

試 験 報 告 書

ジクミルパーオキサイド（被験物質No.K-596）
のコイによる濃縮度試験

昭和60年2月20日

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター

試験実施機関

名 称 : 財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター
所 在 地 : (〒131) 東京都墨田区東向島四丁目1番1号
電話番号 : (03) 614-1106 (直通)
代 表 者 : 化学品安全センター 所 長 [REDACTED]

(1) 試験施設

名 称 : 財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター
九州試験所
所 在 地 : (〒830) 福岡県久留米市中央町19番14号
電話番号 : (0942) 34-1500

(2) 運営管理者など

運 営 管 理 者 九州試験所 所 長 [REDACTED] [REDACTED]

試 験 責 任 者 九州試験所 蓄積試験課 [REDACTED] [REDACTED]

試 験 担 当 者 九州試験所 蓄積試験課 [REDACTED] [REDACTED]

魚 飼 育 担 当 者 九州試験所 蓄積試験課 [REDACTED] [REDACTED]

報 告 書 要 旨

1. 試験の内容 : コイによる化学物質の濃縮度試験
2. 被験物質 : ジクミルパーオキシド
(被験物質No.K-596)
3. 試験方法及び条件

3.1 試験方法

環 保 業 第 5 号 } 〈魚介類の体内における化学物質の濃縮度
薬 発 第 6 1 5 号 } 試験〉による。
49基局第392号 }

3.2 試験条件

試験濃度 : 第1濃度区 10 $\mu\text{g}/\ell$
第2濃度区 1 $\mu\text{g}/\ell$
飼育期間 : 8週間
流 水 量 : 1158 ℓ /日
分析方法 : ガスクロマトグラフ-質量分析法

4. 試験結果

濃縮倍率 第1濃度区 : 137倍~1470倍
第2濃度区 : 181倍~ 667倍

目 次

	頁
1. 試験の目的	1
2. 試験方法	1
3. 試験期間	1
4. 被験物質	1～2
5. 供試魚	3
6. 飼育条件	3
7. 試験濃度及び原液調製法	4
8. 試験水及び供試魚中の被験物質の分析	4～11
9. 濃縮倍率の算出	12
10. 試験結果	12～13
11. 備考	13
付表	
付図	

1. 試験の目的

既存化学物質の安全性確認の一環としてジクミルパーオキサイド（被験物質No.K-596）のコイに対する濃縮度試験を実施し、濃縮性の程度についての知見を得る。

2. 試験方法

環 保 業 第 5 号 } 〈魚介類の体内における化学物質の濃縮度
薬 発 第 6 1 5 号 } 試験〉による。
49 基 局 第 3 9 2 号 }

3. 試験期間

昭和59年9月28日～昭和60年1月24日
（飼育期間 昭和59年10月18日～昭和59年12月20日）

4. 被験物質

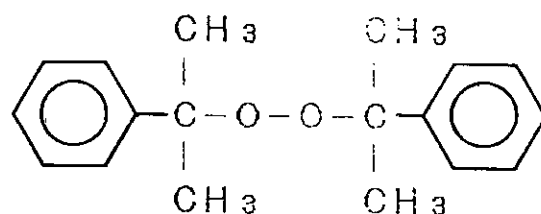
4.1 名 称 ジクミルパーオキサイド
 （商品名 XXXXXXXXXX）
 （被験物質No.K-596）

純 度^{*1} 99.98%

提供者 XXXXXXXXXX

4.2 構造式，分子式，分子量

構造式



分子式 $C_{18}H_{22}O_2$

分子量 270.37

4.3 スペクトル

赤外線吸収スペクトル	(図-12参照)
ガスクロマトグラフ-質量スペクトル	(図-13参照)
核磁気共鳴スペクトル	(図-14参照)

4.4 物理化学的性状

外 観	白色微結晶	
融 点 ^{*1}	40.6℃	
比 重 ^{*1}	1.084 (20/4℃)	
溶解性	水	: 0.4mg/ℓ (GC-MSによる)
	n-ヘキサン	: 1g/ℓ以上
	ベンゼン	: 1g/ℓ以上
	テトラヒドロフラン (THF)	: 1g/ℓ以上
	クロロホルム	: 1g/ℓ以上
	酢酸エチル	: 1g/ℓ以上
	アセトン	: 1g/ℓ以上
	アセトニトリル	: 1g/ℓ以上

分配係数 (n-オクタノール/水)

$$\log P_{ow} = 5.50 \quad (\text{OECD法による})$$

4.5 ヒメダカに対する48時間LC50値^{*2}

4.2mg/ℓ (図-1参照)

*1 被験物質提供者提示資料による。

*2 JIS K 0102に定める工場排水試験法「魚類による急性毒試験」に準じ、HCO-40 (ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油誘導体) を使用して調製した試験液により得られた値

5. 供試魚

名 称 コイ (Cyprinus carpio)
入 手 先 熊本県八代市北村養魚場
ロット番号 TFC 840903
平 均 体 重^{*3} 22.4 g
平 均 体 長^{*3} 9.2 cm
平均脂質含量^{*3} 4.6 %
薬 浴 止水状態にて 0.005% 水産用テラマイシン散水溶液にて 24 時間薬浴を行った。
順 化 25 °C × 14 日間

^{*3} 同一順化ロットからの代表供試魚 10 尾に対しての測定値

6. 飼育条件

試験施設 流水式水系環境調節装置
飼育水槽 100ℓ 容ガラス製水槽
流 水 量 1158ℓ / 日
 (原液：希釈水 = 4 ml / 分 : 800 ml / 分)
飼育密度 25 尾 / 飼育水槽 (試験飼育開始時)
飼育期間 8 週間
飼育温度 25 ± 2 °C
飼育水槽中溶存酸素濃度
 第 1 濃度区 : 5.9 ~ 7.3 mg / ℓ (図 - 10 参照)
 第 2 濃度区 : 5.8 ~ 7.4 mg / ℓ (図 - 11 参照)
 (飯島精密工業製 DOメーター)
給 餌 1 日 2 回に分けて、コイ用飼料 (日本配合飼料株式会社製) を
 魚体重の約 2 % 相当量与えた。

7. 試験濃度及び原液調製法

7.1 試験濃度

試験水槽中の被験物質濃度は次のように設定した。

第1濃度区 : 10 $\mu\text{g}/\ell$

第2濃度区 : 1 $\mu\text{g}/\ell$

7.2 原液調製法

被験物質と10倍量のHCO-40をアセトンに溶解、アセトンを留去後脱塩水に溶解して1000 mg/ℓ の分散液を調製した。

これを脱塩水で希釈して

第1濃度区 : 2 mg/ℓ

第2濃度区 : 0.2 mg/ℓ

の各原液25 ℓ を調製した。なお、各原液は飼育期間中、毎週2回調製した。

8. 試験水及び供試魚中の被験物質の分析

8.1 分析内容の概略

8.1.1 試験水分析

第1及び第2濃度区の各試験水槽より分析試料を採取し、前処理を行った後、ガスクロマトグラフ-質量分析(GC-MS)法により被験物質を定量分析した。試験水分析は、両濃度区とも飼育期間中、毎週2回計16回行い、1回あたりの分析試料は1点とし、採水後ただちに分析操作を行った。

8.1.2 供試魚分析

第1及び第2濃度区の各試験水槽より分析試料を採取し、前処理を行った後、ガスクロマトグラフー質量分析（GC-MS）法により被験物質を定量分析した。供試魚分析は、両濃度区とも飼育開始後、1，2，4，6及び8週目の計5回行い、1回あたりの分析試料は2点とし、採取後ただちに分析操作を行った。

8.2 分析試料の前処理

8.2.1 試験水分析試料の前処理

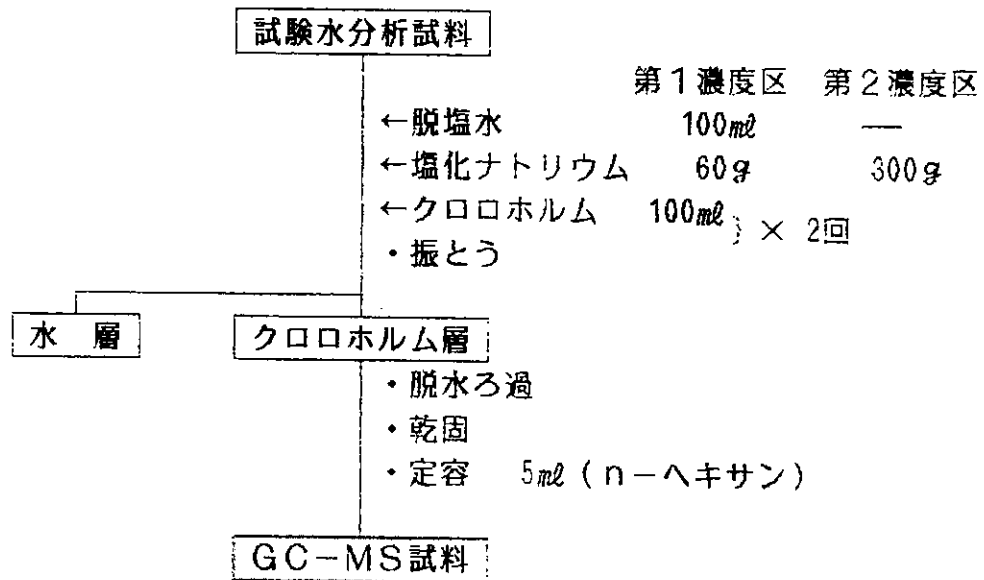
試験水槽より

第1濃度区 : 100 ml

第2濃度区 : 1000 ml

を採水し、次頁のフローシートに従って前処理操作を行った。なお、前処理操作中の試料の分取比は1とし、5 mlに定容してGC-MS試料とした。

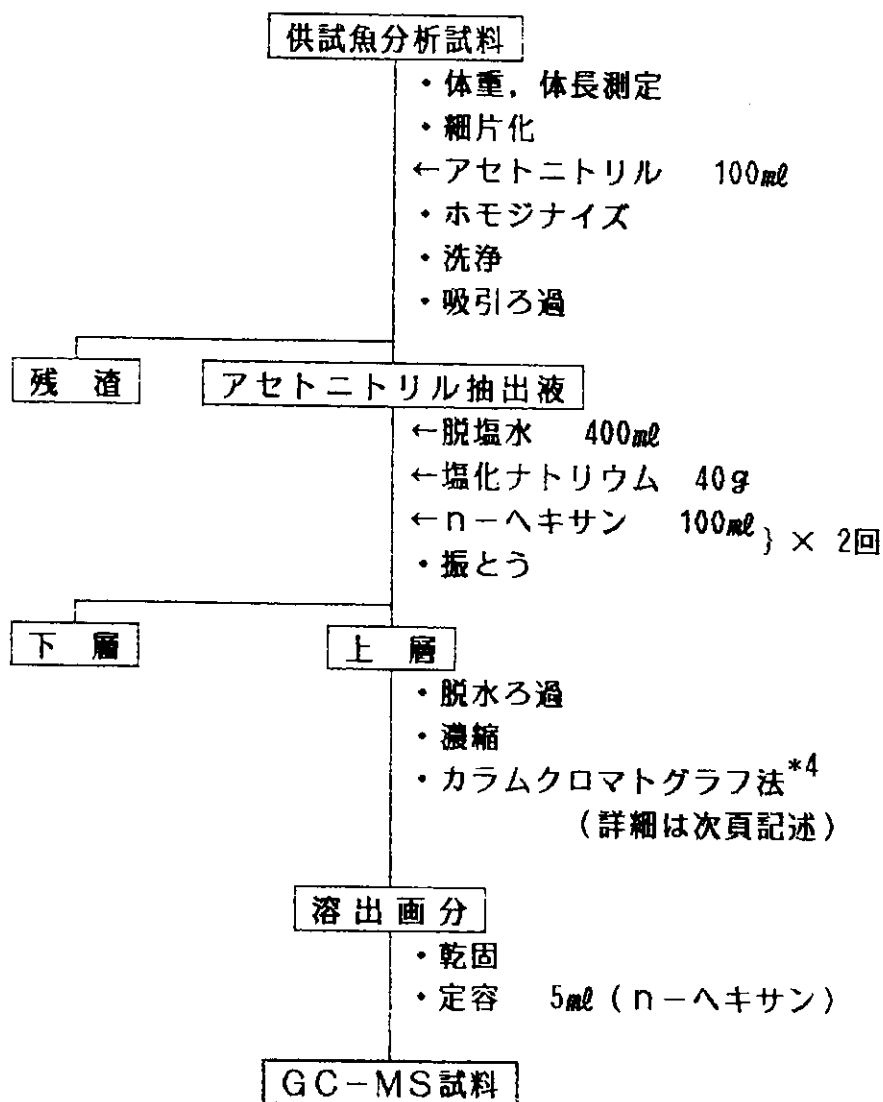
フローシート



8.2.2 供試魚分析試料の前処理

試験水槽より供試魚を採取し、以下のフローシートに従って前処理操作を行った。なお、前処理操作中の試料の分取比は1とし、5 mlに定容してGC-MS試料とした。

フローシート



魚体中の被験物質濃度が回収試験時より著しく高い場合、最終定容液を適宜希釈する。

*4 カラムクロマトグラフの条件

クロマト管 20 mmφ, ガラス製
充てん剤 5%含水シリカゲル 10 g (和光純薬社製)
(n-ヘキサンで充てん)

分画法	第1画分	:	n-ヘキサン	50 ml
	第2画分	:	ベンゼン/n-ヘキサン(1/9 V/V)	50 ml
	第3画分	:	ベンゼン/n-ヘキサン(2/8 V/V)	50 ml

被験物質は第3画分に溶出する。

8.3 分析試料の定量

8.2の前処理を行って得られたGC-MS試料は、次の条件によりガスクロマトグラフ-質量分析（GC-MS）法により定量を行った。被験物質濃度は、マスフラグメントグラム上の被験物質のピーク高さを既知濃度の標準溶液^{*5}のピーク高さと比較し、比例計算により求めた。（図-6，表-4，5及び図-8，9，表-8，9参照）

[定量条件]

装 置	ガスクロマトグラフ-質量分析計 日本電子製 型 JMS-DX300
-----	--------------------------------------

GC条件

カラム	0.5 m×2 mmφ，ガラス製
液相	1.5% シリコンDC QF-1
固定相	クロモソルブ W (HP)
キャリアガス	ヘリウム
流量	40 ml/分
カラム温度	120℃
試料導入部温度	180℃

質量分析計条件

セパレーター温度	180℃
イオン化電圧	70 eV
加速電圧	3 kV
イオン源温度	200℃
測定 m/z	119

*5 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。

すなわち被験物質0.1 gを精秤し、n-ヘキサンに溶解して1000 µg/mlの標準溶液とし、さらにこれをn-ヘキサンで希釈して0.2 µg/mlの標準溶液を調製した。

8.4 定量性の確認

8.3の標準溶液調製法と同様にして0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、0.2 $\mu\text{g/ml}$ 及び0.3 $\mu\text{g/ml}$ の標準溶液を調製し、これらを8.3の定量条件に従ってGC-MSに注入し、得られたそれぞれのマスフラグメントグラム上の被験物質ピーク高さとそれぞれの濃度より検量線を作成した。検量線は原点を通る直線であったことから定量性が良好であることが確認された。

また、検量線より被験物質ピーク高さの測定限界は2 mV （被験物質濃度6.0 $\mu\text{g/l}$ ）とした。（図-4参照）

8.5 回収試験及びブランク試験

前述した試験水及び供試魚分析における被験物質の回収率を求めるため、飼育水及び魚体ホモジネートに被験物質分散液を添加し8.2及び8.3の操作に準じて添加回収試験を行った。また、被験物質を加えない飼育水及び魚体ホモジネートについて、添加回収試験の場合と同じ操作によりブランク試験を行った。添加回収試験及びブランク試験は、2点について並行測定した。この結果、ブランク試験においてマスフラグメントグラム上、被験物質ピーク位置にはピークは認められず、そこで回収率は添加回収試験で得られた2点の値の平均値とした（図-5，7，表-3，7参照）。各分析操作における回収率は次のとおりであり、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。

[各分析操作における回収率]

試験水分析（被験物質1 μg 添加）

第1濃度区：88.9%

第2濃度区：92.1%

供試魚分析（被験物質1.5 μg 添加）

92.6%

8.6 分析試料中の被験物質濃度の算出及び検出限界

8.6.1 試験水分析試料中の被験物質濃度の算出

試験水分析試料中の被験物質濃度は、表－6の計算式に従って計算した。

8.6.2 試験水中の被験物質の検出限界

8.3の定量条件において検出限界となる被験物質濃度(8.4参照)から、前処理操作での回収率を考慮すると、試験水中の被験物質検出限界濃度はそれぞれ、

第1濃度区 : 0.34 $\mu\text{g}/\text{l}$

第2濃度区 : 0.033 $\mu\text{g}/\text{l}$

と算出される。

8.6.3 供試魚分析試料中の被験物質濃度の算出

供試魚分析試料中の被験物質濃度は、表－10の計算式に従って計算した。

8.6.4 供試魚中の被験物質の検出限界

8.3の定量条件において検出限界となる被験物質濃度(8.4参照)から、前処理操作での回収率を考慮すると、供試魚中の被験物質検出限界濃度は魚体重を30gとしたとき1.1 ng/g と算出される。

9. 濃縮倍率の算出

濃縮倍率（BCF）は、次式により算出した。

$$BCF = \frac{C_{fn} - C_{fb}}{C_{wn}}$$

C_{fn} : n週目に採取した供試魚分析試料中の被験物質濃度 ($\mu\text{g/g}$)

C_{wn} : n週目まで行った試験水分析による実測濃度の平均値 (平均水槽濃度) (mg/l)

C_{fb} : 空試験における魚体中の被験物質濃度 ($\mu\text{g/g}$)

なお、8.6.4で求めた供試魚中の被験物質の検出限界を濃縮倍率で表わすと次のようになる。

第1濃度区 : 0.2倍

第2濃度区 : 1.8倍

10. 試験結果

10.1 試験水槽中の被験物質濃度

試験水槽中の被験物質濃度を表-1に示す。

表-1 試験水中の被験物質濃度（実測値）（単位： $\mu\text{g/l}$ ）

	1 W	2 W	4 W	6 W	8 W	付 表
第1濃度区	4.08	3.93	5.04	5.59	5.81	表-4
第2濃度区	0.478	0.474	0.535	0.584	0.602	表-5

10.2 濃縮倍率

濃縮倍率を表－2に示す。

表－2 濃 縮 倍 率

	1 W	2 W	4 W	6 W	8 W	付 表	付 図
第 1 濃度区	137 468	654 720	1470 1440	501 328	711 703	表－8	図－8
第 2 濃度区	364 181	520 404	667 609	407 505	337 438	表－9	図－9

また、表－2の濃縮倍率と飼育期間の関係を図－2，3に示した。被験物質のコイに対する濃縮性の程度は、濃縮倍率で第1濃度区において137倍～1470倍、第2濃度区において181倍～667倍であった。なお、供試魚は外観観察の結果、異状は認められなかった。

11. 備 考

水槽濃度の低下について

試験開始初期において、第1、第2濃度区ともに水槽濃度が設定値の5割以下と著しい低下がみられた。そこで、各流路系での濃度チェックを行ったところ、水槽中において濃度低下が起きていることがわかった。また、供試魚を入れない水槽でのランニング試験を行った結果、設定の9割程度の水槽濃度が得られた。

さらに、試験の進行とともに水槽濃度は上昇し、第1、第2濃度区ともに7割程度まで上昇した。

以上の結果より、水槽濃度の主たる低下の原因は、多数の供試魚の共存による影響（供試魚、排泄物への吸着等）と考えられる。

以 上

参考データ

魚体部位別試験

8週間目の供試魚を2尾ずつ、頭部、外皮、（頭部を除く皮、うろこ、ひれ、消化管、えら）、内臓（消化管以外の臓器）、可食部（上記の部分を除いた残部）に大別し、各重量を測った後分析を行った。分析方法は本試験の分析法に準ずる。

部位別試験結果

		被験物質濃度 ($\mu\text{g/g}$)	濃縮倍率	付 表
第1濃度区	可食部	1.46 (1.96)	251	表-11
		2.45	421	
	頭 部	3.17 (6.40)	546	
		9.62	1660	
	外 皮	1.90 (2.55)	327	
		3.20	551	
	内 臓	2.95 (5.24)	508	
		7.53	1300	
第2濃度区	可食部	0.121 (0.155)	202	表-12
		0.189	315	
	頭 部	0.318 (0.491)	528	
		0.663	1100	
	外 皮	0.140 (0.175)	232	
		0.209	347	
	内 臓	0.183 (0.303)	304	
		0.422	701	

() 内の数字は平均値を表わす。

排泄性試験

8週間の試験終了後、正常水（被験物質及び分散剤を含まない水）による排泄性試験を行った。（試験水槽100ℓ、流量800ml/分）

8週間目の供試魚中の被験物質濃度の平均（2尾）を100として1, 3, 7日目の供試魚中の被験物質の残留率を算出した。

排泄性試験結果

残 留 率 （ % ）

	1 日 目	3 日 目	7 日 目	付 表
第1濃度区	70.7 30.2	37.7 25.6	7.46 95.2	表-13
第2濃度区	24.5 13.3	25.8 35.0	34.8 13.3	表-14