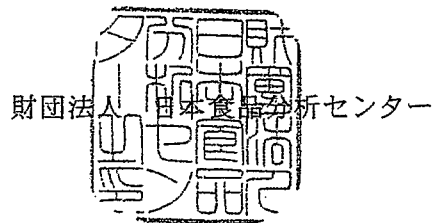


最 終 報 告 書

クヌギ(木酢液)のオオミジンコに対する急性毒性試験

平成17年3月31日



財団法人 日本食品分析センター

クヌギ(木酢液)のオオミジンコに対する急性毒性試験

試験の要約

クヌギ(木酢液)のオオミジンコに対する急性毒性試験を実施し、50%致死濃度(LC₅₀)を求め、クヌギ(木酢液)のオオミジンコに及ぼす影響を評価することを目的として、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付 12農産第8147号)、水産動植物への影響に関する試験及び「魚類に対する毒性試験法」(昭和40年11月25日付 40農政B第2735号)、ミジンコ類の試験法(暫定)に従い、オオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する3時間急性毒性試験を実施した。

試験には国立環境研究所から入手したものを、当センターにおいて継代及び順化飼育したオオミジンコを用いた。

試験は、20頭/試験区(5頭4連)、限度試験として1,000 mg/lのみの濃度区を設定した。

環境条件は、水温19.4~20.2℃、溶存酸素濃度9.0~9.2 mg/l、pH6.3~8.0であった。

試験の結果、クヌギ(木酢液)の3時間後のLC₅₀(Median Lethal Concentration)は1,000 mg/l以上であった。

試験責任者

吉安友二 (印) (平成 17 年 3 月 31 日)

目次

表題	1
試験受託番号	1
試験委託者	1
試験責任者	1
試験担当者	1
試験施設	1
試験期間	1
1 試験目的	2
2 試験法ガイドライン.....	2
3 被験物質	2
4 試験生物	3
5 試験方法	4
6 観察及び測定方法	4
7 試験結果	5
8 試験の妥当性	6
図表	7～ 8
付属資料-1	希釈水の水質測定結果 9～10

表 題：クヌギ(木酢液)のオオミジンコに対する急性毒性試験

試験受託番号：第105013255号

試験委託者

名 称：環境省

所在地：〒100-8975 東京都千代田区霞ヶ関1丁目2番2号

試験責任者

所 属：環境科学部 環境生物安全課

氏 名：吉安 友二

試験担当者

所 属：環境科学部 環境生物安全課

氏 名：角田 紗代子 ， 杉原 夕華

試験施設

名 称：財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

所在地：〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号

〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目21番6号(別館)

試験期間

試験開始日：平成17年1月7日

実験開始日：平成17年3月1日

実験完了日：平成17年3月1日

試験完了日：平成17年**月**日

1 試験目的

クヌギ(木酢液)のオオミジンコに対する急性毒性試験を実施し、50%致死濃度(LC₅₀)を求め、クヌギ(木酢液)のオオミジンコに及ぼす影響を評価した。

2 試験法ガイドライン

本試験は「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付 12農産第8147号)、水産動植物への影響に関する試験、ミジンコ類急性遊泳阻害試験及び「魚類に対する毒性試験法」(昭和40年11月25日付 40農政B第2735号)、ミジンコ類の試験法(暫定)に準拠した。

3 被験物質

1) 名称及び有効成分の含有量等

名 称：クヌギ木酢液

常温における性状：褐色液体

2) 供試試料

入手先：環境省

入手年月日：2004年12月9日

入手量：2 l

ロット番号：W15020

純 度：-

有効期限：-

沈殿物が認められたため、一晚静置した後の上澄み液について試験した。

3) 被験物質の保管方法

被験物質は冷暗所にて保管した。

4) 取り扱い上の注意

被験物質の取り扱いにおいては、保護具等を着用の上、人体への吸入、摂取、接触等がないよう十分注意して取り扱った。

4 試験生物

1) 生物種

試験生物として下記に示したオオミジンコで、定期的な基準物質(二クロム酸カリウム、試薬特級、純度99.5%以上[和光純薬工業株式会社])による生物検定においてEC₅₀の確認されたものを用いた。

なお、基準物質による48時間後のEC₅₀は0.53 mg/l(平成16年10月18日)であった。また、当センターにおける48時間後のEC₅₀のバックグラウンドデータは0.55±0.14 mg/lであった。

① 学名：*Daphnia magna*

② 入手先：国立環境研究所(平成15年3月7日)から入手したものを、当センターにおいて継代飼育した種である。

③ 生育段階：生後24時間以内の個体(以下「幼体」という。)を用いた。

2) 親ミジンコの飼育

親ミジンコの飼育は、試験に用いる希釈水と同一の水質、水温等、可能な限り試験環境条件に近い条件で飼育した。なお、幼体を得るための親ミジンコには、健康で繁殖盛んな生後3週令のものを用いた。

<飼育条件>

① 飼育密度：25頭/1飼育水(順化初期は35頭/1飼育水)

② 飼育容器：1.1容ガラス製ビーカー

③ 水温：19.8～20.8℃

④ 照明：16時間明期

⑤ 飼育水：水道水(茨城県つくば市)を脱塩素したもの

⑥ 給餌：成長段階に合わせてミジンコ1頭当たり0.01～0.13 mgC(有機体炭素)の
Chlorella vulgaris / *Scenedesmus subspicatus*(1:1)混液を毎日給餌した。

5 試験方法

1) 暴露条件及び環境条件

- ① 暴露方式：止水式
- ② 暴露期間：3時間
- ③ 試験個体数：20頭/試験区(5頭4連)
- ④ 試験容器：100 ml容ガラス製ビーカー(容器のサイズ；内径 約50 mm×高さ 約70 mm)
- ⑤ 試験水量：100 ml/1連
- ⑥ 試験水温：19.4～20.2 °C
- ⑦ 照 明：16時間明期
- ⑧ 給 餌：無給餌
- ⑨ 溶存酸素濃度：9.0～9.2 mg/l(飽和溶存酸素量の60 %以上を保った。)
- ⑩ 試験水のpH：6.3～8.0 (pHの調整は行わなかった。)
- ⑪ 希 積 水：水道水(茨城県つくば市)を脱塩素したもの

2) 試験濃度の設定

被験物質の性状等から、1,000 mg/lの濃度区ではミジンコの死亡が認められないと予測されたことに基づき、本試験は限度試験として1,000 mg/lのみの濃度区を設定した。

3) 試験水の調製

被験物質を希積水に直接添加して1,000 mg/lの濃度区の試験水を調製した。
対照区は希積水のみとした。

6 観察及び測定方法

1) 試験生物の生死の観察

暴露開始から、3時間後にミジンコの死亡数を観察し、記録した。
なお、触角の運動が停止しているものを死亡とみなした。

2) 水質の測定

① 希積水

一般的な水質測定を定期的実施した。
使用条件は総硬度10～250 mgCaCO₃/l及びpH6.0～9.0とした。

② 試験水

各試験区の水質として、水温、溶存酸素濃度(以下「D0」と略す。)及びpHを暴露開始時及び終了時に測定した。なお、暴露開始時は4連分を同時に調製した容器について測定した。また、暴露終了時は各試験区の1容器について測定した。

<測定機器>

- a) 温度計：AP-210[安立計器株式会社]
- b) pH計：HM-21P[東亜ディーケーケー株式会社]
- c) D0計：D0-24P[東亜ディーケーケー株式会社]
- d) 残留塩素比色測定器：OT-I型[理研光学株式会社]

3) 試験水の状態観察

暴露開始時及び終了時の試験水について状態観察を行い、試験水の色調や析出、沈殿物等の有無について記録した。

4) 結果の処理法

限度試験のため、 LC_{50} (Median Lethal Concentration)の算出は行わなかった。

7 試験結果

1) LC_{50}

3時間後の LC_{50} は1,000 mg/l以上であった(表-1)。

2) 死亡率

3時間後の死亡率は、対照区及び1,000 mg/lで0%であった。

3時間後の死亡率を表-2に示した。

3) 水質の測定

① 希釈水

一般的な水質測定を定期的実施した結果を付属資料-1に示した。なお、試験に使用した希釈水の総硬度は69 mgCaCO₃/l, pHは7.3であった。

② 試験水

暴露期間中における試験水の水温は19.4~20.2℃, D0は9.0~9.2 mg/l, pHは6.3~8.0であった。

暴露期間中の各試験区の試験水の水温, D0及びpHを表-3~5に示した。

4) 試験水の状態

暴露開始時の試験水はわずかに褐色透明で、被験物質は試験水中に溶解していることが目視にて確認された。また、暴露終了時の試験水の状態に変化は認められなかった。

5) 試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項

なし。

8 試験の妥当性

暴露終了時において対照区の死亡率は0%であり、暴露開始時においてはミジンコが水面に浮いておらず、暴露期間中の各試験区のDOは飽和濃度の60%以上であったため、本試験の成立が確認された。

表-1 3時間後のLC₅₀

(単位：mg/l)

3時間後
> 1,000*

*：1,000 mg/lの限度試験であり，本試験濃度で死亡が認められなかったため，算出しなかった。

表-2 3時間後の死亡率

(単位：%)

試験濃度 (mg/l)	死亡率
	3時間後
1,000	0
対照区	0

表-3 試験水の水温

(単位: °C)

試験濃度 (mg/l)	開始時	3 時間
		終了時
1,000	19.4	20.1
対照区	19.5	20.2

表-4 試験水の DO

(単位: mg/l)

試験濃度 (mg/l)	開始時	3 時間
		終了時
1,000	9.2	9.0
対照区	9.2	9.1

表-5 試験水の pH

試験濃度 (mg/l)	開始時	3 時間
		終了時
1,000	6.3	6.7
対照区	7.9	8.0

付属資料-1：希釈水の水質測定結果

希釈水の水質測定結果-1

項目名	結果	検出限界
pH 値	7.2 (20 °C)	
大腸菌群	陰性/100 ml	
蒸発残留物	150 mg/l	
フェノール類	検出せず	0.005 mg/l
カルシウム, マグネシウム等(硬度)	64 mg/l	
硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	0.8 mg/l	
フッ素及びその化合物	0.11 mg/l	
ジクロロメタン	検出せず	0.001 mg/l
四塩化炭素	検出せず	0.0002 mg/l
1,2-ジクロロエタン	検出せず	0.0002 mg/l
1,1-ジクロロエチレン	検出せず	0.001 mg/l
シス-1,2-ジクロロエチレン	検出せず	0.001 mg/l
1,1,1-トリクロロエタン	検出せず	0.001 mg/l
1,1,2-トリクロロエタン	検出せず	0.0005 mg/l
トリクロロエチレン	検出せず	0.001 mg/l
テトラクロロエチレン	検出せず	0.001 mg/l
1,3-ジクロロプロペン	検出せず	0.0002 mg/l
ベンゼン	検出せず	0.001 mg/l
クロロホルム	0.014 mg/l	
チウラム(チラム)	検出せず	0.0002 mg/l
シマジン(CAT)	検出せず	0.00001 mg/l
チオベンカルブ(ベンチオカーブ)	検出せず	0.00002 mg/l
イソキサチオン	検出せず	0.00001 mg/l
ダイアジノン	検出せず	0.00002 mg/l
フェニトロチオン(MEP)	検出せず	0.00001 mg/l
イソプロチオラン	検出せず	0.00001 mg/l
クロロタロニル(TPN)	検出せず	0.00001 mg/l
プロピザミド	検出せず	0.00001 mg/l
EPN	検出せず	0.00005 mg/l
ジクロルボス(DDVP)	検出せず	0.00005 mg/l
フェノブカルブ(BPMC)	検出せず	0.00001 mg/l
イプロベンホス(IBP)	検出せず	0.00005 mg/l
クロルニトロフェン(CNP)	検出せず	0.0001 mg/l

希釈水の水質測定結果-2

項目名	結果	検出限界
化学的酸素消費量(COD _{Cr})	10 mg/l 以下	
生物化学的酸素要求量	1 mg/l 以下	
浮遊物質量	1 mg/l 以下	
全リン	0.03 mg/l	
臭化物イオン	検出せず	0.5 mg/l
硫化物イオン(S ²⁻)	検出せず	0.01 mg/l
電気伝導率(25 °C)	25 mS/m	
総アルカリ度(CaCO ₃ として)	36 mg/l	
有機体炭素(TOC)	0.9 mg/l	
アンモニア性窒素	検出せず	0.04 mg/l
PCB	検出せず	0.0005 mg/l
水銀	検出せず	0.0001 mg/l
カドミウム	検出せず	0.001 mg/l
シアン化物イオン及び塩化シアン	検出せず	0.001 mg/l
鉛	検出せず	0.001 mg/l
六価クロム	検出せず	0.005 mg/l
ヒ素	検出せず	0.01 mg/l
セレン	検出せず	0.01 mg/l
ニッケル	検出せず	0.001 mg/l
銅	検出せず	0.01 mg/l
亜鉛	検出せず	0.005 mg/l
アルミニウム	検出せず	0.05 mg/l
マンガン	検出せず	0.005 mg/l
鉄	検出せず	0.03 mg/l
スズ	検出せず	0.1 mg/l
ナトリウム	20 mg/l	
カリウム	5.3 mg/l	
カルシウム	16 mg/l	
マグネシウム	6.2 mg/l	

採水年月日：平成 16 年 12 月 21 日

