

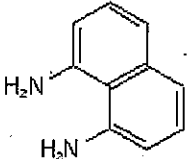
## 既存化学物質の生態影響に関する情報

平成19年12月21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
4-324	479-27-6	1, 8-ジアミノナフタリン	1
2-365	544-01-4	イソアミルエーテル	23
5-1917	2465-27-2	ベイシック エロー-2	55
3-608 9-1199	25013-16- 5	t-ブチル-p-ヒドロキシアニソール	68
3-4511	85068-29- 7	3, 5-ビス(トリフルオロメチル)ベンジルアミン	86
3-78	118-69-4	2, 6-ジクロロトルエン	99
3-540	1879-09-0	6-tert-ブチル-2, 4-キシレノール	119
2-1687	556-61-6	イソチオシアン酸メチル	139
3-502	4286-23-1	4-(1-メチルエテニル)フェノール	149

## 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)	1,8-ジアミノナフタレン		
別名 (略称)	B18		
CAS 番号	479-27-6		
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>C10H10N2</chem>		
分子量	158.20		
試験に供した新規化学物質の純度(%)	99.0%		
試験に供した新規化学物質のロット番号	08826KS		
不純物の名称 及び含有率(%)	不明物 ; 1.0%		
蒸気圧	—		
対水溶解度	—		
1-オクタール/水分配係数	—		
融点	63°C		
沸点	205°C		
常温における性状	紫色結晶性固体		
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
	メタノール	0.1 g/mL	—

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>実験開始時の分析試料は試験液調製時の予備の1本から試験液を分取して分析試料とし、被験物質濃度を測定した。実験開始24及び48時間の分析試料は、被験物質濃度分析試料から分取した試験液、ま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試験液を分析試料として前処理を行った。</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20 µLを注入した。</p> <p>ただし、実験開始時の0.80及び1.60 mg/Lの試験液はOECD培地で2及び4倍に希釈し分析試料とした。実験開始24時間以降の試験液は被験物質濃度の低下が予測されたので希釈は行わなかった。</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] --&gt; 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] --&gt; B             B --&gt; D[吸引添加(-0.4 100 × kPa)]             D --&gt; E[溶出 ←アセトニトリル 0.9 mL]             E --&gt; F[定容 ←アセトニトリルで1 mLに定容]             F --&gt; G[500 µL分取 ←純水 500 µL]             G --&gt; H[混和]             H --&gt; I[HPLC 分析試料 20 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 μm) (GLサイエンス)
	移動相 :	アセトニトリル / 50 mmol/L リン酸二水素カリウム水溶液 = 1 : 1 (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 :	20 μL	

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(0-72h)：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4月21日 - 2006年4月24日	
	培地名	化審法培地	
	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-通気性のシリ コン栓	
	培地名	OECD 培地	
	暴露期間	2006年4月24日 - 2006年4月27日	
	試験濃度 (設定値)	0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80, 1.60 mg/L (公比：2.0)	
	初期細胞濃度	1×10 <sup>4</sup> 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	

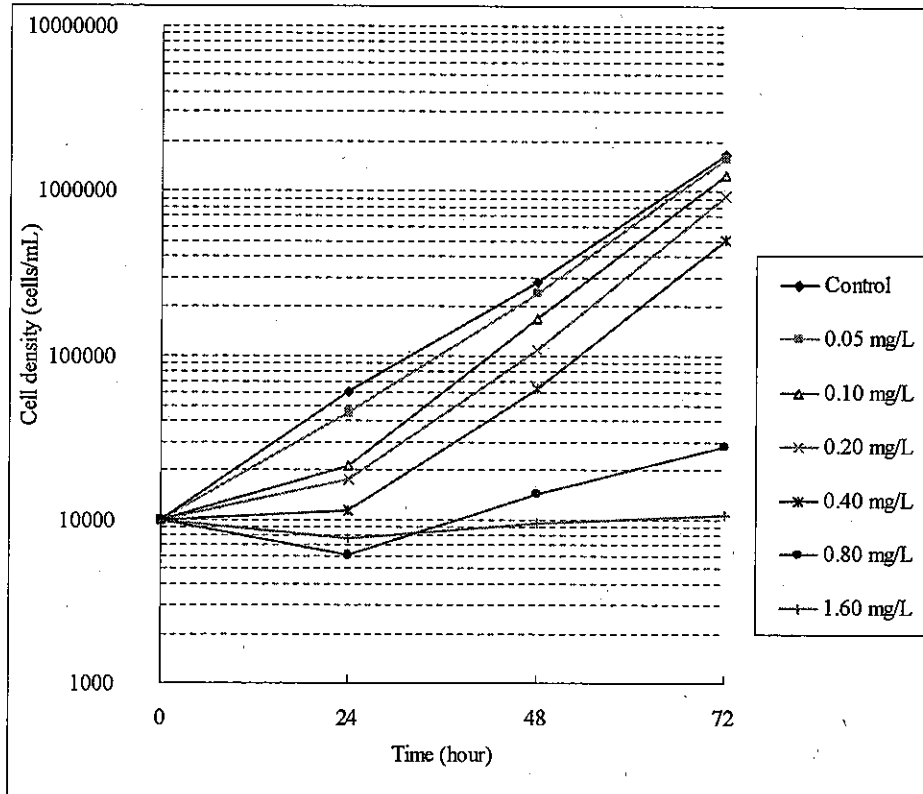
4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	0-72hErC50= 0.477 mg/L 0-72hEbC50= 0.177 mg/L NOEC(速度法)= 0.10 mg/L NOEC(面積法)= < 0.05 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"> <li>・ 試験液中の被験物質濃度                          実験開始時、24時間後、48時間後及び実験終了時(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52.0 - 91.8%、24時間後において各設定値の0.8 - 22.0%、48時間後及び実験終了時においては定量限界以下または検出不可能であった。                          本被験物質は光分解をする可能性のある物質であり、24時間後において大半が消失したため、分解生成物質も同時に暴露されていることを考慮に入れて、被験物質の設定値を用いてEC50値及びNOECを算出した。</li> <li>・ 生長曲線下の面積の比較 (速度法)による結果                          プロビット法を用いて設定値から算出したErC50(0-72h)は0.477 mg/Lであり、その 95%信頼区間は0.441 - 0.515 mg/Lであった。ダネット型の検定による最大無影響濃度[NOErC (0-72h)]は0.10 mg/Lであった。</li> <li>・ 生長速度の比較(面積法)による結果                          プロビット法を用いて設定値から算出したEbC50(0-72h)は0.177 mg/Lであり、その 95%信頼区間は0.162 - 0.193 mg/Lであった。ダネット型の検定による最大無影響濃度[NOEbC(0-72h)]は&lt;0.05 mg/Lであった。</li> <li>・ 温度及び pH                          72時間の実験期間中の光照射式回転振盪培養機内の温度は23.0 - 23.1°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8.0、実験終了時が7.9 - 8.1であった。被験物質の消失に伴うpHの変化は見られなかった。</li> <li>・ 照度                          実験期間中の光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</li> </ul>

	<p>平均照度の変動も±15%の範囲内であることを確認した。</p> <ul style="list-style-type: none"><li>被験物質濃度と生長阻害への影響</li></ul> <p>本被験物質は試験条件下(照明)の影響を受けて実験24時間後に著しい減少が見られ、実験48時間後には検出されなかった。試験液のHPLCクロマトグラムには被験物質の減少に伴う新たな数本のピークが検出されており、これらのピークは試験濃度区で特有に検出されることから、被験物質由来の分解生成物が複数生成されたことが示唆された。</p> <p>また、実験期間の0 - 24時間で生長阻害が著しく見られ、24-72時間では生長率の回復が生長曲線から観察された。阻害の著しい時期と被験物質が残留している期間が重なることから、分解生成物が藻類を阻害するよりも被験物質の阻害が高いと考えられた。これより、被験物質は環境中で自然光の影響を受けて、分解生成物となりその残留は低くなることが予測されるため、本試験で得られたEC50値(設定値)は被験物質の藻類への影響を厳しく評価していると考えられた。</p>
--	--

5. 藻類の生長曲線及び濃度-生長阻害率曲線

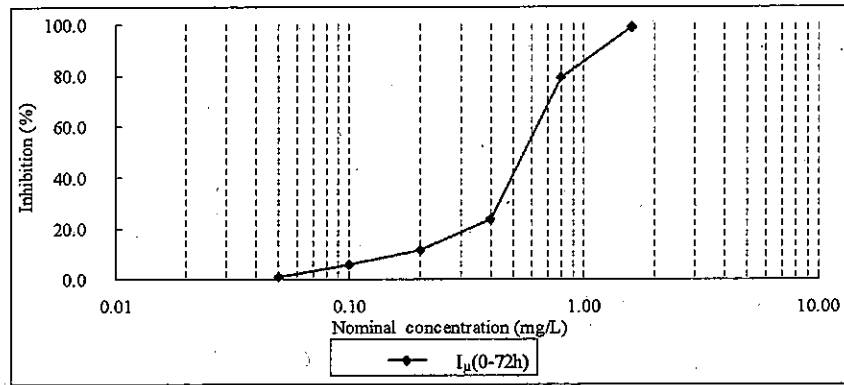
・生長曲線



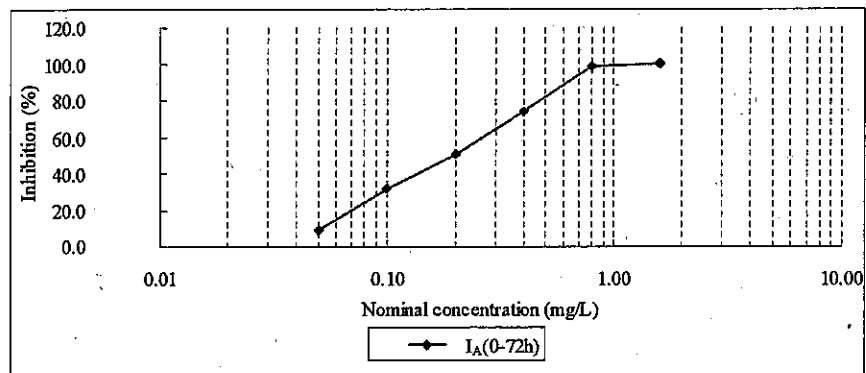


濃度—生長阻害率曲線

• 速度法

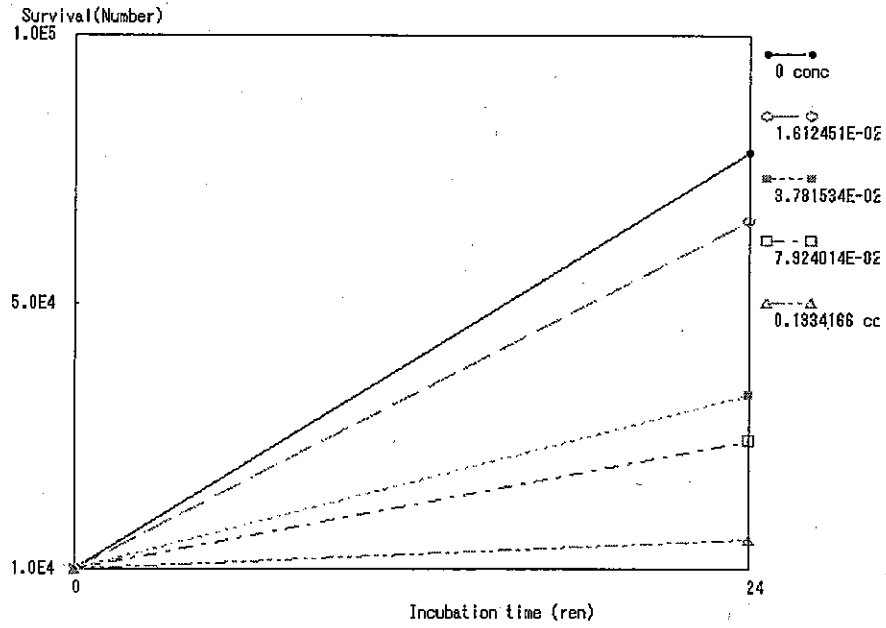


• 面積法



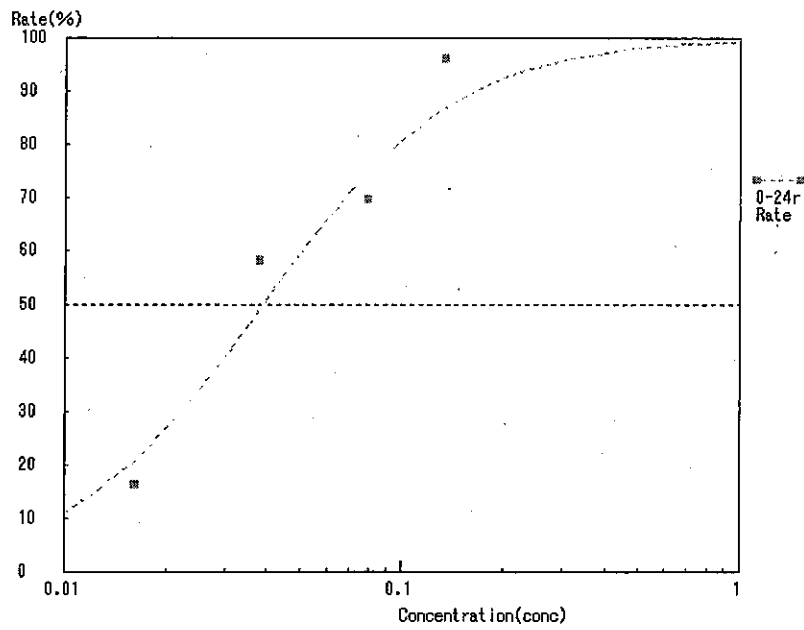
事務局再計算結果

①生長曲線



Time course pattern of Algae Growth Test  
新-479276

②阻害率曲線



Dose-response curve for EC50 of Algae Growth Test (Logit method)  
新-479276

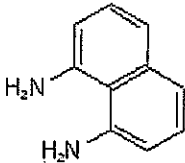
③毒性値

24hErC50 (実測値に基づく) =0.039 mg/L

24hNOECr (実測値に基づく) =0.016 mg/L

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)	1,8-ジアミノナフタレン		
別名 (略称)	B18		
CAS 番号	479-27-6		
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>C10H10N2</chem>		
分子量	158.20		
試験に供した新規化学物質の純度(%)	99.0%		
試験に供した新規化学物質のロット番号	08826KS		
不純物の名称 及び含有率	不明物 ; 1.0%		
蒸気圧	—		
対水溶解度	—		
1-オクタノール/水分配係数	—		
融点	63°C		
沸点	205°C		
常温における性状	紫色結晶性固体		
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
	メタノール	0.1 g/mL	—

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3 mL)を測定試料とした。</p> <p>各分析試料10 mLをあらかじめアセトニトリル約5 mL及び純水5 mLでコンディショニングしたエムボ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20 µLを注入した。なお、分析試料の前処理はできるだけ室内光を避けて行った。</p> <p>フローチャートを以下に示す。</p> <pre>           分析試料又は回収率算出用試料 10 mL                         コンディショニング             ←アセトニトリル 約5 mL             ←純水 約5 mL            -----                          エムボアディスクカートリッジ                   CH18HD(10 mm/6 mL)             吸引添加 (-0.4 100 × kPa)                         溶出             ←アセトニトリル 0.9 mL                         定容             ←アセトニトリルで1 mLに定容                         500 µL分取             ←純水 500 µL                         混和                         HPLC分析試料 20 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 μm) (GLサイエンス)
	移動相 : アセトニトリル / 50 mmol/L リン酸二水素カリウム水溶液 = 1 : 1 (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 : 20 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 <sub>50</sub> ) (対照物質名)	48 時間 EC <sub>50</sub> : 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 4 月 24 日 - 2006 年 4 月 26 日	
	試験濃度 (設定値)	0.08, 0.11, 0.14, 0.18, 0.23, 0.30 mg/L (公比 : 1.3)	
	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	24 時間暗		
結果の算出方法	EC <sub>50</sub>	Probit 法	

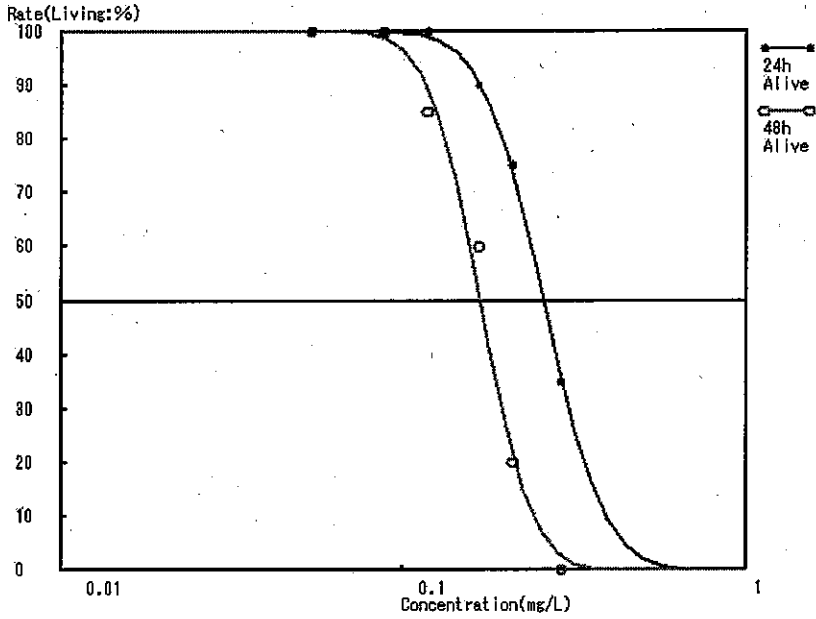
4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48 時間 EC <sub>50</sub> 値： 0.167 mg/L 95%信頼限界： 0.151 - 0.185 mg/L 最大無作用濃度： 0.088 mg/L 100%阻害最低濃度： 0.290 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"> <li>・ 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 92.5 - 105.3%、実験終了時は各設定濃度の 50.0 - 89.0%であった。                      半数遊泳阻害濃度(EC50)は、実験開始時及び終了時の測定濃度の幾何平均値を用いて算出した。以下、試験水濃度は算出した測定濃度で示す。</li> <li>・ 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 0.054, 0.088 及び 0.118 mg/L 濃度区で 0%となり、0.166, 0.209 及び 0.290 mg/L 濃度区では 10, 25 及び 65%であった。実験終了時の遊泳阻害率は 0.054 及び 0.088 mg/L 濃度区で 0%となり、0.118, 0.166, 0.209 及び 0.290 mg/L 濃度区で 15, 40, 80 及び 100%となった。                      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 EC<sub>50</sub> 値は 0.257 及び 0.167 mg/L となった。</li> <li>・ 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 0.118 及び 0.088 mg/L であった。                      また、24 及び 48 時間 100%阻害最低濃度は &gt;0.290 及び 0.290 mg/L であった。</li> <li>・ 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 20.5℃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 7.5 - 7.7 で、被験物質による影響は見られなかった。</li> </ul>



実験期間中の試験液の溶存酸素濃度は、実験開始時(供試ミジンコのいない状態)及び実験終了時(供試ミジンコを48時間暴露した試験液)で8.8 mg/Lであった。実験期間を通じて最低溶存酸素濃度は8.8 mg/Lで、基準の3 mg/L以上であった。

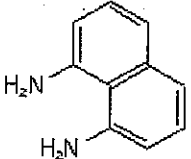
5. ミジンコの濃度-遊泳阻害率曲線



“Number of immobility (%)” indicated as “Rate”.  
 “Measured concentration” indicated as “Concentration (mg/L)”.

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)	1,8-ジアミノナフタレン		
別名 (略称)	B18		
CAS 番号	479-27-6		
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>C10H10N2</chem>		
分子量	158.20		
試験に供した新規化学物質の純度(%)	99.0%		
試験に供した新規化学物質のロット番号	08826KS		
不純物の名称 及び含有率	不明物 ; 1.0%		
蒸気圧	—		
対水溶解度	—		
1-オクタノール/水分配係数	—		
融点	63°C		
沸点	205°C		
常温における性状	紫色結晶性固体		
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
	メタノール	0.1 g/mL	—

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、48 時間後及び実験終了時に各濃度区の試験水(約 2 mL)から分取し、測定試料とした。但し、9.0 mg/L 濃度区においては実験開始 72 時間後に供試魚が 100%死亡したため、その時点で試験水中の被験物質濃度測定を行い、実験終了時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。なお、分析試料の前処理はできるだけ室内光を避けて行った。以下に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 10 μL         </pre>																												
定量条件	<p>・使用分析機器</p> <table data-bbox="558 1075 1085 1344"> <tr><td>HPLC :</td><td>LC-10A システム</td></tr> <tr><td>ポンプ :</td><td>LC-10AD</td></tr> <tr><td>システムコントローラー :</td><td>SCL-10A</td></tr> <tr><td>オートサンプラー :</td><td>SIL-10A</td></tr> <tr><td>カラムオープン :</td><td>CTO-10AC</td></tr> <tr><td>検出器 (UV/VIS) :</td><td>SPD-10A</td></tr> <tr><td>データ処理装置 :</td><td>C-R7A plus</td></tr> </table> <p>・測定条件</p> <table data-bbox="558 1366 1340 1702"> <tr><td>カラム :</td><td>Inertsil ODS-3 (4.6 mm I.D. × 150 mm, 5 μm) (GLサイエンス)</td></tr> <tr><td>移動相 :</td><td>アセトニトリル / 50 mmol/L リン酸二水素カリウム水溶液 = 1 : 1 (v/v)</td></tr> <tr><td>流速 :</td><td>1.0 mL/min.</td></tr> <tr><td>カラム温度 :</td><td>25°C</td></tr> <tr><td>サンプル設定温度 :</td><td>25°C</td></tr> <tr><td>検出波長(UV) :</td><td>230 nm</td></tr> <tr><td>試料注入量 :</td><td>10 μL</td></tr> </table>	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	カラム :	Inertsil ODS-3 (4.6 mm I.D. × 150 mm, 5 μm) (GLサイエンス)	移動相 :	アセトニトリル / 50 mmol/L リン酸二水素カリウム水溶液 = 1 : 1 (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 :	10 μL
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																												
カラム :	Inertsil ODS-3 (4.6 mm I.D. × 150 mm, 5 μm) (GLサイエンス)																												
移動相 :	アセトニトリル / 50 mmol/L リン酸二水素カリウム水溶液 = 1 : 1 (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 :	10 μL																												

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：2.8 ± 0.1 cm (n=7) 体重：0.18 ± 0.03 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：ベンザクロロフェノールナトリウム塩	
じゅん化	じゅん化期間	5 - 7 日以上	
	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	3 L 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	250 mg/L 以下
		pH	6.0 - 9.0
	暴露期間	2006 年 4 月 11 日 - 2006 年 4 月 15 日	
	試験濃度 (設定値)	2.4, 3.2, 4.1, 5.3, 6.9, 9.0 mg/L (公比: 1.3)	
	供試数	7 尾 / 試験容器	
	試験溶液量	3 L	
	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	24時間暗
結果の算出方法	LC50	片対数グラフ

#### 4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	96hLC50 : 5.6 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"> <li>・ 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93.7 - 97.8%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86.6 - 91.6%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72時間で9.0 mg/L濃度区は死亡率が100%となったため、実験開始時、実験開始48時間及び実験開始72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。</li> <li>・ 累積死亡率(%)            実験開始96時間後の累積死亡率は対照区、2.2.及び3.0 mg/L濃度区で0%であった。            また、3.8, 4.9, 6.4及び8.5 mg/L濃度区の累積死亡率は14, 14, 86及び100%であった。</li> <li>・ 供試魚の異常な症状及び反応            対照区、2.2.及び3.0 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。            3.8, 4.9及び6.4 mg/L濃度区において実験開始48時間後まで毒性症状は観察されなかった。8.5 mg/L濃度区では実験開始6時間後に遊泳緩慢の毒性症状が観察された。観察結果より、実験開始96時間のNOECは3.0 mg/Lとなった。            実験開始96時間後の100%死亡最低濃度は8.5 mg/Lであると判</li> </ul>

断した。また、実験開始 96 時間後の 0%死亡最高濃度は 3.0 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 23.8 - 24.3°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 7.5 - 7.7 で、濃度区の pH は 7.4 - 7.8 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 8.2 mg/L、24 時間後から実験終了時まで 7.1 - 8.2 mg/L であった。実験期間を通じて最低溶存酸素濃度は 7.1 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  $2.8 \pm 0.1$  cm であった。

また、魚体重の平均値(n=7)は  $0.18 \pm 0.03$  g であったことから、試験水量(3 L)に対して魚体重が 0.42 g/L となり、基準(試験水 1 L あたりの魚体重が 1.0 g 以下)の範囲内であった。

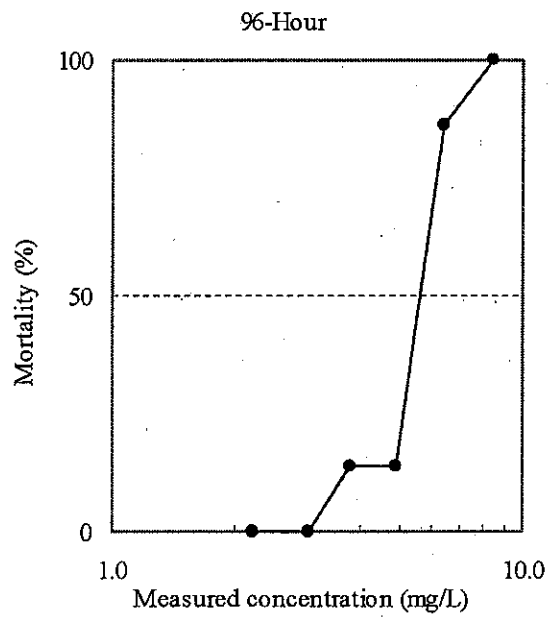
・ 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

本試験計画書では被験物質の純度を 98.5%として記載していたが、「1,8-ジアミノナフタレンのオオミジンコ(*Daphnia magna*) に対するミジンコ急性遊泳阻害試験(試験番号: JCL058088)」の試験計画書作成時(2006/4/18)に記載されていた純度に誤りがあり、純度は 99.0%が正しいことを確認した。その誤りの確認は本試験の実験終了した後であったため、既に試験水中の被験物質濃度の分析は終了していた。

試験水濃度の分析に使用した 100 mg/L 標準原液は誤った純度 (98.5%)で換算されていたため、調製された標準溶液濃度は実質の濃度よりも 2%低い数値で記載されていた。また、標準原液より調製された標準溶液についても同様に実質の濃度よりも 2%低い数値で記載されていた。純度 99.0%を 100.0%とみなして算出すると、訂正に該当する箇所は 100.0 mg/L 標準原液及び 10.0, 5.0, 2.5 mg/L 標準溶液となり、102.0 mg/L 標準原液及び 10.2, 5.1, 2.6 mg/L 標準溶液に訂正した。誤った表記を訂正し、既に得られていたデータ(ピーク面積値)から検量線を再作成して試験水濃度の再計算を行った。これらの訂正及び再計算により試験水濃度は正しく再計算され、その測定結果を用いて求められた

	<p>LC50値は信頼される結果となった。</p> <p>なお、試験水濃度は測定された測定結果からLC50値を算出することにしていたため、試験水は純度換算を行わずに100 mg/L 添加原液を調製しており、表示値の訂正は不要であった。</p> <p>これより、試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因はなくなったと判断した。</p>
--	---

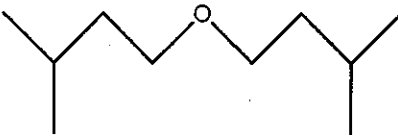
5. 魚類の濃度-死亡率曲線



Dose-response curve for LC50 (Measured concentration)

1. 被験物質

1.1 名称, 構造式および物理化学的性状

被験物質の名称	イソアミルエーテル		
別名	(略称: DIPE)		
CAS番号	544-01-4		
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合は, その製法の概要)			
分子量	158.28		
試験に供した物質の純度 (%)	98.9%		
試験に供した物質のロット番号	EWL3191		
不純物の名称及び含有率	-		
蒸気圧	133Pa/18.6°C		
対水溶解度	不溶		
1-オクタノール/水分配係数	-		
融点	-75°C		
沸点	173°C		
常温における性状	無色~微黄色液体		
安定性	安定		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エノール	混和	-

上記内容は供給者提供資料による。

1.2 供試試料

供給者: 和光純薬工業株式会社



### 1.3 特記事項

特に無し。

## 2. 試験液中の被験物質の分析法 (概要)

### 2.1 ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS) 測定条件

#### (装置)

ガスクロマトグラフ質量分析計 (ヘッドスペースサンブラ付き) No.1

ガスクロマトグラフ (GC) : Agilent Technologies 6890 型

ヘッドスペースサンブラ (HSS) : Agilent Technologies 7694 型

質量選択検出器 (MSD) : Agilent Technologies 5973N 型

データ処理部 : ケミステーション

#### (条件)

##### [GC条件]

カラム : J&W DB-5MS 60m×0.25mm×1.0μm

キャリアーガス : ヘリウム 1.0mL/min (Constant flow)

オープン温度 : 50°C (1min) → 20°C/min → 210°C (2.5 min)

注入口温度 : 230°C

MSインターフェース温度 : 200°C

注入条件 : スプリット (スプリット比 100:1)

注入量 : 3.0mL (HSS サンブラ ループ 容量)

##### [HSS条件]

温度条件 : Oven 60°C, LOOP 120°C, Transfer Line 200°C

イベント時間 : GC Cycle Time 20分

Vial Equilibration Time 20分

Pressurization Time 0.2分

Loop Fill Time 0.03分

Loop Equilibration Time 0.2分

Inject Time 0.2分

バイアルパラメータ : Shake 2 (HIGH)

##### [MSD条件]

温度条件 : イオン源 = 230°C, 四重極マス・フィルタ = 150°C

SIM (Selected Ion Monitoring) 条件 :

Solvent Delay 10 min

Filament off 11 min

Quant ion m/z 71.0, 115.0 の TIC

## 2.2 検量線

アセトンを用い 0, 0.5~200 mg/L の標準溶液を調製した。標準溶液の分析を以下のように行った。横軸に濃度 (mg/L) を、縦軸にピーク面積 (count) をとり、検量線を作成した。検量線の最小二乗法による直線回帰式の相関係数は、いずれも1.00と良好であった。

精製水 10 mL  
+  
標準溶液 0.1 mL  
|  
混合  
|  
GC/MS測定\*

\* 測定値は標準溶液濃度の1/100の値となる。

## 2.3 検出限界

最小検出ピーク面積を 1000 countに設定し、これに相当する試験液中の被験物質濃度、藻類生長阻害試験では 0.0001 mg/L, 魚類急性毒性試験では 0.00006 mg/L を検出限界とした。ミジンコ急性遊泳阻害試験では 0.002 mg/Lを検出限界とした。

## 2.4 試験液の分析方法

試験液を以下のように分析した。各試験液の被験物質濃度は、各分析時に測定した標準溶液のピーク面積を用いて、一点検量法により定量した。

### 1) 藻類生長阻害試験 (暴露開始時の濃度区)

精製水 10 mL  
+  
分析試料 (予めアセトンで適宜希釈\*) 0.1 mL  
|  
混合  
|  
GC/MS測定

\*1 検量線範囲を超えるものについて適宜希釈した。

- 2) 藻類生長阻害試験（暴露開始時の濃度区以外），ミジンコ急性遊泳阻害試験，  
魚類急性毒性試験

精製水

+

アセトン 0.1 mL

+

分析試料\* 10 mL（精製水との合計）

|

混合

|

GC/MS測定

\* 精製水と分析試料の比率を変えることにより被験物質濃度を検量線範囲に入れた。  
対照区は希釈無しのため，分析試料 10mL（精製水 = 0 mL）とした。

#### 2.5 添加回収試験

分析前処理は，試験液とアセトンを混合する操作だけであるので，添加回収試験の必要は  
なかった。したがって，回収率の補正は行わなかった。

3. 藻類生長阻害試験

試験方法および結果の要約

供試生物	分類 : 単細胞緑藻類 学名 : <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 入手先 : American Type Culture Collection (ATCC22662株) 感受性 : 重クロム酸カリウムの72時間50%生長阻害濃度 (EbC50) 平均値 ± 標準偏差 = 0.428 ± 0.0683 mg/L, n=18
試験方法	「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, 最終改正:平成17年4月1日)
試験条件	培養方式: 止水式(密閉系), 振とう培養(100rpm) 試験容器: 500mL容ガラス製共栓付き三角フラスコ ヘッドスペース容量: 当社測定値 490 mL 連数: 6容器/対照区および助剤対照区, 3容器/濃度区 培地: 化審法テストガイドライン推奨培地 試験液量: 100mL/容器 暴露期間: 72時間 生物数: $5 \times 10^3$ cells/mL (初期細胞濃度) 照明: $65 \mu E/m^2/s$ (装置中央フラスコ液面付近) で連続照明 装置内変動: ±8%以内 温度: $23 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 測定値: $22.8 \sim 23.5 \text{ }^\circ\text{C}$ pH: 試験液のpH調整なし 測定値: 8.3~10.2 (72時間後)
助剤の種類と濃度	種類: テトラヒドロフラン 濃度: $65 \mu\text{L/L}$
試験濃度	対照区, 助剤対照区, 5.00, 7.10, 10.0, 14.1, 20.0* mg/L (公比: 1.4) * 試験液調製可能最高濃度
結果および考察	mg/L (95%信頼区間)
速度法	半数生長阻害濃度 ErC50(0-72h): >4.36 (算出不可) 最大無影響濃度 NOECr(0-72h): 1.15
面積法	半数生長阻害濃度 EbC50(0-72h): >4.36 (算出不可) 最大無影響濃度 NOECb(0-72h): 1.15
収量法	半数生長阻害濃度 ECy50(0-72h): >4.36 (算出不可) 最大無影響濃度 NOECy(0-72h): 1.15
統計的手法	半数生長阻害濃度: 直線回帰分析 有意差検定: Williamsの多重比較検定
特記事項	被験物質の培地に対する溶解度 20 mg/L (当社測定値) 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 67~82%, 暴露終了時の試験培養液において 9~11%であった。暴露開始時における濃度減少は高濃度区側より低濃度区側が大きく, その原因として試験操作時の水中からの揮散が考えられた。この濃度減少は本被験物質の性質上避けられないと判断した。また, 暴露期間中の濃度減少は水中からの揮散が考えられた。阻害濃度の算出には測定値の平均値(時間加重平均)を用いた。

Table 1 Measured Concentration of the Test Substance in Test Cultures

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L) (Percent of Nominal)				Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (Percent of Nominal) (mg/L)
	0 Hour	24 Hour	48 Hours	72 Hours	
Control	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	----
Solvent Control	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	----
5.00	3.37 (67)	0.364 (7)	0.554 (11)	0.450 (9)	0.767 (15)
7.10	4.74 (67)	0.576 (8)	0.873 (12)	0.636 (9)	1.15 (16)
10.0	6.79 (68)	0.865 (9)	1.15 (11)	0.864 (9)	1.62 (16)
14.1	10.4 (74)	1.30 (9)	1.65 (12)	1.28 (9)	2.43 (17)
20.0	16.4 (82)	2.68 (13)	3.11 (16)	2.15 (11)	4.36 (22)

a : time weighted mean

Table 2 Cell Densities of *Pseudokirchmeriella subcapitata* during the 72-Hour Exposure

Nominal Concentration [Mean <sup>a</sup> Measured Conc.] (mg/L)	Vessel No.	Cell Densities (cells/mL)			
		0 Hour*	24 Hours	48 Hours	72 Hours
Control	1	5000	29200	228600	753800
	2	5000	28600	216600	700800
	3	5000	27600	202600	624800
	4	5000	24200	188600	693800
	5	5000	32500	234600	713800
	6	5000	28800	194600	593800
	Average	5000	28500	210900	680100
	SD	0	2700	18700	59500
Solvent Control	1	5000	28500	199600	517800
	2	5000	27900	207600	683800
	3	5000	29300	212600	620800
	4	5000	31600	209600	677800
	5	5000	32100	229600	515800
	6	5000	25600	192600	695800
	Average	5000	29200	208600	618600
	SD	0	2400	12600	83000
5.00 [0.767]	1	5000	25700	191600	660800
	2	5000	27100	181600	619800
	3	5000	26600	180600	615800
	Average	5000	26500	184600	632100
7.10 [1.15]	1	5000	22900	174600	638800
	2	5000	24900	179600	604800
	3	5000	30000	203600	601800
	Average	5000	25900	185900	615100
10.0 [1.62]	1	5000	27500	202600	418800
	2	5000	25800	182600	477800
	3	5000	25700	192600	428800
	Average	5000	26300	192600	441800
14.1 [2.43]	1	5000	22000	141600	333800
	2	5000	23400	148600	357800
	3	5000	22200	163600	378800
	Average	5000	22500	151300	356800
20.0 [4.36]	1	5000	12500	106600	326800
	2	5000	21700	112600	332800
	3	5000	22000	109600	300800
	Average	5000	18700	109600	320100
SD	0	5400	3000	17000	

a : time weighted mean

SD : Standard deviation

\* : Nominal initial densities

Table 3 Growth Rate of Control

Vessel No.	Growth Rate			Average	SD	CV(%)
	$\mu$ (0-24h)	$\mu$ (24-48h)	$\mu$ (48-72h)			
1	0.0735	0.0857	0.0497	0.0682	0.0177	26.0
2	0.0727	0.0844	0.0489			
3	0.0712	0.0831	0.0469			
4	0.0657	0.0856	0.0543			
5	0.0780	0.0824	0.0464			
6	0.0730	0.0796	0.0465			
Average	0.0724	0.0835	0.0488			
SD	0.0040	0.0023	0.0030			
CV(%)	5.5	2.8	6.1			

SD: Standard deviation

CV: Coefficient of variation

Table 4 Growth Inhibition (%) of *Pseudokirchneriella subcapitata*

Nominal Concentration		Growth Rate		Area under the growth curves		Yield	
[Mean <sup>a</sup> Measured Conc.]		Rate	Inhibition(%) <sup>*1</sup>	Area	Inhibition(%) <sup>*1</sup>	Yield	Inhibition(%) <sup>*1</sup>
(mg/L)	Vessel No.	$\mu$ (0-72h)	$I_{\mu}$ (0-72h)	A (0-72h)	$I_A$ (0-72h)	Y (0-72h)	$I_Y$ (0-72h)
Control	1	0.0697		14933000		748800	
	2	0.0686		13994000		695800	
	3	0.0671		12722000		619800	
	4	0.0685		13133000		688800	
	5	0.0689		14676000		708800	
	6	0.0663		12187000		588800	
	Average SD	0.0682 0.0012	-	13608000 1102000	-	675100 59500	-
Solvent Control	1	0.0644		11388000		512800	
	2	0.0683		13558000		678800	
	3	0.0670		12955000		615800	
	4	0.0682		13622000		672800	
	5	0.0644		12170000		510800	
	6	0.0686		13286000		690800	
	Average SD	0.0666 0.0020	-	12830000 883000	-	613600 83000	-
5.00 [0.767]	1	0.0678		12845000		655800	
	2	0.0669		12146000		614800	
	3	0.0669		12062000		610800	
	Average SD	0.0672 0.0005	-0.9	12351000 430000	3.7	627100 24900	-2.2
7.10 [1.15]	1	0.0674		12106000		633800	
	2	0.0666		11866000		599800	
	3	0.0665		12528000		596800	
	Average SD	0.0668 0.0005	-0.3	12167000 335000	5.2	610100 20600	0.6
10.0 [1.62]	1	0.0615		10248000		413800	
	2	0.0633		10435000		472800	
	3	0.0618		10085000		423800	
	Average SD	0.0622 0.0010	6.6**	10256000 175000	20.1**	436800 31600	28.8**
14.1 [2.43]	1	0.0583		7632000		328800	
	2	0.0593		8122000		352800	
	3	0.0601		8705000		373800	
	Average SD	0.0592 0.0009	11.1**	8153000 537000	36.5**	351800 22500	42.7**
20.0* [4.36]	1	0.0581		6480000		321800	
	2	0.0583		6917000		327800	
	3	0.0569		6468000		295800	
	Average SD	0.0578 0.0008	13.2**	6622000 256000	48.4**	315100 17000	48.6**

a time weighted mean

\*1 Values are the growth inhibition (%) relative to the solvent control.

SD Standard deviation

★ The maximum attainable concentration under the present test conditions and preparation methods.

\* Indicates a significant difference ( $\alpha=0.05$ ) from the solvent control. (There was no sign in this test.)\*\* Indicates a significant difference ( $\alpha=0.01$ ) from the solvent control.



Table 5 Calculated EC50 and NOEC

Based on  $I_r$  (0-72h) value (Growth rates)

ErC50 (0-72h) (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	NOECr (0-72h) (mg/L)
>4.36	--	1.15

Based on  $I_A$  (0-72h) value (Areas under growth curve)

EbC50 (0-72h) (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	NOECb (0-72h) (mg/L)
>4.36	--	1.15

Based on  $I_y$  (0-72h) value (Yield)

EyC50 (0-72h) (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	NOECy (0-72h) (mg/L)
>4.36	--	1.15

The EC50 values and associated 95% confidence limits could not be determined by least squares linear regression analysis because the growth inhibition (%) at the maximum concentration level was less than 50%.

-- not calculated

The NOEC values were determined by an analysis of variance (ANOVA), Williams test, subsequent to Bartlett test for homogeneity of variances. Statistical analyses were performed using Yukms Statlight #4 software (Yukms Corp., Tokyo) and all tests of significance were at  $\alpha=0.05$ , except Bartlett test, which was at  $\alpha=0.01$ .

Table 6 Temperature, Light Intensity and Revolutions in the Incubation Chamber

Exposure Period (Hours)	Temperature (°C)	Light Intensity ( $\mu E/m^2/s$ )	Revolutions (rpm)
0	23.4	65-66	100
24	23.5	64-65	100
48	23.3	64-65	100
72	22.8	65-66	100

Table 7 pH Values of Test Cultures

Nominal Concentration [Mean <sup>a</sup> Measured Conc.] (mg/L)	pH		
	0 Hour	72 Hours (Vessel No.)	
Control	8.2	10.2	(1)
Solvent Control	8.1	9.9	(1)
5.00 [0.767]	8.1	10.0	(1)
7.10 [1.15]	8.0	9.8	(1)
10.0 [1.62]	8.0	8.5	(1)
14.1 [2.43]	8.0	8.3	(1)
20.0 [4.36]	8.0	8.4	(1)

a : time weighted mean

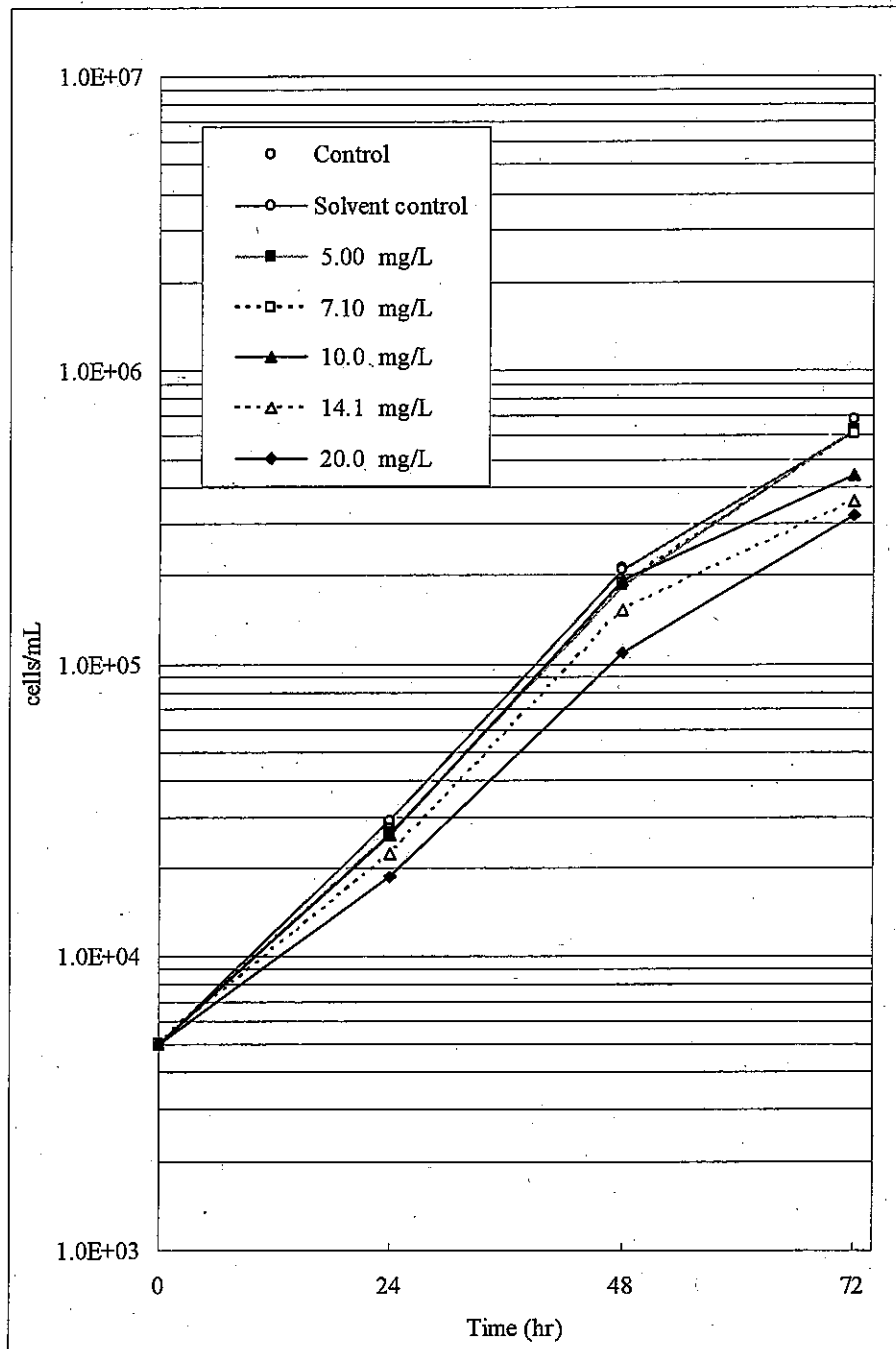
Table 8 Appearance of Test Solutions after Preparation

Nominal Concentration [Mean <sup>a</sup> Measured Conc.] (mg/L)	Suspended solids	Floating solids	Precipitation	Oily Substances	Color
	Control	none	none	none	none
Solvent Control	none	none	none	none	c-
5.00 [0.767]	none	none	none	none	c-
7.10 [1.15]	none	none	none	none	c-
10.0 [1.62]	none	none	none	none	c-
14.1 [2.43]	none	none	none	none	c-
20.0 [4.36]	none	none	none	none	c-

a : time weighted mean

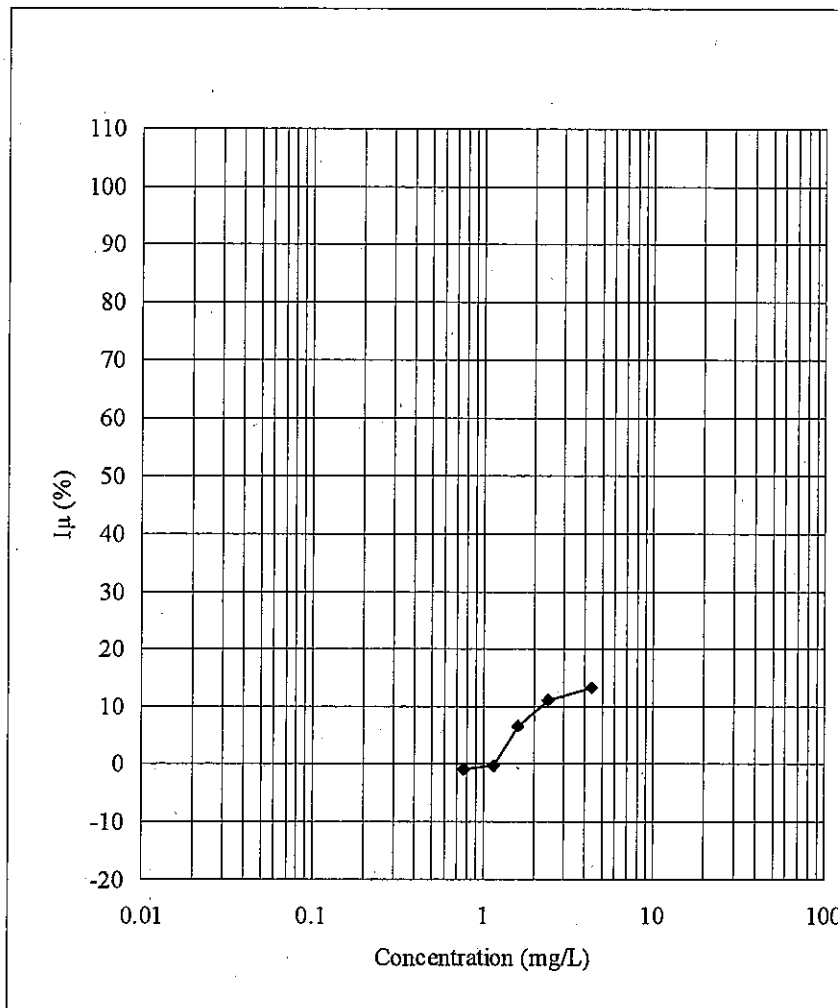
c- : colorless

Figure 1 Algal Growth Curve of *Pseudokirchneriella subcapitata*  
(Mean cell counts 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



4. ミジノコ急性遊泳阻害試験

試験方法および結果の要約

供試生物	和名 : オオミジノコ 学名 : <i>Daphnia magna</i> 入手先 : 国立環境研究所 感受性 : 重クロム酸カリウムの48時間半数遊泳阻害濃度 平均値±標準偏差=0.75±0.14mg/L, n=16
試験方法	「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, ミジノ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, 最終改正:平成17年4月1日）
試験条件	暴露方式: 半止水式 (24時間後に試験液の全量を交換) 試験容器: 共栓付き100 mL容ガラス三角フラスコ (被験物質の著しい揮散が考えられるため, 試験容器を試験液で満たし(130 mL), 共栓で蓋をして空隙をほぼなくした) 連数 : 4容器/試験区 飼育水 : Elendt M4 溶液 (希釈水) 試験液量: 130mL/容器 暴露期間: 48時間 生物数 : 20頭/試験区 (5頭/容器) 照明 : 室内光, 16時間明(800 lux以下)/8時間暗 給餌 : 無し 温度 : 20±1 °C                                  測定値 : 19.9 °C D O : 飽和の60%以上                      測定値 : 8.3~ 8.8 mg/L p H : 6.0~9.0                                  測定値 : 8.0~ 8.4 硬度 : 250 mg/L以下 CaCO <sub>3</sub> 換算 (希釈水)
助剤の種類と濃度	使用せず
試験濃度	対照区, 0.500, 1.00, 2.00, 4.00, 8.00 mg/L (公比: 2.0)
結果および考察	mg/L (95%信頼区間) 24時間 半数遊泳阻害濃度 EC50 : 2.57 (1.75~3.30) 0%阻害最高濃度 : 1.75 48時間 半数遊泳阻害濃度 EC50 : 2.31 (2.02~2.67) 0%阻害最高濃度 : 0.945
統計的手法	24時間 EC50 : Binomial法, 48時間 EC50 : Probit法
特記事項	被験物質の希釈水に対する溶解度 18 mg/L (当社測定値) 各試験液濃度の設定値に対する割合は, 試験液調製時において82~99%, その24時間後において80~93%であった。

Table 1 Measured Concentration of the Test Substance in Test Water  
(Semi-Static Condition)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L) (Percent of Nominal, %)				Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L) (Percent of Nominal, %)
	0 Hour New	24 Hours Old	24 Hours New	48 Hours Old	
Control	< 0.002*	< 0.002*	< 0.002*	< 0.002*	--
0.500	0.496 (99)	0.466 (93)	0.491 (98)	0.465 (93)	0.479 (96)
1.00	0.981 (98)	0.933 (93)	0.937 (94)	0.931 (93)	0.945 (95)
2.00	1.83 (92)	1.70 (85)	1.76 (88)	1.71 (86)	1.75 (88)
4.00	3.47 (87)	3.23 (81)	3.33 (83)	3.19 (80)	3.30 (83)
8.00	6.76 (85)	6.46 (81)	6.54 (82)	6.53 (82)	6.57 (82)

a: time weighted mean

New: freshly prepared test solutions

Old: test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

\*: detection limit under the test conditions

Table 2 The Number of Immobilized *Daphnia magna* (Percent Immobility)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Cumulative Number of Immobilized <i>Daphnia</i> (Percent Immobility)	
		24 Hours	48 Hours
Control	--	0 ( 0)	0 ( 0)
0.500	0.479	0 ( 0)	0 ( 0)
1.00	0.945	0 ( 0)	0 ( 0)
2.00	1.75	0 ( 0)	2 ( 10)
4.00	3.30	18 ( 90)	19 ( 95)
8.00	6.57	20 (100)	20 (100)

a: time weighted mean

Table 3 Calculated EC50 Values

Exposure Period (Hours)	EC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	2.57	1.75 - 3.30	Binomial <sup>*1</sup>
48	2.31	2.02 - 2.67	Probit <sup>*1</sup>

\*1: Using the concentrations of 0.479 - 6.57 mg/L

Table 4 Highest Concentration in 0% Immobility and Lowest Concentration in 100% Immobility

Exposure Period (Hours)	Highest Concentration in 0% Immobility (mg/L)	Lowest Concentration in 100% Immobility (mg/L)
24	1.75	6.57
48	0.945	6.57



Table 5 Appearance of Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Appearance of Test Solutions			
		0 Hour New	24 Hours Old	24 Hours New	48 Hours Old
Control	--	C-	C-	C-	C-
0.500	0.479	C-	C-	C-	C-
1.00	0.945	C-	C-	C-	C-
2.00	1.75	C-	C-	C-	C-
4.00	3.30	C-	C-	C-	C-
8.00	6.57	C-	C-	C-	C-

a: time weighted mean

New: freshly prepared test solutions

Old: test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

Color:

C-; colorless

Table 6 Temperature of Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Temperature (°C)			
		0 Hour New	24 Hours Old	24 Hours New	48 Hours Old
Control	--	19.9	19.9	19.9	19.9
0.500	0.479	19.9	19.9	19.9	19.9
1.00	0.945	19.9	19.9	19.9	19.9
2.00	1.75	19.9	19.9	19.9	19.9
4.00	3.30	19.9	19.9	19.9	19.9
8.00	6.57	19.9	19.9	19.9	19.9

a: time weighted mean

New: freshly prepared test solutions

Old: test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

Table 7 Dissolved Oxygen Concentrations in Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration (mg/L)			
		0 Hour New	24 Hours Old	24 Hours New	48 Hours Old
Control	--	8.8	8.5	8.6	8.4
0.500	0.479	8.8	8.5	8.6	8.6
1.00	0.945	8.8	8.5	8.5	8.6
2.00	1.75	8.7	8.5	8.5	8.6
4.00	3.30	8.6	8.4	8.4	8.6
8.00	6.57	8.4	8.3	8.3	8.4

a: time weighted mean

New: freshly prepared test solutions

Old: test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

Table 8 pH Values of Test Solutions

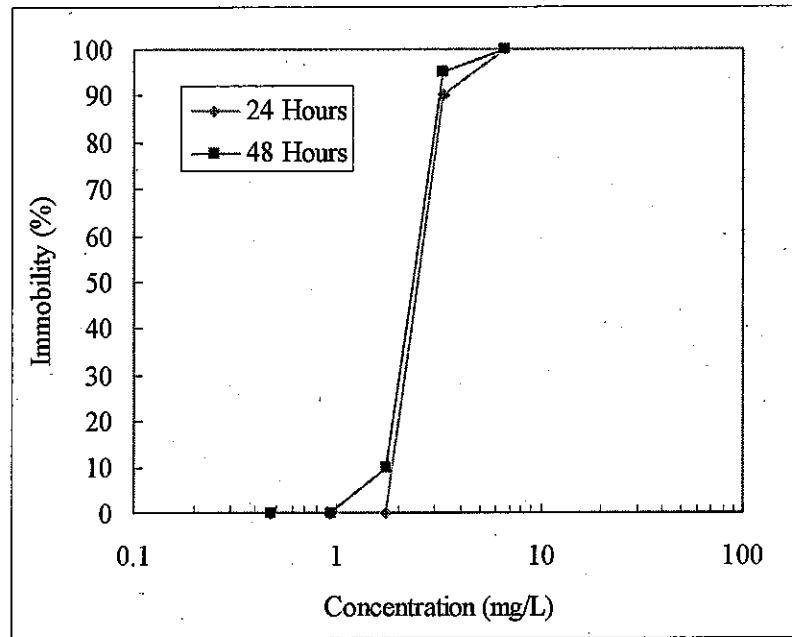
Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	pH			
		0 Hour New	24 Hours Old	24 Hours New	48 Hours Old
Control	--	8.4	8.3	8.3	8.3
0.500	0.479	8.3	8.2	8.2	8.2
1.00	0.945	8.3	8.2	8.1	8.2
2.00	1.75	8.3	8.2	8.0	8.2
4.00	3.30	8.3	8.2	8.1	8.2
8.00	6.57	8.3	8.3	8.1	8.2

a: time weighted mean

New: freshly prepared test solutions

Old: test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

Figure 1 Concentration-Immobilization Curve



5. 魚類急性毒性試験

試験方法および結果の要約

供試生物	和名 : ヒメダカ 学名 : <i>Oryzias latipes</i> 入手先 : 綱島フィッシング (神奈川県横浜市港北区綱島西五丁目18番1号) 感受性 : 硫酸銅 (II) の96時間半数致死濃度 LC50 : 0.77 mg/L (95%信頼区間 : 0.58~1.0 mg/L)								
試験方法	「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, 環境企発第031121002号, 最終改正:平成17年4月1日)								
試験条件	<p>暴露方式 : 半止水式 (24時間毎換水)</p> <p>試験容器 : 5.0 L容ガラス製水槽 (テフロンシートで水面被覆)</p> <p>連数 : 1 容器/試験区</p> <p>飼育水 : 脱塩素水道水 (希釈水)</p> <p>試験液量 : 5.0 L/容器</p> <p>暴露期間 : 96時間</p> <p>生物数 : 10尾/試験区</p> <p>照明 : 室内光, 16時間明 (1000 lux以下)/8時間暗</p> <p>給餌 : 無し</p> <table border="1"> <tr> <td>温度 : 24±1 °C</td> <td>測定値 : 23.6~23.9 °C</td> </tr> <tr> <td>D O : 飽和の60%以上</td> <td>測定値 : 6.6~ 8.4 mg/L</td> </tr> <tr> <td>p H : 6.5~8.5</td> <td>測定値 : 7.1~ 7.6</td> </tr> <tr> <td>硬度 : 30~100 mg/L CaCO<sub>3</sub>換算</td> <td>測定値 : 49 mg/L (希釈水)</td> </tr> </table>	温度 : 24±1 °C	測定値 : 23.6~23.9 °C	D O : 飽和の60%以上	測定値 : 6.6~ 8.4 mg/L	p H : 6.5~8.5	測定値 : 7.1~ 7.6	硬度 : 30~100 mg/L CaCO <sub>3</sub> 換算	測定値 : 49 mg/L (希釈水)
温度 : 24±1 °C	測定値 : 23.6~23.9 °C								
D O : 飽和の60%以上	測定値 : 6.6~ 8.4 mg/L								
p H : 6.5~8.5	測定値 : 7.1~ 7.6								
硬度 : 30~100 mg/L CaCO <sub>3</sub> 換算	測定値 : 49 mg/L (希釈水)								
助剤の種類と濃度	使用せず								
試験濃度	対照区, 1.00, 1.80, 3.20, 5.60, 10.0 mg/L (公比 : 1.8)								
結果および考察	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>mg/L (95%信頼区間)</td> </tr> <tr> <td>96時間</td> <td>半数致死濃度 (LC50) : 6.82 (4.76~9.78)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>0%死亡最高濃度 : 4.76</td> </tr> <tr> <td></td> <td>100%死亡最低濃度 : 9.78</td> </tr> </table>		mg/L (95%信頼区間)	96時間	半数致死濃度 (LC50) : 6.82 (4.76~9.78)		0%死亡最高濃度 : 4.76		100%死亡最低濃度 : 9.78
	mg/L (95%信頼区間)								
96時間	半数致死濃度 (LC50) : 6.82 (4.76~9.78)								
	0%死亡最高濃度 : 4.76								
	100%死亡最低濃度 : 9.78								
統計的手法	LC50 : Binomial法								
特記事項	<p>被験物質の希釈水に対する溶解度 18 mg/L (当社測定値)</p> <p>各試験液濃度の設定値に対する割合は, 試験液調製時において88~106%, 24時間後において75~101%であった。濃度減少の主な原因はヒメダカへの移行 (取り込みや, 体表への吸着) の可能性が考えられる。</p>								

Table 1 Measured Concentration of the Test Substance in Test Water

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration, mg/L (Percent of Nominal)				(Semi-Static Condition) Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)
	0 Hour (new)	24 Hours (old)	24 Hours (new)	48 Hours (old)	
Control	<0.00006	<0.00006	<0.00006	<0.00006	----
1.00	0.925 (93)	0.750 (75)	0.879 (88)	0.822 (82)	0.842 (84)
1.80	1.91 (106)	1.47 (82)	1.77 (98)	1.66 (92)	1.70 (94)
3.20	2.91 (91)	2.55 (80)	2.89 (90)	2.69 (84)	2.76 (86)
5.60	5.06 (90)	4.24 (76)	5.07 (91)	4.69 (84)	4.76 (85)
10.0	10.3 (103)	8.67 (87)	10.1 (101)	10.1 (101)	9.78 (98)

a : time weighted mean

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

The test water for analysis was sampled at two renewal sets of four during 96-hour exposure.

Table 2 Mortality of the Medaka (*Oryzias latipes*) Exposed to the Test Substance

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Cumulative Mortality (Percent Mortality)			
		24 Hours	48 Hours	72 Hours	96 Hours
Control	---	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1.00	0.842	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1.80	1.70	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
3.20	2.76	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
5.60	4.76	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
10.0	9.78	8 (80)	10 (100)	10 (100)	10 (100)

a: time weighted mean



Table 3 Calculated LC50 Values

Exposure Period (Hours)	LC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	7.80*	--	Binomial
48	6.82*	4.76 - 9.78	Binomial
72	6.82*	4.76 - 9.78	Binomial
96	6.82*	4.76 - 9.78	Binomial

--: Could not be determined.

\*: Using the concentrations of 0.842 - 9.78 mg/L

Table 4 Highest Concentration in 0% Mortality and the Lowest Concentration in 100% Mortality

Exposure Period (Hours)	Highest Concentration in 0% Mortality (mg/L)	Lowest Concentration in 100% Mortality (mg/L)
24	4.76	>9.78
48	4.76	9.78
72	4.76	9.78
96	4.76	9.78

Table 5 Observed Toxicological Symptoms

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Symptoms (Symptom-number of fish)			
		24 Hours	48 Hours	72 Hours	96 Hours
Control	---	N	N	N	N
1.00	0.842	N	N	N	N
1.80	1.70	N	N	N	N
3.20	2.76	N	N	N	N
5.60	4.76	ASR-6	ASR-10(SUR-1)	ASR-9(SUR-1) AP-1	ASR-8(SUR-1) ASL-1,AP-1
10.0	9.78	AP-2	--	--	--

a : time weighted mean

N : No toxicological symptom was observed.

ASR: abnormal swimming (reduced activity)

AP: paralyzation

SUR: surfacing

ASL: abnormal swimming (loss of equilibrium)

---: No observation was made because all fish were dead at this observation time.

Table 6 Appearance of Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Appearance of Test Solutions								
		0 Hour	24 Hours		48 Hours		72 Hours		96 Hours	
		new	old	new	old	new	old	new	old	
Control	----	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-
1.00	0.842	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-
1.80	1.70	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-
3.20	2.76	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-
5.60	4.76	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-	C-
10.0	9.78	C-	C-	C-	--	--	--	--	--	--

a : time weighted mean

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

--: No observation was made because all fish were dead at this observation time.

Color

C- : Colorless

Table 7 Temperature of Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Temperature (°C)								
		0 Hour		24 Hours		48 Hours		72 Hours		96 Hours
		new	old	new	old	new	old	new	old	
Control	----	23.6	23.6	23.7	23.8	23.6	23.9	23.7	23.8	
1.00	0.842	23.7	23.7	23.6	23.7	23.8	23.9	23.8	23.8	
1.80	1.70	23.7	23.7	23.6	23.7	23.8	23.9	23.8	23.9	
3.20	2.76	23.7	23.7	23.6	23.7	23.8	23.9	23.9	23.9	
5.60	4.76	23.7	23.7	23.6	23.7	23.8	23.9	23.9	23.9	
10.0	9.78	23.7	23.7	23.7	--	--	--	--	--	

minimum:23.6  
maximum:23.9

a : time weighted mean

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

-- : No measurement was made because all fish were dead at this observation time.

Table 8 Dissolved Oxygen Concentrations in Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration (mg/L)								
		0 Hour		24 Hours		48 Hours		72 Hours		96 Hours
		new	old	new	old	new	old	new	old	
Control	---	8.3	6.7	8.3	6.8	8.3	7.0	8.3	7.0	
1.00	0.842	8.4	6.6	8.3	6.8	8.3	7.0	8.4	7.0	
1.80	1.70	8.4	6.6	8.3	6.7	8.3	6.8	8.3	6.8	
3.20	2.76	8.2	6.8	8.3	6.8	8.3	7.0	8.3	7.0	
5.60	4.76	8.1	6.8	8.1	6.7	8.2	6.8	8.1	6.8	
10.0	9.78	8.2	7.0	7.9	--	--	--	--	--	

minimum:6.6  
maximum:8.4

a : time weighted mean

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

-- : No measurement was made because all fish were dead at this observation time.

Table 9 pH Values of Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	pH								
		0 Hour		24 Hours		48 Hours		72 Hours		96 Hours
		new	old	new	old	new	old	new	old	
Control	----	7.5	7.1	7.5	7.2	7.6	7.3	7.6	7.2	
1.00	0.842	7.6	7.1	7.6	7.1	7.5	7.2	7.6	7.2	
1.80	1.70	7.6	7.1	7.5	7.1	7.5	7.2	7.6	7.2	
3.20	2.76	7.6	7.1	7.5	7.1	7.5	7.2	7.6	7.2	
5.60	4.76	7.6	7.2	7.6	7.1	7.5	7.2	7.5	7.2	
10.0	9.78	7.6	7.2	7.6	--	--	--	--	--	

minimum:7.1  
maximum:7.6

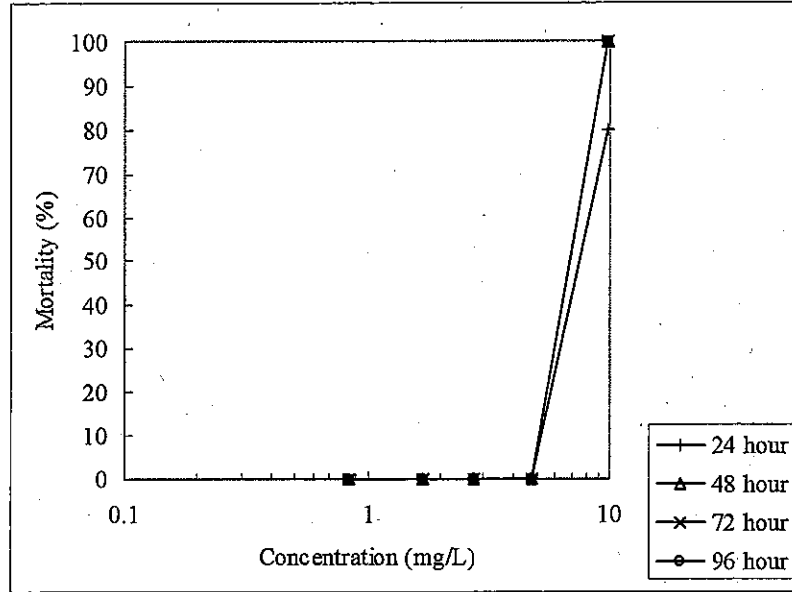
a : time weighted mean

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions on 24 hours after preparation of new solutions

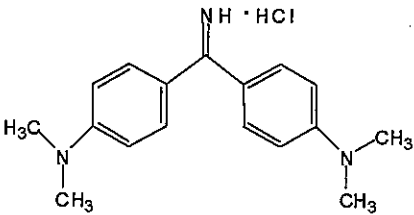
-- : No measurement was made because all fish were dead at this observation time.

Figure 1 Concentration-Mortality Curve



## 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	$1.29 \times 10^{-6}$ mm Hg (25°C)		
対 水 溶 解 度	$1 \times 10^4$ 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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 試験液中に薬体がある場合には遠心により除去する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
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

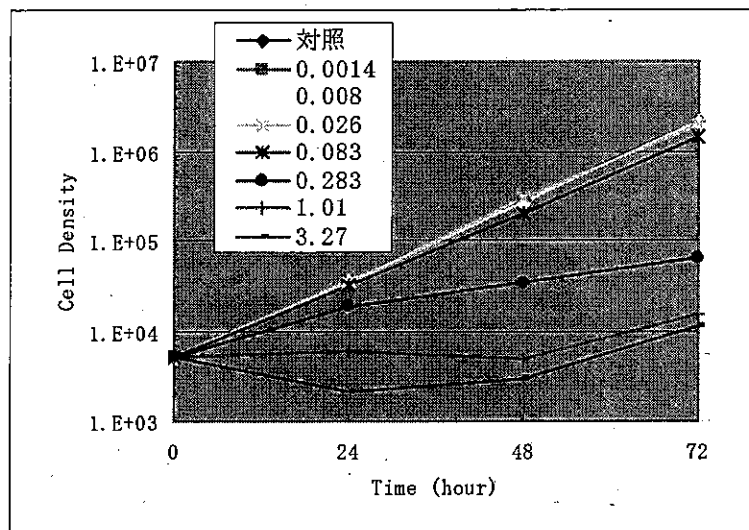
項目		内容	
試験生物	種 (学名・株名)	学名 : <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 株名 : ATCC 22662 株	
	入手先	American Type Culture Collection	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	1.06 mg/L (E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> ) (これまでの値 E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> mean=0.88 mg/L, S.D. = 0.04, n=4) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
前培養	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 <sup>2</sup> /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 <sup>4</sup> 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 <sup>2</sup> /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

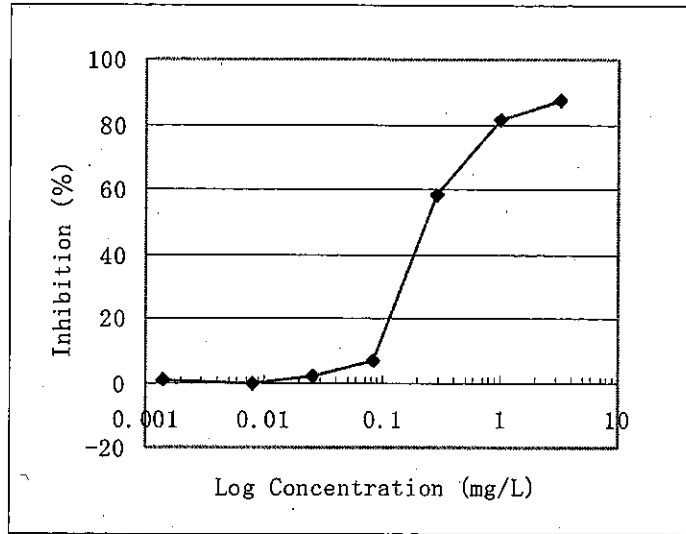
項目	内容
毒性値	$0-72hE_T C_{50} = 0.34 \text{ mg/L}$
	$0-72hE_b C_{50} = 0.093 \text{ mg/L}$
	NOEC (速度法) = 0.026 mg/L
	NOEC (面積法) = 0.026 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の水溶解性が高く、溶解限度については、試験温度における48時間のフラスコ攪拌法により、100 mg/Lが十分に溶解することを目視、ならびにHPLC分析により確認した。</p> <p>試験時は、濃厚な試験原液を調製し、その所定量を試験培地に添加することによ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

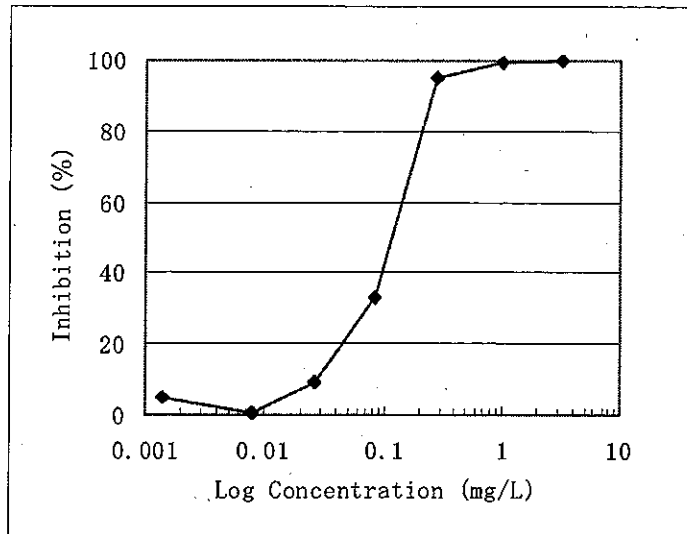
藻類の生長曲線



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	$1.29 \times 10^{-6}$ mm Hg (25°C)		
対水溶解度	$1 \times 10^4$ 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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> </ol>
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

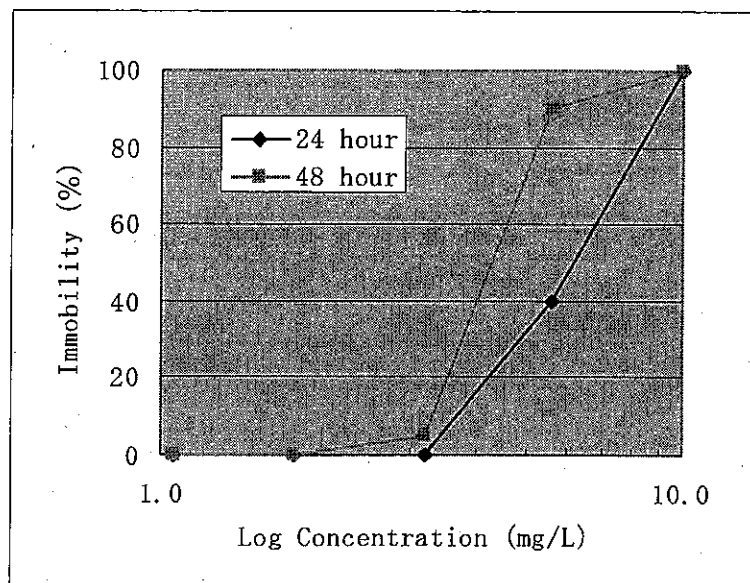
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統・時間齢)	学名 : <i>Daphnia magna</i> 系統 : 当施設で継代飼育 時間齢 : 生後 24 時間以内齢	
	入手先	環境省国立環境研究所	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	1.05 mg/L (これまでの EC <sub>50</sub> mean=0.88 mg/L、S.D.=0.22 mg/L、n=15) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
飼育	飼育水の種類	Elendt M4 人工調製水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	20±1°C、16 時間明/8 時間暗	
試験条件	試験容器		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 <sub>3</sub> 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 <sub>50</sub>	Logit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48hEC <sub>50</sub> = 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

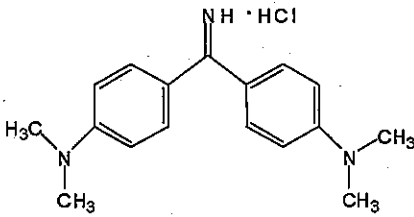
被験物質濃度-遊泳阻害率曲線





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 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	$1.29 \times 10^{-6}$ mm Hg (25°C)		
対 水 溶 解 度	$1 \times 10^4$ 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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> </ol>
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

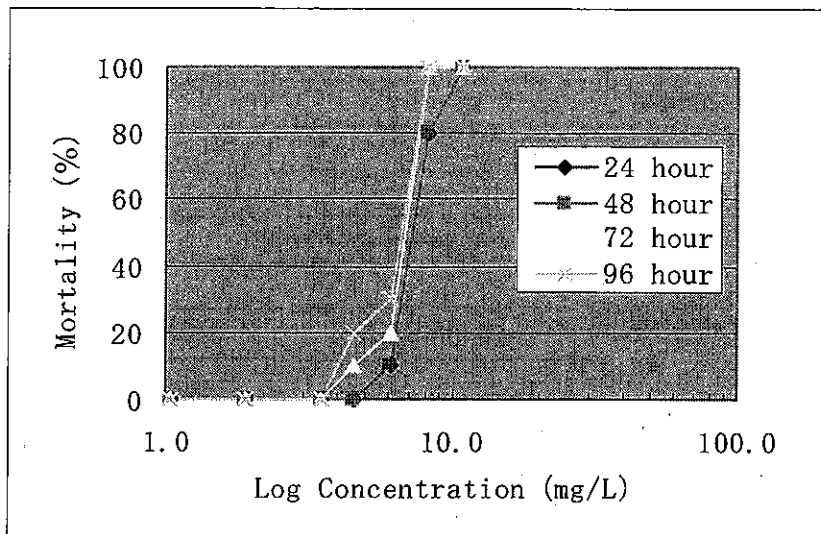
項目		内容	
試験生物	種 (和名・学名・系統)	和名：ヒメダカ 学名：Oryzias latipes	
	入手先	三協ラボサービスから入手したものを自家繁殖	
	対照物質への感受性 (LC <sub>50</sub> )、 (対照物質名)	0.33 mg/L (無水物換算) (これまでの LC <sub>50</sub> mean=0.31 mg/L, S. D. =0.11 mg/L, n=21) 硫酸銅 (II) 五水和物、試薬特級	
じゅん化	じゅん化期間	2005年11月8日～2006年1月30日	
	飼育水の種類	脱塩素水	
	じゅん化前の薬浴の有無	無	
	環境条件 (水温、明暗周期)	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 <sub>3</sub> 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 <sub>50</sub>	Probit法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	96hLC <sub>50</sub> = 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>

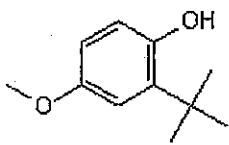
5. 魚類の濃度－死亡率曲線

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)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[コンディショニング] --&gt; B[分析試料又は 回収率算出用試料 20 mL]     C[←アセトニトリル 約5 mL ←純水 約5 mL] --&gt; B     B --&gt; D[エムポアディスクカートリッジ C18HD(10 mm/6 mL)]     D --&gt; E[吸引添加(-0.4100 × kPa)]     E --&gt; F[溶出 ←アセトニトリル 0.9 mL]     F --&gt; G[定容 ←アセトニトリルで1 mLに定容]     G --&gt; H[500 µL分取 ←純水 500 µL]     H --&gt; I[混和]     I --&gt; J[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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 <sup>4</sup> 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	

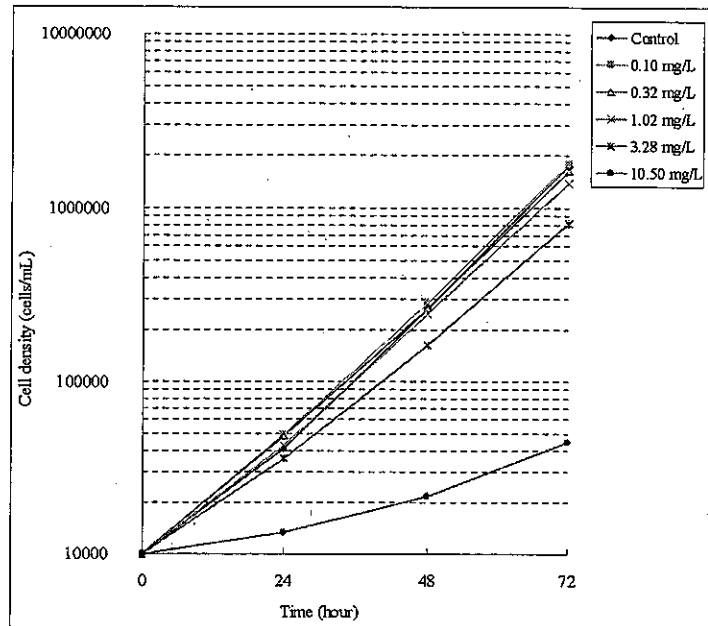


#### 4. 試験結果及び考察

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"> <li>・ 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。</li> <li>・ 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。</li> <li>・ 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。</li> <li>・ 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。</li> <li>・ 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。</li> </ul>

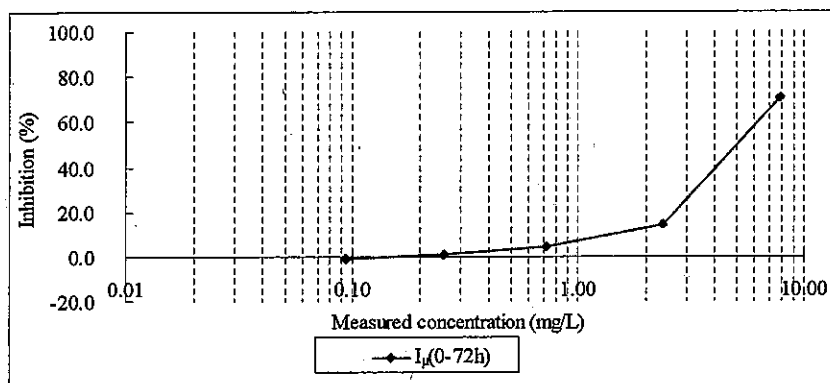
5. 藻類の生長曲線及び濃度－生長阻害率曲線

・生長曲線

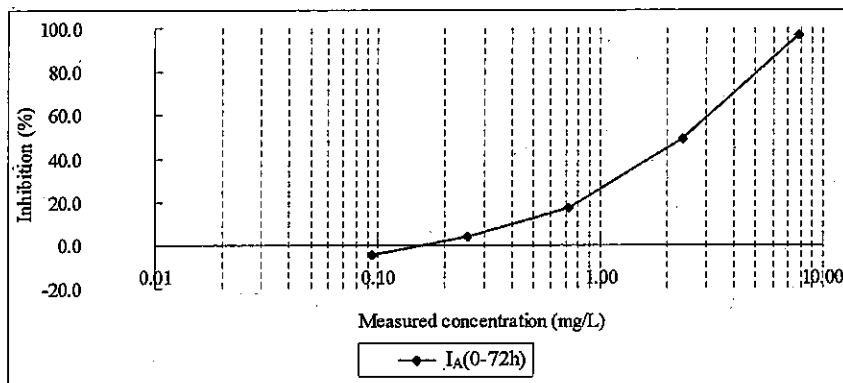


濃度—生長阻害率曲線

• 速度法

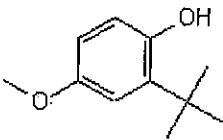


• 面積法



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

3. 試験材料及び方法

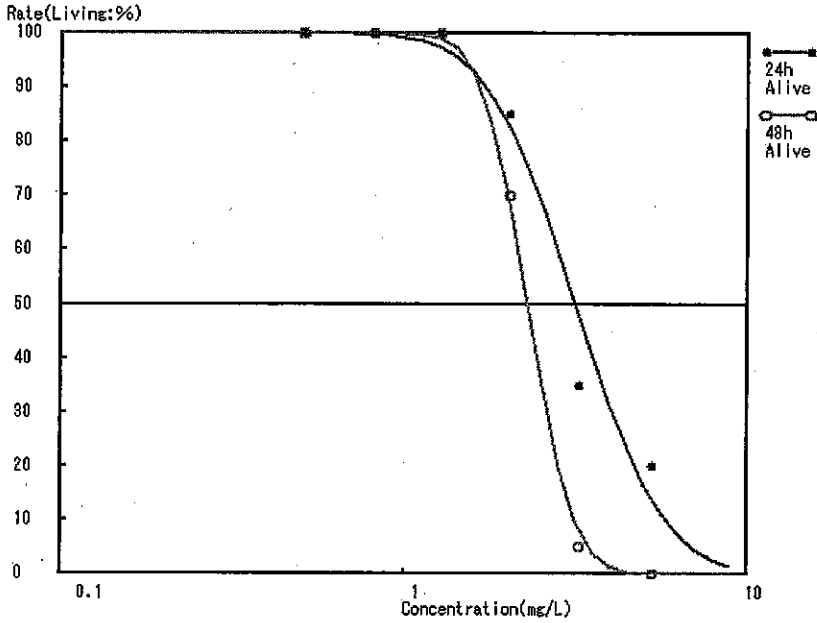
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統、時間齢)	学名： オオミジンコ ( <i>Daphnia magna</i> ) 系統： — 時間齢： 24 時間以内	
	入手先	名称： (旧)国立環境研究所 所在地： 茨城県つくば市小野川 16-2	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	48 時間 EC <sub>50</sub> : 0.28 mg/L 対照物質名： ニクロム酸カリウム	
飼育	飼育水の種類	脱塩素水道水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	水温： 20.0±1.0°C 明暗周期： 16 時間明 / 8 時間暗 (室内光)	
試験条件	試験容器	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 <sub>50</sub>	Probit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48時間 EC <sub>50</sub> 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"> <li>・ 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(EC<sub>50</sub>)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。</li> <li>・ 半数遊泳阻害濃度(EC<sub>50</sub>)                              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(EC<sub>50</sub>)を算出すると、24及び48時間EC<sub>50</sub>値は3.16及び2.28 mg/Lとなった(すべて測定濃度で記載)。</li> <li>・ 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&gt;5.30及び5.30 mg/Lであった(測定濃度)。</li> <li>・ 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</li> </ul>

	<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

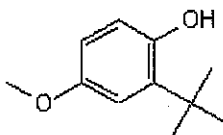


“Number of immobility (%)” indicated as “Rate”.  
 “Measured concentration” indicated as “Concentration (mg/L)”.  
 Dose-response curve for EC50 (Probit method)



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(OC)cc1O</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 <math>\mu</math>L にアセトニトリル 300 <math>\mu</math>L 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 <math>\mu</math>L                             ←アセトニトリル 300 <math>\mu</math>L                         混合                         HPLC 分析試料  25 <math>\mu</math>L           </pre>
定量条件	<ul style="list-style-type: none"> <li>・使用分析機器               <ul style="list-style-type: none"> <li>HPLC : LC-10A システム</li> <li>ポンプ : LC-10AD</li> <li>システムコントローラー : SCL-10A</li> <li>オートサンプラー : SIL-10A</li> <li>カラムオープン : CTO-10AC</li> <li>検出器 (UV/VIS) : SPD-10A</li> <li>データ処理装置 : C-R7A plus</li> </ul> </li> <li>・測定条件               <ul style="list-style-type: none"> <li>カラム : Inertsil ODS-3 (4.6 mm I.D. <math>\times</math> 150 mm, 5<math>\mu</math>m) (GLサイエンス)</li> <li>移動相 : アセトニトリル/純水 = 6 : 4 (v/v)</li> <li>流速 : 1.0 mL/min.</li> <li>カラム温度 : 25<math>^{\circ}</math>C</li> <li>サンプル設定温度 : 25<math>^{\circ}</math>C</li> <li>検出波長(UV) : 230 nm</li> <li>試料注入量 : 25 <math>\mu</math>L</li> </ul> </li> </ul>

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		—	

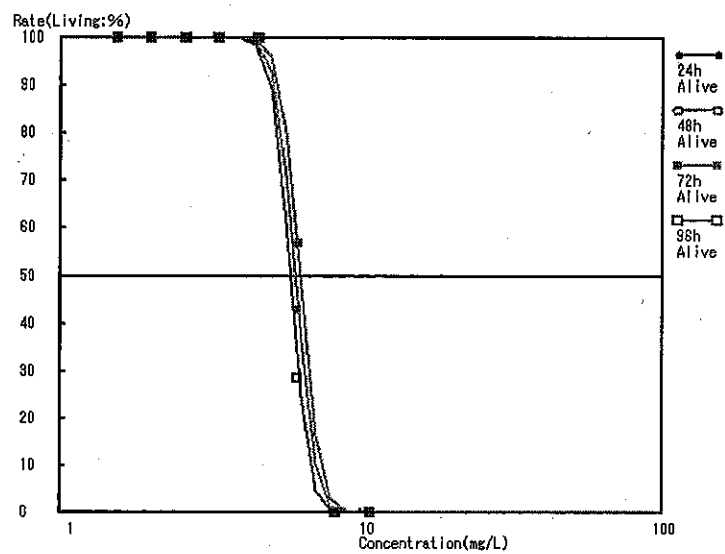
	試験方式（止水、半止水、流水等）	半止水
	換水又は流水条件	48 時間換水
	水温	24 ± 2°C
	溶存酸素濃度（DO）	飽和酸素濃度の 60%（5.0 mg/L）以上
	明暗周期	16 時間明、8 時間暗（室内光）
結果の算出方法	LC50	Probit 法

#### 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"> <li>・ 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。</li> <li>・ 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。</li> <li>・ 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</li> </ul>

	<p>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。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 試験水の水温、pH、溶存酸素濃度       <p>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 <math>24 \pm 2^\circ\text{C}</math> の範囲内であった。</p> <p>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。</p> <p>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。</p> </li> <li>・ 供試魚の全長及び体重       <p>実験開始時における供試魚(n=7)の全長は平均値で <math>2.4 \pm 0.1</math> cm であった。</p> <p>また、魚体重の平均値(n=7)は <math>0.12 \pm 0.01</math> 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。</p> </li> </ul>
--	--

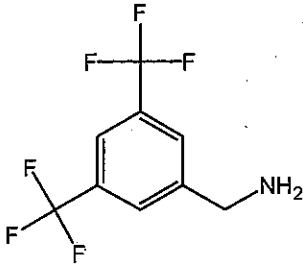
5. 魚類の濃度-死亡率曲線



Dose-response curve for LC50 (Measured concentration)

## 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"> <li>1. 定量条件でHPLCを作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験液分析の前処理:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 試験液中に藻体がある場合には遠心により除去する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
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

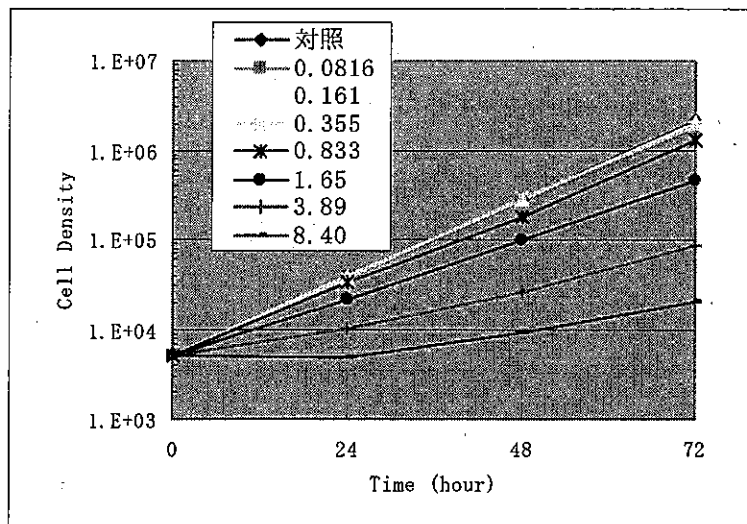
項目		内容	
試験生物	種 (学名・株名)	学名: <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 株名: ATCC 22662 株	
	入手先	American Type Culture Collection	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	1.06 mg/L (E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> ) (これまでの値 E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> mean=0.88 mg/L, S.D.=0.04 mg/L, n=4) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
前培養	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 <sup>2</sup> /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 <sup>4</sup> 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 <sup>2</sup> /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

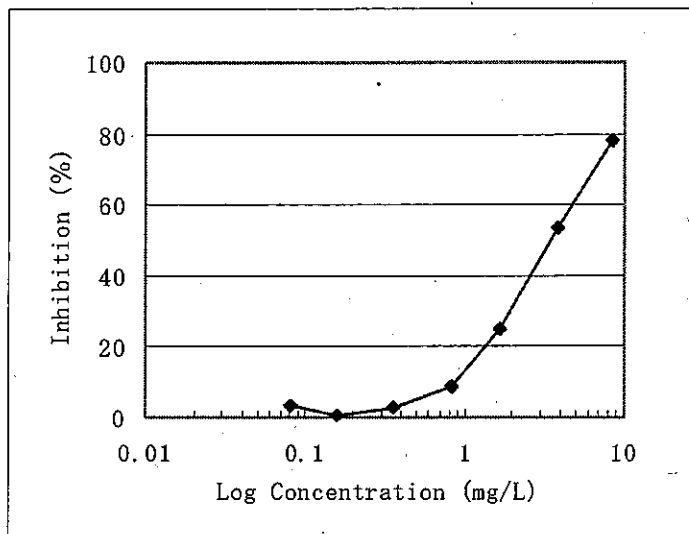
項目	内容
毒性値	0-72hE <sub>r</sub> C <sub>50</sub> = 3.6 mg/L
	0-72hE <sub>b</sub> C <sub>50</sub> = 0.98 mg/L
	NOEC (速度法) = 0.36 mg/L
	NOEC (面積法) = 0.36 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の水溶解性が高く、溶解限度については、試験温度における48時間のフラスコ攪拌法により、100 mg/Lが十分に溶解することを目視、ならびにHPLC分析により確認した。</p> <p>試験時は、濃厚な試験原液を調製し、その所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

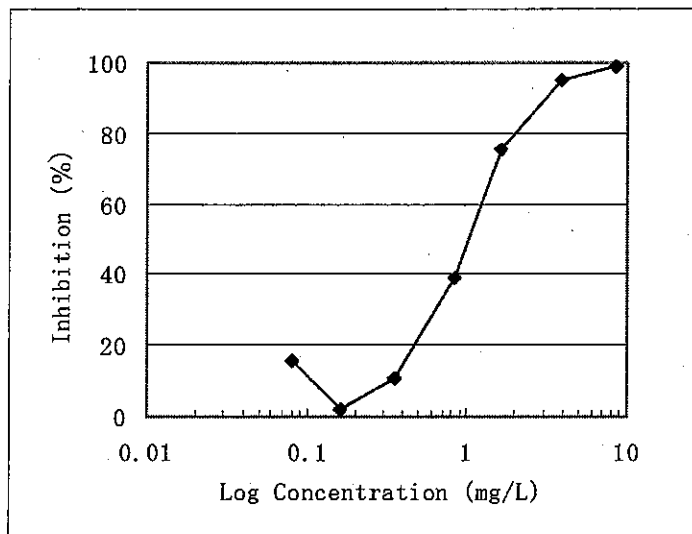
藻類の生長曲線



被験物質濃度－生長阻害率曲線（速度法）

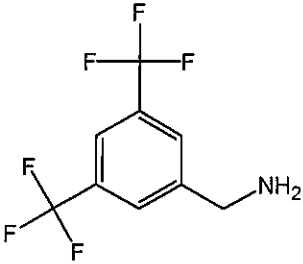


被験物質濃度－生長阻害率曲線（面積法）



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)	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"> <li>1. 定量条件でHPLCを作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験液分析の前処理:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> </ol>
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

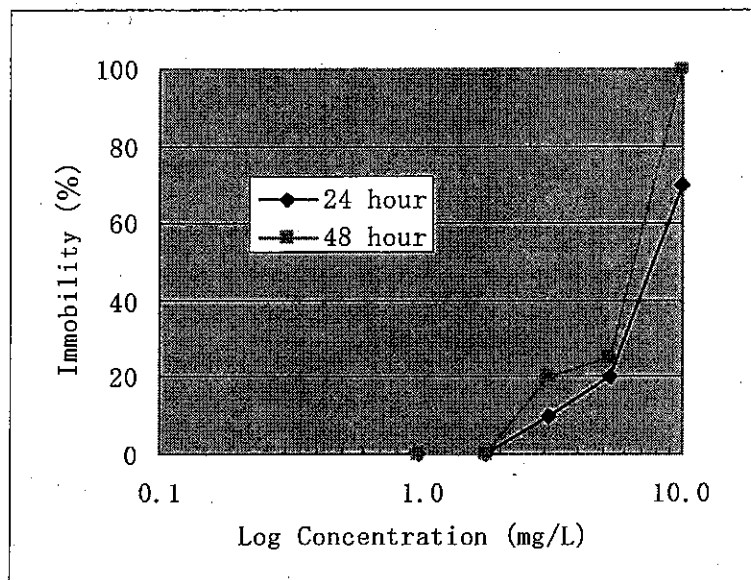
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統・時間齢)	学名 : <i>Daphnia magna</i> 系統 : 当施設で継代飼育 時間齢 : 生後 24 時間以内齢	
	入手先	環境省国立環境研究所	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	1.05 mg/L (これまでの EC <sub>50</sub> mean=0.88 mg/L, S.D.=0.22 mg/L, n=15) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
飼育	飼育水の種類	Elendt M4 人工調製水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	20±1℃、16 時間明/8 時間暗	
試験条件	試験容器	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 <sub>3</sub> 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 <sub>50</sub>	Probit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48hEC <sub>50</sub> = 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>

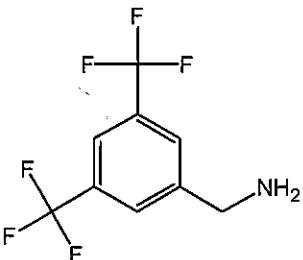
5. ミジンコの濃度-遊泳阻害率曲線

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"> <li>1. 定量条件でHPLCを作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験液分析の前処理:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> </ol>
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

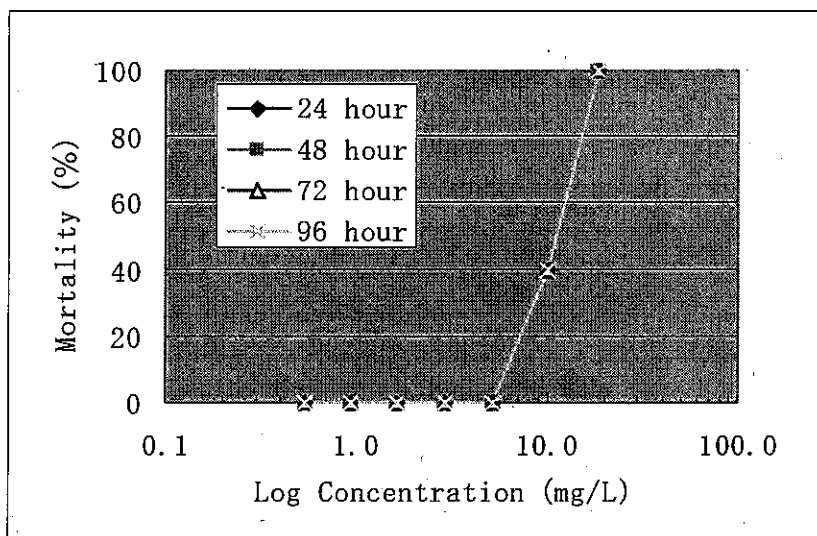
項目		内容	
試験生物	種 (和名・学名・系統)	和名:ヒメダカ 学名: <i>Oryzias latipes</i>	
	入手先	三協ラボサービスから入手したものを自家繁殖	
	対照物質への感受性 (LC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	0.33 mg/L (無水物換算) (これまでの LC <sub>50</sub> mean=0.31 mg/L, S. D. =0.11 mg/L, n=21) 硫酸銅 (II) 五水和物、試薬特級	
じゅん化	じゅん化期間	2005年11月8日~2006年1月23日	
	飼育水の種類	脱塩素水	
	じゅん化前の葉浴の有無	無	
	環境条件 (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 <sub>3</sub> 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 <sub>50</sub>	Probit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	96hLC <sub>50</sub> = 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>

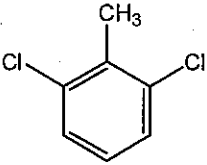
5. 魚類の濃度-死亡率曲線

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 <sup>3</sup> /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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
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>

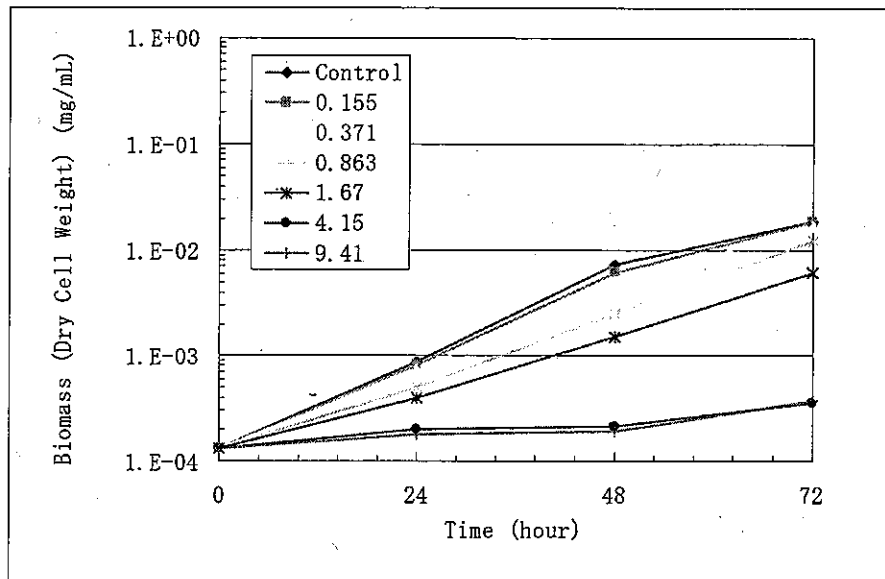
3. 試験材料及び方法

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 <sub>50</sub> ) (対照物質名)	2.43 mg/L (これまでの値 E <sub>x</sub> C <sub>50</sub> 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 <sup>2</sup> /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 <sup>4</sup> 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 <sup>2</sup> /s・連続照射	
結果の算出 方法	速度法	Logit 法	

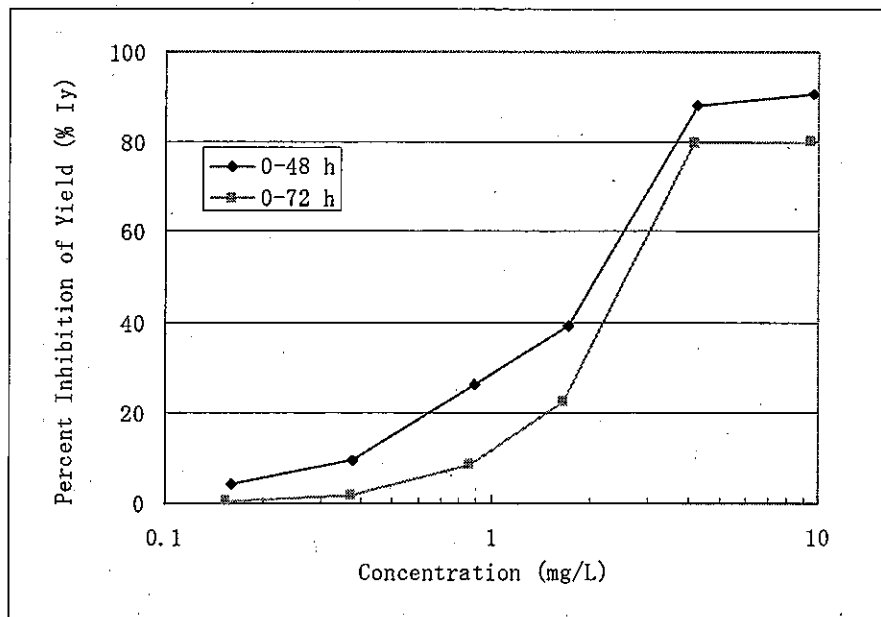
4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	0-48hE <sub>r</sub> C <sub>50</sub> = 1.8 mg/L
	0-72hE <sub>r</sub> C <sub>50</sub> = 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



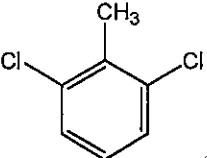
被験物質濃度－生長阻害率曲線 (速度法)





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 <sup>3</sup> /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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
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

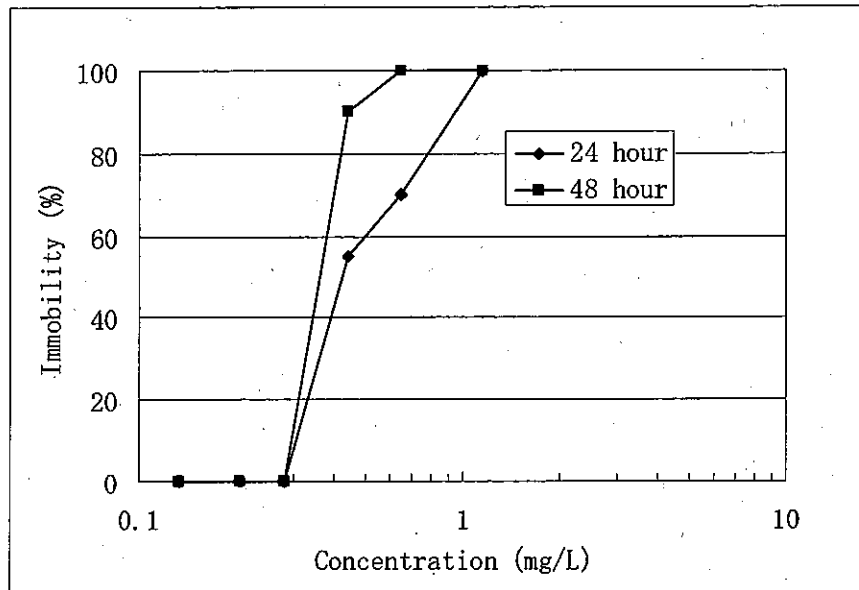
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統・時間齢)	学名: <i>Daphnia magna</i> 系統: 当施設で継代飼育 時間齢: 生後 24 時間以内齢	
	入手先	環境省国立環境研究所	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	0.71 mg/L (これまでの EC <sub>50</sub> mean=0.88 mg/L, S. D. =0.21 mg/L, n=17) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
飼育	飼育水の種類	Elendt M4 人工調製水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	20±1℃、16 時間明/8 時間暗	
試験条件	試験容器	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 <sub>3</sub> 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 <sub>50</sub>	Logit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48hEC <sub>50</sub> = 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>

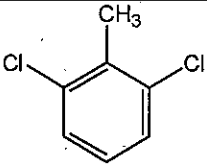
5. ミジシコノ濃度-遊泳阻害率曲線

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 <sup>3</sup> /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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
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 <sub>50</sub> ) (対照物質名)	0.23 mg/L (無水物換算) (これまでの LC <sub>50</sub> 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 <sub>3</sub> 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 <sub>50</sub>	Logit 法	

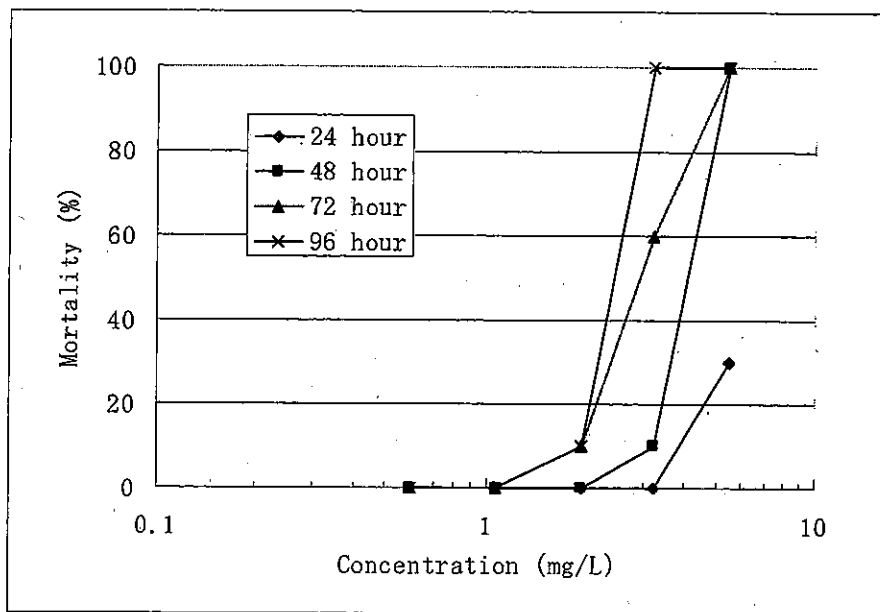


4. 試験結果及び考察

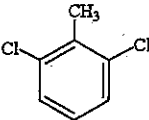
項目	内容
毒性値	96hLC <sub>50</sub> = 2.3 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の対水溶解度が 18.5 mg/L(25°C)であることから、100 mg/L 調製液を作製し、試験温度におけるフラスコ攪拌法による測定の結果、試験用水に対する被験物質の溶解度は 23.4 mg/L と判断した。</p> <p>暴露試験時には、この溶解度以下の濃度で試験原液の調製を行った。予備的な検討より被験物質の揮散による減少が著しいことが判明していたことから、密閉系における 24 時間換水の条件で試験を行った。試験時には、この溶解度以下の濃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**

<b>CAS No.</b>	118-69-4
<b>Chemical Name</b>	2,6-Dichlorotoluene
<b>Structural formula</b>	
<b><u>CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS</u></b>	
<p><b><u>Environment</u></b></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><b><u>Human health</u></b></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>	
<b><u>SHORT SUMMARY WHICH SUPPORTS THE REASONS FOR THE CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS</u></b>	
<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<sub>local</sub>) of the chemical was estimated as <math>7.3 \times 10^{-6}</math> 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  $2.43 \times 10^{-7}$  mg/kg/day and  $9.07 \times 10^{-6}$  mg/kg/day, respectively, based on  $PEC_{local}$  of  $7.30 \times 10^{-6}$  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  $1.23 \times 10^8$  or  $3.31 \times 10^6$ . 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
<b>PHYSICAL-CHEMICAL</b>				
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			
<b>ENVIRONMENTAL FATE AND PATHWAY</b>				
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
<b>ECOTOXICOLOGY</b>				
4.1	Acute/Prolonged Toxicity to Fish	<i>Oryzias latipes</i>	OECD TG 203	LC <sub>50</sub> (48hr)= 7.9 mg/l LC <sub>50</sub> (72hr)= 6.4 mg/l LC <sub>50</sub> (96hr)= 6.4 mg/l
4.2	Acute Toxicity to Aquatic Invertebrates <i>Daphnia</i>	<i>Daphnia magna</i>	OECD TG 202	EC <sub>50</sub> (48hr): 1.8 mg/l
4.3	Toxicity to Aquatic Plants e.g. Algae	<i>Selenastrum capricornutum</i>	OECD TG 201	EC <sub>50</sub> (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 <sub>50</sub> (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  $3.4 \times 10^{10}$  L/year of effluent into a bay in 1994. Local Predicted Environmental Concentration (PEC<sub>local</sub>) is calculated to be  $7.3 \times 10^{-6}$  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

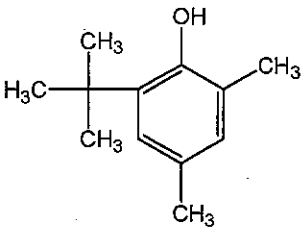
### 3.3 Initial Assessment for the Environment

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

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

## 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)	6-tert-ブチル-2,4-キシレノール		
別名			
C A S 番号	1879-09-0		
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	178.28		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.1 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	AGM01		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸気圧	0.0448 mmHg (25°C)		
対水溶解度	29.6 mg/L (25°C)		
ヘンリー定数	$1.76 \times 10^{-6} \text{ atm} \cdot \text{m}^3/\text{mole}$		
pKa 解離定数	12 (20°C)		
1-オクタノール/水分配係数	4.52		
融点	22.3°C		
沸点	249°C		
常温における性状	淡黄色透明液体		
安定性	通常の実験条件においては安定		
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>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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
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-6200型 日立製作所) UV検出器 (L-4200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 (65/35)            流量 : 1.0 mL/min            検出波長 : UV 220 nm            注入量 : 50 μL</p>

3. 試験材料及び方法

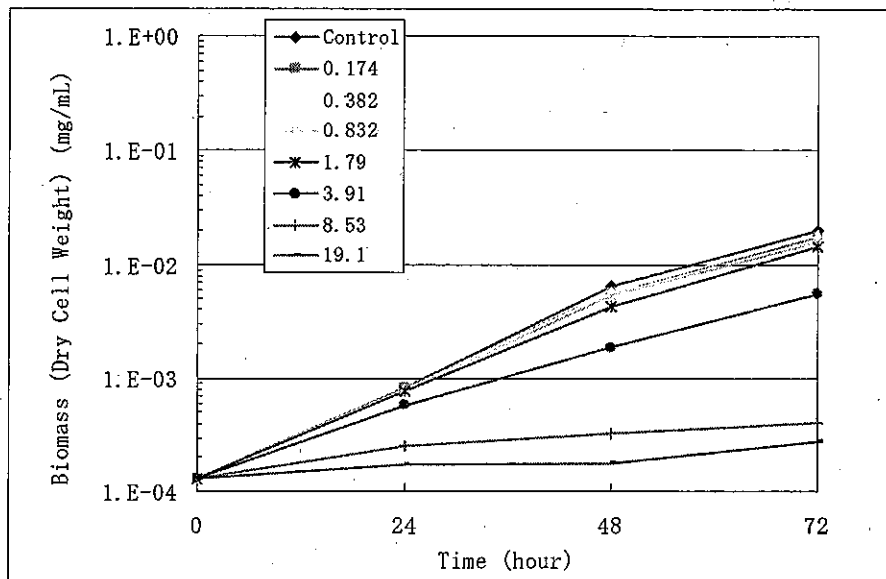
項目		内容	
試験生物	種 (学名・株名)	学名 : <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 株名 : ATCC 22662 株	
	入手先	American Type Culture Collection	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	2.43 mg/L (これまでの値 E <sub>1</sub> C <sub>50</sub> 2.40, 2.38 mg/L、n=2) であった。 3, 5-ジクロロフェノール, 試薬特級	
前培養	前培養の期間	2007年2月24日～2007年2月27日	
	培地名	OECD 培地	
	環境条件 (温度、光強度)	23±2℃、60～120 μE/m <sup>2</sup> /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 (ヘッドスペース:250 mL)	
	培地名	OECD 培地	
	暴露期間	2007年2月27日～2007年3月2日	
	試験濃度 (設定値)	対照区, 0.20, 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 <sup>4</sup> 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 : 22.6 ~ 22.8 °C		
照明 (光強度・時間等)	平均 69 (65~81) μE/m <sup>2</sup> /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

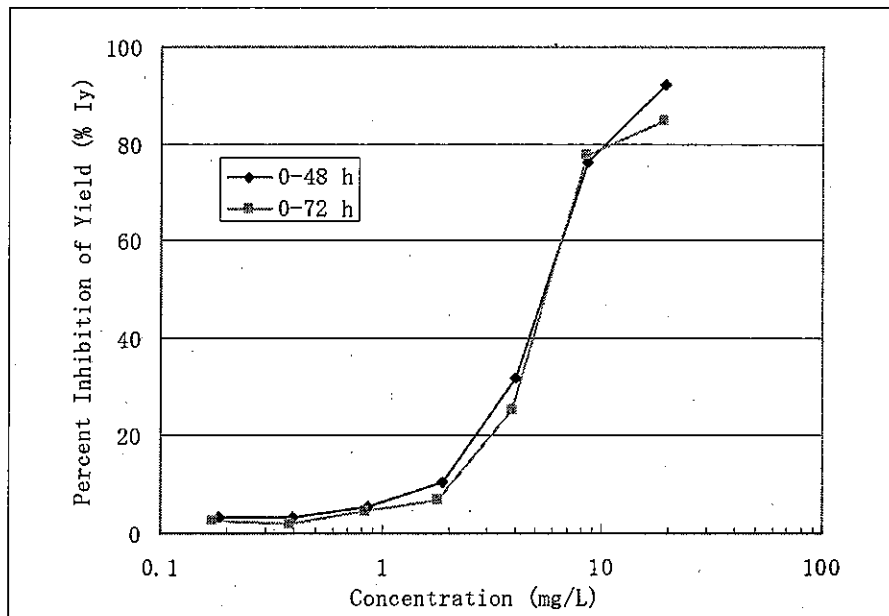
項目	内容
毒性値	0-48hE <sub>r</sub> C <sub>50</sub> = 5.4 mg/L
	0-72hE <sub>r</sub> C <sub>50</sub> = 6.0 mg/L
	NOEC (Rate 0-48) = 0.40 mg/L
	NOEC (Rate 0-72) = 0.38 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の対水溶解度が 29.6 mg/L(25℃)であることから、実験開始前に、フラスコ攪拌法により被験物質の試験培地に対する溶解度を調べたが、培地に分散状態となり分離が困難で(文献値の融点 22.3℃よりも低い 15℃において操作した場合も同等)、適切な溶解度は測定できなかった。試験時には、文献値の 29.6 mg/L(25℃)を基に、この溶解度以下で試験原液の調製を行い、被験物質の揮散による減少があることから密閉系とした。</p> <p>暴露期間中の被験物質濃度の変動は、揮散による減少の可能性もあったものの、分析誤差の範囲と考えられたため、暴露開始時と 48 時間目、および暴露開始時と暴露終了時の算術平均値を求め各影響濃度を算出した。</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. 藻類生長曲線及び濃度-生長阻害率曲線

藻類の生長曲線

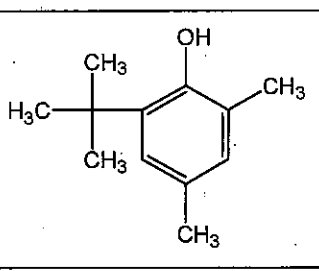


被験物質濃度-生長阻害率曲線 (速度法)



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)	6-tert-ブチル-2,4-キシレノール		
別名			
C A S 番号	1879-09-0		
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	178.28		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.1 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	AGM01		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸気圧	0.0448 mmHg (25°C)		
対水溶解度	29.6 mg/L (25°C)		
ヘンリー一定数	$1.76 \times 10^{-6} \text{ atm} \cdot \text{m}^3/\text{mole}$		
pKa 解離定数	12 (20°C)		
1-オクタノール/水分配係数	4.52		
融点	22.3°C		
沸点	249°C		
常温における性状	淡黄色透明液体		
安定性	通常の取扱い条件においては安定		
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>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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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とり、アセトニトリル/純水 (50/50) で希釈する。</li> </ol>
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-6200 型 日立製作所) UV検出器 (L-4200 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 (65/35)            流量 : 1.0 mL/min            検出波長 : UV 220 nm            注入量 : 50 μL</p>

3. 試験材料及び方法

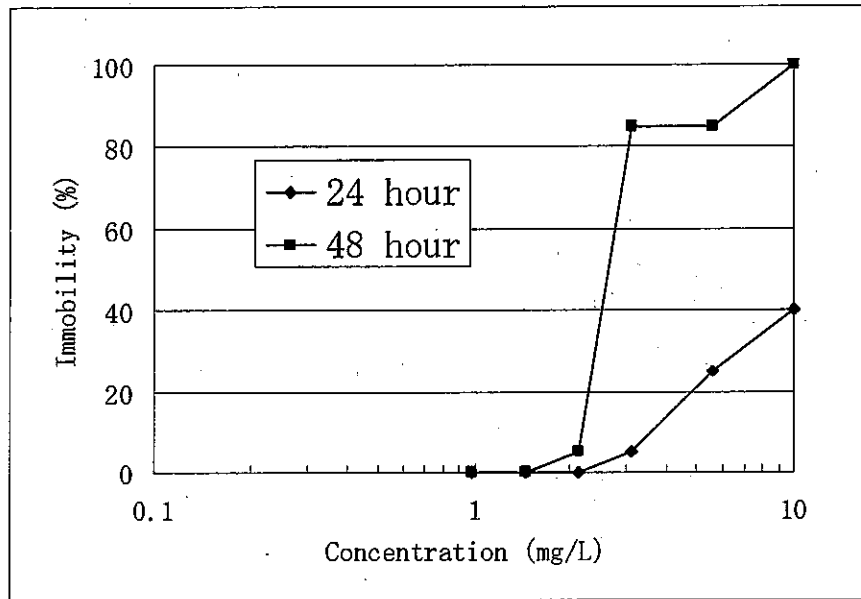
項目		内容	
試験生物	種 (学名・系統・時間齢)	学名: <i>Daphnia magna</i> 系統: 当施設で継代飼育 時間齢: 生後 24 時間以内齢	
	入手先	環境省国立環境研究所	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	0.71 mg/L (これまでの EC <sub>50</sub> mean=0.88 mg/L, S.D.=0.21 mg/L, n=17) 重クロム酸カリウム、試薬特級	
飼育	飼育水の種類	Elendt M4 人工調製水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	20±1°C、16 時間明/8 時間暗	
試験条件	試験容器	110 mL ガラス製スクリー管瓶(密閉容器)	
	試験用水	種類	Elendt M4 人工調製水
		硬度	247 mg/L (CaCO <sub>3</sub> 換算値)
		pH	7.9
	暴露期間	2007 年 2 月 26 日～2007 年 2 月 28 日	
	試験濃度 (設定値)	対照区, 1.0, 1.5, 2.2, 3.2, 5.6, 10 mg/L 公比 1.8(ただし, 1.0 ~ 3.2 mg/L は 1.5 の変則公比)	
	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	20.1~20.4°C		
結果の算出 方法	EC <sub>50</sub>	Logit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48hEC <sub>50</sub> = 2.9 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 29.6 mg/L(25℃)であることから、実験開始前に、フラスコ攪拌法により被験物質の試験培地に対する溶解度を調べたが、培地に分散状態となり分離が困難で(文献値の融点 22.3℃よりも低い 15℃において操作した場合も同等)、適切な溶解度は測定できなかった。試験時には、文献値である 29.6 mg/L(25℃)を基に、この溶解度以下の濃度で試験原液の調製を行い、被験物質の揮散による減少があることから、密閉系とした。</p> <p>暴露期間中の被験物質濃度の変動は分析の測定誤差と考えられたため、暴露開始時と暴露終了時の算術平均値を算出し、各影響濃度を算出した。</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>

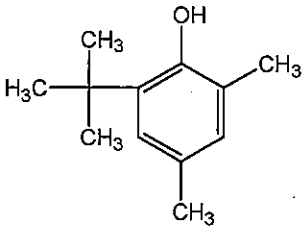


5. ミジンコの濃度-遊泳阻害率曲線  
被験物質濃度-遊泳阻害率曲線



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)	6-tert-ブチル-2,4-キシレノール		
別名			
C A S 番号	1879-09-0		
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	178.28		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.1 %		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	AGM01		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸気圧	0.0448 mmHg (25°C)		
対水溶解度	29.6 mg/L (25°C)		
ヘンリー定数	$1.76 \times 10^{-6} \text{ atm} \cdot \text{m}^3/\text{mole}$		
pKa 解離定数	12 (20°C)		
1-オクタノール/水分配係数	4.52		
融点	22.3°C		
沸点	249°C		
常温における性状	淡黄色透明液体		
安定性	通常の手扱い条件においては安定		
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>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"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
前処理法	<p>試験溶液分析の前処理：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
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-6200型 日立製作所) UV検出器 (L-4200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 (65/35)            流量 : 1.0 mL/min            検出波長 : UV 220 nm            注入量 : 50 μL</p>

3. 試験材料及び方法

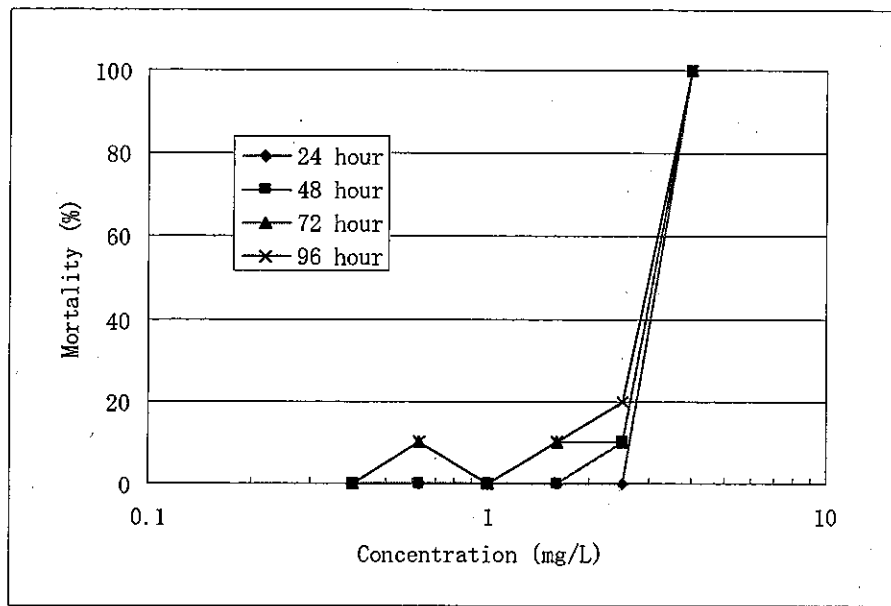
項目		内容	
試験生物	種 (和名・学名・系統)	和名：ヒメダカ 学名：Oryzias latipes	
	入手先	三協ラボサービズから入手したものを自家繁殖	
	対照物質への感受性 (LC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	0.21 mg/L (無水物換算) (これまでの LC <sub>50</sub> mean=0.30mg/L, S.D.=0.11 mg/L, n=25) 硫酸銅 (II) 五水和物、試薬特級	
じゅん化	じゅん化期間	2006年12月25日～2007年3月12日	
	飼育水の種類	脱塩素水	
	じゅん化前の薬浴の有無	無	
	環境条件 (水温、明暗周期)	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 <sub>3</sub> 換算値)
		pH	7.9
	暴露期間		2007年3月12日～2007年3月16日
	試験濃度 (設定値)		対照区, 0.40, 0.63, 1.0, 1.6, 2.5, 4.0 mg/L (公比1.6)
	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		48時間目で試験溶液の全量を換水
	水温		24.0℃
	溶存酸素濃度 (DO)		飽和濃度の60%以上 (7.5～8.2 mg/L)
明暗周期		16時間明/8時間暗	
結果の算出方法	LC <sub>50</sub>	Logit 法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	96hLC <sub>50</sub> = 2.5 mg/L
試験濃度	1. 設定値 2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の対水溶解度が 29.6 mg/L (25℃) であることから、実験開始前に、フラスコ攪拌法により被験物質の試験用水に対する溶解度を調べたが、試験用水に分散状態となり分離が困難で（文献値の融点 22.3℃ よりも低い 15℃ において操作した場合も同等）、適切な溶解度は測定できなかった。そのため、試験時には文献値である 29.6 mg/L (25℃) を基に、この溶解度以下の濃度で試験原液の調製を行い、被験物質の揮散による減少があることから密閉系とした。</p> <p>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 48 時間換水前、および 48 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、各影響濃度を算出した。</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>

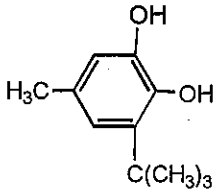
5. 魚類の濃度-死亡率曲線

被験物質濃度-死亡率曲線





**SIDS INITIAL ASSESSMENT PROFILE**

<b>CAS No.</b>	1879-09-0
<b>Chemical Name</b>	2,4-Xylenol, 6-t-butyl-
<b>Structural Formula</b>	
<b>CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS</b>	
<p>A potential hazard to man due to a low no-effect-level in repeated dose animal studies is identified, but exposure is considered to be low.</p> <p>Unless further information on exposure in other member countries presents evidence to the contrary, it is currently considered of low potential risk and low priority for further work.</p>	
<b>SHORT SUMMARY WHICH SUPPORTS THE REASONS FOR THE CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS</b>	
<p>6-tert-Butyl-2,4-xylenol is not produced in Japan, and there are no imported volumes. However, this chemical is registered in TSCA and EINECS. This chemical is stable in acidic, neutral and alkaline solutions, and is considered as "not readily biodegradable".</p> <p>For the environment, various NOEC and LC<sub>50</sub> values were gained from test results; LC<sub>50</sub> = 4.4 mg/l (acute fish); EC<sub>50</sub> = 5.6 mg/l (acute daphnia); EC<sub>50</sub> = 3.6 mg/l (algae); NOEC = 1.7 mg/l (algae); NOEC = 0.32 mg/l (long-term daphnia reproduction). Therefore, the chemical is considered to be moderately toxic to fish and daphnids and algae. The lowest chronic toxicity result, 21 d-NOEC (reproduction) of <i>Daphnia magna</i> (0.32 mg/l), was adopted for the calculation of the PNEC, applying an assessment factor of 100. Thus the PNEC of 6-tert-butyl-2,4-xylenol is 0.0032 mg/l. Since the chemical is not produced in member countries, PEC/PNEC ratio could not be calculated. Therefore, it is considered to be currently of low potential risk for the environment.</p> <p>The chemical showed no genotoxic effects in bacteria and in a chromosomal aberration test <i>in vitro</i>.</p> <p>In a combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test, there were no clinical observations attributed to the administration of the test substance in parental animals. However, increases of liver and kidney weights were observed at the middle and highest dose level (30 and 150 mg/kg/day). In addition, histopathological examination showed swelling of liver cells and degeneration and protein cast of the proximal renal tubules in the groups. From the view point of reproductive/developmental end-points, only a few females at the highest dose lost their litters during lactation period. Other effects (e.g. mating, fertility and estrous cycle) were not observed. Therefore, the NOEL was 6 mg/kg/day for repeated dose toxicity and 30 mg/kg/day for reproductive toxicity.</p> <p>For human health, daily intake of the chemical could not be estimated, because of the lack of exposure scenarios. However, the health risk is presumably low due to its exposure situation.</p>	
<b>NATURE OF FURTHER WORK RECOMMENDED</b>	



## FULL SIDS SUMMARY

## 6-tert-Butyl-2, 4-xyleneol

CAS NO: 1879-09-0		SPECIES	PROTOCOL	RESULTS
<b>PHYSICAL-CHEMICAL</b>				
2.1	Melting Point			21 – 22 °C
2.2	Boiling Point			247.8 – 248.3 °C
2.3	Density			No data available
2.4	Vapour Pressure		OECD TG 104	1.7 Pa at 25 °C
2.5	Partition Coefficient (Log Pow)		OECD TG 107	4.08 at 25 °C
2.6 A.	Water Solubility		OECD TG 105	150 mg/l at 25 °C
B.	pH			No data available.
	pKa			No data available
2.12	Oxidation: Reduction Potential			No data available.
<b>ENVIRONMENTAL FATE AND PATHWAY</b>				
3.1.1	Photodegradation		Calculation	Half-life: 2.16 years (direct photolysis in water)
3.1.2	Stability in Water		OECD TG 111	Stable at pH 4.0, 7.0 and 9.0
3.2	Monitoring Data			No data available
3.3	Transport and Distribution		Calculated (Fugacity Level III)	100% released to water, In Air 0.72% In Water 40.70% In Soil 30.70% In Sediment 27.88%
3.5	Biodegradation		OECD TG 301C	Not readily biodegradable: 3-5% (BOD) in 28 days, 0-4% (GC) in 28 days
3.6	Bioaccumulation			No data available
<b>ECOTOXICOLOGY</b>				
4.1	Acute/Prolonged Toxicity to Fish	<i>Oryzias latipes</i>	OECD TG 203	LC <sub>50</sub> (24hr): 6.0 mg/L LC <sub>50</sub> (96hr): 4.4 mg/L
4.2	Acute Toxicity to Aquatic Invertebrates ( <i>Daphnia</i> )	<i>Daphnia magna</i>	OECD TG 202	EC <sub>50</sub> (24hr): 5.6 mg/l
4.3	Toxicity to Aquatic Plants e.g. Algae	<i>Selenastrum capricornutum</i>	OECD TG 201	EC <sub>50</sub> (72hr): 3.6 mg/l NOEC: 1.7 mg/l
4.5.2	Chronic Toxicity to Aquatic Invertebrates ( <i>Daphnia</i> )	<i>Daphnia magna</i>	OECD TG 202	EC <sub>50</sub> (21d, Immobility): 2.5 mg/l EC <sub>50</sub> (21d, Reproduction): 0.60 mg/l NOEC (21d, Repro): 0.32 mg/l
4.6.1	Toxicity to Soil Dwelling Organisms			No data available.
4.6.2	Toxicity to Terrestrial Plants			No data available.

A chromosomal aberration test in line with Guidelines for Screening Mutagenicity Testing of Chemicals (Japan) and OECD Test Guideline 473 was conducted using cultured Chinese Hamster lung (CHL/IU) cells. This study was well controlled and regarded as a key study.

No structural chromosomal aberrations or polyploidy were recognized up to a maximum concentration of 3.5 mg/ml under conditions of both continuous treatment and short-term treatment with or without an exogenous metabolic activation system (MHW, 1998).

#### *In vivo Studies*

No data are available on *in vivo* genotoxic effects.

### 3.1.4 Toxicity for Reproduction

6-tert-Butyl-2,4-xyleneol was studied for oral toxicity in rats according to the OECD combined repeated dose and reproductive/developmental toxicity test [OECD TG 422] at doses of 0, 6, 30 and 150 mg/kg/day.

Test substance showed no effects on mating, fertility and estrous cycle. In observation at delivery, three females given 150 mg/kg lost their litters during lactation period, and tendency to decrease of viability index of pups at Day 4 after birth was observed in 150 mg/kg group. The results described above led to a conclusion that effects of reproductive toxicity study were considered to appear at 150 mg/kg/day in rats (MHW, Japan, 1994). The NOEL for repeated dose toxicity in rats is considered to be 30 mg/kg/day in parental animals males and 30 mg/kg/day in F<sub>1</sub> offspring.

### 3.2 Initial Assessment for Human Health

The chemical showed no genotoxic effects in bacteria and in a chromosomal aberration test *in vitro*. In a combined repeat dose and reproductive/developmental toxicity screening test, there were no clinical observation attributed to the administration of the test substance in parental animals. However, increases of liver and kidney weights were observed at the middle and highest dose level (30 and 150 mg/kg/day). In addition, histopathological examination showed swelling of liver cells and degeneration and protein cast of the proximal renal tubules in the groups. From the view point of reproductive/developmental end-points, only a few females at the highest dose lost their litters during lactation period. Other effects (e.g. mating, fertility and estrous cycle) were not observed. Therefore, the NOEL was 6 mg/kg/day for repeated dose toxicity and 30 mg/kg/day for reproductive toxicity.

For human health, daily intake of the chemical could not be estimated, because of the lack of exposure scenarios. Therefore, the health risk is presumably low due to its exposure situation.

## 4 HAZARDS TO THE ENVIRONMENT

### 4.1 Aquatic Effects

6-tert-Butyl-2,4-xyleneol has been tested in a limited number of aquatic species (*Selenastrum capricornutum*, *Daphnia magna* and *Oryzias latipes*), under OECD test guidelines [OECD TG 201, 202, 203]. Acute and chronic toxicity data to test organisms for 6-tert-butyl-2,4-xyleneol are summarized in Table 2. No other ecotoxicological data are available.

Various NOEC and LC<sub>50</sub> values were gained from above tests; 96h LC<sub>50</sub> = 4.4 mg/l (acute fish); 24h EC<sub>50</sub> = 5.6 mg/l (acute daphnia); 72h EC<sub>50</sub> = 3.6 mg/l (acute algae); NOEC = 1.7 mg/L (algae), 21d NOEC = 0.32 mg/l (long-term daphnia reproduction). Therefore, the chemical is considered to

be moderately toxic to fish, daphnids and algae. As the lowest chronic toxicity result, the 21 d-NOEC (reproduction) of *Daphnia magna* (0.32 mg/l) was adopted. An assessment factor of 100 is applied. Thus PNEC of 6-tert-butyl-2, 4-xyleneol is 0.0032 mg/l. Since the chemical is not produced in member countries, PEC/PNEC ratio could not be calculated. Therefore, it is considered to be currently of low potential risk for the environment.

**Table 2.** Acute and chronic toxicity data of 6-tert-butyl-2,4-xyleneol to aquatic organisms.

Species	Endpoint <sup>1</sup>	Conc. (mg/L)	Reference
<i>Selenastrum capricornutum</i> (algae)	Biomass: EC <sub>50</sub> (72h)	3.6 mg/L	EA, Japan. (1994)
	NOEC	1.7 mg/L	
<i>Daphnia magna</i> (water flea)	Imm: EC <sub>50</sub> (24h)	5.6 mg/L	
	Imm: EC <sub>50</sub> (21d)	2.5 mg/L	
	Rep: EC <sub>50</sub> (21d)	0.60 mg/L	
	NOEC(21d)	0.32 mg/L	
<i>Oryzias latipes</i> (fish, Medaka)	Mor: LC <sub>50</sub> (24h)	6.0 mg/L	
	Mor: LC <sub>50</sub> (72h)	5.0 mg/L	
	Mor: LC <sub>50</sub> (96h)	4.4 mg/L	

Notes: <sup>1</sup> Mor, mortality, Rep, reproduction, Imm, immobilisation

#### 4.2 Initial Assessment for the Environment

6-tert-Butyl-2,4-xyleneol is not produced in Japan, and there are no imported volumes. However, this chemical is registered in TSCA and EINECS. This chemical is stable in acidic, neutral and alkaline solutions, and is considered as "not readily biodegradable".

For the environment, various NOEC and LC<sub>50</sub> values were gained from test results; 96h LC<sub>50</sub> = 4.4 mg/l (acute fish); 24h EC<sub>50</sub> = 5.6 mg/l (acute daphnia); 72h NOEC = 1.7 mg/l (algae); 21d NOEC = 0.32 mg/l (long-term daphnia reproduction). Therefore, the chemical is considered to be moderately toxic to fish and daphnids and algae. As the lowest chronic toxicity result, the 21 d-NOEC (reproduction) of *Daphnia magna* (0.32 mg/l) was adopted. An assessment factor of 100 is applied. Thus the PNEC of 6-tert-butyl-2, 4-xyleneol is 0.0032 mg/l. Since the chemical is not produced in member countries, PEC/PNEC ratio could not be calculated. Therefore, it is considered to be currently of low potential risk for the environment.

#### 5 RECOMMENDATIONS

A potential hazard to man due to a low no-effect-level in repeated dose animal studies is identified, but exposure is considered to be low.

Unless further information on exposure in other member countries presents evidence to the contrary, it is currently considered of low potential risk and low priority for further work.

## 要 約

試験委託者：環境省

表 題：イソチオシアン酸メチルの藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)  
に対する生長阻害試験

試験番号：A030423-1

### 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 (密閉系), 振とう培養 (100rpm)
- 3) 供試生物：*Pseudokirchneriella subcapitata* (株名：ATCC22662)  
(旧学名：*Selenastrum capricornutum*)
- 4) 暴露期間：72時間
- 5) 試験濃度：対照区, 助剤対照区,  
(設定値) 0.0200, 0.0330, 0.0540, 0.0890, 0.150, 0.240, 0.400 mg/L  
公比：1.6  
助剤濃度一定：93 mg/L (N,N-ジメチルホルムアミド使用)
- 6) 試験液量：100 mL/容器
- 7) 連 数：3 容器/試験区
- 8) 初期細胞濃度：前培養した藻類  $1 \times 10^4$  cells/mL
- 9) 試験温度： $23 \pm 2$  °C
- 10) 照 明：4000 lux (±20%の変動内, フラスコ液面付近) で連続照明
- 11) 分 析 法：ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS)

### 試験結果：

#### 1) 試験液および試験培養液中の被験物質濃度

被験物質濃度分析の結果, 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 96~101 %, 暴露終了時の試験培養液において 17~95 %であった。濃度減少の主な原因は, 藻体への移行および揮散と考えられた。阻害濃度の算出には開始時の測定値を用いた。

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 (0-72h) : 0.135 mg/L (95%信頼区間 : 0.131~0.139 mg/L)

最大無作用濃度 NOECb (0-72h) : 0.0548 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 (24-48h) : 0.181 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可)

最大無作用濃度 NOECr (24-48h) : 0.0548 mg/L

50%生長阻害濃度 ErC50 (24-72h) : 0.193 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可)

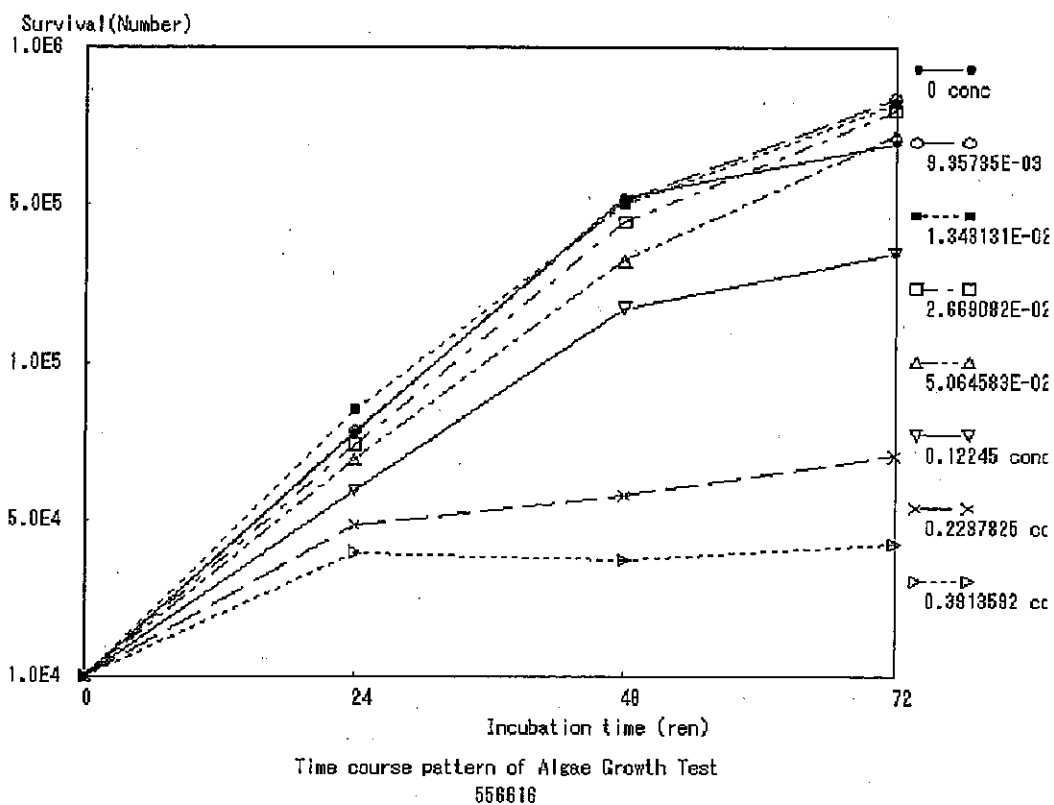
最大無作用濃度 NOECr (24-72h) : 0.0855 mg/L

4) 藻類の形態観察

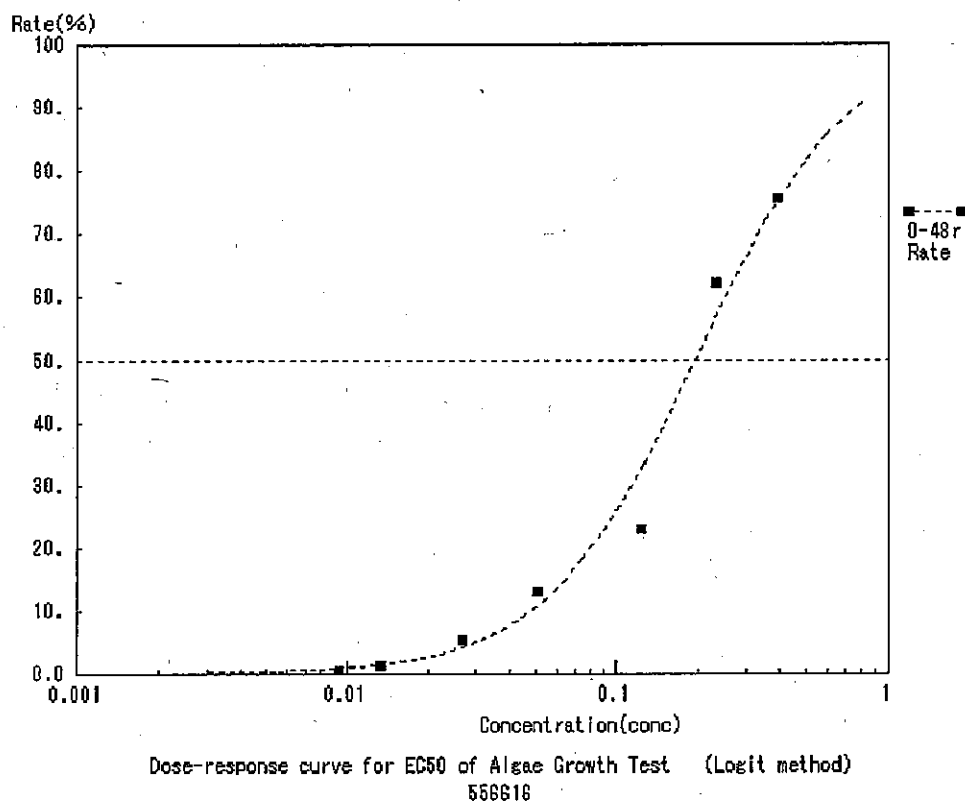
暴露終了時の顕微鏡下での細胞形態観察の結果、0.240 mg/L以上の濃度区で、細胞容積の拡大（膨張）が認められた。0.150 mg/L以下の濃度区では細胞形態の変化（収縮、膨張、破裂等）や細胞凝集は認められず、また、対照区および助剤対照区との相違もなかった。

イソチオシアン酸メチル (CAS.556-61-6)

① 生長曲線



## ②阻害率曲線



## ③毒性値

48hErC50(実測値に基づく)=0.19mg/L  
48hNOECr(実測値に基づく)=0.027mg/L

## 要 約

試験委託者： 環境省

表 題： イソチオシアン酸メチルのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する  
急性遊泳阻害試験

試験番号： A030423-2

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, 0.0200, 0.0360, 0.0630, 0.110, 0.200 mg/L  
(設定値) 公比： 1.8
- 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±1°C
- 10) 照 明： 室内光, 16時間明 (800 lux以下) / 8時間暗
- 11) 分 析 法： ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS)



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は、暴露開始時において 86~87%、  
換水前において 73~79%であった。

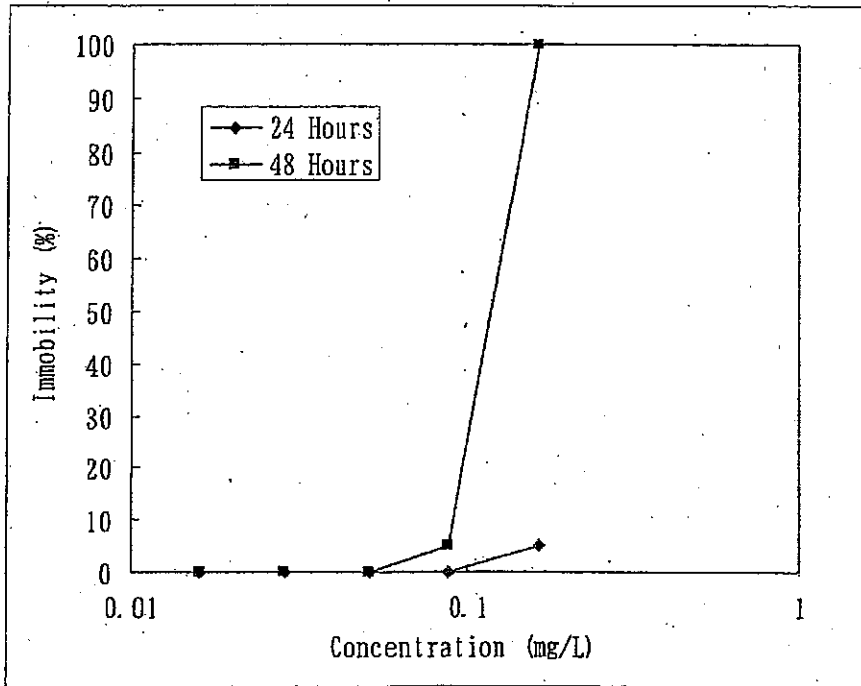
2) 24時間暴露後の結果

	(mg/L)	95%信頼区間 (mg/L)
半数遊泳阻害濃度 (EiC50)	> 0.165	算出不可
0%阻害最高濃度	0.0881	—
100%阻害最低濃度	> 0.165	—

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)	0.116	0.0881 ~ 0.165
0%阻害最高濃度	0.0521	—
100%阻害最低濃度	0.165	—

Figure 1 Concentration-Immobility Curve



## 要 約

試験委託者：環境省

表 題：イソチオシアン酸メチルのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

試験番号：A030423-4

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, 0.0125, 0.0250, 0.0500, 0.100, 0.200 mg/L  
(設定値) 公比：2.0
- 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±1℃
- 10) 照 明：室内光, 16時間明 (1000 lux以下) / 8時間暗
- 11) 分 析 法：ガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS)

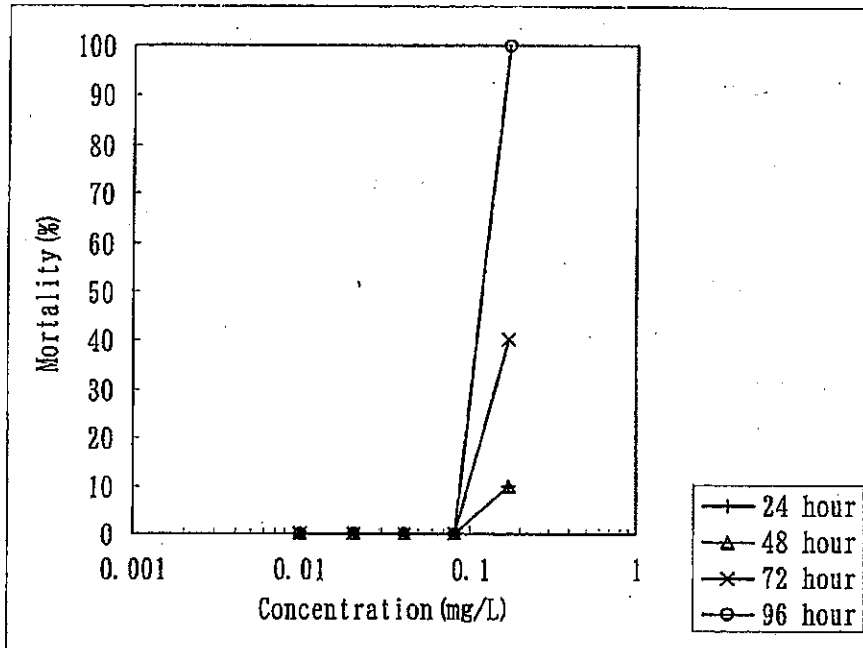
試験結果：

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は、暴露開始時において84~91%、24時間後において71~81%であった。

2) 96時間暴露後の半数致死濃度 (LC50) : 0.118 mg/L (95%信頼区間 : 0.0818 ~ 0.169 mg/L)

Figure 1 Concentration-Mortality Curve





## 要 旨

試験委託者

環境庁

表 題4-(1-メチルエテニル)フェノールの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験試験番号

NMMP/E99/1210

試験方法

本試験は、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)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質 : 4-(1-メチルエテニル)フェノール
- 2) 培養方式 : 振とう培養 (100rpm)
- 3) 供試生物種 : *Selenastrum capricornutum* (ATCC-22662)
- 4) 温度 : 23±2 °C
- 5) 暴露期間 : 72 時間
- 6) 試験液量 : 100 mL (OECD培地)
- 7) 照明 : 4000 ~ 5000 lux (連続照明)
- 8) 初期細胞濃度 :  $1 \times 10^4$  cells/mL
- 9) 試験濃度(設定) : 対照区、助剤対照区、0.4mg/L、0.7mg/L、1.2mg/L、2.2mg/L  
4.0mg/Lおよび 7.2mg/L (公比 1.8)
- 10) 試験液中の被験物質の分析  
: HPLC法(暴露開始時、終了時)

結 果

- 1) 生長曲線下の面積の比較による生長阻害濃度  
EbC50(0-72) = 2.83 mg/L (95%信頼区間: 2.59 mg/L ~ 3.11 mg/L)  
無影響濃度 (NOEC(面積法 0-72)) = 1.56 mg/L

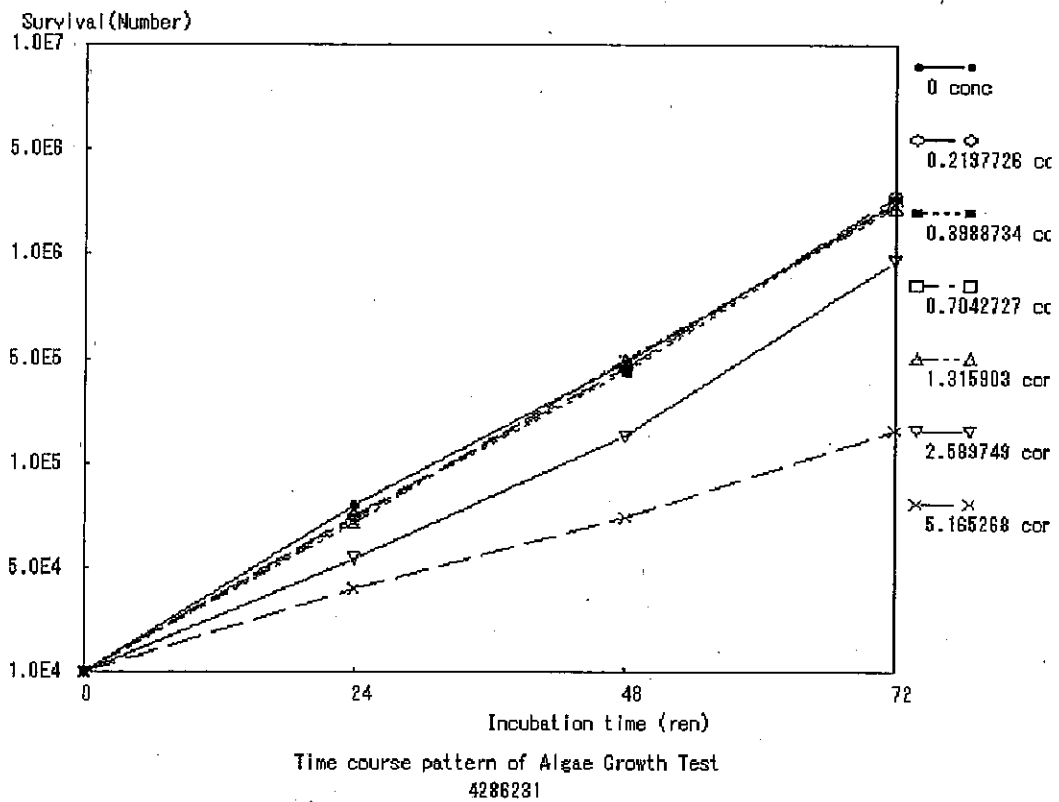
## 2) 生長速度の比較による生長阻害濃度

$$\text{ErC50}(24-48) = 5.67 \text{ mg/L} \text{ (95\%信頼区間: } 5.22 \text{ mg/L} \sim 6.30 \text{ mg/L)}$$
$$\text{無影響濃度 (NOEC(速度法 24-48))} = 3.24 \text{ mg/L}$$
$$\text{ErC50}(24-72) = 5.95 \text{ mg/L} \text{ (95\%信頼区間: } 5.59 \text{ mg/L} \sim 6.44 \text{ mg/L)}$$
$$\text{無影響濃度 (NOEC(速度法 24-72))} = 3.24 \text{ mg/L}$$

(上記濃度は、全て暴露開始時の実測濃度に基づく値)

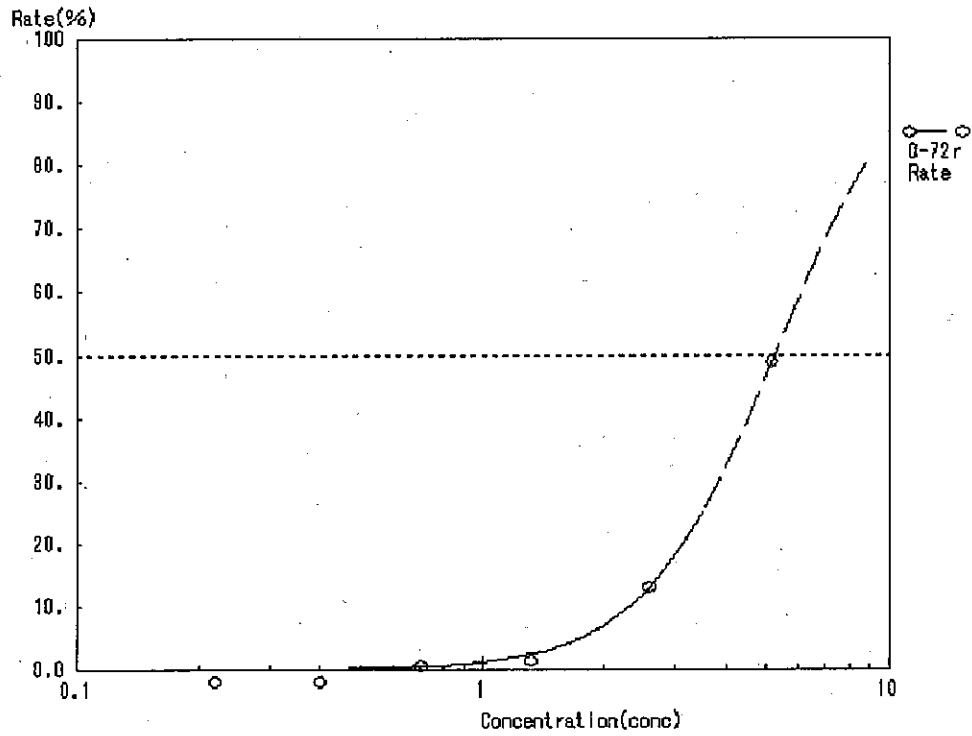
4-(1-メチルエテニル)フェノール(CAS.4286-23-1)

①生長曲線





## ②阻害率曲線



Dose-response curve for EC50 of Algae Growth Test (Logit method)  
4286231

## ③毒性値

72hErC50(実測値に基づく) = 5.4mg/L  
72hNOECr(実測値に基づく) = 1.3mg/L

## 要 旨

試験委託者

環境庁

表 題4-(1-メチルエテニル)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

NMMP/E99/2210

試験方法

本試験は、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)に準拠して実施した。

- 1)被験物質 :4-(1-メチルエテニル)フェノール
- 2)暴露方法 :止水式
- 3)供試生物 :オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4)暴露期間 :48時間
- 5)連数 :1濃度区につき4連
- 6)生物数 :20頭/1濃度区(1連につき5頭で1濃度区20頭)
- 7)試験濃度 :対照区、助剤対照区、0.53mg/L、0.95mg/L、1.71mg/L、3.09mg/L、5.56mg/L  
および10.0mg/L(公比1.8)(設定濃度)
- 8)試験液量 :100 mL
- 9)照明 :室内光、16時間明/8時間暗
- 10)試験水温 :20±1°C

結 果

## 1)24時間暴露後の結果

24時間半数遊泳阻害濃度(EiC50)=5.17mg/L(95%信頼区間:2.47mg/L~9.06mg/L)

## 2)48時間暴露後の結果

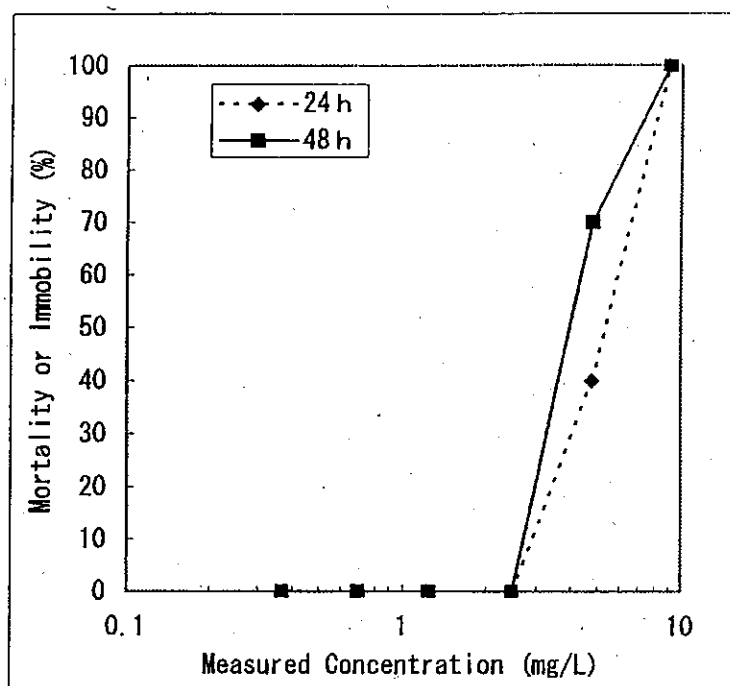
48時間半数遊泳阻害濃度(EiC50)=4.12mg/L(95%信頼区間:2.47mg/L~4.78mg/L)

最大無作用濃度(NOECi)=2.47mg/L

100%阻害最低濃度=9.06mg/L

(上記濃度は、全て実測濃度の幾何平均値に基づく値)

Figure 1 Concentration-Response Curve of 4-(1-Methylethenyl)phenol

Mortality or Immobility in *Daphnia magna*

## 要 旨

試験委託者

環境庁

表 題4-(1-メチルエテニル)フェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験試験番号

NMMP/E99/3210

試験方法

本試験は、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)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質 : 4-(1-メチルエテニル)フェノール
- 2) 暴露方法 : 半止水式(週に3回、試験液の全量を交換)
- 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、0.24mg/L、0.43mg/L、0.77mg/L、1.39mg/L、  
2.50mg/L および 4.50mg/L(設定濃度)  
(公比1.8、助剤 HCO-50、100mg/L)
- 6) 試験液量 : 1容器(連)につき 80 mL
- 7) 連数 : 10 容器(連)/濃度区
- 8) 供試生物数 : 10 頭/濃度区(1連につき 1 頭)
- 9) 試験水温 : 20±1°C
- 10) 照明 : 室内光、16 時間明/8 時間暗
- 11) 被験物質の分析 : 高速液体クロマトグラフ分析

## 結 果

### 1) 試験液中の被験物質濃度

実測濃度が設定濃度の±20%を外れたので結果の算出には実測濃度の時間加重平均値を用いた。

### 2) 21日間の親ミジンコの半数致死濃度(LC50)

= 0.98mg/L (95%信頼区間 : 0.56mg/L~3.33mg/L)

### 3) 21日間の50%繁殖阻害濃度(ErC50)

= 0.79mg/L (95%信頼区間 : 0.71mg/L~0.91mg/L)

### 4) 21日間の最大無作用濃度(NOECr) = 0.53mg/L

### 5) 21日間の最小作用濃度(LOECr) = 1.01mg/L

(上記濃度は、実測濃度の時間加重平均値に基づく値)

Figure 1 Cumulative Numbers of Dead Parental *Daphnia*

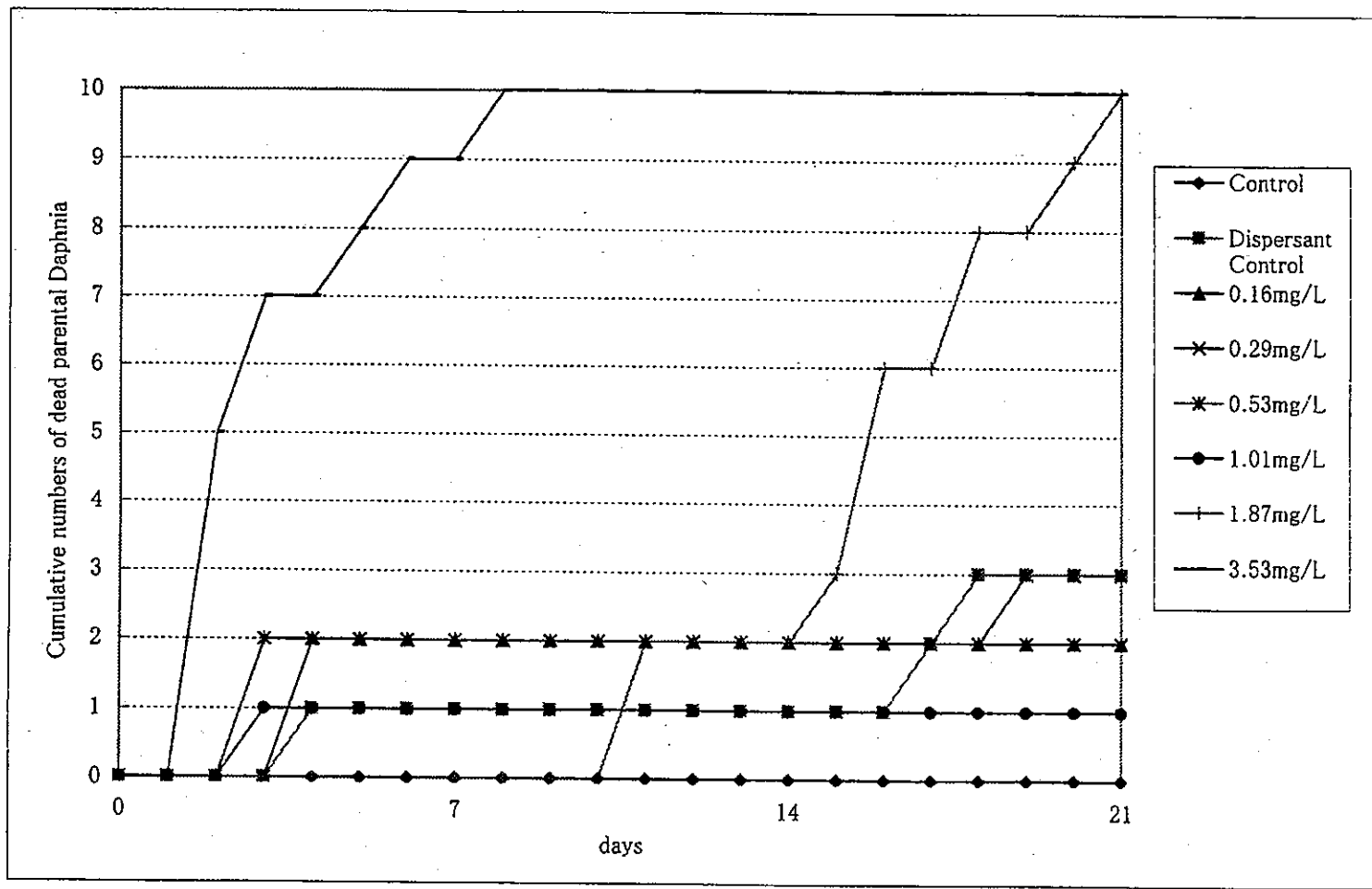
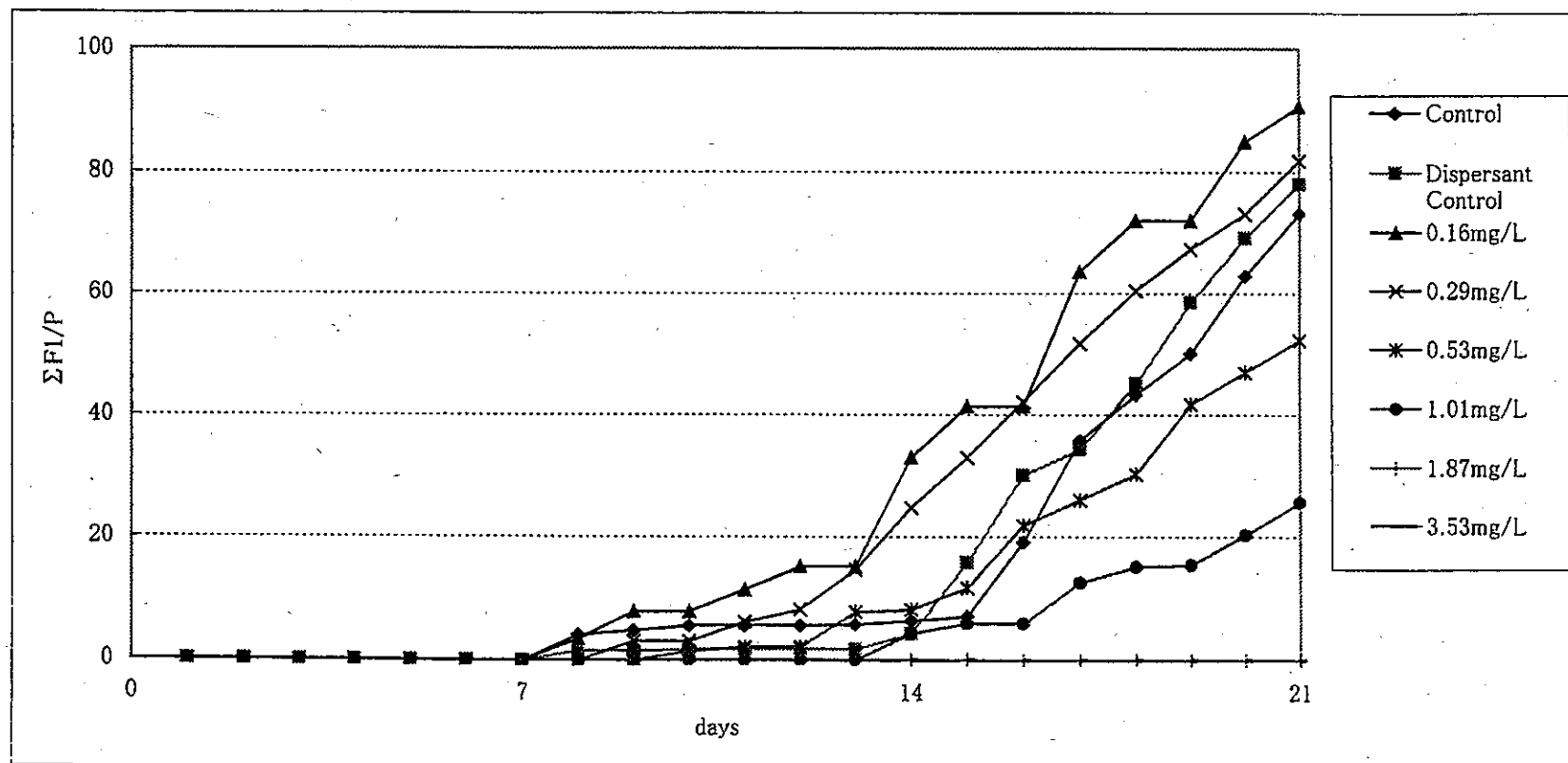


Figure 2 Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult ( $\Sigma F1/P$ ) during 21 days

## 要 旨

試験委託者

環境庁

表 題4-(1-メチルエテニル)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

NMMP/E99/4210

試験方法

本試験は、OECD 化学品テストガイドライン No.203「魚類毒性試験」(1992年)に準拠して実施した。

被験物質	:4-(1-メチルエテニル)フェノール
方式	:半止水式(24時間換水)
供試生物	:ヒメダカ ( <i>Oryzias latipes</i> )
試験濃度	:対照区、助剤対照区および1.9mg/L、3.4mg/L、6.2mg/L、11.1mg/L および 20.0mg/L(設定濃度)
曝露期間	:96 時間
試験液量	:3.0L
生物数	:10 尾/濃度区
照明	:室内光、16 時間明/8 時間暗
エアレーション	:なし
温度	:24±1°C

結 果

試験の結果、4-(1-メチルエテニル)フェノールの実測濃度の幾何平均値に基づく96時間の半数致死濃度(LC50)は9.2mg/Lであり、その95%信頼区間は6.2mg/L~16.7mg/Lであった。



Figure 1. Concentration-Response Curve of 4-(1-Methylethenyl)phenol

Mortality in Medaka

