

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	0-72h E _r C ₅₀ : >4.7 mg a.i./L 0-72h NOEC _r : 1.7 mg a.i./L
試験濃度	実測値
考察及び特記事項	<ul style="list-style-type: none"> ・被験物質が揮発性を有したため、密閉容器を使用し試験容器毎に試験液を調製した。 ・その際、被験物質を希釈水に直接添加する方法では、秤量精度の観点から低濃度区の試験液の調製が困難であったため、助剤としてDMFを用いて試験原液を調製することとした。 ・培地での溶解度が30 mg a.i./Lであったため、試験最高濃度は30 mg a.i./Lを上限とした。 ・分析頻度は、暴露期間中設定濃度の80%を維持できなかったため、24時間毎とした。 ・分析の際、測定用試料からの遠心分離による藻体の除去操作は、被験物質が揮散するため実施しなかった。 ・試験液中の平均測定濃度を幾何平均で算出した結果、設定値に対する割合は16~18%であった。 設定濃度: 9.5、14、20、30 mg a.i./L 幾何平均値: 1.7、2.5、3.5、4.7 mg a.i./L ・E_rC₅₀ は、生長阻害率がすべての濃度区で50%未満であったため、試験最高濃度より大(>)とした。 ・試験の有効性については基準値を全て満たしており、本試験はガイドラインに準じて適切に行われたと判断した。

5. 藻類の生長曲線および濃度—生長阻害曲線

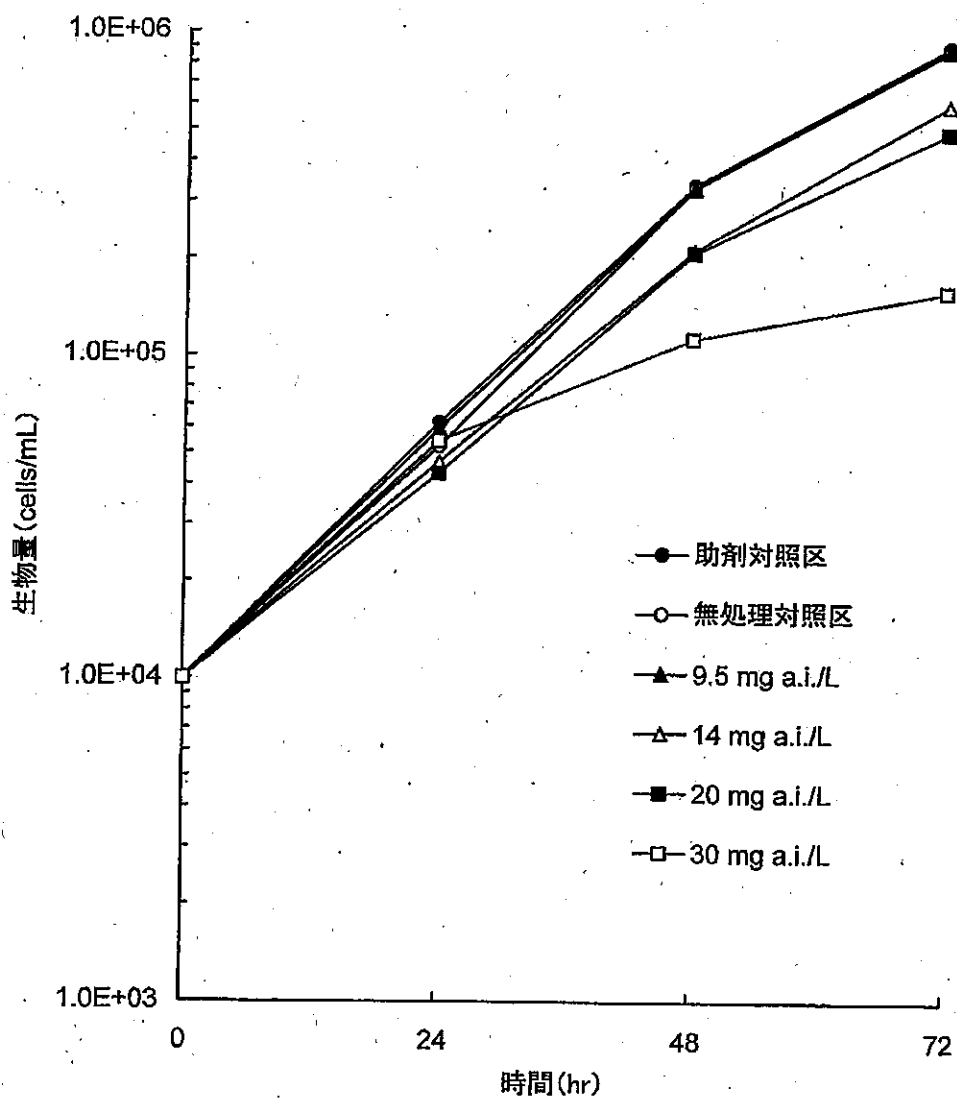


図 1. 藻類の生長曲線

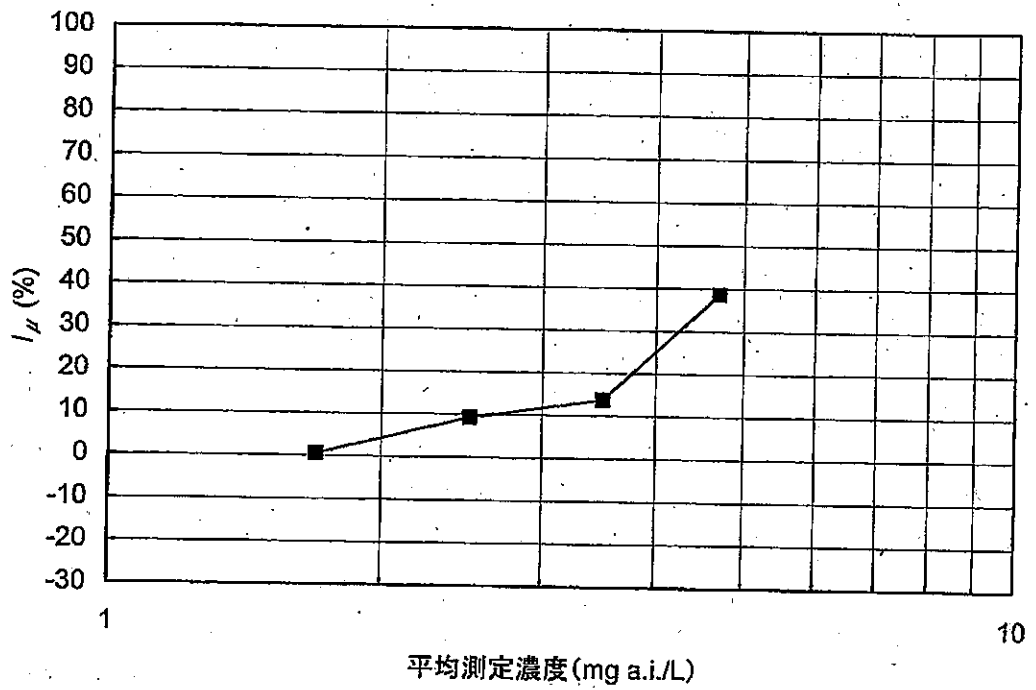


図2. 2,5-ジメチルヘキサ-2,4-ジエンに暴露された藻類(*P. subcapitata*)の濃度-阻害率曲線

表 1. 2,5-ジメチルヘキサ-2,4-ジエンの試験液中濃度

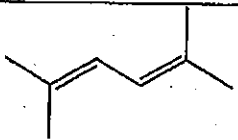
設定濃度 (mg a.i./L)	測定濃度 (mg a.i./L)				
	0 時間	24 時間	48 時間	72 時間	平均値
助剤対照区	<0.050	<0.050	<0.050	<0.050	—
無処理対照区	<0.050	<0.050	<0.050	<0.050	—
9.5	8.8 [93]	1.2 [13]	1.0 [11]	0.87 [9.2]	1.7 [18]
14	14 [100]	1.5 [11]	1.6 [11]	1.2 [8.6]	2.5 [18]
20	18 [90]	2.2 [11]	1.8 [9.0]	2.0 [10]	3.5 [18]
30	22 [73]	3.3 [11]	2.5 [8.3]	2.7 [9.0]	4.7 [16]

[]: 設定に対する割合 (%)

[様式 8]

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)	2,5-ジメチルヘキサ-2,4-ジエン		
別 名	2,5-ジメチル-2,4-ヘキサジエン ジイソクロチル		
C A S 番 号	764-13-6		
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)			
分 子 量	110.20		
試験に供した新規 化学物質の純度(%)	97.0		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	GG02		
不 純 物 の 名 称 及 び 含 有 率	MEHQ(ヒドロキノンモノメチルエーテル; 安定剤として)		
蒸 気 圧	1.0 kPa(20°C)		
対 水 溶 解 度	32 mg/L(25°C)		
1-オクタノール/水分配係数	3.5		
融 点	10°C		
沸 点	135°C		
常温における性状	無色透明液体		
安 定 性	重合する恐れがある		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	メノール	可溶	—

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	<p>分析試料を適宜アセトニトリルで希釈したものを分析試料溶液とし、HPLC に注入して被験物質を定量した。以下の式により被験物質濃度を算出した。</p> <p>濃度(mg a.i./L)=分析試料溶液の 2,5-ジメチルヘキサ-2,4-ジエン濃度×希釈倍率×2[*]</p> <p>(*: 分析試料の揮発を防ぐため、採取時に試験液と等量のアセトニトリルで希釈したため)</p> <p>サンプリング: 全試験区 頻度: 暴露開始時および終了時 サンプリング量: 8.0 mL サンプリング法: 試験液を攪拌することなく中層から採取</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 暴露開始時: 分析および水質測定用に別途調製した試験液から採取。 ・ 暴露終了時: 試験区毎に全連の中層から試験液を 2.0 mL ずつ採取。それぞれ、あらかじめアセトニトリル 8.0 mL を分注しておいたバイアルに速やかに添加して測定用試料(計 16.0 mL)とした。
前処理法	適宜アセトニトリルで希釈した。
定量条件	<p>装置(HPLC): L-7000システム 日立製作所製 データ処理装置: D-7000 日立製作所製 カラム: L-column ODS(5 μm, 4.6 mm I.D×150 mm) カラム温度: 40°C 移動相: メタノール:超純水= 90:10 流量: 1.0 mL/min 波長: UV 230 nm 感度: 1 AU/V 注入量: 40.0 μL 定量限界: 0.050 mg a.i./L 平均回収率: 0.05 mg a.i./L(91%)、30 mg a.i./L(102%)</p>

3. 試験材料及び方法

項目		内容	
試験生物	種(和名・系統・時間齢)	オオミジンコ(<i>Daphnia magna</i>) 24 時間未満齢	
	入手先	独立行政法人 国立環境研究所 (元環境庁国立環境研究所)	
	対照物質への感受性 (EC ₅₀) (対照物質名)	48 時間 EC ₅₀ =0.89 mg/L 重クロム酸カリウム(関東化学㈱製、試薬特級)	
飼育	飼育水の種類	人工調製水 Elendt M4	
	環境条件(水温、明暗周期)	水温: 20±1°C 明暗周期: 16 時間明/8 時間暗(室内光)	
試験条件	試験容器		100 mL 容ガラス製栓付ビン
	試験用水	種類	人工調製水 Elendt M4
		硬度	250 mg/L(CaCO ₃ 換算)
		pH	8.1
	暴露期間		本試験: 2009 年 3 月 3 日~2009 年 3 月 5 日
	試験濃度(設定値)		1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10 mg a.i./L 公比 1.8(=√10)
	供試数		20 頭/試験区(5 頭/容器×4 連)
	連数	試験濃度区	4 連
		対照区	4 連
	試験溶液量		135 mL/試験容器
	助剤	助剤の有無	有
		種類	N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)
		濃度	100 μL/L
		助剤対照区の連数	4 連
	試験方式		止水式、密閉系
	換水又は流水条件		—
	水温		19.8~19.9°C(実測値)
	溶存酸素濃度(DO)		8.6~8.8 mg/L(実測値)
	明暗周期		16 時間明/8 時間暗 室内光(190~356 lux*, 実測値) (*: 試験容器が栓付ビンのため、同じ栓を 照度計にかざした状態で測定)
	結果の算出 方法	EC ₅₀	Probit 法

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	48時間 EC ₅₀ = 4.2 mg a.i./L
試験濃度	実測値
考察及び特記事項	<ul style="list-style-type: none"> 被験物質が揮発性を有したため、試験容器を試験液で満たした密閉容器を使用し、試験容器毎に試験液を調製した。 その際、被験物質を希釈水に直接添加する方法では、秤量精度の観点から低濃度区の試験液の調製が困難であったため、助剤としてDMFを用いて試験原液を調製することとした。 試験液中の被験物質濃度は測定濃度の平均値を採用した。 試験の有効性については基準値を満たしており、本試験はガイドラインに準じて適切に行われたと判断した。

5. ミジノコの濃度—遊泳阻害率曲線

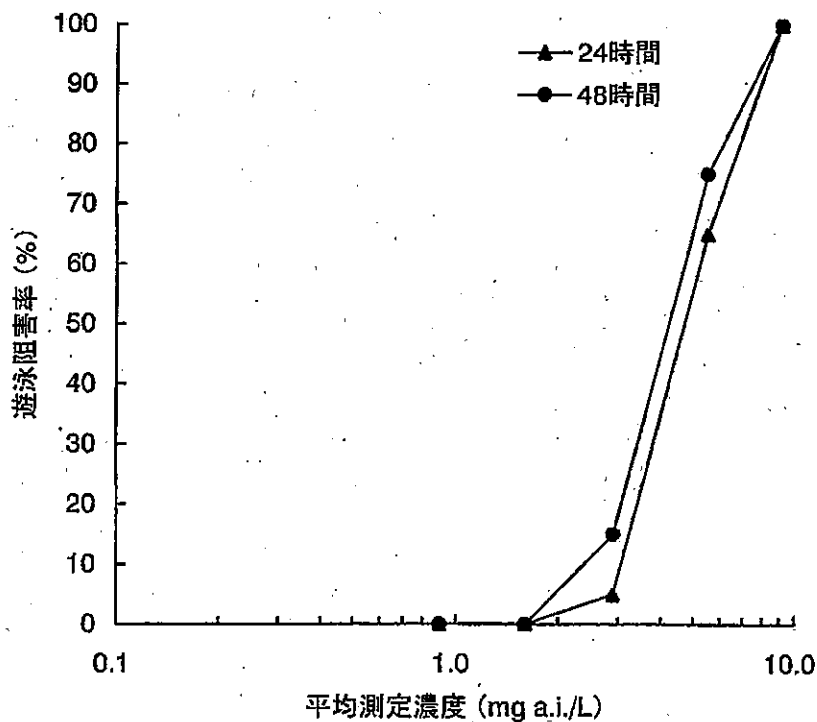


表 1. 2,5-ジメチルヘキサ-2,4-ジエンの試験液中濃度

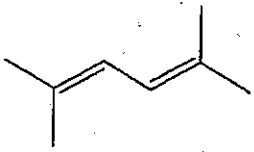
設定濃度 (mg a.i./L)	測定濃度 (mg a.i./L)		
	0 時間	48 時間	平均値
無処理対照区	<0.050	<0.050	—
助剤対照区	<0.050	<0.050	—
1.0	0.98 [98]	0.82 [82]	0.90 [90]
1.8	1.7 [94]	1.5 [83]	1.6 [89]
3.2	3.0 [94]	2.9 [91]	2.9 [91]
5.6	5.9 [105]	5.1 [91]	5.5 [98]
10	9.5 [95]	8.7 [87]	9.1 [91]

[]: 設定に対する割合(%)

[様式9]

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)	2,5-ジメチルヘキサ-2,4-ジエン		
別名	2,5-ジメチル-2,4-ヘキサジエン、ジイソクロチル		
C A S 番号	764-13-6		
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)			
分子量	110.20		
試験に供した新規化学物質の純度(%)	97.0		
試験に供した新規化学物質のロット番号	GG02		
不純物の名称及び含有率	MEHQ(ヒドロキノンモノメチルエーテル; 安定剤として)		
蒸気圧	1.0 kPa(20°C)		
対水溶解度	32 mg/L(25°C)		
1-オクタノール/水分配係数	3.5		
融点	10°C		
沸点	135°C		
常温における性状	無色透明液体		
安定性	重合する恐れがある		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	メタノール	可溶	-

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	<p>分析試料を適宜アセトニトリルで希釈したものを分析試料溶液とし、HPLCに注入して被験物質を定量した。以下の式により被験物質濃度を算出した。 濃度 (mg a.i./L) = 分析試料溶液の被験物質濃度 × 希釈倍率 × 2*</p> <p>* 分析試料の揮発を防ぐため、採取時に試験液と等量のアセトニトリルで希釈したため</p> <p>サンプリング: 全試験区 頻度: 暴露開始時と終了時を含めた換水前後の 2 セットについて測定 (0 および 24 時間、72 および 96 時間) サンプリング量: 4.0 mL (2.0 mL/試験容器 × 2 連) サンプリング法: 試験液を攪拌することなく、2連の中層から採取あらかじめアセトニトリル 4.0 mL を分注しておいたバイアルに速やかに添加して測定用試料 (計 8.0 mL) とした。</p>
前処理法	適宜アセトニトリルで希釈した。
定量条件	<p>装置 (HPLC): L-7000 システム 日立製作所製 データ処理装置: D-7000 日立製作所製 カラム: L-column ODS (5μm, 4.6mm I.D. × 150mm) カラム温度: 40°C 移動相: メタノール: 水 = 90:10 流量: 1.0 mL/min 波長: UV230nm 感度: 1AU/V 注入量: 40.0μL 定量限界: 0.050 mg a.i./L 平均回収率: 0.050 mg a.i./L (91%)、30 mg a.i./L (102%)</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)	メダカ(<i>Oryzias latipes</i>)	
	入手先	自家繁殖	
	大きさ(全長、体重)・月齢	全長: 2.5 cm (2.3~2.6 cm), n=20 体重: 0.12 g (0.10~0.15 g), n=20 齢: 成魚	
	対照物質への感受性 (LC ₅₀) (対照物質名)	96 時間 LC50: 0.99 mg/L 硫酸銅(Ⅱ)五水和物(関東化学(株)製 試薬特級)	
じゅん化	じゅん化期間	12日間以上	
	飼育水の種類	脱塩素水道水	
	じゅん化前の薬浴の有無	薬浴せず	
	じゅん化方式(止水、半止水、流水等)	流水循環濾過式	
	環境条件(水温、明暗周期)	23±2°C、16 時間明/8 時間暗	
	餌料(種類・量・頻度等)	テトラミン®・体重の約 2%/日	
試験条件	試験容器		5 L 容ガラス製栓付ビン
	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	50 mg (CaCO ₃)/L
		pH	7.6
	暴露期間		2009年3月2日~2009年3月6日
	試験濃度(設定値)		1.0, 1.5, 2.2および3.2 mg a.i./L 公比: 1.5(= $\sqrt[3]{10}$)
	供試数		10尾/試験容器
	試験溶液量		約5.6~5.8 L/試験容器
	助剤	助剤の有無	有
		種類	N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)
		濃度	100 μL/L
	試験方式(止水、半止水、流水等)		半止水、密閉系
	換水又は流水条件		24時間換水
	水温		23±2°C
	溶存酸素濃度(DO)		7.0~8.4 mg/L
明暗周期		16時間明/8時間暗	
結果の算出 方法	LC ₅₀	Moving average法	

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	96h-LC ₅₀ = 2.6 mg a.i./L
試験濃度	実測値
考察及び特記事項	<ul style="list-style-type: none"> ・被験物質が揮発性を有したため、試験容器を試験液で満たした密閉容器を使用した。 ・その際、被験物質を希釈水に直接添加する方法では、秤量精度の観点から低濃度区の試験液の調製が困難であったため、助剤としてDMFを用いて試験原液を調製することとした。 ・試験液中の被験物質濃度は測定濃度の平均値を採用した。 ・試験の有効性については基準値を満たしており、本試験はガイドラインに準じて適切に行われたと判断した。

5. 魚類の濃度-死亡率曲線

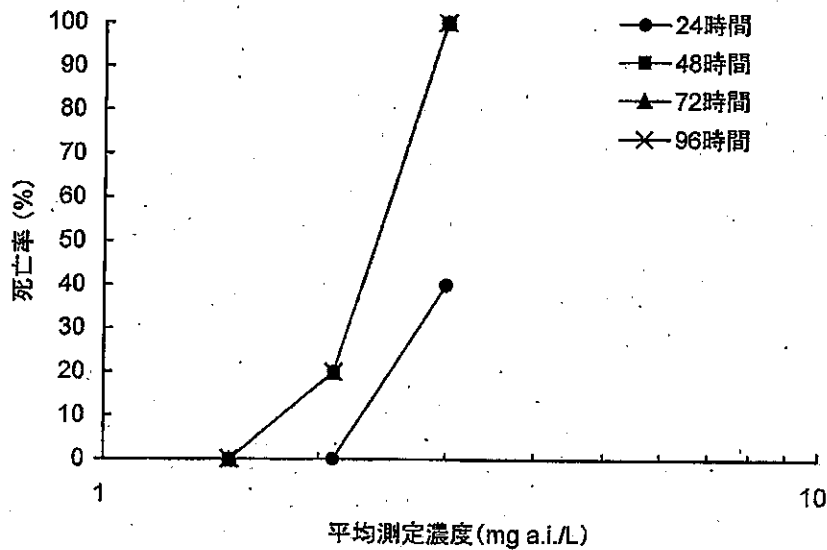


表 1. 2, 5-ジメチルヘキサ-2, 4-ジエンの試験液中濃度

設定濃度 (mg a.i./L)	測定濃度 (mg a.i./L)				平均値
	0 時間	24 時間	72 時間	96 時間	
	新	旧	新	旧	
無処理対照区	<0.050	<0.050	<0.050	<0.050	—
助剤対照区	<0.050	<0.050	<0.050	<0.050	—
1.0	0.93 [93]	0.95 [95]	0.99 [99]	0.99 [99]	0.97 [97]
1.5	1.5 [100]	1.4 [93]	1.5 [100]	1.5 [100]	1.5 [100]
2.2	1.9 [86]	1.9 [86]	2.2 [100]	2.2 [100]	2.1 [95]
3.2	3.1 [97]	3.1 [97]	— [—]	— [—]	3.1 [97]

新: 調製時

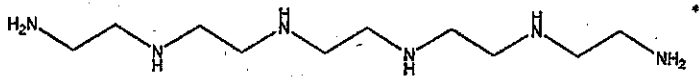
旧: 調製 24 時間後

[]: 設定濃度に対する割合 (%)

—: 全個体死亡のため分析せず

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	ペンタエチレンヘキサミン ^{*1}		
別名	(略称：PEHA) ^{*2}		
CAS番号	4067-16-7 ^{*1}		
構造式又は示性式			
分子量	232.376 ^{*3}		
試験に供した物質の純度(%)	83.5 (with HClO ₄)		
試験に供した物質のロット番号	08124MD		
不純物の名称及び含有率	—		
蒸気圧	—		
対水溶解度	—		
1-オクタノール/水分配係数	—		
融点	—		
沸点	—		
常温における性状	黄色粘性液体		
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
	—	—	—

上記内容は Sigma-Aldrich Corporation 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 当施設にて決定。

*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	高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC/MS) 法
前処理法	<p>暴露開始時</p> <p>分析用に用意した試験液を培地で 0.05 mg/L または 0.2 mg/L 付近に適宜希釈し、下記の方法で 400 倍または 100 倍濃縮して分析した。</p> <p>800 mL (対照区, 濃度区 1 および濃度区 2) または 200 mL (濃度区 3~6) 採取</p> <p>←試験液の 1/50 容の 0.5 mol/L ヘプタフルオロ酪酸を添加 エムポアディスク C18, 47 mm (予めアセトン約 5 mL, 精製水約 50 mL でコンディショニングしたもの) に減圧下で通水 (通過液は廃棄)</p> <p>↓</p> <p>アセトン 20 mL で溶出</p> <p>↓</p> <p>ロータリーエバポレータ^{*1} で濃縮・乾固 (浴温約 45°C)</p> <p>↓</p> <p>精製水 2 mL に溶解</p> <p>↓</p> <p>0.3 mL 採取 (適宜希釈^{*2})</p> <p>←0.5 mol/L ヘプタフルオロ酪酸 0.3 mL 添加 混合</p> <p>↓</p> <p>分析試料</p> <p>↓</p> <p>LC/MS測定</p> <p>^{*1}: 柴田科学機械工業製 RE-111型 ヤマト科学製 RE-400型</p> <p>^{*2}: 濃縮操作後, 検量線範囲を超えると予想されるものは精製水で希釈</p> <p>暴露開始後 72時間</p> <p>分析試料採取用容器から試験培養液を採取</p> <p>↓</p> <p>遠心分離^{*1}</p> <p>↓</p> <p>上澄み採取</p> <p>↓</p> <p>必要に応じて培地を添加し適宜希釈</p> <p>↓</p> <p>800 mL (対照区および濃度区 3) または 200 mL (濃度区 4~6) 採取</p> <p>←試験培養液の 1/50 容の 0.5 mol/L ヘプタフルオロ酪酸を添加</p>

	<p>エムポアディスク C18, 47 mm (予めアセトン約 5 mL, 精製水約 50 mL でコンディショニングしたもの) に減圧下で通水 (通過液は廃棄)</p> <p> </p> <p>アセトン 20 mL で溶出</p> <p> </p> <p>ロータリーエバポレータ*2 で濃縮・乾固 (浴温約 45°C)</p> <p> </p> <p>精製水 2 mL に溶解</p> <p> </p> <p>0.3 mL 採取 (適宜希釈*3)</p> <p> ←0.5 mol/L ヘプタフルオロ酪酸 0.3 mL 添加</p> <p>混合</p> <p> </p> <p>分析試料</p> <p> </p> <p>LC/MS測定</p> <p>*1 : 3000 rpm, 10 分間, 装置 : 日立工機製 CR21E 型</p> <p>*2 : 柴田科学機械工業製 RE-111 型 ヤマト科学製 RE-400型</p> <p>*3 : 濃縮操作後, 検量線範囲を超えると予想されるものは精製水で希釈</p>
<p>定量条件</p>	<p>別紙-1 参照</p>