

## 要 旨

試験委託者 環境省

表 題 1, 2, 3-トリメチルベンゼンの藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)  
に対する生長阻害試験

試験番号 No. 2012 - 生態08

### 試験法ガイドライン

本試験は、

厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連  
名通知「新規化学物質等に係る試験の方法について」(薬食発0331 第 7 号、平  
成 23・03・29 製局第 5 号、環企発第 110331009 号、平成 23年 3月 31日)

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS 201: Freshwater Alga and  
Cyanobacteria, Growth Inhibition Test (Adopted: 23 March 2006, Annex 5  
corrected: 28 July 2011)

に従って以下の条件で実施した。

### 試験条件

被験物質の物性及び予備的な検討において、当該被験物質については揮散性が確認  
されたため、密閉系による試験を行った。

- 1) 被験物質 : 1, 2, 3-トリメチルベンゼン
- 2) 暴露方式 : 止水式, 密閉系  
振とう培養 (100 rpm に設定)
- 3) 供試生物 : *Pseudokirchneriella subcapitata* (ATCC 22662 株)
- 4) 暴露期間 : 72 時間
- 5) 試験濃度(設定値) : 対照区, 0.50, 1.1, 2.3, 5.0, 11, 23 mg/L  
公比 ;  $10^{1/3}$  (約 2.2)
- 6) 試験溶液量 : 250 mL/容器
- 7) 連数 : 3 容器/濃度区、6 容器/対照区
- 8) 初期生物量 : 細胞数  $0.5 \times 10^4$  cells/mL (生物量として 0.5 mg/L以下)
- 9) 試験温度 : 23℃で設定し、経時的変動範囲は  $\pm 2^\circ\text{C}$ 以内とする。
- 10) 照明 :  $65 \sim 85 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  (フラスコ液面付近) で連続照射

(白色の蛍光灯を用い、連続的に照射する)。

- 11) pH : 暴露期間中、pH の調整は行わない。  
12) 分析法 : HPLC 法

## 結 果

### 1) 試験溶液中の被験物質濃度

暴露開始時の被験物質濃度は設定値の 82 % ~ 88 % であり、設定値からの低下が確認された。これは、当被験物質は揮散性を有することから、調製時における希釈等の操作過程で揮散により濃度低下が生じたものと考えられる。

また、揮散性に対応するため密閉系で試験を行ったものの、暴露期間中の被験物質濃度は、暴露終了時で暴露開始時の 87 ~ 89 % となり、調製時の濃度からの揮散による経時的な濃度低下が確認された。

従って、各影響濃度 (50 % 生長阻害濃度、最大無作用濃度) の算出にあたっては、暴露開始時、24、48 時間後及び暴露終了時の測定値の幾何平均値を採用した。

### 2) 生長速度の比較による阻害濃度

密閉系による試験であるため、対照区の毎日の生長速度の変動係数が暴露開始後 0 - 72 時間で 37.9 % となり、35 % を超えたことから試験の有効性を満たさなかった。

一方、暴露開始から 48 時間までの間は生長速度が一定で指数増殖していると判断できた。

従って、試験結果には暴露開始後 0 - 48 時間の結果を採用し、参考として 0 - 72 時間の結果を併記した。

#### 0-48 時間の各影響濃度 (採用値)

50 % 生長阻害濃度 ( $E_rC_{50}$ ) : 5.7 mg/L  
(95 %信頼限界: 4.9 ~ 6.9 mg/L) , Probit  
最大無作用濃度 (NOEC) : 0.38 mg/L , Dunnett

#### 0-72 時間の各影響濃度 (参考値)

50 % 生長阻害濃度 ( $E_rC_{50}$ ) : 4.4 mg/L  
(95 %信頼限界: 4.1 ~ 4.7 mg/L) , Probit  
最大無作用濃度 (NOEC) : 1.9 mg/L , 生物学的判断 [阻害率 4.9 %]