

既存化学物質の生態影響に関する情報

平成20年10月24日 化審法3省合同会議

官報公示 整理番号	CAS No.	物質名称	頁
4-323	2243-62-1	1, 5-ジアミノナフタレン	1
5-256	4979-32-2	N, N-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェン アミド	11
3-521 3-526	120-95-6	2, 4-ジ- <i>tert</i> -ペンチルフェノール	24
3-3034	19715-19-6	3, 5-ジ- <i>tert</i> -ブチルサリチル酸	34
5-725	462-08-8	3-アミノピリジン	42

## 要 旨

## 表 題

1,5-ジアミノナフタレンの*Pseudokirchneriella subcapitata*に対する生長阻害試験

## 試験目的

1,5-ジアミノナフタレンの*Pseudokirchneriella subcapitata*に対する72時間生長阻害試験を実施し、50%生長阻害濃度(EC<sub>50</sub>)及び最大無影響濃度(NOEC)を求め、*Pseudokirchneriella subcapitata*の生長に対する1,5-ジアミノナフタレンの毒性を明らかにすることを目的とする。

## 試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について(平成15年11月21日薬食発第1121002号,平成15・11・13製局第2号, 環保企発第031121002号 一部改正 平成18年11月20日薬食発第1120001号, 平成18・11・13製局第2号, 環保企発第061120001号)」, 別添 藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験, IV 藻類生長阻害試験に準拠した。

なお, 本試験では, 被験物質が着色物質であり, 試験濃度範囲の一部において試験溶液が赤色に着色することが予測されたことから, 着色による遮光の影響を推定するため, 試験溶液量を50 mlに減じ光路の短縮を図った試験(以下, 「追加試験」と言う。)を試験溶液量100 mlの試験(以下, 「標準試験」と言う。)と併行して同様の条件で実施した。

- 1) 被験物質: 1,5-ジアミノナフタレン
- 2) 試験生物: *Pseudokirchneriella subcapitata* (ATCC22662株)
- 3) 暴露(培養)方式: 振とう培養法(100 r/min)
- 4) 暴露期間: 72時間
- 5) 試験濃度(設定値): 対照区, 0.046, 0.10, 0.22, 0.46, 1.0, 2.2, 4.6及び10 mg/l(公比; 2.2)
- 6) 初期細胞濃度: 約 $1.0 \times 10^4$  cells/ml(乾燥重量; 0.28 mg/l)
- 7) 連 数: 3連/1試験区(ただし, 対照区は6連とした。各濃度区については, 被験物質濃度が低下することが予測されたため, 48時間後の分析用試験溶液として, 別に1連分を追加した。さらに, 藻体の有無による試験溶液中の被験物質濃度の変化を調べるため, 0.046, 1.0及び10 mg/l濃度区については, 藻体を接種しないブランクを1連分追加した。)
- 8) 試験溶液量: 100 ml/1連
- 9) 試験水温: [標準試験]21.7~23.3 °C  
[追加試験]21.5~23.3 °C
- 10) 照 明: [標準試験]86~89  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$   
[追加試験]76~87  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$   
(白色の蛍光灯を用い, 連続的かつ均一に照射した。)
- 11) 試験溶液のpH: [標準試験]7.4~8.2  
[追加試験]7.3~7.9  
(pH調整は行わなかった。)

12) 培地：OECD化学品テストガイドライン201 Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test (2006)に示された培地を使用した。滅菌後の試験培地のpHは7.9であった。

13) 分析法：高速液体クロマトグラフ-質量分析法

### 結 果

結果の算出は、暴露開始時及び暴露終了時の各試験溶液中の被験物質濃度の測定値から、幾何平均により求めた平均測定濃度を用いて行った。

その結果は以下の通りであった。

### 標準試験

72時間後の50%生長阻害濃度( $EC_{50}$ )及び最大無影響濃度(NOEC)

- 1)  $ErC_{50}$ (0-72hr) : 1.8 mg/l (95%信頼限界 ; 1.7~2.0 mg/l) [Logit法]
- 2) NOEC(速度法0-72hr) : 0.337 mg/l (Dunnettの多重比較検定)

### 追加試験

72時間後の50%生長阻害濃度( $EC_{50}$ )及び最大無影響濃度(NOEC)

- 1)  $ErC_{50}$ (0-72hr) : 1.5 mg/l (95%信頼限界 ; 1.3~1.7 mg/l) [Logit法]
- 2) NOEC(速度法0-72hr) : 求められなかった。

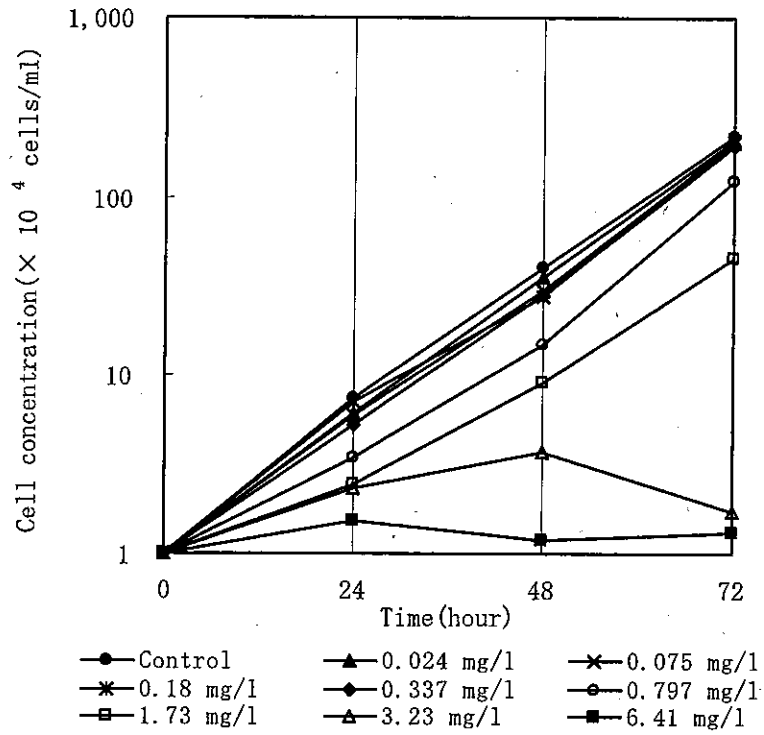


Figure 1-1. Growth Curve (Standard test)

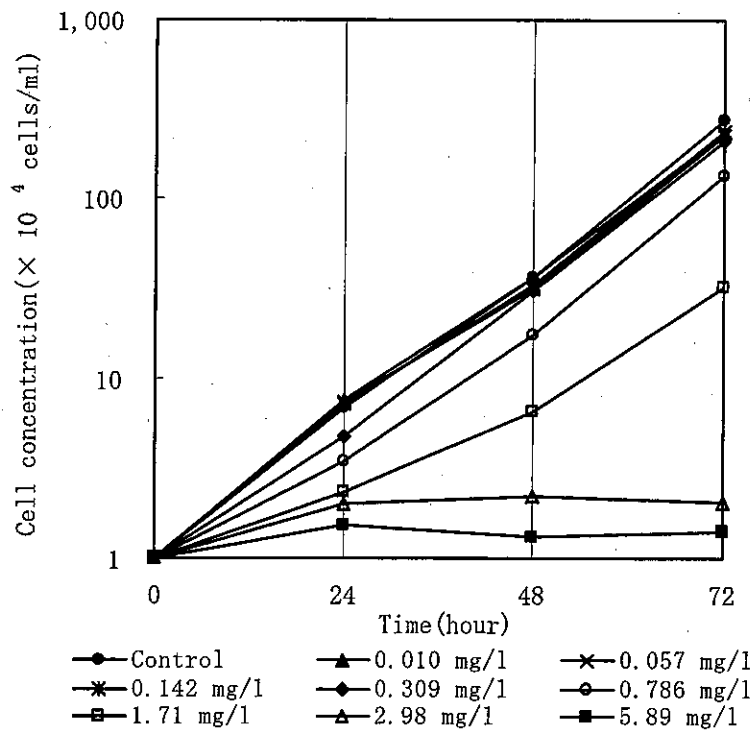


Figure 1-2. Growth Curve (Additional test)

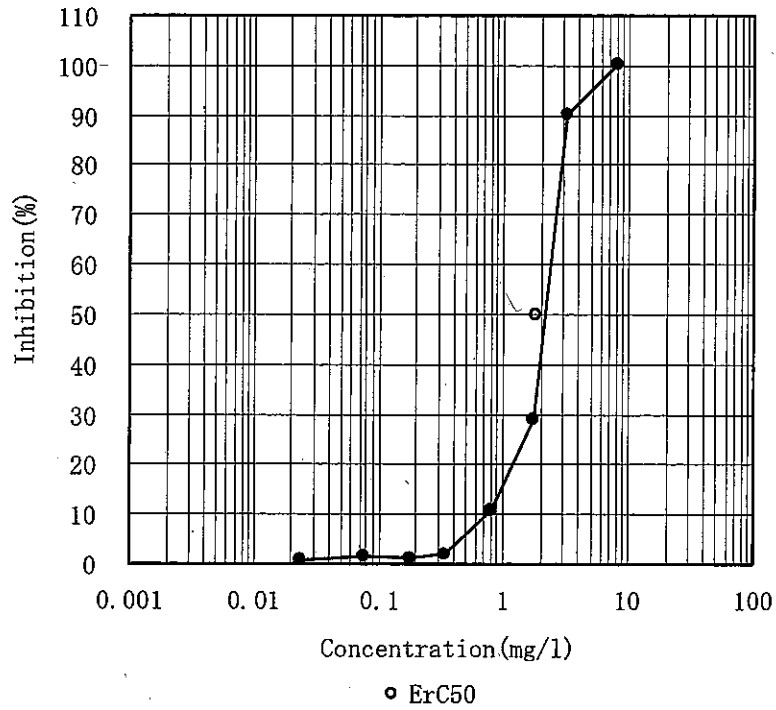


Figure 2-1. Concentration-inhibition curve (Growth Rates, 0-72hr) [Standard test]

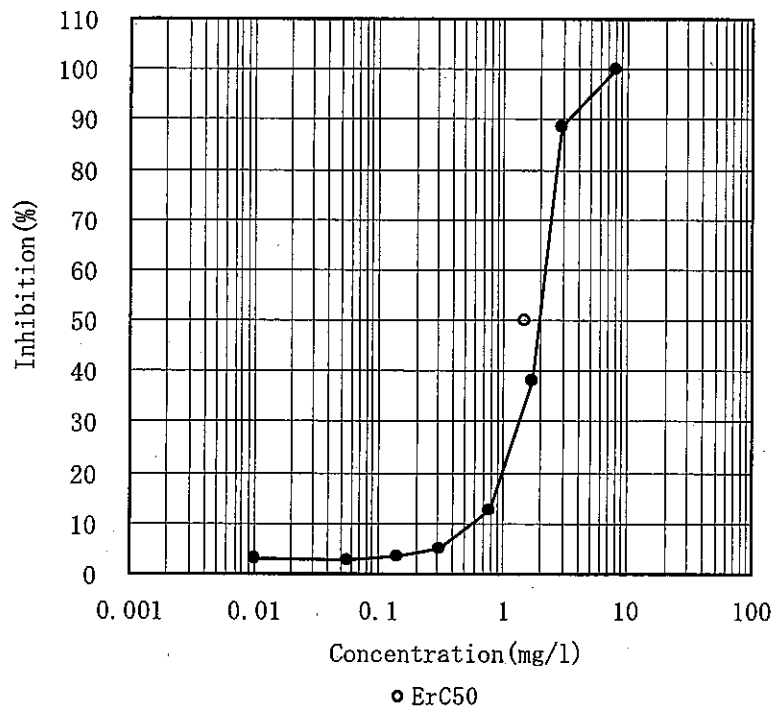


Figure 2-2. Concentration-inhibition curve (Growth Rates, 0-72hr) [Additional test]

## 要 旨

## 表 題

1,5-ジアミノナフタレンのオオミジンコに対する急性遊泳阻害試験

## 試験目的

1,5-ジアミノナフタレンのオオミジンコに対する48時間急性遊泳阻害試験を実施し、50%遊泳阻害濃度(EC<sub>50</sub>)を求め、オオミジンコの遊泳に対する1,5-ジアミノナフタレンの毒性を明らかにすることを目的とする。

## 試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について(平成15年11月21日薬食発第1121002号,平成15・11・13製局第2号, 環保企発第031121002号)」, 別添 藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験, V ミジンコ急性遊泳阻害試験に準拠した。

- 1) 被験物質：1,5-ジアミノナフタレン
- 2) 試験生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 3) 暴露方式：半止水式(24時間後全量換水)
- 4) 暴露期間：48時間
- 5) 試験濃度(設定値)：対照区, 0.46, 0.68, 1.0, 1.5, 2.2, 3.2, 4.6及び6.8 mg/l(公比; 1.5)
- 6) 試験個体数：20頭/試験区(5頭4連)
- 7) 試験溶液量：100 ml/1連
- 8) 試験水温：20.0~20.9 °C
- 9) 溶存酸素濃度：8.4~9.0 mg/l(暴露期間中, 3 mg/l以上を維持した。また, エアレーションは実施しなかった。)
- 10) pH : 7.9~8.1(試験溶液のpH調整は行わなかった。)
- 11) 照 明：室内光, 16時間明/8時間暗
- 12) 給 餌：無給餌
- 13) 試験用水：水道水(つくば市水道水)を活性炭処理し, 残留塩素等を除去した後, 十分通気した脱塩素水
- 14) 分 析 法：高速液体クロマトグラフ法

結 果

結果の算出は、各試験溶液中の被験物質濃度の測定値から、幾何平均により求めた平均測定濃度を用いて行った。

48時間後の50 %遊泳阻害濃度 ( $EC_{50}$ )、0 %遊泳阻害最高濃度及び100 %遊泳阻害最低濃度

- 1) 50 %遊泳阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) : 3.8 mg/l (95 %信頼限界 ; 3.3~4.4 mg/l) [Probit法]
- 2) 0 %遊泳阻害最高濃度 : 1.50 mg/l
- 3) 100 %遊泳阻害最低濃度 : 6.60 mg/l以上

Table 8. pH values of test solution

Nominal concentration (mg/l)	Mean* of measured concentration (mg/l)	0 hour	24 hours		48 hours
			Old	New	
0.46	0.45	8.0	8.0	8.0	8.0
0.68	0.68	8.0	8.0	8.0	8.0
1.0	0.99	8.0	8.0	8.0	8.0
1.5	1.50	8.0	8.0	8.0	8.0
2.2	2.23	7.9	7.9	8.0	8.0
3.2	3.27	8.0	8.0	8.0	8.0
4.6	4.64	7.9	8.0	8.0	8.0
6.8	6.60	7.9	8.0	8.0	8.0
Control	---	8.0	7.9	8.1	8.0

\* geometric mean

New: freshly prepared test solution

Old: test solution after 24 hours exposure

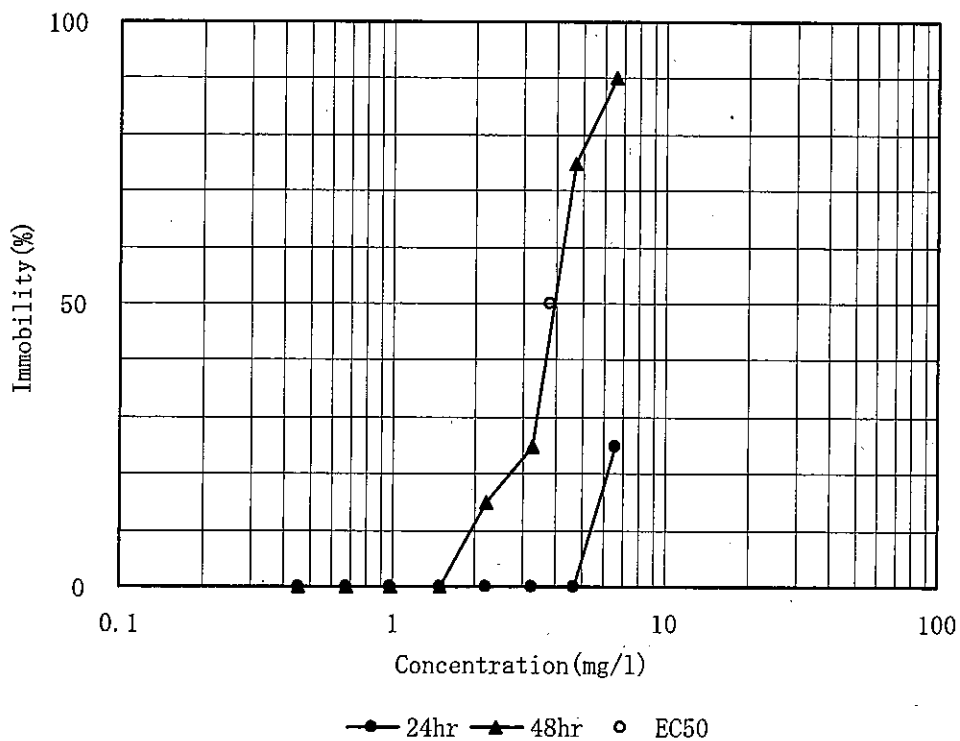


Figure 1. Concentration-immobility curve



## 要 旨

## 表 題

1,5-ジアミノナフタレンのヒメダカに対する急性毒性試験

## 試験目的

1,5-ジアミノナフタレンのヒメダカに対する96時間急性毒性試験を実施し、50%致死濃度(LC<sub>50</sub>)を求め、ヒメダカに対する1,5-ジアミノナフタレンの毒性を明らかにすることを目的とする。

## 試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について(平成15年11月21日薬食発第1121002号,平成15・11・13製局第2号, 環保企発第031121002号)」, 別添 藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験, VI 魚類急性毒性試験に準拠した。

- 1) 被験物質：1,5-ジアミノナフタレン
- 2) 試験生物：ヒメダカ(*Oryzias latipes*)
- 3) 暴露方式：半止水式(24時間ごと全量換水)
- 4) 暴露期間：96時間
- 5) 試験濃度(設定値)：対照区, 5.6, 7.5, 10, 13, 18, 24, 32及び42 mg/l(公比; 1.3)
- 6) 試験個体数：10尾/試験区
- 7) 試験溶液量：4 l/試験区(収容密度; 0.25 g/l)
- 8) 試験水温：23.0~24.0 °C
- 9) 溶存酸素濃度：6.8~8.3 mg/l(暴露期間中, 飽和溶存酸素濃度の60%以上を維持した。また, エアレーションは実施しなかった。)
- 10) pH : 7.5~8.1(試験溶液のpH調整は行わなかった。)
- 11) 照 明：室内光, 16時間明/8時間暗
- 12) 給 餌：無給餌
- 13) 試験用水：水道水(東京都多摩市)を活性炭処理し, 残留塩素等を除去した後, 十分通気した脱塩素水
- 14) 分 析 法：高速液体クロマトグラフ法

結 果

結果の算出は、各試験溶液中の被験物質濃度の測定値から、幾何平均により求めた平均測定濃度を用いて行った。

96時間後の50%致死濃度(LC<sub>50</sub>)、0%死亡最高濃度及び100%死亡最低濃度

- 1) 50%致死濃度(LC<sub>50</sub>): 17 mg/l(95%信頼限界; 15~19 mg/l)[Probit法]
- 2) 0%死亡最高濃度: 9.43 mg/l
- 3) 100%死亡最低濃度: 22.1 mg/l

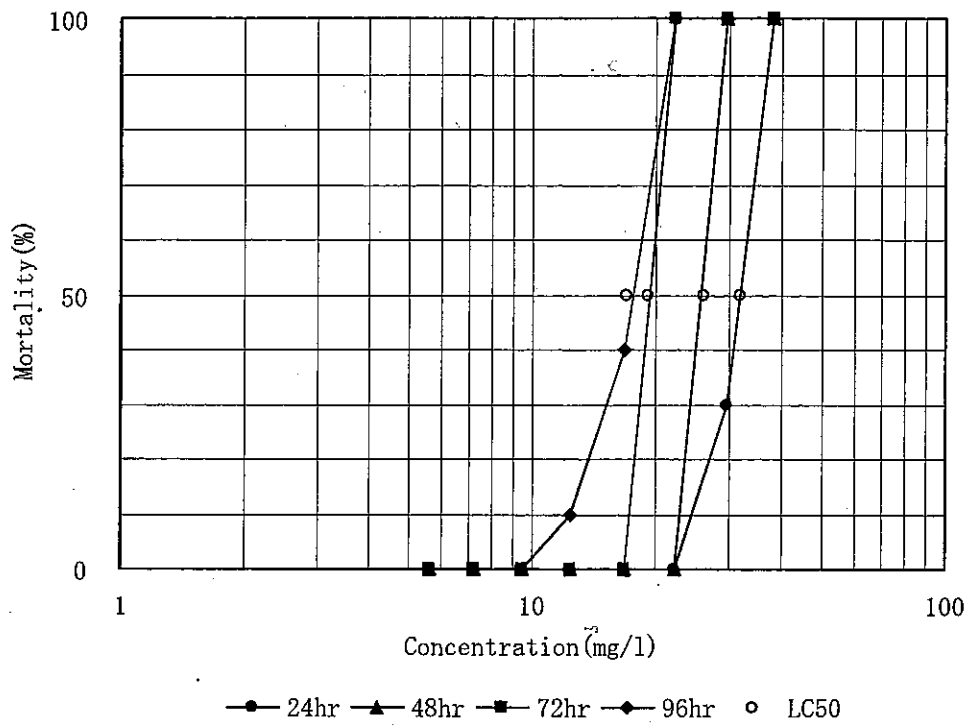


Figure 1. Concentration-mortality curve

## 要 旨

試験委託者：環境省

表 題：N,N-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドの藻類  
(*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験

試験番号：A010456-1

試験方法：

- 1) 適用ガイドライン：OECD 化学品テストガイドライン No. 201 「藻類生長阻害試験」  
(1984年)
- 2) 暴露方式：止水式, 振とう培養 (100rpm)
- 3) 供試生物：*Selenastrum capricornutum* (株名：ATCC22662)  
(現在 *Pseudokirchneriella subcapitata*と学名が変更されている。)
- 4) 暴露期間：72時間
- 5) 試験濃度：対照区, 助剤対照区, 0.0400 mg/L (試験液調製可能最高濃度での  
(設定値) 限度試験)  
助剤濃度一定：100  $\mu$ L/L (ジメチルホルムアミド使用)
- 6) 試験液量：100 mL (OECD培地) /容器
- 7) 連 数：3容器/試験区
- 8) 初期細胞濃度： $1 \times 10^4$  cells/mL
- 9) 試験温度： $23 \pm 2$   $^{\circ}$ C
- 10) 照 明：4000 lux ( $\pm 20\%$ の変動内, フラスコ液面付近) で連続照明
- 11) 分 析 法：高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

試験結果：

- 1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果, 暴露開始時の測定値の設定値に対する割合が,  $\pm 20\%$ 以内であったため, 阻害濃度の算出には設定値を用いた。

2) 生長曲線下面積の比較による阻害濃度

50%生長阻害濃度 Ebc50 (0-72) : >0.0400 mg/L (95%信頼区間:算出不可)

最大無作用濃度 NOECb (0-72) : >0.0400 mg/L

3) 生長速度の比較による阻害濃度

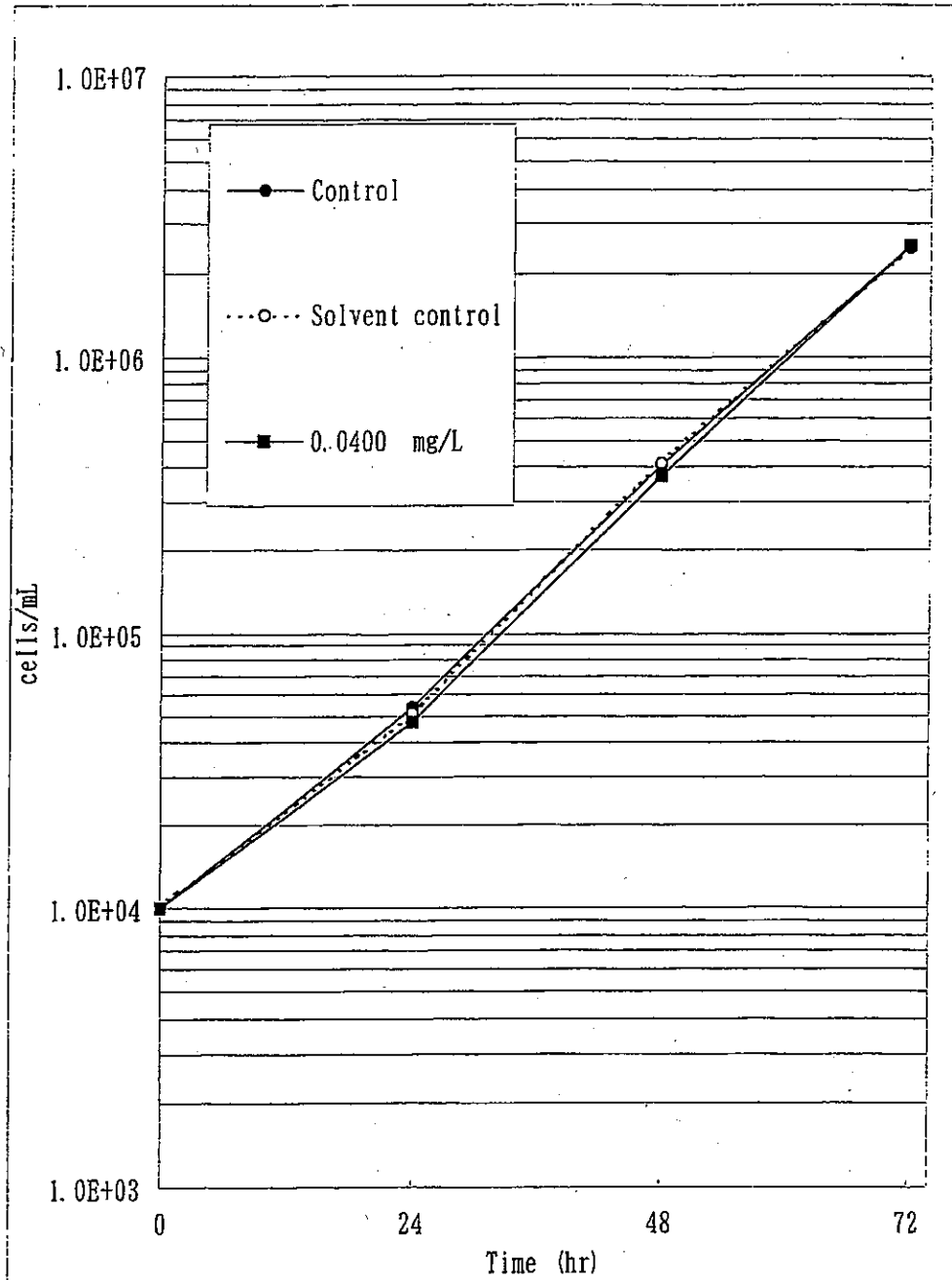
50%生長阻害濃度 ErC50 (24-48) : >0.0400 mg/L (95%信頼区間:算出不可)

最大無作用濃度 NOECr (24-48) : >0.0400 mg/L

50%生長阻害濃度 ErC50 (24-72) : >0.0400 mg/L (95%信頼区間:算出不可)

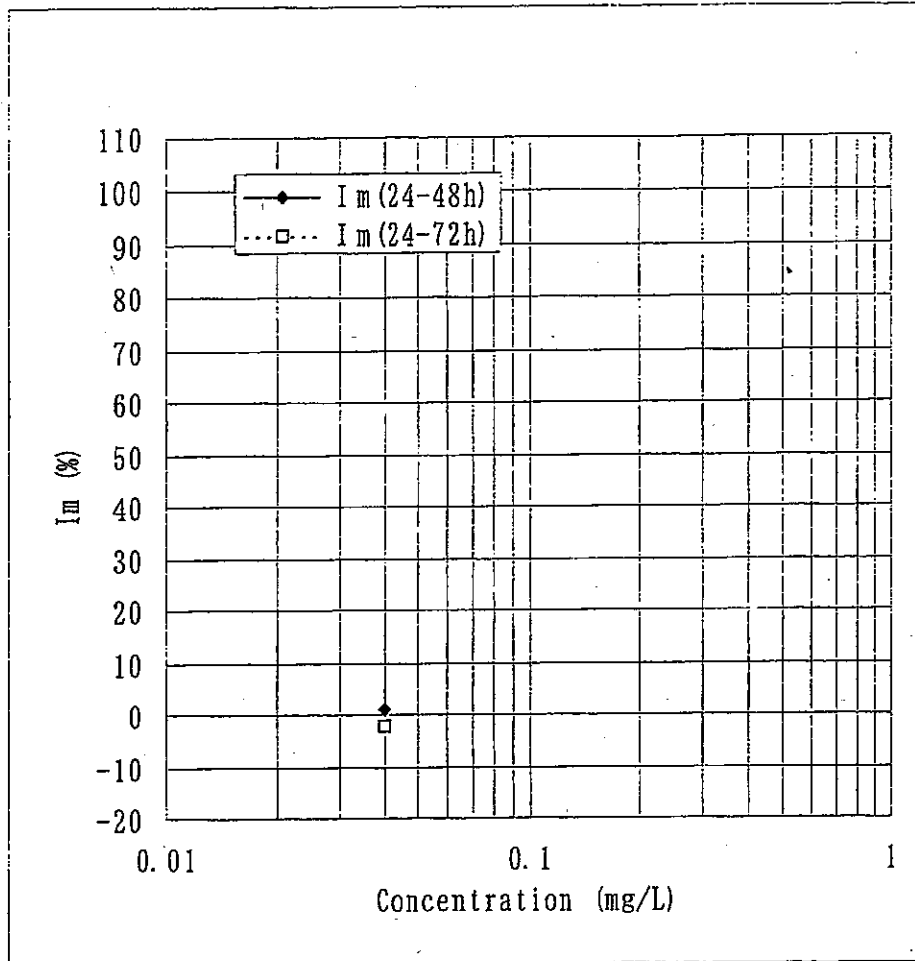
最大無作用濃度 NOECr (24-72) : >0.0400 mg/L

Figure 1 Algal Growth Curve of *Selenastrum capricornutum*  
(Mean cell counts vs time during the 72-hour exposure)



Values in legend are given in the nominal concentration.

Figure 3 Concentration-Inhibition Curve Based on  $I_m$  values Calculated from the Growth Rates



## 要 旨

試験委託者：環境省

表 題：N,N-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドの  
オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験

試験番号：A010456-2

試験方法：

- 1) 適用ガイドライン：OECD 化学品テストガイドライン No. 202 「ミジンコ類, 急性遊泳阻害試験および繁殖試験」 (1984年)
- 2) 暴露方式：半止水式 (24時間後に試験液の全量を交換)  
水面をテフロンシートで被覆
- 3) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間：48時間
- 5) 試験濃度：対照区, 助剤対照区,  
(設定値) 0.00500, 0.00840, 0.0140, 0.0240, 0.0400 mg/L  
(試験液調製可能最高濃度)  
公比：1.7  
助剤濃度一定：100  $\mu$ L/L (ジメチルホルムアミド使用)
- 6) 試験液量：100 mL/容器
- 7) 連 数：4 容器/試験区
- 8) 供試生物数：20頭/試験区 (5頭/容器)
- 9) 試験温度：20 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C
- 10) 照 明：室内光, 16時間明 (800 lux 以下) / 8時間暗
- 11) 分 析 法：高速液体クロマトグラフィー (HPLC)



## 試験結果：

### 1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果、測定値の設定値に対する割合が、±20%を越える値があったため、結果の算出には測定値の幾何平均値を用いた。精製水中での半減期は 30 時間 (0.04 mg/L) であり、減少の主な原因は加水分解と考えられた。

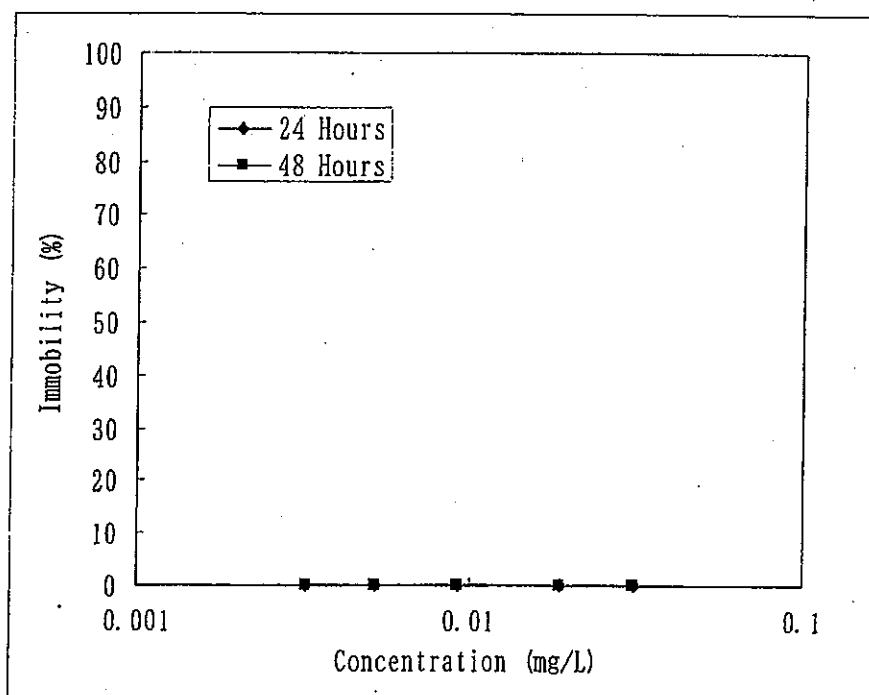
### 2) 24時間暴露後の結果

	(mg/L)	95%信頼区間 (mg/L)
半数遊泳阻害濃度 (EiC50)	> 0.0314	算出不可
最大無作用濃度 (NOECi)	> 0.0314	—
100%阻害最低濃度	> 0.0314	—

### 3) 48時間暴露後の結果

	(mg/L)	95%信頼区間 (mg/L)
半数遊泳阻害濃度 (EiC50)	> 0.0314	算出不可
最大無作用濃度 (NOECi)	> 0.0314	—
100%阻害最低濃度	> 0.0314	—

Figure 1 Concentration-Immobiity Curve



## 要 旨

試験委託者：環境省

表 題：N,N-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドの  
オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号：A010456-3

試験方法：

- 1) 適用ガイドライン：OECD 化学品テストガイドライン No. 211「オオミジンコ繁殖試験」(1998年)
- 2) 暴露方式：半止水式(毎日試験液の全量を交換)  
水面をテフロンシートで被覆
- 3) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間：21日間
- 5) 試験濃度：対照区, 助剤対照区,  
(設定値) 0.00200, 0.00420, 0.00900, 0.0190, 0.0400 mg/L  
(試験液調製可能最高濃度)  
(公比: 2.1)  
助剤濃度一定: 100 µL/L (ジメチルホルムアミド使用)
- 6) 試験液量：80 mL/容器
- 7) 連 数：10容器/試験区
- 8) 供試生物数：10頭/試験区 (1頭/容器)
- 9) 試験温度：20±1℃
- 10) 照 明：室内光, 16時間明 (800 lux以下) / 8時間暗
- 11) 分 析 法：高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

試 験 結 果 :

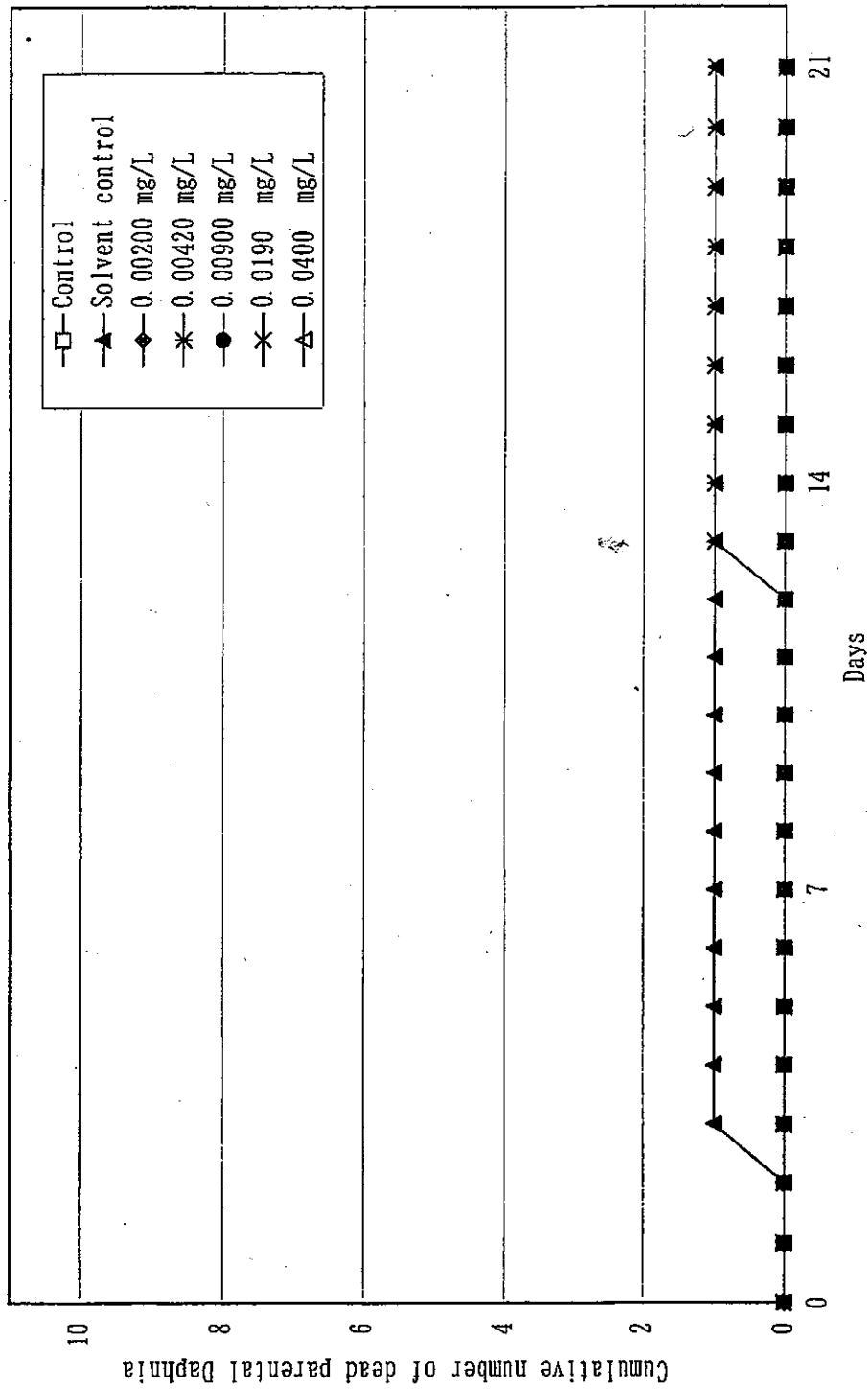
1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果、測定値の設定値に対する割合が、±20%を越える値があったため、結果の算出には測定値の時間加重平均を用いた。精製水中での半減期は 30 時間 (0.04mg/L) であり、減少の主な原因は加水分解と考えられた。

2) 21日間暴露後の結果

	(mg/L)	95%信頼区間 (mg/L)
親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)	> 0.0331	算出不可
50%繁殖阻害濃度 (EC50)	> 0.0331	算出不可
最大無作用濃度 (NOEC)	> 0.0331	—
最小作用濃度 (LOEC)	> 0.0331	—

Figure 1 Cumulative Number of Dead Parental Daphnia

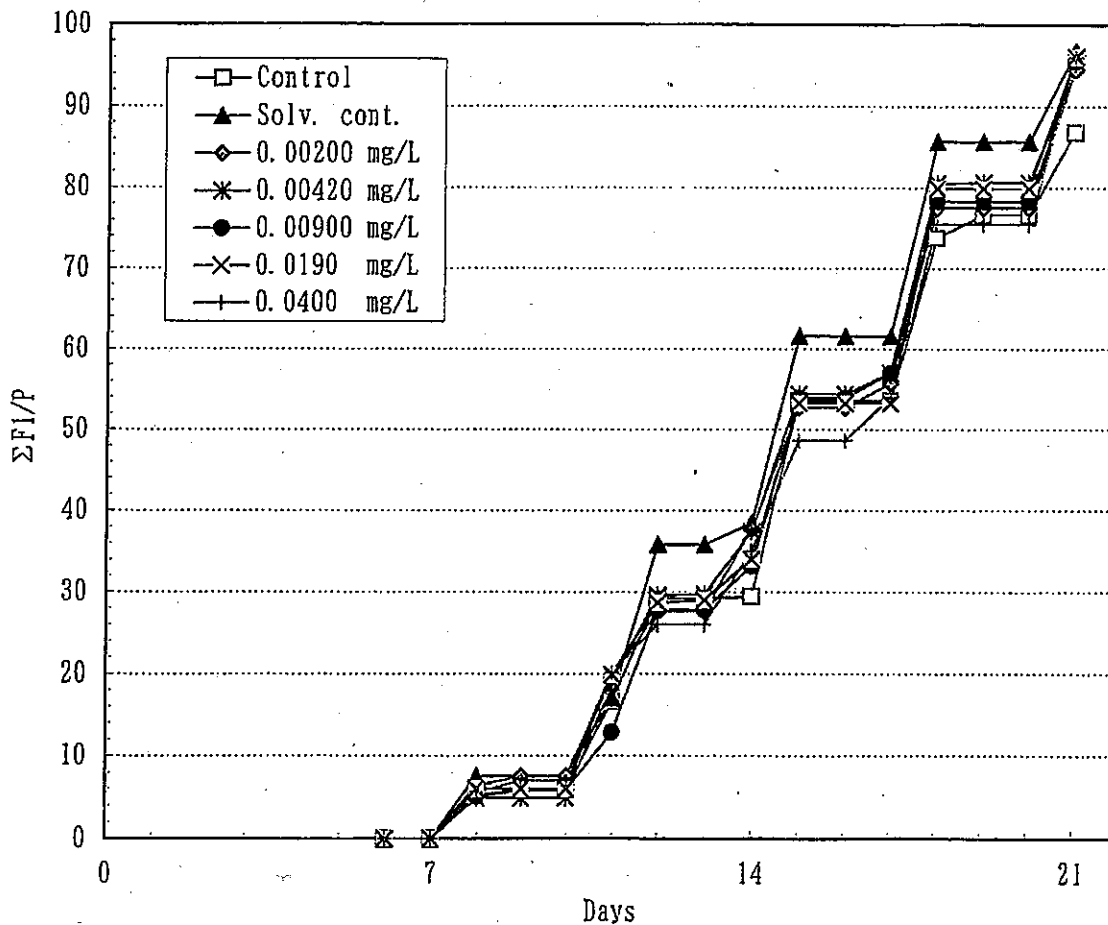


Values in legend are given in the nominal concentration.

Table 4 Mean Cumulative Number of Juveniles Produced per Adult Alive for 21 Days ( $\Sigma F1/P$ )

Nominal Conc.	Days															
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	0.0	0.0	5.2	5.9	5.9	16.6	29.2	29.2	29.4	53.6	53.6	53.6	73.8	76.7	76.7	86.8
Solv. cont.	0.0	0.0	7.6	7.6	7.6	17.0	35.8	35.8	38.4	61.6	61.6	61.6	85.7	85.7	85.7	96.8
0.00200 mg/L	0.0	0.0	6.4	7.5	7.5	19.5	27.6	27.6	37.7	52.7	52.7	55.7	77.5	77.5	77.5	94.5
0.00420 mg/L	0.0	0.0	4.9	4.9	4.9	18.9	29.6	29.7	37.4	54.4	54.4	57.0	80.5	80.6	80.6	95.5
0.00900 mg/L	0.0	0.0	5.1	5.8	5.8	12.8	27.7	27.8	33.1	53.9	53.9	57.0	78.3	78.3	78.3	95.6
0.0190 mg/L	0.0	0.0	6.0	6.0	6.0	19.9	28.7	29.0	34.0	53.2	53.2	53.2	79.9	79.9	79.9	96.1
0.0400 mg/L	0.0	0.0	5.6	7.0	7.0	20.1	26.0	26.0	35.0	48.6	48.6	53.9	75.5	75.5	75.5	96.0

Figure 2 Time Course of  $\Sigma F1/P$  for Each Concentration Level



Values in legend are given in the nominal concentration.

## 要 旨

試験委託者： 環境省

表 題： N,N-ジシクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミドの  
ヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

試験番号： A010456-4

試験方法：

- 1) 適用ガイドライン： OECD 化学品テストガイドライン No. 203 「魚類急性毒性試験」  
(1992年)
- 2) 暴露方式： 半止水式 (24時間毎に試験液の全量を交換)  
水面をテフロンシートで被覆
- 3) 供試生物： ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 4) 暴露期間： 96時間
- 5) 試験濃度： 対照区, 助剤対照区, 0.0400 mg/L (試験液調製可能最高濃度の  
(設定値) 限度試験)  
助剤濃度一定：100  $\mu$ L/L (ジメチルホルムアミド使用)
- 6) 試験液量： 5.0 L/容器
- 7) 連 数： 1 容器/試験区
- 8) 供試生物数： 10尾/試験区
- 9) 試験温度： 24 $\pm$ 1  $^{\circ}$ C
- 10) 照 明： 室内光, 16時間明 (1000 lux以下) / 8時間暗
- 11) 分 析 法： 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

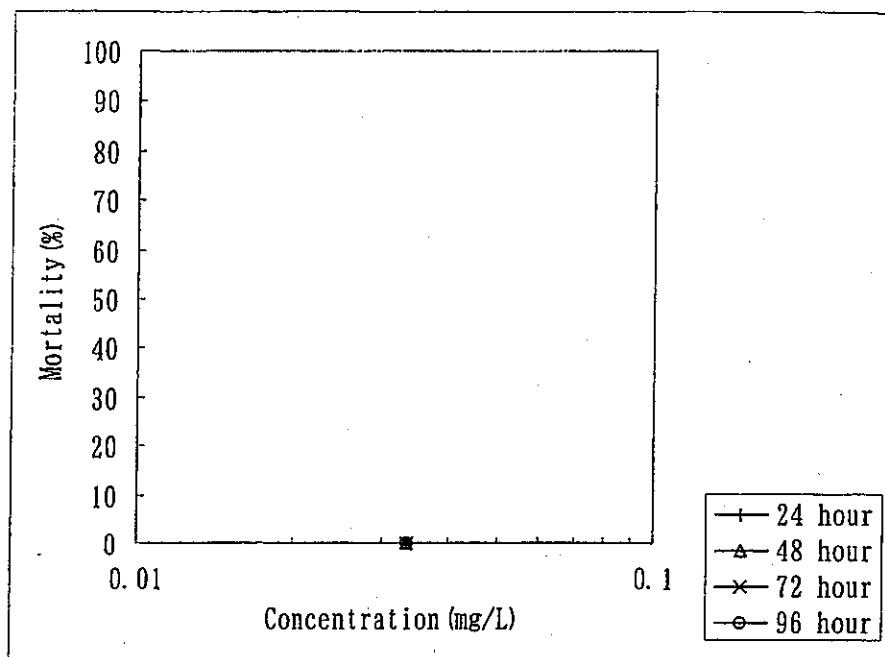
試験結果：

- 1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果、測定値の設定値に対する割合が、 $\pm 20\%$ を超える値があったため、結果の算出には測定値の幾何平均値を用いた。精製水中での半減期は 30 時間 (0.04 mg/L) であり、減少の主な原因は加水分解と考えられた。

- 2) 96時間暴露後の半数致死濃度 (LC50) :  $>0.0334$  mg/L (95%信頼区間：算出不可)

Figure 1 . Concentration-Mortality Curve





## 要 約

試験委託者

環境省

表題

2,4-ジ-*tert*-ペンチルフェノールの藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) に対する  
生長阻害試験

試験番号

A060509

試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について<藻類生長阻害試験, ミジンコ急性  
遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験>」(平成15年11月21日 薬食発第 1121002号, 平成15-  
11-13製局第2号, 環企発第031121002号)に準拠して実施した。

- 1) 供試生物: 単細胞緑藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)
- 2) 試験用水: 試験ガイドライン推奨培地
- 3) 暴露期間: 72時間
- 4) 培養方式: 止水式 (開放系), 振とう培養 (100 rpm)
- 5) 初期生物量: 前培養した藻類  $5 \times 10^3$  cells/mL  
(指数増殖期の藻類乾燥重量:  $1.8 \times 10^{-8}$  mg/cell, n=5)
- 6) 試験温度: 22 °C (暴露期間中の変動範囲は±2 °C以内)
- 7) 照明: 65~75  $\mu$ E/m<sup>2</sup>/s, 白色蛍光灯で連続照明 (液面付近)

## 8) 試験濃度 (設定値) :

試験区	濃度 (mg/L)
対照区	—
助剤対照区	—
濃度区 1	0.380
濃度区 2	0.680
濃度区 3	1.20
濃度区 4	2.10
濃度区 5	3.80*

\* : 試験液調製可能最高濃度

公比 : 1.8

## 9) 分析法 : 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

結 果

## 1) 試験液および試験培養液中の被験物質濃度

測定値の設定値に対する割合は、暴露開始時の試験液において 80~87%、暴露終了時の試験培養液において 14~29%であった。この減少理由として、被験物質の分配係数 (log Pow) が 6.31 (KOWWIN による推定値) と非常に高いことから、回転振とうしている試験容器への吸着の可能性が考えられた。

## 2) 生長速度の比較による阻害濃度\*1

半数生長阻害濃度 ErC50 (0-72h) : 1.70 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可)

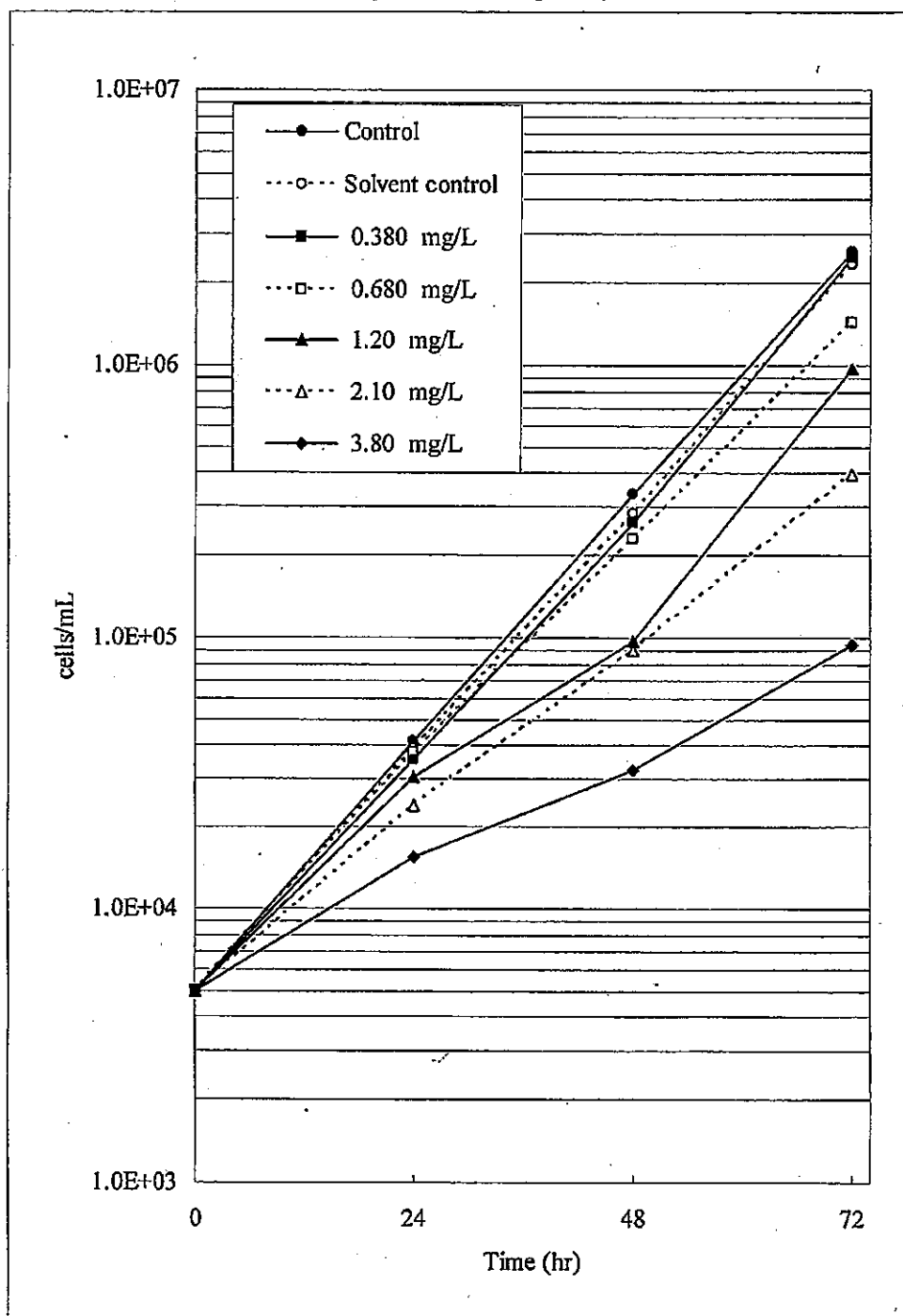
最大無影響濃度 NOECr (0-72h) : 0.159 mg/L

\*1 阻害濃度の算出には測定値の時間加重平均値を用いた。

## 3) 藻類の形態観察

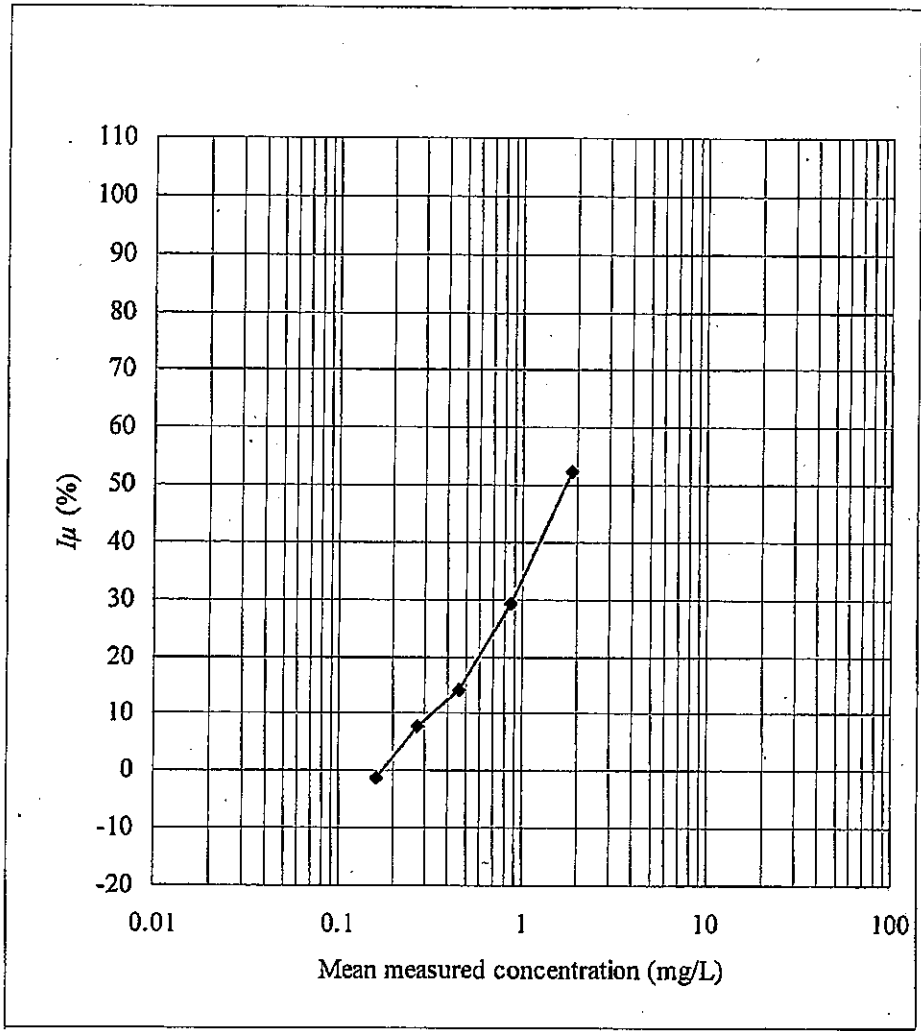
暴露終了時の顕微鏡下での細胞形態観察の結果、3.80 mg/Lの濃度区で、一部細胞の膨張が認められた。その他の濃度区においては、細胞形態の変化 (収縮, 膨張, 破裂等) や細胞凝集は認められず、また、対照区および助剤対照区との相違もなかった。

Figure 1 Growth Curve of *Pseudokirchneriella subcapitata*  
(Mean biomass vs time during the 72-hour exposure)



Values in legend are given in the nominal concentration.

Figure 2 Concentration-Inhibition Curve Based on  $I_{\mu}$  values Calculated from the Growth Rates



## 要 約

試験委託者

環境省

表題2,4-ジ-tert-ペンチルフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験試験番号

A060510

試験内容

本試験は、「新規化学物質等に係る試験の方法について<藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験>」(平成15年11月21日薬食発第1121002号, 平成15・11・13製局第2号, 環保企発第031121002号)に準拠して実施した。

- 1) 供試生物: オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 2) 試験用水: Elendt M4 medium
- 3) 暴露期間: 48 時間
- 4) 暴露方式: 半止水式 (24 時間後に試験液の全量を交換)
- 5) 供試生物数: 20 頭/試験区 (5 頭/容器)
- 6) 試験温度: 20±1 °C
- 7) 照明: 室内光, 16 時間明 (800 lux 以下) / 8 時間暗
- 8) 試験濃度 (設定値):

試験区	濃度 (mg/L)
対照区	—
助剤対照区*	—
濃度区 1*	0.034
濃度区 2*	0.060
濃度区 3*	0.11
濃度区 4*	0.19
濃度区 5*	0.34

公比 1.8

\*: N,N-ジメチルホルムアミド 100 µL/L を含む

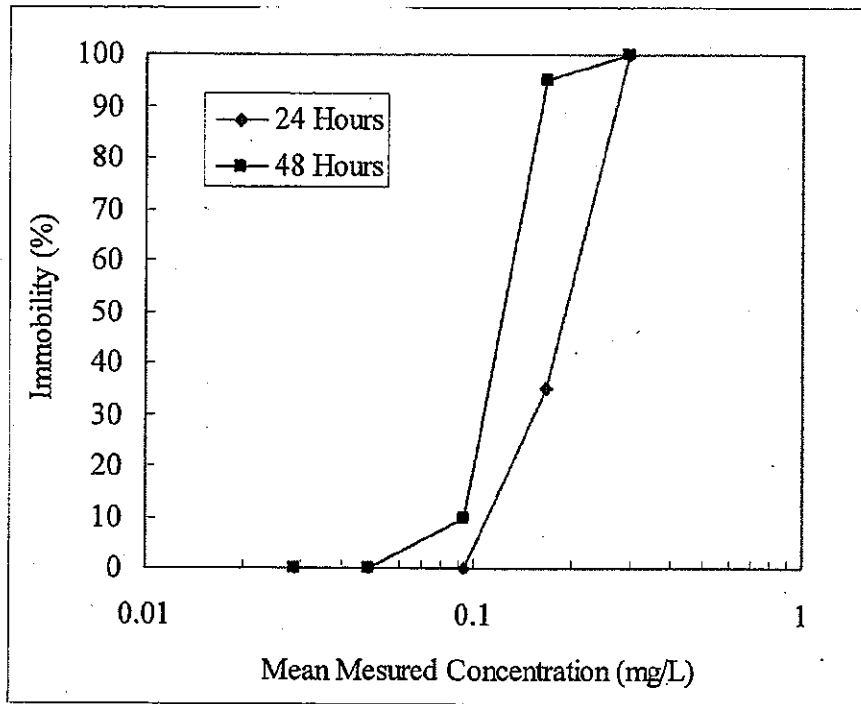
- 9) 分析方法: 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

結 果

以下の阻害濃度は、測定値をもとに算出した。

48時間 半数遊泳阻害濃度 (EC50) : 0.121 mg/L (95%信頼限界 : 0.107~0.138 mg/L)

Figure 1 Concentration-Immobility Curve



## 要 約

試験委託者

環境省

表題2,4-ジ-tert-ペンチルフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験試験番号

A060511

試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について<藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験>」(平成15年11月21日 薬食発第1121002号, 平成15・11・13 製局第2号, 環保企発第031121002号)に準拠して実施した。

- 1) 供試生物: ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 2) 試験用水: 脱塩素水道水
- 3) 暴露期間: 96時間
- 4) 暴露方式: 半止水式 (24時間毎に試験液の全量を交換)
- 5) 供試生物数: 10尾/試験区
- 6) 水温:  $24 \pm 1^\circ\text{C}$
- 7) 照明: 室内光, 16時間明 (1000 lux 以下) / 8時間暗
- 8) 試験濃度 (設定値):

試験区	濃度 (mg/L)
対照区	—
助剤対照区	—
濃度区1	0.15
濃度区2	0.27
濃度区3	0.48
濃度区4	0.84
濃度区5	1.5

公比: 1.8

助剤: *N,N*-ジメチルホルムアミド, 49  $\mu\text{L/L}$  (濃度一定, ただし対照区は未使用)

- 9) 分析方法: 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

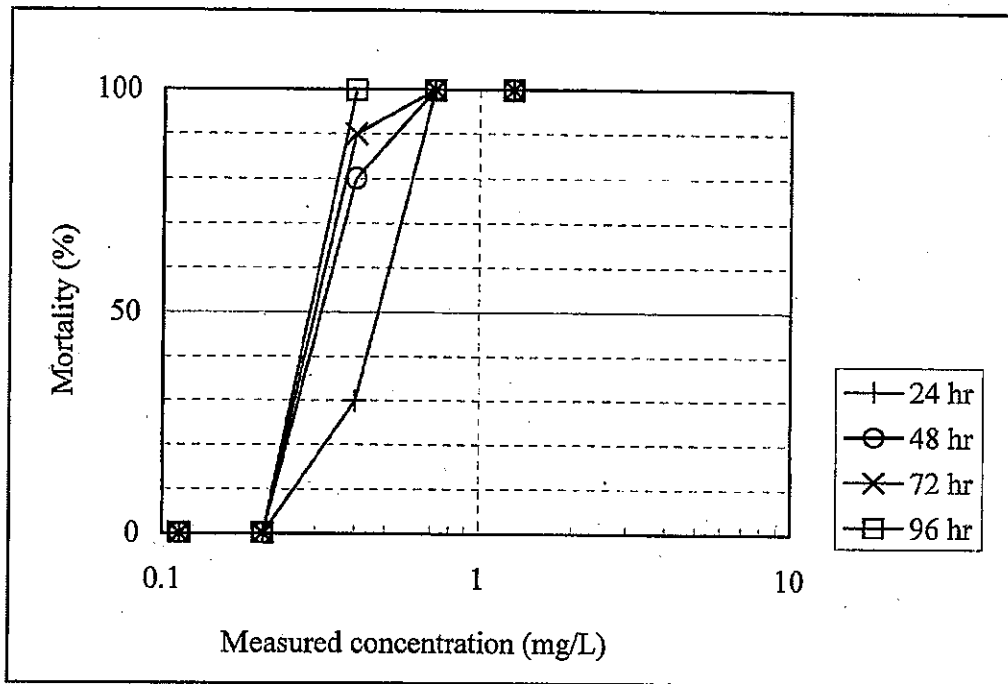


試験結果

被験物質濃度測定値の平均値を用いて、以下の結果を算出した。

96時間半数致死濃度 (LC50) : 0.288 mg/L (95%信頼限界 : 0.206 ~ 0.402 mg/L)

Figure 1 Concentration-Mortality Curve



## 要 約

試験委託者

環境省

表題

3,5-ジ-*tert*-ブチルサリチル酸の藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) に対する  
生長阻害試験

試験番号

A070112

試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について<藻類生長阻害試験, ミジンコ急性  
遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験>」(平成15年11月21日 薬食発第 1121002号, 平成15・  
11・13製局第2号, 環保企発第031121002号) に準拠して実施した。

- 1) 供試生物: 単細胞緑藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)
- 2) 試験用水: 試験ガイドライン推奨培地
- 3) 暴露期間: 72時間
- 4) 培養方式: 止水式 (開放系), 振とう培養 (100 rpm)
- 5) 初期生物量: 前培養した藻類  $5 \times 10^3$  cells/mL  
(指数増殖期の藻類乾燥重量:  $1.7 \times 10^{-8}$  mg/cell, n=6)
- 6) 試験温度: 22 °C (暴露期間中の変動範囲は±2 °C以内)
- 7) 照明: 65~75  $\mu$ E/m<sup>2</sup>/s, 白色蛍光灯で連続照明 (液面付近)

## 8) 試験濃度 (設定値) :

試験区	濃度 (mg/L)
対照区	—
濃度区 1	1.0
濃度区 2	1.9
濃度区 3	3.6
濃度区 4	6.8
濃度区 5	13
濃度区 6	25

公比 : 1.9

## 9) 分析法 : 高速液体クロマトグラフ分析 (HPLC) 法

結 果

## 1) 試験液および試験培養液中の被験物質濃度

測定値の設定値に対する割合は、暴露開始時の試験液において 91~100%、暴露開始後 72 時間の試験培養液において 83~94%であり、暴露期間中、被験物質の濃度は一定であった。

## 2) 生長速度の比較による阻害濃度\*

半数生長阻害濃度 ErC50 (0-72h) : 6.82 mg/L (95%信頼区間 : 3.68~12.6 mg/L)  
 最大無影響濃度 NOECr (0-72h) : 0.868 mg/L

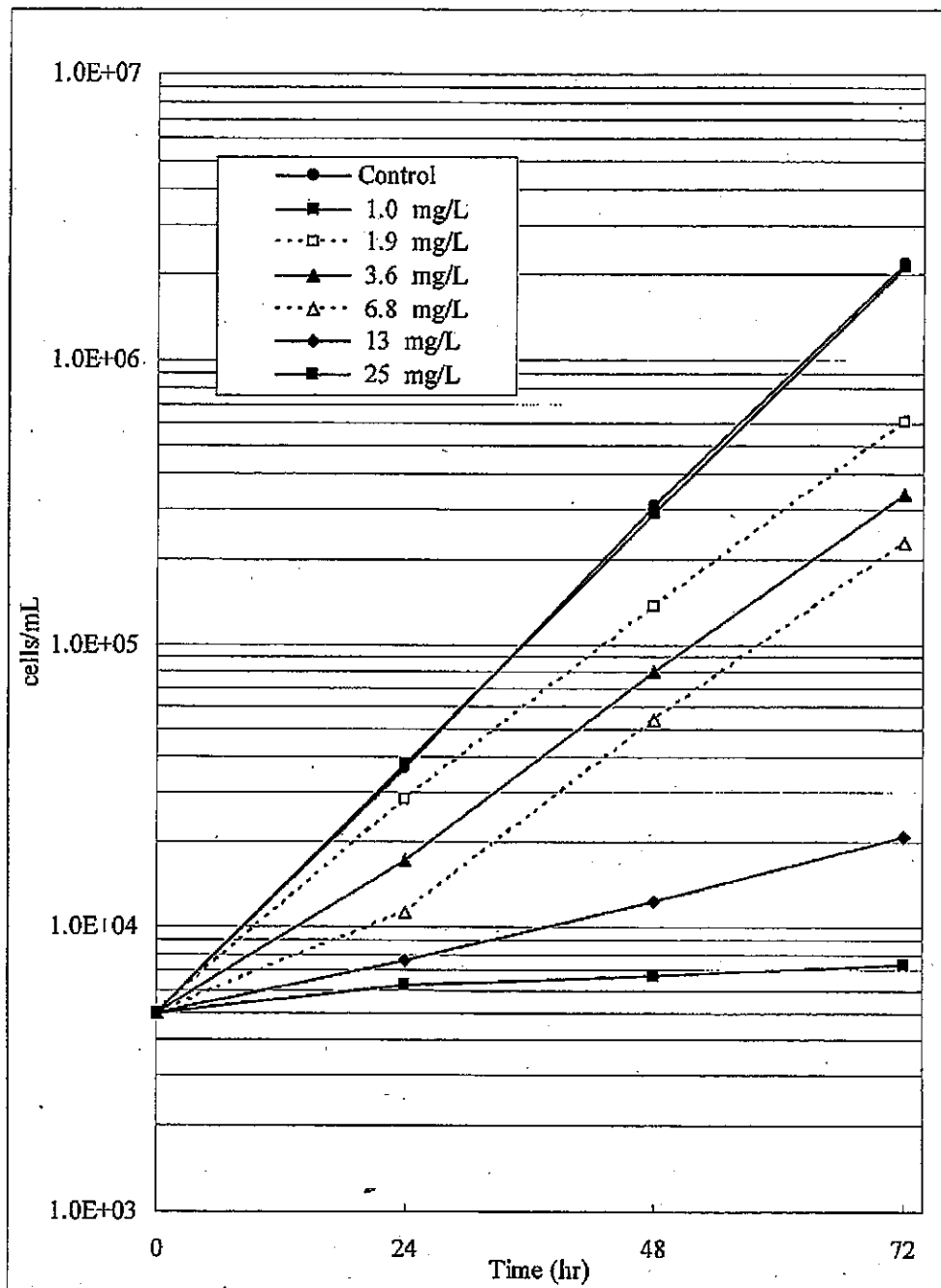
\*1 阻害濃度の算出には測定値の時間加重平均値を用いた。

## 3) 藻類の形態観察

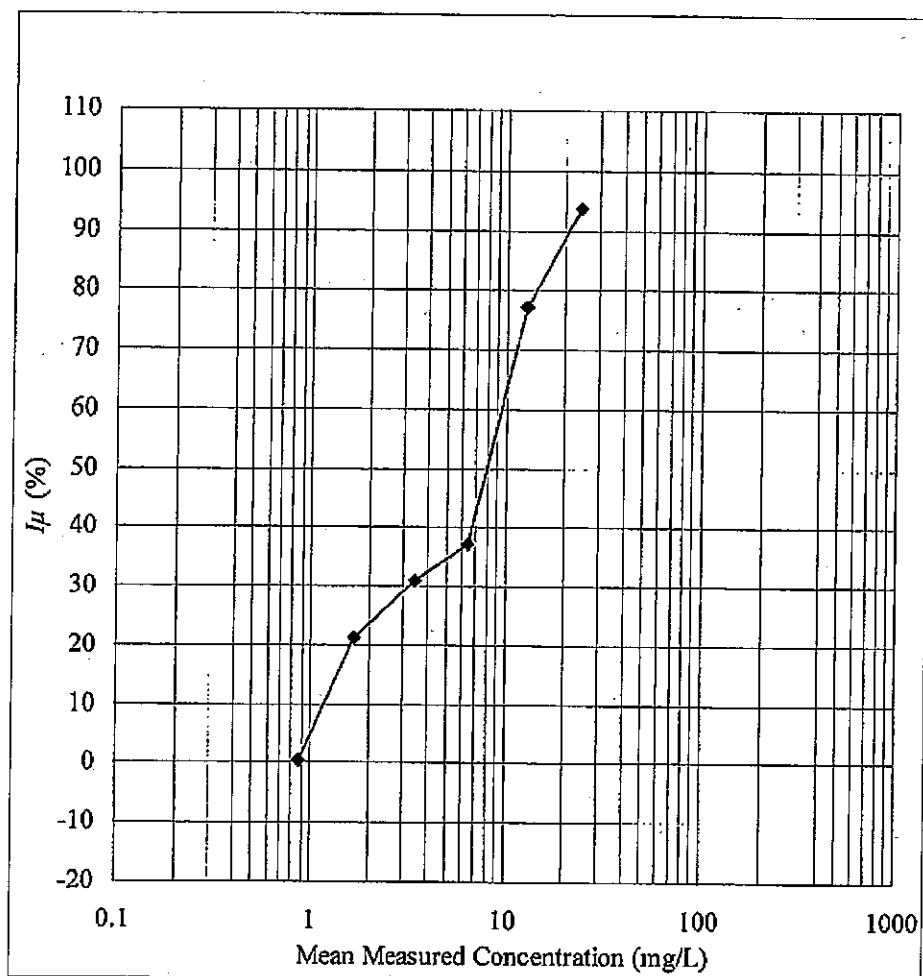
暴露開始後 72時間の顕微鏡下での細胞形態観察の結果、対照区と比較して、濃度区 3~5 では一部の細胞に形態の膨張が認められた。濃度区 6 では、一部の細胞に色調の退色化が認められた。その他の濃度区においては、細胞形態の変化 (収縮, 膨張, 破裂等) や細胞凝集は認められず、また、対照区との相違もなかった。

Figure 1 Growth Curve of *Pseudokirchneriella subcapitata*

(Mean biomass vs time during the 72-hour exposure)



Values in legend are given in the nominal concentration.

Figure 2 Concentration-Inhibition Curve Based on  $I_{\mu}$  values Calculated from the Growth Rates

## 要 約

試験委託者

環境省

表題3,5-ジ-*tert*-ブチルサリチル酸のオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験試験番号

A070113

試験方法

本試験は、「新規化学物質等に係る試験の方法について<藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験>」(平成15年11月21日 薬食発第1121002号, 平成15・11・13 製局第2号, 環保企発第031121002号)に準拠して実施した。

- 1) 供試生物: オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 2) 試験用水: Elendt M4 medium
- 3) 暴露期間: 48時間
- 4) 暴露方式: 半止水式 (24時間後に試験液の全量を交換)
- 5) 供試生物数: 20頭/試験区 (5頭/容器)
- 6) 試験温度: 20±1℃
- 7) 照明: 室内光, 16時間明 (800 lux 以下) / 8時間暗
- 8) 試験濃度 (設定値):

試験区	濃度 (mg/L)
対照区	—
濃度区1	1.0
濃度区2	1.8
濃度区3	3.2
濃度区4	5.6
濃度区5	10

公比 1.8

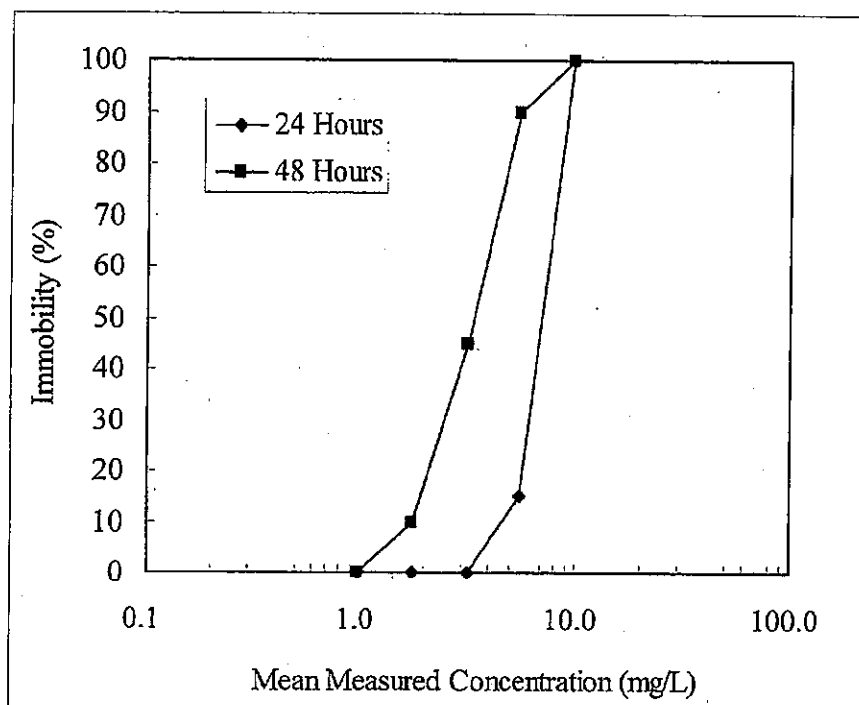
- 9) 分析方法: 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法

結 果

以下の結果は、測定値をもとに算出した。

48時間 半数遊泳阻害濃度 (EC50) : 3.24 mg/L (95%信頼限界 2.73~ 3.83 mg/L)

Figure 1 Concentration-Immobility Curve





## 要 約

試験委託者： 環境省

表題： 3,5-ジ-tert-ブチルサリチル酸のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

試験番号： A070114

試験方法： 本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について<藻類生長阻害試験、ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験>」（平成15年11月21日薬食発第1121002号，平成15・11・13製局第2号，環保企発第031121002号）に準拠して実施した。

- 1) 供試生物： ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 2) 試験用水： 脱塩素水道水
- 3) 暴露期間： 96時間
- 4) 暴露方式： 半止水式（24時間毎に試験液の全量を交換）
- 5) 供試生物数： 10尾/試験区
- 6) 水温： 24±1℃
- 7) 照明： 室内光，16時間明（1000 lux 以下）/8時間暗
- 8) 試験濃度（設定値）：

試験区	濃度 (mg/L)
対照区	—
濃度区1	1.0
濃度区2	1.8
濃度区3	3.2
濃度区4	5.6
濃度区5	10

公比：1.8

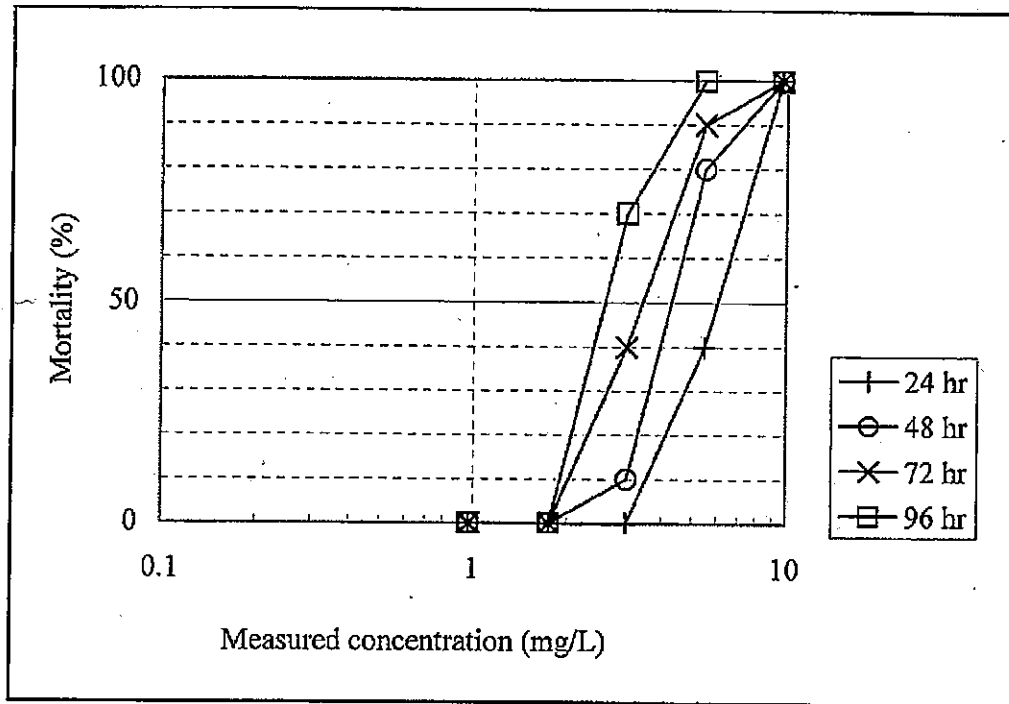
- 9) 分析方法： 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法

結果：

以下の結果は，被験物質濃度の測定値をもとに算出した。

96時間半数致死濃度 (LC50)： 2.72 mg/L (95%信頼限界 1.76 ~ 5.50 mg/L)

Figure 1 Concentration-Mortality Curve



## 要 旨

## 表 題

3-アミノピリジンの*Pseudokirchneriella subcapitata*に対する生長阻害試験

## 試験目的

3-アミノピリジンの*Pseudokirchneriella subcapitata*に対する72時間生長阻害試験を実施し、50%生長阻害濃度(EC<sub>50</sub>)及び最大無影響濃度(NOEC)を求め、*Pseudokirchneriella subcapitata*の生長に対する3-アミノピリジンの毒性を明らかにすることを目的とする。

## 試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について(平成15年11月21日薬食発第1121002号,平成15・11・13製局第2号, 環保企発第031121002号 一部改正 平成18年11月20日薬食発第1120001号, 平成18・11・13製局第2号, 環保企発第061120001号)」, 別添 藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験, IV 藻類生長阻害試験に準拠した。

- 1) 被験物質: 3-アミノピリジン
- 2) 試験生物: *Pseudokirchneriella subcapitata* (ATCC22662株)
- 3) 暴露(培養)方式: 振とう培養法(100 r/min)
- 4) 暴露期間: 72時間
- 5) 試験濃度(設定値): 対照区, 0.010, 0.022, 0.046, 0.10, 0.22, 0.46, 1.0及び2.2 mg/l  
(公比; 2.2)
- 6) 初期細胞濃度: 約 $1.0 \times 10^4$  cells/ml(乾燥重量; 0.28 mg/l)
- 7) 連 数: 3連/1試験区(ただし, 対照区は6連とした。)
- 8) 試験溶液量: 100 ml/1連
- 9) 試験水温: 23.6~24.5 °C
- 10) 照 明: 85~89  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (白色の蛍光灯を用い, 連続的かつ均一に照射した。)
- 11) 試験溶液のpH: 7.5~8.0(pH調整は行わなかった。)
- 12) 培 地: OECD化学物質テストガイドライン201 Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test (2006)に示された培地を使用した。滅菌後の試験培地のpHは7.9であった。
- 13) 分析法: 高速液体クロマトグラフ法

結 果

結果の算出は、暴露開始時及び暴露終了時の各試験溶液中の被験物質濃度の測定値から、幾何平均により求めた平均測定濃度を用いて行った。

72時間後の50%生長阻害濃度( $EC_{50}$ )及び最大無影響濃度(NOEC)

- 1)  $ErC_{50}(0-72hr)$  : 0.73 mg/l (95%信頼限界 ; 0.58~0.95 mg/l) [Logit法]
- 2) NOEC(速度法0-72hr) : 0.051 mg/l (Dunnettの多重比較検定)

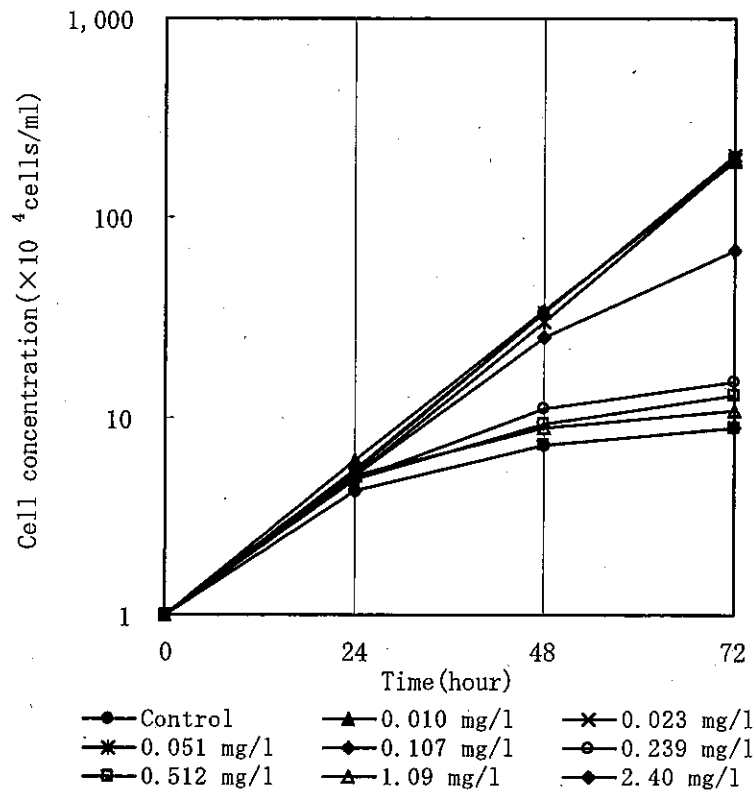


Figure 1. Growth curve

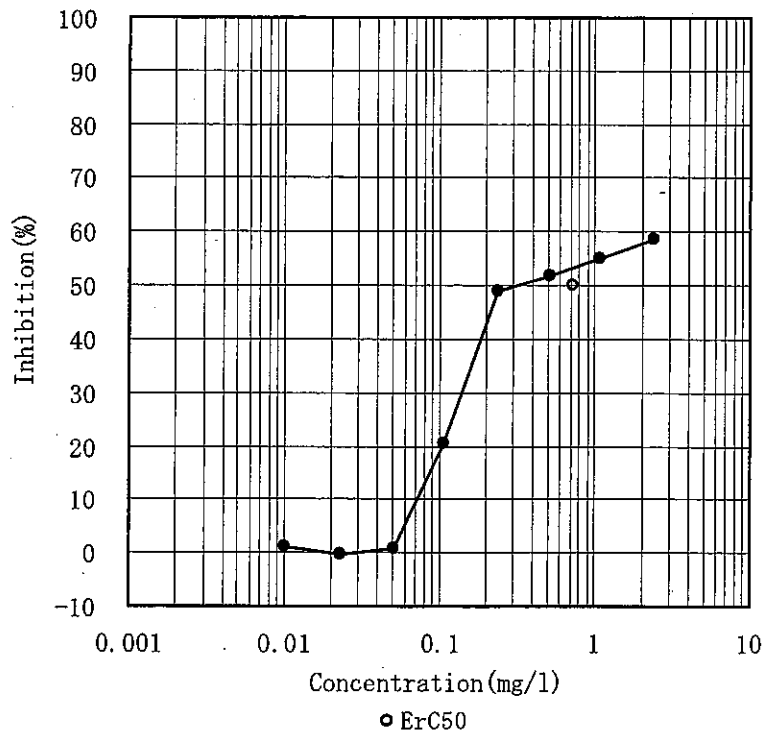


Figure 2. Concentration-inhibition curve (rate)

[Based on  $I_{\mu}$  Values Calculated from the Growth Rates (0-72hr)]

## 要 旨

表 題

3-アミノピリジンのオオミジンコに対する急性遊泳阻害試験

試験目的

3-アミノピリジンのオオミジンコに対する48時間急性遊泳阻害試験を実施し、50%遊泳阻害濃度(EC<sub>50</sub>)を求め、オオミジンコの遊泳に対する3-アミノピリジンの毒性を明らかにすることを目的とする。

試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について(平成15年11月21日薬食発第1121002号, 平成15・11・13製局第2号, 環保企発第031121002号)」, 別添 藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験, V ミジンコ急性遊泳阻害試験に準拠した。

- 1) 被験物質：3-アミノピリジン
- 2) 試験生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 3) 暴露方式：止水式
- 4) 暴露期間：48時間
- 5) 試験濃度(設定値)：対照区, 0.46, 1.0, 2.2, 4.6, 10, 22及び46 mg/l(公比; 2.2)
- 6) 試験個体数：20頭/試験区(5頭4連)
- 7) 試験溶液量：100 ml/1連
- 8) 試験水温：19.8~20.9 °C
- 9) 溶存酸素濃度：8.3~8.9 mg/l(暴露期間中, 3 mg/l以上を維持した。また, エアレーションは実施しなかった。)
- 10) pH : 7.9~8.1(試験溶液のpH調整は行わなかった。)
- 11) 照 明：室内光, 16時間明/8時間暗
- 12) 給 餌：無給餌
- 13) 試験用水：水道水(つくば市水道水)を活性炭処理し, 残留塩素等を除去した後, 十分通気した脱塩素水
- 14) 分 析 法：高速液体クロマトグラフ法

結 果

結果の算出は、各試験溶液中の被験物質濃度の測定値から、幾何平均により求めた平均測定濃度を用いて行った。

48時間後の50 %遊泳阻害濃度 ( $EC_{50}$ )、0 %遊泳阻害最高濃度及び100 %遊泳阻害最低濃度

- 1) 50 %遊泳阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) : 7.1 mg/l (95 %信頼限界 ; 5.1~10 mg/l) [Moving Average法]
- 2) 0 %遊泳阻害最高濃度 : 1.04 mg/l
- 3) 100 %遊泳阻害最低濃度 : 47.6 mg/l以上

Table 8. pH values of test solution

Nominal concentration (mg/l)	Mean* of measured concentration (mg/l)	0 hour	48 hours
0.46	0.48	8.0	7.9
1.0	1.04	8.0	7.9
2.2	2.33	8.0	7.9
4.6	4.81	8.0	7.9
10	10.4	8.0	7.9
22	23.1	8.0	7.9
46	47.6	8.1	7.9
Control	---	7.9	7.9

\* geometric mean

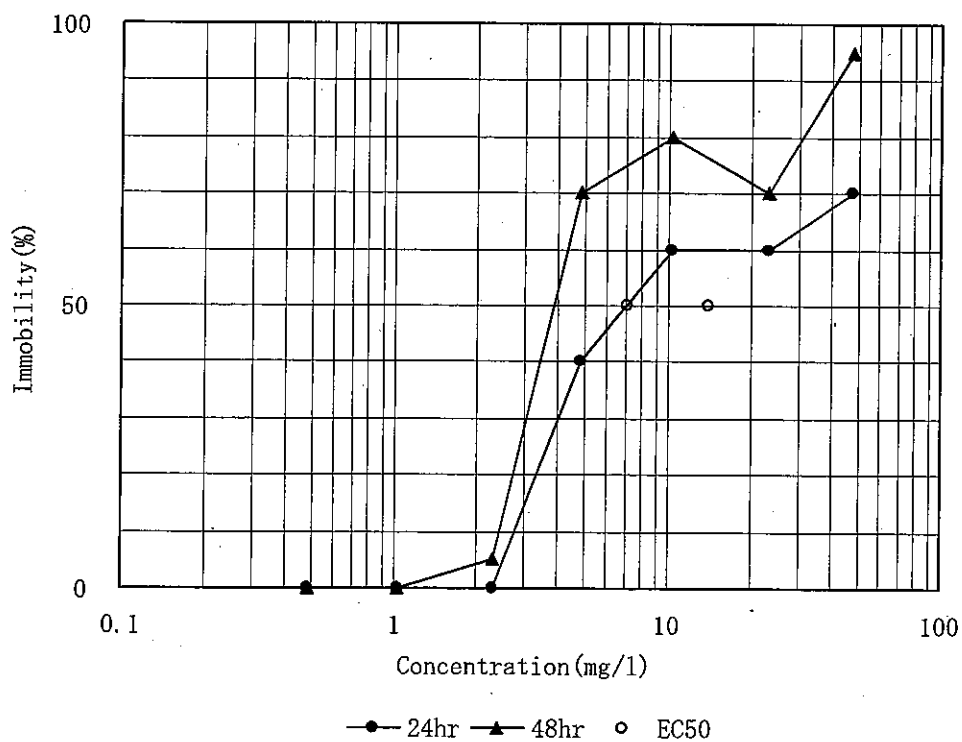


Figure 1. Concentration-immobility curve



## 要 旨

## 表 題

3-アミノピリジンのヒメダカに対する急性毒性試験

## 試験目的

3-アミノピリジンのヒメダカに対する96時間急性毒性試験を実施し、50%致死濃度(LC<sub>50</sub>)を求め、ヒメダカに対する3-アミノピリジンの毒性を明らかにすることを目的とする。

## 試験方法

本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について(平成15年11月21日薬食発第1121002号, 平成15・11・13製局第2号, 環保企発第031121002号)」, 別添 藻類生長阻害試験, ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験, VI 魚類急性毒性試験に準拠した。

- 1) 被験物質：3-アミノピリジン
- 2) 試験生物：ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 3) 暴露方式：半止水式(24時間ごと全量換水)
- 4) 暴露期間：96時間
- 5) 試験濃度(設定値)：対照区, 3.2, 4.2, 5.6, 7.5, 10及び13 mg/l(公比; 1.3)
- 6) 試験個体数：10尾/試験区
- 7) 試験溶液量：10 l/試験区(収容密度; 0.11 g/l)
- 8) 試験水温：23.0~24.0 °C
- 9) 溶存酸素濃度：6.1~8.3 mg/l(暴露期間中, 飽和溶存酸素濃度の60%以上を維持した。また, エアレーションは実施しなかった。)
- 10) pH : 7.6~8.1(試験溶液のpH調整は行わなかった。)
- 11) 照 明：室内光, 16時間明/8時間暗
- 12) 給 餌：無給餌
- 13) 試験用水：水道水(東京都多摩市)を活性炭処理し, 残留塩素等を除去した後, 十分通気した脱塩素水
- 14) 分 析 法：高速液体クロマトグラフ法

結 果

結果の算出は、各試験溶液中の被験物質濃度の測定値から、幾何平均により求めた平均測定濃度を用いて行った。

96時間後の50%致死濃度(LC<sub>50</sub>)、0%死亡最高濃度及び100%死亡最低濃度

- 1) 50%致死濃度(LC<sub>50</sub>) : 8.6 mg/l (95%信頼限界 ; 7.7~9.6 mg/l) [Probit法]
- 2) 0%死亡最高濃度 : 5.67 mg/l
- 3) 100%死亡最低濃度 : 13.5 mg/l

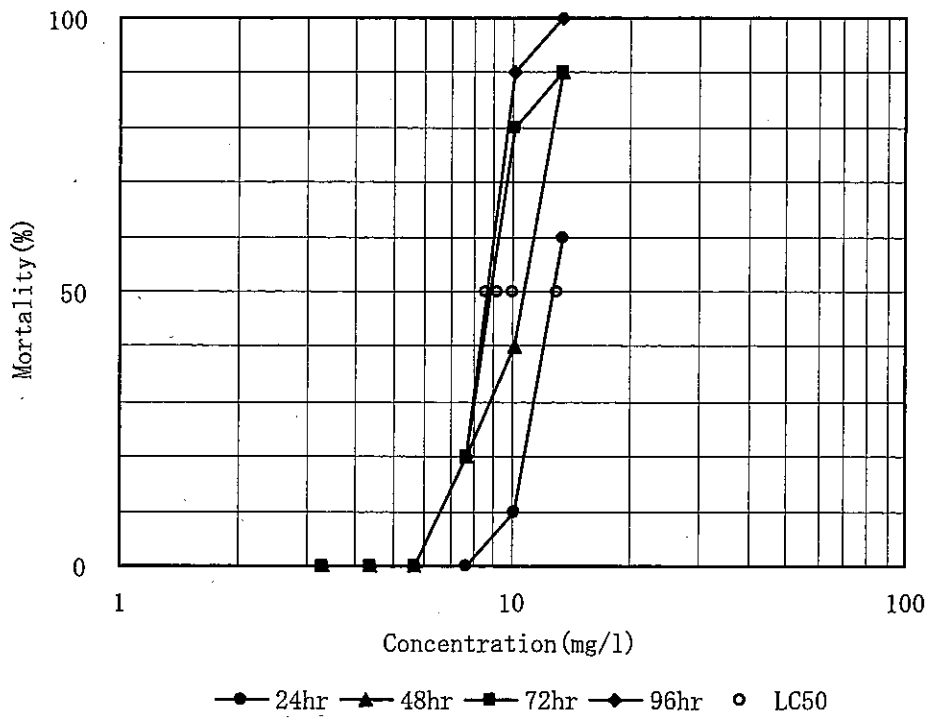


Figure 1. Concentration-mortality curve