

受付番号	662-10-E-5280
試験番号	95280

## 最 終 報 告 書

トリメチルアミンのヒメダカを用いる 96 時間急性毒性試験

2011 年 2 月

一般財団法人化学物質評価研究機構

残留物事業所

本文書は正本を正確に転写したものです。  
 一般財団法人 化学物質評価研究機構 残留物事業所  
 2011 年 2 月 15 日  
 試験責任者

## 陳 述 書

一般財団法人化学物質評価研究機構  
久留米事業所

試験委託者 環境省

試験の表題 トリメチルアミンのヒメダカを用いる 96 時間急性毒性試験

試験番号 95280

上記試験は以下の GLP に従って実施したものである。

- a) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 15 年 11 月 21 日、薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正) に定める「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- b) OECD Principles of Good Laboratory Practice, November 26, 1997

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認した。

2011 年 2 月 14 日

試験責任者

[Redacted Signature]

## 信 頼 性 保 証 書

一般財団法人化学物質評価研究機構  
久留米事業所

試験委託者 環境省

試験の表題 トリメチルアミンのヒメダカを用いる 96 時間急性毒性試験

試験番号 95280

本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証する。

なお、監査又は査察の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告した。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2010 年 12 月 2 日	2010 年 12 月 2 日
試験計画書	2010 年 12 月 3 日	2010 年 12 月 3 日
暴露開始時、暴露開始後	2010 年 12 月 6 日	2010 年 12 月 13 日
	2010 年 12 月 10 日	2010 年 12 月 13 日
生データ、最終報告書草案	2011 年 1 月 27 日	2011 年 1 月 27 日
最終報告書	2011 年 2 月 14 日	2011 年 2 月 14 日

2011 年 2 月 14 日

信頼性保証部門責任者

## 目 次

	頁
1. 表 題 .....	6
2. 試験委託者 .....	6
3. 試験施設 .....	6
4. 試験目的 .....	6
5. 試験法 .....	6
6. GLP 基準 .....	6
7. 試験日程 .....	6
8. 試資料の保管 .....	7
9. 試験関係者 .....	7
10. 最終報告書の承認 .....	7
11. 要 約 .....	8
12. 試験材料 .....	9
12.1 被験物質 .....	9
12.2 供試試料 .....	10
12.3 試験生物 .....	11
13. 試験の実施 .....	12
13.1 試験用水 .....	12
13.2 試験器具及び装置 .....	12
13.3 試験液の調製法 .....	12
13.4 試験条件 .....	12
13.5 観察と測定 .....	12
13.6 $LC_{50}$ の算出法 .....	13
13.7 試験の有効性 .....	13
13.8 数値の取扱い .....	13
14. 試験結果及び考察 .....	13
14.1 死亡率 .....	13
14.2 一般状態等の観察結果 .....	13
14.3 試験生物の大きさ .....	13
14.4 試験液の観察と測定結果 .....	14
14.5 $LC_{50}$ .....	14
14.6 考 察 .....	14
15. 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 .....	14

## Tables

Table 1	Cumulative mortality .....	15
Table 2	Observed abnormal response .....	16
Table 3-1	Dissolved oxygen concentration of test solutions .....	17
Table 3-2	pH of test solutions .....	17
Table 3-3	Temperature of test solutions .....	17
Table 4	LC <sub>50</sub> to Medaka .....	18
Appendix 1	試験用水の水質	
Appendix 2	被験物質濃度の測定方法及び結果	
Appendix 3	検量線及びクロマトグラム	
Additional data	予備試験結果	

## 1. 表 題

トリメチルアミンのヒメダカを用いる 96 時間急性毒性試験

## 2. 試験委託者

名 称 環境省

住 所 〒100-8975 東京都千代田区霞が関 1-2-2

## 3. 試験施設

名 称 一般財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所

住 所 〒839-0801 福岡県久留米市宮ノ陣三丁目 2 番 7 号

## 4. 試験目的

トリメチルアミン塩酸塩を用いてヒメダカに対する急性毒性試験を行い、トリメチルアミンのヒメダカに対する 96 時間の半数致死濃度 (LC<sub>50</sub>) を求める。

## 5. 試験法

a) 「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成 15 年 11 月 21 日、薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環保企発第 031121002 号、平成 18 年 11 月 20 日 最終改正) に定める「魚類急性毒性試験」

b) OECD Guidelines for Testing of Chemicals, No.203, July 17, 1992, "Fish, Acute Toxicity Test"

## 6. GLP 基準

a) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 15 年 11 月 21 日、薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正) に定める「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」

b) OECD Principles of Good Laboratory Practice, November 26, 1997

## 7. 試験日程

試 験 開 始 日	2010 年 12 月 3 日
実 験 開 始 日	2010 年 12 月 6 日
実 験 終 了 日	2010 年 12 月 10 日
試 験 終 了 日	2011 年 2 月 14 日

## 8. 試資料の保管

試験計画書（正本）、最終報告書（正本）、生データ、契約書の写し及びその他の記録は当試験施設に保管する。なお、供試試料は保管しない。

保管期間は最終報告書提出後 10 年間とする。

保管期間終了後の処置（継続保管、廃棄又は返却）は、試験委託者と協議の上決定する。

## 9. 試験関係者

試験責任者

[REDACTED]

（所属 試験第四課）

試験担当者（生物試験の実施）

[REDACTED]

試験担当者（分析試験の実施）

[REDACTED]

## 10. 最終報告書の承認

2011 年 2 月 14 日

試験責任者

[REDACTED]

## 11. 要 約

試験条件

試験生物	ヒメダカ ( <i>Oryzias latipes</i> )
試験用水	脱塩素水道水
試験区	100 mg/L 区及び対照区
試験液の調製	供試試料と試験用水を混合、攪拌して調製
暴露方式	半止水式 (48 時間後に換水)
暴露期間	96 時間
連 数	1 連/試験区
試験生物数	7 尾/試験区
試験液量	約 5 L/試験区
水 温	23.4~24.0°C
エアレーション	有り
照 明	室内灯、16 時間明/8 時間暗
給 餌	無給餌
被験物質濃度の測定	HPLC 法

試験結果

96 時間 LC<sub>50</sub> >100 mg/L  
(上記濃度は、設定濃度に基づく値)



## 12. 試験材料

## 12.1 被験物質

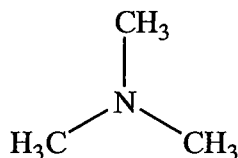
## a) 名称等

名 称 トリメチルアミン

CAS 番号 75-50-3

## b) 構造式等

構造式



分子式  $\text{C}_3\text{H}_9\text{N}$

分子量 59.11<sup>\*1</sup>

\*1 原子量表 (2010) を用いて算出した値

## c) 物理化学的性状

蒸気圧 187 kPa (20°C)<sup>\*2</sup>

対水溶解度 890 g/L (30°C)<sup>\*2</sup>

1-オクタノール/水分配係数 (log Pow)

0.16<sup>\*2\*3</sup>

融 点 -117.08°C<sup>\*2</sup>

沸 点 2.87°C<sup>\*2</sup>

溶媒に対する溶解度等

溶 媒	溶解度	溶媒中の安定性
ジエチルエーテル	溶解 <sup>*3</sup>	-
ベンゼン	溶解 <sup>*3</sup>	-
トルエン	溶解 <sup>*3</sup>	-
クロロホルム	溶解 <sup>*3</sup>	-

比 重  $d^{-5} 0.662$ <sup>\*3</sup>

\*2 化学物質総合情報提供システム (CHRIP)

\*3 Richardson, M.L. et al "The Dictionary of Substances and their Effects" The Royal Society of Chemistry, 1993.

## 12.2 供試試料

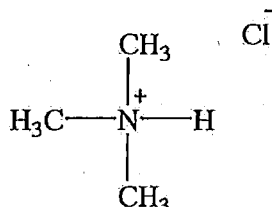
## a) 名称等

名 称 トリメチルアミン塩酸塩

CAS 番号 593-81-7

## b) 構造式等

構造式



分子式  $\text{C}_3\text{H}_{10}\text{ClN}$

分子量 95.57<sup>\*1</sup>

\*1 原子量表 (2010) を用いて算出した値

## c) 純度等

純度 98.4%<sup>\*4</sup>

不純物 水分 2.6%<sup>\*4</sup>

供給者

ロット番号

純度は 100% として取り扱った。

\*4 供給者提供の試験成績書

## d) 物理化学的性状

蒸気圧  $1.66 \times 10^{-6} \text{ mmHg (25}^\circ\text{C)}^{*2}$

対水溶解度 易溶<sup>\*7</sup>

1-オクタノール/水分配係数 (log Pow)

<-3.4<sup>\*5</sup> (実測値)

融 点  $200^\circ\text{C}^{*2}$  (焼結又は昇華)

沸 点  $277 \sim 278^\circ\text{C}^{*2}$  (分解)

常温における性状 形状: 結晶～粉末、色: 白色～ほとんど白色<sup>\*6</sup>

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 <sup>*7</sup>	-
クロロホルム	可溶 <sup>*7</sup>	-
エーテル	不溶 <sup>*7</sup>	-

比 重  $1.03 (20^\circ\text{C})^{*5}$

\*2 化学物質総合情報提供システム (CHRIP)

\*5 Karel Verschueren "Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals" 4<sup>th</sup> Ed.

\*6 製造元 [redacted] の製品安全データシート

\*7 化学大辞典編集委員会編「化学大辞典」(共立出版) 1960.

## e) 保管条件

窒素封入し、デシケーター中で冷暗所保管した。

## f) 供試試料の同一性及び保管条件下における安定性の確認

入手した供試試料について赤外吸収スペクトルを測定し、供試試料の特性が認められることを確認した。また、実験開始前及び終了後の赤外吸収スペクトルを比較することにより、保管条件下における被験物質の安定性を確認した。

## g) 取扱い上の注意

手袋、マスク、保護めがね及び白衣を着用し、皮膚、目への接触及び吸入を避けた。

## 12.3 試験生物

種	ヒメダカ ( <i>Oryzias latipes</i> )
生物種選択の理由	テストガイドラインに推奨されている種
供給源	一般財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所
大きさ	全長 $2.3 \pm 1.2$ cm、5. a)に定める規定値を適用
群分け	無作為抽出
順 化	
ふ化日	2010 年 8 月 9 日 (供試時月齢 ; 3 か月齢)
飼育水	脱塩素水道水
溶存酸素濃度	飽和溶存酸素濃度の 80%以上
水 温	$24 \pm 1^{\circ}\text{C}$
明暗周期	室内灯による 16 時間明/8 時間暗
餌 料	コイ用配合餌料
薬 浴	実施せず
順化期間	25 日間 (2010 年 11 月 11 日～2010 年 12 月 6 日)
供試群の死亡率	0% (供試前 7 日間)
無給餌期間	供試前 24 時間は餌を与えなかった
試験系の再現性の確認	

定期的に基準物質による急性毒性試験を実施

最新のデータを以下に示す。

基準物質：硫酸銅 (II) 五水和物

(和光純薬工業 試薬特級 ロット番号 TSE1413)

実施期間：2010 年 11 月 15 日～11 月 19 日

96 時間  $\text{LC}_{50}$  : 0.45 mg/L

この値は久留米事業所におけるバックグラウンドデータの規定範囲内 (平均 $\pm 2 \times$ 標準偏差) であった [平均 $\pm$ 標準偏差  $0.54 \pm 0.20$  mg/L (n=46) ]。以上のデータは全て硫酸銅 (II) 換算で表示した。

### 13. 試験の実施

試験はトリメチルアミン塩酸塩を用いて実施し、濃度はトリメチルアミン濃度で表示した。

#### 13.1 試験用水

十分にエアレーションし、温度調節した脱塩素水道水を用いた。定期的に測定した試験用水の水質測定結果を Appendix 1 に示す。なお、水質測定結果は久留米事業所の標準操作手順書で規定した基準を満たしていた。

#### 13.2 試験器具及び装置

試験容器	7.8 L 容ガラス製容器（直径 24 cm, 深さ 28 cm）
蓋	透明なプラスチック製の蓋
恒温槽	プラスチック製水槽
	加熱・冷却ユニット HCA 250（佐藤工芸）

#### 13.3 試験液の調製法

必要量の供試試料を秤量 [ $C_3H_9N/C_3H_{10}ClN=59.11/95.57$  (61.85%) で換算] し、試験用水に添加後攪拌し溶解させて、100 mg/L の試験液を調製した。

#### 13.4 試験条件

暴露方式	半止水式（暴露 48 時間後に換水）
暴露期間	96 時間
試験濃度	100 mg/L（試験法の上限濃度での限度試験） 予備試験結果から試験濃度を決定した。 予備試験結果を Additional data に示す。
対照区	被験物質を含まない試験用水
連 数	1 連/試験区
試験生物数	7 尾/試験区
試験液量	約 5 L/試験区
水 温	24±1°C
エアレーション	緩やかなエアレーションを実施
pH 調整	無し
照 明	室内灯による 16 時間明/8 時間暗
給 餌	無給餌

#### 13.5 観察と測定

##### a) 試験生物の一般状態

死亡と一般状態を暴露開始 3、24、48、72 及び 96 時間後に観察した。観察可能な動き（吻、鰓蓋の動き等）がなく、ガラス棒で尾柄部に軽く触れ反応がない個体を死亡とみなした。

##### b) 試験生物の全長及び体重

暴露終了後、対照区の試験生物について全長及び体重を測定

##### c) 試験液の状態

暴露開始時及び終了時に観察

## d) 試験液の水質

測定項目	溶存酸素濃度、pH 及び水温
測定頻度	暴露開始時、24 時間後、48 時間後換水前後、72 時間後及び暴露終了時
測定方法	試験容器より一部分取した試験液について測定（48 時間後換水前及び暴露終了時以外） 各試験容器について測定（48 時間後換水前及び暴露終了時）
測定機器	溶存酸素計 YSI MODEL 58 (YSI Incorporated) ポータブル pH 計 HM-21P (東亜ディーケーケー) 検定済ガラス製棒状温度計

## e) 試験液中の被験物質濃度（トリメチルアミン濃度）

測定頻度	暴露開始時、換水前後及び暴露終了時
採水方法	試験容器の中層から採取
採水量	約 10 mL（全試験区）
測定方法	Appendix 参照

13.6 LC<sub>50</sub> の算出法

試験濃度区で 50%以上の死亡率が得られなかったため、LC<sub>50</sub>は「>試験濃度」と表示した。

なお、暴露期間中に測定した試験液中の被験物質濃度が設定濃度の±20%以内であったため、結果の算出には設定濃度を用いることとした。

## 13.7 試験の有効性

- 暴露期間中、対照区における死亡数が 1 尾を超えてはならない。
- 暴露期間中の溶存酸素濃度は、試験水温での飽和溶存酸素濃度の 60%以上でなければならない。

## 13.8 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401: 1999 規則 B に従った。

## 14. 試験結果及び考察

## 14.1 死亡率

各時間での累積死亡率を Table 1 に示す。

暴露期間中、試験濃度区において試験生物の死亡は認められなかった。対照区においても死亡は認められず、有効性基準（1 尾を超えない）を満たしていた。

## 14.2 一般状態等の観察結果

暴露期間中における一般状態の観察結果を Table 2 に示す。

対照区において、症状は認められなかった。

以下の観察結果は全て対照区との比較に基づくものである。暴露期間中、試験濃度区において試験生物に症状は認められなかった。

## 14.3 試験生物の大きさ

[平均値±標準偏差 (n=7)]

全長 2.4±0.1 cm

体重 0.099±0.018 g

#### 14.4 試験液の観察と測定結果

##### a) 試験液の状態

暴露開始時は無色透明であった。換水前も同様であった。

##### b) 試験液の水質

試験液の水質を Table 3-1、3-2 及び 3-3 に示す。

暴露期間中に測定した溶存酸素濃度は 8.2～8.4 mg/L、pH は 7.7～7.9、水温は 23.4～24.0℃ であった。なお、溶存酸素濃度は有効性基準（試験水温での飽和濃度の 60%以上）を満たしていた。

\* 23～25℃の飽和溶存酸素濃度: 8.39～8.11 mg/L、JIS K 0102: 2008

##### c) 試験液中の被験物質濃度（トリメチルアミン濃度）

被験物質濃度の測定方法及び結果を Appendix 2、検量線及びクロマトグラムを Appendix 3 に示す。

測定した試験液中の被験物質濃度は、暴露開始時及び換水後では 98 及び 97 mg/L（設定濃度に対して 98 及び 97%）、換水前及び暴露終了時では 97 及び 92 mg/L（設定濃度に対して 97 及び 92%）であり、設定濃度の±20%以内に維持されていた。

#### 14.5 LC<sub>50</sub>

24 時間ごとの LC<sub>50</sub> を Table 4 に示す。

被験物質のヒメダカに対する 48 及び 96 時間 LC<sub>50</sub> は共に >100 mg/L であった。

#### 14.6 考 察

被験物質（トリメチルアミン）は常温でガスであり、取り扱いが困難であるため、試験委託者と協議の上、試験実施上の操作性などを考慮して供試試料としてトリメチルアミン塩酸塩を用い、トリメチルアミン濃度に換算して評価した。

試験は試験法での上限濃度（100 mg/L）における試験生物への影響の有無を確認する限度試験として行った。その結果、試験生物に何ら影響はみられなかったことから、被験物質は試験法での上限濃度において試験生物に対し急性的な影響を及ぼさないと判断される。試験液中の被験物質濃度は設定濃度の±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。

#### 15. 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

当該要因はなかった。

Table 1 Cumulative mortality

Nominal concentration (mg/L)	Cumulative mortality (%)				
	3 hours	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
Control	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0

Table 2 Observed abnormal response

Nominal concentration (mg/L)	Category		Observation result of each category (Left column: number, Right column: Symptom detail)									
			3 hours		24 hours		48 hours		72 hours		96 hours	
Control	Death, Critical	D	0		0		0		0		0	
		IS	0		0		0		0		0	
	Abnormal		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	Normal		7		7		7		7		7	
100	Death, Critical	D	0		0		0		0		0	
		IS	0		0		0		0		0	
	Abnormal		0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	Normal		7		7		7		7		7	

Abbreviation of terms (D: Death, IS: Impossible swim)



Table 3-1 Dissolved oxygen concentration of test solutions

Nominal concentration (mg/L)	At the start	24 hours	48 hours		72 hours	At the end
			old	new		
Control	8.4	8.4	8.2	8.4	8.3	8.4
100	8.4	8.3	8.2	8.3	8.2	8.2

old: before the renewal

new: after the renewal

Unit: mg/L

Table 3-2 pH of test solutions

Nominal concentration (mg/L)	At the start	24 hours	48 hours		72 hours	At the end
			old	new		
Control	7.7	7.7	7.9	7.7	7.8	7.8
100	7.7	7.8	7.8	7.7	7.9	7.7

old: before the renewal

new: after the renewal

Table 3-3 Temperature of test solutions

Nominal concentration (mg/L)	At the start	24 hours	48 hours		72 hours	At the end
			old	new		
Control	23.6	23.4	23.9	23.4	23.9	24.0
100	23.6	23.4	23.9	23.6	24.0	24.0

old: before the renewal

new: after the renewal

Unit: °C

Table 4 LC<sub>50</sub> to Medaka

Exposure duration	LC <sub>50</sub> (mg/L)	95% confidence interval (mg/L) (Slope of the dose- response curve)	Statistical procedure used for determination of LC <sub>50</sub>
24-hour	>100	- ( - )	-
48-hour	>100	- ( - )	-
72-hour	>100	- ( - )	-
96-hour	>100	- ( - )	-

-: Not obtained

## Appendix 1

試験用水の水質

Chemical characteristics of dilution water (Sampling on January 6, 2011)

Parameter	Unit	Results	Determination limit
Total hardness (as CaCO <sub>3</sub> )	mg/L	44	5
Suspended solid	mg/L	< 1	1
pH	—	7.6(20°C)	0.1
Total organic carbon	mg/L	0.4	0.3
Chemical oxygen demand	mg/L	0.8	0.5
Residual chlorine	mg/L	< 0.02	0.02
Ammonium ion	mg/L	0.01	0.01
Total cyan	mg/L	< 0.01	0.01
Alkalinity	mg/L	35	1
Electric conductivity	mS/m	17	0.1
Organic phosphorous	mg/L	< 0.1	0.1
Alkylmercury	mg/L	< 0.0005	0.0005
Mercury	mg/L	< 0.0005	0.0005
Cadmium	mg/L	< 0.001	0.001
Chromium (VI)	mg/L	< 0.005	0.005
Lead	mg/L	< 0.001	0.001
Arsenic	mg/L	< 0.001	0.001
Boron	mg/L	< 0.1	0.1
Fluorine	mg/L	< 0.08	0.08
Iron	mg/L	< 0.03	0.03
Copper	mg/L	< 0.001	0.001
Cobalt	mg/L	< 0.001	0.001
Manganese	mg/L	< 0.005	0.005
Zinc	mg/L	< 0.1	0.1
Aluminum	mg/L	0.02	0.02
Nickel	mg/L	< 0.001	0.001
Sulfate ion	mg/L	20	0.1
Chloride ion	mg/L	16	0.1
Sodium	mg/L	16	0.1
Potassium	mg/L	3.2	0.1
Calcium	mg/L	13	0.1
Magnesium	mg/L	3.3	0.1
Silver	mg/L	< 0.0001	0.0001
1,2-dichloropropane	mg/L	< 0.006	0.006
Chlorothalonil	mg/L	< 0.005	0.005
Propyzamide	mg/L	< 0.0008	0.0008
Chlornitrofen	mg/L	< 0.0001	0.0001
Simazine	mg/L	< 0.0003	0.0003
Thiobencarb	mg/L	< 0.002	0.002
Diazinon	mg/L	< 0.0005	0.0005
Isoxathion	mg/L	< 0.0008	0.0008
Fenitrothion	mg/L	< 0.0003	0.0003
EPN	mg/L	< 0.0006	0.0006
Dichlorvos	mg/L	< 0.001	0.001
Iprobenfos	mg/L	< 0.0008	0.0008
PCB	mg/L	< 0.0005	0.0005

## Appendix 2

被験物質濃度の測定方法及び結果

### 1. 試験液の前処理操作

採取した試験液について、そのまま若しくは脱塩素水道水で適宜希釈して高速液体クロマトグラフィー（HPLC）試料を調製した。

### 2. 被験物質濃度の測定

HPLC 試料中の被験物質濃度は、クロマトグラム上で得られた濃度既知の標準溶液のピーク面積と HPLC 試料のピーク面積とを比較し、比例計算して求めた。得られたクロマトグラム（一例）を Appendix 3 に示す。

#### 定量条件

機 器	高速液体クロマトグラフ	
ポンプ	LC-20AD <sub>SP</sub>	（島津製作所）
電気伝導度検出器	CDD-10A <sub>SP</sub>	（島津製作所）
カラムオープン	CTO-20A <sub>CSP</sub>	（島津製作所）
オートインジェクター	SIL-20A	（島津製作所）
システムコントローラー	SCL-10A <sub>VP</sub>	（島津製作所）
デガッサー	DGU-20A <sub>3</sub>	（島津製作所）
カラム	Shim-pack IC-C4（150 mm × 4.6 mm I.D., 島津製作所）	
カラム温度	40°C	
溶離液	2.5 mmol/L しゅう酸溶液	
流 量	1.0 mL/min	
注入量	100 μL	

### 3. 標準溶液の調製

供試試料 162 mg を正確にはかりとり、超純水に溶解して 1000 mg/L の被験物質溶液を調製した。続いてこれを脱塩素水道水で希釈して 100 mg/L の被験物質溶液を調製した。さらにこれを脱塩素水道水で希釈して 10 mg/L の標準溶液を調製した。

なお、供試試料の秤量は被験物質含有率 61.85% で換算（ $C_3H_9N/C_3H_{10}ClN=59.11/95.57$ ）して行った。

### 4. 検量線の作成

供試試料 165mg を正確にはかりとり、超純水に溶解して 1000 mg/L の被験物質溶液を調製した。続いてこれを脱塩素水道水で希釈して 1.0、5.1、10 及び 20 mg/L の標準溶液を調製した。これらを 2.の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのクロマトグラム上のピーク面積と被験物質濃度により検量線を作成した。作成した検量線を Appendix 3 に示す。なお、試験液中の被験物質の定量下限値は、定量性が確認された範囲での標準溶液の最低濃度（1.0 mg/L）とした。

### 5. 測定結果

試験液中の被験物質濃度の測定結果を以下に示す。

Appendix table 2-1 Measured concentrations of converted values to trimethylamine  
in test solutions

Nominal concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L) <sup>a</sup> (Percentage of measured concentration versus nominal concentration %)				
	At the start	48 hours		At the end	Geometric mean
		old	new		
Control	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
100	98 (98)	97 (97)	97 (97)	92 (92)	96 (96)

old : before the renewal

new : after the renewal

n.d. : < 1.0 mg/L

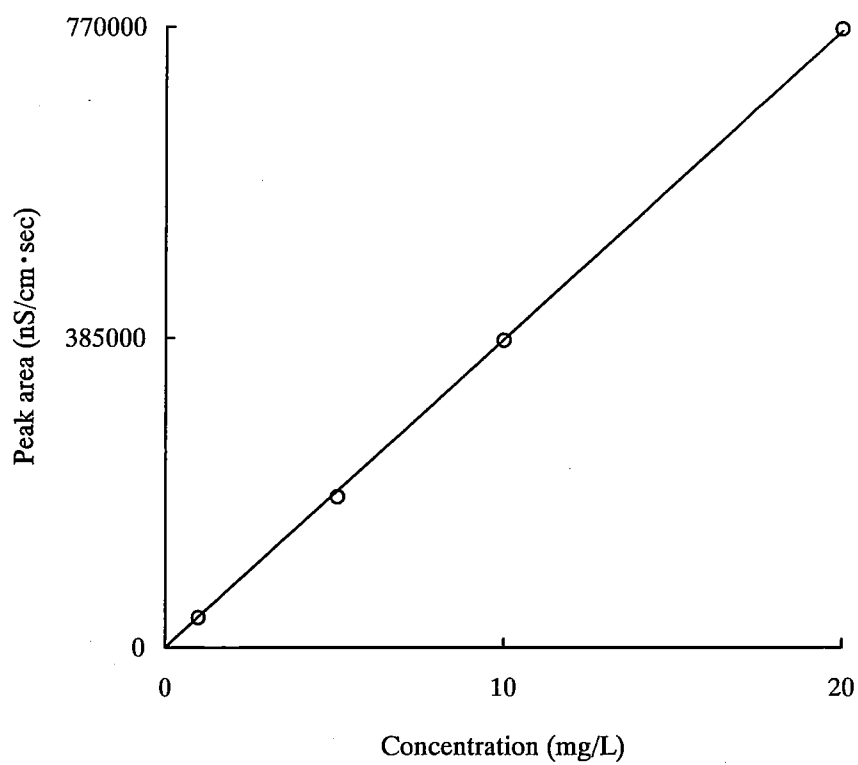
<sup>a</sup> The value is calculated using converted values to trimethylamine.

## Appendix 3



検量線及びクロマトグラム





$$y = 38214x$$

$$r = 1.00$$

Concentration (mg/L)	Peak area (nS/cm·sec)
1.0	37245
5.1	187369
10	381365
20	766635

Appendix figure 3-1 Calibration curve of trimethylamine for analysis by HPLC.

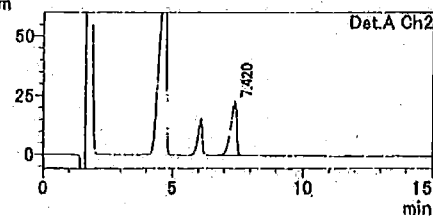
Study No. 95280

サンプル名 : Standard solution 10 mg/L  
データファイル : 95280-101206-S01.lcd

ピークテーブル D:\V4課\95277\_95280\101206\95280-101206-S01.lcd

検出器A ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.420	378937	22581

D:\V4課\95277\_95280\101206\95280-101206-S01.lcd  
uS/cm

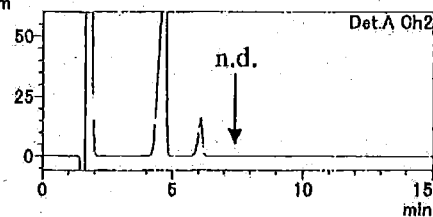


サンプル名 : Control blank  
データファイル : 95280-101206-H0hZ.lcd

ピークテーブル D:\V4課\95277\_95280\101206\95280-101206-H0hZ.lcd

検出器A ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	0.000	0	0

D:\V4課\95277\_95280\101206\95280-101206-H0hZ.lcd  
uS/cm

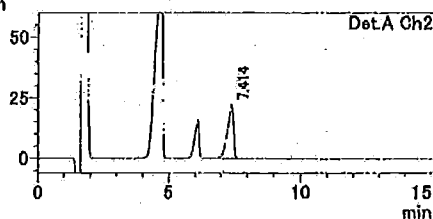


サンプル名 : 100 mg/L exposure level  
データファイル : 95280-101206-H0hA.lcd

ピークテーブル D:\V4課\95277\_95280\101206\95280-101206-H0hA.lcd

検出器A ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.414	371097	22092

D:\V4課\95277\_95280\101206\95280-101206-H0hA.lcd  
uS/cm



Date: 2010.12.6

Name: [REDACTED]

Appendix figure 3-2 HPLC chromatograms at start of exposure.

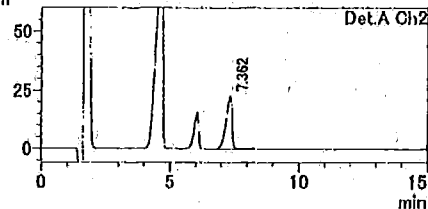
Study No. 95280

サンプル名 : Standard solution 10 mg/L  
 データファイル : 95280-101208-S01.lcd

ピークテーブル D:\Y4課\95277\_95280\101208\95280-101208-S01.lcd

検出器A	ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.382	374088	22428	

D:\Y4課\95277\_95280\101208\95280-101208-S01.lcd  
 uS/cm

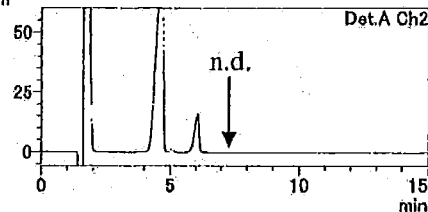


サンプル名 : Control blank  
 データファイル : 95280-101208-H48hZ-old.lcd

ピークテーブル D:\Y4課\95277\_95280\101208\95280-101208-H48hZ-old.lcd

検出器A	ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	0.000	0	0	

D:\Y4課\95277\_95280\101208\95280-101208-H48hZ-old.lcd  
 uS/cm

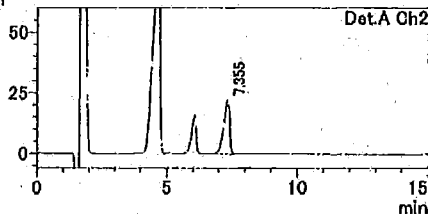


サンプル名 : 100 mg/L exposure level  
 データファイル : 95280-101208-H48hA-old.lcd

ピークテーブル D:\Y4課\95277\_95280\101208\95280-101208-H48hA-old.lcd

検出器A	ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.355	362323	22044	

D:\Y4課\95277\_95280\101208\95280-101208-H48hA-old.lcd  
 uS/cm



Date: 2010.12.8

Name: [REDACTED]

Appendix figure 3-3 HPLC chromatograms at 48 hours after exposure (before renewal).

## Additional data

予備試験結果



## 1. 供試試料の試験用水への溶解度

供試試料の試験用水への溶解度は目視で 100 mg/L 以上と判断された。

## 2. 生物予備試験

暴露方式：①半止水式（48 時間後に換水）、②止水式

生物数/試験液量：4 尾/2.7 L

エアレーション：有り

試験液調製法：供試試料と試験用水を混合、攪拌、溶解して試験液を調製した。なお、供試試料は被験物質含有量（61.85%）で換算して秤量した。

分析：試験液中の被験物質濃度の測定を行った。

## &lt;試験生物への影響&gt;

設定濃度区 (mg/L)	左：累積死亡率(%) 右：症状の有無（有：*、無：N）									
	3時間		24時間		48時間		72時間		96時間	
①100	0	N	0	N	0	N	0	N	0	N
②100	0	N	0	N	0	N	0	N	0	N

## &lt;試験液中の被験物質濃度&gt;

設定濃度区 (mg/L)	測定濃度 (mg/L) (対設定濃度 %)		
	暴露開始時	48時間後	96時間後
①100	98 (98)	97 (97)	90 (90)
②100			

止水式においても暴露終了時まで被験物質濃度は設定濃度の 80%以上を維持していたが、被験物質は微生物による生分解性が良好という既知見が得られており、止水式で実施した場合、暴露後半にて急激な濃度低下が生じる可能性も考えられえることから、本試験では半止水式（48 時間後に換水）を採用することとした。

## 3. 本試験条件

試験濃度：100 mg/L（試験法での上限濃度）及び対照区

暴露方式：半止水式（48 時間後に換水）

エアレーション：有り