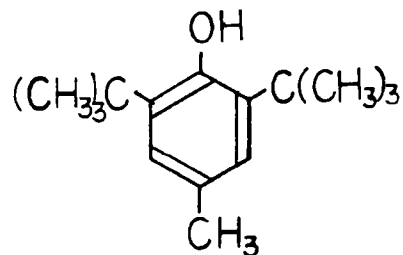


濃縮度試験報告書

1. 試料名 (試料No K-80)

2,6-ジ-tert-ブチル-4-クロロフェノール

構造式



同定 MSスペクトル(図-26参照)

性状

外観: 白色結晶性粉末 融点(℃): 70

沸点(℃): 265 比重: 1.048

溶解性 対水-不溶

ほとんどの有機溶媒に対して易溶(1000 ppm以上)

2. 試験期間 昭和54年3月15日～昭和54年8月22日

3. 試験方法及び条件

環保業第5号

薬発第615号 魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験による

49基局第392号

3.1 T L m試験

(a) 試験魚

ヒメダカ 平均体重 0.19 g 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(分散剤及び分散法)

分散剤

硬化ヒマシ油(HCO-40),

溶解法(分散法)

供試物質 0.5 g と硬化ヒマシ油(HCO-40) 10 g をアセトン 25 ml に溶解した後、水 5 ml を加えロータリーエバポレーターにてアセトンを留去する。次に、水(100℃)を一度に多量に加えて溶解し、室温になってから1 l に定容し 500 ppm の原液を調製した。

(c) 試験温度

25 ± 2℃

(d) 試験結果

48時間 T L m 値: 5.0 ppm (W/V) (図-4参照)

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
(揮発性化学物質用濃縮度試験装置を使用)

試験水槽

ガラス製 容量 100 l

流量 1152 l/日

原液：希釈水 = 2 ml/分 800 ml/分

(b) 試験魚

コイ 平均体重 29.2 g

平均体長 10.6 cm

(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 (b) に同じ

(e) 試験温度

25 ± 2℃

(f) 水槽中の溶存酸素量

図-24 及び 25 参照

(g) 水槽濃度

設定理由：精度よく定量できる濃度は約 0.3 ppm (図-15 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 87.6% であり、予備飼育 3 日間の結果より水槽濃度の低下を 20% と見込み第 3 濃度区の水槽濃度を 5 ppb と設定した。第 1 濃度区は第 2 濃度区の 10 倍に設定した。

第 2 濃度区は第 3 濃度区の 10 倍に設定した。

(計算式) 第 3 濃度区の水槽濃度は

$$\frac{100}{10} \times \frac{87.6}{100} \times \frac{0.3}{100-20} \div 5 \text{ ppb になる}$$

設定値

(単位 ppb W/V)

	供試物質	分散剤 HCO-40
第 1 濃度区	500	10000
第 2 濃度区	50	1000
第 3 濃度区	5	100

実測値 表-1 濃縮倍率を求めるための平均濃度 (単位 ppb W/V)

	2 W	4 W	6 W	8 W
第 1 濃度区	478	467	457	
第 2 濃度区	45.2	39.7	39.0	39.0
第 3 濃度区	4.11	3.63	3.70	3.82

3.2.2 分析条件

(a) 使用分析機器及び条件

装 置 ガスクロマトグラフ - 質量分析計 型 - 日立 RMU
- 6MG

G C 条件

カ ラ ム 1% OV-1/クロモソルブ W (80-100メッシュ)
1 m × 3 mm ϕ ガラス
カラム温度 150℃
キャリアガス He

質量分析計条件

セパレータ温度 200℃
イオン化電圧 20 eV
加 速 電 圧 3.2 KV
イオン源温度 220℃
スキャン速度 1 cm/秒
測定 m/e 水分析 m/e = 205
魚分析 m/e = 220

(b) 分析試料の前処理

(1) 魚体

試 験 魚

- 体重, 体長測定
 - 細片化
 - ← 海砂 10 g
 - らい砕
 - ← 1N 塩酸 1 ml
 - ← 無水硫酸ナトリウム 100 g
 - らい砕
 - ← アセトニトリル 1回目 200 ml, 2回目 100 ml
 - 振とう
 - 吸引ろ過
- } × 2回

残 渣

アセトニトリル層

- ← n-ヘキサン 100 ml
- 振とう
- ← 水 500 ml
- ← 飽和塩化ナトリウム水溶液 10 ml
- 振とう

水 層

n-ヘキサン層

- 脱水ろ過
- 濃縮
- 定容 (10 ml)
- カラムクリーンアップ (第2, 3区のみ)
- 定容

G C - M S 試料

カラムクロマトグラフの条件

クロマト管 10 mm ガラス製

充てん剤 5%含水アルミナ 5 g (和光製) (n-ヘキサンで充てん)

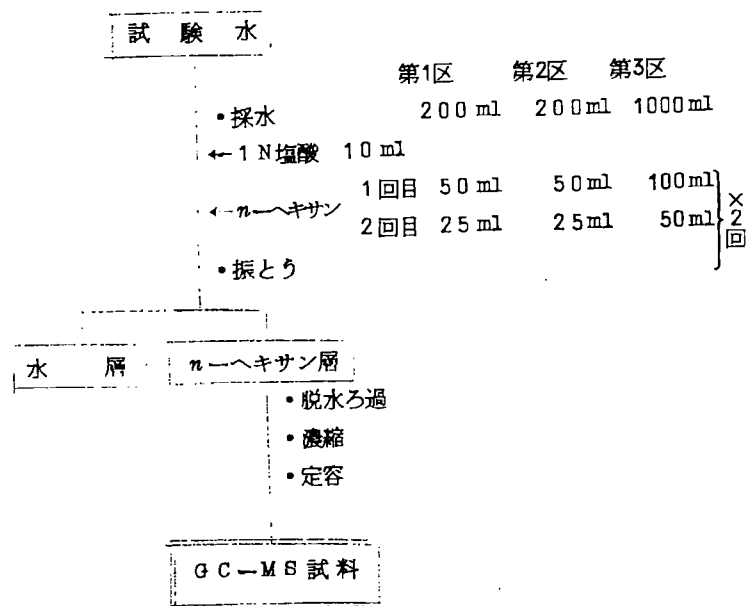
第2, 第3濃度区のみ5 ml 分取して負荷する。

分画法: 第1画分 n-ヘキサン 5 ml

第2画分 n-ヘキサン 15 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

異常 4尾/14尾 (第1濃度区のみ)

4.2 濃縮度試験の結果

表-2 供試物質の濃縮倍率

	2 W	4 W	6 W	8 W
第1濃度区	9.8	6.6	7.4	
	14	2.2	14	
	5.7	2.5	4.1	
	2.8	1.7	7.1	
	2.5	1.4	1.5	
第2濃度区	3.8	2.9	3.8	2.3
	7.8	1.0	3.0	1.1
	7.1	8.4	8.6	2.5
第3濃度区	5.2	1.8	4.4	1.1
	7.8	6.2	7.0	7.6
	1.1	3.3	4.2	1.5

× 10²

5. 考 察

(1) 試験の経緯

本物質についてはすでに標準型アクアトロン（第1区 500 ppb，第2区 50 ppb）で試験を行ったが、昇華性のため水槽濃度が設定値よりかなり低かったこと，又濃縮倍率にバラツキがみられたことにより揮発性物質用アクアトロンを使用し再試を行った。

今回は設定濃度を可能な限り低くし、第2区 50 ppb，第3区 5 ppb で試験を実施した。

なお、前回試験との関連をみるため第2区，第3区終了後第1区 500 ppb を設け、きわめて毒性の点から危険な濃度で試験を行った。

(2) 第1濃度区における試験魚の異常について（写真参照）

魚の異常は、第1濃度区においてのみ生じた。試験開始直後に衰弱，消化不良の症状がみられ、第2週後半に背骨の奇形が観察された。この異常は14尾中4尾に認められ、中でも2尾の背骨湾曲は顕著であった。

この症状は毒性によるものと考えられる。

(3) 第1濃度区における濃縮倍率について

第1濃度区の試験魚については各5尾ずつ分析したが、バラツキがあり、第2，第3濃度区に比して高い濃縮倍率がみられた。

これは水槽濃度が高いため毒性が強まり、魚の代謝機能に障害が起った結果、代謝されずに蓄積が大きくなったと考えられる。

又、バラツキについては、水槽濃度は安定しているので魚の代謝機能障害の個体差が原因と考えられる。

(4) 定量方法について

供試物質の検出方法はガスクロマトグラフィー質量分析計によるマスフラグメントグラフィー（MF）である。

マススペクトルにおいて供試物質には m/e 220 (M^+)， m/e 205 ($M-15$) などのマスフラグメントイオンがある。

m/e 205 における供試物質の定量感度は m/e 220 よりも約3倍高い。

・水分析

定量感度のよい m/e 205 ($M-15$) のフラグメントを用いて定量した。このフラグメントを用いると魚の代謝物を一緒に測定するおそれがある。そこで水槽から抽出された供試物質と標準液の m/e 220 及び m/e 205 における比がほぼ同じ値であることを確認し、代謝物の影響はないと判断した。

・魚体分析

魚への蓄積が予想されるので $m/e\ 220\ (M^+)$ フラグメントを用いて定量した。当フラグメントによれば代謝物を一緒に測定するおそれはない。

- (5) 第2, 第3濃度区における水槽濃度のバラツキについて、当該物質の昇華性, 光安定性に起因するものとは認められなかった。

以 上