

# 蓄積性試験の委託調査報告

一般財団法人化学物質評価研究機構

本発表では、平成16～22年度の経済産業省からの委託事業「化学物質安全確保・国際規制対策推進等（化学物質の試験方法開発等）」で実施した内容について報告する

\* 平成16年（2004年）

EMBSIが経口濃縮度試験のプロトコルを公表

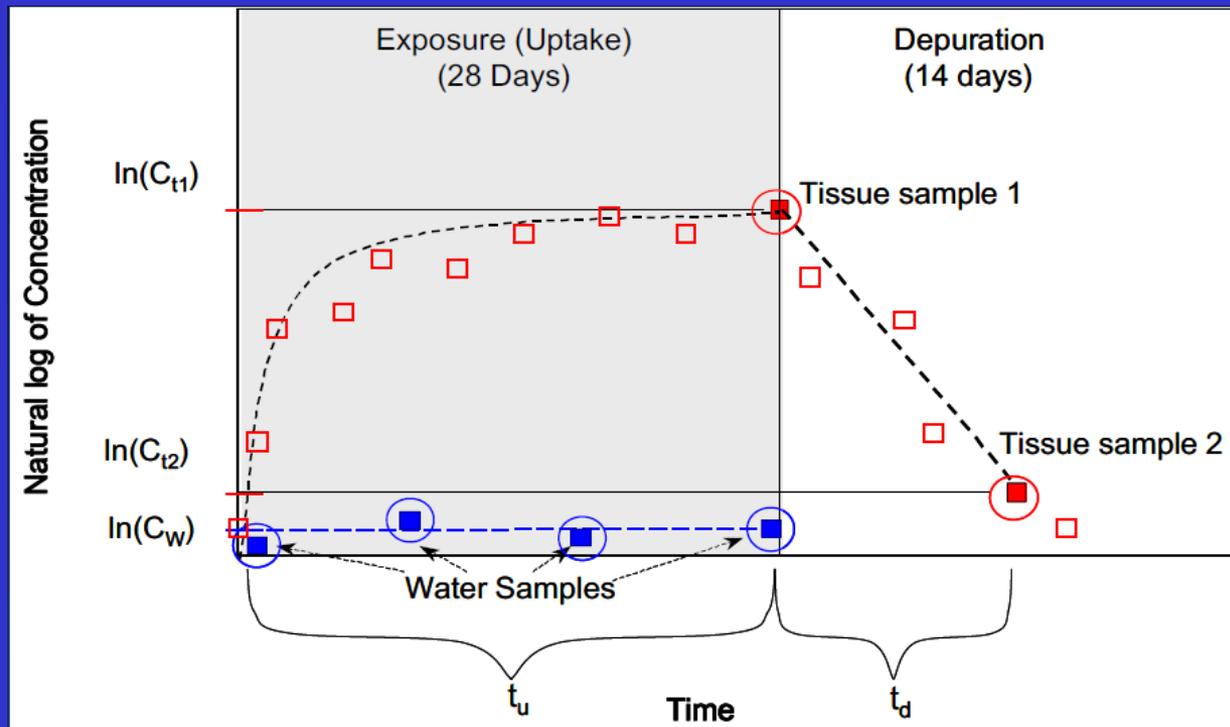
# OECD TG305改訂案に含まれる 生物濃縮評価手法

- Flow-through fish test  
(流水式濃縮度試験)
- Minimized Testing  
(生物数及び分析数を削減した試験)
- Dietary exposure test  
(経口濃縮度試験)

# Minimized Testing

<Tim Springer et al. (2008) が提唱>

取り込み期間(最終日)及び排泄期間にそれぞれ1回ずつ試験魚分析を行い、BCF ( $BCF_{km}$ ) を算出



# Minimized Testing

## Gray zone

高濃縮性が否か判断ができない  
濃縮性評価が必要である

## White zone

$BCF_{km}$  のばらつきを考慮しても  
高濃縮性ではないと判断される

Accuracy of BCF  
estimate is critical

## Black zone

$BCF_{km}$  のばらつきを考慮しても  
高濃縮性と判断される

3 3.3 3.7  
Log(BCF)

Many chemicals will fall in these zones.  
Acceptance criteria can be less stringent here.

$BCF_{km}$  は3つのグループに分け評価する

# 目的

既存化学物質安全性点検データを再解析し、  
Minimized Testingの妥当性を検証する

# 解析方法

## ➤解析対象データ

既存化学物質安全性点検データより、排泄試験を実施している90物質、306データ

## ➤ $BCF_{km}$ の算出

(1) 取り込み28日後及び排泄14日後の魚体中被験物質濃度から、排泄速度定数 ( $k_{m2}$ ) 及び取込速度定数 ( $k_{m1}$ ) を算出

$$k_{m2} = \frac{\ln C_{f28} - \ln C_{f14}}{14} \quad k_{m1} = \frac{C_{f28} \times k_{m2}}{C_w \times (1 - e^{-k_{m2} \cdot 28})}$$

(2)  $k_{m1}$  及び  $k_{m2}$  を用いて  $BCF_{km}$  を算出し、既報の  $BCF_{ss}$  と比較

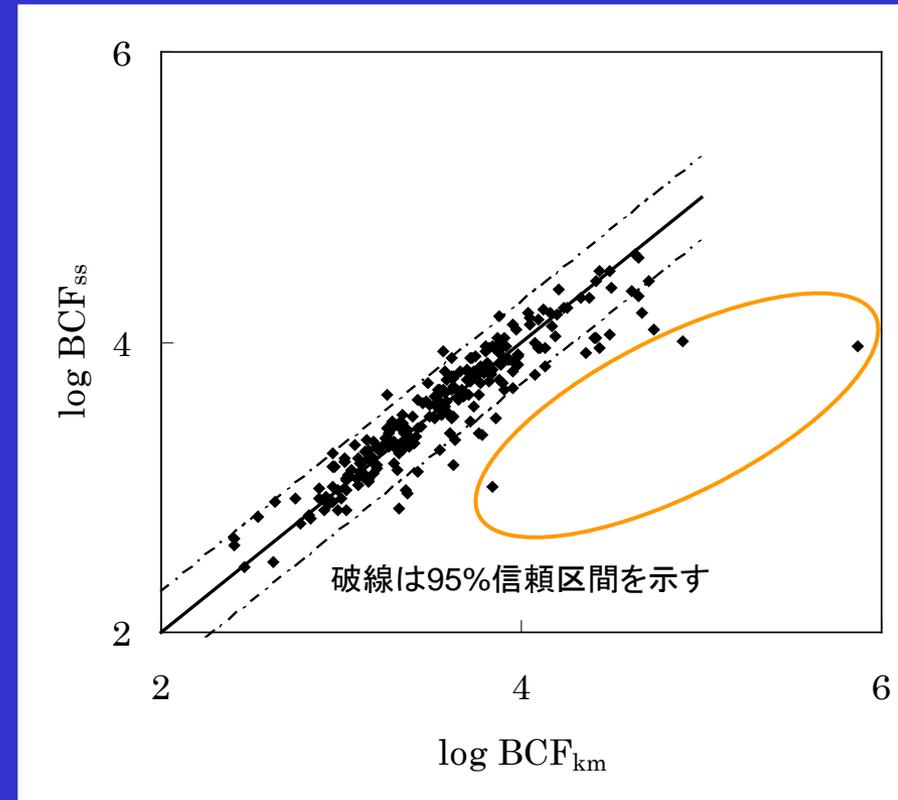
$$BCF_{km} = \frac{k_{m1}}{k_{m2}}$$

# 結果

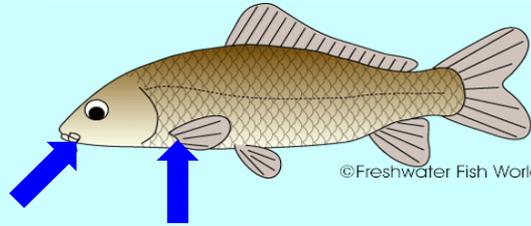
- $BCF_{ss}$  と  $BCF_{km}$  の相関式
  - ・ ほぼ1に近い傾き (0.997)
  - ・ 高い正の相関性 ( $r^2 = 0.856$ )

3データは95%信頼区間から大きく外れ、濃縮性を過大評価した

➡ 魚体中被験物質濃度のばらつきにより、正確な排泄速度定数が得られなかったと予想される



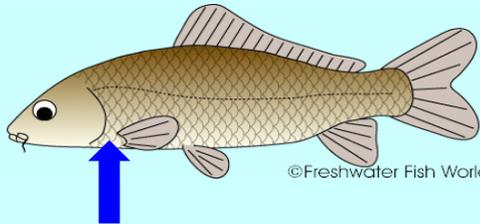
# Dietary exposure test



©Freshwater Fish World

Field-data

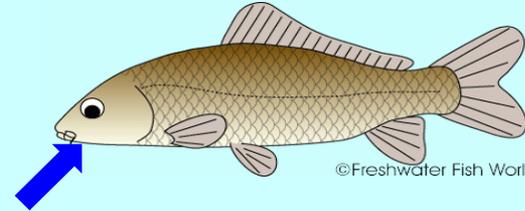
自然界の全ての経路による取り込み  
BAF (bioaccumulation factor)



©Freshwater Fish World

Lab-data

水(経鰓)からの直接的取り込み経路  
BCF (bioconcentration factor)



©Freshwater Fish World

Lab-data

餌(経口)からの間接的取り込み経路  
BMF (biomagnification factor)

流水式濃縮度試験  
OECD TG305・化審法

経口濃縮度試験\*  
新たな生物蓄積性評価法

\* 2004年にEMBSIが提唱した試験方法 9

# 流水式濃縮度試験の課題

直接的取り込みは水に溶解した化学物質のみで起こる  
(水溶解度以上では取り込み量が制限される)

難水溶性物質の場合、極めて低い設定濃度が必要だが、分析感度等から試験実施が困難な場合がある

自然界を想定した場合、難水溶性物質は鰓經由でなく、食物連鎖によって生物濃縮される(BMF評価の妥当性)

難水溶性物質の新たな試験法が必要である

# 目的

## <OECD>

水溶解度が極めて低い化学物質への適応を目的として、  
経口濃縮度試験のテストガイドライン化を検討中



1

BCFとBMFの相関性確認

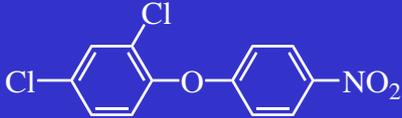
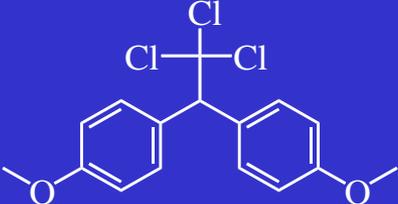
2

異なる取り込み経路による蓄積部位の比較  
(部位別試験の実施)

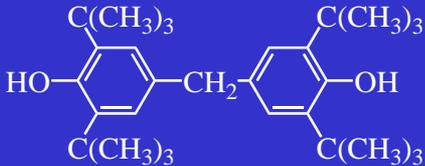
3

OECDリングテストの実施

# 被験物質

被験物質	構造式	log K <sub>ow</sub>
NIP		4.32
Musk-xylene		4.45
PeCB		5.22
TP		5.52
MXC		5.67

# 被験物質

被験物質	構造式	log K <sub>ow</sub>
HCB		5.85
Solvent Blue 36		6.07
DNPD		6.39
Binox M		8.99

# 試験餌料の調製方法

植物油又は魚油



被験物質添加:  
溶液添加・留去又は直接添加



配合飼料と混和



乾燥



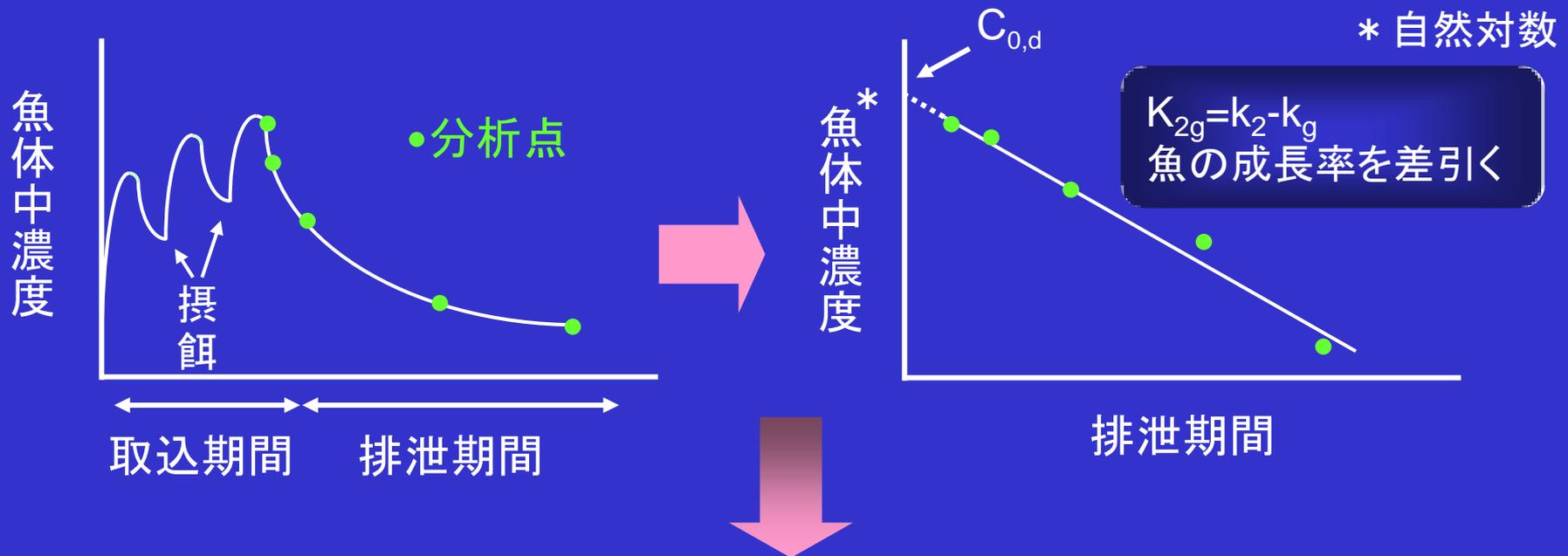
被験物質濃度: 25~100  $\mu\text{g g}^{-1}$  feed

# 試験条件

試験魚	コイ <i>Cyprinus carpio</i>
試験区*	被験物質＋基準物質(ヘキサクロロベンゼン(HCB))
尾数	60または110尾/試験水槽
取込期間	10または13日間
排泄期間	14～37日間(排泄半減期が2回得られる期間)
投与方法	魚体重の3%/日の量を2回(30分間隔)に分けて給餌
分析回数	取り込期間最終日・排泄期間4回
分析連数	1または2群(5尾1群)/回

\*被験物質の生体内への取り込みを確認するため、基準物質(HCB)を混合投与する。

# 生体蓄積係数 (BMF) の算出方法



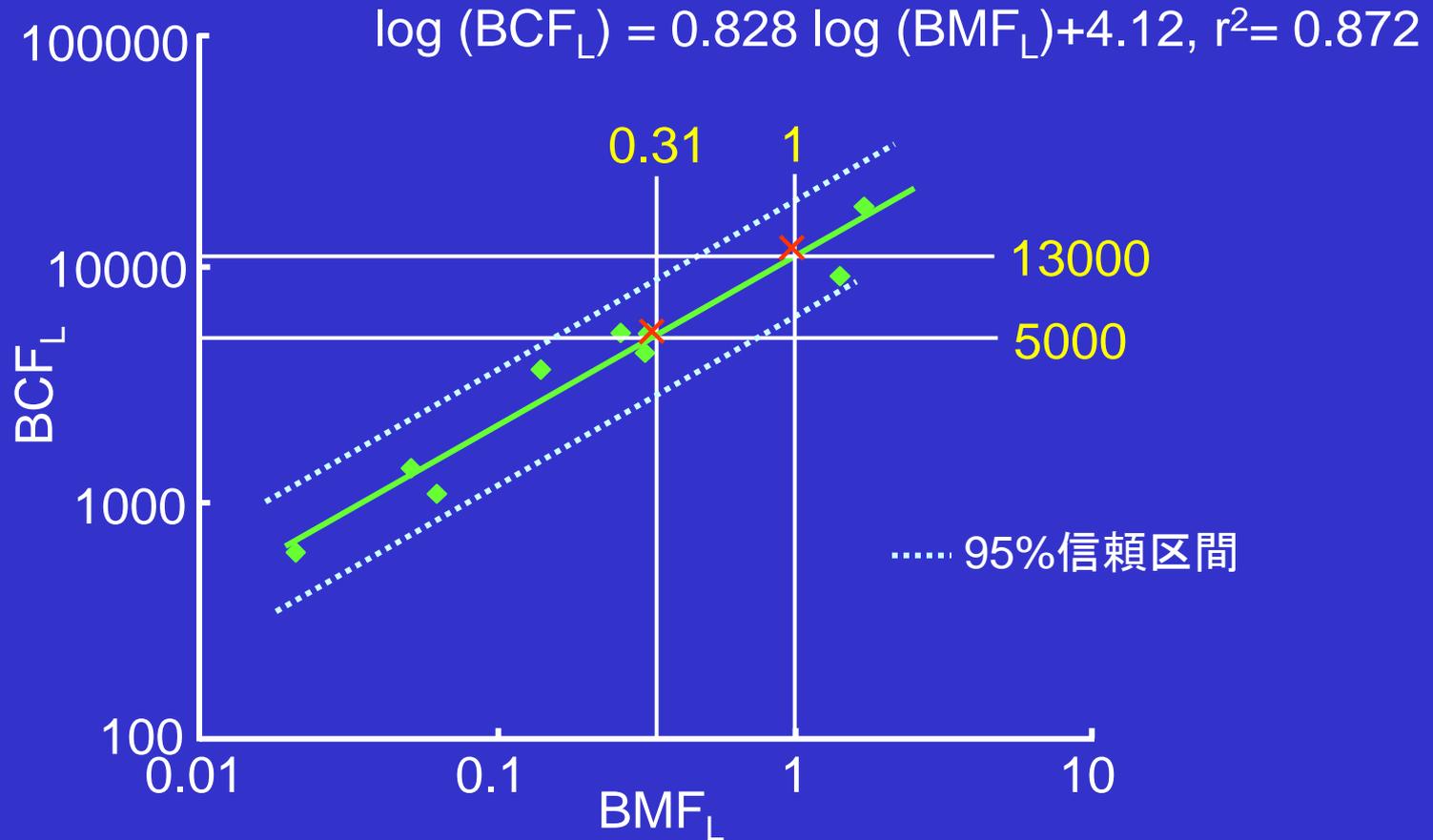
生体蓄積係数 (BMF)

$$BMF = \frac{C_{0,d} \cdot k_2}{C_{\text{food}}} \times \frac{1}{1 - e^{-(k_2 t)}} \times \frac{1}{k_{2g}}$$

脂質標準化BMF (BMF<sub>L</sub>)

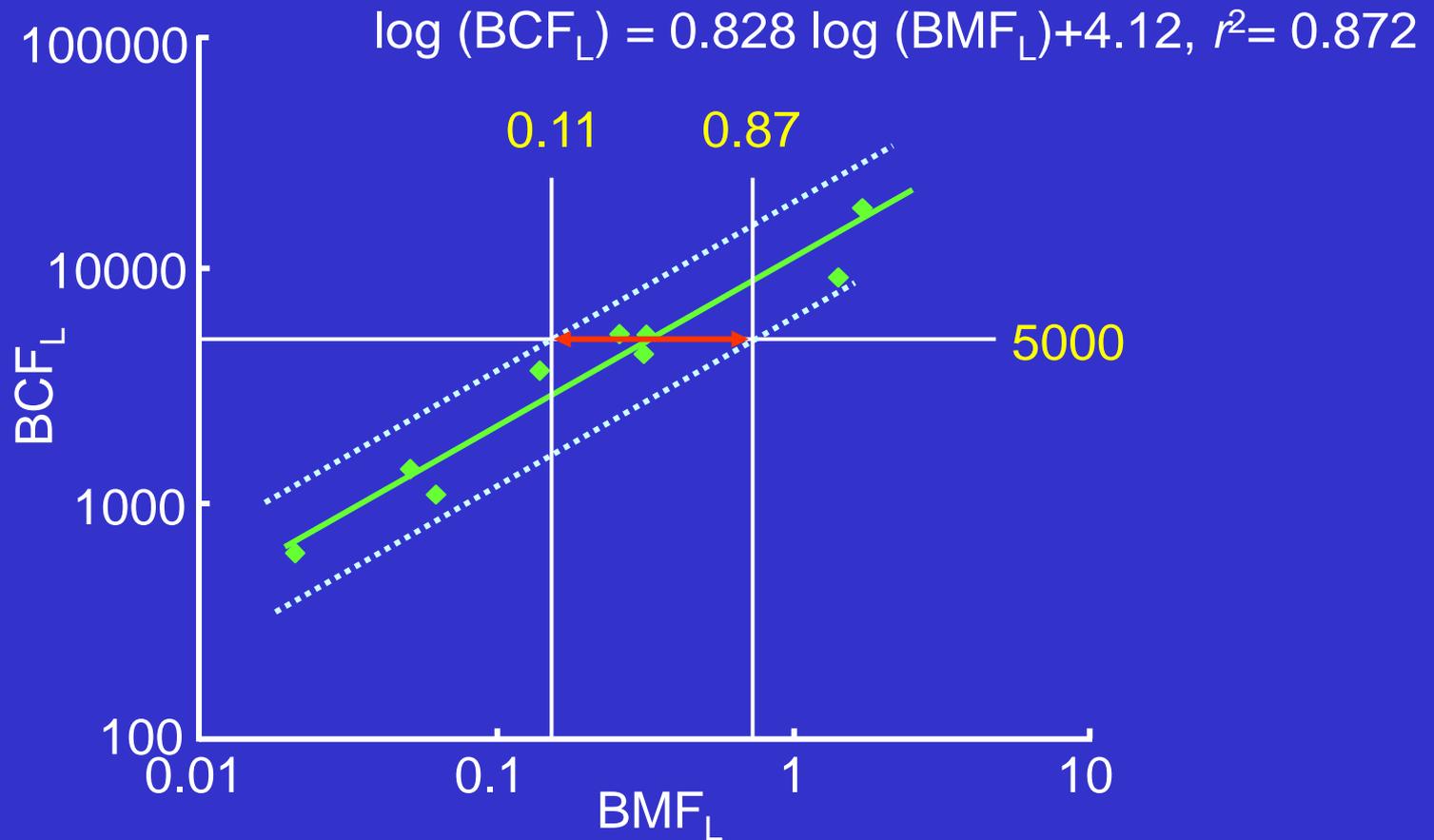
$$BMF_L = BMF \times \frac{L_{\text{food}}}{L_{\text{fish}}}$$

# BCFとBMFの相関



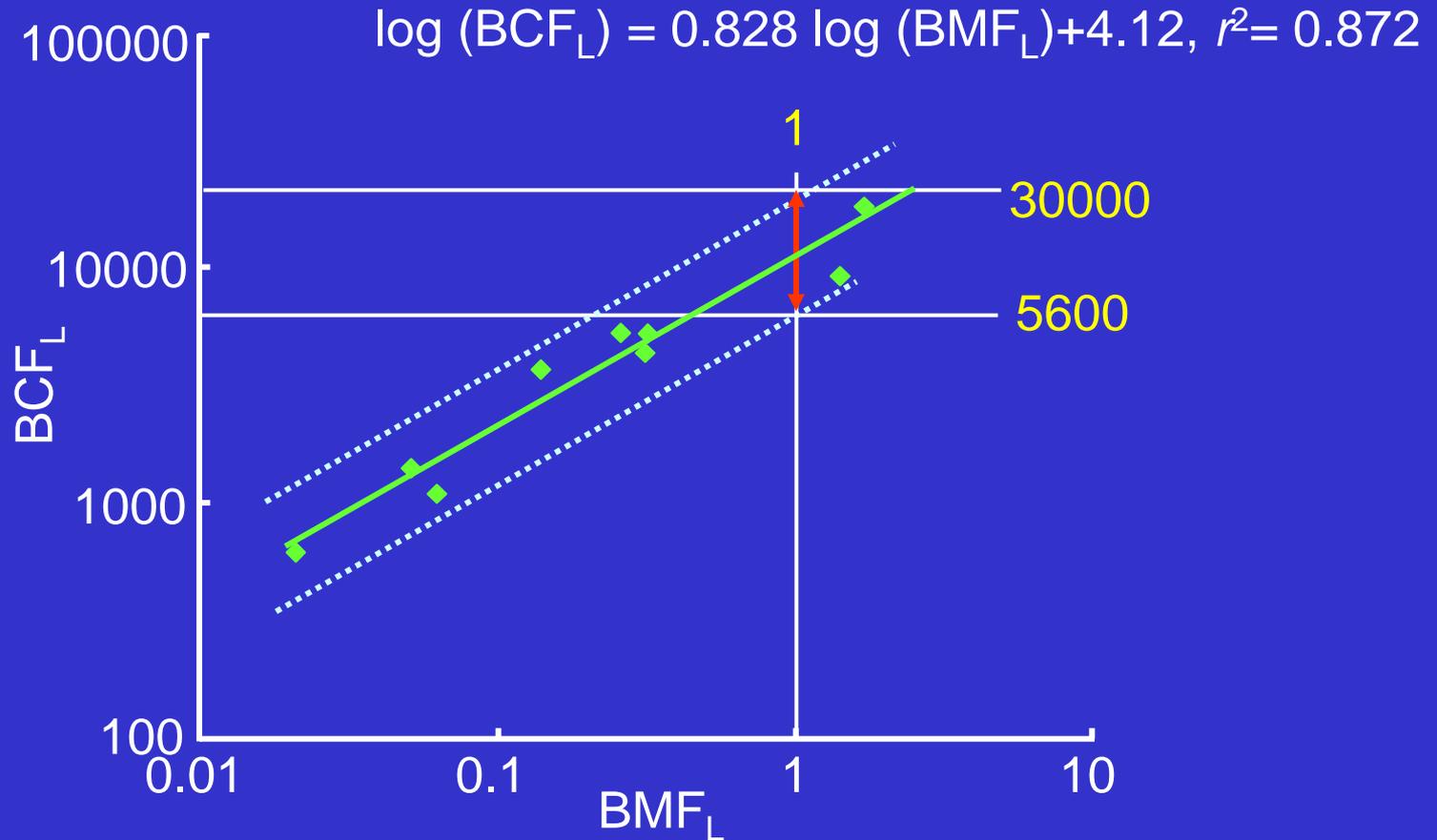
- BMF<sub>L</sub>が2倍異なると、BCF<sub>L</sub>は約1.8倍異なる
- (BCF<sub>L</sub>, BMF<sub>L</sub>) = (5000, 0.31), (13000, 1)

# BCFとBMFの相関



BCF<sub>L</sub>=5000の物質のBMF<sub>L</sub>は0.11~0.87である

# BCFとBMFの相関



食物連鎖により生体蓄積が懸念される $\text{BMF}_L > 1$ の物質は、 $\text{BCF}_L > 5000$ の可能性がある

# まとめ

- 9物質について、BCFとBMFには良好な正の相関がある
- 難水溶性物質の濃縮性評価を補完できる可能性がある
- $BCF_L=5000$ の物質の $BMF_L$ は0.11～0.87である

# 今後の課題

- 芳香族炭化水素系以外の物質及び金属等に関するBCFとBMFとの相関を調べる

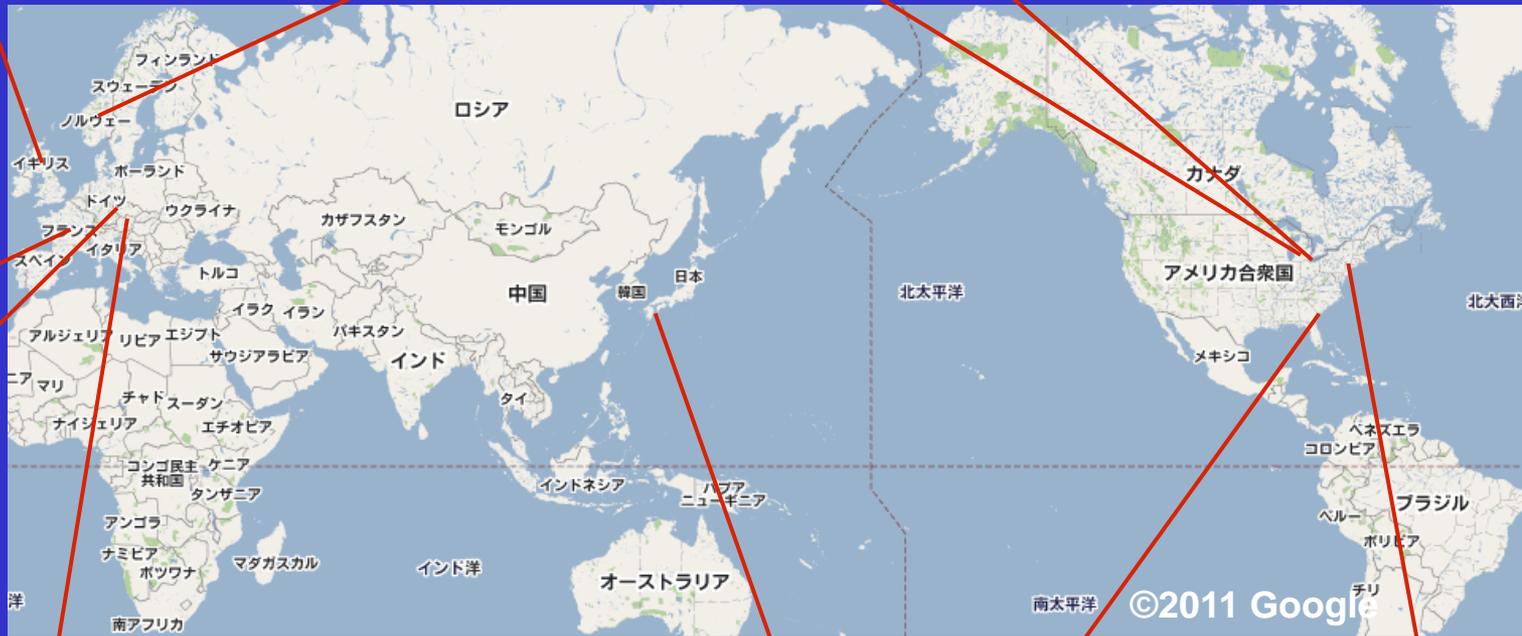
# OECDリングテスト参加機関

AstraZeneca

NIVA

Dow Corning

Environment Canada



L'Oréal  
(Harlan)

BASF

Fraunhofer

CERI

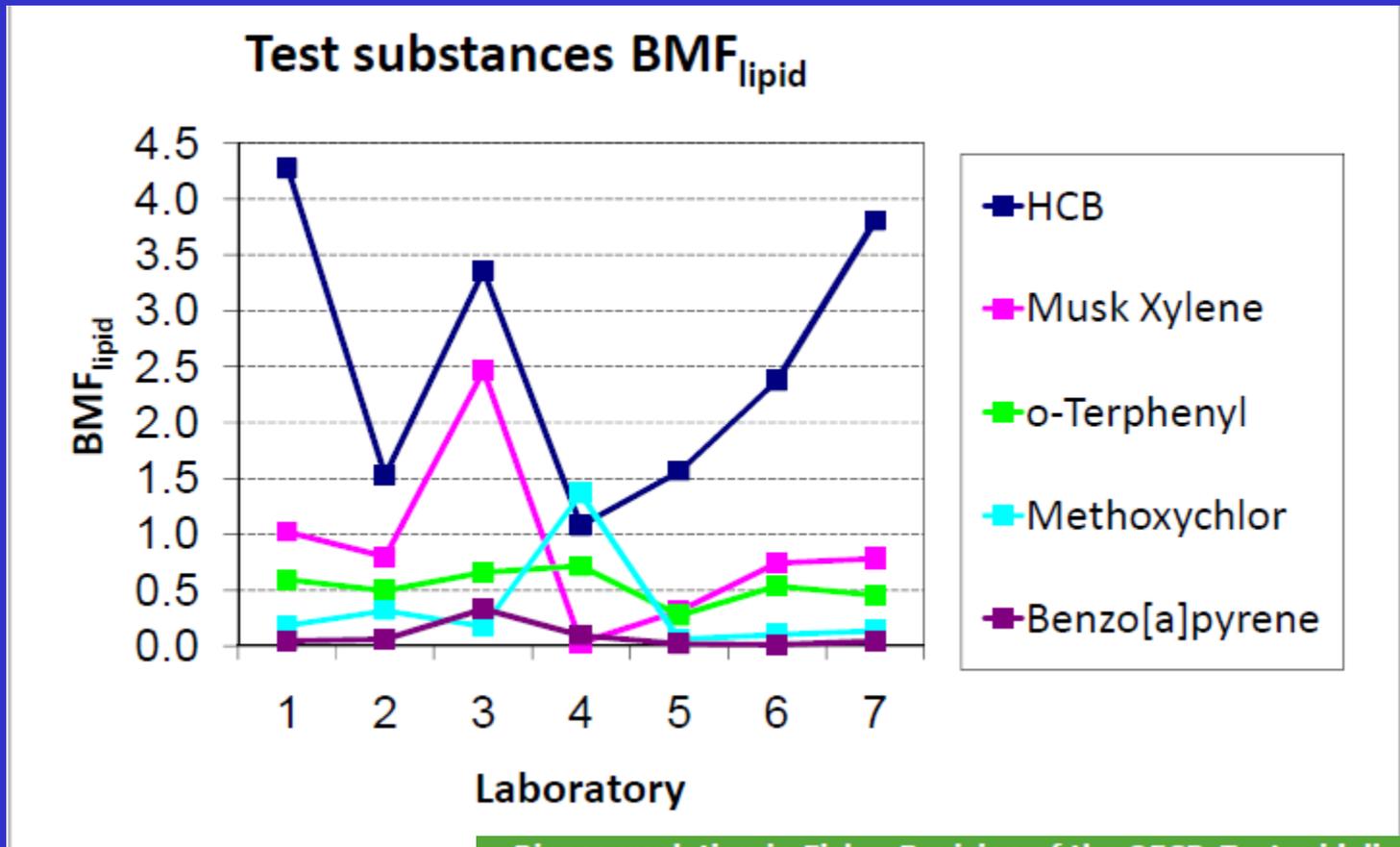
Dupont

EMBSI

行政機関 民間試験機関

世界7カ国10試験機関で実施中

# OECDリングテスト結果（抜粋）



## Bioaccumulation in Fish – Revision of the OECD-Testguideline

C. Rauert<sup>1</sup>; E.A.J. Bleeker<sup>2</sup>; T.P. Traas<sup>2</sup>; D. Merckel<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau, D, [caren.rauert@uba.de](mailto:caren.rauert@uba.de)

<sup>2</sup>RIVM, Bilthoven, NL, [theo.traas@rivm.nl](mailto:theo.traas@rivm.nl), [eric.bleeker@rivm.nl](mailto:eric.bleeker@rivm.nl)

<sup>3</sup>Environment Agency, Wallingford, UK, [Daniel.Merckel@environment-agency.gov.uk](mailto:Daniel.Merckel@environment-agency.gov.uk)

# OECD TG305改訂案のスケジュール

- OECD TG305改訂案の提示: 2009年5月
- 第1回専門家会議: 2009年12月
- リングテスト実施: 2010年1月～現在
- 第2回専門家会議: 2011年11月(予定)
- OECD加盟各国によるCommenting Round(予定)
- 2012～2013年に改訂完了を目指す