

魚類急性毒性試験 (ヒメダカ)

要 約

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 203(1992)を参考にして、ヒメダカに対する96時間急性毒性試験を実施した。

試験は、濃度区(公比1.8)及び対照区について1区当たり10尾のヒメダカを用い、水温24℃±1℃、半止水式で行った。

試験の結果、検体の96時間LC₅₀(Median lethal concentration: 半数致死濃度)は1,300 mg/lであった。

依 頼 者

オーブ・テック株式会社

検 体

スペースショット「万能環境クリーナー」米国製

試験実施期間

平成19年6月4日～平成19年7月2日

試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
東京都多摩市永山5丁目11番10号

試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
環境科学部 環境生物安全課
吉安 友二

試験実施者

伊藤 美和子 , 角田 紗代子 , 佐藤 清亨

1 試験目的

検体の魚類に対する短期的影響に関する情報を得る。

2 検 体

スペースショット「万能環境クリーナー」米国製

性状：青色を帯びた透明液体

3 試験生物

1) 生物種

試験生物として下記に示したヒメダカを用いた。

なお、基準物質[硫酸銅(Ⅱ)・五水和物]による96時間LC₅₀は0.81 mg/lであった。

- ① 和 名：ヒメダカ
- ② 学 名：*Oryzias latipes*
- ③ 全 長：2.2 cm(2.2~2.3 cm) (n=10)
- ④ 体 重：0.09 g(0.08~0.10 g) (n=10)
- ⑤ 入手先：自家生産

2) 順化

蓄養飼育しているものから全長2.0 cm±1.0 cmのヒメダカを選別し、試験前に7日間以上、下記の条件下で順化飼育を行った。また、試験前24時間は給餌を行わなかった。

なお、試験開始前7日間の死亡率は5 %未満であった。

〈順化条件〉

- ① 飼育方法：循環ろ過式
- ② 飼育水槽：50 l容ガラス製水槽
- ③ 水 温：24 °C±1 °C
- ④ 照 明：16時間明/8時間暗
- ⑤ 飼 育 水：水道水(東京都多摩市)を脱塩素したもの
- ⑥ 給 餌：体重の約3 %の市販配合飼料を毎日給餌した。

4 試験方法

1) 曝露条件及び環境条件

- ① 曝露方式：半止水式(24時間ごと全量換水)
- ② 曝露期間：96時間
- ③ 試験生物数：10尾/試験区
- ④ 試験水槽：2 l容ガラス製ビーカー(内径 130 mm, 高さ 200 mm)
- ⑤ 試験水量：2 l
- ⑥ 試験水温：24.0~24.6 °C
- ⑦ 照 明：16時間明/8時間暗
- ⑧ 給 餌：無給餌
- ⑨ 溶存酸素濃度：6.3~8.4 mg/l [飽和溶存酸素濃度の60 %以上を保った。(予備試験の結果から、溶存酸素濃度の維持が困難と考えられたため、曝露期間中、緩やかな通気を行った。)]
- ⑩ 試験水のpH：7.6~9.4 (pHの調整は行わなかった。)
- ⑪ 希 釈 水：水道水(東京都多摩市)を脱塩素したもの
[pH：8.0, 硬度：56 mg/l (CaCO₃として)]

2) 試験水の調製

検体を希釈水に添加して公比1.8の濃度間隔で6濃度(560, 1,000, 1,800, 3,200, 5,600及び10,000 mg/l)の試験水を調製し、濃度区とした。
対照区は希釈水のみとした。

5 観察及び測定方法

1) 試験生物の生死、異常な外観及び行動の観察

曝露開始時から24, 48, 72及び96時間後にヒメダカの死亡数を記録するとともに、対照区と比較して観察された異常な外観及び行動を記録した。

2) 水質の測定

各試験区の水質として、水温、溶存酸素濃度(以下「DO」と略す。)及びpHを曝露開始時、換水前後及び終了時に測定した。

〈測定機器〉

- ① 温度計：AP-210 [安立計器株式会社]
- ② DO計：DO-24P [東亜ディーケーケー株式会社]
- ③ pH計：HM-21P [東亜ディーケーケー株式会社]

3) LC_{50} の算出

各濃度区のアメダガの死亡尾数と試験生物数(10尾)から死亡率(%)を算出し、統計的手法を用い24, 48, 72及び96時間の LC_{50} を算出した。

6 試験結果

1) LC_{50}

検体の24, 48, 72及び96時間 LC_{50} を表-1に示した。

表-1 検体の24, 48, 72及び96時間 LC_{50}

(単位: mg/l)			
24時間 LC_{50}	48時間 LC_{50}	72時間 LC_{50}	96時間 LC_{50}
2,400*	1,800*	1,500*	1,300*

* Binominal法

2) 0%死亡最高濃度及び100%死亡最低濃度

96時間後の0%死亡最高濃度は1,000 mg/l, 100%死亡最低濃度は1,800 mg/lであった。

3) 累積死亡率

24, 48, 72及び96時間後の累積死亡率を表-2に、濃度と死亡率のグラフを図-1に示した。

表-2 24, 48, 72及び96時間後の累積死亡率

試験濃度 (mg/l)	累積死亡率(%)			
	24時間後	48時間後	72時間後	96時間後
560	0	0	0	0
1,000	0	0	0	0
1,800	0	50	80	100
3,200	100	100	100	100
5,600	100	100	100	100
10,000	100	100	100	100
対照区	0	0	0	0

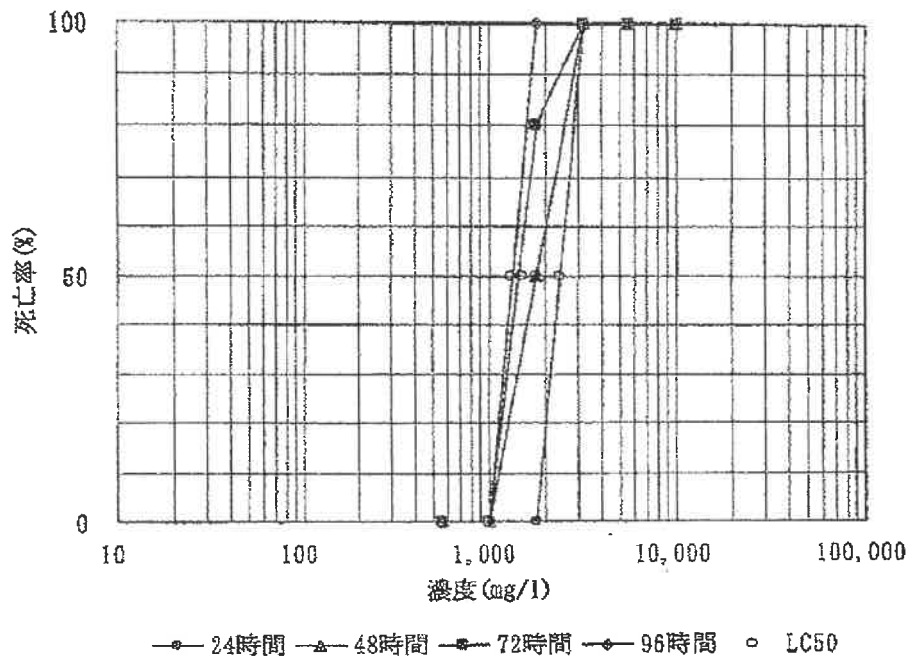


図-1 濃度-死亡率曲線

4) 試験生物の異常な外観及び行動

24, 48, 72及び96時間後の試験生物の異常な外観及び行動を表-3に示した。

表-3 24, 48, 72及び96時間後の試験生物の異常な外観及び行動

試験濃度 (mg/l)	24時間後	48時間後	72時間後	96時間後
500	n. a. d (10)	n. a. d (10)	n. a. d (10)	n. a. d (10)
1,000	n. a. d (9) le (1)	n. a. d (9) le (1)	n. a. d (9) le (1)	n. a. d (8) le (2)
1,800	e. s (3) h. o. c (1) le (3), s. s (4)	e. s (2), le (2) l. l (1)	le (2)	—
3,200	—	—	—	—
5,600	—	—	—	—
10,000	—	—	—	—
対照区	n. a. d (10)	n. a. d (10)	n. a. d (10)	n. a. d (10)

n. a. d : no abnormalities are detected ; 正常

e. s : erratic swimming ; 異常遊泳

h. o. c : concealed hemorrhage or congestion ; 内出血又はうっ血

le : lethargy ; 不活発

l. l : lying laterally ; 横転

s. s : surface slicks ; 水面浮上

— : 試験生物全死亡のため試験終了

() : 観察された個体数を示した。

5) 水質(試験水の水温, DO及びpH)

暴露期間中の各試験区の試験水の水温, DO及びpHを表-4~6に示した。

なお, 暴露期間中の水温は24℃±1℃以内, DOは飽和濃度の60%以上であった。

表-4 各試験区の水温

(単位:℃)

試験濃度 (mg/l)	開始時	24時間		48時間		72時間		96時間 終了時
		換水前	換水後	換水前	換水後	換水前	換水後	
560	24.3	24.2	24.6	24.3	24.5	24.2	24.3	24.3
1,000	24.4	24.2	24.6	24.2	24.3	24.1	24.4	24.2
1,800	24.6	24.3	24.6	24.4	24.2	24.3	24.4	24.4
3,200	24.6	24.5	—	—	—	—	—	—
5,600	24.6	24.3*	—	—	—	—	—	—
10,000	24.6	24.5*	—	—	—	—	—	—
対照区	24.5	24.3	24.5	24.3	24.3	24.0	24.4	24.4

—: 試験生物全死亡のため試験終了

* 試験生物全死亡のため, 6時間後で暴露を終了した。よって, 6時間後の値を示した。

表-5 各試験区のDO

(単位:mg/l)

試験濃度 (mg/l)	開始時	24時間		48時間		72時間		96時間 終了時
		換水前	換水後	換水前	換水後	換水前	換水後	
560	8.3	7.9	8.2	7.9	8.3	8.1	8.3	8.3
1,000	8.3	7.9	8.3	8.1	8.3	8.3	8.4	8.2
1,800	8.3	6.3	8.3	8.0	8.3	8.3	8.4	8.3
3,200	8.4	6.7	—	—	—	—	—	—
5,600	8.3	8.1*	—	—	—	—	—	—
10,000	8.3	8.1*	—	—	—	—	—	—
対照区	8.3	8.1	8.2	8.0	8.2	8.2	8.3	8.3

—: 試験生物全死亡のため試験終了

* 試験生物全死亡のため, 6時間後で暴露を終了した。よって, 6時間後の値を示した。

表-6 各試験区のpH

試験濃度 (mg/l)	開始時	24時間		48時間		72時間		96時間 終了時
		換水前	換水後	換水前	換水後	換水前	換水後	
560	8.3	7.8	8.3	7.8	8.3	7.9	8.3	7.9
1,000	8.5	7.8	8.5	7.9	8.5	7.9	8.5	7.8
1,800	8.7	7.6	8.7	7.9	8.7	8.0	8.7	8.0
3,200	8.9	7.6	—	—	—	—	—	—
5,600	9.1	8.9 [*]	—	—	—	—	—	—
10,000	9.4	9.2 [*]	—	—	—	—	—	—
対照区	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	7.9	8.0	7.9

— : 試験生物全死亡のため試験終了

* 試験生物全死亡のため、6時間後で暴露を終了した。よって、6時間後の値を示した。

6) 試験水の状態

暴露開始時の試験水の状態を目視にて観察した結果、試験水はわずかに白濁した状態であったため、検体は試験水中に均一に分散していると判断された。また、24時間後の3,200 mg/l濃度区において、暴露開始時と比較して、白濁が増している状態が観察されたが、その他の濃度区では、試験水の状態に変化は認められなかった。

7) 試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項

なし。

7 試験の妥当性

暴露終了時に対照区の死亡率は10 %以下であり、各試験区のDCも飽和濃度の60 %以上であったため、本試験の成立が確認された。

以 上

「魚類急性毒性試験の補足説明」

魚類急性毒性試験(ヒメダカ)の結果は、1,300mg/Lでした。OECD合格基準の13倍濃縮でもOKと言うことです。

OECD合格基準は、100mg/Lです。