参考値：() で表示

なお試験結果の表示について濃縮倍率と定量精度の関係は次の通りである。

	魚体中濃度(ppm)	濃縮倍率	計算方法 (ppm)
精度よく定量 できる範囲	0.63 以上	第1区 3.5 以上 第2区 3.8 以上	$\frac{A}{\frac{C}{100}} \times \frac{D}{E \times F}$
参考値の範囲	0.050~0.63	第1区 0.28~3.5 第2区 3.1~3.8	
検出限界の 範囲	0.050 以下	第1区 0.28 以下 第2区 3.1 以下	$\frac{B}{\frac{C}{100}} \times \frac{D}{E \times F}$

A. 精度よく定量できる濃度 = 1.63 ppm (図-4 参照)

B. 検出限界の濃度 ($S/N=2$): 0.131 ppm (図-4 参照)

C. 回収率 : 87.0%

D. 魚体重 : 30 g

E. 最終液量 : 10 ml

F. 分取比 : 1

5. 考 察

5.1 本物質のジフェニルアミンへの変化について

本物質は分解試験報告書(54年1月22日)より、汚泥中でジフェニルアミン(K-120)に変化することが確認されている。

本試験を実施するに当たっても、水中においてまた分析操作中において光、温度、pH変化により、同様の変化を示すことが予測されたため、これらの要因による本物質の濃度低下の有無を、予備的に検討した。

(1) 光

0.02 ppmおよび20 ppmの分散液を調製し、日中約12時間室内灯を照射している25℃の室内に、24時間および72時間放置後の濃度低下の有無を遮光した場合(褐色瓶使用)と遮光しない場合(無色透明の瓶)で比較したところ次の結果を得た。(図-16 参照)

残 留 率

	遮光した場合	遮光しない場合
0.02 ppm 24時間後	85%	77%
20 ppm 72時間後	95%	50%

上の結果より、0.02 ppmでは遮光した場合においても一部変化し、ジフェニルアミンが生成している。

また、20 ppmでは72時間後でも遮光した場合は、ほとんど変化しておらずジフェニルアミンも検出されない。

(2) 温度

本物質のクロロホルム溶液を減圧下凝縮した場合は濃度低下が認められたが、大気圧下では50℃で30分間放置しても濃度低下はほとんど認められなかった。

(3) pH変化

本物質の分散液(0.5 ppm)のpHを3および12に調整し、2時間放置後の濃度を調べたところ濃度低下は認められなかった。

5.2 試験中本物質の変化を防止するための対策

(1) 原液及び試験水槽の遮光

試験原液は褐色のマリOTT瓶中に貯蔵し、試験水槽は黒のビニールシートでおおって遮光した。

(2) 標準溶液の保存

標準溶液(クロロホルム溶液)は褐色瓶に入れ、冷蔵庫に保存した。

(3) 濃縮操作

水，魚分析の前処理における抽出液の濃縮は室温で行った。

5.3 試験結果について

- (1) 本試験の水分析及び魚体分析においてジフェニルアミンが検出されたが、LC分析上、供試物質と明確に分離区別できるため、本試験の濃縮倍率は供試物質のみによるものである。
- (2) 魚体中から検出されたジフェニルアミンの生成原因については水中変化によるものか、魚体内変化によるものか、必ずしも明白ではない。なお、既知見より、ジフェニルアミンの濃縮性は200倍程度である。

以 上