

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 猿田志岐農産有限会社

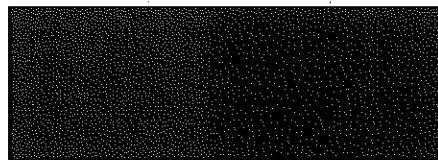
試験の表題 二酸化チタン懸濁液 サンプルのオオミジンコによる48時間
急性遊泳阻害試験

試験番号 93706

本最終報告書(写し)は、原本を正確にコピーしたものです。

2005年6月30日

試験責任者



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 猿田志岐農産有限会社

試験の表題 二酸化チタン懸濁液 サンフロアブル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 93706

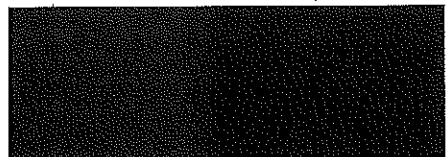
上記試験は以下の基準に従って実施したものです。

- (1) 「農薬の毒性に関する試験の適正実施に係る基準」(11農産第6283号平成11年
10月1日)
- (2) 「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。

2005年6月29日

試験責任者



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 猿田志岐農産有限公司

試験の表題 二酸化チタン懸濁液 サンプルアブル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 93706

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、検閲の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告しました。

検閲内容	検閲日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2005 年 6 月 6 日	2005 年 6 月 6 日
試験計画書	2005 年 6 月 7 日	2005 年 6 月 8 日
暴露開始時	2005 年 6 月 13 日	2005 年 6 月 15 日
暴露開始後	2005 年 6 月 15 日	2005 年 6 月 15 日
生データ、最終報告書草案	2005 年 6 月 27 日	2005 年 6 月 28 日
最終報告書	2005 年 6 月 29 日	2005 年 6 月 29 日

2005年 6 月 29 日

信頼性保証業務担当者

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. 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	9
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	
表1 遊泳阻害率	13
表2 観察された症状	13
表3 試験液の水質	13
表4 オオミジンコに対するEC50	13
付属資料 試験用水の水質	
別添資料 予備試験結果	

要 約

二酸化チタン懸濁液 サンフロアブルのオオミジンコによる48時間急性遊泳阻害試験

<試験条件>

- ・被験物質：二酸化チタン懸濁液 サンフロアブル
- ・試験生物：オオミジンコ(*Daphnia magna*)
- ・暴露期間：48時間
- ・試験濃度：1,000 mg/Lの1濃度区及び対照区
- ・試験生物数：20頭／試験区(5頭×4試験容器)
- ・試験用水：脱塩素水道水
- ・試験方式：止水式
- ・試験液の調製：被験物質を直接添加して調製
- ・試験液量：400 mL／試験区(100 mL×4試験容器)
- ・水温：20±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：なし

<結 果>

- ・48時間EC50(半数遊泳阻害濃度)：>1,000 mg/L
- ・NOEC(最大無影響濃度)：≥1,000 mg/L
(上記濃度は、設定濃度に基づく値)

1. 表 題
二酸化チタン懸濁液 サンフロアブル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 猿田志岐農産有限会社
所 在 地 (〒842-0103)佐賀県神埼郡東背振村大曲 255-11
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
被験物質のミジンコ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。
(1) 「農薬の登録申請に係る試験成績について(別添)農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針 水産動植物への影響に関する試験 ミジンコ類急性遊泳阻害試験(2-7-2-1)(平成12年11月24日付け 12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)」
(2) 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」に定める “*Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test (Guideline 202, April 13, 2004)”
6. 適用 GLP
本試験は以下の基準を適用した。
(1) 「農薬の毒性に関する試験の適正実施に係る基準」(11農産第6283号平成11年10月1日)
(2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」 (November 26, 1997)
7. 試験日程
 - 1) 試験開始日 2005 年 6 月 7 日
 - 2) 実験開始日 2005 年 6 月 13 日
 - 3) 実験完了日 2005 年 6 月 15 日
 - 4) 試験完了日 2005 年 6 月 29 日

8. 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、農薬登録取得後5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。

* 試験番号93706及び93707についての共用保管試料とする。

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、農薬登録
取得後15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

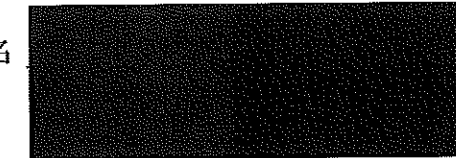
試験担当者

10. 最終報告書の承認

試験責任者

2005年6月29日

氏名



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
サンフロアブル
- 2) 略 称
二酸化チタン懸濁液 サンフロアブル
- 3) ロット番号
不明
- 4) 外 観 等
白色懸濁液・無臭・無味
- 5) 成分及び含有量
 - (1) 有効成分
二酸化チタン TiO_2 6 wt%
 - (2) その他の成分
工業用精製水 H_2O 94 wt%
- 6) 安定性等
安定性：引火性、爆発性、酸化性、自然発火性なし
反応性：なし
避けるべき条件：なし
危険有害な分解生成物：なし
- 7) 提 供 者
猿田志岐農産有限公司
- 8) 被験物質の確認
受領した被験物質の貼付ラベルの記載内容等が、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。
- 9) 保 管 条 件
試験中の被験物質は冷暗所で保管した。

12. 試験材料と方法

1) 試験生物

(1) 種

オオミジンコ (*Daphnia magna* Clone A)

(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) 供給源

英国Sheffield大学(所在地 Sheffield S10 2UQ, United Kingdom)より分譲された*Daphnia magna*(Clone A)の子孫で、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(脱塩素水道水)、水温($20\pm 1^{\circ}\text{C}$)及び明暗周期(16時間明/8時間暗)下で飼育したもの(27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*Chlorella vulgaris*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。また、試験系の再現性を確認するために実施(2005年5月24日~5月26日に実施)した基準物質(ニクロム酸カリウム、試薬特級、和光純薬工業株式会社)の急性遊泳阻害試験の48時間EC50は0.283 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: 0.112~0.350 mg/L)であった[平均 $\pm$ 標準偏差は 0.231 ± 0.060 mg/L($n=49$)]。

(4) 幼体の選別

生後24時間以内の幼体を用いた。

(5) 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。使用時に、残留塩素濃度が0.02 mg/L以下であることを確認した。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

試験容器: 100 mLガラスピーカー

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(加熱冷却装置、佐藤工業株式会社製 加温冷却ユニット HCA250型)

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。

試験は試験液の交換をしない止水式で行った。

②期 間
48時間

③試験濃度

予備試験の結果から48時間NOEC(最大無影響濃度)が1,000 mg/L以上と予測されたため、1,000 mg/L区のみで試験を行った。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試験生物数

20頭/試験区(5頭×4試験容器)

⑥試験液量

400 mL/試験区(100 mL×4試験容器)

(2) 環 境 条 件

①水 温

20±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%以上を保つ条件で行った。また、暴露期間中、エアレーションは行わなかった。

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

必要量の被験物質と試験用水を試験容器で混合し、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。

試験区(mg/L)	被験物質添加量(mg/100 mL)
対照区	—
1,000	100

6) 観察と測定

(1) 試験生物の状態

暴露開始24及び48時間後に遊泳障害及び症状を観察した。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障害されたとみなした。

(2) 試験液の状態

試験液の状態を暴露開始時及び終了時に観察した。

(3) 水 質

試験液の溶存酸素濃度、pH及び水温を暴露開始時及び終了時に測定した。暴露開始時は別途調製した試験液について測定し、暴露終了時には各試験区につき4試験容器のうち1試験容器について測定した。溶存酸素濃度は溶存酸素計58型(Yellow Springs Instruments Co., Inc.)、pHはガラス電極式水素イオン濃度計HM-14P型(東亜ディーケーケー)、水温は検定済ガラス製棒状温度計で測定した。

7) 結果の処理

結果の算出には設定濃度を用いた。

(1) EC50*の算出法

試験濃度で50%以上の遊泳阻害率が得られなかったため、EC50は「>試験濃度」と表示した。

* EC50 (Median Effective Concentration): 暴露期間において試験生物の50%に影響を与える被験物質濃度を示す。影響の指標は遊泳阻害による。

(2) NOEC(最大無影響濃度)の評価

暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められなかったため、NOEC(No Observed Effect Concentration)は「 $\geq$ 試験濃度」と表示した。

8) 有効性基準

(1) 暴露期間中、対照群のミジンコにおいて、10%を超えて遊泳阻害されたり、水面に浮いたりしてはならない。

(2) 溶存酸素濃度は暴露期間中、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) 遊泳阻害率

暴露期間中、試験濃度において試験生物の遊泳阻害は認められなかった。24及び48時間での遊泳阻害率を表1に示す。なお、暴露期間中の対照群において水面に浮いた個体はみられず、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。

2) 症状等の観察結果

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、試験濃度において試験生物に症状は認められなかった。対照群においても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) 試験液の観察と測定結果

(1) 試験液の状態

暴露開始時では1,000 mg/L区は白色懸濁状態であった。暴露終了時では、1,000 mg/L区は無色透明で、白色の沈殿物が観察された。

(2) 試験液の水質

暴露期間中に測定した溶存酸素濃度は8.9～9.0 mg/L、pHは7.6～7.7、水温は20.0℃であった。試験液の水質を表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。

* 19～21℃の飽和溶存酸素濃度：9.01～8.68 mg/L、JIS K 0102

4) EC50

二酸化チタン懸濁液：サンフロアブルのオオミジンコに対する24時間EC50及び48時間EC50は>1,000 mg/Lであった。各時間でのEC50を表4に示す。

5) NOEC

暴露期間中に観察された症状及び遊泳阻害の結果から、二酸化チタン懸濁液サンフロアブルのオオミジンコに対するNOECは $\geq 1,000$ 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 遊泳阻害率

設定濃度 (mg/L)		遊 泳 阻 害 率 (%)			
		24時間		48時間	
		試験容器毎	試験区毎	試験容器毎	試験区毎
対照区	A	0	0	0	0
	B	0		0	
	C	0		0	
	D	0		0	
1,000	A	0	0	0	0
	B	0		0	
	C	0		0	
	D	0		0	

表2 観察された症状

設定濃度 (mg/L)	観 察 結 果	
	24時間	48時間
対照区	—	—
1,000	—	—

—は症状が認められなかったことを示す。

表3 試験液の水質

設定濃度 (mg/L)	溶存酸素濃度(mg/L)		pH		水温(℃)	
	開始時	終了時	開始時	終了時	開始時	終了時
対照区	9.0	9.0	7.7	7.6	20.0	20.0
1,000	8.9	9.0	7.7	7.7	20.0	20.0

表4 オオミジンコに対するEC50

暴露時間	EC50 (mg/L)	95%信頼限界(mg/L)	EC50算出法
24時間	>1,000	—	—
48時間	>1,000	—	—

—は得られなかったことを示す。

付属資料

試験用水の水質

試験用水の水質(採水日:2005年1月5日)

項 目	単位	検査結果	定量下限
カルシウム、マグネシウム等(硬度)	mg/L	38.8	0.1
浮遊物質	mg/L	1未満	1
pH	—	7.3(22℃)	—
有機体炭素	mg/L	0.3	0.1
化学的酸素要求量	mg/L	0.9	0.5
遊離塩素	mg/L	不検出	0.01
アンモニウム態窒素	mg/L	不検出	0.01
シアン	mg/L	不検出	0.01
アルカリ度	mg/L	36	1
電気伝導率	mS/m	15.8	—
有機りん	mg/L	不検出	0.1
アルキル水銀	mg/L	不検出	0.0005
水銀	mg/L	不検出	0.0005
カドミウム	mg/L	不検出	0.001
六価クロム	mg/L	不検出	0.02
鉛	mg/L	不検出	0.005
ヒ素	mg/L	不検出	0.001
ホウ素	mg/L	不検出	0.02
フッ素	mg/L	不検出	0.1
鉄	mg/L	不検出	0.01
銅	mg/L	不検出	0.005
コバルト	mg/L	不検出	0.001
マンガン	mg/L	不検出	0.01
亜鉛	mg/L	不検出	0.01
アルミニウム	mg/L	不検出	0.001
ニッケル	mg/L	不検出	0.001
銀	mg/L	不検出	0.0001
硫酸イオン	mg/L	17.7	0.1
塩化物イオン	mg/L	15	1
ナトリウム	mg/L	13.5	0.01
カリウム	mg/L	3.3	0.01
カルシウム	mg/L	11.0	0.01
マグネシウム	mg/L	2.8	0.01
1,2-ジクロロプロパン	mg/L	不検出	0.0001
クロロタロニル	mg/L	不検出	0.0001
プロピザミド	mg/L	不検出	0.0001
クロルニトロフェン	mg/L	不検出	0.0001
シマジン	mg/L	不検出	0.001
チオベンカルブ	mg/L	不検出	0.0001
ダイアジノン	mg/L	不検出	0.0001
イソキサチオン	mg/L	不検出	0.0001
フェニトロチオン	mg/L	不検出	0.0001
EPN	mg/L	不検出	0.0001
ジクロルボス	mg/L	不検出	0.0001
イプロベンホス	mg/L	不検出	0.0001
PCB	mg/L	不検出	0.0005

別添資料

予備試験結果

予備試験結果

<生物への影響>

予備試験-1

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
10.0	0	—	0	—
100	0	—	0	—
1,000	0	—	0	—

暴露方式：止水式

試験生物：5頭/区(1連/区)

試験液調製法：10.0及び100 mg/L区：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た。

1,000 mg/L区：被験物質と試験用水を混合、攪拌して調製した。

—はその他の症状が観察されなかったことを示す。

予備試験-2

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
1,000	0	—	0	—

暴露方式：止水式

試験生物：10頭/区(2連/区)

試験液調製法：被験物質と試験用水を混合、攪拌して調製した。

—はその他の症状が観察されなかったことを示す。