

受付番号	662-10-E-5278
試験番号	95278

最 終 報 告 書

トリメチルアミンのオオミジンコによる 48 時間急性遊泳阻害試験

2011 年 1 月

一般財団法人化学物質評価研究機構

久留米事業所

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 久留米事業所
2011 年 1 月 18 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オオミジンコによる 48 時間急性遊泳阻害試験

試験番号 95278

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 1 月 18 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オオミジンコによる 48 時間急性遊泳阻害試験

試験番号 95278

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 10 月 25 日	2010 年 10 月 26 日
試験計画書草案再査察	2010 年 10 月 26 日	2010 年 10 月 26 日
試験計画書	2010 年 10 月 26 日	2010 年 10 月 26 日
試験計画書の変更	2010 年 11 月 24 日	2010 年 11 月 24 日
	2011 年 1 月 17 日	2011 年 1 月 17 日
暴露開始時、暴露開始後	2010 年 10 月 27 日	2010 年 10 月 29 日
	2010 年 10 月 29 日	2010 年 10 月 29 日
生データ、最終報告書草案	2011 年 1 月 11 日	2011 年 1 月 11 日
最終報告書	2011 年 1 月 18 日	2011 年 1 月 18 日

2011 年 1 月 18 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	11
13.1 試験用水	11
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 EC_{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 遊泳障害率	13
14.2 一般状態の観察	13
14.3 試験液の観察と測定	13
14.4 EC_{50}	14
14.5 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	Immobility	15
Table 2	Observed abnormal response	16
Table 3	Condition of test solutions	16
Table 4	EC ₅₀ to <i>Daphnia magna</i>	17

Figure

Figure 1	Concentration-immobility curve	18
----------	--------------------------------------	----

Appendix 1 被験物質濃度の測定方法及び結果

Appendix 2 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オオミジンコによる 48 時間急性遊泳阻害試験

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オオミジンコに対する急性遊泳阻害試験を行い、トリメチルアミンのオオミジンコに対する 48 時間の半数遊泳阻害濃度 (EC₅₀) 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「ミジンコ急性遊泳阻害試験」

b) OECD Guidelines for Testing of Chemicals, No.202, April 13, 2004, "*Daphnia* sp., Acute Immobilisation 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 10 月 26 日
実 験 開 始 日	2010 年 10 月 27 日
実 験 終 了 日	2010 年 10 月 29 日
試 験 終 了 日	2011 年 1 月 18 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、試験委託書、被験物質調査票及びその他の記録は当試験施設に保管する。なお、被験物質は保管しない。

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]

[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 1 月 18 日

試験責任者

[REDACTED]

11. 要 約

試験条件

試験生物	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i>)
試験用水	ASTM 調製水
試験区	被験物質濃度として 70、35、18、8.8、4.4 mg/L (公比 2.0) の 5 濃度区 及び対照区
試験液の調製	被験物質と試験用水を混合、攪拌して調製した試験原液を用いて調製
暴露方式	止水式
暴露期間	48 時間
連 数	4 連/試験区
試験生物数	20 頭/試験区 (5 頭/試験容器)
試験液量	400 mL/試験区 (100 mL/試験容器)
水 温	20.2~20.3°C
照 明	室内灯、16 時間明/8 時間暗
給 餌	無給餌
エアレーション	無し
被験物質濃度の測定	

HPLC 法 (暴露開始時及び終了時)

試験結果48 時間 EC₅₀ 28 mg/L (95%信頼限界: 23~35 mg/L)

48 時間 100%遊泳阻害最低濃度

70 mg/L

48 時間 0%遊泳阻害最高濃度

8.8 mg/L

(上記濃度は、設定濃度に基づく値)

12. 試験材料

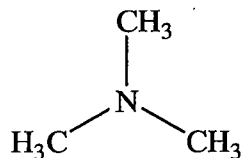
12.1 被験物質

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^{*1}

*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℃)^{*2}
対水溶解度 890 g/L (30℃)^{*2}
1-オクタノール/水分配係数 (log Pow)
0.16^{*2*3}

融 点 -117.08℃^{*2}沸 点 2.87℃^{*2}

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 ^{*3}	-
ベンゼン	溶解 ^{*3}	-
トルエン	溶解 ^{*3}	-
クロロホルム	溶解 ^{*3}	-

比 重 $d^{-5} 0.662$ ^{*3}

*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

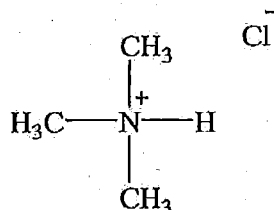
a) 名称等

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^{*1}

*1 原子量表(2010)を用いて算出した値

c) 純度等

純度 98.4%^{*4}不純物 水分 2.6%^{*4}

供給者

ロット番号

純度は100%として取り扱った。

*4 供給者提供の添付資料

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^{*7}

1-オクタノール/水分配係数(log Pow)

<-3.4^{*5}(実測値)融 点 200 $^\circ\text{C}$ ^{*2}(焼結又は昇華)沸 点 277~278 $^\circ\text{C}$ ^{*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^{*6}

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 ^{*7}	-
クロロホルム	可溶 ^{*7}	-
エーテル	不溶 ^{*7}	-

比 重 1.03 (20 $^\circ\text{C}$)^{*5}

*2 化学物質総合情報提供システム (CHRIIP)

*5 Karel Verschuieren "Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals" 4th Ed.

*6 製造元 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供試試料の安定性を確認した。

12.3 試験生物

種	オオミジンコ (<i>Daphnia magna</i> Clone A)
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
入手源	英国 Sheffield 大学 (所在地 Sheffield S10 2UQ, United Kingdom)
入手日	1990 年 7 月 9 日
順 化	久留米事業所で継代飼育している成体より産出された幼体を用いた。幼体を産出する成体は、試験条件と同じ水質、水温 ($20\pm1^{\circ}\text{C}$) 及び明暗周期 (16 時間明/8 時間暗) 下で 14 日間以上飼育したもの (14 日齢) で成体の生存率が 100% の群 (ロット) を使用した。継代飼育中はミジンコ 1 頭当たり <i>Chlorella vulgaris</i> を 0.1~0.2 mgC (有機炭素含量) /日の割合で 1 日に 1 回給餌した。
幼体の選別	生後 24 時間以内の幼体
群分け	無作為抽出
試験系の再現性の確認	基準物質による急性遊泳阻害試験を実施 最新のデータを以下に示す。 基準物質：二クロム酸カリウム (和光純薬工業 試薬特級 ロット番号 ALP5310) 実施期間：2010 年 7 月 5 日~7 月 7 日 48 時間 EC_{50} : 0.66 mg/L

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

ASTM 調製水 (ASTM E729 ; 2007) を用いた (セレン $1\text{ }\mu\text{g/L}$ 、ビタミン B_{12} $1\text{ }\mu\text{g/L}$ 含有。硬度 166.5 mg/L)。

Substance	Formula	Final concentration in aqueous dilution media (mg/L)
Sodium hydrogen carbonate	NaHCO_3	192
Calcium sulphate dihydrate	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	120
Magnesium sulphate heptahydrate	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246
Potassium chloride	KCl	8
Sodium selenite	Na_2SeO_3	0.00219
Vitamin B_{12}	-	0.001

13.2 試験器具及び装置

試験容器	100 mL ガラス製ビーカー
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 (佐藤工業)

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、試験用水に溶解させて 10000 mg/L の試験原液を調製した。調製容器にて必要量の試験原液と試験用水を混合、攪拌して試験液を調製し、各試験容器に分割した。

13.4 試験条件

暴露方式	止水式 (試験液の交換無し)
暴露期間	48 時間
試験濃度	被験物質濃度として 70、35、18、8.8、4.4 mg/L (公比 2.0) 予備試験結果から試験濃度及び公比を決定した。 予備試験結果は Additional data に示す。
対照区	被験物質を含まない試験用水
連 数	4 連/試験区
試験液量	400 mL/試験区 (100 mL/試験容器)
試験生物数	20 頭/試験区 (5 頭/試験容器)
水 温	20±1°C
溶存酸素濃度	3 mg/L 以上 (エアレーション無し)
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

暴露開始 24 及び 48 時間後に遊泳阻害及び行動や外見の異常を観察した。試験容器を穏やかに動かした後、15 秒間一度も泳げない場合を遊泳阻害されたとみなした。

b) 試験液の状態

暴露開始時及び終了時に観察

c) 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	暴露開始時及び終了時
測定方法	調製容器より別途分取した試験液について測定 (暴露開始時) 各試験区につき 1 試験容器について測定 (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

d) 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 暴露開始時及び終了時

採水方法 調製容器より別途分取（暴露開始時）

各試験容器の中層から均等量採取し、混合（暴露終了時）

測定方法 Appendix 1 参照

13.6 EC_{50} の算出法

Probit 法により EC_{50} を算出した。また、それらの 95%信頼限界を算出し、算出に用いた回帰直線の傾きも求めた。

EC_{50} は、当事業所にて開発したコンピュータプログラム（Microsoft Excel により起動）により算出した。

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 $\pm 20\%$ 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

a) 暴露期間中において対照区の遊泳阻害率が 10%を超えてはならない。

b) 暴露期間中において 10%を超える対照区のみジンコが脱色、水面に浮いているなどの異常な症状、行動を示してはならない。

c) 溶存酸素濃度は暴露終了時において、3 mg/L 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 遊泳阻害率

暴露開始 24 及び 48 時間後での遊泳阻害率を Table 1、濃度－遊泳阻害率曲線を Figure 1 に示す。

暴露 48 時間における 100%遊泳阻害最低濃度は 70 mg/L、0%遊泳阻害最高濃度は 8.8 mg/L であった。なお、対照区の遊泳阻害率は 0%であり、有効性基準（10%を超えない）を満たしていた。

14.2 一般状態の観察

暴露期間中における一般状態の観察結果を Table 2 に示す。

暴露期間中に嗜眠状態、遊泳阻害、活動度の低下及び水面浮遊が観察された。なお、暴露期間中の対照区において異常な行動や外観（脱色、水面に浮くなど）を示した個体はみられず、有効性基準（10%を超えない）を満たしていた。

14.3 試験液の観察と測定

a) 試験液の状態

暴露開始時は無色透明であった。暴露終了時も同様であった。

b) 試験液の水質

試験液の水質を Table 3 に示す。

暴露期間中に測定した溶存酸素濃度は 8.7 mg/L、pH は 7.9～8.4、水温は 20.2～20.3℃であった。なお、溶存酸素濃度は有効性基準（暴露終了時において 3 mg/L 以上）を満たしていた。

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 1、検量線及びクロマトグラムを Appendix 2 に示す。

測定した試験液中の被験物質濃度は、暴露開始時で 4.4～70 mg/L（設定濃度に対して 100～101%）、暴露終了時で 4.2～68 mg/L（設定濃度に対して 96～98%）であり、設定濃度の±20%以内に保たれていた。

14.4 EC₅₀

各時間での EC₅₀ を Table 4 に示す。

被験物質のオオミジンコに対する 24 時間 EC₅₀ は 47 mg/L (95%信頼限界: 41～56 mg/L)、48 時間 EC₅₀ は 28 mg/L (95%信頼限界: 23～35 mg/L) であった。

14.5 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 EC₅₀ を求める試験として行った。その結果、48 時間 EC₅₀ は 28 mg/L であった。暴露期間中、試験液中の被験物質濃度は設定濃度を維持しており、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 Immobility

Nominal concentration (mg/L)		Immobility (%)			
		24 hours		48 hours	
		Replicate	Test level	Replicate	Test level
Control	A	0	0	0	0
	B	0		0	
	C	0		0	
	D	0		0	
4.4	A	0	0	0	0
	B	0		0	
	C	0		0	
	D	0		0	
8.8	A	0	0	0	0
	B	0		0	
	C	0		0	
	D	0		0	
18	A	0	0	20	30
	B	0		60	
	C	0		0	
	D	0		40	
35	A	0	10	40	50
	B	20		80	
	C	20		60	
	D	0		20	
70	A	100	95	100	100
	B	80		100	
	C	100		100	
	D	100		100	

Table 2 Observed abnormal response

Nominal concentration (mg/L)	Observed abnormal response (Number of affected test organism)			
	24 hours		48 hours	
	Immobilization	Other symptom	Immobilization	Other symptom
Control	-	-	-	-
4.4	-	-	-	-
8.8	-	-	-	-
18	-	RA(1) TSWs(3)	IM(6) LETH(1)	RA(3) TSWs(1)
35	IM(2)	RA(4)	IM(10) LETH(3)	RA(4)
70	IM(19)	RA(1)	IM(19) LETH(18)	TSWim(1)

- : Normal (No abnormal response)

Abbreviation of symptoms

IM : Immobilization

LETH : Lethargic

RA : Reduced activity

TSWim : Trapped at the surface of water and immobile

TSWs : Trapped at the surface of water but capable of swimming

Table 3 Condition of test solutions

Nominal concentration (mg/L)	Dissolved oxygen concentration (mg/L)		pH		Temperature (°C)	
	At the start	At the end	At the start	At the end	At the start	At the end
Control	8.7	8.7	7.9	8.3	20.2	20.2
4.4	8.7	8.7	7.9	8.3	20.2	20.2
8.8	8.7	8.7	7.9	8.4	20.2	20.2
18	8.7	8.7	7.9	8.3	20.2	20.3
35	8.7	8.7	7.9	8.3	20.2	20.3
70	8.7	8.7	7.9	8.3	20.2	20.3

Table 4 EC₅₀ to *Daphnia magna*

Exposure duration	EC ₅₀ (mg/L)	95% confidence interval (mg/L) (Slope of the dose-response curve)	Statistical procedure used for determination of EC ₅₀
24-hour	47	41 to 56 (9.7)	Probit analysis
48-hour	28	23 to 35 (4.3)	Probit analysis

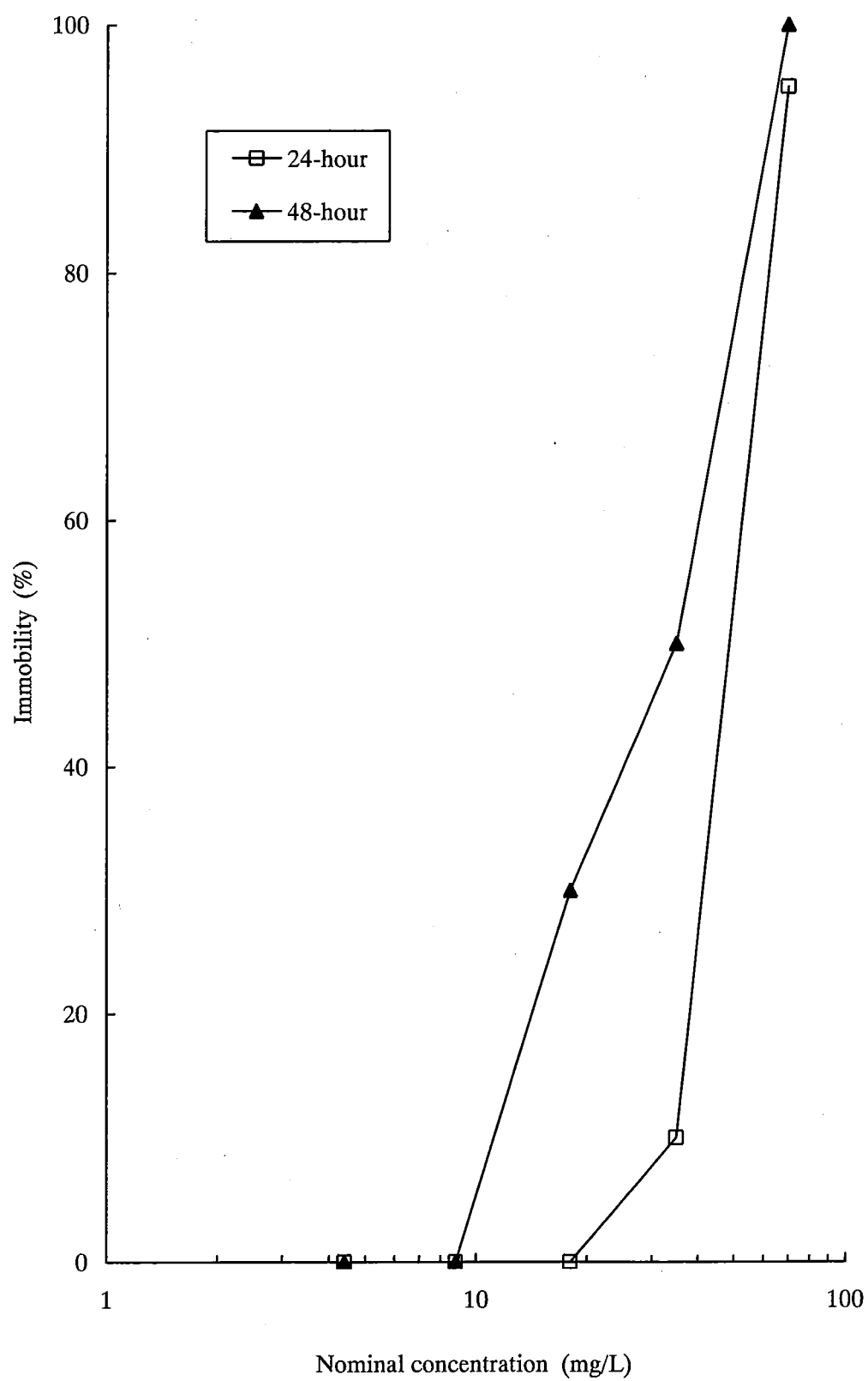


Figure 1 Concentration-immobility curve.

Appendix 1

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

採取した試験液をそのまま若しくは ASTM 調製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 2 に示す。

定量条件

機 器	高速液体クロマトグラフ	
ポンプ	LC-20ADsp	(島津製作所)
電気伝導度検出器	CDD-10A _{sp}	(島津製作所)
カラムオープン	CTO-20AC _{sp}	(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 _{vp}	(島津製作所)
デガッサー	DGU-20A ₃	(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。これを ASTM 調製水で希釈して 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量 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

3. の標準溶液の調製と同様にして 1.0、5.0、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 2 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。

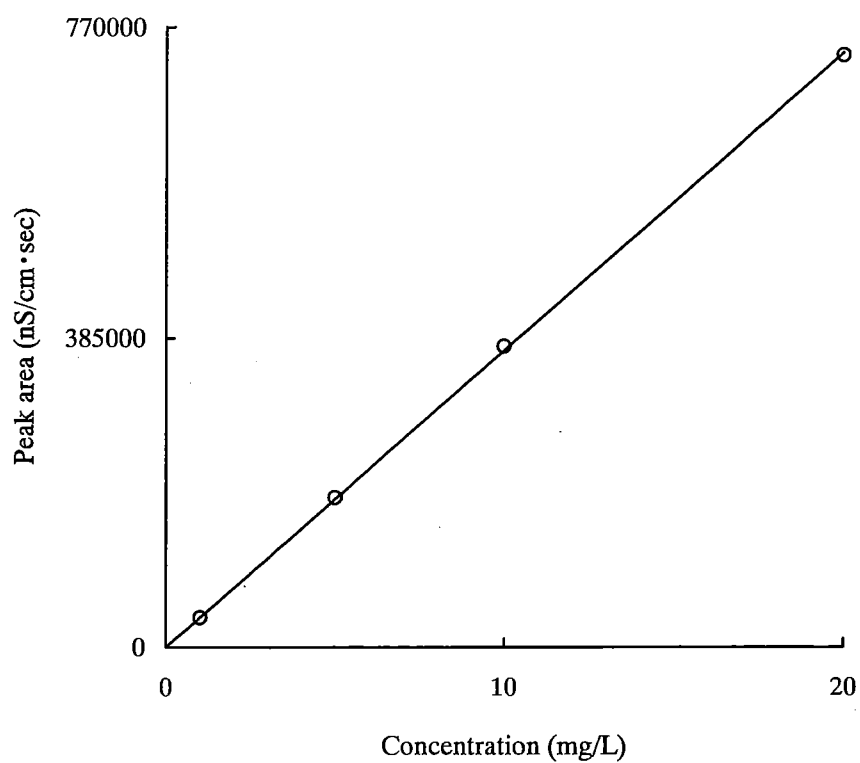
Appendix table 2-1 Measured concentrations of test item in test solutions

Nominal concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L) (Percentage of measured concentration versus nominal concentration %)		
	At the start	At the end	Geometric mean
Control	n.d.	n.d.	
4.4	4.4 (101)	4.2 (96)	4.3 (98)
8.8	8.9 (101)	8.6 (97)	8.7 (99)
18	18 (100)	17 (97)	18 (99)
35	35 (101)	34 (98)	35 (99)
70	70 (100)	68 (98)	69 (99)

n.d. : < 1.0 mg/L

Appendix 2

検量線及びクロマトグラム



$$y = 36902x$$

$$r = 1.00$$

Concentration (mg/L)	Peak area (nS/cm·sec)
1.0	36917
5.0	186400
10	374556
20	734793

Appendix figure 2-1 Calibration curve of test item for analysis by HPLC.

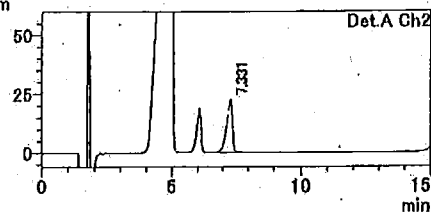
Study No. 95278

サンプル名 : Standard solution 10 mg/L
データファイル : 95278-101027-S01.lcd

ピークテーブル D:\4課\95277_95280\101027\95278-101027-S01.lcd

検出器A	ピーク#	保持時間	面積	高さ
	1	7.331	373759	22147

D:\4課\95277_95280\101027\95278-101027-S01.lcd
uS/cm

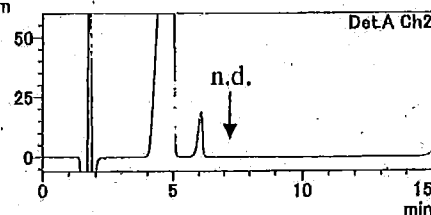


サンプル名 : Control
データファイル : 95278-101027-H0hZ.lcd

ピークテーブル D:\4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hZ.lcd

検出器A	ピーク#	保持時間	面積	高さ
	1	0.000	0	0

D:\4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hZ.lcd
uS/cm

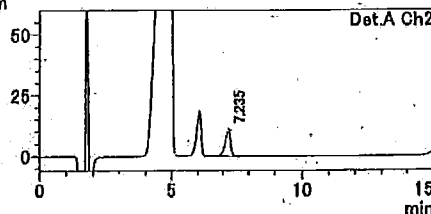


サンプル名 : 4.4 mg/L exposure level
データファイル : 95278-101027-H0hE.lcd

ピークテーブル D:\4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hE.lcd

検出器A	ピーク#	保持時間	面積	高さ
	1	7.235	105508	11116

D:\4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hE.lcd
uS/cm

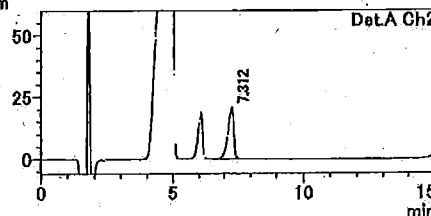


サンプル名 : 8.8 mg/L exposure level
データファイル : 95278-101027-H0hD.lcd

ピークテーブル D:\4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hD.lcd

検出器A	ピーク#	保持時間	面積	高さ
	1	7.312	333433	20524

D:\4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hD.lcd
uS/cm



Date: 2010.10.27

Name: [REDACTED]

Appendix figure 2-2-1 HPLC chromatograms at start of exposure.

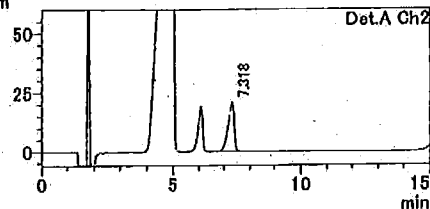
Study No. 95278

サンプル名 : 18 mg/L exposure level
データファイル : 95278-101027-H0hC.lcd

ピークテーブル D:\Y95277_95280\101027\95278-101027-H0hC.lcd

抽出番号	保持時間	面積	高さ
1	7.318	338052	20523

D:\Y4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hC.lcd
uS/cm

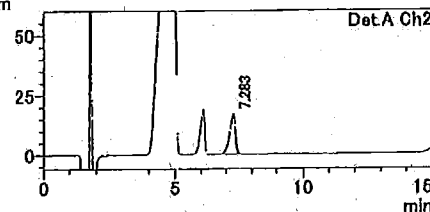


サンプル名 : 35 mg/L exposure level
データファイル : 95278-101027-H0hB.lcd

ピークテーブル D:\Y95277_95280\101027\95278-101027-H0hB.lcd

抽出番号	保持時間	面積	高さ
1	7.283	263032	16800

D:\Y4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hB.lcd
uS/cm

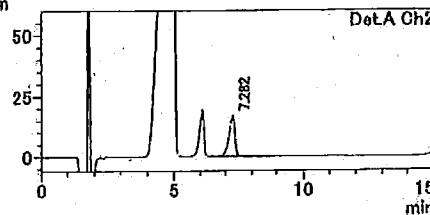


サンプル名 : 70 mg/L exposure level
データファイル : 95278-101027-H0hA.lcd

ピークテーブル D:\Y4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hA.lcd

抽出番号	保持時間	面積	高さ
1	7.282	262516	16871

D:\Y4課\95277_95280\101027\95278-101027-H0hA.lcd
uS/cm



Date: 2010.10.27

Name: [REDACTED]

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

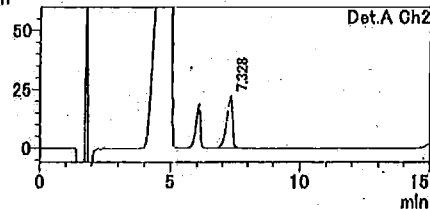
Study No. 95278

サンプル名 : Standard solution 10 mg/L
 データファイル : 95278-101029-S01.lcd

ピークテーブル D:\V95277_95280\101029\95278-101029-S01.lcd

ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.328	370553	22255

D:\V4課\95277_95280\101029\95278-101029-S01.lcd
 uS/cm

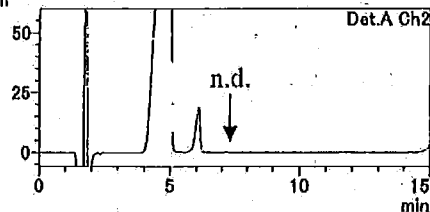


サンプル名 : Control
 データファイル : 95278-101029-H48hZ.lcd

ピークテーブル D:\V95277_95280\101029\95278-101029-H48hZ.lcd

ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	0.000	0	0

D:\V4課\95277_95280\101029\95278-101029-H48hZ.lcd
 uS/cm

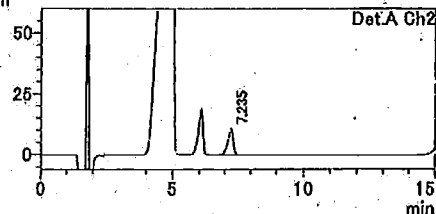


サンプル名 : 4.4 mg/L exposure level
 データファイル : 95278-101029-H48hE.lcd

ピークテーブル D:\V95277_95280\101029\95278-101029-H48hE.lcd

ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.235	156925	10557

D:\V4課\95277_95280\101029\95278-101029-H48hE.lcd
 uS/cm

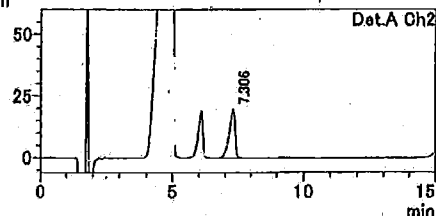


サンプル名 : 8.8 mg/L exposure level
 データファイル : 95278-101029-H48hD.lcd

ピークテーブル D:\V95277_95280\101029\95278-101029-H48hD.lcd

ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.306	317058	19673

D:\V4課\95277_95280\101029\95278-101029-H48hD.lcd
 uS/cm



Date: 2010.10.29

Name: [REDACTED]

Appendix figure 2-3-1 HPLC chromatograms at end of exposure.

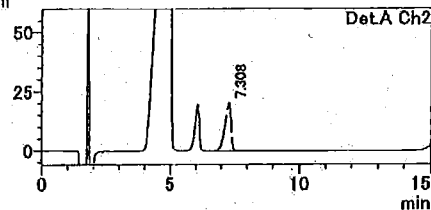
Study No. 95278

サンプル名 : 18 mg/L exposure level
データファイル : 95278-101029-H48hC.lcd

ピークテーブル D:\Y95277_95280\101029\95278-101029-H48hC.lcd

ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.308	323929	19963

D:\Y4課\95277_95280\101029\95278-101029-H48hC.lcd
uS/cm

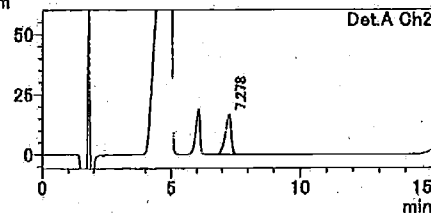


サンプル名 : 35 mg/L exposure level
データファイル : 95278-101029-H48hB.lcd

ピークテーブル D:\Y95277_95280\101029\95278-101029-H48hB.lcd

ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.278	255080	16492

D:\Y4課\95277_95280\101029\95278-101029-H48hB.lcd
uS/cm

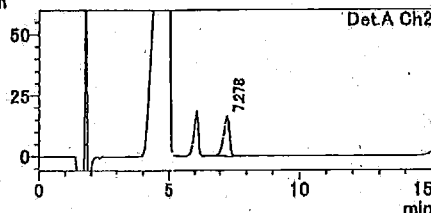


サンプル名 : 70 mg/L exposure level
データファイル : 95278-101029-H48hA.lcd

ピークテーブル D:\Y95277_95280\101029\95278-101029-H48hA.lcd

ピーク#	保持時間	面積	高さ
1	7.278	253192	16409

D:\Y4課\95277_95280\101029\95278-101029-H48hA.lcd
uS/cm



Date: 2010.10.29

Name: [REDACTED]

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

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（ASTM 調製水）への溶解度は目視で 1000 mg/L 以上と判断された。

2. 生物予備試験

2.1 予備試験

暴露方式 止水式

試験生物数 10 頭/試験区（5 頭/試験容器）

試験液調製法 供試試料と試験用水（ASTM 調製水）を混合、攪拌、溶解して調製した試験原液を用いて調製した。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。

<試験生物への影響>

設定濃度区 (mg/L)	24 時間		48 時間	
	遊泳阻害率 (%)	その他の症状	遊泳阻害率 (%)	その他の症状
6.1	0	—	0	RA
13	0	TSWs	10	—
30	0	RA、TSWs	40	RA
65	30	RA、TSWs	100	TSWim

—はその他の症状が観察されなかったことを示す。

症状の略称

RA(Reduced activity): 活動度の低下

TSWim(Trapped at the surface of water and immobile)

: 水面浮遊（遊泳阻害有）

TSWs(Trapped at the surface of water but capable of swimming)

: 水面浮遊（遊泳阻害無）

<試験液中の被験物質濃度>

設定濃度区 (mg/L)	測定濃度 (mg/L) (対設定濃度 %)	
	暴露開始時	暴露終了時
6.1	6.1 (100)	5.8 (95)
65	63 (98)	59 (91)

3. 本試験条件

試験濃度 70、35、18、8.8、4.4 mg/L（公比 2.0）

暴露方式 止水式