

Table 1-1. Measured Concentration of the Test Substance in Test Water with Algae Inoculation

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)			Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)
	0 Hour	24 Hours	48 Hours	
Control	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)
0.0013	0.00141 (108)	0.00142 (109)	0.00089 (68)	[0.00024] (18)
0.0028	0.00351 (125)	0.00331 (118)	0.00243 (87)	0.00078 (28)
0.0060	0.00771 (129)	0.00653 (109)	0.00518 (86)	0.00201 (34)
0.013	0.0149 (115)	0.0155 (119)	0.0131 (101)	0.00869 (67)
0.028	0.0374 (134)	0.0224 (80)	0.0202 (72)	0.0189 (68)
0.060	0.0628 (105)	0.0302 (50)	0.0281 (47)	0.0260 (43)
0.13	0.139 (107)	0.0467 (36)	0.0425 (33)	0.0379 (29)
<sup>a</sup> : Geometric mean	- : Not calculated			
⟨⟩ : Mean measured concentration partially including the data below the lower limit of determination	[] : < Lower limit of determination			

Table 1-2. Measured Concentration of the Test Substance in Test Water without Algae Inoculation

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)			Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)
	0 Hour	24 Hours	48 Hours	
Control	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)
0.0013	0.00141* (108)	0.00137 (105)	0.00148 (114)	0.00134 (103)
0.0028	0.00351* (125)	0.00351 (125)	0.00364 (130)	0.00361 (129)
0.0060	0.00771* (129)	0.00732 (122)	0.00747 (125)	0.00714 (119)
0.013	0.0149* (115)	0.0179 (138)	0.0165 (127)	0.0171 (132)
0.028	0.0374* (134)	0.0300 (107)	0.0294 (105)	0.0301 (108)
0.060	0.0628* (105)	0.0605 (101)	0.0580 (97)	0.0512 (86)
0.13	0.139* (107)	0.126 (97)	0.113 (87)	0.0943 (73)
<sup>a</sup> : Geometric mean	- : Not calculated			
* : Use the data of Measured Concentration (0 Hours) in Table 1-1.				

## 要 旨

試験委託者 環境省

表題 3, 4, 4'-トリクロロジフェニル尿素のオオミジンコ (*Daphnia magna*)  
に対する急性遊泳阻害試験

試験番号 No. 2007-生50

### 試験法ガイドライン

本試験は、厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「新規化学物質等に係る試験の方法について」(薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環保企発第 031121002 号、平成 15 年 11 月 21 日、平成 18 年 11 月 20 日一部最終改正)に従って実施した。

- 1) 被験物質 : 3, 4, 4'-トリクロロジフェニル尿素
- 2) 暴露方式 : 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) 試験濃度(設定値) : 対照区, 0.0071, 0.010, 0.014, 0.019, 0.027,  
0.037 mg/L  
公比; 1.4
- 6) 試験溶液量 : 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/8 時間暗
- 11) 給餌 : 無給餌
- 12) pH : 試験溶液の pH 調整は行わなかった
- 13) 分析法 : HPLC 法

## 結 果

### 1) 試験溶液中の被験物質濃度

暴露期間中における被験物質濃度の変動は、分析誤差が主な原因と考えられたことから、各影響濃度（50 % 遊泳阻害濃度、0 % 遊泳阻害最高濃度、100 % 遊泳阻害最低濃度）の算出に当たっては、暴露開始時および暴露終了時の測定値の算術平均値を採用した。

### 2) 24 時間暴露後の結果

50 % 遊泳阻害濃度 (EC <sub>50</sub> )	: 0.021 mg/L
	(95 % 信頼限界 : 0.020 ~ 0.023 mg/L), Probit
0 % 阻害最高濃度	: 0.015 mg/L
100 % 阻害最低濃度	: >0.028 mg/L

### 3) 48 時間暴露後の結果

50 % 遊泳阻害濃度 (EC <sub>50</sub> )	: 0.016 mg/L
	(95 % 信頼限界 : 0.014 ~ 0.017 mg/L), Probit
0 % 阻害最高濃度	: 0.0080 mg/L
100 % 阻害最低濃度	: 0.028 mg/L

Table 8. Total Hardness(as CaCO<sub>3</sub>)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	(Static Condition)	
		Total Hardness(as CaCO <sub>3</sub> ), mg/L	
		0 Hour new	48 Hours old
Control	-	253	257
0.0071	0.00579	253	260
0.010	0.00802	257	255
0.014	0.0107	254	254
0.019	0.0152	254	256
0.027	0.0211	252	252
0.037	0.0283	254	260

new : Freshly prepared test solutions

old : Test solutions after 48 hours exposure

a : Arithmetic mean

- : Not calculated

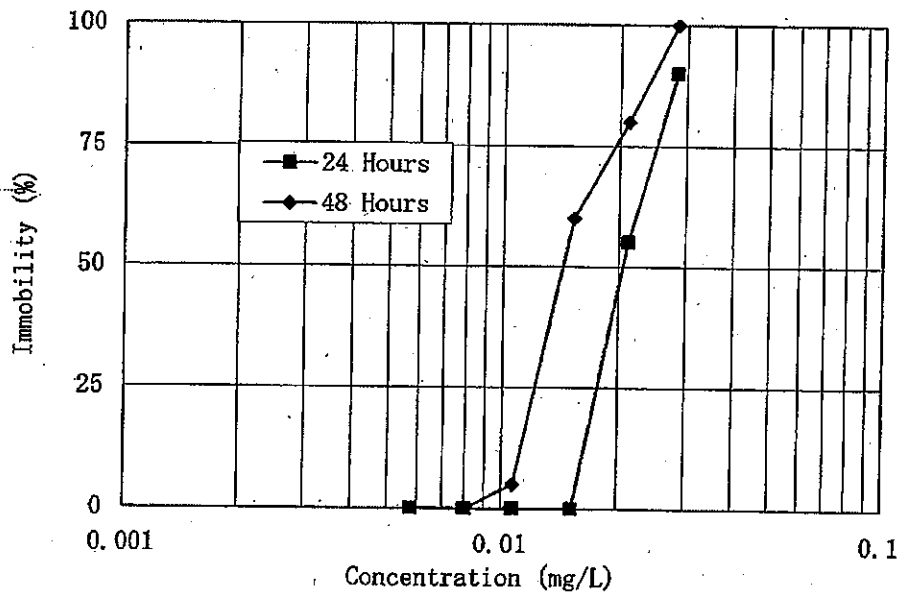


Figure 1. Concentration-Response (Immobility) Curves

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

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L) (Percent of Nominal)				Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)
	0 Hour		48 Hours		
	New		old		
Control	<0.0005	( - )	<0.0005	( - )	-
0.0071	0.00619	( 87)	0.00539	( 76)	0.00579
0.010	0.00850	( 85)	0.00754	( 75)	0.00802
0.014	0.0108	( 77)	0.0105	( 75)	0.0107
0.019	0.0156	( 82)	0.0148	( 78)	0.0152
0.027	0.0215	( 80)	0.0207	( 77)	0.0211
0.037	0.0288	( 78)	0.0278	( 75)	0.0283

new : Freshly prepared test solutions  
old : Test solutions after 48 hours exposure  
a : Arithmetic mean  
- : Not calculated

Table 2. The Numbers of Immobile *Daphnia*  
(Static Condition)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Number of <i>Daphnia</i>	Cumulative Numbers of Immobilized <i>Daphnia</i> (Percent Immobility)										
			24 Hours					48 Hours					
			1	2	3	4	Total	1	2	3	4	Total	
Control	-	20	0	0	0	0	0( 0)	0	0	0	0	0	0( 0)
0.0071	0.00579	20	0	0	0	0	0( 0)	0	0	0	0	0	0( 0)
0.010	0.00802	20	0	0	0	0	0( 0)	0	0	0	0	0	0( 0)
0.014	0.0107	20	0	0	0	0	0( 0)	0	0	0	1	1	1( 5)
0.019	0.0152	20	0	0	0	0	0( 0)	4	3	3	2	12	12( 60)
0.027	0.0211	20	3	3	4	1	11( 55)	3	5	4	4	16	16( 80)
0.037	0.0283	20	4	5	5	4	18( 90)	5	5	5	5	20	20(100)

a : Arithmetic mean  
- : Not calculated

## 要 旨

試験委託者 環境省

表 題 3, 4, 4'-トリクロロジフェニル尿素のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

試験番号 No. 2007-生51

### 試験法ガイドライン

本試験は、厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「新規化学物質等に係る試験の方法について」(薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環保企発第 031121002 号、平成 15 年 11 月 21 日、平成 18 年 11 月 20 日一部最終改正)に従って実施した。

- 1) 被験物質 : 3, 4, 4'-トリクロロジフェニル尿素
- 2) 暴露方式 : 半止水式 (24 時間毎に試験溶液の全量を交換)
- 3) 供試生物 : ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 4) 暴露期間 : 96 時間 (120 時間まで観察を延長)
- 5) 試験濃度 (設定値) : 対照区, 0.033 mg/L [限度試験]
- 6) 試験溶液量 : 5 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 °C
- 10) 照明 : 室内光、16 時間明/8 時間暗
- 11) 給餌 : 無給餌
- 12) 通気 : なし
- 13) pH : 試験溶液の pH 調整は行わなかった。
- 14) 分析法 : HPLC 法

## 結 果

### 1) 試験溶液中の被験物質濃度

被験物質のヒメダカへの吸着が認められたことから、ヒメダカ未投入区の実測濃度を採用した。また、暴露期間中の被験物質濃度の変動は、分析誤差によると考えられたことから、各影響濃度（50 % 死亡濃度、0 % 死亡最高濃度、100 % 死亡最低濃度および最大無作用濃度）の算出に当たっては、暴露期間中の実測濃度の算術平均値を採用した。

### 2) 50 % 死亡濃度 (LC<sub>50</sub>)

被験物質が難水溶性物質であり、予備試験の結果、96 時間においても毒性症状が観察されなかったことから、本試験においては、観察期間を 120 時間まで延長し、96 時間までの結果と合わせて表記した。

24 時間 50 % 死亡濃度 (LC<sub>50</sub>) : > 0.031 mg/L

48 時間 50 % 死亡濃度 (LC<sub>50</sub>) : > 0.031 mg/L

72 時間 50 % 死亡濃度 (LC<sub>50</sub>) : > 0.031 mg/L

96 時間 50 % 死亡濃度 (LC<sub>50</sub>) : > 0.031 mg/L

120 時間 50 % 死亡濃度 (LC<sub>50</sub>) : > 0.033 mg/L

Table 2. The Numbers of Dead Fish (Mortality)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L)	Cumulative Mortality (Percent Mortality)				
		24 Hours	48 Hours	72 Hours	96 Hours	120 Hours
Control	-	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)
0.033	0.0313	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)

a : Arithmetic mean (0-96 Hour) without fish

- : Not calculated (< Lower limit of determination)

Table 3. Calculated LC<sub>50</sub> Values

Exposure Period (Hours)	LC <sub>50</sub> (mg/L)	95 % Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	>0.031 <sup>a</sup>	-	-
48	>0.031 <sup>a</sup>	-	-
72	>0.031 <sup>a</sup>	-	-
96	>0.031 <sup>a</sup>	-	-
120	>0.033 <sup>b</sup>	-	-

- : Not calculated

a : Arithmetic mean (0-96 Hour) without fish

b : Arithmetic mean (0-120 Hour) without fish



Table 1. Measured Concentration of the Test Substance in Test Water

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration, mg/L (Percent of Nominal)				Mean Measured Concentration (mg/L)
	0 Hour	24 Hours	48 Hours	72 Hours	
	new	old	new	old	
Control	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)	-
0.033	0.0304 (92)	0.0179 (54)	0.0342 (104)	0.0195 (59)	0.0249 <sup>a</sup>
0.033 *	- (-)	0.0310 * (94)	- (-)	0.0297 * (90)	0.0313 <sup>b</sup>

(Semi-Static Condition)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration, mg/L (Percent of Nominal)		Mean Measured Concentration (mg/L)
	96 Hours	120 Hours	
	new	old	
Control	<0.0005 (-)	<0.0005 (-)	-
0.033	0.0384 (116)	0.0308 (93)	0.0281 <sup>c</sup>
0.033 *	- (-)	0.0356 * (108)	0.0332 <sup>d</sup>

\* : Without fish

new : Freshly prepared test solutions

old : Test solutions after 24 hours exposure

a : Time-weighted mean (0-24-48-72 Hour)

b : Arithmetic mean (0-24-48-72 Hour)

c : Time-weighted mean (0-24-48-72-96-120 Hour)

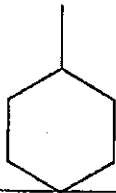
d : Arithmetic mean (0-24-48-72-96-120 Hour)

- : Not calculated

-- : Not measured (The concentration from the vessel with the fish is adapted.)

## 藻類生長阻害試験結果報告書

## 1. 一般的事項

被験物質の名称	メチルシクロヘキサン <sup>*1</sup>		
別名	(略称：MCH) <sup>*2</sup>		
CAS番号	108-87-2 <sup>*1</sup>		
構造式又は示性式	 <sup>*3</sup>		
分子量	98.189 <sup>*3</sup>		
試験に供した物質の純度(%)	99.8 (GC)		
試験に供した物質のロット番号	GI01		
不純物の名称及び含有率	—		
蒸気圧	5.73 kPa/25°C		
対水溶解度	不溶 (14.0 mg/L 25°C)		
1-オクタノール/水分配係数	3.61		
融点	-127°C		
沸点	100°C		
常温における性状	無色透明液体		
安定性	引火性が強く、燃焼しやすい。蒸気は地面あるいは床に沿って移動することがあり、遠距離引火の可能性がある。蒸気は空気と混合して爆発性の混合ガスを形成する危険性がある。		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	アルコール	可溶	—
	エーテル	可溶	—
	アセトン	可溶	—
	ベンゼン	可溶	—

上記内容は東京化成工業提供資料による。ただし \* の内容は以下の通り。

\*1 環境省提供資料による。

\*2 株式会社三菱化学安全科学研究所にて決定。

\*3 JSTの有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」検索サービス  
(<http://nikkajweb.jst.go.jp>) による。

## 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	ガスクロマトグラフ質量分析 (GC/MS) 法
前処理法	<p>暴露開始時:各試験区毎に藻類を添加していない予備容器の中層より 10 mLずつ採取</p> <p>試験液 10 mL (精製水で適宜希釈*) + アセトン 0.1 mL   混合   分析試料   GC/MS測定</p> <p>暴露開始後 24, 48および 72時間:各試験区毎に藻類を添加した予備 容器の中層より10 mLずつ採取</p> <p>試験培養液 10 mL (精製水で適宜希釈*) + アセトン 0.1 mL   混合   分析試料   GC/MS測定</p> <p>* 検量線範囲を超えるものについて適宜希釈した。</p>
定量条件	別紙-1 参照

## 3. 試験材料及び方法

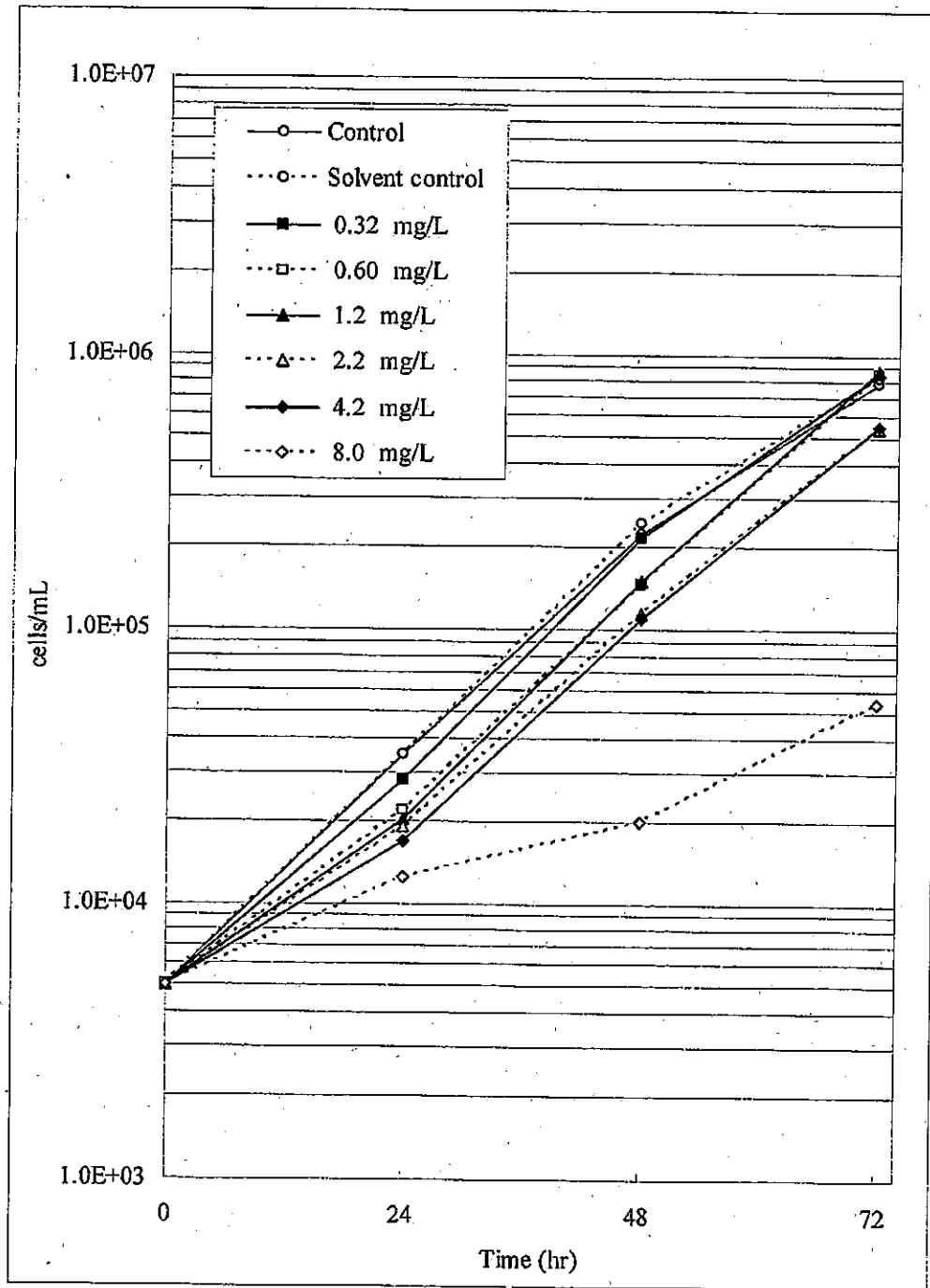
項 目		内 容	
試験生物	種 (学名・株名)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> ATCC22662	
	入手先	American Type Culture Collection	
	対照物質への感受性 (EC50) (対照物質名)	72時間 ErC50 = 0.822 ± 0.0898 mg/L, n=17 重クロム酸カリウム, 試薬特級	
前培養	前培養の期間	2008年10月24日 ~ 2008年10月27日	
	培地名	試験ガイドライン推奨培地	
	環境条件 (水温, 光強度)	22°C, 60~65 μE/m <sup>2</sup> /s	
試験条件	試験容器	500 mLガラス製共栓付き三角フラスコ (IWAKI製) (ヘッドスペース容量: 当社測定値 490 mL)	
	培地名	試験ガイドライン推奨培地	
	暴露期間	2008年10月27日~2008年10月30日	
	試験濃度 (設定値)	対照区, 助剤対照区, 0.32, 0.60, 1.2, 2.2, 4.2, 8.0 mg/L	
	初期細胞濃度	5×10 <sup>3</sup> cells / mL	
	連数	試験濃度区	3 容器
		対照区	6 容器
	試験溶液量		100 mL/容器
	助剤	助剤の有無	有
		種類	アセトン
		濃度	100 mg/L
		助剤対照区の連数	6 容器
	培養方式 (振とう培養, 静置培養, 連続培養等)		止水式 (密閉系), 振とう培養 (100 rpm)
	水温または培養温度		22°C (暴露期間中の変動範囲は±2°C以内)
	照明 (光強度, 時間等)		60~65 μE/m <sup>2</sup> /s 白色蛍光灯で連続照射 (液面付近)
結果の 算出方法	速度法	ErC50 (0-72h) : 直線回帰分析 NOECr (0-72h) : Williamsの多重比較検定	

## 4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	ErC50 (0-72h) = 0.336 mg/L NOECr (0-72h) = 0.0666 mg/L
試験濃度	1. 設定値      ② 実測値
考察及び 特記事項	被験物質濃度は、暴露開始時の試験液において低濃度区側から 0.184, 0.434, 0.912, 1.63, 2.61, 4.39 mg/L, 暴露開始後 72 時間の試験培養液において 0.00146, 0.00205, 0.00543, 0.0120, 0.0227, 0.0362 mg/L であった。濃度減少の主な原因は、試験液または試験培養液からの被験物質の揮発が考えられた。

5. 藻類の生長曲線および濃度－生長阻害率曲線

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



Value in legend is given in the nominal concentration.

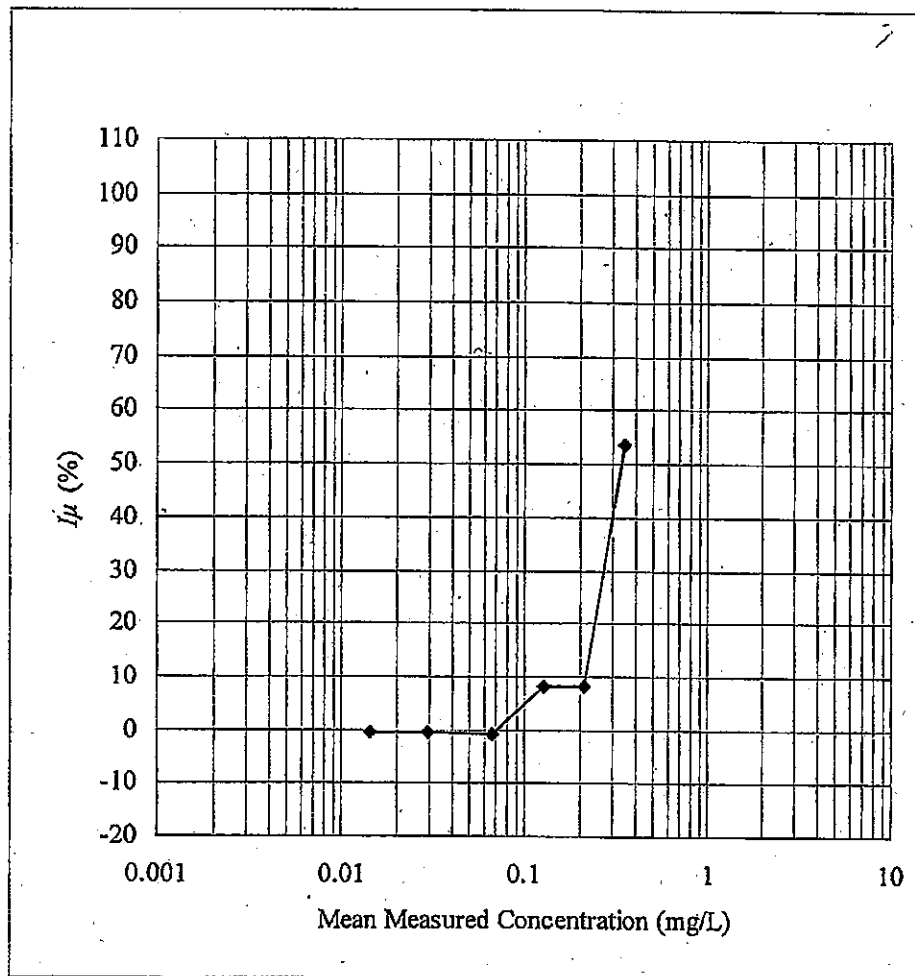
Figure 2 Concentration-Inhibition Curve Based on  $I_{\mu}$  values Calculated from the Growth Rates

Table 4 Measured Concentration of the Test Substance in Test Cultures

Test Group	Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L) (Percent of Nominal)				Mean <sup>a</sup> Measured Concentration (mg/L) (Percent of Nominal)
		0 Hour	24 Hours	48 Hours	72 Hours	
Control	--	--*	n.d.	n.d.	n.d.	---
Solvent control	--	--*	n.d.	n.d.	n.d.	---
Conc.1	0.32	0.184 (58)	0.00183 (0.6)	0.00173 (0.5)	0.00146 (0.5)	0.0143 (4.5)
Conc.2	0.60	0.434 (72)	0.00256 (0.4)	0.00256 (0.4)	0.00205 (0.3)	0.0296 (4.9)
Conc.3	1.2	0.912 (76)	0.00715 (0.6)	0.00677 (0.6)	0.00543 (0.5)	0.0666 (5.6)
Conc.4	2.2	1.63 (74)	0.0169 (0.8)	0.0170 (0.8)	0.0120 (0.5)	0.128 (5.8)
Conc.5	4.2	2.61 (62)	0.0295 (0.7)	0.0315 (0.8)	0.0227 (0.5)	0.211 (5.0)
Conc.6	8.0	4.39 (55)	0.0483 (0.6)	0.0472 (0.6)	0.0362 (0.5)	0.351 (4.4)

a : Time weighted mean

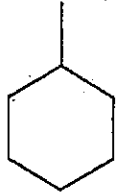
n.d.: Not detected (<0.0001 mg/L)

\* : Trace of the test substance was detected. The concentration of the control and solvent control were 0.0005 and 0.0009 mg/L, respectively.



## ミジンコ急性遊泳阻害試験結果報告書

## 1. 一般的事項

被験物質の名称	メチルシクロヘキサン <sup>*1</sup>		
別名	(略称：MCH) <sup>*2</sup>		
C A S 番号	108-87-2 <sup>*1</sup>		
構造式又は示性式	 <sup>*3</sup>		
分子量	98.189 <sup>*3</sup>		
試験に供した物質の純度(%)	99.8 (GC)		
試験に供した物質のロット番号	GI01		
不純物の名称及び含有率	—		
蒸気圧	5.73 kPa/25℃		
対水溶解度	不溶 (14.0 mg/L 25℃)		
1-オクタノール/水分配係数	3.61		
融点	-127℃		
沸点	100℃		
常温における性状	無色透明液体		
安定性	引火性が強く、燃焼しやすい。蒸気は地面あるいは床に沿って移動することがあり、遠距離引火の可能性がある。蒸気は空気と混合して爆発性の混合ガスを形成する危険性がある。		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	アルコール	可溶	—
	エーテル	可溶	—
	アセトン	可溶	—
	ベンゼン	可溶	—

上記内容は東京化成工業株式会社資料による。ただし \* の内容は以下の通り。

\*1 環境省資料による。

\*2 株式会社三菱化学安全科学研究所にて決定。

\*3 JSTの有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」検索サービス (<http://nikkajiweb.jst.go.jp>) による。