

要 旨

試験委託者

環境省

表 題

3,3'-ジクロロベンジジンの藻類(*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害試験

試験番号

第14041号

試験方法

OECD 化学品テストガイドライン No. 201「藻類生長阻害試験」(1984年)に準拠

- 1) 被験物質 : 3,3'-ジクロロベンジジン
- 2) 暴露方式 : 静置培養(1日2回軽く攪拌), 開放系(通気性シリコン栓)
- 3) 供試生物 : *Selenastrum capricornutum*
- 4) 暴露期間 : 72時間
- 5) 試験濃度(設定値) :
対照区, 助剤対照区, 0.046, 0.10, 0.22, 0.46, 1.0, 2.2, 4.6及び10 mg/l
公比 ; 2.2, 助剤濃度 ; 100 mg/l
- 6) 試験液量 : 100 ml/容器
- 7) 連 数 : 3容器/1試験区
- 8) 初期細胞濃度 : 1×10^4 cells/ml
- 9) 試験温度 : 22.6~22.8 °C
- 10) 照 明 : フラスコ液面付近で 4,100~4,200 lx.(連続照明)
- 11) pH : 7.8~8.3(試験液のpH調整は行わなかった。)
- 12) 培 地 : OECD 化学品テストガイドラインに示されている培地
- 13) 分 析 法 : 高速液体クロマトグラフ法

結 果

以下の値は測定値（面積平均）を基に示した。

1) 50 %生長阻害濃度 (EC₅₀)

面積法

E_bC₅₀(0-72) : 0.63 mg/l (95 %信頼区間 ; 0.55~0.74 mg/l) 直線回帰分析法により算出した。
[0.49 mg/l (95 %信頼区間 ; 0.43~0.57 mg/l)]

速度法

E_rC₅₀(24-48) : 1.3 mg/l (95 %信頼区間 ; 0.90~1.8 mg/l) 直線回帰分析法により算出した。
[1.0 mg/l (95 %信頼区間 ; 0.70~1.4 mg/l)]

E_rC₅₀(24-72) : 1.3 mg/l (95 %信頼区間 ; 1.1 ~1.6 mg/l) 直線回帰分析法により算出した。
[1.0 mg/l (95 %信頼区間 ; 0.85~1.2 mg/l)]

2) 最大無作用濃度 (NOEC)

面積法

NOEC_b(0-72) : 0.12 mg/l [0.093 mg/l] (Dunnett の多重比較法により算出した。)

速度法

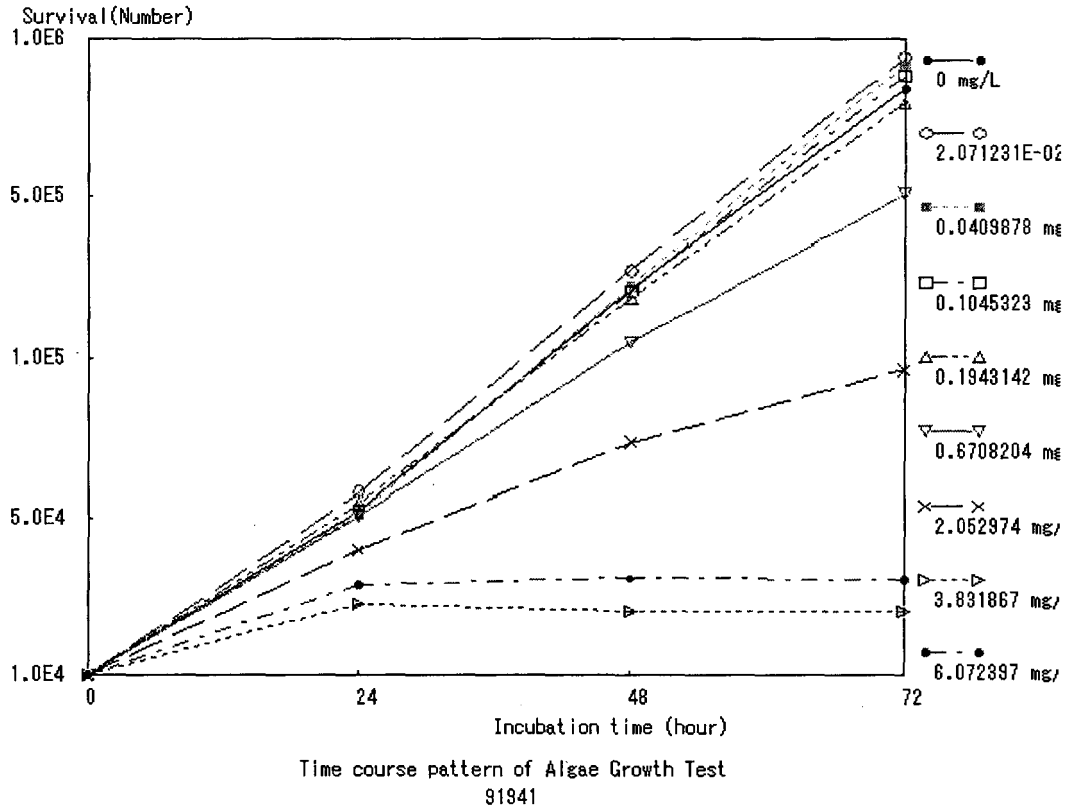
NOEC_r(24-48) : 0.22 mg/l [0.17 mg/l] (Dunnett の多重比較法により算出した。)

NOEC_r(24-72) : 0.22 mg/l [0.17 mg/l] (Dunnett の多重比較法により算出した。)

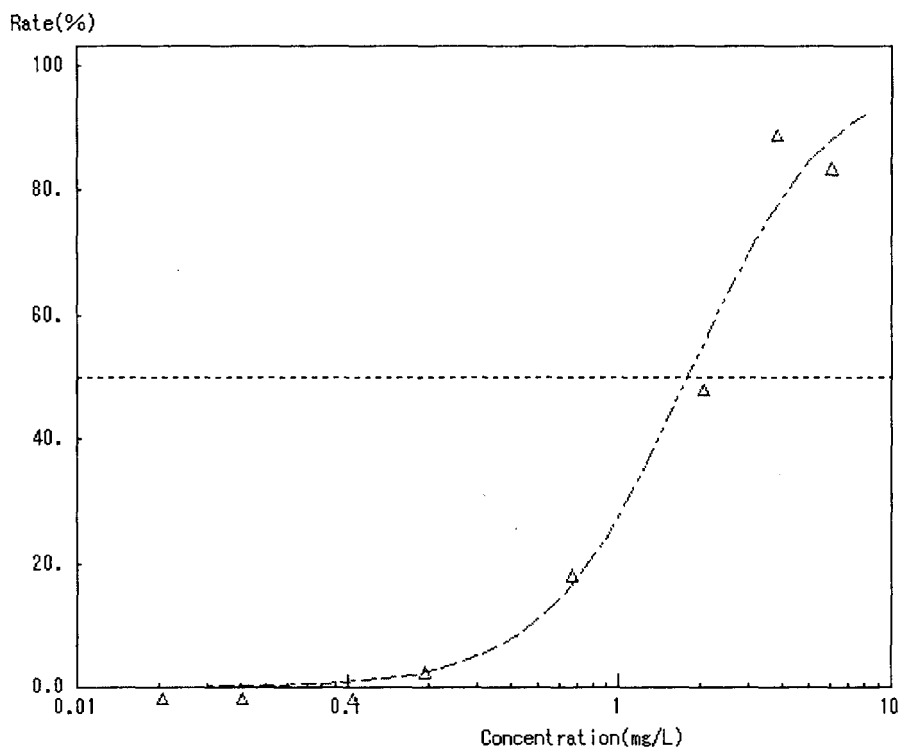
[]内の数値は 3,3'-ジクロロベンジジン当りに換算した場合の結果を示した。

3, 3'-ジクロロベンジジン (CAS.91-94-1)

① 生長曲線.



② 阻害率曲線



Dose-response curve for EC50 of Algae Growth Test (Logit method)
91941

③ 毒性値

0-72hErC50 (実測値に基づく) = 1.4* mg/L

0-72hNOECr (実測値に基づく) = 0.15* mg/L

*試験は3, 3'-ジクロロベンジジン二塩酸塩で行っており、毒性値については3, 3'-ジクロロベンジジンに換算した値を記載している。(グラフの数値は3, 3'-ジクロロベンジジン二塩酸塩の濃度)

要 旨

試験委託者

環境省

表 題

3,3'-ジクロロベンジジンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験

試験番号

第14042号

試験方法

OECD 化学品テストガイドライン No. 202 「ミジンコ類, 急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」(1984年)に準拠(ただし, 2002年度にテストガイドラインが改訂され近々公表される事になっている。本試験方法は改訂版の内容を一部取り入れた。)

- 1) 被験物質: 3,3'-ジクロロベンジジン
- 2) 暴露方式: 半止水式(24時間毎全量換水)
- 3) 供試生物: オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間: 48時間
- 5) 試験濃度(設定値):
対照区, 助剤対照区, 0.75, 1.0, 1.3, 1.8, 2.4, 3.2及び4.2 mg/l
公比; 1.3, 助剤濃度; 42 mg/l
- 6) 試験液量: 100 ml/容器
- 7) 連 数: 4 容器/1 試験区
- 8) 供試生物数: 20 頭/試験区
- 9) 試験温度: 19.1~21.0 °C
- 10) 溶存酸素濃度: 9.0~9.3 mg/l(暴露期間中, エアレーションは行わなかった。)
- 11) pH : 7.7~7.9(試験液の pH 調整は行わなかった。)
- 12) 照 明: 室内光, 16 時間明期/8 時間暗期
- 13) 給 餌: 無給餌
- 14) 希 釈 水: 水道水(茨城県つくば市)を脱塩素したもの
- 15) 分 析 法: 高速液体クロマトグラフ法

結 果

以下の値は測定値(面積平均)を基に示した。

- 1) 半数遊泳阻害濃度(EC_{50})
24時間後: 3.4 mg/l 以上 [2.6 mg/l 以上]
48時間後: 2.4 mg/l (95%信頼区間; 2.2~2.7 mg/l)
[1.9 mg/l (95%信頼区間; 1.7~2.1 mg/l)]
Moving average 法により算出した。
- 2) 0%阻害最高濃度
24時間後: 2.2 mg/l [1.7 mg/l]
48時間後: 1.1 mg/l [0.85 mg/l]
- 3) 100%阻害最低濃度
24時間後: 3.4 mg/l 以上 [2.6 mg/l 以上]
48時間後: 3.4 mg/l [2.6 mg/l]

[]内の数値は3,3'-ジクロロベンジジン当りに換算した場合の結果を示した。

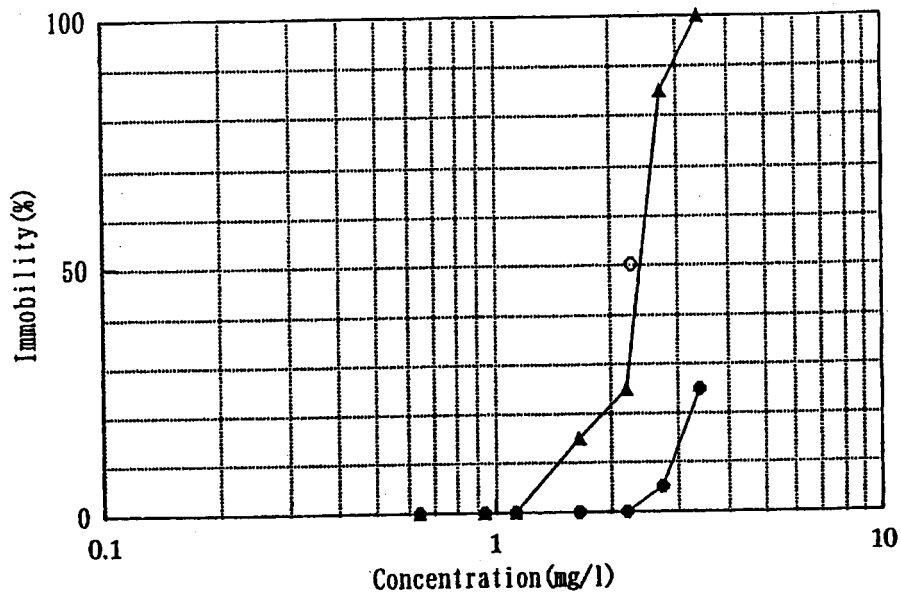


Figure 1. Concentration-Response(Immobility) Curve

◆ 24hr. ★ 48hr. ○ EC50

要 旨

試験委託者

環境省

表 題

3, 3'-ジクロロベンジジンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号

第14043号

試験方法

OECD 化学品テストガイドライン No. 211 「オオミジンコ繁殖試験」(1998年)に準拠

- 1) 被験物質：3, 3'-ジクロロベンジジン
- 2) 暴露方式：半止水式(24時間毎全量換水)
- 3) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間：21日間
- 5) 試験濃度(設定値)：
対照区, 助剤対照区, 0.10, 0.18, 0.32, 0.56, 及び1.0 mg/l
公比；1.8, 助剤濃度；100 µl/l
- 6) 試験液量：80 ml/容器
- 7) 連 数：10 容器/1 試験区(別に予備として2容器を追加)
- 8) 供試生物数：10 頭/試験区(1 頭/1 容器)
- 9) 試験温度：19.0～20.4 °C
- 10) 溶存酸素濃度：8.8～9.8 mg/l(暴露期間中, エアレーションは行わなかった。)
- 11) pH : 7.6～8.2(試験液のpH調整は行わなかった。)
- 12) 硬 度：85～87 mg/l(CaCO₃換算)
- 13) 照 明：室内光, 16時間明期/8時間暗期
- 14) 餌 料：単細胞緑藻類(*Chlorella vulgaris*)
(藻類培養液を遠心操作により, 希釈水に置換して給餌した。)
- 15) 給 餌 量：開始時～7日後 ; 0.10～0.15 mgC(有機体炭素)/頭/日
8日後～14日後 ; 0.15 mgC(有機体炭素)/頭/日
15日後～21日後 ; 0.15～0.17 mgC(有機体炭素)/頭/日
- 16) 希 釈 水：水道水(茨城県つくば市)を脱塩素したもの
- 17) 分 析 法：高速液体クロマトグラフ法

結 果

以下の値は測定値(時間加重平均)を基に示した。

- 1) 親ミジンコの半数致死濃度(21d-LC₅₀)
0.89 mg/l 以上 [0.69 mg/l 以上]
- 2) 50%繁殖阻害濃度(EC₅₀)
0.62 mg/l [0.48 mg/l], Doudoroff 法により算出した。
- 3) 最大無作用濃度(NOEC)
0.27 mg/l [0.21 mg/l], Dunnett の多重比較検定法により算出した。
- 4) 最小作用濃度(LOEC)
0.47 mg/l [0.36 mg/l], Dunnett の多重比較検定法により算出した。

[]内の数値は3,3'-ジクロロベンジジン当たりに換算した場合の結果を示した。

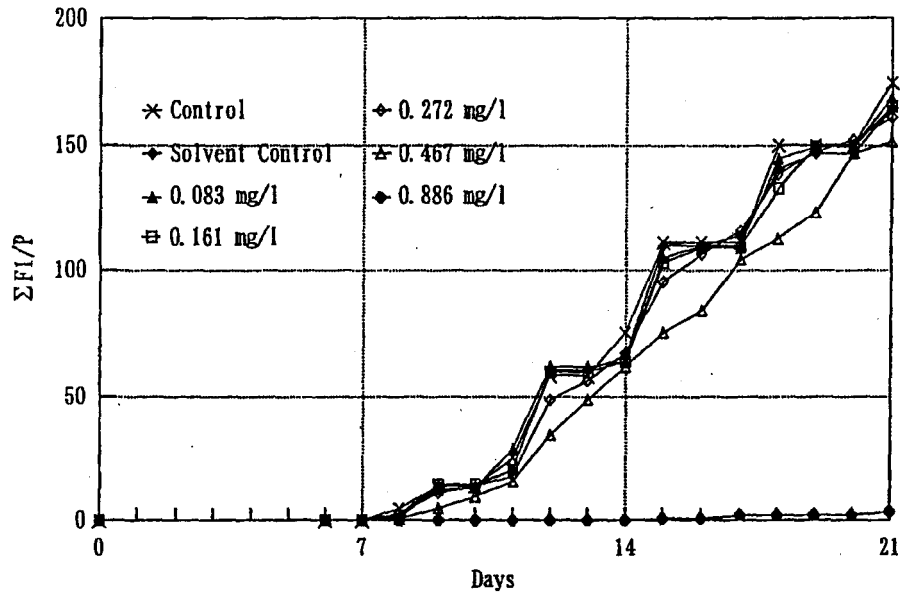


Figure 1. Time Course of $\Sigma F1/P$ for Each Concentration Level.

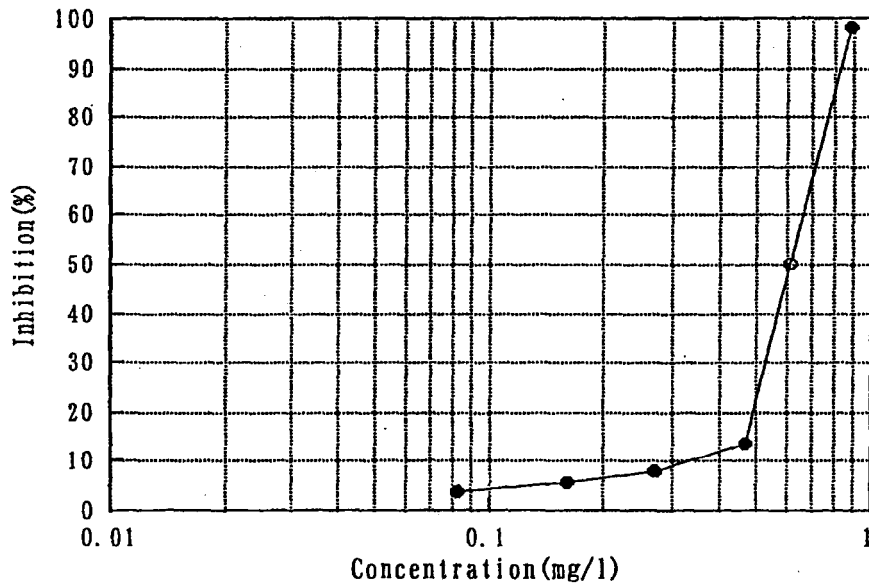


Figure 2. Concentration-Inhibition of Reproduction Curve

要 旨

試験委託者
環境省

表 題

3, 3'-ジクロロベンジジンのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

試験番号

第14044号

試験方法

OECD 化学品テストガイドライン No. 203「魚類急性毒性試験」(1992年)に準拠

- 1) 被験物質：3, 3'-ジクロロベンジジン
- 2) 暴露方式：半止水式(24時間毎全量換水)
- 3) 供試生物：ヒメダカ(*Oryzias latipes*)
- 4) 暴露期間：96時間
- 5) 試験濃度(設定値)：
対照区, 助剤対照区, 0.32, 0.42, 0.56, 0.75, 1.0, 1.3, 1.8, 2.4
及び3.2 mg/l
公比：1.3, 助剤濃度：32 mg/l
- 6) 試験液量：4.0 l/容器
- 7) 連 数：1容器/1試験区
- 8) 供試生物数：10尾/試験区
- 9) 試験温度：23.5~24.7℃
- 10) 溶存酸素濃度：6.6~9.4 mg/l(暴露期間中, エアレーションは行わなかった。)
- 11) pH : 7.3~8.1(試験液のpH調整は行わなかった。)
- 12) 照 明：室内光, 16時間明期/8時間暗期
- 13) 給 餌：無給餌
- 14) 希 釈 水：水道水(東京都多摩市)を脱塩素したもの
- 15) 分 析 法：高速液体クロマトグラフ法

結 果

以下の値は測定値(面積平均)を基に示した。

- 1) 96時間の半数致死濃度(LC₅₀)：0.66 mg/l(95%信頼区間；0.34~0.85 mg/l)
[0.51 mg/l(95%信頼区間；0.26~0.66 mg/l)]
Probit法により算出した。
- 2) 0%死亡最高濃度：0.41 mg/l[0.32 mg/l]
- 3) 100%死亡最低濃度：2.0 mg/l[1.6 mg/l]
[]内の数値は3, 3'-ジクロロベンジジン当たりに換算した場合の結果を示した。

Table 8. pH Values

(Semi-Static Condition)

| Nominal Concentration (mg/l) | Mean ^a Measured Concentration (mg/l) | pH | | | | | | | |
|------------------------------|---|--------|----------|-----|----------|-----|----------|-----|----------|
| | | 0 Hour | 24 Hours | | 48 Hours | | 72 Hours | | 96 Hours |
| | | New | Old | New | Old | New | Old | New | Old |
| Control | --- | 8.1 | 7.9 | 8.0 | 7.8 | 8.0 | 7.8 | 8.0 | 7.8 |
| Solvent Control | --- | 8.1 | 7.7 | 8.0 | 7.7 | 8.0 | 7.7 | 8.0 | 7.8 |
| 0.32 | 0.20 | 7.8 | 7.4 | 7.9 | 7.3 | 7.8 | 7.6 | 7.9 | 7.4 |
| 0.42 | 0.26 | 7.8 | 7.4 | 7.9 | 7.4 | 7.8 | 7.5 | 7.9 | 7.5 |
| 0.56 | 0.41 | 7.8 | 7.4 | 7.9 | 7.4 | 7.9 | 7.6 | 7.9 | 7.4 |
| 0.75 | 0.51 | 7.9 | 7.4 | 7.9 | 7.4 | 7.9 | 7.6 | 7.9 | 7.5 |
| 1.0 | 0.86 | 7.9 | 7.4 | 7.9 | 7.4 | 7.9 | 7.6 | 8.0 | 7.5 |
| 1.3 | 1.16 | 7.9 | 7.4 | 7.9 | 7.5 | 7.9 | 7.7 | 8.0 | 7.6 |
| 1.8 | 1.66 | 7.9 | 7.5 | 7.9 | 7.6 | 7.9 | 7.8 | 8.0 | 7.7 |
| 2.4 | 2.02 | 7.9 | 7.5 | 7.9 | 7.6 | 7.9 | 7.8 | — | — |
| 3.2 | 2.82 | 7.9 | 7.5 | 7.9 | 7.6 | — | — | — | — |

a: Areal Mean

New: Freshly prepared test solution

Old: Test solution after 24 hours exposure

—: Not measured because all fish were dead at this observation time.

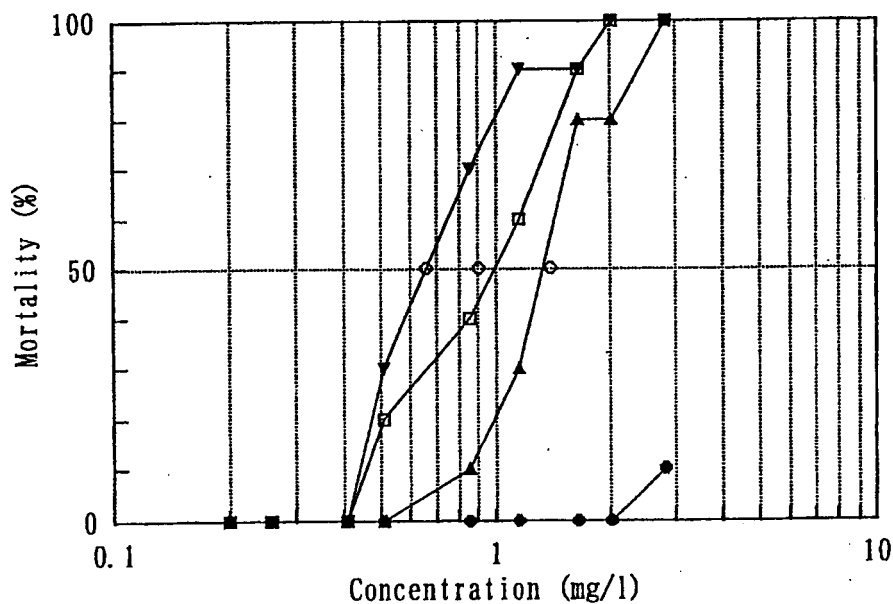


Figure 1. Concentration-Mortality Curve

◆ 24 hr. ★ 48 hr. □ 72 hr. ▼ 96 hr. ○ LC50

要 旨

試験委託者： 環境省

表 題： 4,4'-メチレンビスベンゼンアミンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験

試験番号： A010459-1

試験方法：

- 1) 適用ガイドライン： OECD 化学品テストガイドライン No. 201 「藻類生長阻害試験」
(1984年)
- 2) 暴露方式： 止水式, 振とう培養 (100rpm)
- 3) 供試生物： *Selenastrum capricornutum* (株名：ATCC22662)
(現在 *Pseudokirchneriella subcapitata* と学名が変更されている。)
- 4) 暴露期間： 72時間
- 5) 試験濃度： 対照区, 0.200, 0.430, 0.930, 2.00, 4.30, 9.30, 20.0 mg/L
(設定値) 公比： 2.2
- 6) 試験液量： 100 mL (OECD培地) / 容器
- 7) 連 数： 3 容器 / 試験区
- 8) 初期細胞濃度： 1×10^4 cells/mL
- 9) 試験温度： 23 ± 2 °C
- 10) 照 明： 4000 lux (±20%の変動内, フラスコ液面付近) で連続照明
- 11) 分 析 法： 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

試験結果：

- 1) 試験液中の被験物質濃度
試験液の分析の結果, 暴露開始時の測定値の設定値に対する割合が, ±20%以内であったため, 阻害濃度の算出には設定値を用いた。

2) 生長曲線下面積の比較による阻害濃度

50%生長阻害濃度 EbC50(0-72) : 5.34 mg/L (95%信頼区間 : 3.57~7.98 mg/L)

最大無作用濃度 NOECb(0-72) : 0.930 mg/L

3) 生長速度の比較による阻害濃度

50%生長阻害濃度 ErC50(24-48) : 13.5 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可)

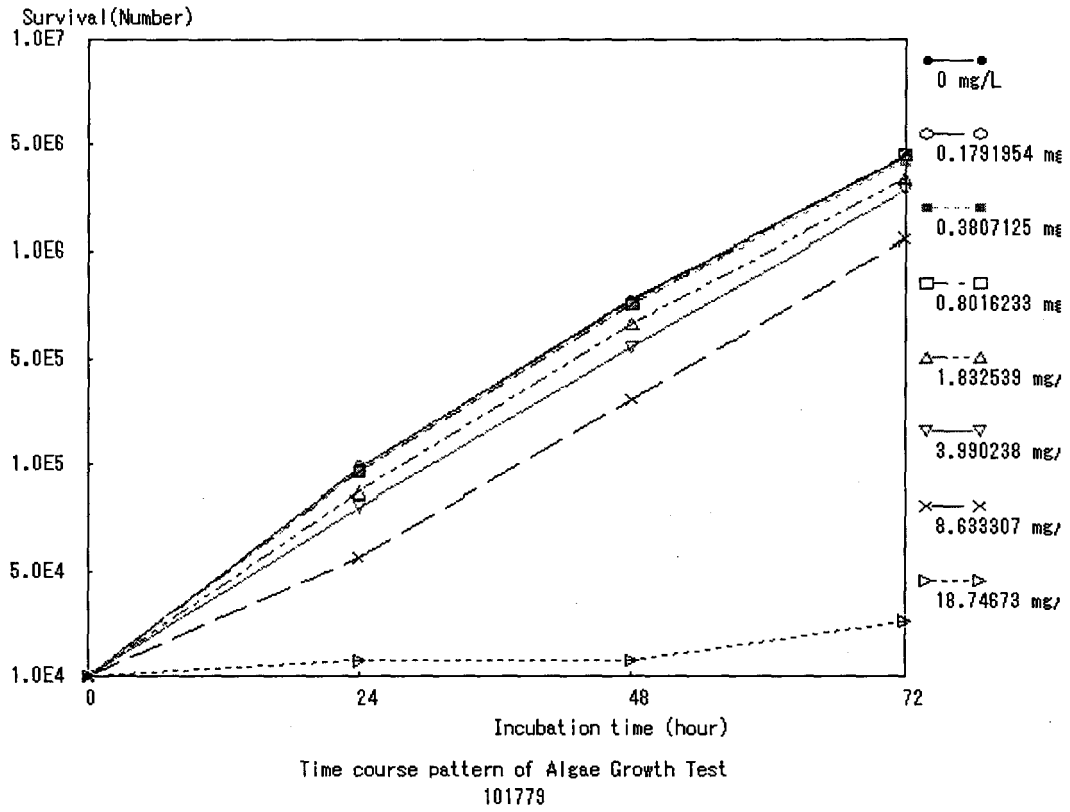
最大無作用濃度 NOECr(24-48) : 9.30 mg/L

50%生長阻害濃度 ErC50(24-72) : 14.4 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可)

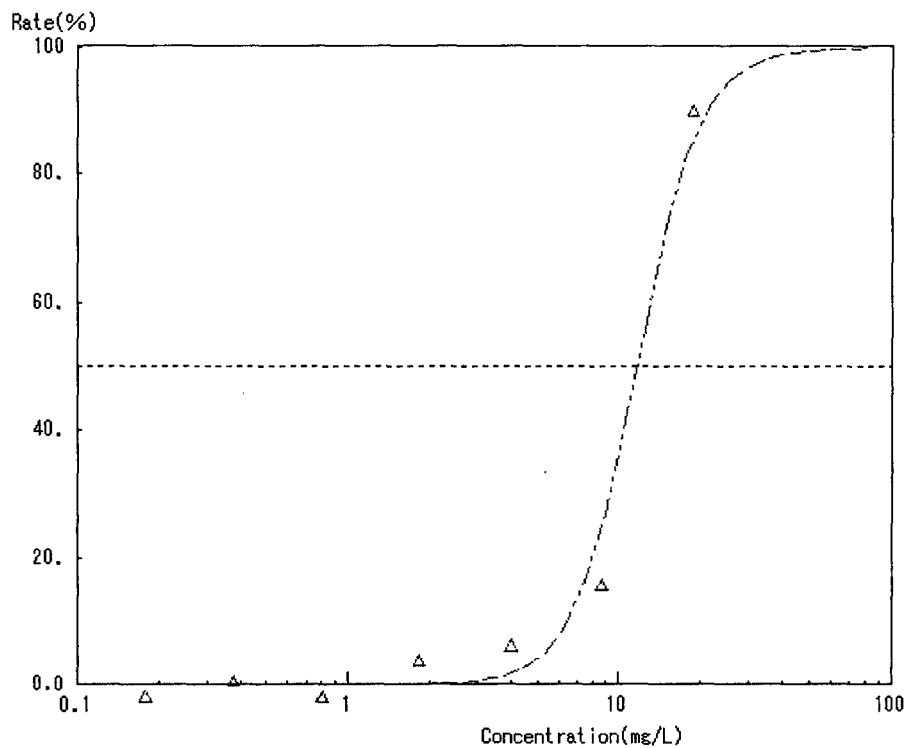
最大無作用濃度 NOECr(24-72) : 9.30 mg/L

4, 4' -メチレンビスベンゼンアミン (CAS. 101-77-9)

① 生長曲線



② 阻害率曲線



Dose-response curve for EC50 of Algae Growth Test (Logit method)
101779

③ 毒性値

0-72hErC50 (実測値に基づく) = 12 mg/L
0-72hNOECr (実測値に基づく) = 4.0 mg/L

要 旨

試験委託者：環境省

表 題：4,4'-メチレンビスベンゼンアミンのオオミジンコ (*Daphnia magna*)
に対する急性遊泳阻害試験

試験番号：A010459-2

試験方法：

- 1) 適用ガイドライン：OECD 化学品テストガイドライン No. 202 「ミジンコ類, 急性遊泳阻害試験および繁殖試験」 (1984年)
- 2) 暴露方式：半止水式 (24時間後に試験液の全量を交換)
水面をテフロンシートで被覆
- 3) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間：48時間
- 5) 試験濃度：対照区, 0.200, 0.630, 2.00, 6.30, 20.0, 63.0, 200 mg/L
(設定値) 公比：3.2
- 6) 試験液量：100 mL/容器
- 7) 連 数：4容器/試験区
- 8) 供試生物数：20頭/試験区 (5頭/容器)
- 9) 試験温度：20±1℃
- 10) 照 明：室内光, 16時間明 (800 lux 以下) /8時間暗
- 11) 分 析 法：高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

試験結果：

1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果、測定値の設定値に対する割合が、全て±20%以内であったため、結果の算出には設定値を用いた。

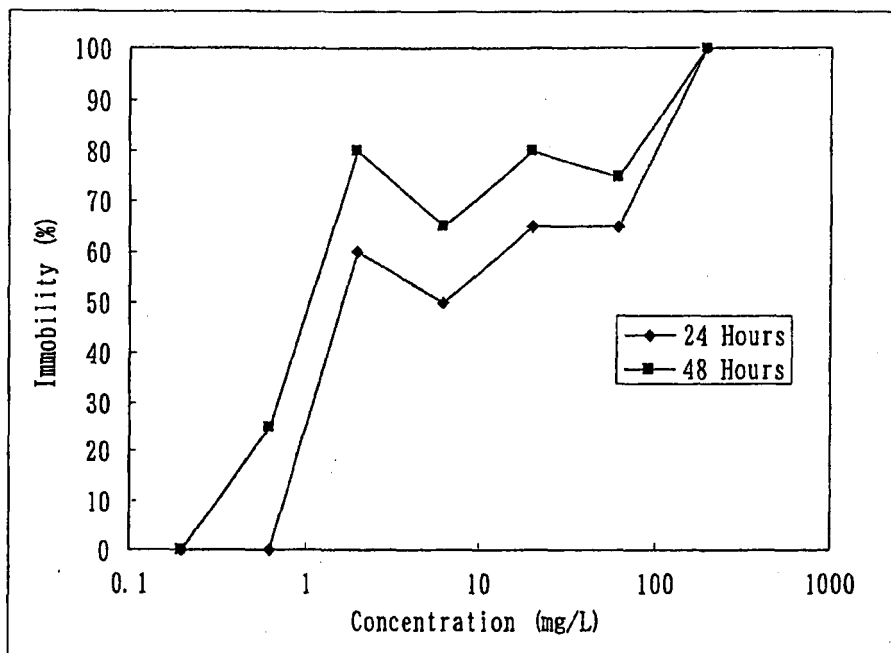
2) 24時間暴露後の結果

| | (mg/L) | 95%信頼区間 (mg/L) |
|------------------|--------|----------------|
| 半数遊泳阻害濃度 (EiC50) | 8.08 | 5.23 ~ 12.8 |
| 最大無作用濃度 (NOECi) | 0.630 | — |
| 100%阻害最低濃度 | 200 | — |

3) 48時間暴露後の結果

| | (mg/L) | 95%信頼区間 (mg/L) |
|------------------|--------|----------------|
| 半数遊泳阻害濃度 (EiC50) | 2.47 | 1.27 ~ 4.40 |
| 最大無作用濃度 (NOECi) | 0.200 | — |
| 100%阻害最低濃度 | 200 | — |

Figure 1 Concentration-Immobiility Curve



要 旨

試験委託者： 環境省

表 題： 4,4'-メチレンビスベンゼンアミンのオオミジンコ (*Daphnia magna*)
に対する繁殖阻害試験

試験番号： A010459-3

試験方法：

- 1) 適用ガイドライン： OECD 化学品テストガイドライン No. 211 「オオミジンコ繁殖試験」 (1998年)
- 2) 暴露方式： 半止水式 (毎日試験液の全量を交換)
水面をテフロンシートで被覆
- 3) 供試生物： オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間： 21日間
- 5) 試験濃度： 対照区, 0.00600, 0.0190, 0.0600, 0.190, 0.600 mg/L
(設定値) (公比：3.2)
- 6) 試験液量： 80 mL/容器
- 7) 連 数： 10容器/試験区
- 8) 供試生物数： 10頭/試験区 (1頭/容器)
- 9) 試験温度： 20±1℃
- 10) 照 明： 室内光, 16時間明 (800 lux以下) / 8時間暗
- 11) 分 析 法： 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

試験結果：

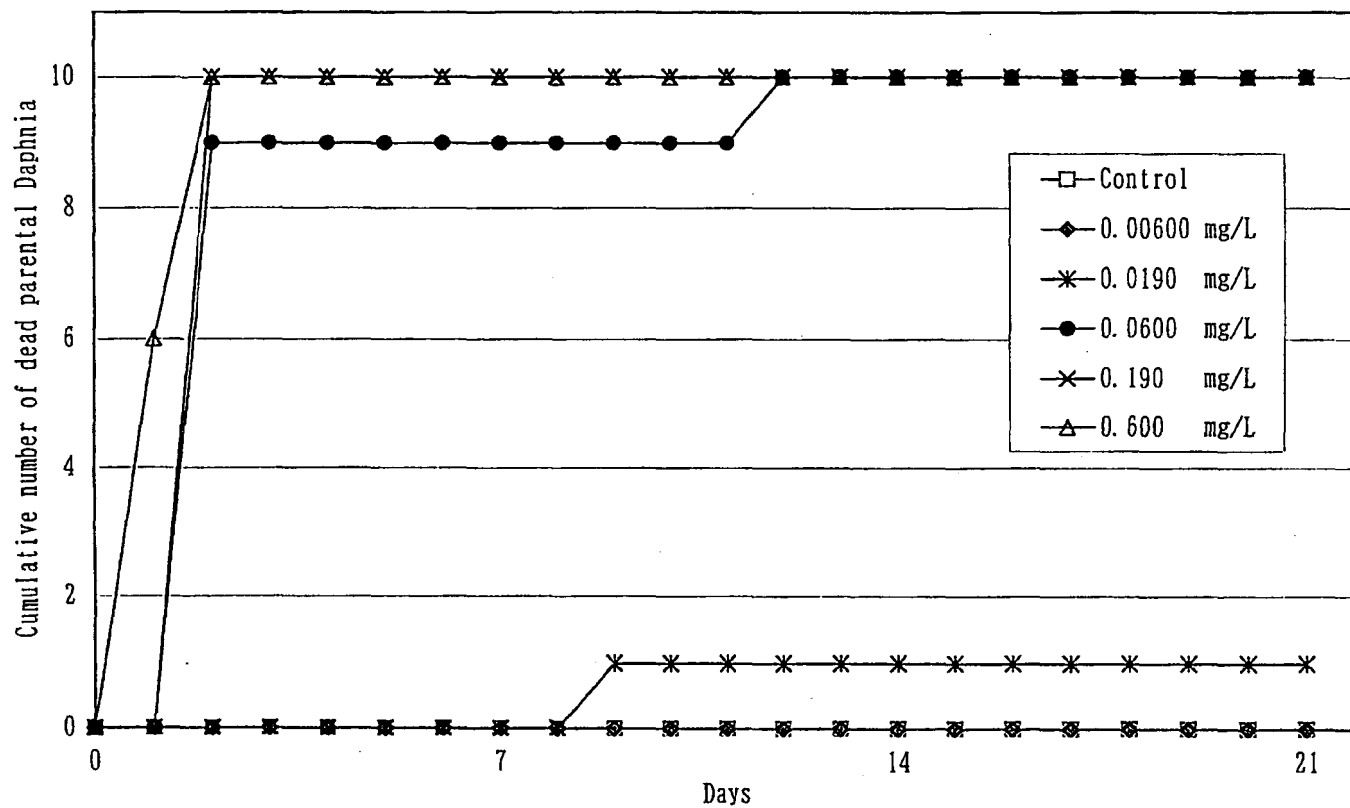
1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果、測定値の設定値に対する割合が、±20%を越える値があったため、結果の算出には測定値の時間加重平均を用いた。

2) 21日間暴露後の結果

| | (mg/L) | 95%信頼区間 (mg/L) |
|---------------------|---------|------------------|
| 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) | 0.0291 | 0.0182 ~ 0.0599 |
| 50%繁殖阻害濃度 (EC50) | 0.0149 | 0.00963 ~ 0.0176 |
| 最大無作用濃度 (NOEC) | 0.00525 | — |
| 最小作用濃度 (LOEC) | 0.0182 | — |

Figure 1 Cumulative Number of Dead Parental *Daphnia*



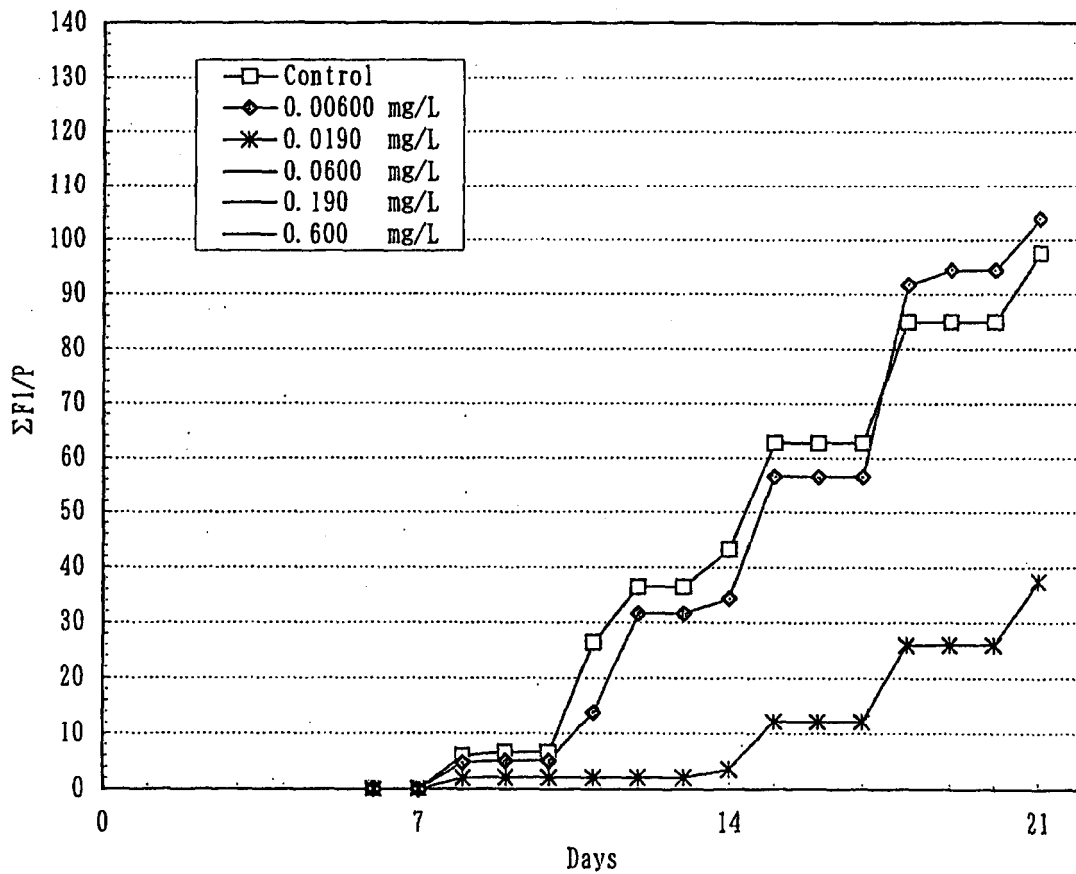
Values in legend are given in the nominal concentration.

Table 4 Mean Cumulative Number of Juveniles Produced per Adult Alive for 21 Days ($\Sigma F1/P$)

| Nominal Conc. | Days | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 |
| Control | 0.0 | 0.0 | 5.9 | 6.6 | 6.6 | 26.4 | 36.4 | 36.4 | 43.2 | 62.7 | 62.7 | 62.7 | 84.9 | 84.9 | 84.9 | 97.5 |
| 0.00600 mg/L | 0.0 | 0.0 | 4.7 | 5.0 | 5.0 | 13.8 | 31.6 | 31.6 | 34.3 | 56.6 | 56.6 | 56.6 | 91.7 | 94.4 | 94.4 | 103.8 |
| 0.0190 mg/L | 0.0 | 0.0 | 2.0 | 2.1 | 2.1 | 2.1 | 2.1 | 2.1 | 3.6 | 12.1 | 12.1 | 12.1 | 26.0 | 26.0 | 26.0 | 37.4 |
| 0.0600 mg/L | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 0.190 mg/L | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 0.600 mg/L | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

-: All parental *Daphnia* were dead during a 21-day testing period.

Figure 2 Time Course of $\Sigma F1/P$ for Each Concentration Level



Values in legend are given in the nominal concentration.

要 旨

試 験 委 託 者 : 環境省

表 題 : 4,4'-メチレンビスベンゼンアミンのヒメダカ (*Oryzias latipes*)
に対する急性毒性試験

試 験 番 号 : A010459-4

試 験 方 法 :

- 1) 適用ガイドライン: OECD 化学品テストガイドライン No. 203 「魚類急性毒性試験」
(1992年)
- 2) 暴 露 方 式 : 半止水式 (24時間毎に試験液の全量を交換)
水面をテフロンシートで被覆
- 3) 供 試 生 物 : ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 4) 暴 露 期 間 : 96時間
- 5) 試 験 濃 度 : 対照区, 14.0, 23.0, 37.0, 61.0, 100 mg/L
(設定値) 公比: 1.6
- 6) 試 験 液 量 : 5.0 L/容器
- 7) 連 数 : 1 容器/試験区
- 8) 供 試 生 物 数 : 10尾/試験区
- 9) 試 験 温 度 : 24±1 °C
- 10) 照 明 : 室内光, 16時間明 (1000 lux以下) / 8時間暗
- 11) 分 析 法 : 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

試 験 結 果 :

- 1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果, 測定値の設定値に対する割合が, 全て±20%以内であったため,
結果の算出には設定値を用いた。

- 2) 96時間暴露後の半数致死濃度 (LC50) : 20.6 mg/L (95%信頼区間: 16.7~25.3mg/L)

Figure 1 Concentration-Mortality Curve

