

# 最 終 報 告 書

ジイソプロピルナフタレン（被験物質番号 K-14B）のコイにおける濃縮度試験

（試験番号：50014BIV）

化学物質評価研究機構  
残留基準課

## 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 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 ジイソプロピルナフタレン（被験物質番号 K-14B）のコイにおける  
濃縮度試験

試験番号 50014BIV

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。

2003 年 4 月 16 日

試験責任者

[Redacted Signature]

## 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 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 ジイソプロピルナフタレン（被験物質番号 K-14B）のコイにおける濃縮度試験

試験番号 50014BIV

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又は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	2002 年 10 月 25 日	2002 年 10 月 25 日	2002 年 10 月 25 日
	2002 年 11 月 29 日	2002 年 12 月 2 日	2002 年 12 月 2 日
	2002 年 12 月 3 日	2002 年 12 月 4 日	2002 年 12 月 4 日
	2002 年 12 月 24 日	2002 年 12 月 24 日	2002 年 12 月 24 日
	2003 年 1 月 17 日	2003 年 1 月 17 日	2003 年 1 月 17 日
試 験 実 施 状 況	2002 年 10 月 29 日	2002 年 11 月 13 日	2002 年 11 月 13 日
	2002 年 11 月 8 日	2002 年 11 月 13 日	2002 年 11 月 13 日
	2002 年 11 月 11 日	2002 年 11 月 13 日	2002 年 11 月 13 日
	2002 年 11 月 12 日	2002 年 11 月 13 日	2002 年 11 月 13 日
	2002 年 11 月 12 日	2002 年 12 月 6 日	2002 年 12 月 6 日
	2002 年 11 月 13 日	2002 年 12 月 6 日	2002 年 12 月 6 日
	2002 年 11 月 25 日	2002 年 12 月 6 日	2002 年 12 月 6 日
	2002 年 12 月 5 日	2002 年 12 月 6 日	2002 年 12 月 6 日
	2003 年 1 月 14 日	2003 年 1 月 20 日	2003 年 1 月 20 日
	2003 年 1 月 17 日	2003 年 1 月 20 日	2003 年 1 月 20 日
生データ及び最終報告書	2003 年 4 月 16 日	2003 年 4 月 16 日	2003 年 4 月 16 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。

2003 年 4 月 16 日

信頼性保証部門責任者



## 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 GLP .....	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 .....	5
2. 急性毒性試験 .....	7
3. 濃縮度試験の実施 .....	10
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 .....	26
5. 試験結果 .....	26
6. 考 察 .....	37
7. 備 考 .....	39

## Tables

Table-1	試験水中の被験物質濃度 [本文中記載]
Table-2	濃縮倍率 [本文中記載]
Table-3	平均脂質含量で補正した濃縮倍率 [本文中記載]
Table-4	定常状態における試験水中の被験物質濃度 [本文中記載]
Table-5	排泄試験における残留率 [本文中記載]
Table-6	各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率 [本文中記載]
Table-7	脂質含量 [本文中記載]
Table-8	回収試験及びブランク試験（試験水分析）計算表
Table-9	第1濃度区試験水分析計算表
Table-10	第2濃度区試験水分析計算表
Table-11	回収試験及びブランク試験（供試魚分析）計算表
Table-12	第1濃度区供試魚分析計算表
Table-13	第2濃度区供試魚分析計算表
Table-14	平均脂質含量で補正した供試魚分析計算表（第2濃度区）
Table-15	排泄試験供試魚分析計算表（第1濃度区）
Table-16	排泄試験供試魚分析計算表（第2濃度区）
Table-17	対照区供試魚分析計算表
Table-18	部位別試験供試魚分析計算表（第1濃度区）
Table-19	部位別試験供試魚分析計算表（第2濃度区）
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           検量線  
Fig. 5           回収試験及びブランク試験（試験水分析）GC-MSマスフラグメントグラム  
Fig. 6           試験水分析GC-MSマスフラグメントグラム  
Fig. 7           回収試験及びブランク試験（供試魚分析）GC-MSマスフラグメントグラム  
Fig. 8           第1濃度区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム  
Fig. 9           第2濃度区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム  
Fig. 10          排泄試験供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム（第1濃度区）  
Fig. 11          排泄試験供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム（第2濃度区）  
Fig. 12          排泄曲線（第1濃度区）  
Fig. 13          排泄曲線（第2濃度区）  
Fig. 14          対照区供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム  
Fig. 15          部位別試験供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム（第1濃度区）  
Fig. 16          部位別試験供試魚分析GC-MSマスフラグメントグラム（第2濃度区）  
Fig. 17          第1濃度区試験水中の溶存酸素濃度  
Fig. 18          第2濃度区試験水中の溶存酸素濃度  
Fig. 19          対照区試験水中の溶存酸素濃度  
Fig. 20-1        被験物質の赤外吸収スペクトル（実験開始前）  
Fig. 20-2        被験物質の赤外吸収スペクトル（実験終了後）  
Fig. 21          被験物質の質量スペクトル  
Fig. 22          被験物質の核磁気共鳴スペクトル

表 題 ジイソプロピルナフタレン（被験物質番号 K-14B）のコイにおける濃縮度試験

試験委託者 新エネルギー・産業技術総合開発機構  
（〒170-6028）東京都豊島区東池袋三丁目1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 K-14B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 GLP (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	2002年10月25日
実験開始日	2002年11月11日
実験終了日	2003年 1月20日
試験終了日	2003年 4月16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  
試料保管室に保管する。

## (2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、試験依頼書、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 試験第一課

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

2003年4月16日

試験責任者

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



## 要 約

## 試験の表題

ジイソプロピルナフタレン（被験物質番号 K-14B）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 5 $\mu$ g/L<br>第2濃度区 0.5 $\mu$ g/L |
| (3) ばく露期間 | 60日間                                     |
| (4) ばく露方法 | 連続流水式                                    |
| (5) 分析方法  | ガスクロマトグラフィー質量分析法                         |

## 試験結果

- |                  |   |       |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|------------------|---|-------|------|-------|--|------|-------|--|------|-------|--|------|-------|--|------|-------|--|------|-------|--|------|-------|-------|------|-------|--|------|-------|--|------|-------|
| (1) 96時間LC50値    | 2.44mg/L  |       |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
| (2) 定常状態における濃縮倍率 | <table border="0"> <tr> <td>第1濃度区</td> <td>ピークA</td> <td>6100倍</td> </tr> <tr> <td></td> <td>ピークB</td> <td>2200倍</td> </tr> <tr> <td></td> <td>ピークC</td> <td>3600倍</td> </tr> <tr> <td></td> <td>ピークD</td> <td>1800倍</td> </tr> <tr> <td></td> <td>ピークE</td> <td>2600倍</td> </tr> <tr> <td></td> <td>ピークF</td> <td>6400倍</td> </tr> <tr> <td></td> <td>ピークG</td> <td>3000倍</td> </tr> <tr> <td>第2濃度区</td> <td>ピークA</td> <td>2400倍</td> </tr> <tr> <td></td> <td>ピークB</td> <td>1100倍</td> </tr> <tr> <td></td> <td>ピークC</td> <td>1200倍</td> </tr> </table> | 第1濃度区 | ピークA | 6100倍 |  | ピークB | 2200倍 |  | ピークC | 3600倍 |  | ピークD | 1800倍 |  | ピークE | 2600倍 |  | ピークF | 6400倍 |  | ピークG | 3000倍 | 第2濃度区 | ピークA | 2400倍 |  | ピークB | 1100倍 |  | ピークC | 1200倍 |
| 第1濃度区            | ピークA  | 6100倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|                  | ピークB  | 2200倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|                  | ピークC  | 3600倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|                  | ピークD  | 1800倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|                  | ピークE  | 2600倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|                  | ピークF  | 6400倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|                  | ピークG  | 3000倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
| 第2濃度区            | ピークA  | 2400倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|                  | ピークB  | 1100倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |
|                  | ピークC  | 1200倍 |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |  |      |       |       |      |       |  |      |       |  |      |       |

		ピークD	770倍
		ピークE	940倍
		ピークF	2200倍
(3) 濃縮倍率	第2濃度区	ピークG	1300倍～3600倍
(4) 排泄半減期	第1濃度区	ピークA	3.9日
		ピークB	1.9日
		ピークC	2.3日
		ピークD	2.0日
		ピークE	2.0日
		ピークF	3.2日
		ピークG	5.0日
	第2濃度区	ピークA	1.7日
		ピークB	1.6日
		ピークC	1.8日
		ピークD	1.8日
		ピークE	1.7日
		ピークF	1.9日
		ピークG	1.8日
(5) 各部位における濃縮倍率	Table-6参照 (33～36頁)		

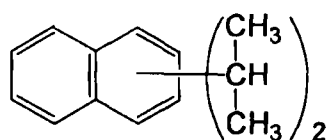
## 1. 被 験 物 質

本報告書においてK-14Bは、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称        ジイソプロピルナフタレン

1.2 構造式等

構造式



分子式        C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>

分子量        212.33

CAS No.       38640-62-9

## 1.3 提供者、商品名及びロット番号\*1

(1) 提 供 者

(製造者 : )

(2) 商 品 名

(3) ロット番号       124054

\*1 提供者添付資料による。

#### 1.4 純 度

- |             |                             |
|-------------|-----------------------------|
| (1) 被 験 物 質 | 99.26% (GCによる)              |
| (2) 不 純 物   | トリイソプロピルナフタレン 0.43% (GCによる) |
|             | その他 0.29% (GCによる)           |

被験物質は純度100%として取り扱った。

#### 1.5 被験物質の確認

赤外吸収スペクトル (Fig. 20参照)、質量スペクトル (Fig. 21参照) 及び核磁気共鳴スペクトル (Fig. 22参照) により構造を確認した。

#### 1.6 保管条件及び保管条件下での安定性

- |             |   |
|-------------|---|
| (1) 保 管 条 件 | 冷暗所保存   |
| (2) 安定性確認   | 実験開始前及び終了後に被験物質の赤外吸収スペクトルを測定した結果、両スペクトルは一致し、保管条件下で安定であることを確認した (Fig. 20参照)。 |

#### 1.7 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><br>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           | 中島養魚場<br>(住所 〒 869-0123 熊本県玉名郡長洲町大字長洲 2029)  |
| (3) 畜養条件<br>期間等   | 魚の入手時に目視観察をして異常のあるものを除去し、蓄養槽で病気予防及び寄生虫駆除の薬浴を行った後、流水状態で39日間飼育した。                                      |
| 薬 浴               | 病気予防としてエルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。寄生虫駆除としてホルマリン30μL/Lの24時間薬浴を2回実施した。                     |
| (4) じゅん化条件<br>期間等 | 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±2℃の水温の流水状態で13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18日間飼育した。 |
| 薬 浴               | じゅん化水槽ではエルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。再選別後、エルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。          |
| (5) 体 重           | 平均 0.31g   |
| (6) 全 長           | 平均 3.2cm   |
| (7) 感受性試験         | 同一ロット（TF0-020919）の供試魚による基準物質PCP-Na〔ペンタクロ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0.621mg/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2002年11月1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   | ガラス製ガロンびん                           |
| (2) 試験液量   | 3.85L×2/濃度区                         |
| (3) 試験温度   | ばく露開始時 23.9～24.0℃<br>換水前 24.3～24.4℃ |
| (4) 溶存酸素濃度 | ばく露開始時 8.1mg/L<br>換水前 6.7～7.5mg/L   |
| (5) pH     | ばく露開始時 7.6～7.9<br>換水前 7.5～7.7       |
| (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

### (1) 分散剤

Tween-80

### (2) 調製方法

被験物質とその10倍量のTween-80を練り合わせ、イオン交換水に溶解して被験物質濃度として1000mg/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 2002年10月28日 ～ 2002年11月 1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 2.44mg/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)<br>供試魚受入日 2002年 8月29日  |
| (3) 畜      | 養 | 条 件   |
|            | 期 | 間 等   |
|            |   | 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>受入槽で病気予防及び寄生虫駆除の薬浴を行った後、<br>流水状態で10日間飼育した。   |
|            | 薬 | 浴   |
|            |   | 病気予防としてエルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム7g/L<br>の混合薬浴を24時間実施した。寄生虫駆除としてホルマ<br>リン30μL/Lの24時間薬浴を2回実施した。                                  |
| (4) じゅん化条件 |   |   |
|            | 期 | 間 等   |
|            |   | 蓄養後、じゅん化水槽へ搬入し、再度薬浴した後、じゅん化<br>を行った。その間異常のあるものは除去し、25±2℃の水温<br>の流水状態で34日間飼育した。さらに試験水槽へ移し、<br>薬浴後、同温度の流水状態で24日間飼育した。       |
|            | 薬 | 浴   |
|            |   | じゅん化水槽ではエルバージュ20mg/Lと塩化ナトリウム<br>7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。試験水槽では水産用<br>OTC (塩酸オキシテトラサイクリン) 50mg/Lと塩化ナトリウ<br>ム7g/Lの混合薬浴を24時間実施した。 |
| (5) 全      | 長 | 6.3～10.3cm  |
| (6) ロ      | ッ | ト   |
|            |   | TFC-020829-II   |
| (7) 年      | 齢 | 当才魚   |
| (8) 餌      | 料 |   |
|            | 種 | 類   |
|            | 組 | 成   |
|            |   | コイ稚魚育成用配合飼料<br>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    |   |
| ばく露期間       | 100L容ガラス製揮発性物質用試験水槽                           |
| 排泄期間        | 100L容ガラス製水槽                                   |
| (3) 試験水量    |   |
| ばく露期間       | 原液0.04mL/分及び試験用水1600mL/分の割合で2304L/日を試験水槽に供した。 |
|             | 試験用水1600mL/分の割合で2304L/日を試験水槽に供した。             |
| (4) 原液タンク   | 1L容ガラス製褐色びん                                   |
|             | 交換頻度 1回程度/週                                   |
| (5) 試験温度    | 第1濃度区 24.8～25.3℃                              |
|             | 第2濃度区 24.8～25.5℃                              |
|             | 対照区 25.0～25.6℃                                |
| (6) 溶存酸素濃度  | 第1濃度区 7.2～8.1mg/L (Fig.17参照)                  |
|             | 第2濃度区 7.1～8.1mg/L (Fig.18参照)                  |
|             | 対照区 7.4～8.1mg/L (Fig.19参照)                    |
| (7) pH      | 第1濃度区 7.7～8.1                                 |
|             | 第2濃度区 7.8～8.1                                 |
|             | 対照区 7.8～8.1                                   |
| (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 46尾 (ばく露開始時)                        |
|             | 対照区 12尾 (ばく露開始時)                              |
| (10) ばく露期間  | 第1濃度区 60日間                                    |
|             | 理由：60日間で定常状態に達したため。                           |
|             | 第2濃度区 60日間                                    |
|             | 理由：60日間で上昇傾向は認められなかったため。                      |
| (11) 排泄期間   | 第1濃度区 6日間                                     |
|             | 第2濃度区 4日間                                     |
|             | 理由：排泄半減期が得られたため。                              |
| (12) 実施場所   | 213アクアトロン室                                    |

### 3.4 原液調製法

#### (1) 分散剤

ジメチルスルホキシド

#### (2) 調製方法

##### ・第1濃度区

被験物質をジメチルスルホキシドに溶解し10.0g/Lの被験物質溶液を調製し、これをジメチルスルホキシドで希釈し被験物質濃度として200mg/Lの原液を調製した。

##### ・第2濃度区

被験物質をジメチルスルホキシドに溶解し10.0g/Lの被験物質溶液を調製し、これをジメチルスルホキシドで希釈し被験物質濃度として20.0mg/Lの原液を調製した。

##### ・対照区

ジメチルスルホキシドを原液とした。

### 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      5 µg/L

第2濃度区      0.5µg/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

試験水及び供試魚中の被験物質分析はガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）により行った。

被験物質をガスクロマトグラフィーで分析したところ、16本のピークが検出された。各々のピークについてガスクロマトグラフィー質量分析法で分析したところ、分子イオン及びフラグメントイオンの質量数より、主要な7本のピークが被験物質の異性体であると同定された。そこで、被験物質のピーク7本について定量を行った。ただし、各ピークの濃度は、成分組成を考慮せず、3.7.3(2) 標準溶液の調製で示す被験物質濃度として表示した。各ピークは溶出順にピークA～ピークGとした。

#### 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回当たりの分析試料は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6回行い、1回当たりの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)\*<sup>2</sup>に分けて行った。

また、濃縮倍率が1000倍を越えたため、部位別試験及び排泄試験を行った。ただし、部位別試験においては供試魚前処理フロースキーム中の微細化、脂質含量測定用試料の分取、分析試料の分取は行わなかった。供試魚分析は排泄期間中に4回行い、1回当たりの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)に分けて行った。

対照区は実験開始前及び終了後に行い、1回当たりの採取尾数は4尾とし、2群(2尾1群)に分けて分析した。さらに、脂質測定用として2尾を追加で取り上げ、3群(2尾1群)とした。

\*2 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

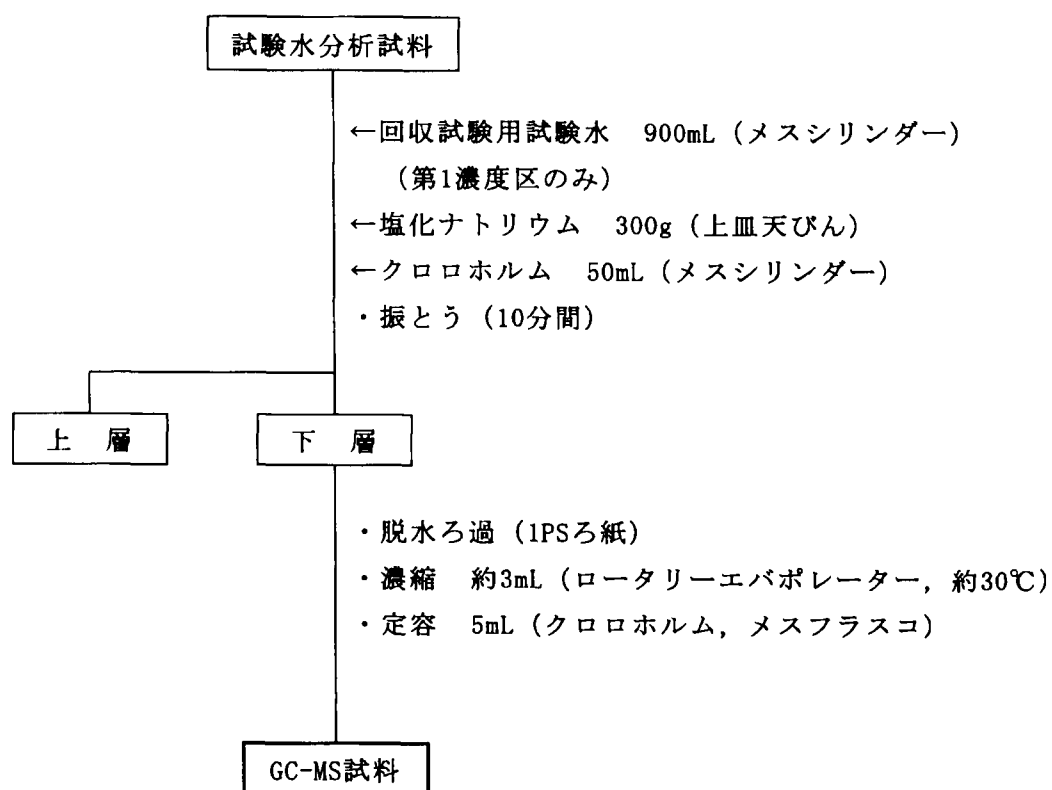
試験水槽から

第1濃度区 100mL

第2濃度区 1000mL

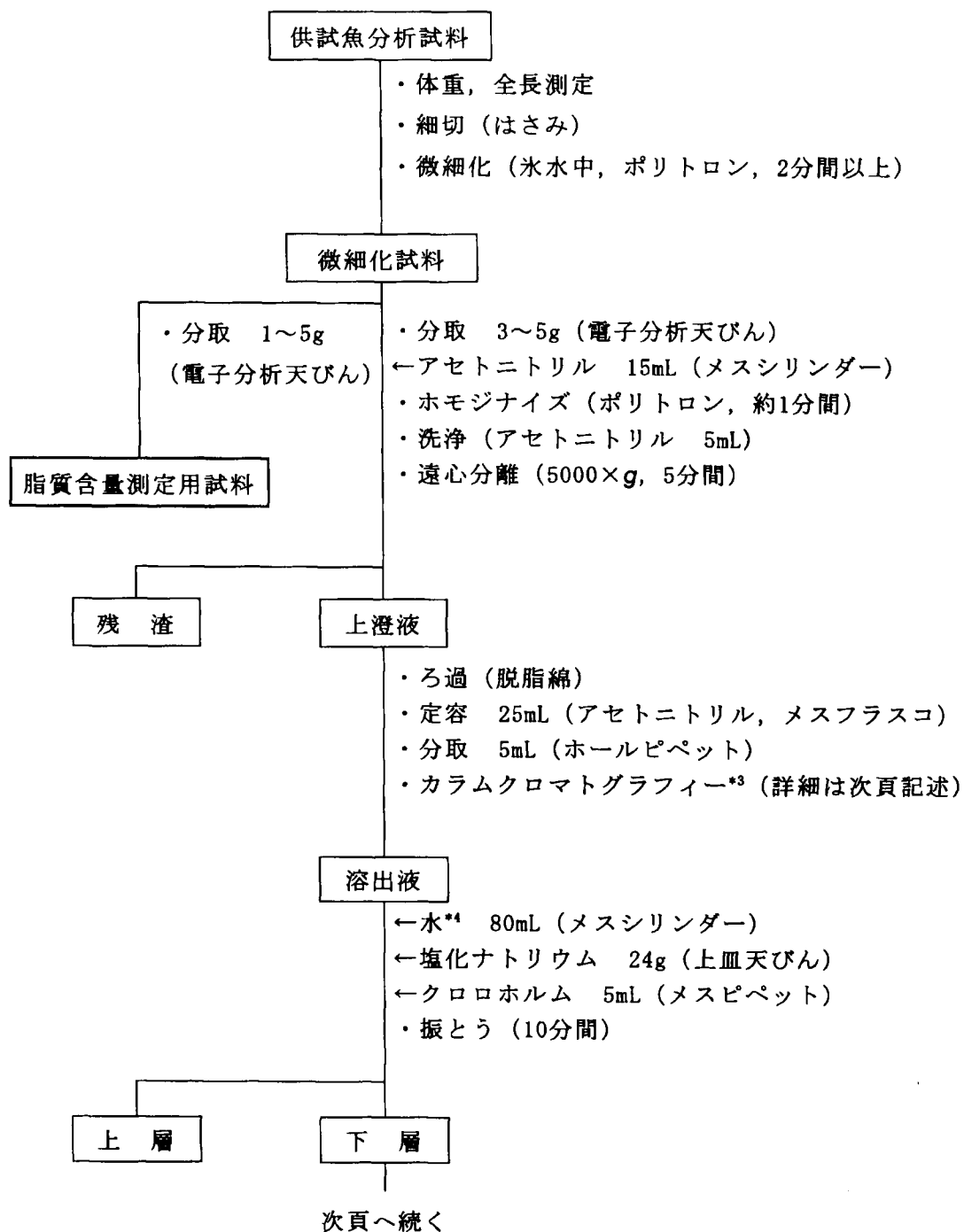
を採取し、以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）試料とした。

フロースキーム



## (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、ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）試料とした。



前頁より続く

- ・脱水ろ過（1PSろ紙）
- ・定容 10mL（クロロホルム，メスフラスコ）

GC-MS試料

\*3 カラムクロマトグラフの条件

セップパック アルミナB

（洗浄法：アセトニトリル 10mL）

負荷法 全量負荷

溶出法 溶出液 アセトニトリル 5mL

負荷分及び溶出液を分析に供した。

\*4 水道水を超純水装置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

前処理を行って得られたGC-MS試料について、下記の定量条件に基づきガスクロマトグラフィー質量分析法により被験物質を分析した。なお、供試魚分析において被験物質濃度が検量線の範囲を越えた場合は、その範囲にはいるように希釈し分析した。GC-MS試料中の被験物質濃度は、標準溶液及びGC-MS試料のマスフラグメントグラム上で得られたピーク高さを比較し、比例計算して求めた (Table-9, 10、Fig.6、Table-12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19、Fig.8, 9, 10, 11, 14, 15, 16参照)。

#### (1) 定量条件

機	器	ガスクロマトグラフー質量分析計
		島津製作所製 QP-5000

#### ガスクロマトグラフ条件

カラム	DB-17 膜厚0.5 $\mu$ m Agilent Technologies社製 30m $\times$ 0.32mmI.D. フューズドシリカ製
カラム温度	70 $^{\circ}$ C (1min) $\rightarrow$ 220 $^{\circ}$ C (4min) (昇温速度 50 $^{\circ}$ C/min)
キャリアガス	ヘリウム
全流量	30mL/min
カラムヘッド圧	40kPa
パージ流量	3mL/min
注入口温度	250 $^{\circ}$ C
注入量	1 $\mu$ L
注入法	スプリットレス注入法
サンプリング時間	1min
インターフェース温度	250 $^{\circ}$ C

#### 質量分析条件

イオン化法	電子衝撃法(EI)
検出イオン	正イオン
検出法	選択イオンモニタリング(SIM)
測定イオン(m/z)	197
イオン化エネルギー	70eV

(2) 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、クロロホルムに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをクロロホルムで希釈して100 $\mu$ g/L標準溶液とした。

(3) 検量線の作成

(2)の標準溶液の調製と同様にして50.0、100及び200 $\mu$ g/Lの標準溶液を調製した。これらを(1)の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのマスフラグメントグラム上のピーク高さと濃度により検量線を作成した。

ピーク高さの定量下限は、ノイズレベルを考慮して45（被験物質濃度 ピークA 4.2 $\mu$ g/L, ピークB 3.4 $\mu$ g/L, ピークC 4.5 $\mu$ g/L, ピークD 3.3 $\mu$ g/L, ピークE 4.5 $\mu$ g/L, ピークF 3.8 $\mu$ g/L, ピークG 12 $\mu$ g/L）とした（Fig.4参照）。



## 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、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なかった。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-8, 11、Fig.5, 7 参照）。

## 分析操作における回収率

## 試験水分析（被験物質500ng添加）

ピークA	91.0%,	89.2%	平均	90.1%
ピークB	94.1%,	89.8%	平均	91.9%
ピークC	95.8%,	91.9%	平均	93.8%
ピークD	95.0%,	93.2%	平均	94.1%
ピークE	91.2%,	87.7%	平均	89.5%
ピークF	98.6%,	96.2%	平均	97.4%
ピークG	92.9%,	89.8%	平均	91.4%

## 供試魚分析（被験物質10000ng添加）

ピークA	78.8%,	75.0%	平均	76.9%
ピークB	79.6%,	77.6%	平均	78.6%
ピークC	74.0%,	73.9%	平均	74.0%
ピークD	75.8%,	75.5%	平均	75.6%
ピークE	76.5%,	75.2%	平均	75.8%
ピークF	78.3%,	76.8%	平均	77.6%
ピークG	72.2%,	71.7%	平均	72.0%

### 3.7.5 供試魚中の脂質含量

対照区の供試魚微細化試料を用いて、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。

また、第1及び第2濃度区の供試魚微細化試料を用いて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-9, 10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(3)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\*<sup>5</sup>はそれぞれ、

第1濃度区	ピークA	0.23 µg/L
	ピークB	0.19 µg/L
	ピークC	0.24 µg/L
	ピークD	0.18 µg/L
	ピークE	0.25 µg/L
	ピークF	0.19 µg/L
	ピークG	0.64 µg/L

第2濃度区	ピークA	0.023µg/L
	ピークB	0.019µg/L
	ピークC	0.024µg/L
	ピークD	0.018µg/L
	ピークE	0.025µg/L
	ピークF	0.019µg/L
	ピークG	0.064µg/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-12, 13, 14, 15, 16, 17, 18及び19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(3)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\*5は供試魚微細化試料を5gとしたとき

ピークA	54ng/g
ピークB	43ng/g
ピークC	61ng/g
ピークD	44ng/g
ピークE	59ng/g
ピークF	49ng/g
ピークG	160ng/g

と算出される。

$$*5 \text{ 被験物質定量下限濃度 (}\mu\text{g/L又はng/g)} = \frac{A}{\frac{B}{100} \times \frac{C \times E}{D}}$$

A : 検量線上定量下限濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )

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 ( $\mu\text{g/L}$ )

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 ( $\mu\text{g/L}$ )

$C_w(n)$  : n回目の試験水中被験物質濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )

## 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 ( $\mu\text{g/L}$ )

$C_w(n)$  : 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 ( $\mu\text{g/L}$ )

## (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 (FBを差し引いた値) ( $\text{ng/g}$ )

$\overline{C_w}$  : 濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )

FB : 対照区における実験開始前及び終了後の供試魚中の被験物質又は被験物質の見掛 (ブランク) 濃度の平均値 ( $\text{ng/g}$ )

## (3) 平均脂質含量当たりの濃縮倍率の算出

$$BCF_L = \frac{BCF}{L} \times L_{ave}$$

$BCF_L$  : 平均脂質含量当たりの濃縮倍率

BCF : 濃縮倍率

L : 脂質含量 (%)

$L_{ave}$  : 平均脂質含量 (%)

## (4) m回目の濃縮倍率の平均値

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

又は、

$$BCF_{Lm} = (BCF_{La} + BCF_{Lb}) / n$$

$BCF_m$  : m回目の濃縮倍率の平均値 (群数2(a, b))

$BCF_{Lm}$  : m回目の濃縮倍率の平均値 (群数2(a, b))  
(脂質含量で補正)

$BCF_{a, b}$  : m回目における各群の濃縮倍率

$BCF_{La, b}$  : m回目における各群の濃縮倍率  
(脂質含量で補正)

$n$  : m回目に分析した群数

## 3.7.9 定常状態に達したことの確認方法

定常状態に達したことの判断は、48時間以上の測定間隔で連続した3回の測定における濃縮倍率の変動が20%以内とする。

定常状態に達したことの判定基準： $V(m-2)$ ,  $V(m-1)$ ,  $V(m) \leq 20 (\%)$

$$V(m-2) = \frac{|BCF(m-2) - \overline{BCF}|}{\overline{BCF}} \times 100$$

$$V(m-1) = \frac{|BCF(m-1) - \overline{BCF}|}{\overline{BCF}} \times 100$$

$$V(m) = \frac{|BCF(m) - \overline{BCF}|}{\overline{BCF}} \times 100$$

$V(m-2)$ ,  $V(m-1)$ ,  $V(m)$  : 濃縮倍率の平均値からの乖離率(%)

$BCF(m-2)$ ,  $BCF(m-1)$ ,  $BCF(m)$  :  $m-2$ ,  $m-1$ ,  $m$ 回目における群数 $n$ の濃縮倍率の平均値

$\overline{BCF}$  :  $\{BCF(m-2) + BCF(m-1) + BCF(m)\} / 3$

3.7.10 定常状態における濃縮倍率（BCF<sub>ss</sub>）の算出法

定常状態における濃縮倍率（BCF<sub>ss</sub>）は、次の式により算出した。

## (1) 定常状態における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

$$\overline{C_{ws}} = \{C_w(n-2) + C_w(n-1) + C_w(n)\} / 3$$

$\overline{C_{ws}}$  : 定常状態における濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度（原則として最後の供試魚分析までの3回の連続した試験水中の平均被験物質濃度）（μg/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（μg/L）

## (2) 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度の算出

$$\overline{C_{fs}} = \{C_f(m-2) + C_f(m-1) + C_f(m)\} / 3$$

$\overline{C_{fs}}$  : 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度（ng/g）

$C_f(m)$  : m回目の供試魚中平均被験物質濃度（FBを差し引いた値）（ng/g）

FB : 対照区における実験開始前及び終了後の供試魚中の被験物質又は被験物質の見掛（ブランク）濃度の平均値（ng/g）

## (3) 定常状態における濃縮倍率の算出

$$BCF_{ss} = \overline{C_{fs}} / \overline{C_{ws}}$$

$BCF_{ss}$  : 定常状態における濃縮倍率

$\overline{C_{fs}}$  : 定常状態における供試魚中の平均被験物質濃度（ng/g）

$\overline{C_{ws}}$  : 定常状態における濃縮倍率算出のための試験水中平均被験物質濃度（μg/L）

## 3.7.11 算出可能な濃縮倍率

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	ピークA	11 倍
	ピークB	9.2倍
	ピークC	13 倍
	ピークD	9.2倍
	ピークE	12 倍
	ピークF	11 倍
	ピークG	34 倍
第2濃度区	ピークA	110 倍
	ピークB	93 倍
	ピークC	130 倍
	ピークD	95 倍
	ピークE	120 倍
	ピークF	110 倍
	ピークG	340 倍

## 3.7.12 脂質含量の算出法

脂質含量は次式により求めた。

$$\text{脂質含量 (\%)} = \frac{T - T_0}{S} \times 100$$

$T_0$  : 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、設定値の約80%以上が保持された。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 $\mu\text{g/L}$ )											
濃度区	ピーク	1日後	7日後	14日後	21日後	35日後	46日後	60日後	平均 (標準偏差)	Table	Fig.
1	A	5.13	4.70	4.84	4.70	4.79	4.88	5.02	4.86 (0.162)	9-1	6
	B	4.90	4.52	4.62	4.52	4.66	4.95	4.95	4.73 (0.195)	9-2	
	C	5.13	4.57	4.64	4.55	4.75	4.83	4.83	4.76 (0.202)	9-3	
	D	4.96	4.68	4.90	4.77	4.55	4.90	4.93	4.81 (0.152)	9-4	
	E	5.19	4.48	4.87	4.78	4.99	5.12	4.98	4.92 (0.236)	9-5	
	F	4.48	4.21	4.70	4.57	4.43	5.01	4.92	4.62 (0.281)	9-6	
	G	5.07	4.71	4.80	4.64	4.77	4.72	4.81	4.79 (0.136)	9-7	
2	A	0.513	0.485	0.455	0.477	0.474	0.473	0.489	0.481 (0.0178)	10-1	
	B	0.490	0.457	0.461	0.454	0.458	0.465	0.487	0.467 (0.0150)	10-2	
	C	0.516	0.447	0.439	0.453	0.481	0.436	0.466	0.463 (0.0284)	10-3	
	D	0.501	0.472	0.438	0.449	0.455	0.446	0.491	0.465 (0.0242)	10-4	
	E	0.519	0.444	0.469	0.489	0.492	0.467	0.498	0.483 (0.0245)	10-5	
	F	0.472	0.432	0.415	0.455	0.443	0.450	0.494	0.452 (0.0259)	10-6	
	G	0.501	0.463	0.467	0.473	0.489	0.468	0.495	0.479 (0.0155)	10-7	



## 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	ピークA	3200～7000倍
	ピークB	1400～3000倍
	ピークC	1500～4100倍
	ピークD	860～2600倍
	ピークE	1200～3200倍
	ピークF	3500～7800倍
	ピークG	1400～4000倍

第2濃度区	ピークA	1300～3500倍
	ピークB	830～1500倍
	ピークC	1000～1900倍
	ピークD	570～1000倍
	ピークE	680～1400倍
	ピークF	1800～3700倍
	ピークG	1300～3600倍

であった。

Table-2 濃縮倍率

( ) 内は平均値

濃度区	ピーク	7日後	14日後	21日後	35日後	46日後	60日後	Table	Fig.
1	A	3200 3700 (3400)	4000 4700 (4400)	5700 7000 (6400)	6300 6400 (6300)	6800 5100 (6000)	5800 6800 (6300)	12-1	8
	B	2100 1400 (1700)	1500 1700 (1600)	2700 1900 (2300)	3000 2400 (2700)	2400 1800 (2100)	2100 2000 (2100)	12-2	
	C	2300 1500 (1900)	2500 2000 (2200)	4000 3500 (3800)	4100 4000 (4000)	4000 2500 (3200)	3800 3500 (3700)	12-3	
	D	1600 860 (1200)	1100 910 (1000)	2400 1600 (2000)	2600 1800 (2200)	1900 1200 (1500)	1900 1700 (1800)	12-4	
	E	2100 1200 (1700)	1900 1600 (1800)	3100 2300 (2700)	3200 2900 (3100)	2800 1900 (2400)	2600 2300 (2500)	12-5	
	F	4700 3500 (4100)	4700 4600 (4600)	7700 5700 (6700)	7100 6800 (7000)	7800 5600 (6700)	6500 5900 (6200)	12-6	
	G	2300 1900 (2100)	1400 2700 (2100)	4000 1500 (2700)	3600 3500 (3500)	3300 3000 (3200)	2500 2400 (2500)	12-7	
2	A	1400 1700 (1500)	1300 2200 (1700)	3500 2200 (2800)	2000 1800 (1900)	2200 2400 (2300)	2800 3200 (3000)	13-1	9
	B	830 1100 (970)	910 1500 (1200)	1400 1500 (1500)	1000 1100 (1100)	1400 1000 (1200)	1100 1200 (1200)	13-2	
	C	1000 1300 (1200)	1300 1900 (1600)	1600 1700 (1600)	1100 1200 (1100)	1600 1000 (1300)	1200 1200 (1200)	13-3	
	D	600 780 (690)	860 1000 (950)	880 970 (920)	880 850 (870)	880 570 (720)	790 740 (770)	13-4	
	E	890 1100 (1000)	950 1400 (1200)	1100 1400 (1300)	930 980 (950)	1200 680 (950)	910 960 (940)	13-5	
	F	2000 2500 (2300)	2100 3700 (2900)	2900 3600 (3300)	2000 2400 (2200)	3000 1800 (2400)	2200 2400 (2300)	13-6	
	G	1700 2100 (1900)	1300 3000 (2100)	1400 2100 (1700)	1600 2200 (1900)	3600 1500 (2500)	1500 1700 (1600)	13-7	

第2濃度区のピークA及びGについて上記の濃縮倍率からは定常状態が確認できなかったため、上記の各濃縮倍率を3.7.8(3)の式を用いて平均脂質含量4.19%(Table-7参照)に対する濃縮倍率に換算してTable-3に示した。

Table-3 平均脂質含量で補正した濃縮倍率

( ) 内は平均値

濃度区	ピーク	35日後	46日後	60日後	Table	Fig.
2	A	2500	1800	2400	14-1	9
		1800	3100	2800		
		(2200)	(2500)	(2600)		
	G	2100	3000	1300	14-2	
		2200	1900	1500		
		(2100)	(2500)	(1400)		

## 5.3 定常状態における濃縮倍率

## ・第1濃度区及び第2濃度区ピークB～F

5.2の結果から、35、46及び60日後における濃縮倍率（平均）はその3回の分析における濃縮倍率の平均値に対して変動が20%以内であったため、定常状態に達していると判断した。それらの結果を用いて、定常状態における濃縮倍率を算出した。

## ・第2濃度区ピークA

5.2の結果から、最後の連続した3回の分析における濃縮倍率（平均）は変動が20%を越えた。そこで、平均脂質含量に対する濃縮倍率に換算した(Table-3参照)。

その結果、35、46及び60日後において、濃縮倍率（平均）はその3回の分析における濃縮倍率の平均値に対して変動が20%以内であったため、定常状態に達していると判断した。そこで換算前の35、46及び60日後の値を用いて、定常状態における濃縮倍率を算出した。

## ・第2濃度区ピークG

5.2の結果から、最後の連続した3回の分析における濃縮倍率（平均）は変動が20%を越えた。そこで、平均脂質含量に対する濃縮倍率に換算した(Table-3参照)。

その結果、35、46及び60日後における濃縮倍率（平均）はその3回の分析における濃縮倍率の平均値に対して変動が20%を越えたため、定常状態における濃縮倍率は算出できなかった。

## (1) 定常状態における試験水中の被験物質濃度

定常状態における試験水中の平均被験物質濃度はTable-4に示されるように、設定値の

第1濃度区	ピークA	98%
	ピークB	97%
	ピークC	96%
	ピークD	96%
	ピークE	101%
	ピークF	96%
	ピークG	95%

第2濃度区	ピークA	96%
	ピークB	94%
	ピークC	92%
	ピークD	93%
	ピークE	97%
	ピークF	92%

であった。

Table-4 定常状態における試験水中の被験物質濃度

(単位  $\mu\text{g/L}$ )

濃度区	ピーク	35日後	46日後	60日後	平均	Table	Fig.
1	A	4.79	4.88	5.02	4.90	9-1, 12-1	6
	B	4.66	4.95	4.95	4.85	9-2, 12-2	
	C	4.75	4.83	4.83	4.81	9-3, 12-3	
	D	4.55	4.90	4.93	4.79	9-4, 12-4	
	E	4.99	5.12	4.98	5.03	9-5, 12-5	
	F	4.43	5.01	4.92	4.79	9-6, 12-6	
	G	4.77	4.72	4.81	4.77	9-7, 12-7	
2	A	0.474	0.473	0.489	0.479	10-1, 13-1	
	B	0.458	0.465	0.487	0.470	10-2, 13-2	
	C	0.481	0.436	0.466	0.461	10-3, 13-3	
	D	0.455	0.446	0.491	0.464	10-4, 13-4	
	E	0.492	0.467	0.498	0.486	10-5, 13-5	
	F	0.443	0.450	0.494	0.462	10-6, 13-6	

## (2) 定常状態における濃縮倍率

定常状態における濃縮倍率は以下のとおりであった。

第1濃度区	ピークA	6100倍
	ピークB	2200倍
	ピークC	3600倍
	ピークD	1800倍
	ピークE	2600倍
	ピークF	6400倍
	ピークG	3000倍

第2濃度区	ピークA	2400倍
	ピークB	1100倍
	ピークC	1200倍
	ピークD	770倍
	ピークE	940倍
	ピークF	2200倍

## 5.4 排泄試験

64日間ばく露した供試魚を試験用水（被験物質及び分散剤を含まない水）に移し、供試魚中の被験物質を経時的に分析した。

供試魚中の被験物質の残留率は、第1濃度区及び第2濃度区ピークA～Fについては定常状態における供試魚中被験物質濃度の平均値を、第2濃度区ピークGについては排泄試験開始時（ばく露64日後）の供試魚中被験物質濃度の平均値（2群）を100として、第1濃度区は排泄試験開始0.5、1、3及び6日後、第2濃度区は排泄試験開始0.5、1、3及び4日後の供試魚中被験物質の残留率（%）を算出した（Table-15, 16、Fig. 10, 11参照）。

また、排泄試験における残留率と排泄期間との相関をFig. 12, 13に示した。

これらの結果から、排泄半減期は

第1濃度区	ピークA	3.9日
	ピークB	1.9日
	ピークC	2.3日
	ピークD	2.0日
	ピークE	2.0日
	ピークF	3.2日
	ピークG	5.0日

第2濃度区      ピークA    1.7日  
                      ピークB    1.6日  
                      ピークC    1.8日  
                      ピークD    1.8日  
                      ピークE    1.7日  
                      ピークF    1.9日  
                      ピークG    1.8日

であった。

Table-5      排泄試験における残留率

(単位 %)

濃度区	ピーク	0.5日後	1日後	3日後	6日後	Table	Fig.
1	A	91 130	61 76	79 60	76 16	15-1	10
	B	69 105	43 57	32 28	14 8	15-2	
	C	108 105	49 54	72 42	29 9	15-3	
	D	90 72	72 41	50 45	16 7	15-4	
	E	90 99	51 52	51 35	16 7	15-5	
	F	95 105	57 67	74 50	36 17	15-6	
	G	70 59	41 41	39 19	12 60	15-7	
濃度区	ピーク	0.5日後	1日後	3日後	4日後	Table	Fig.
2	A	123 54	61 64	42 30	16 18	16-1	11
	B	96 82	83 86	25 38	20 24	16-2	
	C	101 89	90 99	28 44	25 32	16-3	
	D	87 98	91 97	29 41	26 30	16-4	
	E	97 91	84 96	24 42	24 25	16-5	
	F	114 90	100 111	32 52	31 35	16-6	
	G	80 75	74 92	13 53	25 26	16-7	

## 5.5 部位別試験

64日間ばく露した供試魚を各試験区から2尾ずつ採取し、外皮（頭部を除く皮、うろこ、ひれ、消化管、えら）、頭部、内臓（消化管以外の臓器）及び可食部（前記の部分を除いた残部）に大別し、各重量を測った後、各部位における被験物質を分析した。分析法は3.7と同様とした。ただし、供試魚前処理フロースキーム中の微細化、脂質含量測定用試料の分取、分析試料の分取は行わなかった。

各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率をTable-6に示した。なお、試験水中の被験物質濃度は、部位別試験を実施した時までの連続3回の平均被験物質濃度とした。

Table-6-1 各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率

濃度区	ピーク	部 位	各部位における被験物質濃度 (ng/g)	濃縮倍率	Table	Fig.
1	A	外 皮	39300 30200	8000 6200	18-1	15
		頭 部	58400 52500	12000 11000		
		内 臓	64800 101000	13000 21000		
		可食部	20200 15400	4100 3100		
	B	外 皮	10300 13600	2100 2800	18-2	
		頭 部	13700 23100	2800 4800		
		内 臓	16500 45900	3400 9500		
		可食部	5240 6840	1100 1400		
	C	外 皮	25500 17100	5300 3500	18-3	
		頭 部	34900 30300	7300 6300		
		内 臓	44500 57200	9300 12000		
		可食部	13600 9130	2800 1900		

Table-6-2 各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率

濃度区	ピーク	部 位	各部位における被験物質濃度 (ng/g)	濃縮倍率	Table	Fig.
1	D	外 皮	15600 8370	3300 1700	18-4	15
		頭 部	20300 12000	4200 2500		
		内 臓	24900 23700	5200 4900		
		可食部	7980 3560	1700 740		
	E	外 皮	16900 13100	3400 2600	18-5	
		頭 部	22600 21400	4500 4300		
		内 臓	26500 42700	5300 8500		
		可食部	8160 6380	1600 1300		
	F	外 皮	33600 33700	7000 7000	18-6	
		頭 部	48500 57600	10000 12000		
		内 臓	57100 125000	12000 26000		
		可食部	18000 16200	3800 3400		
	G	外 皮	17000 15600	3600 3300	18-7	
		頭 部	21800 26300	4600 5500		
		内 臓	27600 48800	5800 10000		
		可食部	8340 7340	1700 1500		



Table-6-3 各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率

濃度区	ピーク	部 位	各部位における被験物質濃度 (ng/g)	濃縮倍率	Table	Fig.
2	A	外 皮	1130	2400	19-1	16
			704	1500		
		頭 部	1430	3000		
			1080	2300		
	内 臓	2190	4600			
		1290	2700			
	可食部	470	980			
		365	760			
	B	外 皮	847	1800	19-2	
			520	1100		
		頭 部	912	1900		
			730	1600		
	内 臓	1480	3200			
		999	2100			
	可食部	314	670			
		254	540			
	C	外 皮	975	2100	19-3	
			660	1400		
		頭 部	1070	2300		
			783	1700		
内 臓	1930	4200				
	1310	2800				
可食部	350	760				
	284	620				
D	外 皮	658	1400	19-4		
		481	1000			
	頭 部	723	1600			
		545	1200			
内 臓	1270	2700				
	848	1800				
可食部	228	490				
	187	400				
E	外 皮	822	1700	19-5		
		526	1100			
	頭 部	850	1800			
		648	1300			
内 臓	1540	3200				
	1020	2100				
可食部	290	600				
	230	470				

Table-6-4 各部位における被験物質濃度及び濃縮倍率

濃度区	ピーク	部 位	各部位における被験物質 濃度 (ng/g)	濃縮倍率	Table	Fig.
2	F	外 皮	1430	3100	19-6	16
			811	1800		
		頭 部	1980	4300		
			1430	3100		
	内 臓	3090	6700			
		1430	3100			
	可食部	666	1400			
		456	990			
G	外 皮	1460	3000	19-7		
		786	1600			
	頭 部	2300	4700			
		1000	2100			
内 臓	3190	6600				
	1590	3300				
可食部	854	1800				
	331	680				

## 5.6 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。また、第2濃度区の脂質含量をTable-7に示した。

実験開始前	4.03%
実験終了後	4.09%

Table-7 脂質含量 (単位 %)  
( ) 内は平均値

濃度区	35日後	46日後	60日後	全平均
2	3.32	4.98	4.85	4.19
	4.14	3.18	4.66	
	(3.73)	(4.08)	(4.76)	

## 5.7 供試魚の外観観察等

異常は認められなかった。

## 6. 考 察

## (1) 被験物質の組成比について

被験物質をガスクロマトグラフィーで分析したところ、16本のピークが検出された。各々のピークについてガスクロマトグラフィー質量分析法で分析したところ、そのうちの主要な7本のピークが被験物質の構造異性体であると同定された (Fig. 21参照)。このうちピークDについては2,6-ジイソプロピルナフタレンの標品 (和光純薬工業製 和光一級) と一致した。また、微小なピークのうち2本がトリイソプロピルナフタレンであると推定された。他のピークについては同定に至らなかった。

ピーク	質量数	成分組成 (%)
A	212	14.63
B	212	18.99
C	212	12.85
D	212	16.08
E	212	13.90
F	212	16.45
G	212	6.36
トリイソプロピル ナフタレン-1	254	0.20
トリイソプロピル ナフタレン-2	254	0.23

## (2) 第2濃度区ピークGにおける濃縮倍率について

第2濃度区ピークGの濃縮倍率は46日後に最大値を示した後、60日後では低下した。このことから、第2濃度区ピークGの濃縮倍率は最大でも46日後の値である3600倍と考えられる。

## (3) 濃縮倍率について

本試験における濃縮倍率及び定常状態における濃縮倍率は、5.2及び5.3に示したようにピークによる依存性が認められた。被験物質のピークA~Gは (1) で示したように構造異性体であることから、ジイソプロピル基の位置の違いにより濃縮倍率に差が生じたものと考えられるが、ピークD以外のピークのジイソプロピル基位置の特定は困難であった。

## (4) ピークBの後ろのピークについて

本試験における供試魚分析においてピークBの後ろに新たなピークが確認された (Fig. 8, 9参照)。第1濃度区60日後供試魚分析試料を用いてGC-MSスペクトル測定を行ったところ、ピークA～Gと同様の質量数及びスペクトルパターンが得られたことから、被験物質の構造異性体であると思われる。このピークは被験物質にごく微量含まれていたものであったため、標準溶液中の当該ピークと比較し、ピークA～Gの平均試験水中被験物質濃度と、ピークA～Gの平均魚分析回収率を用いて第1濃度区60日後の濃縮倍率を概算したところ、19000倍及び16000倍であった。

## (5) 加重平均濃縮倍率について

本試験における加重平均濃縮倍率を以下に示す。

濃度区	7日後	14日後	21日後	35日後	46日後	60日後
1	2600	2500	4200	4300	4100	3600
	2000	2600	3400	3900	3000	3600
	(2300)	(2500)	(3800)	(4100)	(3600)	(3600)
2	1100	1200	2100	1300	1800	1500
	1500	2000	1900	1400	1200	1600
	(1300)	(1600)	(2000)	(1400)	(1500)	(1500)

## 7. 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	: 日本精密科学製	型 SP-D-2500
	ユニフローズ製	型 uf-4004S
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

ガスクロマトグラフー質量分析計 : 17頁参照

天びん	: ザルトリウス社製	型 BP301S
	ザルトリウス社製	型 LP4200S
	メトラー社製	型 AE163
	エー・アンド・ディ社製	型 FA-2000
ロータリーエバポレーター	: 東京理化工機製	型 N-1000V
振とう機	: タイテック製	型 SR-2W
	大洋科学工業製	型 SR-II W
ホモジナイザー（ポリトロン）	: キネマチカ社製	型 PT3100
遠心分離機	: 日立工機製	型 CR21G

## 特殊器具

セップパック アルミナB	: 日本ウォーターズ製
--------------	-------------

## 試薬

アセトニトリル	: 和光純薬工業製	HPLC用
クロロホルム	: キシダ化学製	試薬特級
ジメチルスルホキシド	: ナカライテスク製	試薬一級
塩化ナトリウム	: マナック製	試薬一級
Tween-80	: 和光純薬工業製	化学用

## (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	: メトラー社製	型 AE163
	ザルトリウス社製	型 BP301S
ロータリーエバポレーター	: 東京理化工機製	型 N-1
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)	: シグマ アルドリッチ ジャパン製	試薬一級

## (4) 被験物質の構造確認に使用した装置・機器

フーリエ変換赤外分光光度計	: 島津製作所製	型 FTIR-8200PC
ガスクロマトグラフ-質量分析計		
	: 日本電子製	型 JMS-700QQ
フーリエ変換核磁気共鳴装置	: 日本電子製	型 JNM-MY60FT