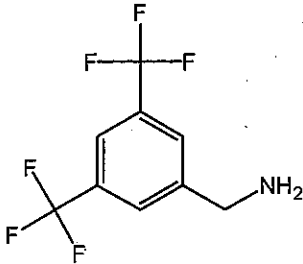


藻類生長阻害試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	3, 5-ビス (トリフルオロメチル) ベンジルアミン		
別 名			
C A S 番 号	85068-29-7		
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	243.149		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.9 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	L07611/B24553		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸 気 圧	0.449 mmHg (25°C)		
対 水 溶 解 度	727.3 mg/L (25°C)		
1-オクタノール/水分配係数	3 (推定値)		
融 点	50~55°C		
沸 点	82~84°C (15 mmHg)		
常温における性状	白色結晶粉末		
安 定 性	不明		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	不明	不明	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>3, 5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジルアミンの試験溶液の一定量を、UV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高さ(カウント数)をデータ処理装置から求める。このピーク高さを用い、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高さを得る。 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. 試験液中に藻体がある場合には遠心により除去する。 2. 被験物質濃度が0.1 mg/L以下の試験溶液はODSカートリッジにより濃縮する。 3. 検量線の被験物質濃度範囲内に入るように試験溶液の一定量を取り、アセトニトリルで10 mLに希釈する。
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(L-6000型 日立製作所)</p> <p>UV検出器(L-4000型 日立製作所)</p> <p>測定条件:</p> <p>分離カラム : Mightysil RP-18, 150×4.6φ</p> <p>恒温槽温度 : 40℃</p> <p>溶離液 : アセトニトリル/25 mmol リン酸二水素カリウム(pH 7.0)水溶液(45/55)</p> <p>流量 : 1.0 mL/min</p> <p>検出波長 : UV 210 nm</p> <p>注入量 : 50 μL</p>

3. 試験材料及び方法

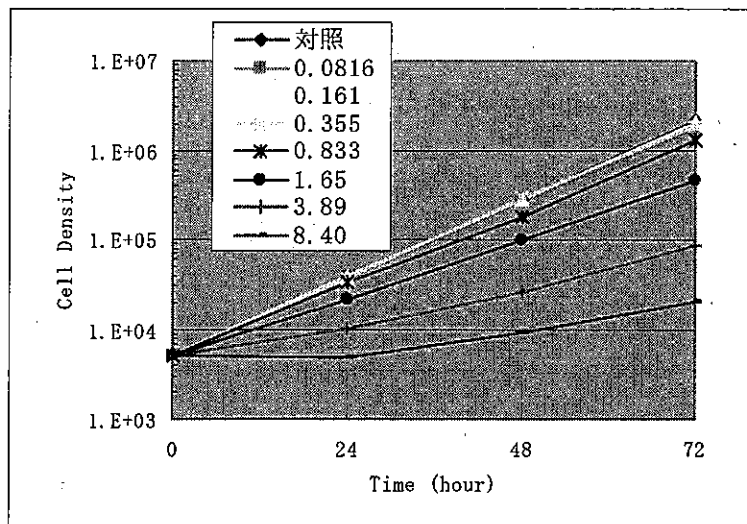
項目		内容	
試験生物	種 (学名・株名)	学名: <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 株名: ATCC 22662 株	
	入手先	American Type Culture Collection	
	対照物質への感受性 (EC ₅₀) (対照物質名)	1.06 mg/L (E _r C ₅₀) (これまでの値 E _r C ₅₀ mean=0.88 mg/L, S.D.=0.04 mg/L, n=4) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
前培養	前培養の期間	2005年12月10日~2005年12月13日	
	培地名	OECD 培地	
	環境条件 (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	2005年12月13日~2005年12月16日	
	試験濃度 (設定値)	対照区, 0.10, 0.22, 0.46, 1.0, 2.2, 4.6, 10 mg/L (公比 2.2)	
	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°Cで一定		
照明 (光強度・時間等)	平均 70 (66~78) μE/m ² /s・連続照射		
結果の算出 方法	速度法	Probit 法、Dunnett 法	
	面積法	Probit 法、Dunnett 法	

4. 試験結果及び考察

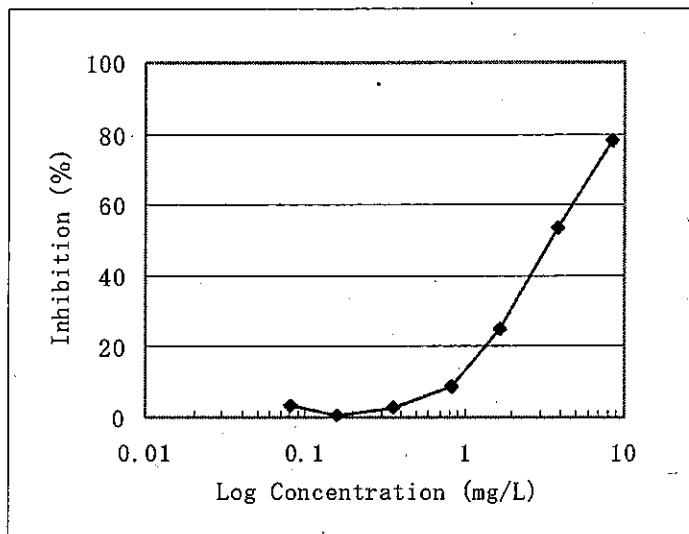
項目	内容
毒性値	0-72hE _r C ₅₀ = 3.6 mg/L
	0-72hE _b C ₅₀ = 0.98 mg/L
	NOEC (速度法) = 0.36 mg/L
	NOEC (面積法) = 0.36 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の水溶解性が高く、溶解限度については、試験温度における48時間のフラスコ攪拌法により、100 mg/Lが十分に溶解することを目視、ならびにHPLC分析により確認した。</p> <p>試験時は、濃厚な試験原液を調製し、その所定量を試験培地に添加することにより各濃度の試験溶液を調製した。暴露期間中の被験物質濃度の変動の主因は、揮散によると考えられたため、幾何平均値を採用した。</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

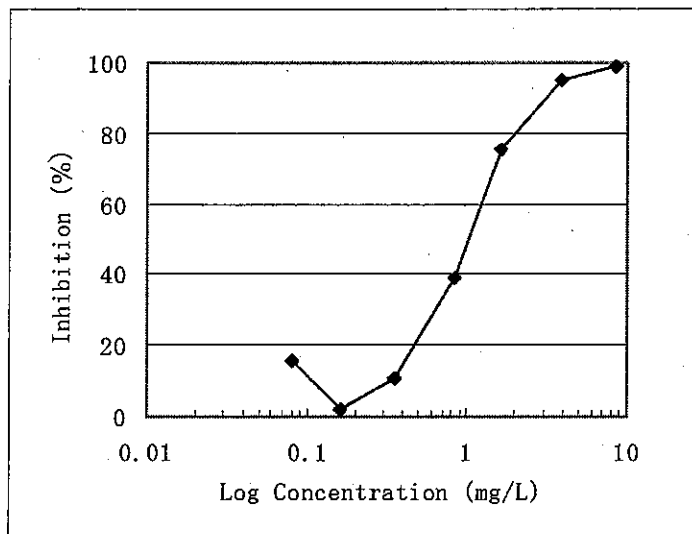
藻類の生長曲線



被驗物質濃度—生長阻害率曲線 (速度法)

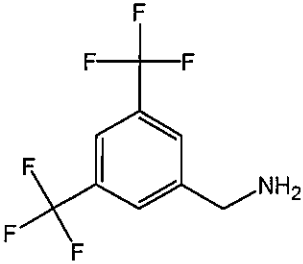


被驗物質濃度—生長阻害率曲線 (面積法)



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)	3, 5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジルアミン		
別名			
C A S 番号	85068-29-7		
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	243.149		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.9 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	L07611/B24553		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸気圧	0.449 mmHg (25°C)		
対水溶解度	727.3 mg/L (25°C)		
1-オクタノール/水分配係数	3 (推定値)		
融点	50~55°C		
沸点	82~84°C (15 mmHg)		
常温における性状	白色結晶粉末		
安定性	不明		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	不明	不明	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>3, 5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジルアミンの試験溶液の一定量を、UV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高さ(カウント数)をデータ処理装置から求める。このピーク高さを用い、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高さを得る。 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. 検量線の被験物質濃度範囲内に入るように試験溶液の一定量を取り、アセトニトリルで10 mLに希釈する。
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 (L-6000型 日立製作所) UV検出器 (L-4000型 日立製作所)</p> <p>測定条件：</p> <p>分離カラム : Mightysil RP-18, 150×4.6φ 恒温槽温度 : 40℃ 溶離液 : アセトニトリル/ 25 mmol リン酸二水素カリウム (pH 7.0) 水溶液 (45/55) 流量 : 1.0 mL/min 検出波長 : UV 210 nm 注入量 : 50 μL</p>

3. 試験材料及び方法

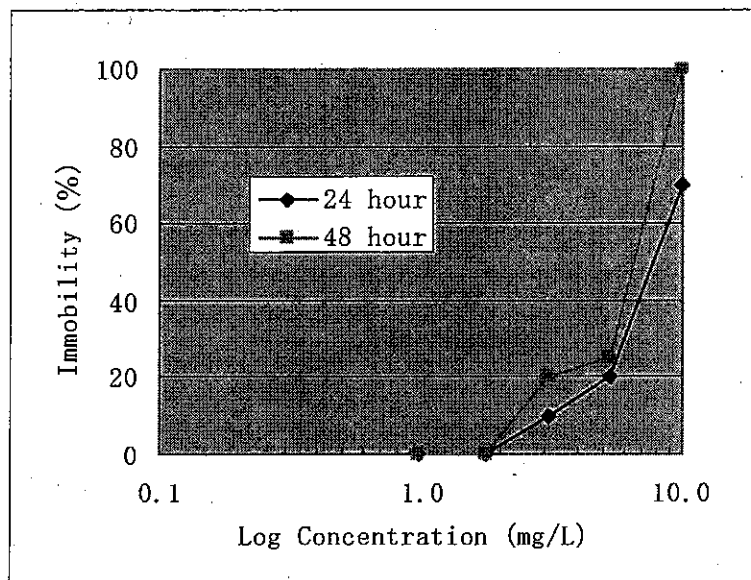
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統・時間齢)	学名 : <i>Daphnia magna</i> 系統 : 当施設で継代飼育 時間齢 : 生後 24 時間以内齢	
	入手先	環境省国立環境研究所	
	対照物質への感受性 (EC ₅₀) (対照物質名)	1.05 mg/L (これまでの EC ₅₀ mean=0.88 mg/L, S.D.=0.22 mg/L, n=15) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
飼育	飼育水の種類	Elendt M4 人工調製水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	20±1℃、16 時間明/8 時間暗	
試験条件	試験容器		100 mL ガラス製ビーカー
	試験用水	種類	Elendt M4 人工調製水
		硬度	244 mg/L (CaCO ₃ 換算値)
		pH	7.9
	暴露期間		2005 年 12 月 14 日～2005 年 12 月 16 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		20.2～20.3℃	
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	48hEC ₅₀ = 5.5 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で確認し、HPLC分析により測定した。</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変動の主因は、揮散によると考えられたことから、幾何平均値を採用した。</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>

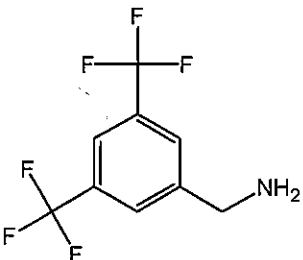
5. ミジンコの濃度-遊泳阻害率曲線

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)	3, 5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジルアミン		
別名			
C A S 番号	85068-29-7		
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	243.149		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.9 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	L07611/B24553		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸気圧	0.449 mmHg (25°C)		
対水溶解度	727.3 mg/L (25°C)		
1-オクタノール/水分配係数	3 (推定値)		
融点	50~55°C		
沸点	82~84°C (15 mmHg)		
常温における性状	白色結晶粉末		
安定性	不明		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	不明	不明	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>3, 5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジルアミンの試験溶液の一定量を、UV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高さ(カウント数)をデータ処理装置から求める。このピーク高さを用い、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高さを得る。 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. 検量線の被験物質濃度範囲内に入るように試験溶液の一定量を取り、アセトニトリルで10 mLに希釈する。
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 (L-6000型 日立製作所)</p> <p>UV検出器 (L-4000型 日立製作所)</p> <p>測定条件:</p> <p>分離カラム : Mightysil RP-18, 150×4.6φ</p> <p>恒温槽温度 : 40℃</p> <p>溶離液 : アセトニトリル/ 25 mmol リン酸二水素カリウム (pH 7.0) 水溶液 (45/55)</p> <p>流量 : 1.0 mL/min</p> <p>検出波長 : UV 210 nm</p> <p>注入量 : 50 μL</p>

3. 試験材料及び方法

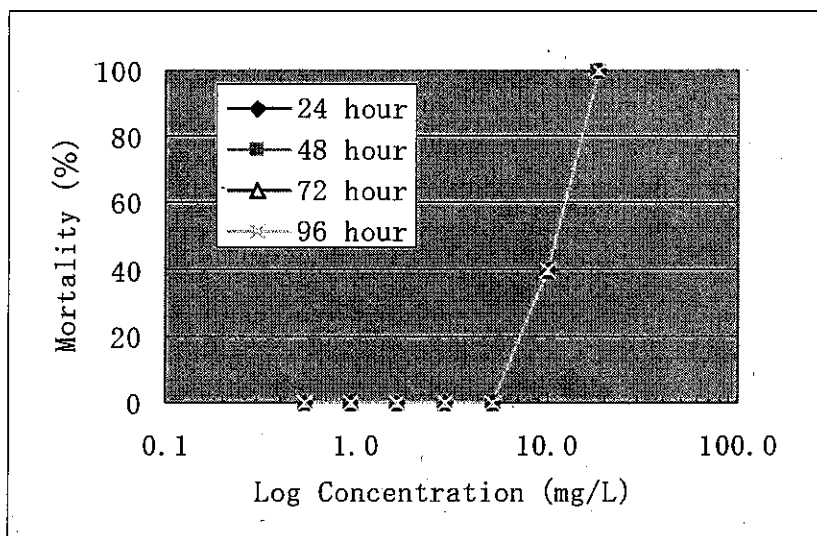
項目		内容	
試験生物	種 (和名・学名・系統)	和名: ヒメダカ 学名: <i>Oryzias latipes</i>	
	入手先	三協ラボサービスから入手したものを自家繁殖	
	対照物質への感受性 (LC ₅₀) (対照物質名)	0.33 mg/L (無水物換算) (これまでの LC ₅₀ mean=0.31 mg/L, S.D.=0.11 mg/L, n=21) 硫酸銅 (II) 五水和物、試薬特級	
じゅん化	じゅん化期間	2005年11月8日～2006年1月23日	
	飼育水の種類	脱塩素水	
	じゅん化前の葉浴の有無	無	
	環境条件 (水温、明暗周期)	24±1℃、16時間明/8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		5 L 容ネジロビン
	試験用水	種類	脱塩素水
		硬度	31 mg/L (CaCO ₃ 換算値)
		pH	7.8
	暴露期間		2006年1月23日～2006年1月27日
	試験濃度 (設定値)		対照区, 0.56, 1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10, 18 mg/L (公比1.8)
	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		23.8～24.3℃
	溶存酸素濃度 (DO)		飽和濃度の60%以上 (6.3～8.4 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 = 11 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により確認し、HPLC分析により測定した。</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主因は、分析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>

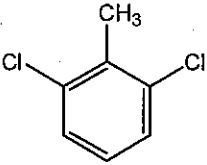
5. 魚類の濃度-死亡率曲線

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)	2, 6-ジクロロトルエン		
別名			
C A S 番号	118-69-4		
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	161.03		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.8 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	DPE5145		
不純物の名称及び含有率	水分 0.01 %, その他不明		
蒸気圧	0.358 mmHg (25°C)		
対水溶解度	18.5 mg/L (25°C)		
ヘンリー定数	0.00415 atm · m ³ /mole		
p K a 解離定数	不明		
1-オクタノール/水分配係数	3.99		
融点	25.8°C		
沸点	198°C		
常温における性状	無色～ほとんど無色、澄明の液体		
安定性	不明		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノールおよび アセトン	混和	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>試験溶液の一定量を、UV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>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 被験物質の揮散による減少を防ぐため、試験溶液の採取時に等量のアセトニトリルを添加し混合する。 2. 検量線の被験物質濃度範囲内に入るように試験溶液の一定量を取り、アセトニトリル/純水 (50/50) で希釈する。
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 (L-7100型 日立製作所) UV検出器 (L-7420型 日立製作所)</p> <p>測定条件：</p> <p>分離カラム : Mightysil RP-18, 250 mm×4.6 φ 恒温槽温度 : 40°C 溶離液 : アセトニトリル/純水 (80/20) 流量 : 1.0 mL/min 検出波長 : UV 200 nm 注入量 : 20 μL</p>

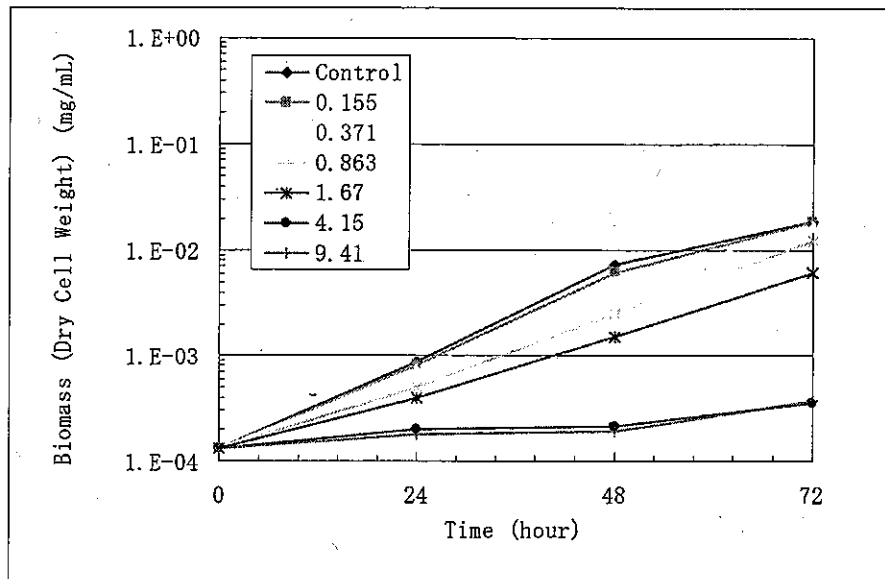
3. 試験材料及び方法

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)	2.43 mg/L (これまでの値 E _x C ₅₀ 2.40, 2.38 mg/L, n=2) であった。 3, 5-ジクロロフェノール, 試薬特級	
前培養	前培養の期間	2007年3月3日~2007年3月6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	共栓付 300 mL 容ガラス製三角フラスコ	
	培地名	OECD 培地	
	暴露期間	2007年3月6日~2007年3月9日	
	試験濃度 (設定値)	対照区, 0.43, 0.93, 2.0, 4.3, 9.3, 20 mg/L (公比 2.2)	
	初期生物量 (細胞濃度)	< 0.5 mg/L 以下 (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 68 (66~79) μE/m ² /s・連続照射	
結果の算出 方法	速度法	Logit 法	

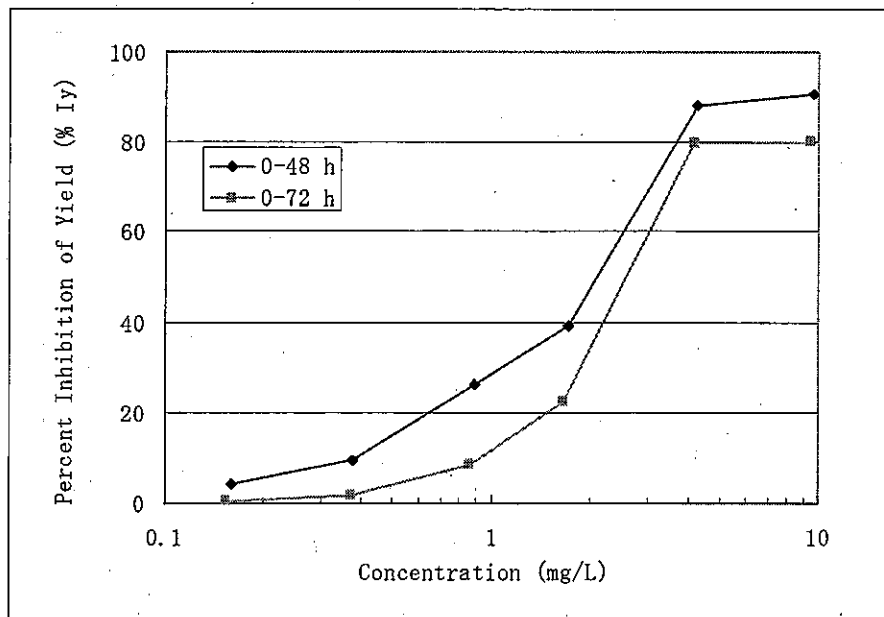
4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	0-48hE _r C ₅₀ = 1.8 mg/L
	0-72hE _r C ₅₀ = 3.0 mg/L
	NOEC (Rate 0-48)= 0.16 mg/L
	NOEC (Rate 0-72)= 0.37 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の対水溶解度が 18.5 mg/L(25°C)であることから、100 mg/L 調製液を作製し、試験温度におけるフラスコ攪拌法による測定の結果、試験培地に対する被験物質の溶解度は 23.3 mg/L と判断した。</p> <p>暴露試験時には、この溶解度以下の濃度で試験原液の調製を行った。予備的な検討より被験物質の揮散による減少が著しいことが判明していたことから、試験は密閉系で行った。</p> <p>本試験においては、暴露開始時の被験物質の実測濃度が設定値に対して 39 ~ 53 %に低下が認められ、試験溶液の調製作業における被験物質濃度の揮散が原因と考えられた。暴露期間中の被験物質濃度の変動は揮散による減少と考えられたため、暴露開始時、48 時間後および暴露終了時の分析値から幾何平均値を求めて、被験物質濃度を算出した。</p> <p>試験の有効性については、0-72 の日毎変動係数が 38 %と基準となり 35%以上を越えたものの、密閉系試験によるものと考えられた。これ以外は、化審法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

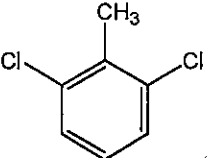


被験物質濃度－生長阻害率曲線 (速度法)



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)	2, 6-ジクロロトルエン		
別 名			
C A S 番 号	118-69-4		
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	161.03		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.8 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	DPE5145		
不純物の名称及び含有率	水分 0.01 %, その他不明		
蒸 気 圧	0.358 mmHg (25°C)		
対 水 溶 解 度	18.5 mg/L (25°C)		
ヘ ン リ 一 定 数	0.00415 atm · m ³ /mole		
p K a 解 離 定 数	不明		
1-オクタノール/水分配係数	3.99		
融 点	25.8°C		
沸 点	198°C		
常 温 に お け る 性 状	無色〜ほとんど無色、澄明の液体		
安 定 性	不明		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノールおよび アセトン	混和	不明

2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方法
<p>分析方法</p>	<p>試験溶液の一定量を、UV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。
<p>前処理法</p>	<p>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 被験物質の揮散による減少を防ぐため、試験溶液の採取時に等量のアセトニトリルを添加し混合する。 2. 検量線の被験物質濃度範囲内に入るように試験溶液の一定量を取り、アセトニトリル/純水 (50/50) で希釈する。
<p>定量条件</p>	<p>分析に用いた機器：</p> <p>高速液体クロマトグラフ (L-7100 型 日立製作所) UV検出器 (L-7420 型 日立製作所)</p> <p>測定条件：</p> <p>分離カラム : Mightysil RP-18, 250 mm×4.6φ 恒温槽温度 : 40℃ 溶離液 : アセトニトリル/純水 (80/20) 流量 : 1.0 mL/min 検出波長 : UV 200 nm 注入量 : 20 μL</p>

3. 試験材料及び方法

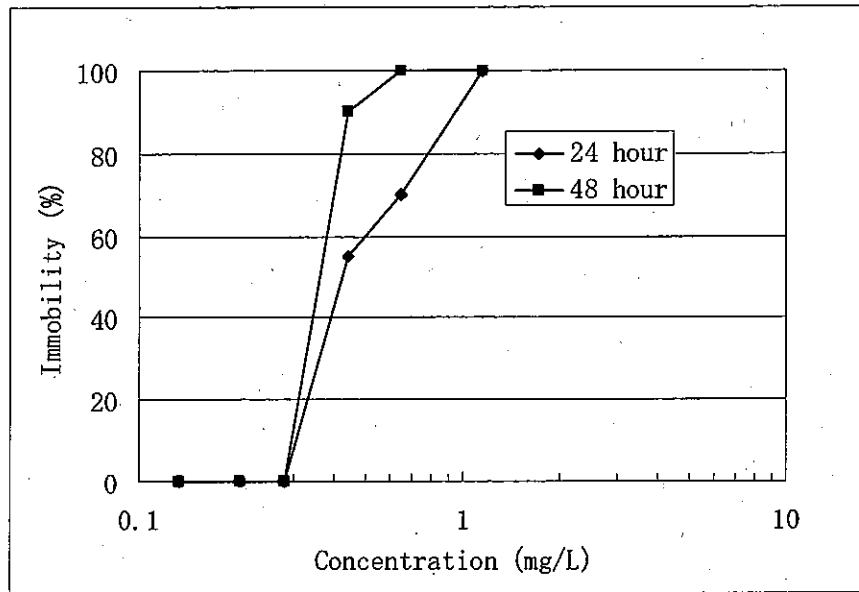
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統・時間齢)	学名: <i>Daphnia magna</i> 系統: 当施設で継代飼育 時間齢: 生後 24 時間以内齢	
	入手先	環境省国立環境研究所	
	対照物質への感受性 (EC ₅₀) (対照物質名)	0.71 mg/L (これまでの EC ₅₀ mean=0.88 mg/L, S. D. =0.21 mg/L, n=17) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
飼育	飼育水の種類	Elendt M4 人工調製水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	20±1℃、16 時間明/8 時間暗	
試験条件	試験容器	110 mL 容ガラス製スクリュウ管瓶(密閉容器)	
	試験用水	種類	Elendt M4 人工調製水
		硬度	256 mg/L (CaCO ₃ 換算値)
		pH	7.9
	暴露期間	2007 年 2 月 14 日~2007 年 2 月 16 日	
	試験濃度 (設定値)	対照区, 0.18, 0.32, 0.46, 0.68, 1.0, 1.8 mg/L (公比 1.8 ただし、0.32 ~ 1.0 mg/L は公比 1.5)	
	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	20.4~20.6℃		
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 = 0.38 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の対水溶解度が 18.5 mg/L(25℃)であることから、100 mg/L 調製液を作製し、試験温度におけるフラスコ攪拌法による測定の結果、試験用水に対する被験物質の溶解度は 22.6 mg/L と判断した。</p> <p>暴露試験時には、この溶解度以下の濃度で試験原液の調製を行った。予備的な検討より被験物質の揮散による減少が著しいことが判明していたことから、試験は密閉系で行った。</p> <p>本試験においては、暴露開始時の被験物質の実測濃度は、設定値に対して 71 ~ 84 % に低下が認められ、これは試験溶液の調製作業における被験物質濃度の揮散が原因と考えられた。また、暴露期間中の被験物質濃度の変動は揮散による濃度減少と考えられたため、暴露開始時および暴露終了時の測定値を用いた幾何平均値を求めて被験物質濃度を算出した。</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>

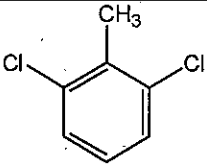
5. ミジンコの濃度-遊泳阻害率曲線

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)	2, 6-ジクロロトルエン		
別 名			
C A S 番 号	118-69-4		
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	161.03		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.8 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	DPE5145		
不純物の名称及び含有率	水分 0.01 %, その他不明		
蒸 気 圧	0.358 mmHg (25°C)		
対 水 溶 解 度	18.5 mg/L (25°C)		
ヘ ン リ 一 定 数	0.00415 atm · m ³ /mole		
p K a 解 離 定 数	不明		
1-オクタノール/水分配係数	3.99		
融 点	25.8°C		
沸 点	198°C		
常 温 に お け る 性 状	無色～ほとんど無色、澄明の液体		
安 定 性	不明		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エタノールおよび アセトン	混和	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>試験溶液の一定量を、UV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>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 被験物質の揮散による減少を防ぐため、試験溶液の採取時に等量のアセトニトリルを添加し混合する。 2. 検量線の被験物質濃度範囲内に入るように試験溶液の一定量を取り、アセトニトリル/純水 (50/50) で希釈する。
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 (L-7100型 日立製作所) UV検出器 (L-7420型 日立製作所)</p> <p>測定条件：</p> <p>分離カラム : Mightysil RP-18, 250 mm×4.6φ 恒温槽温度 : 40℃ 溶離液 : アセトニトリル/純水 (80/20) 流量 : 1.0 mL/min 検出波長 : UV 200 nm 注入量 : 20 μL</p>

3. 試験材料及び方法

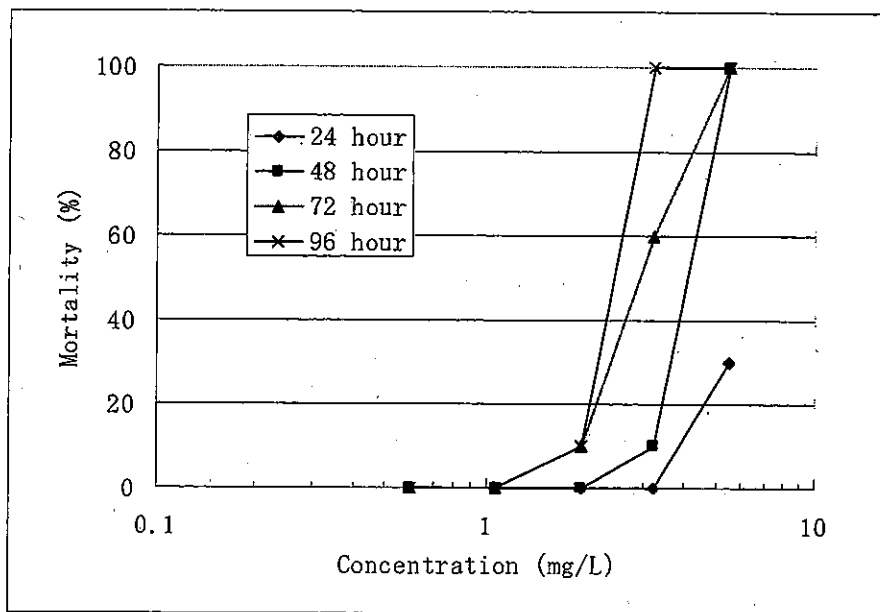
項目		内容	
試験生物	種 (和名・学名・系統)	和名：ヒメダカ 学名：Oryzias latipes	
	入手先	三協ラボサービスから入手したものを自家繁殖	
	対照物質への感受性 (LC ₅₀) (対照物質名)	0.23 mg/L (無水物換算) (これまでの LC ₅₀ mean=0.30 mg/L, S.D.=0.11 mg/L, n=24) 硫酸銅 (II) 五水和物、試薬特級	
じゅん化	じゅん化期間	2006年9月25日～2007年2月19日	
	飼育水の種類	脱塩素水	
	じゅん化前の薬浴の有無	無	
	環境条件 (水温、明暗周期)	24±1℃、16時間明/8時間暗	
	餌料 (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		5 L 容ネジロビン
	試験用水	種類	脱塩素水
		硬度	26 mg/L (CaCO ₃ 換算値)
		pH	7.8
	暴露期間		2007年2月19日～2007年2月23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		10尾/試験容器
	試験溶液量		5 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		24時間毎に試験溶液の全量を換水
	水温		24.0℃で一定
	溶存酸素濃度 (DO)		飽和濃度の60%以上 (7.8～8.2 mg/L)
明暗周期		16時間明/8時間暗	
結果の算出方法	LC ₅₀	Logit 法	

4. 試験結果及び考察

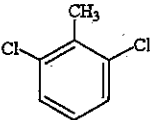
項目	内容
毒性値	96hLC ₅₀ = 2.3 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の対水溶解度が 18.5 mg/L(25°C)であることから、100 mg/L 調製液を作製し、試験温度におけるフラスコ攪拌法による測定の結果、試験用水に対する被験物質の溶解度は 23.4 mg/L と判断した。</p> <p>暴露試験時には、この溶解度以下の濃度で試験原液の調製を行った。予備的な検討より被験物質の揮散による減少が著しいことが判明していたことから、密閉系における 24 時間換水の条件で試験を行った。試験時には、この溶解度以下の濃度で試験原液の調製を行った。</p> <p>本試験における、暴露開始時の被験物質の実測濃度は設定値に対して 57 ~ 62 % に低下が認められ、これは試験溶液の調製作業における被験物質濃度の揮散が原因と考えられた。また、暴露期間中の被験物質濃度の変動は揮散による減少と考えられたため、時間加重平均値(暴露開始時と 24 時間換水前、および 72 時間換水後と暴露終了時の、それぞれの対数平均値を算出し、それらの算術平均値)を求め被験物質濃度を算出した。</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



SIDS INITIAL ASSESSMENT PROFILE

CAS No.	118-69-4
Chemical Name	2,6-Dichlorotoluene
Structural formula	
<u>CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS</u>	
<p><u>Environment</u></p> <p>The chemical is not readily biodegradable and has relatively high bioconcentration potential. Although toxicity of the chemical seems relatively high to Daphnia, PEC/PNEC ratio is less than 1 based on the local exposure scenario in the Sponsor country. It is currently considered of low potential risk and low priority for further work.</p> <p><u>Human health</u></p> <p>The chemical is moderately toxic in a repeated dose study (i.e. liver, kidney, thymus) and reproductive/developmental toxicity study (maternal toxicity). Occupational exposure is expected to be low as it is produced in closed system in Sponsor country. No consumer use is reported. Estimated daily intake through indirect exposure is also considered to be low. As the margin of safety is more than 200, it is currently considered of low potential risk and low priority for further work.</p>	
<u>SHORT SUMMARY WHICH SUPPORTS THE REASONS FOR THE CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS</u>	
<p>2,6-Dichlorotoluene is stable liquid and the production volume is ca. 80 tonnes/year in 1996 in Japan. The chemical is used as intermediate for pesticide and pharmaceuticals. No consumer use is reported. The chemical is classified as "not readily biodegradable". Bioconcentration factor is 246 - 828.</p> <p>The potential environmental distribution of 2,6-dichlorotoluene obtained from a generic fugacity model (Mackey level III) showed the chemical would be distributed mainly to air and water. Predicted environmental concentration (PEC_{local}) of the chemical was estimated as 7.3×10^{-6} mg/l from Japanese local exposure scenario. In Japanese environmental survey, the chemical was not detected from surface water and sediments in 1982.</p> <p>The main route of human exposure is inhalation with a limited numbers of workers potentially exposed during sampling operation. As there is no available data of the atmosphere concentration, the daily intake is calculated as 0.12 mg/kg/day as the worst case, based on the predicted high concentration and the possibility of exposure period. There is no available</p>	

information on consumer use. Indirect exposure via the environment, the daily intakes through drinking water and fish were estimated as 2.43×10^{-7} mg/kg/day and 9.07×10^{-6} mg/kg/day, respectively, based on PEC_{local} of 7.30×10^{-6} mg/l.

As the lowest acute and chronic toxicity data, 48 h EC50 (1.8 mg/l) value and 21 d NOEC (0.32 mg/l) of *Daphnia magna* were adopted, respectively. The assessment factors of 100 were used to both acute and chronic toxicity data to determine PNEC, because chronic toxicity data for fish was absent. Thus, PNEC of the chemical is 0.0032 mg/l. PEC/PNEC ratio is about 0.0023 and the bioconcentration factor of the chemical is moderate. Therefore, effects of the chemical on aquatic ecosystems are at low concern at present.

2,6-Dichlorotoluene had no genotoxic effects in bacteria and chromosomal aberration test *in vitro*. In a combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test, both male and female rats showed histopathological changes in liver, kidney and thymus, and maternal toxicity was observed. The no observed effect levels were obtained as 30 mg/kg/day for repeated dose toxicity and 100 mg/kg/day for reproductive toxicity.

For human health, the risk for workers is expected to be low because the margin of safety is 250. The risks for consumer and the general population through indirect exposure are also assumed to be low because the margin of safety through drinking water or fish is calculated to be 1.23×10^8 or 3.31×10^6 . Therefore, it is currently considered of low potential risk and low priority for further work.

IF FURTHER WORK IS RECOMMENDED, SUMMARISE ITS NATURE

FULL SIDS SUMMARY

CAS NO: 118-69-4		SPECIES	PROTOCOL	RESULTS
PHYSICAL-CHEMICAL				
2.1	Melting Point		Unknown	2.8°C
2.2	Boiling Point		Unknown	199 - 200 °C
2.3	Density			
2.4	Vapour Pressure		OECD TG 104	34 Pa at 25 °C
2.5	Partition Coefficient (Log Pow)		OECD TG 107	4.25 at 25 °C
2.6 A.	Water Solubility		OECD TG 105	26 mg/L at 25 °C.
B.	pH pKa			No ionizable functional Group
2.12	Oxidation: Reduction Potential			
ENVIRONMENTAL FATE AND PATHWAY				
3.1.1	Photodegradation			
3.1.2	Stability in Water		OECD TG 111	Stable at pH 4 and 7 at 25 °C 85.0 days at pH 9 at 25 °C
3.2	Monitoring Data			Surface water(sea): ND Sediment(sea) : ND
3.3	Transport and Distribution			
3.5	Biodegradation		OECD TG 301C	Not readily biodegradable
3.7	Bioaccumulation	Carp	OECD TG 305C	BCF 381 – 567 at 0.02 mL 246 – 828 at 0.002 mg/L
ECOTOXICOLOGY				
4.1	Acute/Prolonged Toxicity to Fish	<i>Oryzias latipes</i>	OECD TG 203	LC ₅₀ (48hr)= 7.9 mg/l LC ₅₀ (72hr)= 6.4 mg/l LC ₅₀ (96hr)= 6.4 mg/l
4.2	Acute Toxicity to Aquatic Invertebrates <i>Daphnia</i>	<i>Daphnia magna</i>	OECD TG 202	EC ₅₀ (48hr): 1.8 mg/l
4.3	Toxicity to Aquatic Plants e.g. Algae	<i>Selenastrum capricornutum</i>	OECD TG 201	EC ₅₀ (72hr) = 17.6 mg/l NOEC= 10 mg/l
4.5.2	Chronic Toxicity to Aquatic Invertebrates (<i>Daphnia</i>)	<i>Daphnia magna</i>	OECD TG 202	EC ₅₀ (21d,Repro)= 0.47 mg/l NOEC= 0.32 mg/l
4.6.1	Toxicity to Soil Dwelling Organisms			None
4.6.2	Toxicity to Terrestrial Plants			None
4.6.3	Toxicity to Other Non-Mammalian Terrestrial Species (Including Birds)			None

2,6-dichlorotoluene is not readily biodegradable (OECD 301C: 0% after 28d) and stable in water. Direct photodegradation could be expected because 2,6-dichlorotoluene has absorption band in UV region.

2,6-dichlorotoluene is moderately bioaccumulative based on the test using carp (OECD 305C: BCF 380 – 570 at 0.02 mg/l).

The potential environmental distribution of 2,6-dichlorotoluene obtain from generic Mackay level III fugacity model is shown in Table 1. Parameters used for this model is shown as Annex to this report. The results show that, if 2,6-dichlorotoluene is released into air or soil, it is unlikely to be distributed into other compartment. If 2,6-dichlorotoluene is released into water, it is likely to be transported to air.

Table 1 Environmental distribution of 2,6-dichlorotoluene
Using a generic level III fugacity model.

Compartment	Release 100% to air	Release 100% to water	Release 100% to soil
Air	89.8 %	24.4 %	0.2 %
Water	1.7 %	63.9 %	0.0 %
Soil	8.3 %	2.2 %	99.8 %
Sediment	0.3 %	9.4 %	0.0 %

As this chemical is used in closed systems as an intermediate and is not included in consumer products, its release to the environments may occur only from the production sites.

3.1.2 Predicted Environmental Concentration

As 2,6-dichlorotoluene is produced under the well controlled closed systems, amount of release to air phase is negligibly small. The waste of 2,6-dichlorotoluene from the production system is released to water phase after treated through its own waste-water treatment plant. Therefore, Predicted Environmental Concentration (PEC) will be calculated only for the water environment.

a. Local exposure

According to the report from a manufacturer in Japan, 72 kg/year (measured) of 2,6-dichlorotoluene was released with 3.4×10^{10} L/year of effluent into a bay in 1994. Local Predicted Environmental Concentration (PEC_{local}) is calculated to be 7.3×10^{-6} mg/L, employing the following calculation model and dilution factor of 290 (See Appendix 1).

$$\frac{\text{Amount of release (7.2 x 10}^7 \text{ mg/y)}}{\text{Volume of effluent (3.4 x 10}^{10} \text{ L/y) x Dilution Factor (290)}}$$

3.2 Effects on the Environments

3.2.1 Effects on aquatic organisms

Acute and chronic toxicity data of 2,6-Dichlorotoluene to aquatic organisms are summarized below (Table 2). Toxicity of this chemical seems relatively high to Daphnia. Predicted No Effect Concentration (PNEC) of this chemical was determined based on the toxicity data obtained by the

Environment Agency of Japan, because other data by different organizations were not available in the AQUIRE and IUCLID. As the lowest acute and chronic toxicity data, 48 h EC50 (immobility) value and 21 d NOEC (reproduction) of *Daphnia magna* were adopted, respectively (Table 2). The assessment factors of 100 were used to both acute and chronic toxicity data to determine PNEC, according to the OECD Provisional Guidance for Initial Assessment of Aquatic Effects (EXCH/MANUAL/96-4-5.DOC/May 1996), because chronic toxicity data for fish was absent.

From acute toxicity data (48 h EC50 of *Daphnia*): PNEC = 1.8/ 100 = 0.018 mg/l

From chronic toxicity data (21 d NOEC of *Daphnia*): PNEC = 0.32/ 100 = 0.0032 mg/l

Thus, PNEC of 2,6-Dichlorotoluene is 0.0032 mg/l.

Table 2 Acute and chronic toxicity data of 2,6-Dichlorotoluene to aquatic organisms at different trophic levels. The data were obtained by the Environmental Agency of Japan based on the OECD Test Guide Lines.

Species	Endpoint	Conc. (mg/l)	Remarks
<i>Selenastrum capricornutum</i> (algae)	Gro 72 h EC50	17.6	a, 1), A
	do. 72 h NOEC	10.0	c, 1), C
<i>Daphnia magna</i> (Water flea)	Imm 24 h EC50	1.8	a, 1), A
	Rep 21 d EC50	0.47	c, 1)
	Rep 21 d NOEC	0.32	c, 1), C
<i>Oryzias latipes</i> (fish, Medaka)	Mor 1 d LC50	10.0	a, 1)
	Mor 2 d LC50	7.9	a, 1)
	Mor 3 d LC50	6.4	a, 1)
	Mor 4 d LC50	6.4	a, 1), A

Notes: Gro; growth, Mor; mortality, Rep; reproduction,

No. 1, reference number, A), C); the lowest values among the acute or chronic toxicity data of algae, cladocera (water flea) and fishes to determine PNEC of 2,6-Dichlorotoluene.

References

- 1) Toxicity data of the tests were conducted by the Environment Agency of Japan based on OECD Test Guide Lines.

3.2.2 Terrestrial effects

No data available

3.2.3 Other effects

No data available

3.3 Initial Assessment for the Environment

Predicted No Effect Concentration (PNEC) of this chemical has been calculated as 0.0032 mg/l. PEC from Japanese local exposure scenario is 7.3×10^{-6} mg/l.

$$PEC_{local} / PNEC = 7.3 \times 10^{-6} / 0.0032 = 0.0023 < 1$$