令和5年度化学物質規制対策 (餌料投与法における試験条件の精緻化に 関する調査) 報告書

令和6年3月

一般財団法人 化学物質評価研究機構

目次

I. 🗓	事業の目的及び概要	3
II.	有識者等ヒアリングの実施	4
III.	実施内容	5
1	. 難水溶性物質等の蓄積性評価の精度向上に関する検討	5
	1.1. はじめに	5
	1.2. 「餌料投与法における試験結果のばらつきの低減に資する試験条件等に関する	検
	討」のための試験計画の策定	7
	1.3. 餌料投与法における試験結果のばらつきの低減に資する試験条件等に関する検	討
		9
	1.4. 結論 (まとめ)	18
	1.5. 今後の課題	19
	1.6. 参考資料	21

別添資料

別添資料 1 2,4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテルのコイを用いる濃縮度試験 (餌料投与法)

I. 事業の目的及び概要

「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(以下「化審法」という。)では、国内で新たに製造又は輸入される化学物質(以下「新規化学物質」という。)について、事業者から提出された法定試験法に基づく分解性、蓄積性及び毒性等の試験結果をもとに、国による審査を実施している。

とりわけ、化学物質の蓄積性評価では、法定試験の一つとして定められている水暴露法(指標:BCF)による魚類を用いた濃縮度試験が実施されているが、被験物質が難水溶性物質等の場合は、水暴露法は不向きで蓄積性の評価が困難なケースもある。そこで、平成30年度から餌料投与法(指標:BMF)による魚類を用いた濃縮度試験が法定試験として新たに導入されたところであるが、当該試験結果による蓄積性評価はまだ数年の実績しかなく、評価に際して、判断基準の精緻化が課題となっている。この課題を解決するため、知見が多く、基準がより明確な水暴露法の判断基準を基に従来から作成している生物濃縮係数(BCF、BMF)間の回帰式に、信頼性のある試験データを追加し、回帰式の精度向上を図ることが求められる。

しかし、これまで餌料投与法による試験の実施を通じて収集された知見を精査した結果、既存の回帰式に追加する試験データの取得に当たり、試験における BMF のばらつきを抑制し、データの信頼性を確保することが新たな課題として認識された。ばらつきに起因する試験条件の特定、適切な基準物質の選定や被験物質の濃度設定等が必要であることが明らかとなった。

本事業では、餌料投与法による試験の結果から蓄積性を評価する際の判断基準の精緻 化に向けて、目下の課題となっている試験結果のばらつきを抑制し、信頼性のある試験 データを取得するための試験条件等の見直しに必要な知見の収集・整理を行うことを目 的とする。

II. 有識者等ヒアリングの実施

本業務において、化学物質の蓄積性評価手法に精通する有識者等へのヒアリングを実施した。

なお、有識者等への謝金を支出する必要がある場合は、本事業の経費として支出した。 以下の①及び②を実施したが、これらの実施に対しては化学物質の蓄積性評価手法に精通 する有識者等へのヒアリングを実施した(6名、2回)。

- ① 餌料投与法における試験結果のばらつきの低減に資する試験条件等に関する検討
- ② 試験結果のばらつきを低減させた試験設計に向けた提案

なお、有識者等は経済産業省担当職員との協議により決定した。有識者等に対するヒア リングの開催日及び内容等を図表1に示す。

図表 1 ヒアリングを実施した有識者等(五十音順)及びヒアリング実施事項

実施日	委員会における検討事項			
第1回ヒアリング	・本年度実施試験計画(試験条件)に関する議論			
2023年12月5日13:30-15:00				
第2回ヒアリング	・本年度実施試験結果に基づく結果解釈について			
2024年3月4日 10:00-12:00	給餌量の相違による試験魚中脂質含量の経時的変化			
	給餌量の相違による BMF データ安定性			
	給餌量の相違による各種 BMF への影響			
	昨年度実施した結果(各種 BMF)との比較			
	被験物質の基準物質としての利用可能性			
	・今後の課題			

III. 実施内容

1. 難水溶性物質等の蓄積性評価の精度向上に関する検討

1.1. はじめに

(1) 令和3年度までの本事業の経緯

令和2年度の本事業においては、餌料投与法による試験結果などを踏まえた難水溶性物質等の蓄積性評価を適切に実施する上での課題の整理等を行い、専門家へのヒアリングにおいて「試験法の部分的見直し」と「判定基準の拡充」が課題に挙がり、これらの課題解決のために餌料投与法によるデータの取得の必要性が指摘された。

令和3年度の本事業においては、化審法における蓄積性評価の精度向上を図るため、 以下のとおり課題解決に向けた試験条件の抽出、具体的な対応策及び進め方について合 意された。

<餌料投与法に使用する基準物質についての検討>

有識者ヒアリングの結果を踏まえ、餌料投与法に使用する基準物質の考え方(濃度設定、使用すべき基準物質等)の方針を示した。

- < (餌料投与法における高濃縮性及びグレーゾーンの設定の考え方等についての検討> 高濃縮性及びグレーゾーンの設定の考え方について、BCF と BMF の回帰式の拡充を行うことで、餌料投与法における高濃縮性及びグレーゾーンの基準を設定することで合意され、拡充に必要な試験条件(被験物質の考え方などを含む)の方針についても合意された。
- <餌料投与法における BMF 以外のエンドポイントの活用可能性についての検討> 餌料投与法における BMF 以外のエンドポイントについては、生物濃縮性を判断する 際の参考情報とし、他の知見も併せて総合判断することで合意された。

(2) 令和 4 年度の本事業の経緯

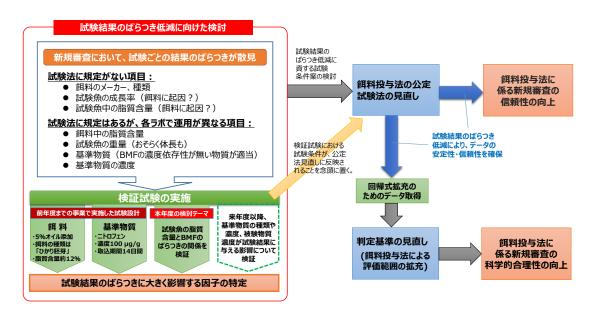
令和4年度の本事業においては、BCFとBMFの回帰式に追加する試験データの取得に当たり、試験におけるBMFのばらつきを抑制し、データの信頼性を確保することが新たな課題として認識された。そこで、脂質含量の異なる餌料(通常の餌料及びオイル添加した餌料)を用いて餌料投与法を実施することにより、試験魚中脂質含量の推移(変動)、餌料投与法の試験結果のばらつきの抑制を図れる可能性について検討した。その結果、ばらつきの抑制効果は十分に認められなかったものの、試験魚中脂質含量を一定の範囲に揃えることで、試験魚間及び試験間のばらつきを抑えたBMF_{Kg}を得られる可能性が示唆された。

2,4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル (NIP) を用いた餌料投与法の試験結果より、NIP は取込 14 日後には定常状態に達していると考えられる知見が得られた。また、NIP の BMF の試験魚間のばらつきは 30%以内(変動係数 12~28%)であり、オイル添加の有無における BMF $_{\rm K}$ 、BMF $_{\rm Kg}$ 及び脂質含量 5%で標準化した BMF $_{\rm Kg}$ について大きな差異がなく、NIP は餌料投与法の基準物質として実施可能であることが示唆された。さらに、NIP の BMF $_{\rm Kg}$ について、給餌量が魚体重の 2.5%/day の結果と 3.0%/day である Inoue et al, 2012 の試験で大きな差異は認められなかった。

(3) 令和5年度における本事業

令和 5 年度においては、化審法における蓄積性評価の精度向上を図るため、試験結果のばらつきを抑制し、信頼性のある試験データを取得するための試験条件等の見直しに必要な知見の収集・整理を行うことを目的に、以下のとおり事業を実施した(図表 2 に示す内容を基本方針として実施した)。

- ① 餌料投与法における試験結果のばらつきの低減に資する試験条件等に関する検討本年度事業では、前年度当該事業に引き続き、試験結果のばらつきの発生に大きく影響を及ぼすと想定される因子を絞り込みつつ、当該ばらつきの低減に資する試験条件等について検討した。
- ② 試験結果のばらつきを低減させた試験設計に向けた提案 ①の検討から得られた知見を踏まえて、次年度以降、「基準物質及びその濃度」 や「被験物質濃度」等の試験条件が試験結果に与える影響についての検討、及び 試験結果のばらつきを低減させた試験設計をどのように構築すべきかについて整 理し、進め方を提案した。



図表 2 本調査業務の基本方針

1.2. 「餌料投与法における試験結果のばらつきの低減に資する試験条件等に関する検討」 のための試験計画の策定

本年度は、試験結果のばらつきに大きく影響を及ぼすと想定される因子として、 試験魚ごとの被験物質の暴露量の差(摂餌量の個体差)が考えられた。そこで、取 込期間中に全ての魚が均一に摂餌することでばらつきを抑えることができるという 想定の下、均一に摂餌させるための適切な方法(量、回数)について検討すること について、第1回ヒアリングを実施し、有識者からの意見を踏まえて試験条件を決 定した。

質問: 給餌量を変える(給餌量 1.5%/day、2.0%/day、2.5%/day) ことについて、ご 意見を伺いたい。

有識者からの意見:

- 給餌量が異なると試験結果のばらつきにつながる可能性があるため給餌量 について検討し、統一を図るのは良い。
- 1回給餌よりも2回給餌の方がばらつきを防げるのではないか。時間をかけてゆっくり給餌した方がよい。均一に食べさせることが大切である。
- 計算式 $\alpha = \frac{C_{0d} \times k_2}{I \times C_{food}} \times \frac{1}{1 e^{(-k_2 + \ell)}}$ に基づいて、 $\alpha \ge k_2$ は定数であるため、BMF は給餌量に依存すると考える。

α : 生体内吸収効率

Cod : 排泄期間開始時における試験魚中の被験物質濃度 (μg/g)

*k*₂ : 排泄速度定数 (/day)

I : 給餌量 (g food/g fish/day)

 C_{food} : 試験餌料中の平均被験物質濃度 ($\mu g/g$)

t : 取込期間の長さ (day)

● 飽食を超える量を給餌した場合は変わらないが、給餌量が少ない場合は BMF が小さくなるのではないか。

- *I* に依存して、摂餌量で BMF は変わるため、給餌量が小さい(飽和していない) と BMF は小さくなるのではないか。
- 前年度の給餌量 2.5%/day と Inoue *et al.*, 2012 における給餌量 3%/day は飽食 であると考えるため、今回の給餌量について賛成である。
- 個体の摂餌量のばらつきをなくすことで、結果的に BMF のばらつきをなくすという目的であれば、給餌回数を 2 回から 1 回にするのではなく、回数を増やした方が効果はでる(2 回を 3 回に、もっと増やしていく方が良い)のではないか。
- 給餌量 1.5%/day の場合は、1 回給餌で良いが、2.5%/day の場合は、1 回では やや多いため、2 回給餌が良いのではないかと考える。
- 給餌の条件を統一するのであれば、1回給餌でも良いと考えるが、2.5%/day では食べるのに時間がかかる傾向がある。

結論: 給餌量を変える(給餌量 1.5%/day、2.0%/day、2.5%/day) ことについて、ご 了承いただいた。

質問:試験餌料中の被験物質濃度又は絶対量を統一することについて、いずれが 良いか、ご意見を伺いたい。

有識者からの意見:

- ばらつきを確認するのであれば、給餌量を変えることでよいと考える。餌料 濃度を変える場合は、物質濃度に依存する可能性があると考える。
- 化学物質の濃度を変えると食べなくなるケースもある。試験として成立する 条件が良いと考える。
- 給餌の間隔をあけて複数回給餌するというより、均一に給餌した方が良いと考える。試験魚に満遍なく餌がいきわたるように給餌するなどの工夫が必要である。

- ばらつきの低減が目的であれば、試験濃度は一定で良いと考える。同じ餌料を投与した方が良いと考える。
- 給餌量について賛成である。

結論: 餌料濃度は $100 \, \mu g/g$ で統一し、給餌方法は $1 \, \Pi 1 \, D$ を全体に満遍なく給餌 することで、ご了承いただいた。

1.3. 餌料投与法における試験結果のばらつきの低減に資する試験条件等に関する検討 1.3.1. 試験方法

2,4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル (NIP) を被験物質とし、以下の試験条件で餌料投与法を実施した。なお、餌料及び試験魚からの被験物質の回収試験結果も以下に記載した。

条件項目	内容				
被験物質	名 称:2,4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル				
	Nitrofen (NIP)				
	構造式 : Cl				
	CI O NO_2				
	分子量: 284.09				
	純 度:99.7%				
	被験物質情報:				
	・魚類 96 時間急性毒性値:>10 mg/L				
	・対水溶解度:1 mg/L(22℃)				
餌料	錦鯉用飼料 [ひかり胚芽 沈下 (中粒)]				
	粒 径 4.0~4.3 mm (1 mm 程度に粉砕して使用)				
	組 成(製造元情報)				
	粗蛋白質 30%以上、粗脂肪 4.0%以上、				
	粗繊維 4.0%以下、水分 10%以下、				
	灰分 13%以下、りん 0.6%以上				
	製造元 キョーリンフード工業				
試験区	試験餌料中の NIP 濃度は以下のとおりとした。				
	試験区 A: 100 µg/g				
	試験区 B: 100 µg/g				
	試験区 C: 100 µg/g				

条件項目	内容
試験餌料	被験物質(20.0 mg)をアセトン(10 mL)で溶解させたところに、餌料
	*1 (200g) を加え振とうした。この操作を2回行い*2、一つに混合した
	ものを 19 時間風乾処理し、被験物質濃度として 100 µg/g の試験餌料
	を調製した。
	*1 餌料(400g)にコーン油(20.0g)を加え、混和したもの。
	*2 餌料400gと被験物質を一度に混合することが困難なため、2回に
	分けて行った。
試験用水	試験施設(一般財団法人化学物質評価研究機構久留米事業所)敷地
	内で揚水した地下水
試験水流量	試験用水 800 mL/分(試験水量 約 50 L)
試験魚	コイ Cyprinus carpio
試験温度	25±2℃未満
試験魚数	65 尾/試験区
給餌量	試験餌料中の給餌量(1日あたりの魚体重の割合)は以下のとおり
	とした。また、1日1回給餌とし、摂餌中は約20分間試験水の供給
	を停止した。
	試験区 A: 2.5%/day
	試験区 B: 2.0%/day
	試験区 C: 1.5%/day
取込期間	14 日間
	サンプリング: 14 日後
排泄期間	9 日間
	サンプリング:1日後、3日後、6日後、9日後
分析機器	ガスクロマトグラフー質量分析計(GC-MS)
(被験物質分析)	測定イオン: m/z 202 [M-NO ₂ -Cl] ⁺
被験物質の	複数濃度の被験物質標準溶液を用いて原点を通る直線性があるこ
定量分析	とを確認し、絶対検量線法による1点検量線で被験物質を定量した。
試験餌料中の	試験餌料中の被験物質分析は、取込期間開始前及び終了時(取込期
被験物質分析	間中の最後の給餌後)に行った。1回当たりの分析試料は3点とし
	た。

条件項目	内容					
	<前処理法>					
	ヘキサン及びホモジナイザー(キネマチカ製)を用いたホモジナイ					
	ズ抽出を行い、抽出操作及び遠心分離後に得られ	1た上澄液をヘキサ				
	ンで希釈して被験物質の定量分析に供した。					
	上記前処理法における被験物質の回収率は下記	己のとおりであった				
	(別添資料1参照)。					
	被験物質の回収率 (%) ブランク*3					
	97.0, 98.4 平均 97.7 不検出					
	*3 被験物質を添加しない餌料についても同様に	こ前処理し、被験物				
	質が検出されないことを確認した。					
試験魚中の被験物	試験魚中の被験物質分析は、サンプリングした記	式験魚5尾について				
質分析	個別に行った。					
	<前処理法>					
	アセトニトリル及びホモジナイザー (キネマチ)	カ製)を用いたホモ				
	ジナイズ抽出を行い、抽出操作及び遠心分離後の	の上澄液をアセトン				
	で希釈して被験物質の定量分析に供した。					
	上記前処理法における被験物質の回収率は下記	己のとおりであった				
	(別添資料1参照)。					
	被験物質の回収率 (%)	ブランク*4				
	94.8, 95.5 平均 95.2	不検出				
	*4 被験物質を添加しない試験魚サンプルについても同様に前処					
	理し、被験物質が検出されないことを確認した。					
脂質含量の分析	取込期間開始前及び各サンプリング時					
(試験魚)	分析に供した試験魚:各6尾(2尾1群、試験退	基数: n=3)				
	分析法:クロロホルム/メタノールによるホモジ	ナイズ抽出法				
	(Bligh & Dyer 法)					
脂質含量の分析	取込期間開始前及び取込期間終了後(取込 14	日後)(試験連数:				
(試験餌料)	n=3)					
	前処理及び分析法: 餌料(1g)に水(4 mL)を					
	浸漬後、クロロホルム/メタノールによるホモジュ	ナイズ抽出法 (Bligh				
	& Dyer 法)					

1.3.2. 試験結果

主な試験結果を図表3に示す。また、試験条件及び試験結果の詳細は別添資料1に示す。なお、本文の試験結果及び考察については、第2回ヒアリングを踏まえた記載となっている。

図表3 主な試験結果

() 内は変動係数

パラメータ	試験区A	試験区B	試験区C		
ハフメータ	(2.5%/day 給餌)	(2.0%/day 給餌)	(1.5%/day 給餌)		
試験餌料中被験物質濃度	93.3±2.28 (2%)				
$C_{ m food} (\mu m g/ m g)$					
試験餌料中脂質含量		12.4+0.250.(20/)			
$L_{ m food}$ (%)		12.4±0.350 (3%)			
成長速度定数 $k_{\rm g}({ m /day})$	0.0140	0.0107	0.00920		
試験魚中脂質含量増加速度	0.000200	0.0567	0.0217		
(%/day)	0.000300	0.0567	0.0217		
試験魚中脂質含量 Lfish (%)	5.67±1.080 (19%)	5.34±0.890 (17%)	5.10±0.804 (16%)		
試験魚中被験物質濃度	5.58±1.592 (29%)	4.60±1.094 (24%)	2 52 + 0 670 (270/)		
$C_{0\mathrm{m}}(\mu\mathrm{g/g})$	3.38±1.392 (29%)	4.00±1.094 (24%)	2.53±0.679 (27%)		
脂質含量 5%で標準化した					
試験魚中被験物質濃度	4.02±1.148 (29%)	4.07±0.969 (24%)	2.49±0.667 (27%)		
$C_{0\mathrm{m}}(\mu\mathrm{g/g})$					
取込期間における BMF					
(BMF*)	0.060±0.0171	0.049 ± 0.0117	0.027 ± 0.00728		
([試験魚中被験物質濃度]	(29%)	(24%)	(27%)		
/[餌料中被験物質濃度])					
脂質含量 5%で標準化した	0.043±0.0123	0.044 ± 0.0104	0.027 ± 0.00714		
取込期間における BMF	(29%)	(24%)	(27%)		
排泄速度定数 k2(/day)	0.162	0.198	0.193		
成長希釈補正した	0.148	0.188	0.184		
排泄速度定数 <i>k</i> 2g (/day)	0.146	0.100	0.164		
BMF_K	0.060	0.055	0.037		
$\mathrm{BMF}_{\mathrm{Kg}}$	0.066	0.058	0.038		

パラメータ	試験区A	試験区B	試験区C	
/\/\/\—/	(2.5%/day 給餌)	(2.0%/day 給餌)	(1.5%/day 給餌)	
脂質含量 5%で標準化した	0.050	0.054	0.027	
$\mathrm{BMF}_{\mathrm{Kg}}$	0.058	0.054	0.037	
BMF_{KL}	0.13	0.13	0.089	
$\mathrm{BMF}_{\mathrm{KgL}}$	0.14	0.13	0.093	
排泄半減期 t _{1/2} (day)	4.3	3.5	3.6	
成長希釈補正した	4.7	2.7	2.0	
排泄半減期 <i>t</i> _{1/2g} (day)	4.7	3.7	3.8	

1.3.2-(1) 給餌量の相違による各種 BMF への影響の確認

給餌量の相違による試験魚中脂質含量への影響及び各種 BMF への影響を把握するため、以下の(a)及び(b)の項目について検討した。

a. 試験魚中脂質含量の経時的変化の確認

試験区 A (2.5%/day 給餌)、試験区 B (2.0%/day 給餌)及び試験区 C (1.5%/day 給餌)の試験魚中脂質含量(試料3点の平均値)は、開始5日前:平均5.51%(試験区 A)、平均4.32%(試験区 B)及び平均5.00%(試験区 C)であり、排泄9日後(試験開始23日後):平均5.67%(試験区 A)、平均6.15%(試験区 B)及び平均5.90%(試験区 C)であった。試験期間中の各試験区における試験魚の脂質含量の増加速度(プロットの傾き)は、それぞれ0.00300%/day(試験区 A)、0.0567%/day(試験区 B)及び0.0217%/day(試験区 C)であった。試験区 A及び試験区 C は、脂質含量の増加はあまり認められなかったが、試験区 B は、増加する傾向が認められた。(図表4~7参照)。給餌量が多い方が、試験魚中脂質含量のばらつき(変動係数)が小さくなることを期待したが、試験区 A (変動係数7~25%)と試験区 B (変動係数7~24%)、試験区 C (変動係数4~17%)で顕著な差異は認められなかった。したがって、本試験の結果のみから、試験魚の脂質含量のばらつきを小さくするための給餌量について結論を出すことは困難であった。

図表 4 試験魚の脂質含量(試験区 A: 2.5%/day 給餌)単位 %

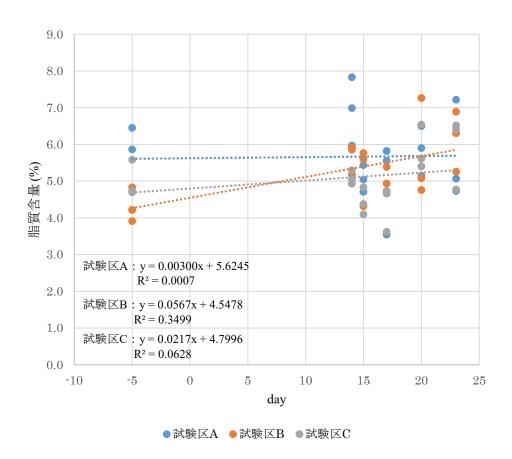
試料	開始 5 日前	取込 14 日後	排泄 1 日後	排泄 3 日後	排泄 6 日後	排泄 9 日後
	-5 day	7 day	15 day	17 day	20 day	23 day
試料-a	6.45	5.97	5.05	3.54	6.50	4.73
試料-b	4.21	7.83	4.71	5.82	5.15	5.07
試料-c	5.86	6.99	5.44	5.55	5.90	7.21
平均值	5.51	6.93	5.06	4.97	5.85	5.67
標準偏差	1.159	0.932	0.364	1.245	0.677	1.347
変動係数	21	13	7	25	12	24

図表 5 試験魚の脂質含量(試験区 B: 2.0%/day 給餌) 単位 %

試料	開始 5日前 -5 day	取込 14 日後 14 day	排泄 1 日後 15 day	排泄 3 日後 17 day	排泄 6 日後 20 day	排泄 9 日後 23 day
試料-a	3.91	5.18	4.32	4.70	7.26	5.26
試料-b	4.83	5.85	5.59	4.94	5.08	6.89
試料-c	4.22	5.91	5.77	5.38	4.76	6.30
平均值	4.32	5.65	5.23	5.01	5.70	6.15
標準偏差	0.468	0.409	0.790	0.346	1.363	0.826
変動係数	11	7	15	7	24	13

図表 6 試験魚の脂質含量(試験区 C:1.5%/day 給餌)単位 %

試料	開始 5日前 -5 day	取込 14 日後 14 day	排泄 1 日後 15 day	排泄 3 日後 17 day	排泄 6 日後 20 day	排泄 9 日後 23 day
試料-a	4.70	4.93	4.83	4.66	5.62	6.41
試料-b	5.58	5.05	4.10	3.62	6.54	6.52
試料-c	4.73	5.30	4.38	4.73	5.40	4.77
平均值	5.00	5.09	4.44	4.34	5.85	5.90
標準偏差	0.502	0.187	0.371	0.625	0.605	0.978
変動係数	10	4	8	14	10	17



図表 7 試験期間における試験魚の脂質含量(試験区 A、B 及び C)

b. 給餌量の相違による BMF データ安定性の確認

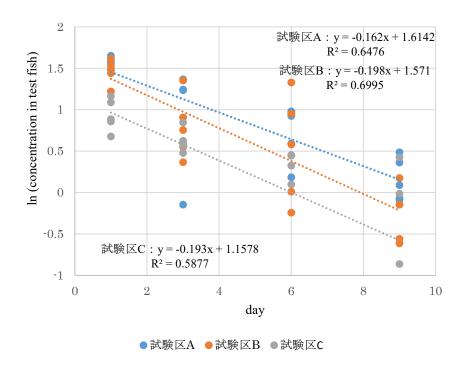
給餌量が多い方が、試験魚中脂質含量のばらつきが小さくなり、BMF データの安定性につながることを期待したが、上記(a)のとおり、試験魚中脂質含量のばらつきについて、各試験区で明確な差異は認められなかった。

また、試験魚間のBMF*のばらつき(変動係数)についても、いずれの試験区間で明確な差異は認められなかった [試験区A:29%、試験区B:24%、試験区C:27%(図表8及び9参照)]。しかしながら、本試験結果(試験区A及び試験区Bで認められたBMF*の変動係数(24~29%)は、令和4年度の本事業 [試験餌料へのオイル添加の有無により試験魚中脂質含量及びBMFのばらつきが抑制できるかの検討(給餌量2.5%/day、1日2回給餌、他の試験条件は本試験と同様)]におけるBMFのばらつきに関する検討結果(変動係数12~28%)と比較して差は認められなかった。

また、排泄速度を求めるための試験魚中の被験物質濃度と排泄期間日数との相関 式において、各試験区における決定係数は、それぞれ 0.6995 (試験区 A)、0.6476 (試験区B)及び0.5877 (試験区C)であり、給餌量が最も低い試験区Cの決定係数が小さかった。なお、令和4年度の本事業における試験区B(オイル添加有)の決定係数は、0.6319であり、本試験の試験区A及び試験区Bと同程度であった。

図表 8 取込期間における経口生物濃縮係数 (BMF) (取込 14 日後)

試料	試験区A	試験区B	試験区C
試料-a	0.045	0.068	0.029
試料-b	0.073	0.043	0.035
試料-c	0.038	0.045	0.020
試料-d	0.075	0.038	0.019
試料-e	0.067	0.052	0.032
平均値	0.060	0.049	0.027
標準偏差	0.0171	0.0117	0.00728
変動係数	29	24	27



図表 9 排泄期間における試験魚中の被験物質濃度(試験区 A、B 及び C)

上記(a)及び(b)より、給餌量の相違による試験魚中脂質含量のばらつき(変動係数)の抑制効果は十分に認められなかったものの、試験魚中脂質含量が増加あるいは維持することが確認された。また、「試験魚間の BMF データのばらつきの低減」については、十分な効果が認められなかったが、「BMF データの日間再現性の改善」については 2.0%/day 以上の給餌量において、再現性の良い結果が得られた。以上のことから、試験魚間の BMF のばらつきは、生物の個体間のばらつきである可能性が示唆された。

1.3.2-(2) 速度論による生物濃縮係数(BMF_K)、成長希釈補正した速度論による生物濃縮係数(BMF_{Kg})、脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数(BMF_{Kg})、成長希釈補正及び脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数(BMF_{KgL})における令和 4 年度に実施した結果(5%オイル添加餌料、2 回給餌)との比較

速度論による生物濃縮係数(BMF $_K$)、成長希釈補正した速度論による生物濃縮係数(BMF $_{Kg}$)、脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数(BMF $_{Kg}$ L)及び成長希釈補正及び脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数(BMF $_{Kg}$ L)を図表 10に示した。なお、試験期間中における試験魚の平均脂質含量(試験区 A:5.67%、試験区 B:5.34%、試験区 C:5.10%)並びに取込開始前及び取込期間終了時の試験餌料の平均脂質含量 12.4%を用いて算出した。試験区 A(2.5%/day 給餌)及び試験区 B(2.0%/day 給餌)において各パラメータに顕著な差は認められなかった。一方、試験区 C(1.5%/day 給餌)は試験区 C(1.5%/day 給餌)は対験区 C(1.5%/day 給餌)は対象区 C(1.5%/day 給 C(1.5%/day 給餌)は対象区 C(1.5%/day 給餌)は対象区 C(1.5%/day 給餌)は対象区 C(1.5%/day 給 C(1.5%/day)

各パラメータは、試験区 A 及び試験区 B と令和 4 年度の本事業における BMF のばらつきに関する検討結果(試験区 B: オイル添加有)と比較して差は認められなかった。

図表 10 各種 BMF

試験区	BMF_K	$\mathrm{BMF}_{\mathrm{Kg}}$	脂質含量 5%で標準化 した BMF _{Kg}	$\mathrm{BMF}_{\mathrm{KL}}$	$\mathrm{BMF}_{\mathrm{KgL}}$
A	0.060	0.066	0.058	0.13	0.14
В	0.055	0.058	0.054	0.13	0.13
С	0.037	0.038	0.037	0.089	0.093
令和4年度	0.076	0.082	0.068	0.13	0.14

1.4. 結論(まとめ)

- ・給餌量及び給餌方法 [1日2回給餌(令和4年度)、1日1回給餌(本試験)]の相違による試験魚中脂質含量のばらつき(変動係数)の抑制効果は十分に認められなかったものの、試験魚中脂質含量が増加、あるいは維持することが確認された。また、給餌量の相違による「試験魚間のBMFデータのばらつきの低減」についても、十分な効果が認められなかった。一方、2.0%/day 及び2.5%/day の給餌量であれば、令和4年度の本事業におけるBMFのばらつきに関する検討結果(給餌量2.5%/day)と同程度の結果が得られており、「BMFデータの日間再現性」が得られた。
- ・令和4年度も含めて2か年の試験より、BMF*の試験魚間のばらつきは30%以内(変動係数18~29%)に収まったものの一定のばらつきが生じる結果となった。ばらつきの低減に寄与する試験条件として考えられた餌料の脂質含量や給餌方法に着目し条件を変えて試験を実施し比較を行ったが、有意な低減効果が見られなかったことから、このばらつきは、生物の個体差由来による可能性が考えられる。
- ・本試験において、試験区によらず BMF*の試験魚間のばらつきは 30%以内(変動係数 $24\sim29\%$)であったこと、試験区 A (2.5%/day 給餌)と試験区 B (2.0%/day 給餌)で BMF $_{K}$ 、BMF $_{K}$ 及び脂質含量 5%で標準化した BMF $_{K}$ $_{K}$ について大きな差異がなく、試験結果の再現性が高いことから、NIP は餌料投与法の基準物質として利用できる可能性がある。

本試験結果における有識者の意見を以下に記載する。

有識者からの意見:

- 取込期間における BMF のばらつき、変動係数 (CV) 30%は生物の個体間の ばらつきであることについて同様の意見が複数あった。
- 給餌量 1.5%/day における試験結果が低かった原因は、NIP の試験魚体内量が飽和に達していなかったからではないか。
- 給餌量 2.5%/day と 2.0%/day で取込期間における BMF は差があるが、脂質含量 5%で標準化した取込期間における BMF では差がない結果であった。 一方、排泄速度定数は給餌量 2.5%/day と 2.0%/day は差があり、給餌量 2.0%/day の排泄速度定数は、給餌量 1.5%/day の排泄速度定数と近い値であった。給餌量 2.5%/day の排泄速度定数は給餌量 2.0%/day と 1.5%/day の排泄速度定数より小さいことから、令和 4 年度のオイル添加有の結果と同様の

傾向を示している。したがって、給餌量は2.5%/dayの方が良い。

● 安全サイドを考慮すること及び Inoue et al., 2012 の結果より、給餌量2.5%/day の方が良いとの意見が複数あった。

1.5. 今後の課題

1.5.1. 本年度事業の結果に基づく課題

・給餌量及び給餌方法 [1日2回給餌(令和4年度)、1日1回給餌(本試験)] の相違による、試験魚間及び試験間のばらつきを抑えた BMF_{Kg} が得られる可能性が考えられたが、給餌量が 2.0%/day 及び 2.5%/day の結果と令和4年度の結果(給餌量 2.5%/day) に差が認められなかった。このため、現状の BMF のばらつき(CV30%以内) は、生物の個体間のばらつき(脂質含量、代謝能など)に由来する可能性が考えられる。一定のばらつきが生じることから、餌料投与法における BMF のばらつきの許容範囲を検証することも視野に入れつつ、複数の物質のBMF のデータを取得することが必要と考えられる。

1.5.2. 引き続き検討すべき課題

(1) 専門家へのヒアリングより、化審法の新規届出で提出されている餌料投与 法の試験成績を見ると、試験濃度が高く、BMF が過少評価されているので はないかとのコメントがある(水暴露法でも試験濃度が高いと、特定の構造 群において BCF が過小評価されることがある)。また、令和3年度の本事 業において o-テルフェニルのように設定濃度に対する濃度依存性(本来で あれば、試験濃度に関係なく BMF は一定の値が得られると考えられるが、 o-テルフェニルの場合、試験濃度が高くなると BMF が高くなる傾向にある) がある物質が確認されている。本試験では、給餌量の相違により、各種 BMF に差が認められた [試験区 C (1.5%/day 給餌) は試験区 A (2.5%/day 給餌) 及び試験区 B(2.0%/day 給餌)と比較して、低い傾向にあった]。 NIP につ いては、3%/day 給餌による 2 濃度区 (100 μg/g 及び 1000 μg/g) の既報デー タがあり、BMF 値に濃度依存性はないことから(Inoue at al., 2011)、試験 区 C の各種 BMF が低くなった要因として、給餌量(1.5%/day 給餌)が少な く試験魚中における NIP 濃度が飽和に達していなかった可能性が考えられ る。

BMF の濃度依存性の確認については、o-テルフェニルの試験結果のみで直

- ちに結論を出すことはできないため、複数の物質で検討することが必要と 考えられる。
- (2) 試験区によらず BMF*の試験魚間のばらつきは 30%以内(変動係数 24~29%)であったこと、試験区 A (2.5%/day 給餌)と試験区 B (2.0%/day 給餌)で BMF_K、BMF_{Kg}及び脂質含量 5%で標準化した BMF_{Kg}について大きな差異がなく、試験結果の再現性が高いことから、NIP は餌料投与法の基準物質として利用できると考えられる。一方、試験ごとに毎回添加することを考慮すると、令和 3 年度の本事業において基準物質の候補物質として選定した 2 物質を含めて、より安価で取り扱いが容易な物質を検証することが必要と考えられる。
- (3) 令和3年度の本事業において、判定基準の拡充のため、現在のBCF-BMFの回帰式の精度向上への寄与が期待される物質として選定された9物質等のBMFデータを取得する。データを取得する際は、給餌量2.5%/day、1日2回給餌による給餌方法で実施し、NIP以外の物質で生物の個体間のばらつきについても確認し、餌料投与法におけるBMFのばらつきの許容範囲も検証することを視野に入れる必要があると考えられる。
- (4) 上記の検討により仮説が明確になった場合には、他の GLP 機関の協力を得て試験(リングテスト)を実施し、データを収集・解析して、仮説の妥当性を検証することが必要と考えられる。

今後の課題における有識者の意見を以下に記載する。

有識者からの意見:

- 給餌方法は、「給餌量 2.5%/day、1 日 2 回給餌」で良いとの意見が複数 あった。
- NIP を基準物質とすることは良いが、他の物質でも引き続き検討が必要である。また、濃度依存性の確認は検討すべきである。
- リングテストを実施し、他の GLP 機関でも本事業で得られた結果と同様な試験結果 (BMF のばらつき) が得られるか検証が必要との意見が複数あったが、試験条件を精査した上での実施が望ましい。
- 化学物質(刺激臭等)によっては、餌料を食べない等、イレギュラーな場合の対応策を考えてほしい。
- 本事業の今後の課題を整理し、優先順位を決めて検討すべきである。

1.6. 参考資料

- (1) 令和 4 年度化学物質安全対策(化学物質の分解性及び蓄積性に係る総合的評価の導入に関する調査)報告書
- (2) Comparison of Bioconcentration and Biomagnification Factors for Poorly Water-Soluble Chemicals Using Common Carp (*Cyprinus carpio* L.), Inoue *et al.* (2012) https://doi.org/10.1007/s00244-012-9761-8
- (3) Comparison of Nitrofen Uptake via Water and Food and its Distribution in Tissue of Common Carp, *Cyprinus carpio* L., Inoue *et al.* (2011) https://doi.org/10.1007/s00128-011-0356-2

2.4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテルのコイを用いる濃縮度試験(餌料投与法)

1. 試験目的

1日当たりの給餌量を変えて餌料投与法を実施することにより、給餌量(摂餌量)が試験魚中脂質含量の推移及びBMFのばらつきに与える影響について確認した。

2. 試験の実施

2.1. 被験物質

下表に示す 2,4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル (NIP) を被験物質とした。

名 称	構造式及び分子量	CAS 番号	入手先	純度
2,4-ジクロロフェニル- 4'-ニトロフェニル エーテル	CI————————NO ₂ 分子量 284.09	1836-75-5	富士フイルム 和光純薬	99.7%

2.2. 試験濃度及び給餌量

試験餌料中の NIP 濃度及び給餌量(1 日あたりの魚体重の割合)は以下のとおりとした。

試験区 A: NIP 濃度: 100 μg/g, 給餌量: 2.5%/day 試験区 B: NIP 濃度: 100 μg/g, 給餌量: 2.0%/day 試験区 C: NIP 濃度: 100 μg/g, 給餌量: 1.5%/day

2.3. 試験餌料の調製

被験物質($20.0 \,\mathrm{mg}$)をアセトン($10 \,\mathrm{mL}$)で溶解させたところに、コーン油(富士フイルム和光純薬、生化学用)5%を添加した餌料 *1 ($200 \,\mathrm{g}$)を加え振とうした。この操作を $2 \,\mathrm{回行}$ い *2 、一つに混合したものを $19 \,\mathrm{時間風乾処理し、被験物質濃度として 100}$ $\mu\mathrm{g}/\mathrm{g}$ の試験餌料を調製した。

- *1 製造元から購入した餌料(400g)にコーン油(20.0g)を加え、混和したもの。
- *2 餌料400gと被験物質を一度に混合することが困難なため、2回に分けて行った。

餌料: 錦鯉用飼料 [ひかり胚芽 沈下(中粒)] 粒 径 4.0~4.3 mm(製造元情報)

組 成(製造元情報)

粗蛋白質 30%以上、粗脂肪 4.0%以上、 粗繊維 4.0%以下、水分 10%以下、 灰分 13%以下、りん 0.6%以上

製造元 キョーリンフード工業

2.4. 試験餌料及び試験魚の分析

試験餌料及び試験魚中の被験物質分析はガスクロマトグラフィーー質量分析法 (GC-MS) により行った。

2.4.1. 分析回数

a. 試験餌料

取込期間開始前及び終了時(取込期間中の最後の給餌後)に行った。1回当たりの分析試料は3点とした。

b. 試験魚

取込期間 (14日後) 及び排泄期間 (1日後、3日後、6日後及び9日後) に行った。試験区 A、試験区 B 及び試験区 C からそれぞれ 11 尾を採取し、このうち、5 尾を被験物質の分析(個別分析)、6 尾を脂質含量測定 [3 群 (2 尾 1 群)] とした。

2.4.2. 試験餌料の前処理法

へキサン及びホモジナイザー (キネマチカ製) を用いたホモジナイズ抽出を行い、抽出操作及び遠心分離後に得られた上澄液をヘキサンで希釈して被験物質の定量分析に供した。

2.4.3. 試験魚の前処理法

アセトニトリル及びホモジナイザー (キネマチカ製) を用いたホモジナイズ抽出 を行い、抽出操作及び遠心分離後の上澄液をアセトンで希釈して被験物質の定量分 析に供した。

2.4.4. 定量分析

2.4.4-(1) 定量方法

本定量方法の有効性を確認するため、2.4.4-(3) 標準溶液の調製に従って調製した 0.0100、0.0500、0.100 及び 0.200 mg/L の 4 濃度の試験餌料分析用標準溶液、0.0100、0.0250、0.0500 及び 0.100 mg/L の 4 濃度の試験魚分析用の標準溶液を用いて検量線(最小二乗法による回帰式:Y = aX + b, Y: 応答量,X: 被験物質濃度)を作成した。相関係数r は 0.995 以上であり、切片 b の絶対値は応答量の最大値の 5%以内であったことから、検量線は原点を通過する直線とみなし、被験物質の定量は 1 濃度の標準溶液を用いた絶対検量線法で行った。

2.4.4-(2) 分析条件

機器 ガスクロマトグラフー質量分析計(GC-MS)

ガスクロマトグラフ: 7890B (Agilent Technologies)

質量分析計 : 5977B MSD (Agilent Technologies)

カラム : DB-1MS UI

(30 m × 0.25 mm I.D., 膜厚 0.25 μm, Agilent Technologies)

測定イオン : m/z 202 [M-NO₂-Cl]⁺

2.4.4-(3) 標準溶液の調製

a. 試験餌料

試験餌料中の夾雑物が被験物質の分析感度に影響を与えるため、下記の操作により 標準溶液を調製した。

被験物質をアセトンに溶解して 1000 mg/L の被験物質溶液を調製した。これをヘキサンで希釈して 2.00 mg/L の被験物質溶液を調製した。さらに、試験餌料前処理 法と同様に調製した試験餌料ブランク溶液に上記で調製した 2.00 mg/L の被験物質溶液を添加して 0.100 mg/L の標準溶液を調製した。

b. 試験魚

試験魚中の夾雑物が被験物質の分析感度に影響を与えるため、下記の操作により標準溶液を調製した。

被験物質をアセトンに溶解して 1000 mg/L の被験物質溶液を調製した。これをアセトンで希釈して 1.00 mg/L の被験物質溶液を調製した。さらに、試験魚前処理法と同様に調製した試験魚ブランク溶液に上記で調製した 1.00 mg/L の被験物質溶液を添加して 0.0500 mg/L の標準溶液を調製した。

2.4.5. 回収試験

a. 試験餌料

(i) 方法

試験餌料については、被験物質を含まない餌料(オイル添加有)1gに以下の量の被験物質を添加した。この試料を用いて、試験餌料の前処理操作に従い回収試験を実施した。また、被験物質を加えない餌料について、ブランク試験を行った。回収試験及びブランク試験は、各2点について測定した。

試験餌料濃度: $100 \mu g/g$ [餌料 1 g に被験物質を $100 \mu g$ (1000 m g/L の被験物質溶液を $100 \mu L$) 添加]

(ii) 結果

a.-(i) の方法により測定した結果、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。試験餌料分析操作における2点の回収率及び平均回収率を以下に示した。

97.0%, 98.4% 平均 97.7%

b. 試験魚

(i) 方法

試験魚については、魚を細切化したもの (5g) に以下の量の被験物質を添加した。この試料を用いて、試験魚の前処理操作に従い回収試験を実施した。また、被験物質を加えない細切化した魚 (5g) について、ブランク試験を行った。回収試験及びブランク試験は、各 2 点について測定した。

試験魚中濃度: $5 \mu g/g$ [試験魚 5 g に被験物質を $25 \mu g$ (250 m g/L の被験物質溶液) を $100 \mu L$) 添加]

(ii) 結果

b.-(i) の方法により測定した結果、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。試験魚分析操作における2点の回収率及び平均回収率を以下に示した。

94.8%, 95.5% 平均 95.2%

2.4.6. 脂質含量の測定

a. 試験餌料

取込期間開始前及び終了時に行った。測定は、餌料(1g)に水(4mL)を添加し90分間以上浸漬後、クロロホルム/メタノール抽出による重量法(Bligh & Dyer 法)で行い、各測定の分析試料は3点とした。

b. 試験魚

取込開始前、取込期間(14日後)及び排泄期間(1日後、3日後、6日後及び9日後)に行った。測定はクロロホルム/メタノール抽出による重量法(Bligh & Dyer法)で行い、6尾を3群(2尾1群)に分けて測定した。

2.4.7. 試験及び環境条件

設定濃度 100 μg/g

試験魚 コイ Cyprinus carpio

試験水流量 試験用水 800 mL/分で 1152 L/日を試験水槽に供した

(試験水量 約50L)。

試験温度 試験区 A 23.8~24.4℃

試験区B 24.0~24.7℃

試験区 C 24.0~24.5℃

溶存酸素濃度 試験区 A 6.9~7.6 mg/L

試験区B 7.1~7.5 mg/L

試験区 C 7.2~7.7 mg/L

pH 試験区A 7.7~8.0

試験区B 7.8~8.0

試験区 C 7.7~8.0

ばっ気連続してエアレーションを行った。

照光時間 14時間明/10時間暗(白色蛍光灯による人工照明)

試験魚数 65 尾/試験区

給餌量 試験区 A 2.5%/day

試験区 B 2.0%/day

試験区 C 1.5%/day

給餌方法 上記1日当たりの給餌量を1日1回給餌し、試験魚が試験餌

料を適切に摂餌していることを確認した。取込期間の給餌量

は取込期間開始前に採取した試験魚体重の平均値(10尾)

から決定した。摂餌中は、約20分間試験水の供給を停止し

た。

取込期間 14 日間 (サンプリング:14 日後)

排泄期間 9日間(サンプリング:1日後、3日後、6日後、9日後)

2.5. 試験結果の算出法

2.5.1. 試験餌料の脂質含量

試験餌料の脂質含量は次式に従って算出した。

脂質含量 (%) = (T-T₀) / S × 100

T₀ : 容器の質量 (g)

T:抽出操作後の試料(容器+脂質)の質量(g)

S: 試験餌料の分取量 (g)

2.5.2. 試験餌料中の被験物質濃度

試験餌料中における被験物質濃度は、次式に従って算出した。

試験餌料中の各濃度(C_{food}) = $\left(\frac{P \times A(t) \times C}{A(\text{std}) \times B \times F} - D\right) \times \frac{100}{E}$

P:標準溶液の濃度 (mg/L)

A(std) :標準溶液の測定値

A(t) : 試料の測定値

B : 分取比

C : 最終液量 (mL)

E : 回収率 (%)

F :試験餌料採取量 (g)

D: ブランク試験における試験餌料中の平均ブランク濃度 (μg/g)

2.5.3. 試験魚の脂質含量

試験魚の脂質含量は次式に従って算出した。

脂質含量 (%) = (T-T₀) / S × 100

T₀ : 容器の質量 (g)

T:抽出操作後の試料(容器+脂質)の質量(g)

S: 試験魚微細化試料の分取量 (g)

2.5.4. 試験魚中の被験物質濃度及び脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度 試験魚中における被験物質濃度は、次式に従って算出した。

試験魚中の各濃度
$$(C_f) = \left(\frac{P \times A(t) \times D \times C}{A(std) \times B \times G} - E\right) \times \frac{100}{F}$$

P : 標準溶液の濃度 (mg/L)

A(std) :標準溶液の測定値

A(t) : 試料の測定値

D : 希釈倍率

B : 分取比

C : 最終液量 (mL)

F : 回収率 (%)

G : 試験魚体重 (g)

E: ブランク試験における試験魚中の平均ブランク濃度 (μg/g)

脂質含量5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度は、次式に従って算出した。

脂質含量 5%で標準化した試験魚中の各濃度= $C_{
m f} imes rac{5}{L_{
m fish-n}}$

C_f : 試験魚中の各濃度 (μg/g)

 $L_{\text{fish-n}}$: 各サンプリング時における試験魚の平均脂質含量 (%)

2.5.5. 取込期間における経口生物濃縮係数及び脂質含量 5%で標準化した取込期間における経口生物濃縮係数

取込期間における経口生物濃縮係数は、次式に従って算出した。

$$BMF = \frac{C_{0m}}{C_{food}}$$

BMF : 取込 14 日後における経口生物濃縮係数

 C_{0m} : 取込 14 日後における試験魚中の被験物質濃度($\mu g/g$)

 C_{food} : 試験餌料中の平均被験物質濃度($\mu g/g$)

脂質含量 5%で標準化した取込期間における経口生物濃縮係数は、次式に従って算出 した。

脂質含量 5%で標準化した BMF = BMF $imes rac{5}{L_{\mathrm{fish-n}}}$

BMF : 経口生物濃縮係数

 L_{fish-n} : 各サンプリング時における試験魚の平均脂質含量 (%)

- 2.5.6. 速度論による生物濃縮係数 (BMF_K)、成長希釈補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{Kg})、脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{KL})、成長希釈補 正及び脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{KgL})
- 2.5.6-(1) 速度論による経口生物濃縮係数 (BMF_K)

被験物質の速度論による経口生物濃縮係数は、次式に従って算出した。

$$\alpha = \frac{C_{0d} \times k_2}{I \times C_{food}} \times \frac{1}{1 - e^{(-k_2 \cdot t)}}$$

$$BMF_{K} = \frac{I \times \alpha}{k_{2}}$$

α : 生体内吸収効率

C_{0d}: 排泄期間開始時における試験魚中の被験物質濃度 (μg/g)

*k*₂ : 排泄速度定数 (/day)

I: 給餌量 (g food/g fish/day)

 C_{food} : 試験餌料中の平均被験物質濃度 $(\mu g/g)$

t : 取込期間の長さ (day)

BMF_K : 速度論による BMF

2.5.6-(2) 成長希釈補正した速度論による経口生物濃縮係数 (BMF_{Kg})

成長希補正した被験物質の速度論による経口生物濃縮係数は、次式に従って算出した。

$$k_{2g} = k_2 - k_g$$

$$BMF_{Kg} = \frac{I \times \alpha}{k_{2g}}$$

k2g : 成長希釈補正した排泄速度定数 (/day)

 k2
 : 排泄速度定数 (/day)

 kg
 : 成長速度定数 (/day)

BMF_{Kg} :成長希釈補正した BMF

I: 給餌量 (g food/g fish/day)

α : 生体内吸収効率

2.5.6-(3) 脂質含量補正した経口生物濃縮係数 (BMFL、BMFKL及びBMFKgL)

脂質含量補正した被験物質の速度論による経口生物濃縮係数は、次式に従って算出 した。

$$Lc = \frac{L_{fish}}{L_{food}}$$

$$BMF_L$$
 or BMF_{KL} or $BMF_{KgL} = \frac{BMF \text{ or } BMF_K \text{ or } BMF_{Kg}}{L_c}$

L_c : 平均脂質含量 (%)

Lfish: 実験期間中における試験魚の平均脂質含量(%)

L_{food}: 取込開始前及び取込終了時における試験餌料の平均脂質含量(%)

BMF_L : 脂質含量補正した BMF

BMF_{KL} : 脂質含量補正した BMF_K

BMF_{KgL} : 脂質含量補正した BMF_{Kg}

BMF : 経口生物濃縮係数

BMF_K: 速度論による経口生物濃縮係数

BMF_{Kg} : 成長希釈補正した経口生物濃縮係数

2.5.7. 排泄半減期 ($t_{1/2}$) 及び成長希釈補正した排泄半減期 ($t_{1/2}$)

排泄半減期及び成長希釈補正した排泄半減期は、次式に従って算出した。

排泄半減期 =
$$\frac{-\ln(0.50)}{k_2}$$
 = $\frac{0.693}{k_2}$

k₂ : 排泄速度定数 (/day)

成長希釈補正した排泄半減期 = $\frac{0.693}{k_{2g}}$

k_{2g} :成長希釈補正した排泄速度定数 (/day)

2.6. 試験結果

2.6.1. 試験餌料の脂質含量

試験餌料の脂質含量を表 1-1 に示した。試験期間中における試験餌料の脂質含量は平均 12.4%であり、試験法記載の範囲(10~15%程度)を満たしていた。

表 1-1 試験餌料の脂質含量

単位 %

試料	開始前	終了時
試料-a	12.8	11.9
試料-b	12.6	12.4
試料-c	12.5	12.1
平均値	12.6	12.1
試験期間における平均	12	2.4
標準偏差	0.350	
変動係数		3

2.6.2. 試験餌料中の被験物質濃度

試験餌料中の被験物質濃度を表 1-2 に示した。試験期間中における被験物質の設定濃度に対する濃度保持率は、平均 93.3%であった。また、取込期間開始前の平均値に対する試料間の変動は、-3~2%であり、試験法の有効性基準である±15%以内であった。また、取込期間開始前の平均値に対する取込期間終了時の平均値の変動は-3%であり、試験法の有効性基準である±20%以内であった。したがって、試験に用いた試験餌料の被験物質の濃度保持率及び均一性は良好であった。

表 1-2 試験餌料中の被験物質濃度

単位 μg/g

試料	開始前	終了時
試料-a	92.4	91.2
試料-b	95.3	91.2
試料-c	96.8	93.0
平均值	94.9	91.8
取込期間における平均	93	3.3
標準偏差	2.28	
変動係数	2	

2.6.3. 試験魚の外観観察等

試験期間中に試験魚に異常は認められなかった。

2.6.4. 試験魚の体重

試験期間中の試験魚体重を表 1-3~表 1-10 に、試験期間における成長速度定数を表 1-11 にそれぞれ示した。なお、各試験区の試験魚体重については、被験物質測定用試験魚、脂質含量測定用試験魚及び取込期間開始前の給餌量補正に使用した試験魚に分けて表にまとめた。

また、試験魚体重の推移を、試験魚体重の対数を縦軸、(取込開始時を 0 day として) 日数を横軸としてプロットし、図 1-1~図 1-3 に示した。なお、各試験区の試験魚体重については、被験物質測定用試験魚、脂質含量測定用試験魚及び取込期間開始前の給餌量補正に使用した試験魚のデータを合わせてプロットした。各試験区の成長速度定数(プロットの傾き)は、それぞれ 0.0140/day (試験区 A)、0.0107/day (試験区 B) 及び 0.00920/day (試験区 C) であり、試験区 A、試験区 B、試験区 Cの順に低くなった。また、前年度の試験区 B (オイル添加有、2.5%/day 給餌) における成長速度定数は、0.0130/day であり、試験区 A 及び B と同程度であった。

表 1-3 試験魚体重(試験区 A: 2.5%/day 給餌, 被験物質測定用)

単位 g

						•
試料	開始前	取込 14 日後 14 day	排泄 1 日後 15 day	排泄 3 日後 17 day	排泄 6 日後 20 day	排泄 9 日後 23 day
		14 day	15 day	1 / day	20 day	25 day
試料-a	_	5.33	5.02	4.79	5.58	5.80
試料-b	-	4.85	4.75	5.40	4.55	6.68
試料-c	_	4.75	4.58	4.90	6.13	6.89
試料-d	_	5.29	5.03	5.39	5.36	5.74
試料-e		5.35	4.99	5.56	5.69	4.61
平均値	_	5.11	4.87	5.21	5.46	5.94
標準偏差	_	0.290	0.201	0.340	0.582	0.905
変動係数	_	6	4	7	11	15

一:未実施

表 1-4 試験魚体重 (試験区 A: 2.5%/day 給餌, 脂質含量測定用)

単位 g

試料	開始 5日前	取込 14 日後	排泄 1日後	排泄 3 日後	排泄 6日後	排泄 9日後
	-5 day	14 day	15 day	17 day	20 day	23 day
試料-a	3.42	4.77	3.62	5.05	4.41	4.93
試料-b	4.03	4.04	5.36	4.02	5.00	5.46
試料-c	4.13	4.22	3.85	4.88	4.09	4.85
試料-d	3.51	4.40	5.48	3.74	4.03	4.34
試料-e	3.73	4.52	5.52	4.73	6.38	6.68
試料-f	3.49	4.10	3.70	4.34	3.42	4.80
平均値	3.72	4.34	4.59	4.46	4.56	5.18
標準偏差	0.300	0.277	0.952	0.515	1.032	0.819
変動係数	8	6	21	12	23	16

表 1-5 試験魚体重 (試験区 B: 2.0%/day 給餌, 被験物質測定用)

単位 g

試料	開始前	取込 14 日後 14 day	排泄 1 日後 15 day	排泄 3 日後 17 day	排泄 6 日後 20 day	排泄 9日後 23 day
試料-a	_	4.94	4.78	5.32	5.35	5.94
試料-b	_	4.98	4.45	4.93	4.77	5.42
試料-c	_	4.95	5.54	4.33	4.83	6.38
試料-d	_	4.54	4.82	5.12	5.93	5.67
試料-e		5.14	4.65	4.81	4.69	5.10
平均値	_	4.91	4.85	4.90	5.11	5.70
標準偏差	_	0.222	0.413	0.374	0.524	0.490
変動係数	_	5	9	8	10	9

-: 未実施

表 1-6 試験魚体重 (試験区 B: 2.0%/day 給餌, 脂質含量測定用)

単位 g

試料	開始 5 日前	取込 14 日後	排泄 1日後	排泄 3 日後	排泄 6 日後	排泄 9 日後
	-5 day	14 day	15 day	17 day	20 day	23 day
試料-a	3.45	4.53	4.64	3.85	6.19	4.81
試料-b	4.43	5.13	4.61	4.68	4.20	5.26
試料-c	3.68	5.93	4.37	5.82	6.72	6.02
試料-d	4.09	4.25	5.82	4.31	3.90	4.50
試料-e	3.96	5.58	5.84	5.52	4.36	8.15
試料-f	4.02	4.25	4.54	3.97	6.26	5.62
平均値	3.92	4.95	4.97	4.69	5.27	5.73
標準偏差	0.315	0.714	0.673	0.817	1.247	1.306
変動係数	8	14	14	17	24	23

表 1-7 試験魚体重 (試験区 C: 1.5%/day 給餌, 被験物質測定用)

単位 g

試料	開始前	取込 14 日後 14 day	排泄 1 日後 15 day	排泄 3 日後 17 day	排泄 6日後 20 day	排泄 9日後 23 day
試料-a	_	4.97	4.86	5.18	4.77	5.07
試料-b	_	5.32	5.22	5.27	4.58	4.99
試料-c	_	5.28	4.98	4.80	4.67	5.18
試料-d	_	4.90	5.07	4.98	4.99	5.44
試料-e	_	4.86	4.93	4.63	5.07	6.13
平均値	_	5.07	5.01	4.97	4.82	5.36
標準偏差	_	0.218	0.139	0.264	0.209	0.462
変動係数	_	4	3	5	4	9

-: 未実施

表 1-8 試験魚体重 (試験区 C: 1.5%/day 給餌, 脂質含量測定用)

単位 g

						_
試料	開始 5日前 -5 day	取込 14 日後 14 day	排泄 1日後 15 day	排泄 3 日後 17 day	排泄 6 日後 20 day	排泄 9日後 23 day
試料-a	4.04	4.27	4.62	4.53	4.95	4.63
試料-b	3.92	5.35	5.13	4.68	6.54	6.17
試料-c	3.79	4.88	4.65	5.64	6.65	7.10
試料-d	4.08	4.33	4.50	4.13	4.43	4.53
試料-e	4.08	4.31	5.14	5.55	6.13	4.65
試料-f	4.29	5.42	4.07	4.28	4.42	5.64
平均値	4.03	4.76	4.69	4.80	5.52	5.45
標準偏差	0.169	0.534	0.406	0.644	1.040	1.043
変動係数	4	11	9	13	19	19

表 1-9 試験魚体重(取込開始前,給餌量補正に使用)

単位 g

			_
試料	試験区 A -5 day	試験区 B -5 day	試験区 C -5 day
	Jaay	5 day	5 day
試料-g	3.62	4.02	3.65
試料-h	3.40	3.74	4.79
試料-i	3.16	4.48	3.92
試料-j	3.32	4.56	4.53
平均値	3.38	4.20	4.22
標準偏差	0.191	0.388	0.528
変動係数	6	9	13

表 1-10 試験魚の成長速度定数 (kg) 単位 /day

試験区	成長速度定数
A	0.0140
В	0.0107
С	0.00920

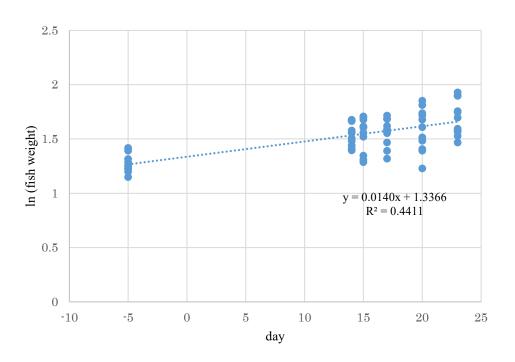


図 1-1 試験期間における試験魚体重 (試験区 A: 2.5%/day 給餌)

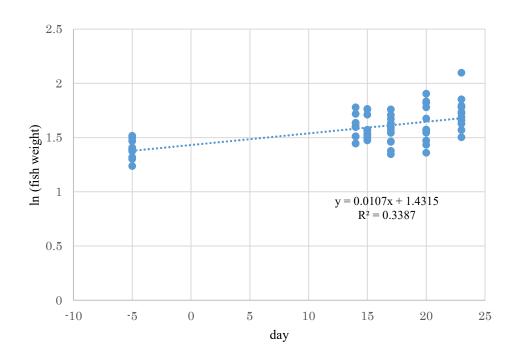


図 1-2 試験期間における試験魚体重(試験区 B: 2.0%/day 給餌)

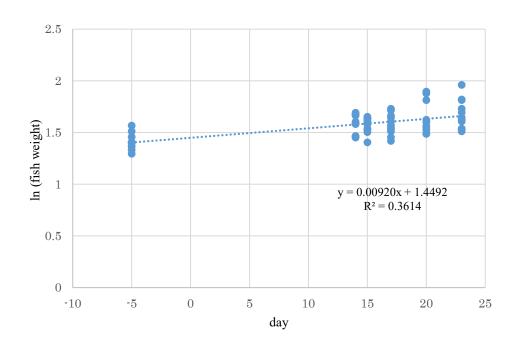


図 1-3 試験期間における試験魚体重(試験区 C:1.5%/day 給餌)

2.6.5. 試験魚の脂質含量

試験魚の脂質含量を表 1-11 及び表 1-13 に示した。また、試験魚中の脂質含量の推移を、試験魚中の脂質含量を縦軸、日数を横軸としてプロットし、図 1-4 に示した。開始5 日前の試験魚の脂質含量は、それぞれ平均5.51% (試験区 A)、平均4.32% (試験区 B)及び平均5.00% (試験区 C)であり、排泄9日後の脂質含量は、それぞれ平均5.67% (試験区 A)、平均6.15% (試験区 B)及び平均5.90% (試験区 C)であった。試験期間中の各試験区における試験魚の脂質含量の増加速度(プロットの傾き)は、それぞれ0.00300%/day (試験区 A)、0.0567%/day (試験区 B)及び0.0217%/day (試験区 C)であった。試験区 A及び試験区 Cは、脂質含量の増加はあまり認められなかったが、試験区 Bは、増加する傾向が認められた。

表 1-11 試験魚の脂質含量(試験区 A: 2.5%/day 給餌) 単位 %

試料	開始 5 日前	取込 14 日後	排泄 1 日後	排泄 3 日後	排泄 6 日後	排泄 9 日後
	-5 day	7 day	15 day	17 day	20 day	23 day
試料-a	6.45	5.97	5.05	3.54	6.50	4.73
試料-b	4.21	7.83	4.71	5.82	5.15	5.07
試料-c	5.86	6.99	5.44	5.55	5.90	7.21
平均值	5.51	6.93	5.06	4.97	5.85	5.67
標準偏差	1.159	0.932	0.364	1.245	0.677	1.347
変動係数	21	13	7	25	12	24

表 1-12 試験魚の脂質含量(試験区 B: 2.0%/day 給餌) 単位 %

試料	開始 5日前	取込 14 日後	排泄 1日後	排泄 3日後	排泄 6日後	排泄 9日後
	-5 day	14 day	15 day	17 day	20 day	23 day
試料-a	3.91	5.18	4.32	4.70	7.26	5.26
試料-b	4.83	5.85	5.59	4.94	5.08	6.89
試料-c	4.22	5.91	5.77	5.38	4.76	6.30
平均值	4.32	5.65	5.23	5.01	5.70	6.15
標準偏差	0.468	0.409	0.790	0.346	1.363	0.826
変動係数	11	7	15	7	24	13

表 1-13 試験魚の脂質含量(試験区 C: 1.5%/day 給餌) 単位 %

	開始	取込	排泄	排泄	排泄	排泄
試料	5 目前	14 日後	1日後	3日後	6日後	9日後
	-5 day	14 day	15 day	17 day	20 day	23 day
試料-a	4.70	4.93	4.83	4.66	5.62	6.41
試料-b	5.58	5.05	4.10	3.62	6.54	6.52
試料-c	4.73	5.30	4.38	4.73	5.40	4.77
平均値	5.00	5.09	4.44	4.34	5.85	5.90
標準偏差	0.502	0.187	0.371	0.625	0.605	0.978
変動係数	10	4	8	14	10	17

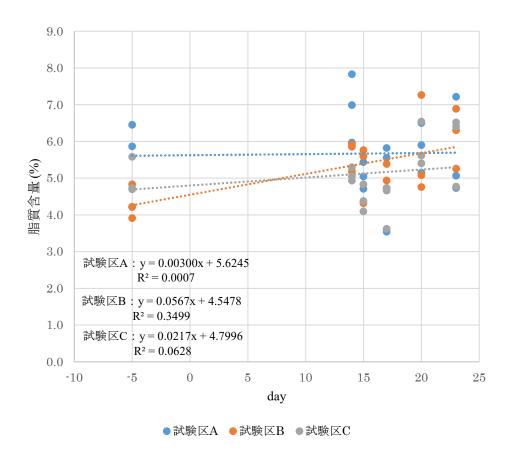


図 1-4 試験期間における試験魚の脂質含量(試験区 A、B 及び C)

2.6.6. 取込期間における試験魚中の被験物質濃度

取込期間における試験魚中の被験物質濃度を表 1-14 及び図 1-5 に示した。取込 14 日後の試験魚中の被験物質濃度はそれぞれ、平均 $5.58\,\mu\text{g/g}$ (試験区 A)、平均 $4.60\,\mu\text{g/g}$ (試験区 B) 及び平均 $2.53\,\mu\text{g/g}$ (試験区 C) であった。各試験区の試験魚中の被験物質濃度は、給餌量が多いほど高い傾向にあった。

取込期間における脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度を表 1-15 及び図 1-6に示した。脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度は、平均 4.02 μg/g (試験区 A)、平均 4.07 μg/g (試験区 B) 及び平均 2.49 μg/g (試験区 C) であった。試験区 A 及び試験区 B の脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度に顕著な差は認められなかった。一方、試験区 C は試験区 A 及び試験区 B と比較して、低い傾向にあった。

各試験区の変動係数はそれぞれ 29% (試験区 A)、24% (試験区 B) 及び 27% (試験区 C) であり、いずれの試験区も同程度であった。

表 1-14 試験魚中の被験物質濃度(取込 14 日後)

試料	試験区A	試験区B	試験区C
試料-a	4.17	6.37	2.74
試料-b	6.86	3.97	3.27
試料-c	3.58	4.22	1.89
試料-d	7.05	3.58	1.75
試料-e	6.21	4.84	3.02
平均值	5.58	4.60	2.53
標準偏差	1.592	1.094	0.679
変動係数	29	24	27

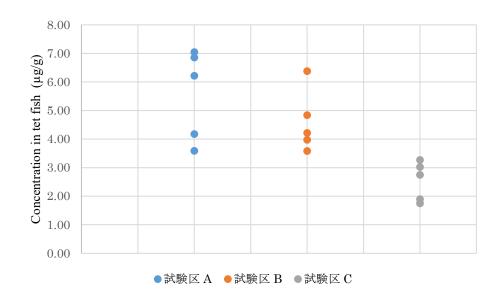


図 1-5 取込期間における試験魚中の被験物質濃度(試験区 A、B 及び C)

表 1-15 脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度(取込 14 日後)

試料	試験区A	試験区B	試験区C
試料-a	3.01	5.64	2.69
試料-b	4.95	3.52	3.21
試料-c	2.59	3.73	1.86
試料-d	5.08	3.17	1.72
試料-e	4.48	4.28	2.97
平均值	4.02	4.07	2.49
標準偏差	1.148	0.969	0.667
変動係数	29	24	27

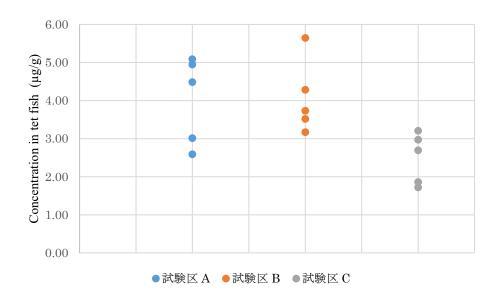


図 1-6 取込期間における脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度 (試験区 A、B 及び C)

2.6.7. 排泄期間における試験魚中の被験物質濃度

取込期間 14 日後以降の排泄期間における試験魚中の被験物質濃度を表 1-16~表 1-18 に示した。また、試験魚中の被験物質濃度の推移を、試験魚中の被験物質濃度の対数を縦軸、排泄期間の日数を横軸としてプロットし、図 1-7 に示した。排泄速度定数(プロットの傾き)は、それぞれ 0.162/day(試験区 A)、0.198/day(試験区 B)及び 0.193/day(試験区 C)であった。また、相関係数は、0.6476(試験区 A)、0.6995(試験区 B)及び 0.5877(試験区 C)であった。各試験区において、排泄速度定数及び相関係数に顕著な差は認められなかった。

脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度を表 1-19~表 1-21 に示した。また、脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度の推移を、脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度の対数を縦軸、排泄期間の日数を横軸としてプロットし、図 1-8 に示した。排泄速度定数(プロットの傾き)は、それぞれ 0.183/day(試験区 A)、0.222/day(試験区 B)及び 0.236/day(試験区 C)であった。また、相関係数は、0.7035(試験区 A)、0.7520(試験区 B)及び 0.6763(試験区 C)であった。

なお、各試験区の変動係数は、それぞれ $6\sim43\%$ (試験区 A)、 $14\sim62\%$ (試験区 B) 及び $14\sim77\%$ (試験区 C) であった。各試験区において、排泄速度定数及び相関係数に顕著な差は認められなかった。

表 1-16 排泄期間における試験魚中の被験物質濃度

(試験区 A: 2.5%/day 給餌) 単位 μg/g

試料	取込 14 日後	排泄 1 日後	排泄 3 日後	排泄 6 日後	排泄 9 日後
試料-a	4.17	4.39	0.864	2.52	1.43
試料-b	6.86	5.01	3.44	2.66	1.63
試料-c	3.58	4.81	2.48	1.20	1.09
試料-d	7.05	4.79	3.92	2.62	0.915
試料-e	6.21	5.21	3.47	1.81	0.931
平均値	5.58	4.84	2.83	2.16	1.20
標準偏差	1.592	0.306	1.220	0.640	0.317
変動係数	29	6	43	30	26

表 1-17 排泄期間における試験魚中の被験物質濃度

(試験区 B: 2.0%/day 給餌)

単位 μg/g

試料	取込 14 日後	排泄 1 日後	排泄 3 日後	排泄 6 日後	排泄 9 日後
試料-a	6.37	4.65	1.44	3.77	1.19
試料-b	3.97	4.22	1.73	1.01	0.863
試料-c	4.22	3.39	3.87	1.79	0.865
試料-d	3.58	4.45	2.47	2.59	0.571
試料-e	4.84	5.04	2.13	0.785	0.541
平均值	4.60	4.35	2.33	1.99	0.806
標準偏差	1.094	0.615	0.947	1.223	0.2649
変動係数	24	14	41	62	33

表 1-18 排泄期間における試験魚中の被験物質濃度

(試験区 C: 1.5%/day 給餌)

試料	取込 14 日後	排泄 1日後	排泄 3 日後	排泄 6 日後	排泄 9 日後
試料-a	2.74	1.97	2.33	1.38	0.421
試料-b	3.27	3.20	1.76	0.270	0.327
試料-c	1.89	2.97	1.87	1.56	1.53
試料-d	1.75	2.36	1.61	1.10	0.254
試料-e	3.02	2.42	1.80	1.57	0.984
平均值	2.53	2.58	1.87	1.18	0.703
標準偏差	0.679	0.498	0.270	0.542	0.5438
変動係数	27	19	14	46	77

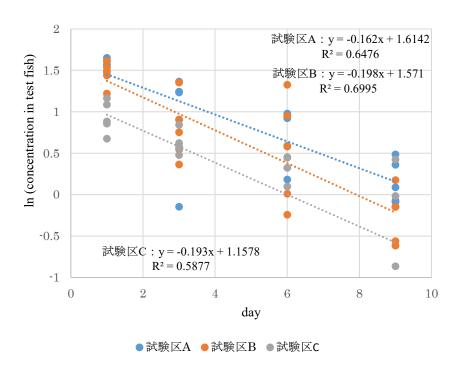


図 1-7 排泄期間における試験魚中の被験物質濃度(試験区 A、B 及び C)

表 1-19 排泄期間における脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度

(試験区 A: 2.5%/day 給餌)

単位 μg/g

試料	取込 14 日後	排泄 1 日後	排泄 3 日後	排泄 6 日後	排泄 9 日後
試料-a	3.01	4.33	0.869	2.15	1.26
試料-b	4.95	4.95	3.46	2.28	1.43
試料-c	2.59	4.75	2.49	1.03	0.964
試料-d	5.08	4.73	3.94	2.24	0.807
試料-e	4.48	5.14	3.49	1.54	0.821
平均值	4.02	4.78	2.85	1.85	1.06
標準偏差	1.148	0.302	1.227	0.547	0.279
変動係数	29	6	43	30	26

表 1-20 排泄期間における脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度

(試験区 B: 2.0%/day 給餌)

試料	取込 14 日後	排泄 1 日後	排泄 3 日後	排泄 6日後	排泄 9 日後
試料-a	5.64	4.45	1.44	3.31	0.969
試料-b	3.52	4.03	1.73	0.887	0.702
試料-c	3.73	3.24	3.86	1.57	0.703
試料-d	3.17	4.26	2.47	2.27	0.464
試料-e	4.28	4.82	2.12	0.688	0.440
平均値	4.07	4.16	2.32	1.74	0.656
標準偏差	0.969	0.589	0.945	1.073	0.2154
変動係数	24	14	41	62	33

表 1-21 排泄期間における脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度

(試験区 C: 1.5%/day 給餌)

試料	取込 14 日後	排泄 1 日後	排泄 3 日後	排泄 6 日後	排泄 9 日後
試料-a	2.69	2.22	2.68	1.18	0.357
試料-b	3.21	3.61	2.03	0.231	0.278
試料-c	1.86	3.34	2.15	1.33	1.30
試料-d	1.72	2.65	1.86	0.942	0.215
試料-e	2.97	2.73	2.08	1.34	0.834
平均值	2.49	2.91	2.16	1.006	0.596
標準偏差	0.667	0.561	0.311	0.463	0.4609
変動係数	27	19	14	46	77

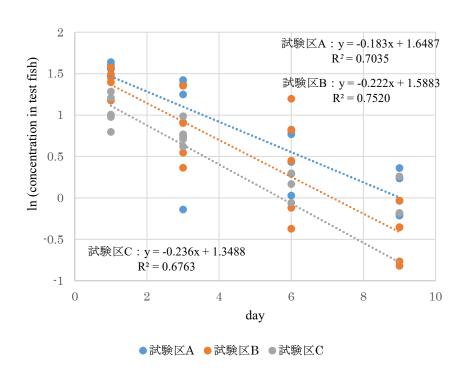


図 1-8 排泄期間における脂質含量 5%で標準化した試験魚中の被験物質濃度 (試験区 A、B 及び C)

2.6.8. 取込期間における経口生物濃縮係数

取込期間における経口生物濃縮係数(BMF)を表 1-22 及び図 1-9 に示した。取込期間における BMF は、平均 0.060(試験区 A)、平均 0.049(試験区 B)及び平均 0.027(試験区 C)であった。

取込期間における脂質含量 5%で標準化した BMF を表 1-23 及び図 1-10 に示した。脂質含量 5%で標準化した取込期間における BMF は、平均 0.043 (試験区 A)、平均 0.044 (試験区 B) 及び平均 0.027 (試験区 C) であった。

各試験区の変動係数はそれぞれ 29% (試験区 A)、24% (試験区 B) 及び 27% (試験区 C) であり、両試験区間で顕著な差は認められなかった。

表 1-22 取込期間における経口生物濃縮係数 (BMF) (取込 14 日後)

試料	試験区A	試験区B	試験区C
試料-a	0.045	0.068	0.029
試料-b	0.073	0.043	0.035
試料-c	0.038	0.045	0.020
試料-d	0.075	0.038	0.019
試料-e	0.067	0.052	0.032
平均値	0.060	0.049	0.027
標準偏差	0.0171	0.0117	0.00728
変動係数	29	24	27

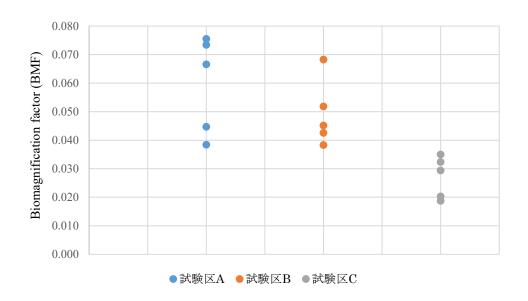


図 1-9 取込期間における経口生物濃縮係数 (BMF) (試験区 A、B 及び C)

表 1-23 取込期間における脂質含量 5%で標準化した 経口生物濃縮係数 (BMF) (取込 14 日後)

試料	試験区A	試験区B	試験区C
試料-a	0.032	0.060	0.029
試料-b	0.053	0.038	0.034
試料-c	0.028	0.040	0.020
試料-d	0.054	0.034	0.018
試料-e	0.048	0.046	0.032
平均値	0.043	0.044	0.027
標準偏差	0.0123	0.0104	0.00714
変動係数	29	24	27

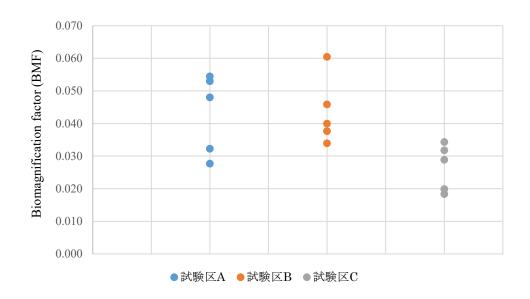


図 1-10 取込期間における脂質含量 5%で標準化した経口生物濃縮係数 (BMF) (試験区 A、B 及び C)

2.6.9. 速度論による生物濃縮係数 (BMF_K)、成長希釈補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{KE})、脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{KE})、成長希釈補 正及び脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{KE}L)

速度論による生物濃縮係数 (BMF_K)、成長希釈補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{Kg})、脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{KL}) 及び成長希釈補正及 び脂質含量補正した速度論による生物濃縮係数 (BMF_{KgL}) を表 1-24 に示した。なお、試験期間中における試験魚の平均脂質含量 (試験区 A:5.67%、試験区 B:5.34%、試験区 C:5.10%) 並びに取込開始前及び取込期間終了時の試験餌料の平均脂質含量 12.4%を用いて算出した。試験区 A 及び試験区 B において各パラメータに顕著な差は認められなかった。一方、試験区 C は試験区 A 及び試験区 B と比較して、低い傾向にあった。

表 1-24 各種 BMF

試験区	$\mathrm{BMF}_{\mathrm{K}}$	$\mathrm{BMF}_{\mathrm{Kg}}$	脂質含量 5%で標準化 した BMF _{Kg}	$\mathrm{BMF}_{\mathrm{KL}}$	$\mathrm{BMF}_{\mathrm{KgL}}$
A	0.060	0.066	0.058	0.13	0.14
В	0.055	0.058	0.054	0.13	0.13
С	0.037	0.038	0.037	0.089	0.093

$$BMF_{L} \text{ or } BMF_{KL} \text{ or } BMF_{KgL} = \frac{BMF \text{ or } BMF_{K} \text{ or } BMF_{Kg}}{L_{c}}$$

$$L_{\rm c} = \frac{L_{\rm fish}}{L_{\rm food}}$$

L_{fish}: 試験期間中における試験魚の平均脂質含量(%)

Lfood : 取込開始前及び取込期間終了時の試験餌料の平均脂質含量 (%)

L_c : 平均脂質含量 (%)

[5.67% / 12.4% (試験区A)、5.34% / 12.4% (試験区B)、

5.10% / 12.4% (試験区 C)]

2.6.10. 排泄半減期 (t_{1/2}) 及び成長希釈補正した排泄半減期 (t_{1/2g})

排泄半減期($t_{1/2}$)及び成長希釈補正した排泄半減期($t_{1/2g}$)を表 1-25 に示した。各 試験区の排泄半減期はそれぞれ 4.3 日(試験区 A)、3.5 日(試験区 B)及び 3.6 日(試 験区 C)、成長希釈補正した排泄半減期はそれぞれ 4.7 日(試験区 A)、3.7 日(試験区 B)及び 3.8 日(試験区 C)であった。試験区間で各排泄半減期に顕著な差は認められ なかった。

表 1-25 排泄半減期 (t1/2) 及び成長希釈補正した排泄半減期 (t1/2g)

単位 day

試験区	$t_{1/2}$	<i>t</i> _{1/2g}
A	4.3	4.7
В	3.5	3.7
С	3.6	3.8