

受付番号	662-05-E-3925
試験番号	93925

## 最 終 報 告 書

バクチャーパウダーのヒメダカによる96時間急性毒性試験

2006 年 1 月 11 日



# 陳 述 書

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      アールピーシーコンサルタント株式会社

試験の表題      バクチャーパウダーのヒメダカによる96時間急性毒性試験

試験番号      93925

本最終報告書(写し)は、原本を正確にコピーしたものです。

2006年1月11日

試験責任者

松浦 武

松 浦      武

## 陳 述 書

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      アールビーシーコンサルタント株式会社

試験の表題      バクチャーパウダーのヒメダカによる96時間急性毒性試験

試験番号      93925

上記試験は以下の基準に従って実施したものです。

「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ています。

2006 年 1 月 11 日

試験責任者

松浦 武  
松 浦 武

## 信 頼 性 保 証 書

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      アールピーシーコンサルタント株式会社

試験の表題      バクチャーパウダーのヒメダカによる 96 時間急性毒性試験

試験番号      93925

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します。

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ました。

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	2005 年 12 月 7 日	2005 年 12 月 7 日
試験計画書	2005 年 12 月 8 日	2005 年 12 月 8 日
試験計画書の変更	2005 年 12 月 16 日	2005 年 12 月 16 日
暴露開始時	2005 年 12 月 12 日	2005 年 12 月 16 日
	2005 年 12 月 16 日	2005 年 12 月 16 日
暴露開始後	2005 年 12 月 16 日	2005 年 12 月 16 日
生データ、最終報告書草案	2006 年 1 月 10 日	2006 年 1 月 10 日
最終報告書	2006 年 1 月 11 日	2006 年 1 月 11 日

2006 年 1 月 11 日

信頼性保証部門責任者

白石圭二

白石圭二

## 目 次

	頁
要 約 .....	5
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. 適用GLP .....	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. 被 験 物 質 .....	8
12. 試験材料と方法 .....	8
13. 試験結果 .....	11
14. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる事項 .....	12
試験結果の表及び図	
表1 累積死亡率 .....	13
表2 観察された症状 .....	14
表3-1 試験液の溶存酸素濃度 .....	15
表3-2 試験液のpH .....	15
表3-3 試験液の水溫 .....	16
表4 ヒメダカに対するLC50 .....	16
図1 濃度－累積死亡率曲線 .....	17
付属資料 試験用水の水質	
別添資料 予備試験結果	

## 要 約

## バクチャーパウダーのヒメダカによる96時間急性毒性試験

## ＜試験条件＞

- ・被験物質：バクチャーパウダー
- ・試験生物：ヒメダカ(*Oryzias latipes*)
- ・暴露期間：96時間 一回目暴露期間：2005年12月12日～12月16日  
： 追加暴露期間：2005年12月16日～12月20日
- ・試験濃度：4,000、2,670、1,780、1,190及び790 mg/L(公比1.5)、実使用量(30 ppm)での影響確認用として30.0 mg/L及び追加濃度区527、351及び234 mg/L(公比1.5)の合計9濃度区及び対照区
- ・連 数：2連／試験区
- ・試験生物数：10尾／試験区(5尾／試験容器)
- ・試験用水：脱塩素水道水
- ・試験方式：半止水式(48時間後に換水)
- ・試験液の調製：被験物質と試験用水を混合、攪拌して調製
- ・試験液量：5.0 L／試験区(2.5 L／試験容器)
- ・水 温：24±1℃
- ・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：あり

## ＜結 果＞

- ・96時間LC50(半数致死濃度)：614 mg/L(95%信頼限界；503～758 mg/L)
- ・96時間100%死亡最低濃度：1,190 mg/L
- ・96時間0%死亡最高濃度：234 mg/L
- ・NOEC(最大無影響濃度)：234 mg/L  
(上記濃度は、設定濃度に基づく値)

1. 表 題  
バクチャーパウダーのヒメダカによる96時間急性毒性試験
2. 試験委託者  
名 称 アールビーシーコンサルタント株式会社  
所 在 地 (〒708-1124)岡山県津山市高野山西 478-3
3. 試験施設  
名 称 財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所  
所 在 地 (〒839-0801)福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号  
TEL (0942) 34-1500
4. 試験目的  
被験物質の魚類に対する短期的影響を調べる。
5. 試験法  
本試験は以下の試験法に従って行った。  
「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」に定める “Fish, Acute Toxicity Test (Guideline 203, 1992)”  
但し、試験液中の被験物質濃度の測定は行わなかった。
6. 適用GLP  
本試験は以下の基準を適用した。  
「OECD Principles of Good Laboratory Practice」 (November 26, 1997)
7. 試験日程
  - 1) 試験開始日 2005 年 12 月 8 日
  - 2) 実験開始日 2005 年 12 月 12 日  
本試験 2005 年 12 月 12 日～2005 年 12 月 16 日  
追加試験 2005 年 12 月 16 日～2005 年 12 月 20 日
  - 3) 実験終了日 2005 年 12 月 20 日
  - 4) 試験終了日 2006 年 1 月 11 日

## 8. 試資料の保管

## 1) 被験物質

被験物質を保管用容器に入れ密栓後、最終報告書作成後10年間、久留米事業所試料保管室に保管する。保管期間経過後の処置は試験委託者と協議の上決定する。ただし、保管中に品質が著しく変化する物質の保管期間は、その品質が保管に耐えうる期間とし、廃棄に際しては試験委託者の承認を得る。

## 2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、その他必要な資料等は最終報告書と共に、最終報告書作成後10年間、久留米事業所資料保管室に保管する。保管期間終了後の取扱いについては、保管期間終了前に試験委託者と協議する。

## 9. 試験関係者

試験責任者 松 浦 武  
所属 試験第四課

試験担当者 松 浦 武、前 田 琴 美、権 藤 由 紀  
小 野 美 香、安 達 竜 太、藤 島 沙 織  
廣 尾 ゆ み か

10. 最終報告書の承認  
試験責任者

2006 年 1 月 11 日  
氏 名 松浦 武  
松 浦 武



## 11. 被験物質

試験委託者提供資料による被験物質情報を以下に示す。

- 1) 名 称  
バクチャーパウダー
- 2) 外 観  
黒色粉末
- 3) 提 供 者  
アールピーシーコンサルタント株式会社
- 4) 被験物質の確認  
受領した被験物質の貼付ラベル等が、試験委託者提供の被験物質情報と一致することを確認した。
- 5) 保 管 条 件  
試験中の被験物質は室温暗所で保管した。

## 12. 試験材料と方法

## 1) 試験生物

## (1) 種

ヒメダカ(*Oryzias latipes*)

## (2) 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類である。

## (3) 大 き さ

全長 $2.0 \pm 1.0$  cm

## (4) 入 手 先

当事業所で自家生産したもの。

## (5) 試験生物の順化

生物は2005年6月11日に孵化したものを試験に使用した。試験条件と同じ水質(脱塩素水道水)、水温( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ )及び明暗周期(16時間明/8時間暗)下で17日間(一回目暴露分)及び21日間(追加暴露分)流水条件で順化し、供試前7日間の死亡率は0%であった。供試時における生物の月齢は約6ヶ月であった。なお、生物への薬浴は実施しなかった。餌はコイ用配合餌料(2C)を与え、供試24時間前から給餌は行わなかった。順化期間中に測定した飼育水の溶存酸素濃度は飽和濃度の80%以上を維持していた。試験系の再現性を確認するために実施(2005年8月22日～8月26日に実施)した硫酸銅(Ⅱ)五水和物(試薬特級、和光純薬工業製)の96時間LC50は $0.423$  mg/Lであった。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： $0.111 \sim 1.01$  mg/L)であった[平均 $\pm$ 標準偏差は $0.559 \pm 0.224$  mg/L( $n=33$ )]。以上のデータは全て硫酸銅(Ⅱ)換算で表示した。

- (6) 群 分 け  
無作為に抽出を行った。
- 2) 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付属資料に示す。
- 3) 試 験 器 具 及 び 装 置
- (1) 試 験 器 具  
3.0 L容のガラス製容器(直径16 cm、深さ17 cm)  
また、ゴミの進入や試験液の蒸散を防ぐため蓋をした。
- (2) 試 験 装 置  
恒 温 槽： プラスチック製水槽  
加温冷却ユニット(HCA250型、佐藤工業製)
- 4) 試 験 条 件
- (1) 暴 露 条 件
- ①方 式  
被験物質を含む試験液へ試験生物を暴露した。  
試験は暴露開始48時間後に試験液の全量を交換する半止水式で行った。
- ②期 間  
96時間
- ③試 験 濃 度  
試験はLC50算出用として4,000、2,670、1,780、1,190及び790 mg/L(公比1.5)、実使用量(30 ppm)での影響確認用として30.0 mg/L及び追加濃度区527、351及び234 mg/L(公比1.5)の合計9濃度区で行った。試験濃度及び公比は予備試験結果から決定した。予備試験結果を別添資料に示す。
- ④対 照 群  
被験物質を含まない試験用水のみの対照区を設けた。
- ⑤連 数  
2連/試験区
- ⑥試 験 生 物 数  
10尾/試験区(5尾/試験容器)
- ⑦試 験 液 量  
5.0 L/試験区(2.5 L/試験容器)

## (2) 環境条件

## ①水 温

24±1℃

## ②溶存酸素濃度

暴露期間中、試験水温での飽和溶存酸素濃度の60%以上で行った。また、暴露期間中、緩やかなエアレーションを行った。

## ③pH

試験はpHを調整せずに行った。

## ④照 明

室内灯による16時間明/8時間暗

## ⑤給 餌

暴露期間中、給餌を行わなかった。

## 5) 試験液の調製法

試験容器に入れた試験用水に必要量の被験物質を添加後、攪拌して調製した。各試験区の調製量に対する被験物質添加量を以下に示す。

設定濃度(mg/L)	被験物質添加量(g/2.5 L)
対照区	--
30.0	0.0750
<u>234</u>	0.585
<u>351</u>	0.878
<u>527</u>	1.318
<u>790</u>	1.975
<u>1,190</u>	2.975
<u>1,780</u>	4.45
<u>2,670</u>	6.675
<u>4,000</u>	10.0

下線を付した濃度区は追加濃度区であることを示す。

## 6) 観察と測定

## (1) 試験生物の状態

死亡と症状を暴露開始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。死亡した個体は確認した時点で、速やかにとり除いた。

## (2) 試験生物の全長、体重

暴露終了後、対照区の試験生物について全長、体重を測定した。

## (3) 試験液の状態

試験液の状態を暴露開始時及び換水前(48時間後)に観察した。

また、換水前までに全個体が死亡した濃度区については、全個体死亡を確認した時点で観察した。

## (4) 水質

試験液の溶存酸素濃度、pH及び水温を暴露開始時、換水前後及び暴露終了時に測定した。24及び72時間後の水質も測定した。また、全個体が死亡した濃度区については、全個体死亡を確認した時点で測定した。溶存酸素濃度は溶存酸素計(YSI MODEL 58、Yellow Springs Instruments製)、pHはガラス電極式水素イオン濃度計(HM-21P型、東亜ディーケーケー製)、水温は検定済ガラス製棒状温度計で測定した。

## 7) LC50\*の算出法

24時間についてはBinomial法、48、72及び96時間についてはProbit法によりLC50を算出した。また、それらの95%信頼限界を算出した。

\* LC50 (Median Lethal Concentration) : 暴露期間において試験生物の50%を死亡させる被験物質濃度を示す。

## 8) 有効性基準

(1) 暴露期間中、対照群における死亡率は10%を超えてはならない。

(2) 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。

## 9) 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 規則Bによった。

## 13. 試験結果

## 1) 死亡率

96時間における100%死亡最低濃度は1,190 mg/Lであった。0%死亡最高濃度は234 mg/Lであった。実使用量(30 ppm)での影響確認用として設定した30.0 mg/Lでは死亡は認められなかった。各時間での累積死亡率を表1、濃度-累積死亡率曲線を図1に示す。なお、暴露終了時における対照群の死亡率は0%であり、有効性基準(10%を超えない)を満たしていた。

## 2) 症状等の観察結果

対照群において、症状は認められなかった。

以下の観察結果は全て対照群との比較に基づくものである。暴露期間中に観察された症状は表層集中、平衡喪失、及び活動度の低下であった。実使用量(30 ppm)での影響確認用として設定した30.0 mg/Lでは症状は認められなかった。暴露期間中における症状の観察結果を表2に示す。

## 3) 試験生物の大きさ[平均値±標準偏差(n=10)]

一回目暴露

全長 2.9±0.12 cm

体重 0.19±0.073 g

追加暴露

全長 2.8±0.14 cm

体重 0.18±0.031 g

## 4) 試験液の観察と測定結果

## (1) 試験液の状態

暴露開始時は全濃度区において濃度に依存して黒色懸濁状態で、同様に沈殿物も観察された。換水前あるいは全個体死亡時は、30.0 mg/L区で無色透明、その他の濃度区では褐色澄明であった。また、すべての濃度区で沈殿物が濃度に依存して観察された。

対照群では暴露開始時及び換水前ともに無色透明であった。

## (2) 試験液の水質

暴露期間中に測定した溶存酸素濃度は7.8～8.8 mg/L、pHは6.3～7.8、水温は23.5～24.2℃であった。試験液の水質を表3-1、3-2及び3-3に示す。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)

## 5) LC50

バクチャーパウダーのヒメダカに対する48時間LC50は1,050 mg/L (95%信頼限界：885～1,240 mg/L)、96時間LC50は614 mg/L (95%信頼限界：503～758 mg/L)であった。各時間でのLC50を表4に示す。

## 6) NOEC

暴露期間中に観察された症状及び死亡の結果から、バクチャーパウダーのヒメダカに対するNOECは234 mg/Lであった。

14. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる事項  
当該事項はなかった。

表1 累積死亡率

設定濃度 (mg/L)	累積死亡率 (%)				
	3時間	24時間	48時間	72時間	96時間
対照区 (追加分)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
30.0	0	0	0	0	0
234	0	0	0	0	0
351	0	0	0	0	20
527	0	0	0	20	20
790	0	0	20	40	70
1,190	0	0	60	80	100
1,780	0	60	100	100	100
2,670	0	100	100	100	100
4,000	0	100	100	100	100

下線試験区は追加試験濃度区を示す。

表2 観察された症状

設定濃度 (mg/L)	観 察 結 果				
	3時間	24時間	48時間	72時間	96時間
対照区 (追加分)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)
30.0	—	—	—	—	—
<u>234</u>	—	—	—	—	—
351	—	—	—	AS	—
<u>527</u>	—	—	—	—	AS
790	—	AS	—	—	—
1,190	—	AS PLE	AS	AS RA	
1,780	—	AS			
2,670	—				
4,000	—				

下線試験区は追加試験濃度区を示す。

—は症状が認められなかったことを示す。

空欄は全個体が死亡したことを示す。

症状の略称

- AS(At the surface) : 表層集中  
 PLE(Partial loss of equilibrium) : 軽度平衡喪失  
 RA(Reduced activity) : 活動度の低下

表3-1 試験液の溶存酸素濃度

設定濃度 (mg/L)	0時間	24時間	48時間		72時間	96時間 終了時
	開始時		換水前	換水後		
対照区 (追加分)	8.8 (8.8)	8.3 (8.0)	7.8 (8.1)	8.5 (8.6)	8.0 (8.0)	8.2 (7.8)
30.0	8.8	8.1	8.1	8.5	8.0	8.2
<u>234</u>	8.8	8.1	8.1	8.6	8.0	8.0
<u>351</u>	8.8	8.1	8.1	8.6	7.9	7.8
<u>527</u>	8.8	8.0	8.0	8.6	7.9	7.9
790	8.8	8.0	8.0	8.5	8.0	8.3
1,190	8.8	8.0	8.1	8.5	8.0	8.1*
1,780	8.8	8.1	8.2*			
2,670	8.8	8.2*				
4,000	8.8	8.2*				

下線試験区は追加試験濃度区を示す。

単位：mg/L

空欄は全個体が死亡したことを示す。

\*全個体の死亡を確認した時点で測定した値を示す。

表3-2 試験液のpH

設定濃度 (mg/L)	0時間	24時間	48時間		72時間	96時間 終了時
	開始時		換水前	換水後		
対照区 (追加分)	7.7 (7.7)	7.8 (7.7)	7.6 (7.7)	7.7 (7.7)	7.6 (7.7)	7.7 (7.6)
30.0	7.7	7.8	7.7	7.6	7.7	7.7
<u>234</u>	7.4	7.7	7.7	7.4	7.7	7.6
<u>351</u>	7.3	7.7	7.8	7.3	7.7	7.6
<u>527</u>	7.1	7.6	7.7	7.1	7.6	7.5
790	7.1	7.6	7.5	7.0	7.5	7.5
1,190	6.9	7.4	7.4	6.9	7.4	7.4*
1,780	6.7	7.4	7.4*			
2,670	6.6	7.1*				
4,000	6.3	6.7*				

下線試験区は追加試験濃度区を示す。

空欄は全個体が死亡したことを示す。

\*全個体の死亡を確認した時点で測定した値を示す。



表3-3 試験液の水温

設定濃度 (mg/L)	0時間	24時間	48時間		72時間	96時間
	開始時		換水前	換水後		終了時
対照区 (追加分)	23.7 (23.6)	24.0 (24.1)	24.0 (23.9)	23.9 (23.9)	24.0 (24.1)	24.0 (24.0)
30.0	23.5	24.0	24.1	23.6	24.0	24.1
<u>234</u>	23.6	24.1	23.9	23.6	24.1	24.0
<u>351</u>	23.6	24.1	23.9	23.6	24.2	23.8
<u>527</u>	23.7	24.1	23.9	23.6	24.2	23.9
790	23.5	24.0	24.1	23.7	24.0	24.1
1,190	23.5	24.0	24.1	23.9	24.0	23.8*
1,780	23.5	23.9	23.9*			
2,670	23.5	23.9*				
4,000	23.7	24.2*				

下線試験区は追加試験濃度区を示す。

単位：℃

空欄は全個体が死亡したことを示す。

\*全個体の死亡を確認した時点で測定した値を示す。

表4 ヒメダカに対するLC50

暴露時間	LC50 (mg/L)	95%信頼限界(mg/L)	LC50算出法
24時間	1,690	1,190~2,670	Binomial法
48時間	1,050	885~1,240	Probit法
72時間	820	672~1,000	Probit法
96時間	614	503~758	Probit法

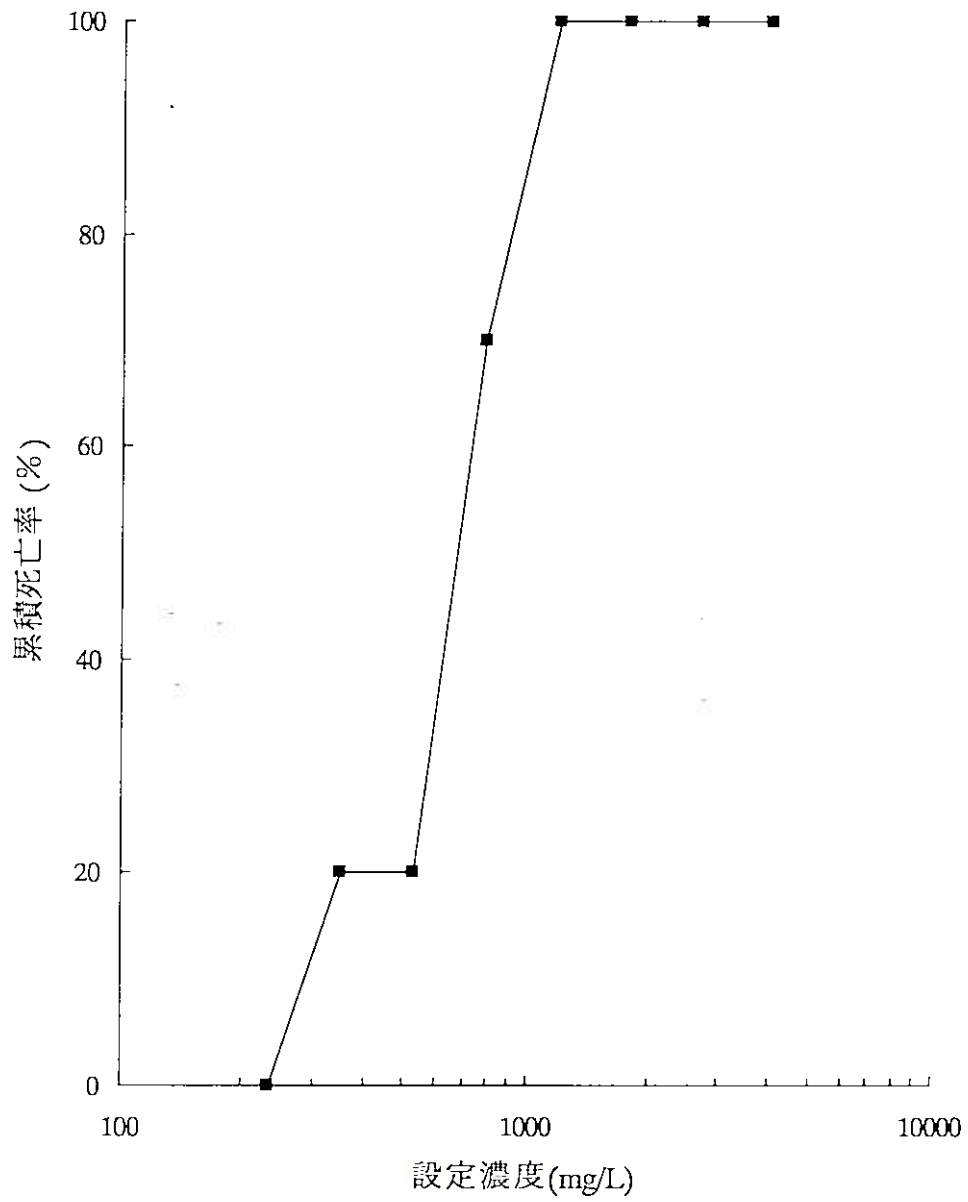


図1 濃度一累積死亡率曲線

付属資料

試験用水の水質

## 試験用水の水質(採水日：2005年7月8日)

項目	単位	検査結果	定量下限
全硬度(CaCO <sub>3</sub> として)	mg/L	29.2	0.1
浮遊物質	mg/L	< 1	1
pH値	—	7.6(23℃)	—
有機体炭素	mg/L	1.0	0.1
化学的酸素要求量	mg/L	1.0	0.5
遊離塩素	mg/L	< 0.02	0.02
アンモニウム態窒素	mg/L	0.01	0.01
全シアン	mg/L	< 0.01	0.01
アルカリ度	mg/L	20	1
電気伝導率	mS/m	12.6	—
有機りん	mg/L	< 0.1	0.1
アルキル水銀	mg/L	< 0.0005	0.0005
総水銀	mg/L	< 0.0005	0.0005
カドミウム	mg/L	< 0.001	0.001
六価クロム	mg/L	< 0.02	0.02
鉛	mg/L	< 0.005	0.005
ヒ素	mg/L	< 0.001	0.001
ホウ素	mg/L	0.05	0.02
フッ素	mg/L	< 0.1	0.1
鉄	mg/L	< 0.01	0.01
銅	mg/L	< 0.005	0.005
コバルト	mg/L	< 0.001	0.001
マンガン	mg/L	< 0.01	0.01
亜鉛	mg/L	< 0.01	0.01
アルミニウム	mg/L	0.031	0.001
ニッケル	mg/L	< 0.001	0.001
銀	mg/L	< 0.0001	0.0001
硫酸イオン	mg/L	16.1	0.1
塩化物イオン	mg/L	14	1
ナトリウム	mg/L	10.1	0.01
カリウム	mg/L	2.9	0.01
カルシウム	mg/L	8.4	0.01
マグネシウム	mg/L	2.0	0.01
1,2-ジクロロプロパン	mg/L	< 0.0001	0.0001
クロロタロニル	mg/L	< 0.0001	0.0001
プロピザミド	mg/L	< 0.0001	0.0001
クロルニトロフェン	mg/L	< 0.0001	0.0001
シマジン	mg/L	< 0.001	0.001
チオベンカルブ	mg/L	< 0.0001	0.0001
ダイアジノン	mg/L	< 0.0001	0.0001
イソキサチオン	mg/L	< 0.0001	0.0001
フェニトロチオン	mg/L	< 0.0001	0.0001
EPN	mg/L	< 0.0001	0.0001
ジクロルボス	mg/L	< 0.0001	0.0001
イプロベンホス	mg/L	< 0.0001	0.0001
PCB	mg/L	< 0.0005	0.0005

別添資料

予備試験結果

### 予備試験結果

設定濃度 (mg/L)	左：累積死亡率(%)		右：症状の観察 (症状有り：*、無し：-)							
	3時間		24時間		48時間		72時間		96時間	
1,000	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
2,500	0	-	0	-	50	-	50	-	100	
5,000	0	-	100		100		100		100	
10,000	0	*	100		100		100		100	

空欄は試験生物が全滅したことを示す。

暴露方式：半止水式(換水頻度1回/2日)

生物数/試験液量：2尾/1L

エアレーション：有り

試験液調製法：被験物質を試験用水に直接添加後、攪拌して調製した。