

3. 試験材料及び方法

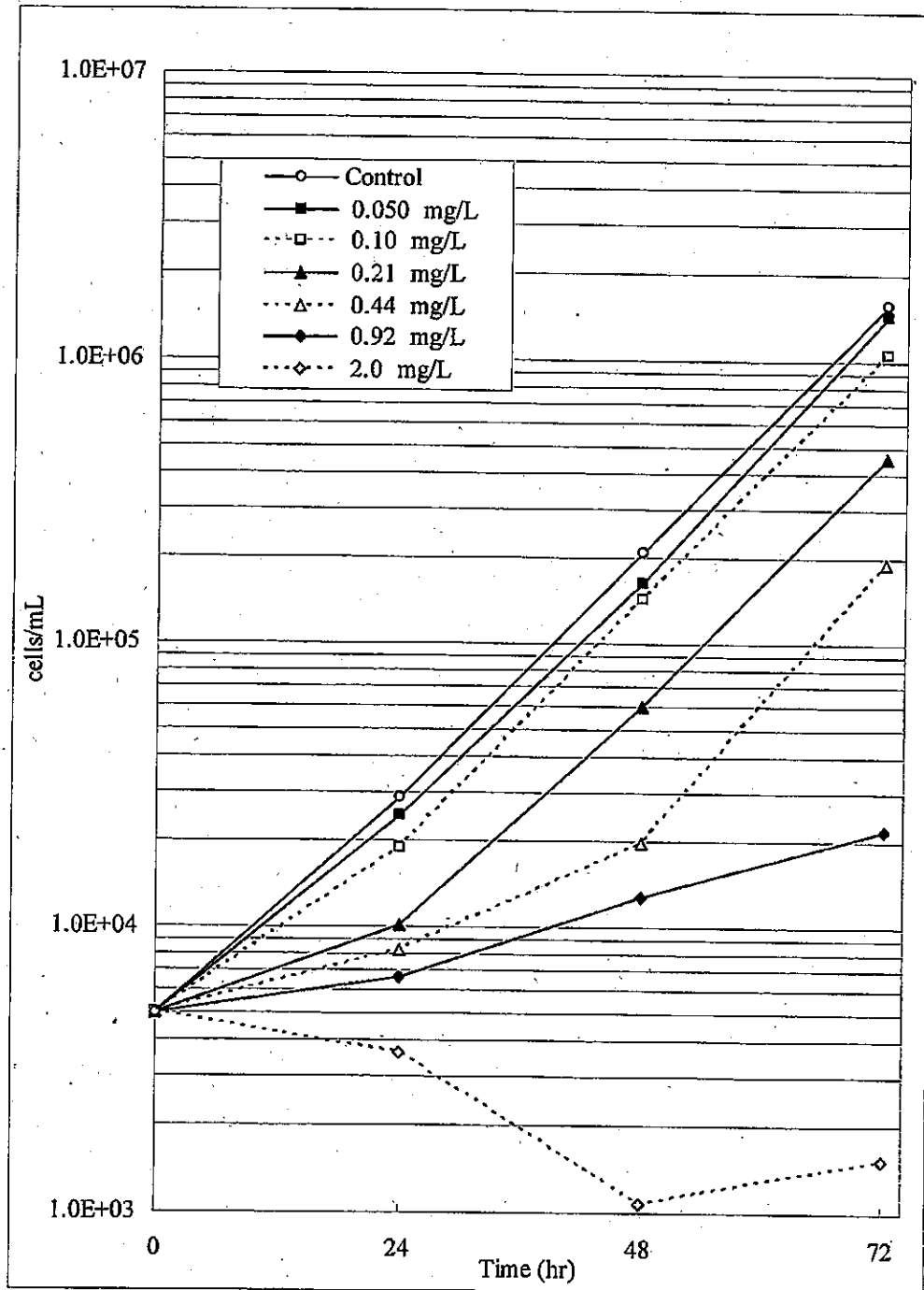
項 目		内 容	
試験生物	種 (学名・株名)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> ATCC22662	
	入手先	American Type Culture Collection	
	対照物質への感受性 (EC50) (対照物質名)	72時間 ErC50 = 0.823 ± 0.0871 mg/L, n=18 重クロム酸カリウム, 試薬特級	
前培養	前培養の期間	2009年 3月13日 ~ 2009年 3月16日	
	培地名	試験ガイドライン推奨培地	
	環境条件 (水温, 光強度)	22°C, 65~75 μE/m ² /s	
試験条件	試験容器	300 mLガラス製三角フラスコ (IWAKI製) (通気性シリコン栓付)	
	培地名	試験ガイドライン推奨培地	
	暴露期間	2009年 3月16日~2009年 3月19日	
	試験濃度 (設定値)	対照区, 0.050, 0.10, 0.21, 0.44, 0.92, 2.0 mg/L 公比: 2.1	
	初期細胞濃度	5×10 ³ 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	無
		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)	止水式 (開放系), 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)	65~75 μE/m ² /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	<p>暴露開始時の測定値により算出した結果</p> <p>ErC50(0-72h) : 0.508 mg/L (95%信頼区間：算出不可)</p> <p>NOECr(0-72h) : 0.0863 mg/L</p> <p>〔純度換算値〕</p> <p>ErC50(0-72h) : 0.424 mg/L (95%信頼区間：算出不可)</p> <p>NOECr(0-72h) : 0.0721 mg/L</p>
試験濃度	1. 設定値 ②. 実測値
考察及び特記事項	<p>暴露開始時の被験物質濃度は、全ての濃度区において設定値の80%以上であった。暴露開始後72時間では、0.050および0.10 mg/L濃度区（濃度区1および2）は分析しなかった。また、21 mg/L濃度区（濃度区3）が0.030 mg/L（検出限界）未満、0.44および0.92 mg/L濃度区（濃度区4および5）が、それぞれ0.112および0.317 mg/Lであり、被験物質濃度の減少が認められた。一方、2.0 mg/L濃度区（濃度区6）は、2.03 mg/Lであり、暴露期間中、濃度を維持した。主な減少理由としては、試験培養液中で正に荷電している被験物質の負に荷電している藻類への吸着が推察された。</p> <p>上記毒性値の算出には、暴露開始時の測定値を用いた。また、時間加重平均値により算出した結果、ErC50(0-72h)=0.300 mg/L (95%信頼区間：算出不可)であり、純度換算値では、ErC50(0-72h)=0.251 mg/L (95%信頼区間：算出不可)であった。</p>

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_{μ} values Calculated from the Growth Rates

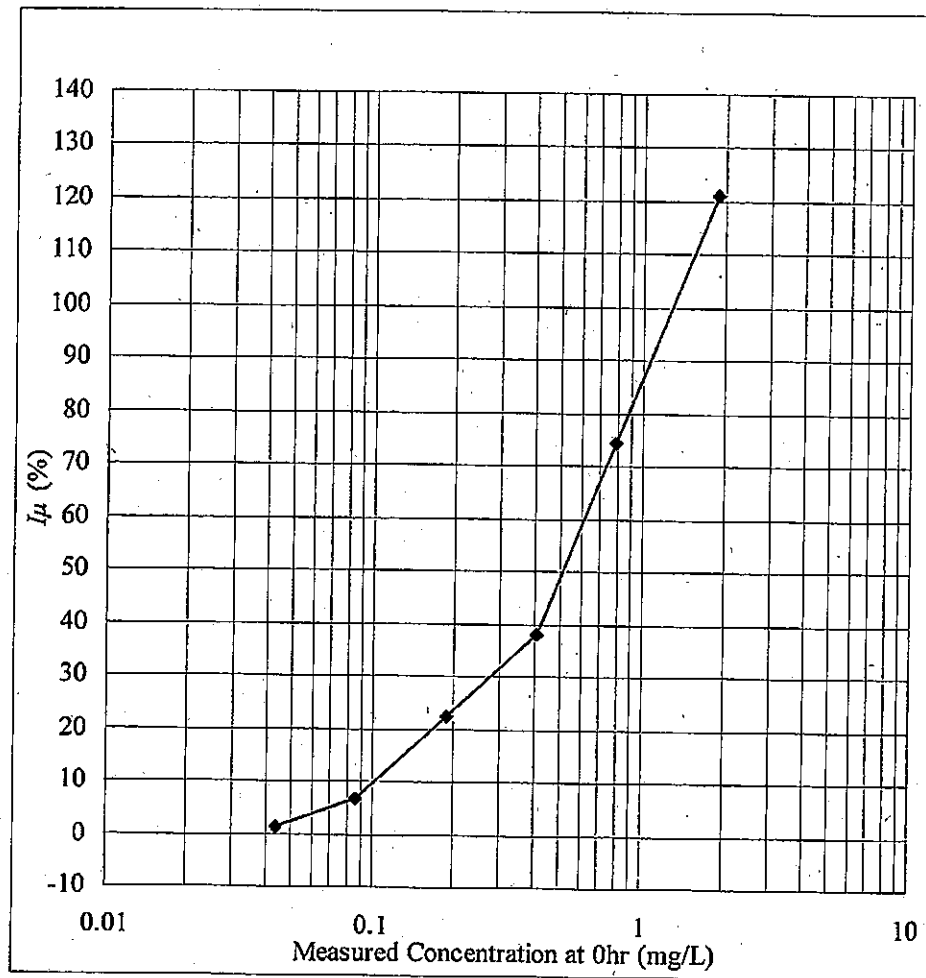


Table 4 Measured Concentration of the Test Substance in Test Cultures

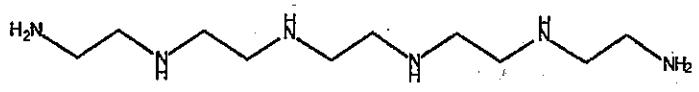
Test Group	Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L) (Percent of Nominal)		Mean ^a Measured Concentration (mg/L) (Percent of Nominal)
		0 Hour	72 Hours	
Control	--	<0.03	<0.03	---
Conc.1	0.050	0.0434	--*	---
		(87)	--	---
Conc.2	0.10	0.0863	--*	---
		(86)	--	---
Conc.3	0.21	0.188	<0.03	---
		(90)	--	---
Conc.4	0.44	0.406	0.112	0.228
		(92)	(25)	(52)
Conc.5	0.92	0.795	0.317	0.520
		(86)	(34)	(57)
Conc.6	2.0	1.87	2.03	1.95
		(94)	(102)	(98)

a : Time weighted mean

* : Not analyzed

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	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	 ^{*3}		
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 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	高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC/MS) 法
前処理法	<p>試験液を以下のいずれかの方法で分析した。</p> <p>①試験濃度 (測定値) が 8.00 mg/L 以上になると予想された場合 (濃縮操作なし)</p> <p>試験液 0.3 mL 採取 ←0.5 mol/L ヘプタフルオロ酪酸 0.3 mL 添加 混合 LC/MS測定</p> <p>②試験濃度 (測定値) が 8.00 mg/L 未満になると予想された場合 (濃縮操作あり)</p> <p>試験液 9~100 mL 採取 2個連結した Sep-Pak plus Accell CM (予めメタノール約 5 mL, 精製水*1 約 5 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) 2%ギ酸水溶液 2.5~5 mL で溶出 0.3 mL 採取 (適宜希釈*2) ←0.5 mol/L ヘプタフルオロ酪酸 0.3 mL 添加 混合 LC/MS測定</p> <p>*1: JIS K0557 A4 グレードの水 *2: 濃縮操作後, 検量線範囲を超えると予想されたものは精製水で希釈</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・系統・時間齢)	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i> ・24 時間以内齢)	
	入手先	環境庁国立環境研究所 (現：独立行政法人国立環境研究所)	
	対照物質への感受性 (EC50) (対照物質名)	48 時間 EC50=0.74±0.13 mg/L, n=21 重カルシウム酸カリウム, 試薬特級	
飼育	飼育水の種類	Elendt M4 medium (OECD Guideline for Testing of Chemicals 202 (2004) “ <i>Daphnia</i> sp., Acute Immobilisation Test” に記載されている調製水) で飼育後, 脱塩素水道水で 48 時間以上飼育	
	環境条件 (水温, 明暗周期)	20±1 °C 16 時間明 (800 lux以下) / 8 時間暗	
試験条件	試験容器		100 mL ガラス製ビーカー (蓋：テフロンシート)
	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 CaCO ₃ /L 以下
		pH	調整なし：対照区, 濃度区 1～5 (変動は 1.5 未満) 調整あり：濃度区 6～10, pHを対照区と同等に調整 (6.0～9.0, 変動は1.5未満)
	暴露期間		2008 年 11 月 26 日～2008 年 11 月 28 日
	試験濃度 (設定値)		pH調整なし：対照区, 1.5, 2.9, 5.5, 10, 20 mg/L (公比 1.9) pH調整あり：1.5, 2.9, 5.5, 10, 20 mg/L (公比 1.9)
	供試数		20 頭/試験区
	連数	試験濃度区	4 容器
		対照区	4 容器
	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, 半止水, 流水等)		止水式
換水又は流水条件		—	
水温		20±1 °C	
溶存酸素濃度 (DO)		3 mg/L 以上	
明暗周期		16 時間明 (800 lux以下) / 8 時間暗	

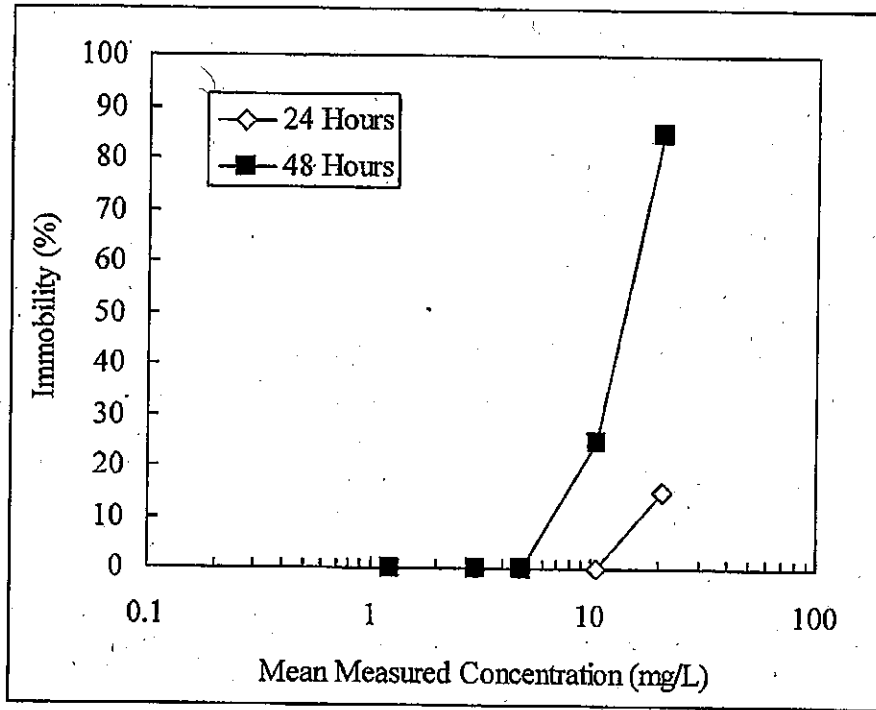
結果の算出方法	EC50	pH調整なし：Probit法 (Probit法, Moving average法, Binomial法での算出結果から適切と判断されたものを採用) pH調整あり：Binomial法 (Probit法, Moving average法, Binomial法での算出結果から適切と判断されたものを採用)
---------	------	--

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	pH調整なし：48hEC50 = 13.8 mg/L [純度換算値：11.5 mg/L] pH調整あり：48hEC50 = 9.57 mg/L [純度換算値：7.99 mg/L]
試験濃度	1. 設定値 (2.) 実測値
考察及び特記事項	被験物質に起因するpHの変動が予測されたため、pHを調整する試験区も設けた。また、純度による被験物質濃度の補正を行わず試験を実施し、それで得られた結果と、その結果を純度換算した結果とを合わせて記載した。

5. ミジノコの濃度-遊泳阻害率曲線

1) 濃度区1~5 (pH調整なし) :



2) 濃度区6~10 (pH調整あり) :

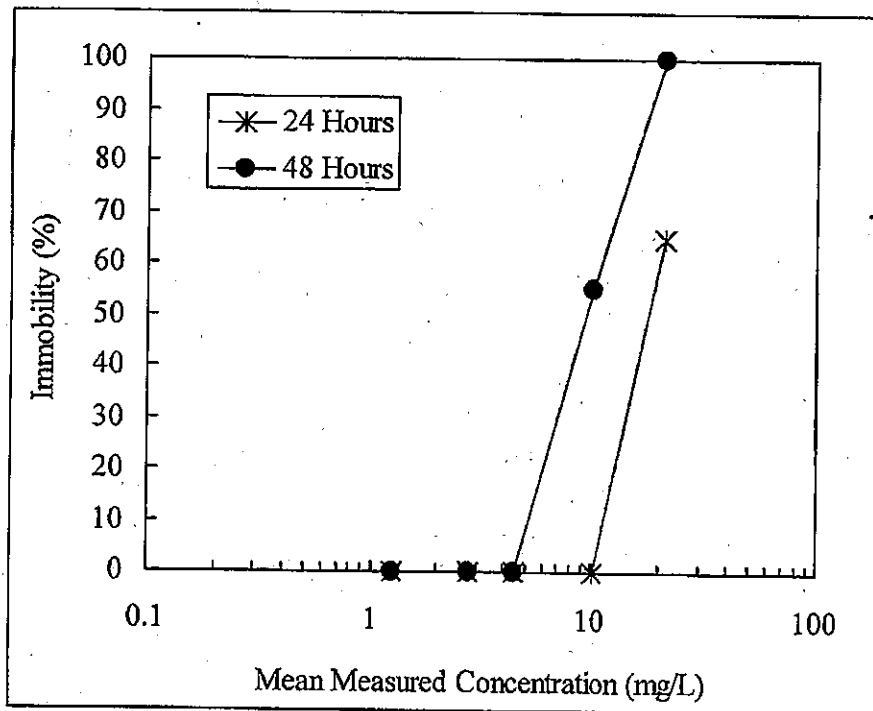


Table 5 Measured Concentrations of the Test Substance in Test Solutions

(Static Condition)

Test Group	Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)		
		0 Hour New	48 Hours Old	Mean ^a
		(Percent of Nominal, %)		
Control	--	<0.5	<0.5	--
Conc.1	1.5	1.24 (83)	1.22 (81)	1.23 (82)
Conc.2	2.9	3.10 (107)	2.91 (100)	3.00 (103)
Conc.3	5.5	5.12 (93)	4.62 (84)	4.87 (89)
Conc.4	10	9.65 (97)	11.4 (114)	10.5 (105)
Conc.5	20	19.5 (98)	22.1 (111)	20.8 (104)
Conc.6	1.5	1.21 (81)	1.29 (86)	1.25 (83)
Conc.7	2.9	2.90 (100)	2.63 (91)	2.76 (95)
Conc.8	5.5	4.43 (81)	4.45 (81)	4.44 (81)
Conc.9	10	9.19 (92)	11.1 (111)	10.1 (101)
Conc.10	20	20.0 (100)	22.6 (113)	21.3 (107)

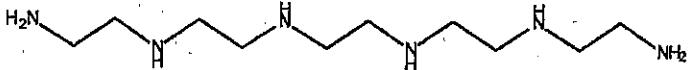
a: Time-weighted mean

New: New test water freshly prepared

Old: Old test water at the end of the exposure

魚類急性毒性試験結果報告書

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 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	高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC/MS) 法
前処理法	試験液を以下の方法で分析した。 試験液 (適宜希釈*) 0.3 mL 採取 ←0.5 mol/L ヘプタフルオロ酪酸 0.3 mL 添加 混合 LC/MS測定 *1: 検量線範囲を超えると予想されたものは精製水で希釈
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 (和名・学名・系統)	ヒメダカ (<i>Oryzias latipes</i>)
	入手先	北村養鯉場 (熊本県八代市郡築 12 番町 388 番地)
	大きさ (体長, 体重) ・月齢	全長: 2.97 cm (2.58~3.52* cm), n=10 *: 1 尾のみ推奨全長を超えたが, 試験結果には影響を及ぼさないと判断した。 体重: 0.205 g (0.113~0.406 g), n=10 年齢: 孵化後 1 年以内
	対照物質への感受性 (LC50) (対照物質名)	96 時間半数致死濃度 (LC50) = 0.35 mg/L (無水物換算値) 硫酸銅 (II) 五水和物
じゅん化	じゅん化期間	2008 年 11 月 28 日 ~ 2008 年 12 月 15 日
	飼育水の種類	脱塩素水道水
	じゅん化前の薬浴の有無	有 (塩事業センター製 食塩)
	じゅん化方式 (止水, 半止水, 流水等)	流水式 (供試魚 1 g あたり 1 L / 日 以上)
	環境条件 (水温, 明暗周期)	24 ± 1 °C 16 時間明 (1000 lux 以下) / 8 時間暗
	飼料 (種類・量・頻度等)	テトラ社製 テトラミン 魚体重の約 2% / 日 (暴露開始の 24 時間前からは無給餌)
	試験条件	試験容器
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	52 mg CaCO ₃ /L
	pH	7.5
	暴露期間	2008 年 12 月 15 日 ~ 2008 年 12 月 19 日
	試験濃度 (設定値)	pH 調整無し: 対照区, 200, 420, 890, 1900, 4000 mg/L (公比 2.1) pH 調整有り: 20, 42, 89, 190, 400 mg/L (公比 2.1)
	供試数	10 尾 / 試験区
	試験溶液量	5.0 L / 容器
助剤	助剤の有無	無
	種類	—
	濃度	—
	試験方式 (止水, 半止水, 流水等)	半止水式
	換水又は流水条件	48 時間後に試験液の全量を交換
	水温	24 ± 1 °C
	溶存酸素濃度 (DO)	飽和酸素濃度の 60% 以上
	明暗周期	16 時間明 (1000 lux 以下) / 8 時間暗

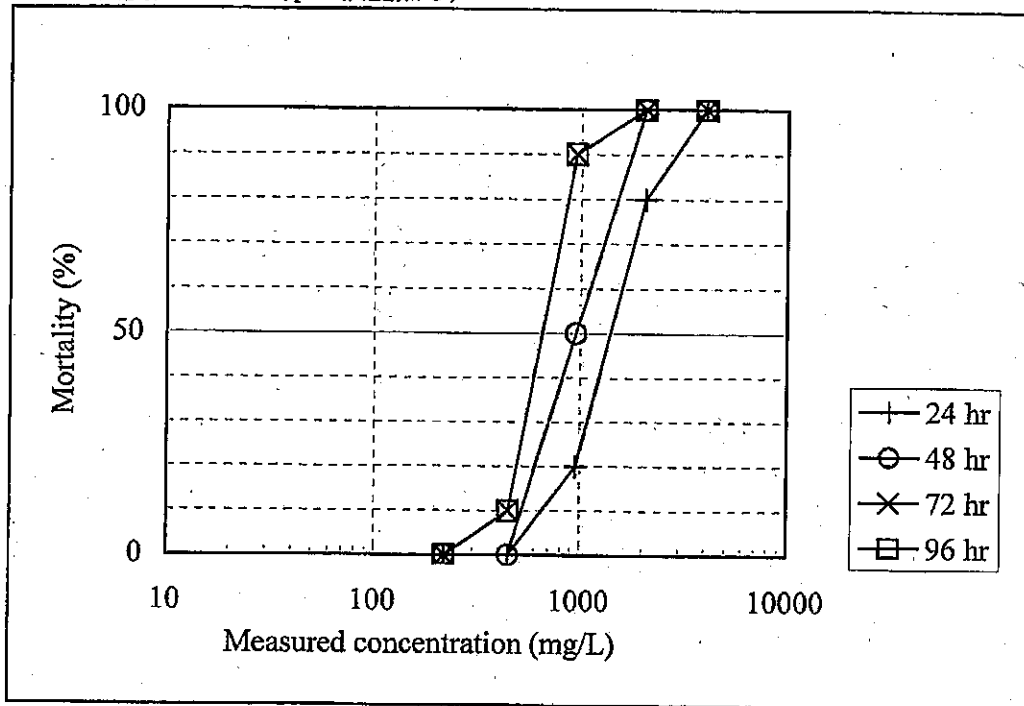
結果の 算出方法	LC50	pH調整無し：Probit法 pH調整有り：Probit法 (Probit法, Moving average法, Binomial法での算出 結果から適切と判断されたものを採用)
-------------	------	--

4. 試験結果及び考察

項目	内容
毒性値	pH調整無し：96hLC50 = 653 mg/L [純度換算値：545 mg/L] pH調整有り：96hLC50 = 254 mg/L [純度換算値：212 mg/L]
試験濃度	1. 設定値 ②. 実測値
考察及び 特記事項	被験物質に起因するpHの変動が予測されたため、pHを調整しない通常の試験に加え、pHを調整する試験も実施し、両条件下で毒性を評価した。試験液のpHは7.4~10.9であり、濃度区1~5 (pH調整無し) では被験物質に起因したpHの変動が認められ、濃度区6~10 (pH調整有り) では対照区と同等のpHであった。 また、純度による被験物質濃度の補正を行わず試験を実施し、それで得られた結果と、その結果を元に純度換算した値とを合わせて記載した。

5. 魚類の濃度-死亡率曲線

1) 濃度区1~5 (pH調整無し)



2) 濃度区6~10 (pH調整有り)

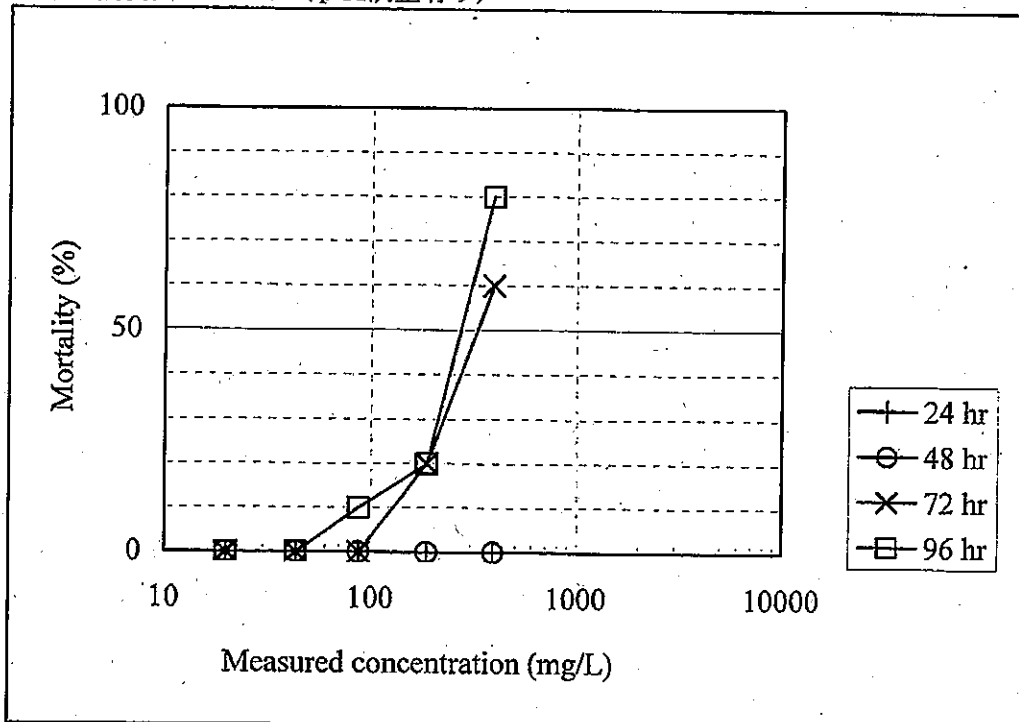


Table 5 Measured Concentrations of the Test Substance in Test Water

Test group	Nominal conc. (mg/L)	Measured concentration (mg/L)						
		0 hr	24 hr	48 hr		72 hr	96 hr	Mean
				Old	New			
Control		<4		<4	<4		<4	
Conc.1	200	215		225 (105%)	207		232 (112%)	220 [110%]
Conc.2	420	438		443 (101%)	452		457 (101%)	447 [106%]
Conc.3	890	906		1010 (111%)	927		978 (106%)	955 [107%]
Conc.4	1900	2030		2100 (103%)	--		--	2060 [108%]
Conc.5	4000	4030	4050 (100%)	--	--		--	4040 [101%]
Conc.6	20	17.6		20.2 (115%)	20.6		21.6 (105%)	20.0 [100%]
Conc.7	42	38.2		47.1 (123%)	42.9		46.0 (107%)	43.5 [104%]
Conc.8	89	76.4		87.7 (115%)	91.8		93.4 (102%)	87.3 [98%]
Conc.9	190	167		183 (110%)	197		198 (101%)	186 [98%]
Conc.10	400	350		392 (112%)	392		423 (108%)	389 [97%]

New: New test water freshly prepared

Old: Old test water immediately prior to renewal

(): Percent of initial concentration, 0hr or 48hr New

Mean: Time weighted mean

[]: Percent of Nominal

--: Not measured because all fish were dead.