

## 最 終 報 告 書

*N*-モノ又はジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド  
〔*N*, *N*-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド  
(被験物質番号 K-1231) にて試験実施〕のコイにおける濃縮度試験

財団法人 化学品検査協会  
化学品安全センター久留米研究所

## 陳 述 書

財団法人 化学品検査協会

化学品安全センター久留米研究所

試験委託者 通商産業省

試験の表題 *N*-モノ又はジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド  
[ *N*, *N*-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド  
(被験物質番号 K-1231) にて試験実施] のコイにおける濃縮度  
試験

試験番号 51231Ⅲ

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命令第4条に規定する試験施設について」(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、昭和63年11月18日改正)に定める「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命令第4条に規定する試験施設に関する基準」及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(May 12, 1981)に従って実施したものです。

平成 9 年 1 月 8 日

運営管理者



## 信頼性保証書

財団法人 化学品検査協会  
化学品安全センター久留米研究所

試験委託者 通商産業省

試験の表題 *N*-モノ又はジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド  
[ *N,N*-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド  
(被験物質番号 K-1231) にて試験実施] のコイにおける濃縮度  
試験

試験番号 51231Ⅲ

上記試験は財団法人化学品検査協会化学品安全センター久留米研究所の信頼性保証部門  
が監査及び査察を実施しており、監査又は査察を行った日付並びに運営管理者及び試験  
責任者に報告を行った日付は以下の通りです。

監査又は査察日	報告日（運営管理者）	報告日（試験責任者）
平成 8 年 5 月 2 0 日	平成 8 年 5 月 2 0 日	平成 8 年 5 月 2 0 日
平成 8 年 6 月 1 9 日	平成 8 年 7 月 1 日	平成 8 年 7 月 1 日
平成 8 年 7 月 4 日	平成 8 年 7 月 1 2 日	平成 8 年 7 月 1 2 日
平成 8 年 7 月 1 2 日	平成 8 年 7 月 1 2 日	平成 8 年 7 月 1 2 日
平成 8 年 7 月 2 6 日	平成 8 年 7 月 2 6 日	平成 8 年 7 月 2 6 日
平成 8 年 8 月 2 8 日	平成 8 年 8 月 2 9 日	平成 8 年 8 月 2 8 日
平成 8 年 9 月 9 日	平成 8 年 9 月 1 1 日	平成 8 年 9 月 1 1 日
平成 8 年 1 0 月 1 6 日	平成 8 年 1 0 月 2 8 日	平成 8 年 1 0 月 2 8 日
平成 8 年 1 0 月 2 5 日	平成 8 年 1 0 月 2 8 日	平成 8 年 1 0 月 2 8 日
平成 8 年 1 1 月 2 6 日	平成 8 年 1 1 月 2 6 日	平成 8 年 1 1 月 2 6 日
平成 8 年 1 1 月 2 7 日	平成 8 年 1 1 月 2 8 日	平成 8 年 1 1 月 2 8 日
平成 8 年 1 2 月 4 日	平成 8 年 1 2 月 4 日	平成 8 年 1 2 月 4 日
平成 9 年 1 月 8 日	平成 9 年 1 月 8 日	平成 9 年 1 月 8 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。

平成 9 年 1 月 8 日

信頼性保証部門責任者

## 目 次

	頁
要 約 .....	1
1. 表 題 .....	2
2. 試験委託者 .....	2
3. 試験施設 .....	2
4. 試験目的 .....	2
5. 試験方法 .....	2
6. 適用する優良試験所基準 .....	2
7. 試験期間 .....	3
8. 試験関係者 .....	3
9. 最終報告書作成日 .....	3
10. 最終報告書の承認 .....	3
11. 被験物質 .....	4
12. 濃縮度試験の実施 .....	6
13. 試験結果 .....	17
14. 参考試験 .....	19
15. 考 察 .....	22
16. 数値の取扱い .....	22
17. 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 .....	22
18. 試資料の保管 .....	22
19. 備 考 .....	23
20. 表及び図の内容 .....	24
付表及び付図	

## 要 約

### 1. 試験の表題

*N*-モノ又はジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド [*N*, *N*-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド (被験物質番号 K-1231) にて試験実施] のコイにおける濃縮度試験

### 2. 試験条件

#### 濃縮度試験

(1) 供 試 魚	コイ
(2) 試 験 濃 度	第4濃度区      1 $\mu\text{g/L}$ 第5濃度区      0.1 $\mu\text{g/L}$
(3) ばく露期間	8週間
(4) ばく露方法	連続流水式
(5) 分 析 方 法	高速液体クロマトグラフィー

### 3. 試験結果

濃 縮 倍 率	第4濃度区      1150～3950倍 第5濃度区      3380～7310倍
---------	--

### 4. 被験物質の安定性

被験物質は保管条件下及び試験条件下で安定であることを確認した。

## 最 終 報 告 書

試験番号 51231Ⅲ

1. 表 題 *N*-モノ又はジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド [*N*, *N*-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェンアミド (被験物質番号 K-1231) にて試験実施] のコイにおける濃縮度試験
2. 試験委託者 名 称 通商産業省  
住 所 (〒100) 東京都千代田区霞が関一丁目3番1号
3. 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久留米研究所  
住 所 (〒830) 福岡県久留米市中央町19-14  
TEL (0942) 34-1500  
運営管理者 XXXXXXXXXX
4. 試験目的 K-1231のコイにおける濃縮性の程度について知見を得る。
5. 試験方法 「新規化学物質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)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」(May 12, 1981)に定める「Bioaccumulation : 305C, Degree of Bioconcentration in Fish」に準拠した。
6. 適用する優良試験所基準 「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命令第4条に規定する試験施設について」(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、昭和63年11月18日改正)に定める「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命令第4条に規定する試験施設に関する基準」(以下「GLP基準」という。)及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(May 12, 1981)に適合して行った。

7. 試験期間

(1) 試験開始日           平成 8年 5月20日

(2) ばく露開始日       第4濃度区   平成 8年 5月22日  
                          第5濃度区   平成 8年 9月 4日

(3) ばく露終了日       第4濃度区   平成 8年 7月17日  
                          第5濃度区   平成 8年10月30日

(4) 試験終了日       平成 8年12月18日

8. 試験関係者

試験責任者

\_\_\_\_\_

試験担当者

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

飼育管理責任者

\_\_\_\_\_

急性毒性試験担当者

\_\_\_\_\_

試資料管理部門責任者

\_\_\_\_\_

9. 最終報告書作成日

平成 8年12月18日  
作成者 \_\_\_\_\_

10. 最終報告書の承認

平成 8年12月18日

試験責任者

氏名

\_\_\_\_\_

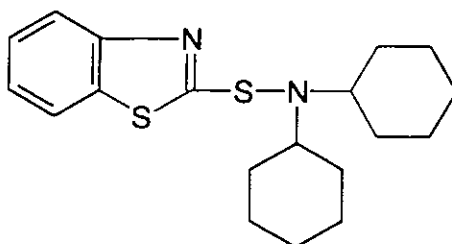
## 11. 被験物質

本報告書においてK-1231は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

11.1 名 称 *N,N*-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾリルスルフェン  
アミド

### 11.2 構造式等

構造式



分子式  $C_{19}H_{26}N_2S_2$

分子量 346.56

11.3 純 度<sup>\*1</sup> 99%以上

不純物 ジ(ベンゾチアゾリル-2)ジスルフィド

11.4 提供者、商品名及びロット番号<sup>\*1</sup>

(1) 提 供 者

(2) 商 品 名

(3) ロット番号 407012

\*1 提供者添付資料による。



#### 11.5 被験物質の確認

赤外吸収スペクトル (Fig. 2 6 参照)、質量スペクトル (Fig. 2 7 参照) 及び核磁気共鳴スペクトル (Fig. 2 8 参照) により構造を確認した。

#### 11.6 保管条件及び保管条件下での安定性

(1) 保管条件 冷蔵保存

(2) 安定性確認 ばく露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. 2 6 参照)。

#### 11.7 試験条件下での安定性

ばく露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。

## 12. 濃縮度試験の実施

### 12.1 供試魚

#### 12.1.1 第4濃度区

- (1) 魚 種 コイ Cyprinus carpio
- (2) 供 給 源 杉島養魚場  
(住所 〒 866 熊本県八代市郡築一番町 123-2)  
供試魚受入日 平成 8年 3月 29日
- (3) 蓄 養 条 件 魚の入手時に目視観察をして異状のあるものを除去し、  
受入槽で薬浴後、流水状態で2日間飼育した。
- (4) じゅん化条件 蓄養後、寄生虫駆除の薬浴を行った後、じゅん化水槽へ  
搬入し、再度薬浴した後、じゅん化を行った。その間  
異状のあるものは除去し、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の水温の流水状態  
で34日間飼育した。さらに試験水槽へ移し、薬浴後、  
同温度の流水状態で13日間飼育した。  
じゅん化終了日 平成 8年 5月 8日
- (5) ばく露開始前の体重、体長等  
体 重 平均 21.9 g  
体 長 平均 9.2 cm  
脂質含有率 平均 4.0 %  
ロット TFC-960329 の測定値  
測定日 平成 8年 5月 7日
- (6) 餌 料  
種 類 コイ用ペレット状配合飼料  
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。  
ただし、供試魚の採取前日は給餌を止めた。

## 12.1.2 第5濃度区

- (1) 魚 種 コイ Cyprinus carpio
- (2) 供給源 杉島養魚場  
(住所 〒 866 熊本県八代市郡築一番町 123-2)  
供試魚受入日 平成 8年 6月 11日
- (3) 蓄養条件 魚の入手時に目視観察をして異状のあるものを除去し、  
受入槽で薬浴後、流水状態で1日間飼育した。
- (4) じゅん化条件 蓄養後、寄生虫駆除の薬浴を行った後、じゅん化水槽へ  
搬入し、再度薬浴した後、じゅん化を行った。その間  
異状のあるものは除去し、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の水温の流水状態  
で49日間飼育した。さらに試験水槽へ移し、薬浴後、  
同温度の流水状態で29日間飼育した。  
じゅん化終了日 平成 8年 8月 5日
- (5) ばく露開始前の体重、体長等
- |       |    |        |
|-------|----|--------|
| 体 重   | 平均 | 21.5 g |
| 体 長   | 平均 | 9.4 cm |
| 脂質含有率 | 平均 | 3.7 %  |
- ロット TFC-960611 の測定値  
測定日 平成 8年 8月 2日
- (6) 餌 料
- |         |  |
|---------|--|
| 種 類     | コイ用ペレット状配合飼料                                       |
| 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、供試魚の採取前日は給餌を止めた。 |

## 12.2 試験用水

- (1) 種 類  
久留米研究所敷地内で揚水した地下水
- (2) 水質確認

当研究所にて平成8年8月7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)又は「OECD Guideline for Testing of Chemicals 210, Fish, Early-life Stage Toxicity Test」に記載されている濃度以下であることを確認した。

## 12.3 試験及び環境条件

### 12.3.1 第4濃度区

- |             |   |
|-------------|---|
| (1) 試験水供給方法 | 当研究所組立流水式装置を用いた。  |
| (2) 試験水槽    | 100 L 容ガラス製水槽   |
| (3) 試験水量    | 原液 2 mL/分及び試験用水 800 mL/分の割合で<br>1155 L/日を試験水槽に供した。                  |
| (4) 原液タンク   | 25 L 容ガラス製びん  |
| (5) 試験温度    | 25 ± 2 °C   |
| (6) 溶存酸素濃度  | 第4濃度区 7.0 ~ 7.7 mg/L (Fig. 9 参照)<br>対照区 7.8 ~ 8.2 mg/L (Fig. 10 参照) |
| (7) 供試魚数    | 第4濃度区 20 尾 (ばく露開始時)<br>対照区 5 尾 (ばく露開始時)                             |
| (8) ばく露期間   | 8 週間  |
| (9) 実施場所    | 213 アクアトロン室   |

### 12.3.2 第5濃度区

- |             |  |
|-------------|--|
| (1) 試験水供給方法 | 当研究所組立流水式装置を用いた。   |
| (2) 試験水槽    | 70 L 容ガラス製水槽   |
| (3) 試験水量    | 原液 2 mL/分及び試験用水 800 mL/分の割合で<br>1155 L/日を試験水槽に供した。                   |
| (4) 原液タンク   | 25 L 容ガラス製びん   |
| (5) 試験温度    | 25 ± 2 °C  |
| (6) 溶存酸素濃度  | 第5濃度区 7.2 ~ 7.8 mg/L (Fig. 17 参照)<br>対照区 7.7 ~ 8.0 mg/L (Fig. 18 参照) |
| (7) 供試魚数    | 第5濃度区 16 尾 (ばく露開始時)<br>対照区 5 尾 (ばく露開始時)                              |
| (8) ばく露期間   | 8 週間   |
| (9) 実施場所    | 213 アクアトロン室  |

## 12.4 原液調製法

### (1) 分散剤

HCO-20

オリーブ油

### (2) 調製方法

#### ・第4濃度区

被験物質とその20倍量のHCO-20及び20倍量のオリーブ油をアセトンに溶解してアセトンを留去した後、イオン交換水で溶解して被験物質濃度500mg/Lの原液を調製し、これを用いてガラス製原液タンク中の濃度を0.4mg/Lに調製した。

#### ・第4濃度区の対照区

HCO-20及びオリーブ油をアセトンに溶解してアセトンを留去した後、イオン交換水で溶解してガラス製原液タンク中のHCO-20濃度及びオリーブ油濃度がそれぞれ8mg/Lとなるように調製した。

#### ・第5濃度区

被験物質とその20倍量のHCO-20及び20倍量のオリーブ油をアセトンに溶解してアセトンを留去した後、イオン交換水で溶解して被験物質濃度500mg/Lの原液を調製した。これをイオン交換水で希釈して50mg/Lの原液を調製し、これを用いてガラス製原液タンク中の濃度を0.04mg/Lに調製した。

#### ・第5濃度区の対照区

HCO-20及びオリーブ油をアセトンに溶解してアセトンを留去した後、イオン交換水で溶解してガラス製原液タンク中のHCO-20濃度及びオリーブ油濃度がそれぞれ0.8mg/Lとなるように調製した。

## 12.5 試験濃度

被験物質は第1、第2、第3濃度区において濃度依存性が認められたため、

第4濃度区      1       $\mu\text{g/L}$

第5濃度区      0.1       $\mu\text{g/L}$

を設定し、同時に、空試験として対照区を設定した。

## 12.6 観察、測定等

- |            |                                    |
|------------|------------------------------------|
| (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) その他    | 試験期間中は、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。 |

## 12.7 試験水及び供試魚中の被験物質分析

### 12.7.1 分析回数

試験水中の被験物質分析は、ばく露期間中、毎週2回計16回行い、1回当りの分析試料は1点とした。また、供試魚中の被験物質分析はばく露開始後、2、4、6及び8週の計4回行い、1回当りの分析試料は2尾とした。対照区はばく露開始前及びばく露終了時に行い、1回当りの分析試料は2尾とした。

## 12.7.2 分析試料の前処理

### (1) 試験水

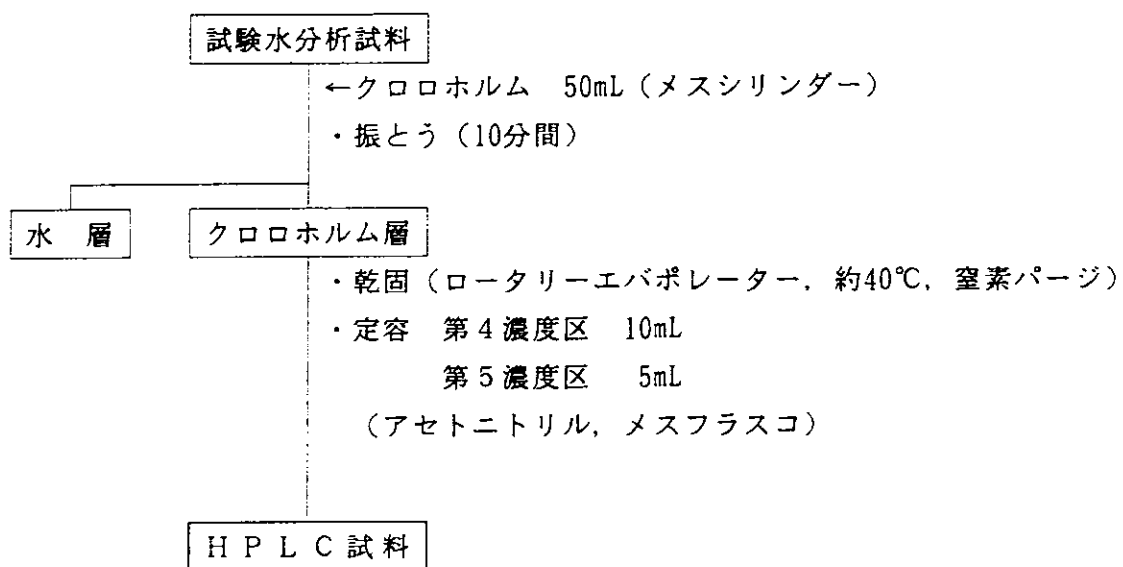
試験水槽から

第4濃度区 500 mL

第5濃度区 1000 mL

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、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）試料とした。

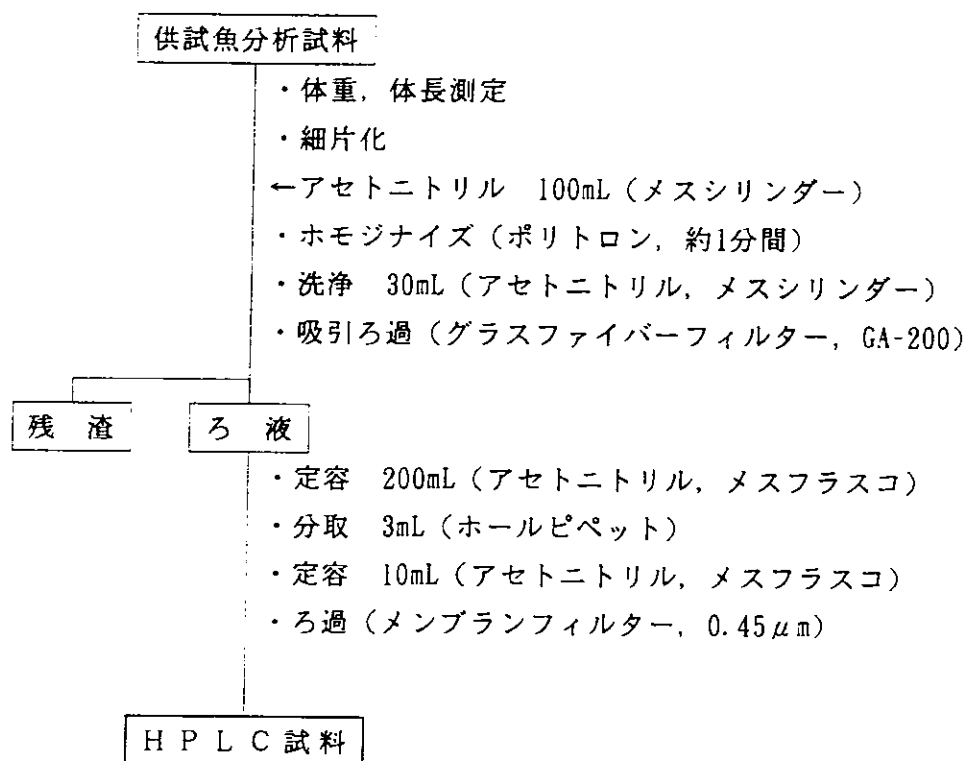
フロースキーム



## (2) 供 試 魚

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、HPLC試料とした。

### フロースキーム





### 12.7.3 被験物質の定量分析（第4濃度区）

12.7.2の前処理を行って得られたHPLC試料は、下記の定量条件に基づき高速液体クロマトグラフィーにより被験物質の定量を行った。供試魚中の被験物質の定量は、HPLC試料を適宜希釈し、検量線の濃度の範囲になるように被験物質濃度を調整した。最終定容液中の被験物質濃度は、クロマトグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた（Table-4、Fig. 5、Table-6、7、Fig. 7、8参照）。

#### (1) 定量条件

機 器	高速液体クロマトグラフ
ポンプ	日立製作所製 L-7100
検出器	日立製作所製 L-7400
カラム	L-column ODS 15 cm×4.6 mmφ ステンレス製
溶離液	アセトニトリル／テトラヒドロフラン(9/1 V/V)
流量	1.0 mL/min
測定波長	280 nm (Fig. 25 参照)
注入量	100 $\mu$ L
感 度	
検出器	1 AU/1 V
記録計	レンジ 5 mV

#### (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 0.1 g を正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して 1000 mg/L の被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリルで希釈して 50.0  $\mu$ g/L の標準溶液とした。

#### (3) 検量線の作成

(2)の標準溶液の調製と同様にして 25.0、50.0 及び 100  $\mu$ 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クロマトグラム上のピーク面積と濃度により検量線を作成した。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して 200  $\mu$ V $\cdot$ sec（被験物質濃度 1.0  $\mu$ g/L）とした（Fig. 3 参照）。

#### 12.7.4 被験物質の定量分析（第5濃度区）

12.7.2の前処理を行って得られたHPLC試料は、下記の定量条件に基づき高速液体クロマトグラフィーにより被験物質の定量を行った。最終定容液中の被験物質濃度は、クロマトグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた（Table-9、Fig.13、Table-10、11、Fig.15、16参照）。

##### (1) 定量条件

機 器	高速液体クロマトグラフ
ポ ン プ	日本分光工業製 PU-980
検 出 器	日本分光工業製 UV-970
カ ラ ム	L-column ODS 15cm×4.6mmφ ステンレス製
溶 離 液	アセトニトリル／テトラヒドロフラン(9/1 V/V)
流 量	1.0mL/min
測 定 波 長	280nm (Fig.25参照)
注 入 量	100μL
感 度	
検 出 器	1AU/1V
記 録 計	試験水分析 レンジ 2mV 供試魚分析 レンジ 5mV

##### (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0.1gを正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリルで希釈して、試験水分析においては20.0μg/L、供試魚分析においては50.0μg/Lの標準溶液とした。

### (3) 検量線の作成

(2)の標準溶液の調製と同様にして、試験水分析においては10.0、20.0及び40.0  $\mu\text{g/L}$ 、供試魚分析においては25.0、50.0及び100  $\mu\text{g/L}$ 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クロマトグラム上のピーク面積と濃度により検量線を作成した。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して、試験水分析においては100  $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$  (被験物質濃度0.47  $\mu\text{g/L}$ )、供試魚分析においては200  $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$  (被験物質濃度0.98  $\mu\text{g/L}$ )とした (Fig. 11, 14 参照)。

## 12.7.5 回収試験及びブランク試験

### (1) 方 法

12.7.2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魚体ホモジネート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魚体ホモジネートについて、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。この結果、ブランク試験においてクロマトグラム上、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-3, 5, 8, 、Fig. 4, 6, 12 参照)。

### (2) 結 果

#### 分析操作における回収率

第4濃度区試験水分析 (被験物質0.5  $\mu\text{g}$ 添加)

96.7%, 94.4% 平均95.5%

第5濃度区試験水分析 (被験物質0.1  $\mu\text{g}$ 添加)

93.1%, 92.4% 平均92.7%

供試魚分析 (被験物質30  $\mu\text{g}$ 添加)

86.6%, 84.7% 平均85.6%

## 12.7.6 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-4, 9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

第4濃度区においては12.7.3(3)、第5濃度区においては12.7.4(3)の検量線の作成で求めた被験物質の定量下限より、試験水中の被験物質の定量下限濃度<sup>\*2</sup>は、

第4濃度区      2.1      ng/L

第5濃度区      2.5 ng/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-6, 7, 10, 11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

第4濃度区においては12.7.3(3)、第5濃度区においては12.7.4(3)の検量線作成で求めた被験物質の定量下限より、供試魚中の被験物質の定量下限濃度<sup>\*3</sup>は供試魚体重を30gとしたとき、

第4濃度区      2.6 ng/g

第5濃度区      2.5 ng/g

と算出される。

$$*2 \text{ 被験物質定量下限濃度 (ng/L又はng/g)} = \frac{A}{\frac{B}{100} \times \frac{C \times E}{D}}$$

A : 検量線上定量下限濃度 (ng/L)

B : 回収率 (%)

C : 試験水採取量 (mL) 又は供試魚体重 (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。

## 12.8 濃縮倍率（BCF）の算出

Table- 6, 7, 10, 11 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。

なお、12.7.6(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。

第4濃度区      31倍  
第5濃度区      315倍

## 12.9 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8202-1985 参考3規則Bの方法に従った。

## 13. 試験結果

### 13.1 試験水中の被験物質濃度

試験水中の被験物質濃度をTable- 1に示す。

Table- 1      試験水中の被験物質濃度（ばく露開始時からの測定値の平均値）  
（単位  $\mu\text{g/L}$ ）

濃度区	2 週	4 週	6 週	8 週	Table	Fig.
4	0.854	0.836	0.826	0.826	4	5
5	0.0737	0.0779	0.0795	0.0807	9	13

試験水中の平均被験物質濃度はTable- 1に示されるように、第4濃度区においては設定値の80%以上、第5濃度区においては70%以上が保持された。

### 13.2 濃縮倍率

濃縮倍率をTable-2に示す。

Table-2 濃 縮 倍 率

濃度区	2 週	4 週	6 週	8 週	Table	Fig.
4	1750	3820	2900	2720	6	7
	1150	2830	3950	3140		
5	3380	7310	5960	7200	10	15
	4310	4870	6460	6010		

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。  
また、被験物質のコイに対する濃縮性の程度は、濃縮倍率で第4濃度区において  
1150～3950倍、第5濃度区において3380～7310倍であった。

### 13.3 供試魚の外観観察等

異状は認められなかった。

## 14. 参考試験

### 14.1 試験目的

被験物質の供試魚の各部位への濃縮性の程度及び供試魚からの排泄性の程度の知見を得る。

### 14.2 部位別試験

#### 14.2.1 試験方法

ばく露開始後8週の供試魚を外皮（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）の部位に大別した。各部位別試料を12.7に従って分析し、各部位への濃縮倍率を算出した。

#### 14.2.2 試験結果

Table-12, 14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。

試験結果を以下に示す。

濃度区	部 位	被験物質濃度 (ng/g)	濃 縮 倍 率	Table	Fig.
4	外 皮	1680	2030	12	19
		1490	1800		
	頭 部	3610	4370		
		3370	4080		
	内 臓	3220	3900		
		3300	3990		
5	外 皮	1450	1750	14	21
		1340	1620		
	頭 部	546	6760		
		646	8010		
	内 臓	1260	15700		
		1060	13200		
	可食部	935	11600		
		902	11200		
	可食部	305	3780		
		378	4680		

### 14.3 排泄試験

#### 14.3.1 試験方法

ばく露開始後8週の供試魚を下記条件の被験物質及び分散剤を含まない試験用水を供給する試験水槽に移して行った。供試魚分析は、移した時から第4濃度区は3日後、7日後及び14日後の計3回、第5濃度区は7日後、11日後及び14日後の計3回、1回当たりの分析試料は2尾とし、12.7に従って行った。

#### 〈試験及び環境条件〉

試験水槽	第4濃度区	100L容ガラス製水槽
	第5濃度区	70L容ガラス製水槽
試験水量	試験用水800mL／分の割合で1152L／日を試験水槽に供した。	
試験温度	25±2℃	

#### 14.3.2 供試魚中の被験物質の残留率

供試魚中の被験物質の残留率は、以下の式により計算し、計算結果は有効数字3ケタに丸めて表示した。

$$PF_n = \frac{\frac{F_n}{W}}{CF} \times 100$$

PF<sub>n</sub> : 排泄開始後n日の供試魚中の被験物質残留率(%)

F<sub>n</sub> : 排泄開始後n日の供試魚中の被験物質絶対量(ng)

W : 魚体重(g)

CF : ばく露開始後8週の供試魚中の平均被験物質濃度(ng/g)



### 14.3.3 試験結果

14.3.2で算出した残留率及び供試魚中の被験物質濃度を以下に（Table-13, 15、Fig. 20, 22 参照）、残留率と排泄期間の関係をFig. 23, 24に示した。

濃度区	3 日 後		7 日 後		14 日 後	
	被験物質濃度	残 留 率	被験物質濃度	残 留 率	被験物質濃度	残 留 率
	(ng/g)	(%)	(ng/g)	(%)	(ng/g)	(%)
4	1350	55.7	1060	43.7	886	36.6
	2810	116	1270	52.6	937	38.8

濃度区	7 日 後		11 日 後		14 日 後	
	被験物質濃度	残 留 率	被験物質濃度	残 留 率	被験物質濃度	残 留 率
	(ng/g)	(%)	(ng/g)	(%)	(ng/g)	(%)
5	475	89.1	109	20.4	387	72.7
	494	92.6	228	42.8	242	45.4

上記の被験質濃度（C）と排泄期間（t）の関係は最小二乗法より、

$$\text{第4濃度区: } \log C = -0.0283 \times t + 3.33$$

$$\text{第5濃度区: } \log C = -0.0335 \times t + 2.81$$

となる。これより、

第4濃度区の半減期（ $t_{1/2}$ ）は、

$$t_{1/2} = 0.693 / -2.303 / -0.0283$$

すなわち、約11日、

第5濃度区の半減期（ $t_{1/2}$ ）は、

$$t_{1/2} = 0.693 / -2.303 / -0.0335$$

すなわち、約9日となる。

## 15. 考 察

### 15.1 試験水分析について

第1、2及び3濃度区では、設定値の約95%が保持されたのに対し、第4濃度区では約85%、第5濃度区では約75%と低かった。この原因として、水槽濃度が低いことによる魚体への取り込み、吸着等の影響が考えられる。なお、水槽濃度の大きな変動は認められなかった。

### 15.2 供試魚分析について

試験番号 51231Ⅱ（第3濃度区）の濃縮倍率は、331～916倍であり、本試験における第4濃度区と比べて濃度依存性が認められた（Table-2 参照）。しかし、第4濃度区と第5濃度区に関しては、第1～第4濃度区に比べて濃度依存性は少なくなった。

また、14.2.2で示したように、供試魚の各部位における濃縮倍率は内臓及び頭部が高かった。半減期は14.3.3に示したように、9～11日であった。

## 16. 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8202-1985 参考3 規則Bの方法に従った。

## 17. 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。

## 18. 試資料の保管

### 18.1 被験物質

同一ロットの被験物質が分解度試験及び分配係数試験終了後にすでに保管されているため、本試験終了後には保管しない。

### 18.2 生データ、資料等

試験により得られた分析結果、測定結果、観察結果、その他試験ノート等最終報告書の作成に用いた生データ、試験計画書、指示書、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、当研究所資料保管室に保管する。

## 19. 備 考

### 19.1 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	:	東京理化学器械製	型 GW
溶存酸素測定装置	:	飯島精密工業製	型 552

#### (2) 分析及び原液調製に使用した装置・機器、特殊器具、試薬 装置・機器

高速液体クロマトグラフ	:	13, 14頁参照	
紫外可視分光光度計	:	島津製作所製	型 UV-2200A
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ー質量分析計	:	日本電子製	型 JMS-DX303
超電導フーリエ変換核磁気共鳴装置	:	日立製作所製	型 R-3000
電子分析天びん	:	島津製作所製	型 AEX-200B
電子上皿天びん	:	ザルトリウス社製	型 1404MP8
		研精工業製	型 FA-2000
ロータリーエバポレーター	:	東京理化学器械製	型 N-1
振とう機	:	入江商会製	TS式
		大洋科学工業製	型 SR-ⅡW
ホモジナイザー（ポリトロン）	:	キネマチカ社製	型 PT10-35
		キネマチカ社製	型 PT3100

#### 特殊器具

メンブランフィルター	:	野村マイクロサイエンス製	
			型 シルフィルター F N

#### 試薬

アセトニトリル	:	和光純薬工業製	HPLC用
テトラヒドロフラン	:	関東化学製	HPLC用
アセトン	:	和光純薬工業製	試薬一級
クロロホルム	:	和光純薬工業製	試薬特級
HCO-20	:	日光ケミカルズ製	
オリーブ油	:	和光純薬工業製	