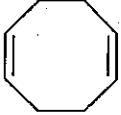


## ミジンコ急性遊泳阻害試験結果報告書

## 1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	1,5-シクロオクタジエン		
別 名	-		
C A S 番 号	111-78-4		
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)			分子式: C <sub>8</sub> H <sub>12</sub>
分 子 量	108.18		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.6% (GC)		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	DPL5810		
不 純 物 の 名 称 及 び 含 有 率	不明		
蒸 気 圧	-		
対 水 溶 解 度	不溶		
1-オクタール/水分配係数	log Pow 3.384		
融 点	-69°C		
沸 点	約 150°C		
常温における性状	ごくうすい黄色、澄明の液体		
安 定 性	光により変質する		
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	-

## 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>[分析試料のサンプリング]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・分析実施区：全試験区</li> <li>・分析頻度：暴露開始時、換水前後及び暴露終了時</li> <li>・採取量：約 150 mL (全試験区)</li> <li>・採取方法：暴露開始時及び換水後；調製容器より別途分取した。換水前及び暴露終了時；各試験区の試験容器の中層からそれぞれ均等量採取し、混合した。</li> </ul> <p>[被験物質の定量]</p> <p>ガスクロマトグラフィー (GC) を用い、濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた。</p>
前 処 理 法	<p>採取した試験液について、以下のフロースキームにより前処理操作を行い、GC 試料を調製した。</p> <p>フロースキーム</p> <pre> graph TD     A[試験液* 100 mL] --&gt; B[←塩化ナトリウム 30 g (電子上皿天びん) ←クロロホルム 8 mL (メスシリンダー) ・振とう (10 分間)]     B --&gt; C[水層]     B --&gt; D[クロロホルム層]     D --&gt; E[・ピーカーに入れたクロロホルム層をメスフラスコに移す ・定容 10 mL (クロロホルム, メスフラスコ)]     E --&gt; F[GC 試料]   </pre> <p>* そのまま若しくは脱塩素水道水で適宜希釈した試験液</p>

定 量 条 件	機 器	ガスクロマトグラフ Agilent Technologies 製 Agilent 7890A
	検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
	カ ラ ム	HP-5MS 膜厚 0.25 $\mu$ m (Agilent Technologies 製) 30 m $\times$ 0.25 mm I.D. フューズドシリカ製
	カ ラ ム 温 度	60°C (1 min) $\xrightarrow{\textcircled{1}}$ 100°C (0 min) $\xrightarrow{\textcircled{2}}$ 200°C (0 min)
	昇 温 速 度	$\textcircled{1}$ 10°C/min $\textcircled{2}$ 50°C/min
	試料導入部温度	200°C
	キャリアガス	ヘリウム
	カラム流量	1 mL/min
	水素	40 mL/min
	空気	450 mL/min
	注 入 量	1 $\mu$ L
	導 入 モード	スプリット
	スプリット比	5:1
	パーシ流量	20 mL/min
	パーシ時間	2 min
	検 出 器	
	検出器温度	200°C
検出器感度	レンジ 2 <sup>0</sup>	
平均回収率 : 94%		
定量下限値 : 0.053 mg/L		

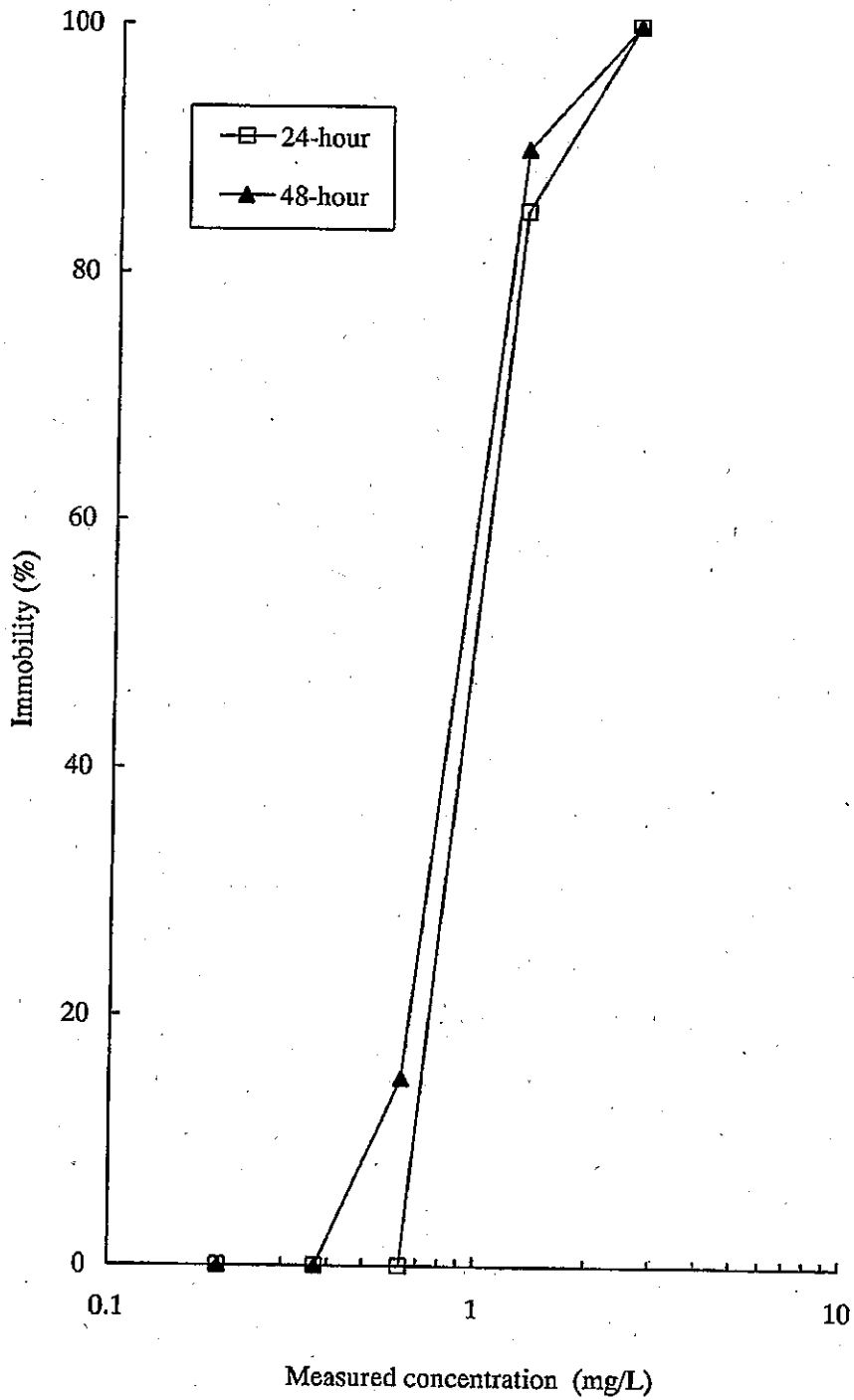
## 3. 試験材料及び方法

項 目		内 容	
試験生物	種 (学名・株名)	オオミジンコ ( <i>Daphnia magna</i> Clone A)	
	入手先	英国 Sheffield 大学 (所在地 Sheffield S10 2UQ, United Kingdom)	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	48hEC <sub>50</sub> : 0.31 mg/L ニクロム酸カリウム (和光純薬工業製 試薬特級)	
飼 育	飼育水の種類	脱塩素水道水	
	環境条件 (水温、明暗周期)	20±1℃ 16 時間明/8 時間暗 (室内灯)	
試験条件	試験容器	腰高シャーレ (内径 8.0 cm、深さ 5.0 cm) ガラス製の蓋を設置	
	試験用水	種類	脱塩素水道水
		硬度 (mg/L)	28
		pH	7.6 (22℃)
	暴露期間	2008 年 12 月 16 日～2008 年 12 月 18 日	
	試験濃度 (設定値)	5 濃度区 [試験原液の含有率が 4.0、2.0、1.0、0.50 及び 0.25% (公比 2.0)]	
	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	約 250 mL/試験容器	
	助剤	助剤の有無	無
		種類	—
		濃度	—
		助剤対照区の連数	—
	試験方式	半止水式、密閉系	
	換水又は流水条件	暴露開始 24 時間後に試験液の全量を交換	
水温	20±1℃		
溶存酸素濃度 (DO)	8.7 mg/L		
明暗周期	16 時間明/8 時間暗 (室内灯)		
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> : 0.87 mg/L (95%信頼限界 : 0.75~1.0 mg/L)
試 験 濃 度	測定濃度の幾何平均値
考 察 及 び 特 記 事 項	<p>試験用水への溶解度 (20±1℃) : 87 mg/L (予備試験での測定値)</p> <p>試験液の調製法 : 供試試料を 100 mg/L (設定) になるように添加後、密栓し約 24 時間攪拌後、約 1 時間静置して採取した中層液を用いて調製</p> <p>行動や外観の異常 : 嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度の低下</p> <p>試験は被験物質の試験用水への溶解濃度以下での試験生物に対する EC<sub>50</sub> を求める試験として行った。その結果、被験物質のオオミジンコに対する 48 時間 EC<sub>50</sub> は 0.87 mg/L であった。試験液中の被験物質濃度は調製濃度のほぼ±20%以内に保たれ、また、試験環境条件も適切な範囲内であったことから、試験は試験法に準じたものであったと判断される。</p>

## 5. ミジンコの濃度-遊泳阻害曲線



Appendix table 2-1 Measured concentrations of test item in test solutions

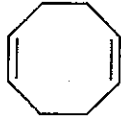
Stock solution content (%)	Measured concentration (mg/L) (Compared to concentration at each preparation <sup>a</sup> %)				
	At the start	24 hours		At the end	Geometric mean
		Before the renewal	After the renewal		
Control	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
0.25	0.21	0.19 (91)	0.20	0.20 (99)	0.20
0.50	0.35	0.32 (91)	0.42	0.40 (96)	0.37
1.0	0.66	0.65 (99)	0.62	0.59 (95)	0.63
2.0	1.3	1.2 (98)	1.3	1.2 (88)	1.3
4.0	3.1	2.0 (64)	2.8	2.5 (93)	2.6

n.d. : Not determined (<0.053 mg/L)

<sup>a</sup> At the start and after the renewal

## 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)	1,5-シクロオクタジエン		
別 名	—		
C A S 番 号	111-78-4		
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)			分子式: C <sub>8</sub> H <sub>12</sub>
分 子 量	108.18		
試験に供した新規 化学物質の純度 (%)	99.6% (GC)		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	DPL5810		
不 純 物 の 名 称 及 び 含 有 率	不明		
蒸 気 圧	—		
対 水 溶 解 度	不溶		
1-オクタノール/水分配係数	log Pow 3.384		
融 点	-69°C		
沸 点	約 150°C		
常温における性状	ごくうすい黄色、澄明の液体		
安 定 性	光により変質する		
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	—



## 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>[分析試料のサンプリング]</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・分析実施区：全試験区</li> <li>・分析頻度：暴露開始時、24時間後換水前、72時間後換水後及び暴露終了時</li> <li>・採取量：約100 mL (全試験区)</li> <li>・採取方法：暴露開始時及び72時間後換水後；調製容器より別途分取した。 24時間後換水前及び暴露終了時；各試験区の試験容器の中層からそれぞれ均等量採取し、混合した。</li> </ul> <p>[被験物質の定量]</p> <p>ガスクロマトグラフィー (GC) を用い、濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた。</p>
前 処 理 法	<p>採取した試験液について、以下のフロースキームにより前処理操作を行い、GC 試料を調製した。</p> <p>フロースキーム</p> <pre> graph TD     A[試験液* 40 mL] --&gt; B[水層]     A --&gt; C[クロロホルム層]     C --&gt; D[GC 試料]   </pre> <ul style="list-style-type: none"> <li>←塩化ナトリウム 12 g (電子上皿天びん)</li> <li>←クロロホルム 20 mL (メスシリンダー)</li> <li>・振とう (10 分間)</li> <li>・ピーカーに入れたクロロホルム層をメスフラスコに移す</li> <li>・定容 25 mL (クロロホルム, メスフラスコ)</li> </ul> <p>* そのまま若しくは脱塩素水道水で適宜希釈した試験液</p>

定 量 条 件	機 器	ガスクロマトグラフ Agilent Technologies 製 Agilent 7890A
	検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
	カ ラ ム	HP-5MS 膜厚 0.25 $\mu$ m (Agilent Technologies 製) 30 m $\times$ 0.25 mm I.D. フューズドシリカ製
	カ ラ ム 温 度	60 $^{\circ}$ C (1 min) $\xrightarrow{\textcircled{1}}$ 100 $^{\circ}$ C (0 min) $\xrightarrow{\textcircled{2}}$ 200 $^{\circ}$ C (0 min)
	昇 温 速 度	$\textcircled{1}$ 10 $^{\circ}$ C/min $\textcircled{2}$ 50 $^{\circ}$ C/min
	試料導入部温度	200 $^{\circ}$ C
	キャリアガス	ヘリウム
	カラム流量	1 mL/min
	水 素	40 mL/min
	空 気	450 mL/min
	注 入 量	1 $\mu$ L
	導 入 モ ー ド	スプリット
	スプリット比	5:1
	パージ流量	20 mL/min
	パージ時間	2 min
	検 出 器	
	検出器温度	200 $^{\circ}$ C
検出器感度	レンジ 2 $^{\circ}$	
	平均回収率 : 96%	
	定量下限値 : 0.33 mg/L	

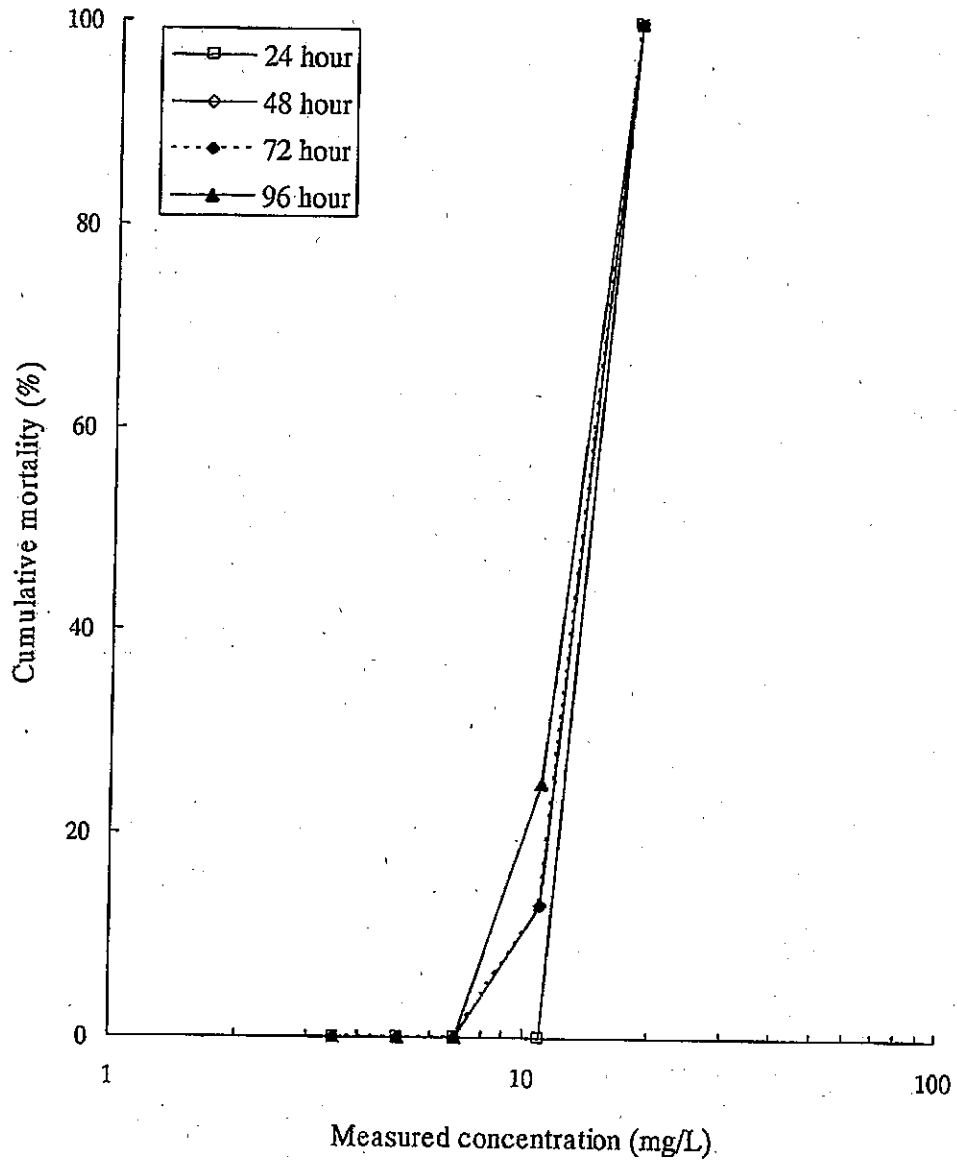
## 3. 試験材料及び方法

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	財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所 (〒839-0801 福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号)	
	大きさ (全長、体重)・月齢	全長 $2.4 \pm 0.15$ cm、体重 $0.11 \pm 0.026$ g 月齢 8ヶ月齢	
	対照物質への感受性 ( $LC_{50}$ ) (対照物質名)	96h $LC_{50}$ : 0.34 mg/L (CuSO <sub>4</sub> 換算) 硫酸銅(II)五水和物 (和光純薬工業製 試薬特級)	
じゅん化	じゅん化期間	31日間 (2008年11月14日~12月15日)	
	飼育水の種類	脱塩素水道水	
	じゅん化前の葉浴の有無	無	
	じゅん化方式	流水式	
	環境条件 (水温、明暗周期)	24±1℃ 16時間明/8時間暗 (室内灯)	
	餌料 (種類・量・頻度等)	コイ用配合餌料 (2C) 魚体重の2%量/日を毎日	
試験条件	試験容器	3L容のガラス製容器 (直径16 cm、 深さ17 cm) ガラス製の蓋の蓋を設置	
	試験用水	種類	脱塩素水道水
		硬度 (mg/L)	28
		pH	7.6 (22℃)
	暴露期間	2008年12月15日~12月19日	
	試験濃度 (設定値)	5濃度区 [試験原液の含有率が30、 20、13、8.9及び5.9% (公比1.5)]	
	供試数	8尾/試験区 (4尾/試験容器)	
	試験溶液量	約6L/試験区 (約3L/試験容器)	
	助剤	助剤の有無	無
		種類	—
		濃度	—
	試験方式	半止水式、密閉系	
	換水又は流水条件	24時間毎に試験液の全量を交換	
	水温	24±1℃	
溶存酸素濃度(DO)	7.7~7.9 mg/L		
明暗周期	16時間明/8時間暗 (室内灯)		
結果の 算出方法	$LC_{50}$	Binomial法	

## 4.試験結果及び考察

項 目	内 容
毒 性 値	96hLC <sub>50</sub> : 13 mg/L
試 験 濃 度	測定濃度の幾何平均値
考 察 及 び 特 記 事 項	<p>試験用水への溶解度 (24±1℃) : 81 mg/L (予備試験での測定値)</p> <p>試験液の調製法: 供試試料を100 mg/L (設定) になるように水面下で添加後、密栓し約24時間攪拌後、約1時間静置して採取した中層液を用いて調製</p> <p>行動や外観の異常: 重篤、遊泳異常及び呼吸異常</p> <p>試験は被験物質の試験用水への溶解濃度以下での試験生物に対するLC<sub>50</sub>を求める試験として行った。その結果、試験液中の被験物質濃度は調製時濃度の±20%以内に保たれ、また、試験環境条件も適切な範囲内であったことから、試験は試験法に準じたものであったと判断される。</p>

## 5. ヒメダカの濃度-累積死亡率曲線



Appendix table 2-1 Measured concentrations of test item in test solutions

Stock solution content (%)	Measured concentration (mg/L) (Compared to concentration at each preparation <sup>a</sup> %)				
	At the start	24 hours (before the renewal)	72 hours (after the renewal)	At the end	Geometric mean
Control	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
5.9	3.4	3.2 (92)	3.7	3.6 (97)	3.5
8.9	4.9	4.9 (99)	5.3	4.7 (89)	5.0
13	7.2	6.6 (91)	6.9	7.0 (102)	6.9
20	12	10 (91)	12	10 (85)	11
30	18	17 <sup>b</sup> (97)	-	-	18

n.d. : Not determined (<0.33 mg/L)

<sup>a</sup> : At the start or after the renewal

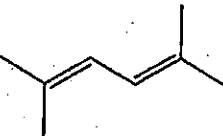
<sup>b</sup> : It indicates the measured value at the time that confirmed all test organisms dead.

- : All test organisms died

[様式7]

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		
構造式または示性式 (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)を含む		
蒸気圧	1.0 kPa(20°C)		
対水溶解度	32 mg/L(25°C)		
1-オクタール/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. 試験液の被験物質濃度の分析法

項目	方法
<p>分析方法</p>	<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: 暴露期間中 24 時間毎            サンプリング量: 3 mL/試験区            サンプリング法: 試験液の中層から採取</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 暴露開始時: 分析および水温、pH 測定用に別途調製した試験液から採取。</li> <li>・ 暴露 24、48、72 時間: 試験区毎に全速の中層から試験液を 1.0 mL ずつ(助剤対照区のみ 0.5 mL ずつ)採取。</li> </ul> <p>それぞれ、あらかじめアセトニトリル 3.0 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 6.0 mL)とした。</p>
<p>前処理法</p>	<p>適宜アセトニトリルで希釈した。</p>
<p>定量条件</p>	<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	
試験方法			
試験生物	種(学名・株名)	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> ATCC22662 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)	0-72h E <sub>1</sub> C <sub>50</sub> : 0.63 mg/L 重クロム酸カリウム(関東化学㈱製、試薬特級)	
前培養	前培養の期間	3日間	
	培地名	OECD 培地	
	環境条件(水温、光強度)	21±2°C 62~63 μE/m <sup>2</sup> /s	
試験条件	試験容器	500mL 容栓付ガラス製三角フラスコ	
	培地名	OECD 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)	9.5、14、20 および 30 mg a.i./L 公比 1.5(= $\sqrt[6]{10}$ )	
	初期生物量	1×10 <sup>4</sup> cells/mL	
	連数	試験濃度区	3連
		対照区	3連
	試験溶液量	100 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	6連
	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)、密閉系	
水温又は培養温度	実測値: 20.9~21.5°C		
照明(光強度・時間等)	実測値: 60~72 μE/m <sup>2</sup> /s、72 時間連続照明		
結果の算 出方法	速度法	E <sub>1</sub> C <sub>50</sub> : 試験最高濃度より大(>)とした NOEC <sub>r</sub> : 多重比較検定(Dunnett、α=0.05)	