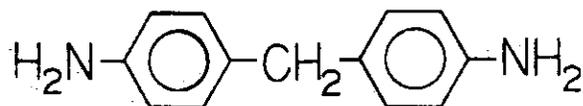


濃縮度試験報告書

1. 試料名 4,4'-ジアミノジフェニルメタン  
(試料No K-584)

構造式



同定 IR スペクトル (図-15 参照)

性状 真珠色葉状晶

融点 91℃ (試薬資料による)

沸点 232℃/9 mmHg (共立出版: 化学大辞典による)

純度 98% 以上 (特級試薬使用)

分配係数 (n-オクタノール/水)  
log Pow = 1.64 (振とう法)

溶解性 対水 1,000 ppm  
対メタノール, エタノール, アセトニトリル,  
アセトン, クロロホルム, ベンゼン  
1000 ppm 以上

2. 試験期間 昭和57年3月19日~昭和57年7月10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 0.29g 塩化第二水銀検定合格魚<sup>\*1</sup>

\*1 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-50)

溶解法 (分散法)

供試物質 1g と HCO-50 10g をメタノールに溶解した後、メタノールを留去する。つぎに脱塩水を加えて全量を 1ℓ に定容し、1,000 ppm (w/v) の分散液を調製した。

(c) 試験温度 25 ± 1℃

(d) 試験結果

48時間 T L m 値: 32.0 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 100L

流 水 量 582L/日

原液<sup>\*2</sup>: 希釈水 = 4ml/分 : 400 ml/分

\*2 3.1(b)で調製した分散液を希釈して原液とした

第1濃度区用原液 20ppm(w/v)

第2濃度区用原液 2ppm(w/v)

(b) 試験魚

コイ 平均体重 23.4g

平均体長 9.9cm

平均脂質含量<sup>\*3</sup> 4.5%

\*3 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10ppm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) 試験温度 25 ± 1℃

(e) 水槽中の溶存酸素量

図-13及び14参照

(f) 水槽濃度

設定理由

精度よく定量できる濃度は0.013ppmである。水分析時の前処理操作において回収率が94.5%であり、予備飼育8日間の結果より水槽濃度の低下を20%と見込み、第2濃度区の水槽濃度0.02ppm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

$$\frac{0.013}{\frac{10}{10} \times \frac{94.5}{100} \times \frac{100-20}{100}} \approx 0.02 \text{ ppm となる}$$

設定値

(単位ppm w/v)

	供試物質	分散剤
		HCO-50
第1濃度区	0.2	2
第2濃度区	0.02	0.2

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	3 W	4 W	6 W
第1濃度区	165	173	180	190
第2濃度区	18.0	18.8	19.5	19.7

### 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-CBC組立
カラム	0.1 m × 8 mm φ, テフロン製
固定相	ラジアルパックA (ODS)
溶離液	0.01M酢酸ナトリウム/メタノール:水=55:45
検出器	UV-VIS分光光度計 243 nm 型-UVIDEC-100

#### (b) 標準溶液の調製法

##### ・ 魚分析

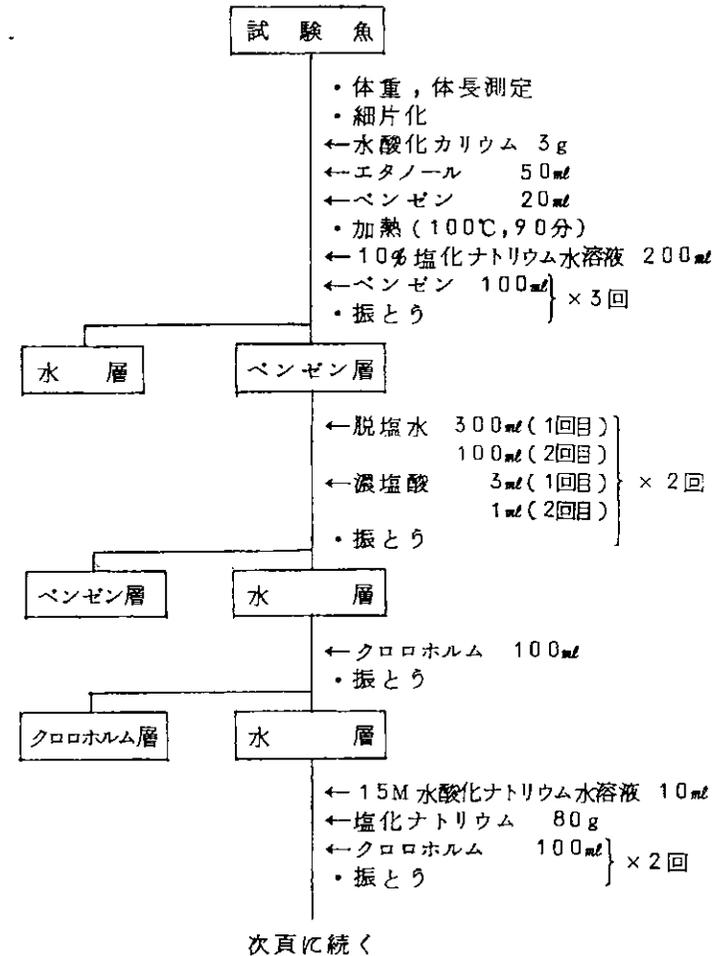
供試物質 0.1gを精秤しメタノールに溶解後、全量を100mlに定容して1000ppm(w/v)の標準液を調製した。これを0.01M酢酸ナトリウム/メタノール:水=90:10で希釈して所定濃度の標準溶液を調製した。

##### ・ 水分析

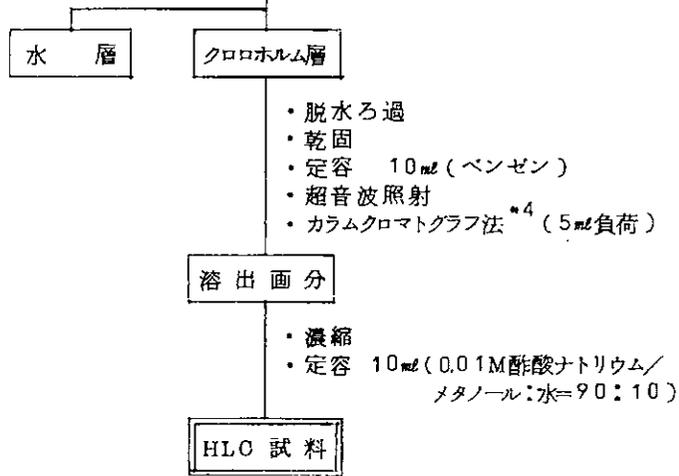
供試物質 0.1gを精秤し、3.1(b)の分散法に従い1000ppm(w/v)の分散液を調製した。これを0.01M酢酸ナトリウム/水で希釈して所定濃度の標準溶液を調製した。

#### (c) 分析試料の前処理

##### (1) 魚体



前頁より続く



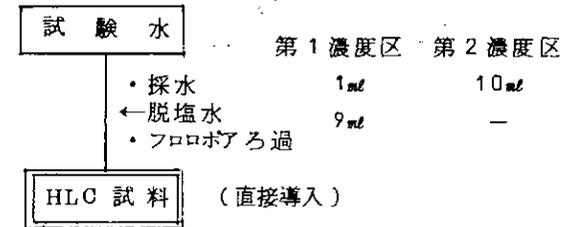
上記操作による回収率 (供試物質 60 μg 添加) 76.1%

\*4 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 5% 含水塩基性アルミナ 10g  
(ウエルム社製)  
(ベンゼンで充てん)
- 分画法: 第1画分 ベンゼン 30ml
- 第2画分 クロロホルム 25ml
- 第3画分 0.01M 酢酸ナトリウム/  
メタノール:水=90:10 30ml

供試物質は第3画分に溶出する

(2) 試験水



上記操作による回収率 (供試物質 0.2 μg 添加)

- 第1区 97.3%
- 第2区 94.5%

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	9.3	(3.0)	12	8.1
	9.3	6.5	14	11
第2濃度区	(15)	3.1以下	(9.7)	(13)
	(7.6)	3.1以下	(15)	(12)

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	1.2 以上	第1区 6.5 以上	$\frac{A}{100} \times \frac{D}{E \times F}$
		第2区 62 以上	
参考値の範囲	0.06 ~ 1.2	第1区 0.3 ~ 6.5	
		第2区 3.1 ~ 62	
検出限界の範囲	0.06 以下	第1区 0.3 以下	$\frac{B}{100} \times \frac{D}{E \times F}$
		第2区 3.1 以下	

A・精度よく定量できる濃度 = 1.4 ppm (図-4 参照)

B・検出限界の濃度 : 0.07 ppm (図-4 参照)

C・回収率 : 76.1%      E・最終液量 : 10ml

D・魚体重 : 30 g      F・分取比 : 2

## 5. 考 察

魚体分析時供試物質ピークの直後に検出されたピークについて第1濃度区、第2濃度区とも魚体分析において供試物質の直後にピークが検出された。これは

- 1) 標準溶液のHLCチャート上にみられないことより供試物質に由来する不純物ではない。
- 2) 回収試験時の魚体ブランク(図-5参照)及び高脂質魚体ブランク(図-17参照)には検出されないことより魚体成分に由来するものではない。

3) 水分析のHLCチャート上にみられないことより、供試物質が水中で変化したものではない。

以上の理由から、供試物質が魚体中で変化したもの(例えば代謝物)と考えられる。

そこで魚体と供試物質の反応をみるため、腹腔内注射により供試物質を直接魚体内に注入し、経過を追跡した。

以下に方法及び結果を述べる。

## 方 法

魚に供試物質を1000 $\mu$ g(5000ppm分散液200 $\mu$ l)腹腔内注射し、止水状態で飼育する。これを24時間後及び48時間後に2尾ずつ魚を取り上げ分析に供した。同時に飼育水の分析も行った。

一方ミンチした魚肉に魚体回収時と同様に供試物質60 $\mu$ gを添加し、2時間及び24時間放置後に分析を行って、魚体成分と供試物質との反応をみた。

## 結 果

問題のピークは腹腔内注射を行った魚及びその飼育水より検出された。(図-18,19参照)一方ミンチした魚肉に供試物質を添加したものからはこのピークは検出されなかった。(図-20参照)

以上のことから、供試物質直後のピークは供試物質が単に魚体成分と反応したものではなく、生体内で変化を受けたものと判断される。またこの変化物のピーク高さは、本試験中常

に供試物質ピークに対して、第1濃度区で半分程度、第2濃度区で2倍以下であることからその魚体中濃度は供試物質と同程度に低いものである。

以 上