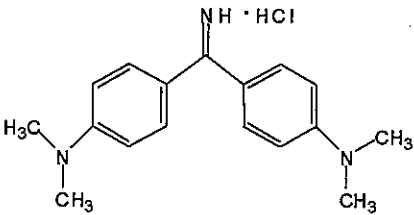


藻類生長阻害試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	ベイシック エロー-2		
別 名	p-オーラミン 塩酸テトラメチルジアミノベンゾフェノンイミド		
C A S 番 号	2465-27-2		
構造式又は示性式 (いずれも不明な場合は、 その製法の概要)			
分 子 量	303.84		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	94.0 % (無水物換算 88.7 %)		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	Z5M7906		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸 気 圧	1.29×10^{-6} mm Hg (25°C)		
対 水 溶 解 度	1×10^4 mg/L		
1-オクタノール/水分配係数	2.98		
融 点	267°C		
沸 点	不明		
常温における性状	黄色～黄金色のりん片状結晶または粉末		
安 定 性	常温で安定		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノール	解け難い	不明

2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方法
分析方法	<p>ベイスック エロー-2 の試験溶液の一定量を、UV-VIS 検出器を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入し、クロマトグラムと同時にピーク面積 (カウント数) をデータ処理装置から求める。このピーク面積を用い、標準液の検量線から試験溶液中の被験物質の濃度を求める。</p> <p>[分析手順]</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。 2. 検量線を作成する。 3. 前処理を行った試験溶液を HPLC に注入してクロマトグラムと同時にピーク面積を得る。 4. 検量線により濃度を求め、希釈率を補正し、試験溶液の被験物質濃度を算出する。
前処理法	<p>試験液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 試験液中に薬体がある場合には遠心により除去する。 2. 試験溶液を正確に量りとり、同量の溶離液を加えて混合する。 3. 0.01 mg/L 未満の試験溶液はジクロロメタンで抽出し、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮を行った後測定する。
定量条件	<p>分析に用いた機器：</p> <p>高速液体クロマトグラフ (LC10AD 型 島津製作所) UV-VIS 検出器 (SPD-10A 型 島津製作所)</p> <p>測定条件：</p> <p>分離カラム : L-column, 250×4.6φ 恒温槽温度 : 40℃ 溶離液 : アセトニトリル/0.05 N NaCl/酢酸：純水(1:1)=6/2/2 流量 : 0.8 mL/min 検出波長 : 可視 435 nm 注入量 : 50 μL</p>

3. 試験材料及び方法

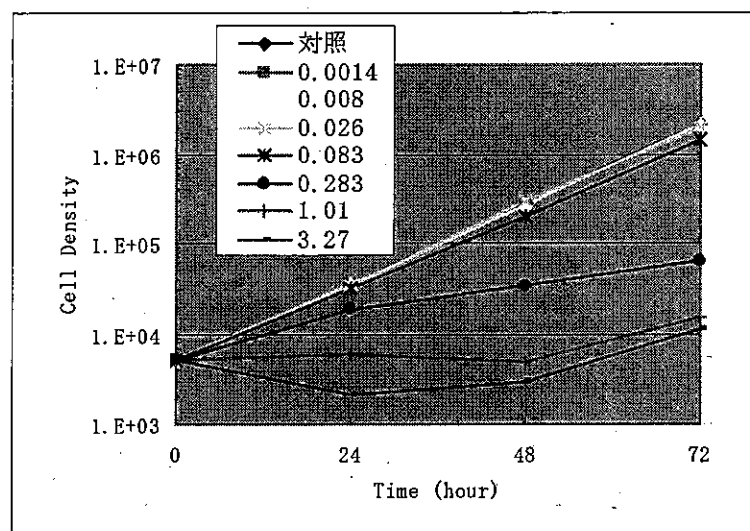
項目		内容	
試験生物	種 (学名・株名)	学名 : <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 株名 : ATCC 22662 株	
	入手先	American Type Culture Collection	
	対照物質への感受性 (EC ₅₀) (対照物質名)	1.06 mg/L (E _r C ₅₀) (これまでの値 E _r C ₅₀ mean=0.88 mg/L, S.D. = 0.04, n=4) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
前培養	前培養の期間	2006年1月28日～2006年1月31日	
	培地名	OECD 培地	
	環境条件 (温度、光強度)	23±2°C、60～120 μE/m ² /s	
試験条件	試験容器	300 mL 容ガラス製三角フラスコ シリコン栓付き	
	培地名	OECD 培地	
	暴露期間	2006年1月31日～2006年2月3日	
	試験濃度 (設定値)	対照区, 0.0032, 0.010, 0.032, 0.10, 0.32, 1.0, 3.2 mg/L (公比3.2)	
	初期細胞濃度	0.5 × 10 ⁴ cells/mL	
	連数	試験濃度区	3 連
		対照区	6 連
	試験溶液量	100 mL/容器	
	助剤	助剤の有無	無
		種類	—
		濃度	—
		助剤対照区の連数	—
	培養方式	振とう培養 (100 rpm)	
水温又は培養温度	培養温度 : 23.0～23.2°C		
照明 (光強度・時間等)	平均 69 (66～78) μE/m ² /s・連続照射		
結果の算出 方法	速度法	Logit 法、Dunnett 法	
	面積法	Logit 法、Dunnett 法	

4. 試験結果及び考察

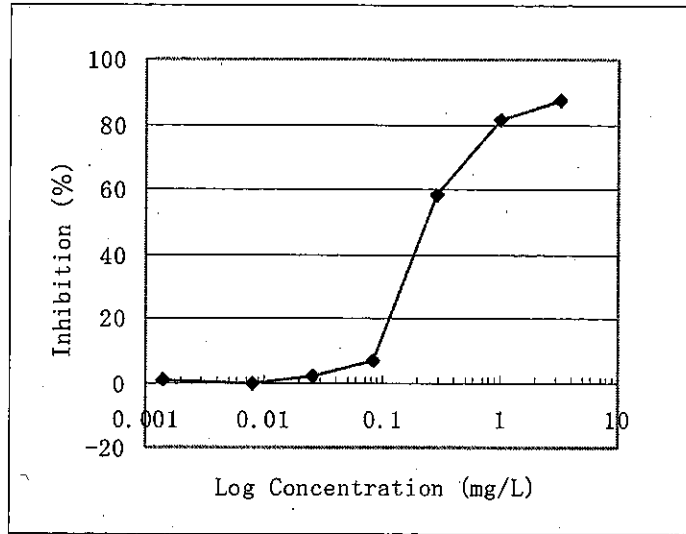
項目	内容
毒性値	$0-72hE_T C_{50} = 0.34 \text{ mg/L}$
	$0-72hE_b C_{50} = 0.093 \text{ mg/L}$
	NOEC (速度法) = 0.026 mg/L
	NOEC (面積法) = 0.026 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の水溶解性が高く、溶解限度については、試験温度における48時間のフラスコ攪拌法により、100 mg/Lが十分に溶解することを目視、ならびにHPLC分析により確認した。</p> <p>試験時は、濃厚な試験原液を調製し、その所定量を試験培地に添加することにより各濃度の試験溶液を調製した。暴露期間中において、被験物質の濃度減少が推察されたため、48時間目にも分析を追加し、測定値の時間加重平均値を採用した。なお、藻体への被験物質の吸着が認められたため、藻体を添加しないフラスコを追加して分析した値を採用した。</p> <p>試験の有効性については、テストガイドラインから逸脱した点もなく、試験の有効性基準を満たしたことから、有効であると判断した。</p>

5. 藻類生長曲線及び濃度－生長阻害率曲線

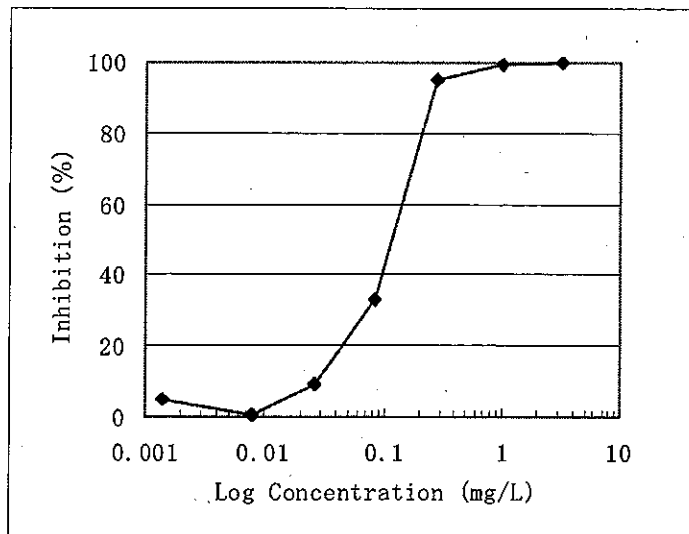
藻類の生長曲線



被験物質濃度—生長阻害率曲線（速度法）

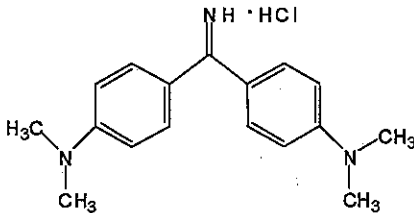


被験物質濃度—生長阻害率曲線（面積法）



ミジンコ急性遊泳阻害試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	ベイシック エロー-2		
別名	p-オーラミン 塩酸テトラメチルジアミノベンゾフェノンイミド		
C A S 番号	2465-27-2		
構造式又は示性式 (いずれも不明な場合は、 その製法の概要)			
分子量	303.84		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	94.0 % (無水物換算 88.7 %)		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	Z5M7906		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸気圧	1.29×10^{-6} mm Hg (25°C)		
対水溶解度	1×10^4 mg/L		
1-オクタノール/水分配係数	2.98		
融点	267°C		
沸点	不明		
常温における性状	黄色～黄金色のりん片状結晶または粉末		
安定性	常温で安定		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノール	解け難い	不明

2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方法
分析方法	<p>ベシック エロー-2の試験溶液の一定量を、UV-VIS 検出器を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入し、クロマトグラムと同時にピーク面積 (カウント数) をデータ処理装置から求める。このピーク面積を用い、標準液の検量線から試験溶液中の被験物質の濃度を求める。</p> <p>[分析手順]</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。 2. 検量線を作成する。 3. 前処理を行った試験溶液を HPLC に注入してクロマトグラムと同時にピーク面積を得る。 4. 検量線により濃度を求め、希釈率を補正し、試験溶液の被験物質濃度を算出する。
前処理法	<p>試験液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 試験溶液を正確に量りとり、同量の溶離液を加えて混合する。
定量条件	<p>分析に用いた機器：</p> <p>高速液体クロマトグラフ (LC10AD 型 島津製作所)</p> <p>UV-VIS 検出器 (SPD-10A 型 島津製作所)</p> <p>測定条件：</p> <p>分離カラム : L-column, 250×4.6φ</p> <p>恒温槽温度 : 40℃</p> <p>溶離液 : アセトニトリル/0.05 N NaCl/酢酸:純水 (1:1)=6/2/2</p> <p>流量 : 0.8 mL/min</p> <p>検出波長 : 可視 435 nm</p> <p>注入量 : 10 μL</p>

3. 試験材料及び方法

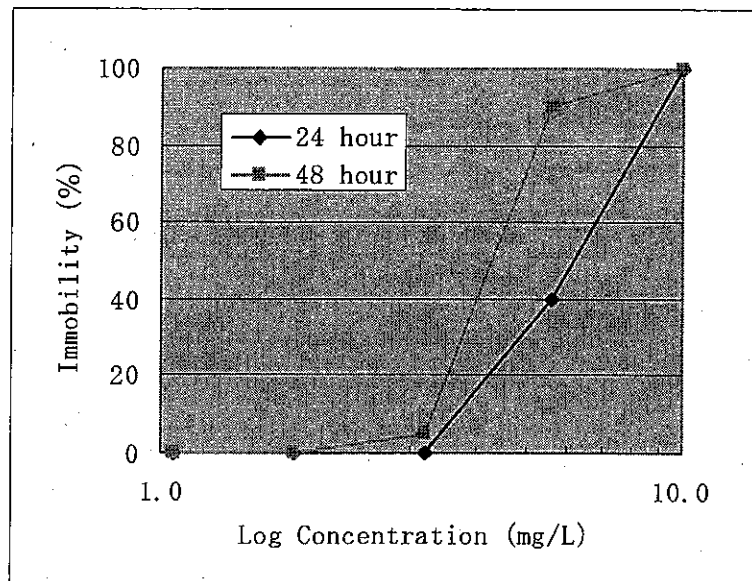
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統・時間齢)	学名 : <i>Daphnia magna</i> 系統 : 当施設で継代飼育 時間齢 : 生後 24 時間以内齢	
	入手先	環境省国立環境研究所	
	対照物質への感受性 (EC ₅₀) (対照物質名)	1.05 mg/L (これまでの EC ₅₀ mean=0.88 mg/L、S.D.=0.22 mg/L、n=15) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
飼育	飼育水の種類	Elendt M4 人工調製水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	20±1°C、16 時間明/8 時間暗	
試験条件	試験容器		100 mL ガラス製ビーカー
	試験用水	種類	Elendt M4 人工調製水
		硬度	247 mg/L (CaCO ₃ 換算値)
		pH	8.0
	暴露期間		2006 年 1 月 25 日～2006 年 1 月 27 日
	試験濃度 (設定値)		対照区, 1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10 mg/L (公比 1.8)
	供試数		20 頭/試験区
	連数	試験濃度区	4 連
		対照区	4 連
	試験溶液量		100 mL/容器
	助剤	助剤の有無	無
		種類	—
		濃度	—
		助剤対照区の連数	—
	試験方式		止水式
換水又は流水条件		該当しない	
水温		20.0～20.2°C	
結果の算出 方法	EC ₅₀	Logit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48hEC ₅₀ = 4.6 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の水溶解性が高く、溶解限度については、試験温度における48時間のフラスコ攪拌法により、100 mg/Lが十分に溶解することを目視、ならびにHPLC分析により確認した。</p> <p>試験時は、濃厚な試験原液を調製し、その所定量を試験用水に添加することにより各濃度の試験溶液を調製した。暴露期間中の被験物質濃度の変動の主因は分析の測定誤差によると考えられたため、算術平均値を採用した。</p> <p>試験の有効性については、化審法テストガイドラインから逸脱した点もなく、また試験の有効性基準を満たしたことから、有効であると判断した。</p>

5. ミジンコの濃度-遊泳阻害率曲線

被験物質濃度-遊泳阻害率曲線



魚類急性毒性試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	ベイシック エロー-2		
別名	p-オーラミン 塩酸テトラメチルジアミノベンゾフェノンイミド		
C A S 番号	2465-27-2		
構造式又は示性式 (いずれも不明な場合は、 その製法の概要)			
分子重量	303.84		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	94.0 % (無水物換算 88.7 %)		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	Z5M7906		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸気圧	1.29×10^{-6} mm Hg (25°C)		
対水溶解度	1×10^4 mg/L		
1-オクタノール/水分配係数	2.98		
融点	267°C		
沸点	不明		
常温における性状	黄色～黄金色のりん片状結晶または粉末		
安定性	常温で安定		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノール	解け難い	不明

2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方法
分析方法	<p>ベシック エロー-2 の試験溶液の一定量を、UV-VIS 検出器を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入し、クロマトグラムと同時にピーク面積 (カウント数) をデータ処理装置から求める。このピーク面積を用い、標準液の検量線から試験溶液中の被験物質の濃度を求める。</p> <p>[分析手順]</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。 2. 検量線を作成する。 3. 前処理を行った試験溶液を HPLC に注入してクロマトグラムと同時にピーク面積を得る。 4. 検量線により濃度を求め、希釈率を補正し、試験溶液の被験物質濃度を算出する。
前処理法	<p>試験液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 試験溶液を正確に量りとり、同量の溶離液を加えて混合する。
定量条件	<p>分析に用いた機器：</p> <p>高速液体クロマトグラフ (LC10AD 型 島津製作所)</p> <p>UV-VIS 検出器 (SPD-10A 型 島津製作所)</p> <p>測定条件：</p> <p>分離カラム : L-column, 250×4.6φ</p> <p>恒温槽温度 : 40℃</p> <p>溶離液 : アセトニトリル/0.05 N NaCl/酢酸:純水 (1:1)=6/2/2</p> <p>流量 : 0.8 mL/min</p> <p>検出波長 : 可視 435 nm</p> <p>注入量 : 10 μL</p>

3. 試験材料及び方法

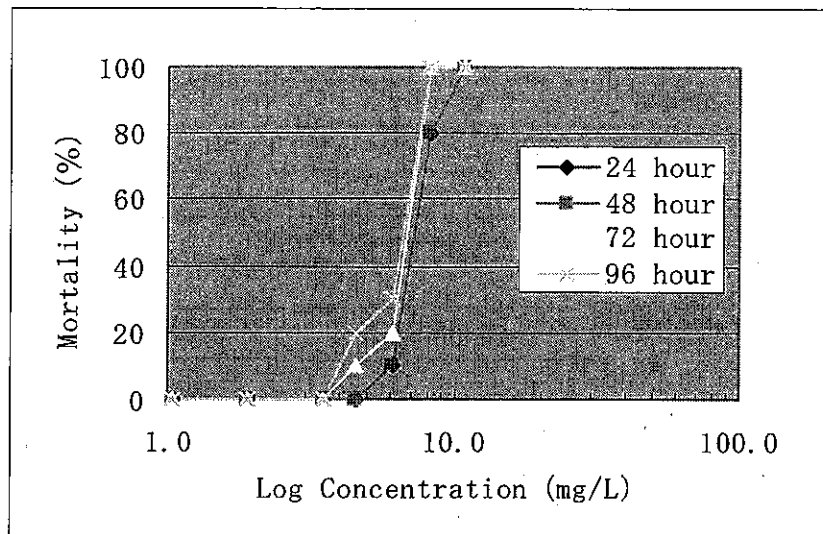
項目		内容	
試験生物	種 (和名・学名・系統)	和名：ヒメダカ 学名： <i>Oryzias latipes</i>	
	入手先	三協ラボサービスから入手したものを自家繁殖	
	対照物質への感受性 (LC ₅₀)、 (対照物質名)	0.33 mg/L (無水物換算) (これまでの LC ₅₀ mean=0.31 mg/L, S. D. =0.11 mg/L, n=21) 硫酸銅 (II) 五水和物、試薬特級	
じゅん化	じゅん化期間	2005年11月8日～2006年1月30日	
	飼育水の種類	脱塩素水	
	じゅん化前の薬浴の有無	無	
	環境条件 (水温、明暗周期)	24±1℃、16時間明/8時間暗	
	餌料 (種類・量・頻度)	テトラミン (テトラ社)・体重の2%/日	
試験条件	試験容器		3 L ガラス製ビーカー
	試験用水	種類	脱塩素水
		硬度	30 mg/L (CaCO ₃ 換算値)
		pH	7.8
	暴露期間		2006年1月30日～2006年2月3日
	試験濃度 (設定値)		対照区, 1.0, 1.8, 3.2, 4.2, 5.6, 7.5, 10 mg/L (変則公比)
	供試数		10尾/試験容器
	試験溶液量		3 L/試験容器
	助剤	助剤の有無	無
		種類	—
		濃度	—
	試験方式		半止水式
	換水又は流水条件		48時間目で試験液の全量を換水
	水温		23.7～24.1℃
	溶存酸素濃度 (DO)		飽和濃度の60%以上 (6.1～8.0 mg/L)
明暗周期		16時間明/8時間暗	
結果の算出方法	LC ₅₀	Probit法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	96hLC ₅₀ = 6.0 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の水溶解性が高く、溶解限度については、試験温度における48時間のフラスコ攪拌法により、100 mg/Lが十分に溶解することを目視、ならびにHPLC分析により確認した。</p> <p>試験時は、濃厚な試験原液を調製し、その所定量を試験用水に添加することにより各濃度の試験溶液を調製した。暴露期間中の被験物質濃度の変動の主因は分析の測定誤差によると考えられたため、算術平均値を採用した。</p> <p>試験の有効性については、化審法テストガイドラインから逸脱した点もなく、また試験の有効性基準を満たしたことから、有効であると判断した。</p>

5. 魚類の濃度－死亡率曲線

被験物質濃度－死亡率曲線



藻類生長阻害試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	t-ブチル-p-ヒドロキシアニソール		
別名 (略称)	B 6		
CAS 番号	25013-16-5		
構造式又は示性式 (いずれも不明な場合は、その製法の概要)	 <chem>CC(C)(C)c1ccc(O)cc1OC</chem> $C_{11}H_{16}O_2$		
分子量	180.25		
試験に供した新規化学物質の純度(%)	99.6%		
試験に供した新規化学物質のロット番号	CEF1912		
不純物の名称及び含有率(%)	—		
蒸気圧	—		
対水溶解度	殆ど不溶		
1-オクタール/水分配係数	—		
融点	64.2°C		
沸点	—		
常温における性状	殆ど白色結晶～結晶性粉末		
安定性	—		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノール	易溶	—
	アセトン	易溶	—
	プロピレングリコール	易溶	—

2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方法
分析方法	高速液体クロマトグラフィー
前処理法	<p>実験開始時は試験液調製時の予備の1本を分析試料とし、被験物質濃度を測定した。実験終了時は対照区の6連及び各試験濃度区の3連の試験液から均等に分取したものを分析試料とし被験物質濃度を測定した。</p> <p>各試験液(分析試料)を遠心分離(3000 rpm, 5分間)後、各分析試料20 mLをあらかじめアセトニトリル約5 mL及び純水約5 mLでコンディショニングしたエムポアディスクカートリッジ C18HD(10 mm/6 mL)に吸引添加した。アセトニトリル0.9 mLで溶出し、アセトニトリルで1 mLに定容した。これを500 µL分取し、純水500 µLを加えて混和し、HPLC分析試料として25 µLを注入した。</p> <p>ただし、3.2及び10.0 mg/Lの回収率算出用試料は OECD 培地で2及び10倍に希釈し分析試料とした。また、3.28及び10.50 mg/Lの試験液は OECD 培地で2及び10倍に希釈し分析試料とした。</p> <p>フローチャートを以下に示す。</p> <pre> graph TD A[分析試料又は 回収率算出用試料 20 mL] --> B[エムポアディスクカートリッジ C18HD(10 mm/6 mL)] C[コンディショニング ←アセトニトリル 約5 mL ←純水 約5 mL] --> B B --> D[吸引添加(-0.4100 × kPa)] D --> E[溶出 ←アセトニトリル 0.9 mL] E --> F[定容 ←アセトニトリルで1 mLに定容] F --> G[500 µL分取 ←純水 500 µL] G --> H[混和] H --> I[HPLC分析試料 25 µL] </pre>

定量条件	・使用分析機器	
	HPLC :	LC-10A システム
	ポンプ :	LC-10AD
	システムコントローラー :	SCL-10A
	オートサンプラー :	SIL-10A
	カラムオープン :	CTO-10AC
	検出器 (UV/VIS) :	SPD-10A
	データ処理装置 :	C-R7A plus
	・測定条件	
	カラム :	Inertsil ODS-3 (4.6 mm I.D. × 150 mm, 5 μ m) (GLサイエンス)
	移動相 :	アセトニトリル/純水 = 6 : 4 (v/v)
	流速 :	1.0 mL/min
	カラム温度 :	25°C
	サンプル設定温度 :	25°C
検出波長(UV) :	230 nm	
試料注入量 :	25 μ L	

3. 試験材料及び方法

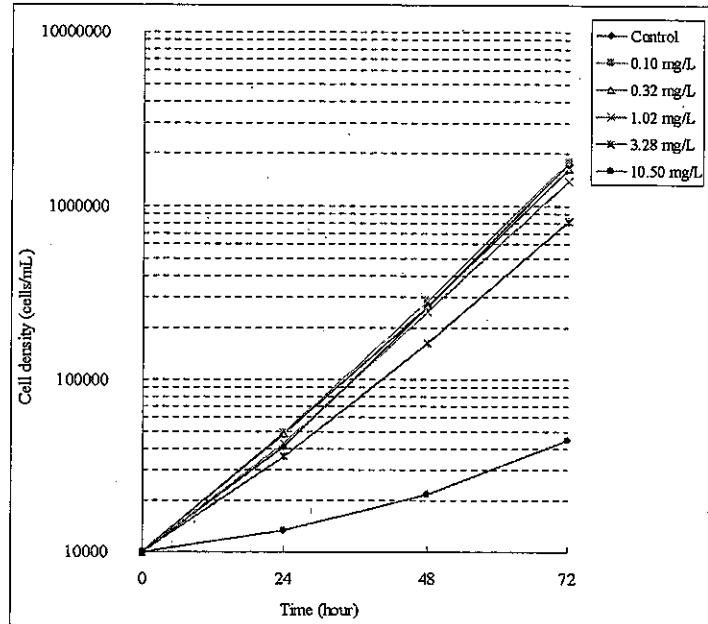
項目		内容	
試験生物	種 (学名・株名)	学名: <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 株名: ATCC22662	
	入手先	名称: American Type Culture Collection 所在地: 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852 USA	
	対照物質への感受性 EC50 対照物質名	EbC50(0-72): 0.50 mg/L 対照物質名: ニクロム酸カリウム	
前培養	前培養の期間	2006年3月10日～2006年3月13日	
	培地名	OECD 培地	
	環境条件 (水温・光強度)	培養温度: 23.0±2.0°C 照明: 4440 - 8880 lux で連続照明	
試験条件	試験容器	300 mL ガラス製三角フラスコ ー通気性のシリコン栓	
	培地名	OECD 培地	
	暴露期間	2006年3月13日～2006年3月16日	
	試験濃度 (設定値)	0.10, 0.32, 1.02, 3.28, 10.50 mg/L (公比: 3.2)	
	初期細胞濃度	1×10 ⁴ cells/mL	
	連数	試験濃度区	3 連
		対照区	6 連
	試験溶液量	100 mL	
	助剤	助剤の有無	無し
		種類	—
		濃度	—
		助剤対照区の 連数	—
培養方式 (振とう培養、 静置培養、連続培養等)	振とう培養 (100 rpm)		
水温又は培養温度	培養温度: 23.0±2.0°C		
照明 (光強度・時間等)	4440 - 8880 lux で連続照明		
結果の算出 方法	速度法	EC50: プロビット法 NOEC: ダネット型の検定	
	面積法	EC50: プロビット法 NOEC: ダネット型の検定	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	0-72hErC50= 5.249 mg/L 0-72hEbC50= 1.857 mg/L NOEC(速度法)=0.252 mg/L NOEC(面積法)=0.252 mg/L
試験濃度	1.設定値 ・ 2.実測値
考察及び特記事項	<ul style="list-style-type: none"> ・ 生長速度の比較(速度法)による結果 プロビット法を用いて算出したErC50 (0-72h)は5.249 mg/Lであり、その 95%信頼区間は 4.528 - 6.216 mg/Lであった。ダネット型の検定による無作用濃度[NOErC (0-72h)]は0.252 mg/Lであった。 ・ 生長曲線下の面積の比較(面積法)による結果 プロビット法を用いて算出した EbC50(0-72h)は1.857 mg/Lであり、その 95%信頼区間は 1.655 - 2.091 mg/Lであった。ダネット型の検定による無作用濃度[NOEbC (0-72h)]は0.252 mg/Lであった。 ・ 試験液中の被験物質濃度 実験開始時及び実験終了時(72時間後)に試験液中の被験物質濃度を測定した。試験液中の被験物質濃度は実験開始時において各設定値の 72.7 - 104.0%、実験終了時は各設定値の 67.9 - 85.0%であった。 実験開始時の測定濃度はフィルター濾過時の吸着による低下と考えられた。また、実験終了時において実験開始時に対して濃度変動が見られたため、測定値の幾何平均値を用いてEC50値及びNOECを算出した。 ・ 温度及び pH 72時間の実験期間中の照射式回転振盪培養機内の温度は 22.9 - 23.0°Cと設定条件の23.0±2.0°Cの範囲内であった。また、試験液のpHは実験開始時が7.9 - 8.1、実験終了時が7.8 - 7.9であった。 ・ 照度 実験期間中の照射式回転振盪培養機内の照度は、基準値(4440 - 8880 lux)の範囲内であった。また、開始時及び終了時の各照度は平均照度の±15%の範囲内であり、開始時と終了時の平均照度の変動も±15%の範囲内であることを確認した。

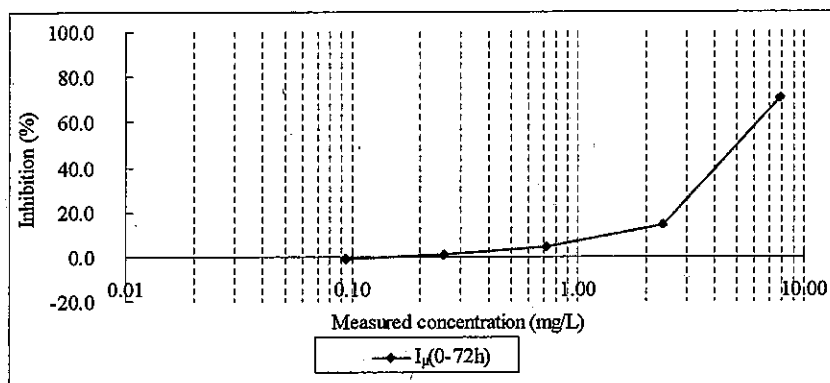
5. 藻類の生長曲線及び濃度-生長阻害率曲線

・生長曲線

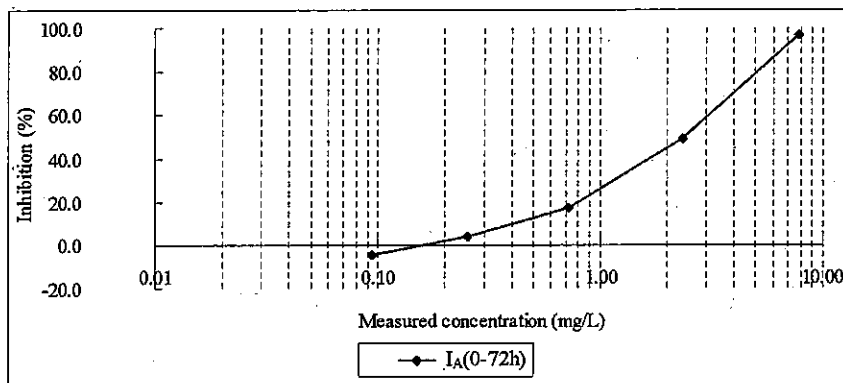


濃度—生長阻害率曲線

• 速度法

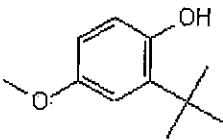


• 面積法



ミジンコ急性遊泳阻害試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	t-ブチル-p-ヒドロキシアニソール		
別名 (略称)	B6		
CAS 番号	25013-16-5		
構造式又は示性式 (いずれも不明な場合は、その製法の概要)	 <chem>CC(C)(C)c1cc(O)ccc1OC</chem> $C_{11}H_{16}O_2$		
分子量	180.25		
試験に供した新規化学物質の純度(%)	99.6%		
試験に供した新規化学物質のロット番号	CEF1912		
不純物の名称 及び含有率	—		
蒸気圧	—		
対水溶解度	殆ど不溶		
1-オクタノール/水分配係数	—		
融点	64.2°C		
沸点	—		
常温における性状	殆ど白色結晶～結晶性粉末		
安定性	—		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノール	易溶	—
	アセトン	易溶	—
	プロピレングリコール	易溶	—

2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方法
分析方法	高速液体クロマトグラフィー
前処理法	<p>調製した試験液を実験開始時の測定試料とした。また、実験終了時に各濃度区の4連の試験液から均等に分取したもの(各1 mL)を測定試料とした。測定試料300 μLにアセトニトリル300 μLを加えて混合してHPLC分析試料とした。</p> <p>以下のフローチャートに前処理を示す。</p> <pre> 測定試料(試験液) 300 μL ←アセトニトリル 300 μL 混合 HPLC 分析試料 25 μL </pre>
定量条件	<ul style="list-style-type: none"> ・ 使用分析機器 HPLC : LC-10A システム ポンプ : LC-10AD システムコントローラー : SCL-10A オートサンプラー : SIL-10A カラムオープン : CTO-10AC 検出器 (UV/VIS) : SPD-10A データ処理装置 : C-R7A plus ・ 測定条件 カラム : Inertsil ODS-3 (4.6 mm I.D. \times 150 mm, 5μm) (GLサイエンス) 移動相 : アセトニトリル/純水 = 6 : 4 (v/v) 流速 : 1.0 mL/min. カラム温度 : 25$^{\circ}$C サンプル設定温度 : 25$^{\circ}$C 検出波長(UV) : 230 nm 試料注入量 : 25 μL

3. 試験材料及び方法

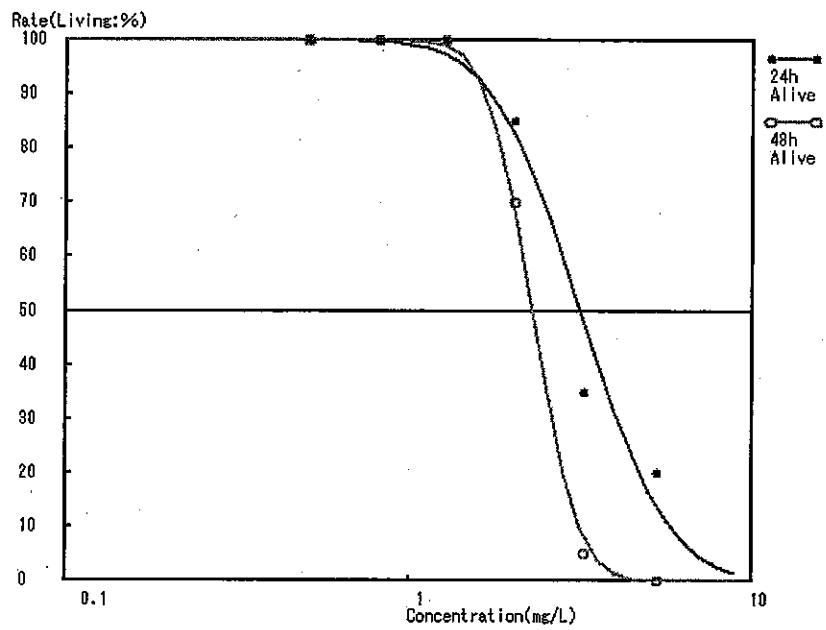
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統、時間齢)	学名： オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>) 系統： — 時間齢： 24 時間以内	
	入手先	名称： (旧)国立環境研究所 所在地： 茨城県つくば市小野川 16-2	
	対照物質への感受性 (EC ₅₀) (対照物質名)	48 時間 EC ₅₀ : 0.28 mg/L 対照物質名： ニクロム酸カリウム	
飼育	飼育水の種類	脱塩素水道水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	水温： 20.0±1.0°C 明暗周期： 16 時間明 / 8 時間暗 (室内光)	
試験条件	試験容器	200 mL 容ガラスビーカー	
	試験用水	種類 (天然水、脱塩素水道水、人工調製水等)	脱塩素水道水
		硬度	10 - 250 mg/L
		pH	6.0 - 9.0
	暴露期間	2006 年 3 月 15 日 ~ 2006 年 3 月 17 日	
	試験濃度 (設定値)	0.50, 0.80, 1.28, 2.05, 3.28, 5.24 mg/L (公比： 1.6)	
	供試数	5 頭/試験容器	
	連数	試験濃度区	4 連
		対照区	4 連
	試験溶液量	100 mL	
	助剤	助剤の有無	無し
		種類	—
		濃度	—
		助剤対照区の連数	—
	試験方式 (止水、半止水、流水等)	止水式	
	換水又は流水条件	—	
	水温	20.0 ± 1.0°C	
溶存酸素濃度 (DO)	3.0 mg/L 以上		
明暗周期	16 時間明 / 8 時間暗 (室内光)		
結果の算出方法	EC ₅₀	Probit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48時間 EC ₅₀ 値： 2.28 mg/L 95%信頼限界： 2.02 - 2.57 mg/L 最大無作用濃度： 1.27 mg/L 100%阻害最低濃度： 5.30 mg/L
試験濃度	1.設定値 ・ 2.実測値
考察及び特記事項	<ul style="list-style-type: none"> ・ 試験液中の被験物質濃度 実験開始時及び実験終了時に試験液中の被験物質濃度を測定した。実験開始時の試験液中の被験物質濃度は各設定濃度の99.9 - 108.4%、実験終了時は各設定濃度の95.6 - 100.3%であった。 半数遊泳阻害濃度(EC50)の算出には、実験開始時及び終了時の測定濃度の算術平均値を用いて算出した。 ・ 半数遊泳阻害濃度(EC50) 対照区における 24 及び 48 時間での遊泳阻害率は 0%となり、試験条件(10%以下)を満たしていた。 実験開始 24 時間の遊泳阻害率は 0.51, 0.81 及び 1.27 mg/L 濃度区で 0%となり、2.02, 3.25 及び 5.30 mg/L 濃度区では 15, 65 及び 80%であった。実験終了時の遊泳阻害率は 0.51, 0.81 及び 1.27 mg/L 濃度区で 0%となり、2.02, 3.25 及び 5.30 mg/L 濃度区で 30, 95 及び 100%となった(すべて測定濃度で記載)。 これらの結果から Probit 法で半数遊泳阻害濃度(EC50)を算出すると、24 及び 48 時間 EC₅₀ 値は 3.16 及び 2.28 mg/L となった(すべて測定濃度で記載)。 ・ 最大無作用濃度(NOEC)及び 100%阻害最低濃度 24 及び 48 時間における最大無作用濃度は 1.27 mg/L であった(測定濃度)。 また、24 及び 48 時間 100%阻害最低濃度は >5.30 及び 5.30 mg/L であった(測定濃度)。 ・ 試験液の水温、pH、溶存酸素濃度 実験期間中の試験液の水温は 20.4 - 20.6℃ で、基準の 20.0 ± 1.0℃ の範囲内であった。 実験期間中の試験液の pH は対照区及び各濃度区で 7.4 - 7.6 で、被験物質による影響は見られなかった。 実験期間中の試験液の溶存酸素濃度は、実験開始時(供試ミ

	<p>ジンのない状態で 8.6 - 8.8 mg/L、実験終了時(供試ミジンコを 48 時間暴露した試験液)で 8.2 - 8.3 mg/L であった。実験期間を通じて最低溶存酸素濃度は 8.2 mg/L で、基準の 3 mg/L 以上であった。</p>
--	---

5. ミジンの濃度-遊泳阻害率曲線



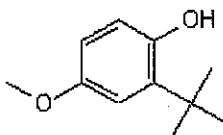
“Number of immobility (%)” indicated as “Rate”.

“Measured concentration” indicated as “Concentration (mg/L)”.

Dose-response curve for EC50 (Probit method)

魚類急性毒性試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	t-ブチル-p-ヒドロキシアニソール		
別名 (略称)	B 6		
CAS 番号	25013-16-5		
構造式又は示性式 (いずれも不明な場合は、その製法の概要)	 <chem>CC(C)(C)c1ccc(O)c(OC)c1</chem> $C_{11}H_{16}O_2$		
分子量	180.25		
試験に供した新規化学物質の純度(%)	99.6%		
試験に供した新規化学物質のロット番号	CEF1912		
不純物の名称及び含有率	—		
蒸気圧	—		
対水溶解度	殆ど不溶		
1-オクタノール/水分配係数	—		
融点	64.2°C		
沸点	—		
常温における性状	うすい黄色結晶性粉末		
安定性	—		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノール	易溶	—
	アセトン	易溶	—
	プロピレングリコール	易溶	—

2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方法
分析方法	高速液体クロマトグラフィー
前処理法	<p>実験開始時、24, 48 時間後及び実験終了時に各濃度区の試験水(約 1 mL)から分取し、測定試料とした。但し、実験開始 72 時間後は 100%の死亡した濃度区がなかったため、試験水の測定を行わなかった。</p> <p>測定試料 300 μL にアセトニトリル 300 μL を加えて混合して HPLC 分析試料とした。</p> <p>以下のフローチャートに前処理を示す。</p> <pre> 測定試料 (試験水) 300 μL ←アセトニトリル 300 μL 混合 HPLC 分析試料 25 μL </pre>
定量条件	<p>・使用分析機器</p> <p>HPLC : LC-10A システム ポンプ : LC-10AD システムコントローラー : SCL-10A オートサンプラー : SIL-10A カラムオープン : CTO-10AC 検出器 (UV/VIS) : SPD-10A データ処理装置 : C-R7A plus</p> <p>・測定条件</p> <p>カラム : Inertsil ODS-3 (4.6 mm I.D. \times 150 mm, 5μm) (GLサイエンス)</p> <p>移動相 : アセトニトリル/純水 = 6 : 4 (v/v) 流速 : 1.0 mL/min. カラム温度 : 25$^{\circ}$C サンプル設定温度 : 25$^{\circ}$C 検出波長(UV) : 230 nm 試料注入量 : 25 μL</p>

3. 試験材料及び方法

項目		内容	
試験生物	種 (和名、学名、系統)	和名：ヒメダカ 学名： <i>Oryzias latipes</i> 系統：不明	
	入手先	名称： やまと錦魚園 所在地：〒639-1021 奈良県大和郡山市 新木町107	
	大きさ (全長、体重)・月齢	全長：2.4±0.1 cm (n=7) 体重：0.12±0.01 g (n=7) 月齢：不明 (当歳魚)	
	対照物質への感受性 (LC50) (対照物質名)	96hLC50：0.37 mg/L 対照物質名：ペンタクロフェニールナトリウム塩	
じゅん化	じゅん化期間	5-7日間	
	飼育水の種類	脱塩素水道水	
	じゅん化前の薬浴の有無	無	
	じゅん化方式 (止水、半止水、流水等)	半止水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	水温：24±2°C 明暗周期：16時間明、8時間暗 (室内光)	
	飼料 (種類・量・頻度等)	種類：メダカの飼料 (キョーリン) 量：魚体重の1-2% 頻度等：2回/日	
試験条件	試験容器	3L容ガラスピーカー	
	試験用水	種類 (天然水、脱塩素水道水、人工調製水等)	脱塩素水道水
		硬度	250 mg/L 以下
		pH	6.0 - 9.0
	暴露期間	2006年3月27日 ~ 2006年3月31日	
	試験濃度 (設定値)	1.66, 2.15, 2.80, 3.64, 4.73, 6.15, 8.00, 10.40 mg/L (公比: 1.3)	
	供試数	7尾/試験容器	
	試験溶液量	3L	
	助剤	助剤の有無	無し
		種類	—
濃度		—	

	試験方式（止水、半止水、流水等）	半止水
	換水又は流水条件	48 時間換水
	水温	24 ± 2°C
	溶存酸素濃度（DO）	飽和酸素濃度の 60%（5.0 mg/L）以上
	明暗周期	16 時間明、8 時間暗（室内光）
結果の 算出方法	LC50	Probit 法

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	96hLC50 : 5.82 mg/L
試験濃度	1. 設定値 ・ 2. 実測値
考察及び特記事項	<ul style="list-style-type: none"> ・ 試験水中の被験物質濃度 実験開始時及び換水後の試験水濃度は設定濃度の98.3 - 104.5%であった。換水前及び実験終了時の試験水濃度は設定濃度の84.5 - 96.9%であった。 また、半数致死濃度(LC50値)の算出には実験開始時、実験開始48時間及び実験終了時の測定濃度の幾何平均値を用いて算出した。但し、実験開始24時間で8.00及び10.40 mg/L濃度区は死亡率が100%となったため、実験開始時及び実験開始24時間の測定濃度の幾何平均値を用いてLC50値を算出した。以下、試験水濃度は算出した測定濃度で示す。 ・ 累積死亡率(%) 実験開始 96 時間後の累積死亡率は対照区、1.54, 2.01, 2.62, 3.38 及び 4.57 mg/L 濃度区で 0%であった。 また、6.15, 8.24 及び 10.69 mg/L 濃度区の累積死亡率は 71, 100 及び 100%であった。 ・ 供試魚の異常な症状及び反応 対照区、1.54, 2.01 及び 2.62 mg/L 濃度区においては、毒性の徴候や異常及び特異的症例は全く観察されなかった。 1.54, 2.01 及び 2.62 mg/L 濃度区において実験開始 96 時間後まで毒性症状は観察されなかった。3.38 mg/L 濃度区では実験開始 48 時間後まで毒性症状は観察されなかった。観察結果より、実験開始 96 時間の NOEC は 2.62 mg/L となった。 実験開始 96 時間後の 100%死亡最低濃度は 8.24 mg/L である

と判断した。また、実験開始 96 時間後の 0%死亡最高濃度は 4.57 mg/L であった。

・ 試験水の水温、pH、溶存酸素濃度

実験期間中における試験水の水温は 23.6 - 25.2°C となり、基準の $24 \pm 2^\circ\text{C}$ の範囲内であった。

実験期間中における対照区の pH は 7.6 - 7.7 で、濃度区の pH は 7.4 - 7.7 となり、被験物質による pH の影響は見られなかった。

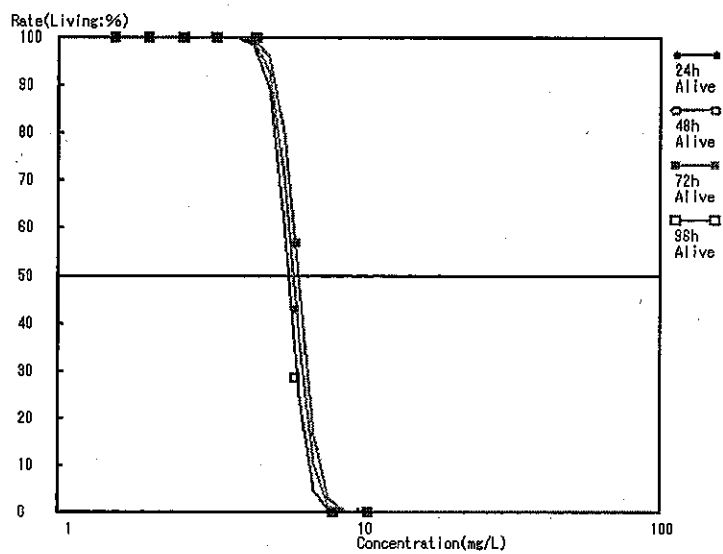
溶存酸素濃度は対照区及びすべての濃度区について、実験開始時で 8.1 - 8.2 mg/L、24 時間後から実験終了時まで 6.7 - 8.3 mg/L であった。実験期間を通じて最低溶存酸素濃度は 6.7 mg/L で、飽和溶存酸素濃度の 60%以上であった。

・ 供試魚の全長及び体重

実験開始時における供試魚(n=7)の全長は平均値で 2.4 ± 0.1 cm であった。

また、魚体重の平均値(n=7)は 0.12 ± 0.01 g であったことから、試験水量(3L)に対して魚体重が 0.28 g/L となり、基準(試験水 1L あたりの魚体重が 1.0 g 以下)の範囲内であった。

5. 魚類の濃度-死亡率曲線



Dose-response curve for LC50 (Measured concentration)