

本写しは原本と相違ありません

いであ株式会社
環境創造研究所
運営管理者

最 終 報 告 書



ピバル酸の藻類 (*Pseudokirchmeriella subcapitata*) に対する生長阻害試験

(試験番号 : 1007-201)

2011年 2月 10日 作成

い で あ 株 式 会 社

陳 述 書

いであ株式会社
環境創造研究所

試験委託者 : 環境省

表 題 : ピバル酸の藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) に対する生長阻害試験

試験番号 : 1007-201

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及び環境省総合環境政策局長通知「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成15年11月21日付け薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号、平成20年7月4日最終改正）及び、同通知別添5「藻類生長阻害試験、ミジンコ急性遊泳阻害試験、魚類急性毒性試験、ミジンコの繁殖に及ぼす影響に関する試験、魚類の初期生活段階における生息又は生育に及ぼす影響に関する試験及びユスリカの生息又は生育に及ぼす影響に関する試験に際して付加される事項」に準拠して実施したものである。

2011年2月10日

試験責任者 :

信 頼 性 保 証 書

いであ株式会社
環境創造研究所

試験委託者 : 環境省

試験の表題 : ピバル酸の藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) に対する生長阻害試験

試験番号 : 1007-201

本試験は試験計画書及び標準操作手順書に従って実施され、本最終報告書には試験に使用した方法、手順が正確に記載されており、試験結果は生データを正確に反映していることを下記のとおり確認した。

監査・査察項目	監査・査察実施日	試験責任者への報告日	運営管理者への報告日
試験計画書	2010年12月16日	2010年12月16日	2010年12月16日
試験計画書変更届	2010年12月17日	2010年12月17日	2010年12月17日
被験物質溶液調製時、 暴露実験開始日	2010年12月21日	2010年12月21日	2010年12月24日
暴露実験終了日	2010年12月24日	2010年12月24日	2010年12月24日
試験計画書変更届	2011年1月11日	2011年1月11日	2011年1月12日
最終報告書	2011年2月10日	2011年2月10日	2011年2月10日

2011 年 2 月 10 日

信頼性保証担当者

試験実施概要

1. 表題

ピバル酸の藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) に対する生長阻害試験

2. 試験番号

1007-201

3. 試験目的

ピバル酸の藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) に対する生長阻害試験を実施して、50%生長阻害濃度 (ErC50) 及び最大無作用濃度 (NOEC) を求める。

また、被験物質の影響により試験液の pH 値が酸性側に変動するため、pH 値を対照区の pH 値±0.3 に調整した試験濃度区を追加して試験を実施する。

4. 試験方法

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及び環境省総合環境政策局長通知「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成15年11月21日付け薬食発第1121002号、平成15・11・13製局第2号、環保企発第031121002号、平成18年11月20日最終改正）に準拠して実施した。

5. 適用 GLP

厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長及び環境省総合環境政策局長通知「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成15年11月21日付け薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号、平成20年7月4日最終改正）及び、同通知別添5「藻類生長阻害試験、ミジンコ急性遊泳阻害試験、魚類急性毒性試験、ミジンコの繁殖に及ぼす影響に関する試験、魚類の初期生活段階における生息又は生育に及ぼす影響に関する試験及びユスリカの生息又は生育に及ぼす影響に関する試験に際して付加される事項」

6. 試験委託者

名称 : 環境省

所在地 : 〒100-8975 東京都千代田区霞が関1-2-2

7. 試験受託者

名称 : いであ株式会社
所在地 : 〒154-0012 東京都世田谷区駒沢3-15-1
代表者 : 代表取締役会長兼社長 [REDACTED]

8. 試験施設

名称 : いであ株式会社 環境創造研究所
所在地 : 〒421-0212 静岡県焼津市利右衛門1334-5

9. 試験関係者

試験責任者 : [REDACTED] (2011年 2月10日)
(所属 リスク評価グループ)
試験担当者 : [REDACTED] (2011年 2月10日)
(化学分析)
試験担当者 : [REDACTED] (2011年 2月10日)
(化学分析、操作全般)
試験担当者 : [REDACTED] (2011年 2月10日)
(暴露試験)

10. 試験期間

試験開始日 : 2010年12月14日
暴露実験開始日 : 2010年12月21日
暴露実験終了日 : 2010年12月24日
試験終了日 : 2011年 2月10日

11. 記録及び試資料の保管

本試験に関する下記の記録及び試資料は、試験終了後、いであ株式会社環境創造研究所の試資料保管施設に保管する。

- 1) 試験計画書、同変更の記録
- 2) 最終報告書
- 3) 生データ

4) 信頼性保証担当者の監査・査察記録

5) 被験物質



(

目 次

	頁
要 約	9
1 被験物質	
1.1 名称、構造式及び物理化学的性状	11
1.2 供試試料	11
1.3 保管方法及び保管条件下での安定性	12
1.4 暴露条件下での安定性	12
2 供試生物	13
3 試験方法	
3.1 試験条件	13
3.2 培地	14
3.3 試験容器及び機器等	14
3.4 試験濃度の設定	14
3.5 試験液の調製	14
3.6 試験液の分析	15
3.7 試験操作	15
4 結果の算出	
4.1 生長曲線	16
4.2 生長阻害率の算出	16
4.3 50%生長阻害濃度 (ErC50) の算出	16
4.4 最大無作用濃度 (NOEC)	17
5 結果及び考察	
5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	18
5.2 試験液中の被験物質濃度	18
5.3 生長曲線	18
5.4 50%生長阻害濃度 (ErC50) 及び最大無作用濃度 (NOEC)	18
5.5 温度、光量子束密度及び pH 値	19
5.6 試験液の色調及び細胞形態の観察結果	19
5.7 考察	19
Table 1~8	21~27
Figure 1~2	28~31
付属資料—1 ATCC培地	32~33

付属資料-2	OECD培地	34~35
付属資料-3	試験液の調製方法	36~37
付属資料-4	試験液の分析方法	38~40
付属資料-5	予備試験結果	41~43
付属資料-6	供試試料の試験成績書	44~45

要 約

試験委託者

環境省

表題

ピバル酸の藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) に対する生長阻害試験

試験番号

1007-201

試験方法

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及び環境省総合環境政策局長通知「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成15年11月21日付け薬食発第1121002号、平成15・11・13製局第2号、環保企発第031121002号、平成18年11月20日最終改正）に準拠して実施した。

- 1) 被験物質 : ピバル酸
- 2) 暴露方式 : 開放系（通気性シリコン製栓）、振とう培養（100 rpm）
- 3) 供試生物 : *Pseudokirchneriella subcapitata* (ATCC 22662)
- 4) 暴露期間 : 72時間
- 5) 試験濃度（設定値） : 35.0、45.5、66.0、77.5、100 mg/L（公比；1.3）及び対照区
pH値を対照区のpH値±0.3に調整した66.0、77.5、100 mg/Lの3試験濃度区
- 6) 試験液量 : 100 mL／容器
- 7) 連数 : 3 容器／試験濃度区、pH調整試験濃度区（66.0、77.5 mg/L）
6容器／対照区及びpH調整試験濃度区（100 mg/L）
- 8) 初期生物量 : 細胞濃度で 1.0×10^4 cells/mL
- 9) 試験温度 : 23℃設定（変動幅は±2℃）
- 10) 照明 : 蛍光灯による連続照明
（波長400～700 nmの範囲の光量子について60～90 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）
- 11) 助剤の種類 : 使用しない
- 12) 試験液中の助剤濃度 : -

13) 分析方法 : HPLC

結果

1) 試験液中の被験物質濃度

pH 値を調整しない試験系については、暴露開始時における各試験濃度区の設定濃度に対する実測濃度の割合は 96~102%、暴露終了時の割合は 96~103%であった。

pH 値を対照区の pH 値 \pm 0.3 に調整した試験系については、暴露開始時における各試験濃度区の設定濃度に対する実測濃度の割合は 96~97%、暴露終了時が 97~99%であった。
実測濃度の算術平均値を使用して、生長速度の比較による阻害濃度を示した。

2) pH 値を調整しない試験系

ErC50 (0-3d) : 66.0 mg/L (95%信頼区間 : 65.6 - 66.3 mg/L)

NOECr (0-3d) : 46.5 mg/L

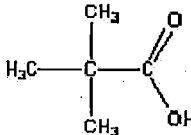
3) pH 値を対照区の pH 値 \pm 0.3 に調整した試験系 (3 試験濃度区)

ErC50 (0-3d) : >96.6 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可)

NOECr (0-3d) : 96.6 mg/L

1 被験物質

1.1 名称、構造式及び物理化学的性状

- 1) 名称 : ピバール酸
- 2) 別名 : ピバリン酸、トリメチル酢酸、2, 2-Dimethyl-propanoic acid
- 3) CAS番号 : 75-98-9
- 4) 構造式 : 
- 5) 分子式 : $C_5H_{10}O_2$ ¹⁾
- 6) 分子量 : 102.13 ³⁾
- 7) 蒸気圧 : 0.1kPa (20℃) ¹⁾
- 8) 対水溶解度 : 2.5 g/100 mL (20℃) ¹⁾、2.5% (20℃) ²⁾、1 g/40 mL、温水に可溶 ³⁾
- 9) 1-オクタノール/水分配係数 : 1.4 ¹⁾、1.48 ³⁾
- 10) 融点 : 34℃ (凝固点) ¹⁾、35.5℃ ²⁾、35.3℃ ³⁾
- 11) 沸点 : 164℃ ¹⁾、163.8℃ ²⁾、163.7℃ ³⁾
- 12) 常温における性状 : 白色の結晶～塊で刺激臭あり¹⁾、白色の液体又は固体で刺激臭あり²⁾、白色～わずかにうすい黄色の塊、無色～わずかにうすい黄色の液体³⁾
- 13) 安定性 : 通常条件で安定である ²⁾、安定 ³⁾
- 14) 溶媒に対する溶解度 : アルコール・エーテルに易溶 ¹⁾、エタノール・ジエチルエーテルに易溶 ²⁾、エタノール・エーテルに混和 ³⁾
- 15) 試験用水に対する溶解度 : ≥ 20 g/L (23.4℃) (当試験施設確認値)

参考資料)

- 1) [redacted] 製品安全データシート [redacted]
2) [redacted] 製品安全データシート [redacted]
3) [redacted] 製品安全データシート [redacted]

1.2 供試試料

- 1) ロット番号 : [redacted]
- 2) 純度 : 99.9% (GC)、99.7% (中和滴定)
- 3) 不純物の名称及び含有量 : 不明

- 4) 供給者 : XXXXXXXXXX
5) 入手量 : 25 g × 2 本
6) 入手日 : 2010 年 11 月 19 日
【付属資料-6】試験成績書、XXXXXXXXXX

1.3 保管方法及び保管条件下での安定性

- 1) 保管方法 : 被験物質は、遮光・密閉し、当試験施設内調製室（GLP対象施設）内の被験物質保管容器（常温）に保管した。
- 2) 供試試料の確認 : 入手した供試試料が目的とする被験物質と同一であることを製造会社の試験成績書【付属資料-6】で確認した。
- 3) 保管条件下での安定性の確認 : 実験開始前及び実験終了後に測定した被験物質の赤外吸収スペクトルに変化がみられなかったことから、保管条件下で安定であったと判断した。

1.4 暴露条件下での安定性

設定濃度 6.25 mg/L 及び 100 mg/L の試験液を用いて暴露条件下での安定性試験を実施した。試験液調製時の実測濃度はそれぞれ 5.58 mg/L、89.7 mg/L、72 時間後ではそれぞれ 5.36 mg/L、87.8 mg/L であった。

2 供試生物

- 1) 学名 : *Pseudokirchneriella subcapitata*
- 2) 株名 : ATCC 22662
- 3) 入手先 : American Type Culture Collection
- 4) 入手日 : 2002年9月7日
- 5) 入手後の管理 : ATCC Culture Medium 625 (以下、ATCC培地とする) の斜面培地を用いて無菌的に継代培養
- 6) 感受性試験の結果 : 基準物質 ニクロム酸カリウム
暴露期間 2010年12月13~17日
ErC50 (0-72h) = 1.07 mg/L (95%信頼区間 : 0.98~1.16 mg/L)
(当施設の規定範囲内【平均値±2 標準偏差 : 0.72~1.28 mg/L、N=10 (試験実施期間 : 2005年5月~)】であった)
- 7) 前々培養 : 供試藻類を継代培養している斜面培地からATCC培地に植え換え、静置条件で培養した。(2010年12月10~18日)
(ATCC培地の組成を【付属資料-1】に示した。)
- 8) 前培養 : 試験と同様の環境条件で培養した(2010年12月18~21日)。

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式 : 開放系 (通気性シリコン製栓)、振とう培養 (100 rpm)
- 2) 暴露期間 : 72時間
- 3) 試験液量 : 100 mL / 試験容器
- 4) 連数 : 3 容器 / 試験濃度区、pH 調整試験濃度区 (60.0、77.0 mg/L)
6容器 / 対照区及びpH調整試験濃度区 (100 mg/L)
- 5) 初期生物量 : 細胞濃度で 1.0×10^4 cells/mL (前培養した藻類)
- 6) 試験温度 : 23℃設定 (変動幅は±2℃)
- 7) 照明 : 蛍光灯による連続照明
(波長400~700 nmの範囲の光量子について $60 \sim 90 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
- 8) pH : 追加の試験濃度区について、対照区のpH値±0.3に調整する
- 9) 助剤の種類 : 使用しない
- 10) 試験液中の助剤濃度 : -

3.2 培地

前培養及び暴露試験には、化審法テストガイドラインに記載されている推奨培地（以下、OECD 培地とする）を用いた。OECD 培地の組成を【付属資料-2】に示した。

3.3 試験容器及び機器等

- | | |
|-------------|-----------------------------------|
| 1) 試験容器 | : 300 mL容ガラス製三角フラスコ（通気性シリコン製栓付） |
| 2) 藻類培養試験装置 | : タイテック製 恒温振とう培養器（型式：BR-300LF） |
| 3) 光学顕微鏡 | : オリンパス製 生物顕微鏡（型式：BH2） |
| 4) 粒子計数装置 | : ベックマン・コールター製 細胞計数分析装置（型式：Z2） |
| 5) 水温計 | : 水銀棒状標準温度計（測定範囲；0～50℃、最小目盛；0.1℃） |
| 6) pH計 | : 堀場製作所製 カスタニーATC pHメーター（型式：D-21） |
| 7) 光量子計 | : LICOR社製 ライトメーター（型式：LI-250） |
- 測定波長の範囲：400～700 nm

3.4 試験濃度の設定

本試験に先立ち、公比を 2.0 として、設定濃度 6.25、12.5、25.0、50.0 及び 100 mg/L の 5 試験濃度区で予備試験を実施した。72 時間後の速度法による生長阻害率は、0.7%、-0.7%、-2.3%、2.1%及び 96.3%であった。予備試験の結果は、【付属資料-5】に示した。

また、本被験物質の添加により試験液の pH 値が酸性側に変動するため、試験に使用した OECD 培地の pH 値付近に調整した 100 mg/L 濃度の試験濃度区を設定した結果、72 時間後の速度法による生長阻害率は 1.7%であった。

以上の結果を踏まえ、本試験では公比を 1.3 とし、pH 値を調整しない 35.0、45.5、60.0、77.5 及び 100 mg/L の 5 試験濃度区【pH 値を調整しない試験系】とした。また、pH 値を対照区の pH 値±0.3 に調整した 60.0、77.5 及び 100 mg/L の試験濃度区【pH 値を対照区の pH 値±0.3 に調整した試験系】を追加した。pH 値を調整する 100 mg/L の試験濃度区については容器の連数を 6 連、60.0 及び 77.5 mg/L の試験濃度区については 3 連とした。また、別に対照区を設けた。

3.5 試験液の調製

被験物質の純度は、99.9% (GC)、99.7% (中和滴定) であることから、純度は補正しなかった。

被験物質濃度 2,500 mg/L の濃厚液を調製し、この濃厚液を OECD 培地に希釈して試験液を調製した。試験液の調製方法は【付属資料-3】に示した。

3.6 試験液の分析

1) 分析方法

試験液中の被験物質濃度は、HPLC 分析計で測定した。分析における測定条件等は、【付属資料-4】に示した。

2) 試料の採取頻度

試料は、暴露開始時（0 時間）の新試験液、及び暴露終了時（72 時間）の旧試験液から採取した。

3.7 試験操作

前培養した供試藻類の細胞数を粒子計数装置により計数し、試験液中の生物量（細胞濃度）が 1.0×10^4 cells/mL となるように前培養液を試験液の入った試験容器に無菌的に接種した。

各試験容器を藻類培養試験装置内に設置し、この時点を暴露開始時とした。暴露期間中は、24、48 及び 72 時間後に培地ブランク、全試験区の粒子数を、粒子計数装置を使用して計数し、各試験容器の粒子数から培地ブランクの粒子数を差し引き、生物量を算出した。各容器の粒子数から培地ブランクの粒子数を差し引いた値がマイナスとなるものは、生物量を 0 とした。

藻類培養試験装置内の試験容器の配置は、24 時間ごとに乱数表を用いて変更した。

藻類培養試験装置内の温度及び光量子束密度を暴露開始時から暴露終了まで 24 時間ごとに測定した。また、試験液の pH 値を暴露開始時及び暴露終了時に全試験区について測定した。暴露開始時は、調製した試験液の余りを用いて測定した。pH 値を対照区の pH 値 ± 0.3 に調整した試験液については、pH 値調整時の測定値を暴露開始時の pH 値とした。暴露終了時は、各試験区で 1 つの試験容器内の試験液の pH 値を測定した。

暴露開始時、24、48 時間後及び暴露終了時に、各試験区について肉眼による試験液の色調を観察した。また、暴露終了時に各試験区の 1 つの試験容器について、試験液中の藻類の細胞形態を観察した。

4 結果の算出

4.1 生長曲線

各試験区の生物量の平均値を時間に対してプロットし、生長曲線を作成した。

4.2 生長阻害率の算出

生長阻害率 (I_μ) は、生長速度の比較 (速度法) による方法で算出した。

各々の試験容器について暴露開始時から72時間後までの生長速度 (μ) を次式より算出した。

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i}$$

ここで、

μ_{i-j} : t_i 時から t_j 時までの期間の生長速度 (d^{-1})

X_i : t_i 時の生物量 (cells/mL)、暴露開始時 (t_0) の生物量は 10,000 (cells/mL)。

X_j : t_j 時の生物量 (cells/mL)

t_i : 暴露開始後 i 回目に生物量を測定した時間 (d)

t_j : 暴露開始後 j 回目に生物量を測定した時間 (d)

試験濃度区における各試験容器での生長阻害率 (I_μ) を次式より算出した。

$$I_\mu = \frac{\mu_c - \mu_T}{\mu_c} \times 100$$

ここで、

μ_c : 対照区における全試験容器での生長速度 (d^{-1}) の平均値

μ_T : 試験濃度区における各試験容器での生長速度 (d^{-1})

4.3 50%生長阻害濃度 (ErC50) の算出

pH 値を調整しない試験系、pH 値を対照区の pH 値 ± 0.3 に調整した試験系ごとに、4.2 で算出した速度法による生長阻害率 (I_μ) を被験物質濃度の対数に対してプロットした。

pH 値を調整しない試験系は、得られた濃度－生長阻害率曲線において可能な限り直線性のある範囲を用いて直線回帰分析を行い、生長阻害率 50%との交点から ErC50 を算出した。

pH 値を対照区の pH 値 ± 0.3 に調整した試験系については、最高試験濃度において生長阻害

率 (I_{50}) が 50%を超えないため、50%生長阻害濃度 (ErC50) は、最高試験濃度の平均実測濃度より大きい値として示した。

4.4 最大無作用濃度 (NOEC)

pH値を調整しない試験系については、最小作用濃度 (LOEC) の一段階下の試験濃度で、対照区と比較したとき、暴露期間中に統計的に有意な影響 ($\alpha < 0.05$) を与えない最高試験濃度とした。最小作用濃度 (LOEC) は、暴露期間中に対照区と比較して被験物質が供試生物の生長を統計的に有意に減少させている ($\alpha < 0.05$) ことが観察される最低の試験濃度とした。

pH値を調整しない試験系については、全試験区の0-72時間生長速度についてBartlett法による等分散性の検定 ($\alpha: 0.05$) の結果、等分散を認めないため、対照区と試験濃度区についてクラスカル・ワリスの順位検定 ($\alpha: 0.05$) を行った。有意差を認めたため、対照区と試験濃度区についてノンパラメトリックのDunnett法による多重比較検定 ($\alpha: 0.05$, 両側) を行った。統計処理には、「EcoTox-Statics」(ver. 2.6、大分大学 吉岡義正氏作製) を使用した。

pH値を対照区のpH値 ± 0.3 に調整した試験系は、対照区及び100 mg/L試験濃度区における0-72時間生長速度についてF検定 ($\alpha: 0.05$) した結果、有意差を認めなかった。対照区及び100 mg/L試験濃度区の各生長速度の平均値についてStudentの t 検定 ($\alpha: 0.05$) を用いて比較した。

5 結果及び考察

5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

該当する事項はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

各試験区における被験物質濃度の測定結果をTable 1-1及び1-2 に示した。

pH値を調整しない試験系については、暴露開始時における各試験濃度区の設定濃度に対する実測濃度の割合は96～102%、暴露終了時の割合は96～103%であった。

pH値を対照区のpH値±0.3に調整した試験系については、暴露開始時における各試験濃度区の設定濃度に対する実測濃度の割合は96～97%、暴露終了時の割合は97～99%であった。

実測濃度の算術平均値を使用して、生長速度の比較による阻害濃度を示した。

5.3 生長曲線

暴露期間中の生物量をTable 2-1及び2-2に、生長曲線をFigure 1-1及び1-2 に示した。また、暴露期間中の対照区の生長速度をTable 3に示した。

暴露終了時における対照区の生物量は、平均で初期生物量の約85倍に増加した。また、対照区の毎日の生長速度の変動係数は暴露期間を通じて8.1%、繰り返し間の生長速度の変動係数は1.7%であり、化審法テストガイドラインで定められた試験の有効性を判断する基準をすべて満たしていた。

5.4 50%生長阻害濃度 (ErC50) 及び最大無作用濃度 (NOEC)

各試験濃度区における生長阻害率をTable 4-1 及び 4-2 に、50%生長阻害濃度 (ErC50) 及び最大無作用濃度 (NOEC) をTable 5-1 及び 5-2 に、濃度－阻害率曲線をFigure 2-1 及び 2-2 に示した。

pH 値を調整しない試験系における ErC50 は、58.9 及び 75.4 mg/L 試験濃度区の生長阻害率を用い、最小二乗法により算出した。最大無作用濃度 (NOEC) については、58.9、75.4 及び 96.4 mg/L 試験濃度区が対照区と比較して 5%の危険率で有意差を認めたため、最大無作用濃度 (NOEC) は 46.5 mg/L とした。

pH 値を対照区の pH 値±0.3 に調整した試験系は、設定濃度 100 mg/L の試験濃度区について t 検定で 5%の危険率で有意差が認められたが、対照区と比較して供試生物の生物量は増加していることから、最大無作用濃度 (NOEC) は 96.6 mg/L とした。

【pH 値を調整しない試験系】

ErC50 (0-3d) : 66.0 mg/L (95%信頼区間 : 65.6 - 66.3 mg/L)

NOECr (0-3d) : 46.5 mg/L

【pH 値を対照区の pH 値 ± 0.3 に調整した試験系】

ErC50 (0-3d) : >96.6 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可)

NOECr (0-3d) : 96.6 mg/L

5.5 温度、光量子束密度及び pH 値

： 暴露期間中の温度をTable 6、光量子束密度をTable 7、pH値をTable 8-1及び8-2 に示した。

暴露期間中の藻類培養試験装置内の温度は22.6~22.8℃、光量子束密度は 68.64~70.94 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ であった。

pH値を調整しない試験系における試験液のpH値は、暴露開始時で5.3~7.7、暴露終了時で5.3~7.8であった。対照区における変動幅は0.1であった。

pH値を対照区のpH値 ± 0.3 に調整した試験系における試験液のpH値は、暴露開始時で7.5~7.7、暴露終了時で7.3~7.5であった。

5.6 試験液の色調及び細胞形態の観察結果

調製時の試験液は無色透明であった。

pH値を調整しない試験系において、暴露終了時では、35.8~58.9 mg/L試験濃度区で細胞増殖のためうす緑色を呈し、75.4 及び96.4 mg/L試験濃度区では無色透明であった。

pH値を対照区のpH値 ± 0.3 に調整した試験系については、58.8、75.2 及び96.6 mg/Lのすべての試験濃度区でうす緑色を呈した。

暴露終了時の細胞形態を観察した結果、pH値を調整しない試験系については、35.8~58.9 mg/L試験濃度区では形態変化や凝集等の異常は認められなかった。75.4 mg/L試験濃度区では、小さい顆粒を含む細胞が多く観察され、96.4 mg/L試験濃度区では、顆粒を含む細胞、黒く変色した細胞が多く観察された。

pH値を対照区のpH値 ± 0.3 に調整した試験系については、58.8、75.2 及び96.6 mg/Lのすべての試験濃度区で形態変化や凝集等の異常は認められなかった。

5.7 考察

pH値を調整しない試験系では、58.9 mg/L試験濃度区において平均で8.0%、75.4 mg/L試験

濃度区において平均で99.4%、96.4 mg/L試験濃度区において平均で122.2%の生長阻害率であった。また、試験液のpH値は、暴露開始時において58.9 mg/L試験濃度区が6.1、75.4 mg/L試験濃度区が5.6、96.4 mg/L試験濃度区が5.3であり、生長阻害が観察された試験濃度区のpH値は大きく低下していた。

pH値を対照区のpH値 \pm 0.3に調整した試験系では、58.8 mg/L試験濃度区において平均で-4.3%、75.2 mg/L試験濃度区において平均で-6.3%、96.6 mg/L試験濃度区において平均で-4.5%の生長阻害率であった。

したがって、試験を実施するにあたり準拠した試験法の試験上限濃度である100 mg/L以下の濃度においては、本被験物質の毒性は、被験物質の溶解に伴うpH値の低下に起因するものと考えられた。

なお、本被験物質のpKaは4.69 (推定値)¹⁾であり、試験上限濃度の試験液のpH値(5.3)では約80%が解離状態に、試験液のpH値を対照区のpH値(7.5~7.7)に調整した場合は100%が解離状態になると推定され、pH値を調整した場合でも、被験物質の解離状態は、pH値を調整しない場合とほぼ同様の状態であると考えられた。

1) : SPARCに基づく推定値 (<http://sparc.chem.uga.edu/sparc/>)

以 上

Table 1-1 Measured Concentrations of the Test Substance in Test Solution

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L) (Percentage of Nominal)		Mean* Measured Concentration (mg/L)
	0 hour	72 hours	
Control	<0.059	<0.059	<0.059
35.0	35.6 (102)	36.0 (103)	35.8 (102)
45.5	46.1 (101)	46.8 (103)	46.5 (102)
60.0	58.6 (98)	59.2 (99)	58.9 (98)
77.5	75.5 (97)	75.3 (97)	75.4 (97)
100	96.4 (96)	96.3 (96)	96.4 (96)

*: arithmetic mean

Table 1-2 Measured Concentrations of the Test Substance in Test Solution
(pH :adjusted to the Control)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L) (Percentage of Nominal)		Mean* Measured Concentration (mg/L)
	0 hour	72 hours	
60.0	58.4 (97)	59.2 (99)	58.8 (98)
77.5	74.9 (97)	75.6 (98)	75.2 (97)
100	96.3 (96)	96.9 (97)	96.6 (97)

*: arithmetic mean

Table 2-1 Cell Densities of *Pseudokirchneriella subcapitata* during the 72-hour Exposure

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration* (mg/L)	Vessel No.	Cell Densities (cells/mL)			
			0hour	24hours	48hours	72hours
Control	<0.059	1	10,000	38,962	172,054	795,497
		2	10,000	38,676	177,992	812,609
		3	10,000	39,182	175,737	877,213
		4	10,000	37,011	176,002	804,115
		5	10,000	36,417	181,924	901,021
		6	10,000	40,781	198,879	964,509
		Average	10,000	38,505	180,431	859,161
		SD	0	1,579	9,595	66,973
35.0	35.8	CV (%)	0.0	4.1	5.3	7.8
		1	10,000	38,632	201,664	1,060,479
		2	10,000	38,757	196,695	1,032,479
		3	10,000	40,539	205,108	1,044,479
		Average	10,000	39,309	201,156	1,045,812
		SD	0	1,067	4,229	14,048
		CV (%)	0.0	2.7	2.1	1.3
45.5	46.5	1	10,000	38,845	202,420	924,085
		2	10,000	36,373	206,271	956,015
		3	10,000	37,796	191,248	946,591
		Average	10,000	37,671	199,980	942,230
		SD	0	1,241	7,803	16,406
		CV (%)	0.0	3.3	3.9	1.7
60.0	58.9	1	10,000	33,059	159,958	576,780
		2	10,000	35,295	163,683	614,538
		3	10,000	37,004	154,624	610,861
		Average	10,000	35,119	159,422	600,726
		SD	0	1,978	4,553	20,819
		CV (%)	0.0	5.6	2.9	3.5
77.5	75.4	1	10,000	3,109	5,177	11,132
		2	10,000	455	3,424	10,508
		3	10,000	609	4,018	9,247
		Average	10,000	1,391	4,206	10,296
		SD	0	1,490	892	960
		CV (%)	0.0	107.1	21.2	9.3
100	96.4	1	10,000	0	322	3,087
		2	10,000	0	799	4,891
		3	10,000	0	249	3,402
		Average	10,000	0	457	3,793
		SD	0	0	299	964
		CV (%)	0.0	-	65.4	25.4

*: arithmetic mean

SD: Standard deviation

Table 2-2 Cell Densities of *Pseudokirchneriella subcapitata* during the 72-hour Exposure
(pH :adjusted to the Control)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration* (mg/L)	Vessel No.	Cell Densities (cells/mL)			
			0hour	24hours	48hours	72hours
60.0	58.8	1	10,000	36,967	203,512	1,087,479
		2	10,000	42,585	191,277	976,041
		3	10,000	47,696	192,860	1,026,479
		Average	10,000	42,416	195,883	1,030,000
		SD	0	5,366	6,654	55,802
		CV (%)	0.0	12.7	3.4	5.4
77.5	75.2	1	10,000	47,439	225,339	1,117,479
		2	10,000	45,459	234,130	1,102,479
		3	10,000	45,907	254,726	1,181,479
		Average	10,000	46,268	238,065	1,133,812
		SD	0	1,038	15,084	41,956
		CV (%)	0.0	2.2	6.3	3.7
100	96.6	1	10,000	44,931	220,551	1,026,479
		2	10,000	44,653	227,762	1,100,479
		3	10,000	42,878	212,151	1,077,479
		4	10,000	47,601	220,622	1,054,479
		5	10,000	43,135	216,196	998,237
		6	10,000	44,513	224,890	1,016,479
		Average	10,000	44,619	220,362	1,045,605
		SD	0	1,687	5,659	38,894
		CV (%)	0.0	3.8	2.6	3.7

*: arithmetic mean

SD : Standard deviation

Table 3 Growth of *Pseudokirchneriella subcapitata* during the 72-hours Exposure at Control condition.

Vessel No.	Growth Rate (d ⁻¹)			Ave.	SD	CV (%)	Average of CV (%)
	0-24h	24-48h	48-72h				【A】
1	1.36	1.49	1.53	1.46	0.09	6.1	8.1
2	1.35	1.53	1.52	1.47	0.10	6.7	
3	1.37	1.50	1.61	1.49	0.12	8.1	
4	1.31	1.56	1.52	1.46	0.13	9.2	
5	1.29	1.61	1.60	1.50	0.18	12.0	
6	1.41	1.58	1.58	1.52	0.10	6.7	
Average				1.48			
SD				0.03			
CV (%) 【B】				1.7			

SD: Standard deviation

A: mean CV (%) for section-by-section specific growth rates

B: CV (%) of average specific growth rates during the whole test period in replicate

Table 4-1 Percentage of Growth Inhibition of *Pseudokirchneriella subcapitata*

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration* (mg/L)	Vessel No.	Growth rate	
			Rate μ (0-72h)	Inhibition (%) $I\mu$ (0-72h)
Control	<0.059	1	1.46	
		2	1.47	
		3	1.49	
		4	1.46	
		5	1.50	
		6	1.52	
		Average	1.48	-
		SD	0.03	
		CV (%)	1.7	
35.0	35.8	1	1.55	-4.8
		2	1.55	-4.2
		3	1.55	-4.4
		Average	1.55	-4.5
		SD	0.00	
		CV (%)	0.3	
45.5	46.5	1	1.51	-1.7
		2	1.52	-2.5
		3	1.52	-2.2
		Average	1.52	-2.1
		SD	0.01	
		CV (%)	0.4	
60.0	58.9	1	1.35	8.9
		2	1.37	7.5
		3	1.37	7.6
		Average	1.37	8.0
		SD	0.01	
		CV (%)	0.9	
77.5	75.4	1	0.04	97.6
		2	0.02	98.9
		3	-0.03	101.8
		Average	0.01	99.4
		SD	0.03	
		CV (%)	362.8	
100	96.4	1	-0.39	126.4
		2	-0.24	116.1
		3	-0.36	124.2
		Average	-0.33	122.2
		SD	0.08	
		CV (%)	--	

*: arithmetic mean

SD: Standard deviation

--: can not calculate

Table 4-2 Percentage of Growth Inhibition of *Pseudokirchneriella subcapitata*
(pH :adjusted to the Control)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration* (mg/L)	Vessel No.	Growth rate	
			Rate μ (0-72h)	Inhibition (%) $I \mu$ (0-72h)
60.0	58.8	1	1.56	-5.4
		2	1.53	-2.9
		3	1.54	-4.1
		Average	1.54	-4.1
		SD	0.02	
		CV (%)	1.2	
77.5	75.2	1	1.57	-6.0
		2	1.57	-5.7
		3	1.59	-7.2
		Average	1.58	-6.3
		SD	0.01	
		CV (%)	0.8	
100	96.6	1	1.54	-4.1
		2	1.57	-5.6
		3	1.56	-5.1
		4	1.55	-4.7
		5	1.53	-3.4
		6	1.54	-3.8
		Average	1.55	-4.5
		SD	0.01	
		CV (%)	0.8	

*: arithmetic mean

SD : Standard deviation

Table 5-1 Calculated EC50 and NOEC

ErC50 (0-3d) (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)		NOECr (0-3d) (mg/L)
66.0	65.6	66.3	46.5

Table 5-2 Calculated EC50 and NOEC

(pH :adjusted to the Control)

ErC50 (0-3d) (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)		NOECr (0-3d) (mg/L)
>96.6	--	--	96.6

Table 6 Temperature in the Incubation Chamber

Exposure Period (hours)	Temperature (°C)
0	22.8
24	22.6
48	22.6
72	22.6

Table 7 Photon Flux Density in the Incubation Chamber

Exposure Period (hours)	Photon Flux Density ^a ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)
0	70.67
24	70.94
48	69.65
72	68.64

a: average of five sites

Table 8-1 pH Values

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration [*] (mg/L)	Vessel No.	pH	
			0 hour	72 hours
Control	<0.059	1	7.7	7.8
35.0	35.8	1	7.0	7.2
45.5	46.5	1	6.5	6.6
60.0	58.9	1	6.1	6.0
77.5	75.4	1	5.6	5.8
100	96.4	1	5.3	5.3

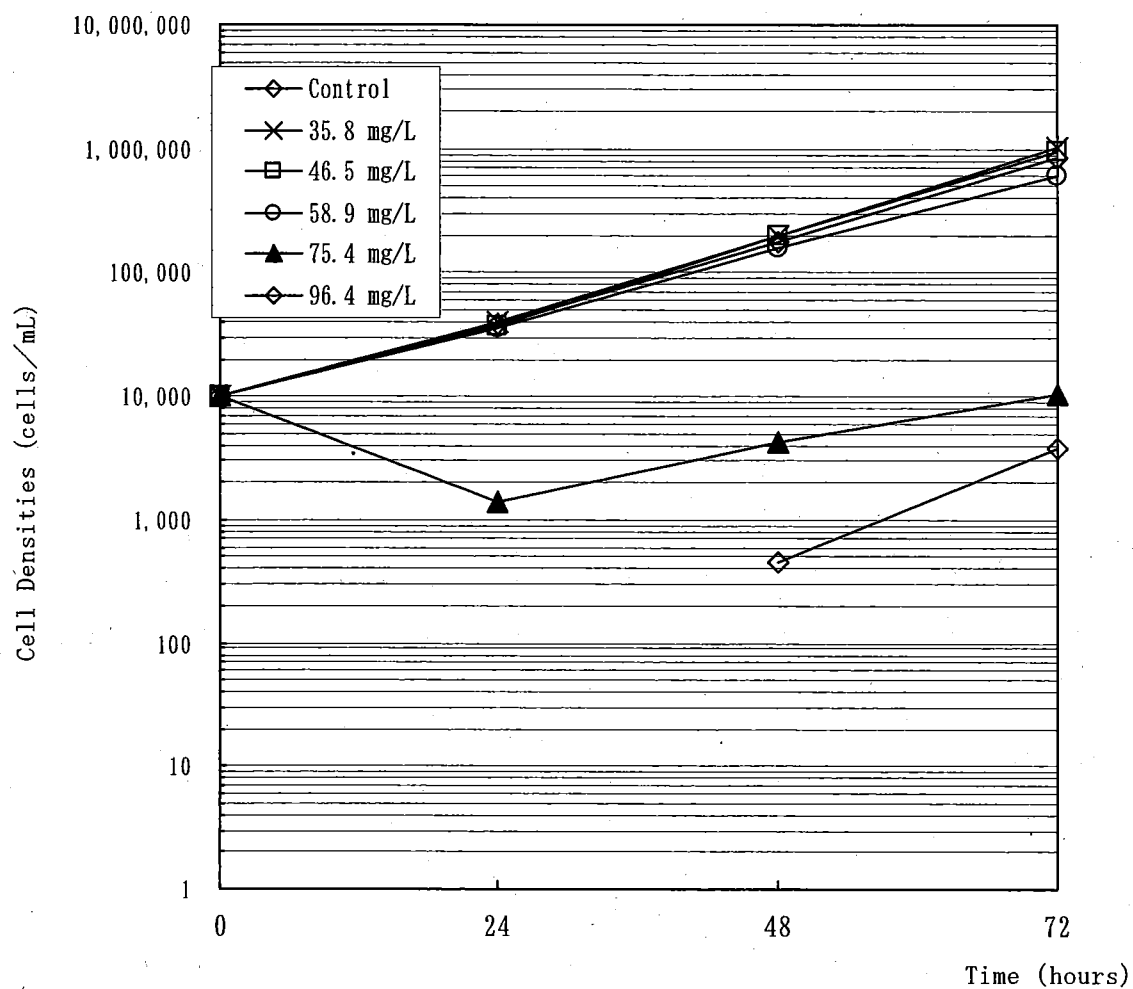
*: arithmetic mean

Table 8-2 pH Values

(pH :adjusted to the Control)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration [*] (mg/L)	Vessel No.	pH	
			0 hour	72 hours
60.0	58.8	1	7.5	7.3
77.5	75.2	1	7.7	7.4
100	96.6	1	7.5	7.5

*: arithmetic mean



In 0 - 48 hours, growth curve of 96.4 mg/L concentration can not display, because the biomass of the 24 hours is 0.

Figure 1-1 Algal Growth Curve of *Pseudokirchneriella subcapitata* at several concentrations.

(Mean cell counts vs. time during the 72-hours exposure)

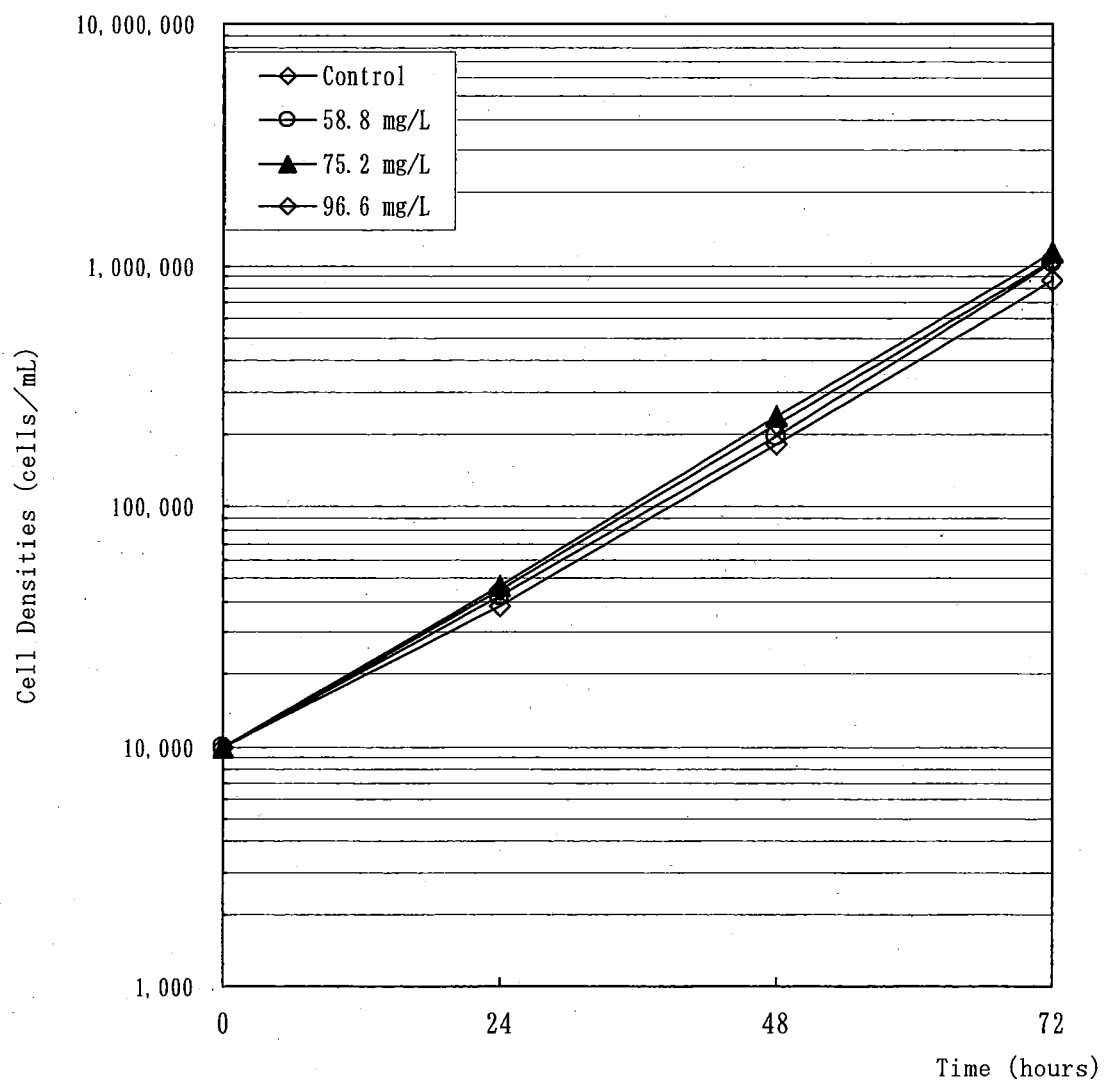


Figure 1-2 Algal Growth Curve of *Pseudokirchneriella subcapitata*
at several concentrations.

[pH :adjusted to the Control (Additional test)]

(Mean cell counts vs. time during the 72-hours exposure)

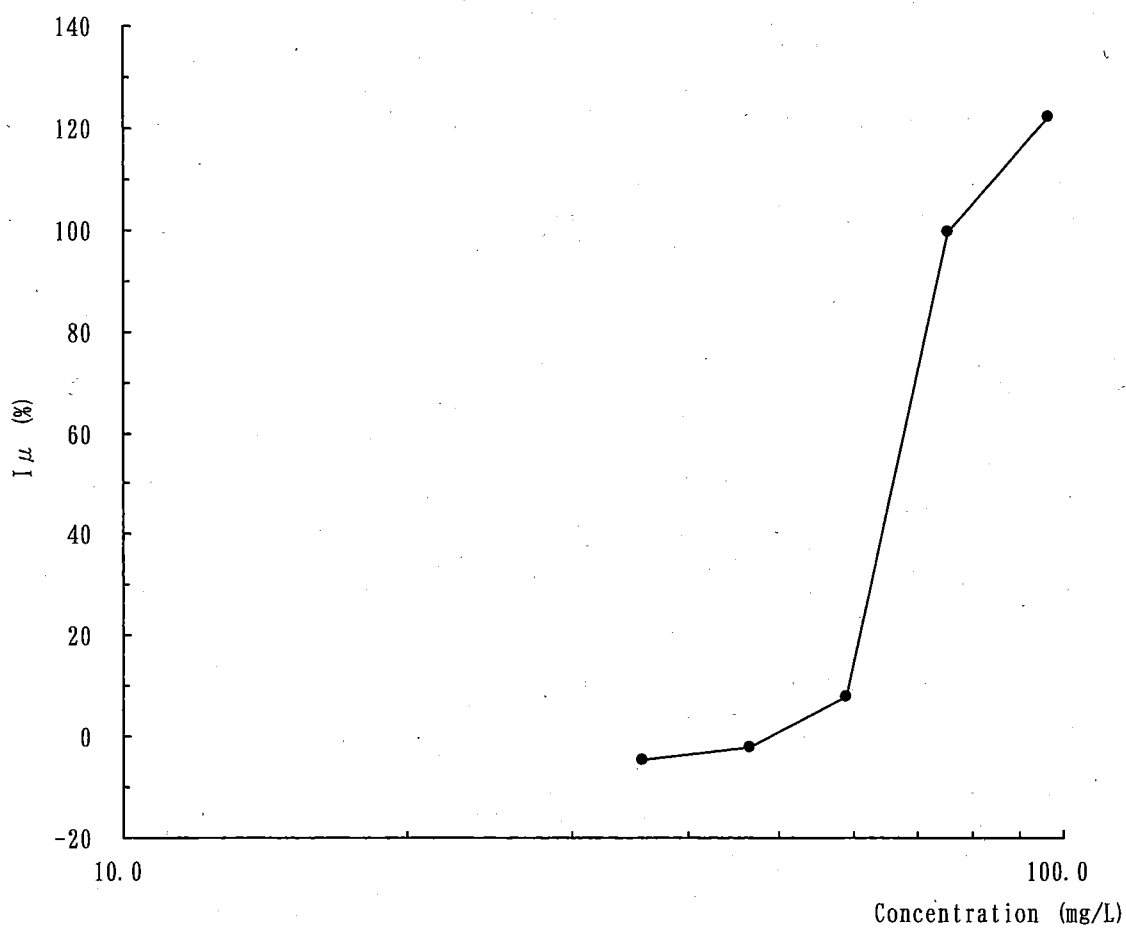


Figure 2-1 Concentration-Inhibition Curve Based on Group Means of $I\mu$ Values
Calculated from the Growth Rate.

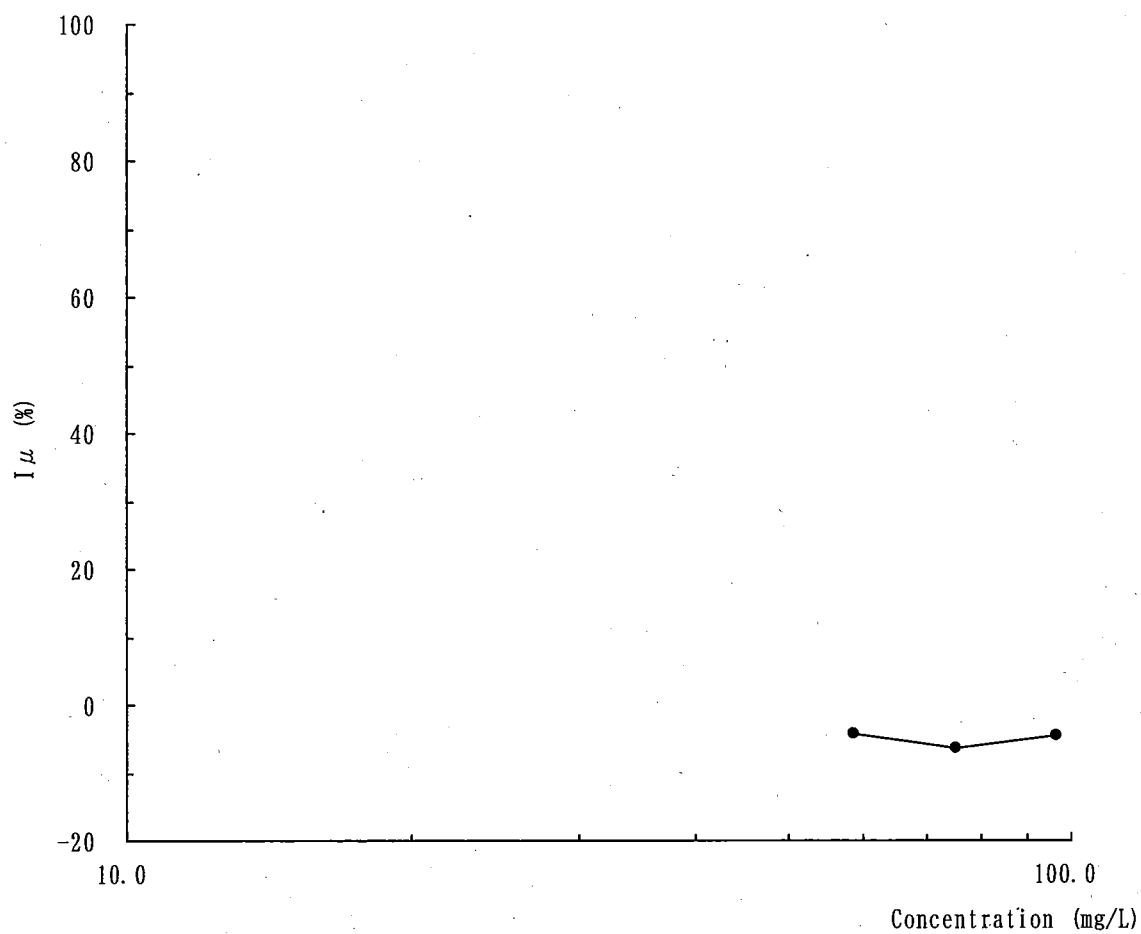


Figure 2-2 Concentration-Inhibition Curve Based on Group Means of I_m Values
Calculated from the Growth Rate.

[pH :adjusted to the Control (Additional test)]

付属資料-1

A T C C 培地



Table 1 ATCC Culture medium 625

Nutrient salts	Concentration (g/L)
NaNO_3	0.496
K_2HPO_4	0.039
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.075
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.036
Citric acid	0.006
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	0.058
Na_2CO_3	0.020
Iron (III) Citrate	0.006
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.001

pH (was controlled after autoclaved (121°C , 15 min)) : 7.5 ± 0.5

付属資料－2

OECD培地



(

Table 2 OECD medium

Nutrient salts	Concentration (mg/L)
NH_4Cl	15
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	12
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	18
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	15
KH_2PO_4	1.6
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.064
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1
H_3BO_3	0.185
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.415
ZnCl_2	0.003
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0015
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.00001
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.007
NaHCO_3	50
pH (was not controlled) : 8.1 ± 0.3	

付属資料－3

試験液の調製方法



1. 濃厚液 (2,500 mg/L) の調製方法

- 1) 被験物質をスパーテルで採取し、秤量皿に 499.8 mg 秤量した。
- 2) 秤量皿から 200 mL 容ガラス製メスフラスコに、スパーテル等を使用して被験物質を移し入れた。
- 3) 秤量皿に OECD 培地を少量加えて残っている被験物質を溶解させ、200 mL 容ガラス製メスフラスコにパスツールピペットで移し入れた。
- 4) OECD 培地でメスアップした。

2. 試験液の調製方法

以下の表に従い、濃厚液を試験濃度区ごとに加え、OECD 培地でメスアップした。pH 値を調整する試験液については、1 L 容ガラス製ビーカーに必要量を採取後、2 mol/L NaOH を添加して pH 値を対照区の pH 値 \pm 0.3 に調整した。

表 1 試験液の調製方法

試験区番号	1	2	3	4	5
試験液濃度 (mg/L)	35.0	45.5	60.0	77.5	100
濃厚液添加量 (mL)	4.9	6.37	24	31	40
濃厚液の定容器具	5 mL 容 マイクロピペット	10 mL 容 マイクロピペット	50 mL 容ガラス製メスシリンダー		
調製容器	350 mL 容メスフラスコ		1 L 容メスフラスコ		

付属資料－4

試験液の分析方法



1. 分析試料の調製方法

暴露開始時は、試験区ごとに pH 測定用に採取した試験液の一部を、2.5 mL 容マイクロピペットで 1.2 mL 採取した。

暴露期間中及び暴露終了時は、各試験容器から試験液を 1 mL 容マイクロピペットで 1 mL ずつ採取して、試験区ごとに、10 mL 容ガラス製試験管に入れた。遠心分離 ($1,700 \times g$, 10 min) 後、2.5 mL 容マイクロピペットにより中間層を 1.2 mL 採取し、1.5 mL 容 HPLC 用バイアルに入れた。

1 mL 容マイクロピペットでアセトニトリル (和光純薬工業 (株) 製 ; HPLC 用) 0.3 mL を各バイアルに加え、よく混合し分析試料とした。

分析試料は分析まで調製室内冷蔵庫 (4℃設定) 内に保管した。

2. 分析方法 (HPLC 法)

(1) 測定用バイアルに試料を採取



(2) 試料 8 に対してアセトニトリル 2 を添加し、混合



(3) HPLC 測定

3. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 測定条件

(装置)

高速液体クロマトグラフ	: Agilent HP-1200 型
ワークステーション	: HP ケミステーション
オペレーションシステム	: Windows XP
デガッサー	: G1322A 型
送液ポンプ	: G1311A 型
オートサンプラー	: G1329A 型
カラムオーブン	: G1316A 型
紫外線可視分光検出器	: G1315D 型

(条件)

カラム	: Inertsil C8-4 150-4.6 (5 μ m)、GL サイエンス (株)
カラムオーブン	: 40℃
溶離液	: アセトニトリル : 0.1% リン酸溶液 = 20 : 80
流速	: 1.2 mL/min
測定波長	: 210 nm
試料注入量	: 100 μ L
リン酸	: 和光純薬工業 (株) 製 ; 試薬特級
アセトニトリル	: 和光純薬工業 (株) 製 ; HPLC 用

4. 検量線

アセトニトリルと 0.1%リン酸溶液を 2:8 で混合した溶液（以下「調製溶液」とする）を調製した。

被験物質 20 mg を秤量し、100 mL 容メスフラスコに入れ、調製溶液でメスアップした（200 mg/L-STD）。

以下の表に従い、ホールピペットで各標準溶液を 10 mL 容ガラス製試験管に入れ、調製溶液で 10 mL にメスアップした。0 mg/L の標準溶液は、調製溶液を使用した。調製した標準溶液は、1.5 mL 容 HPLC 用バイアルにバイアルの目盛で 1 mL 以上入れて分析に供した。

表 標準溶液の調製方法

標準溶液 (mg/L)	100	50	20	10	5
添加する標準溶液 (mg/L)	200	100	50	20	10
添加量 (mL)	5	5	4	5	5
使用する定容器具	5 mL 容 ホールピペット	5 mL 容 ホールピペット	4 mL 容 ホールピペット	5 mL 容 ホールピペット	5 mL 容 ホールピペット

5. 検出下限値

5 mg/L の標準溶液を 7 連で分析した。7 回の測定結果から標準偏差 (s) を算出し、MDL（測定検出限界）を次式に従い算出した。また、その 3 倍値を MQL（測定定量限界）として求めた。

$$MDL = t(n-1, 0.01) \times s$$

ここに、 $t(n-1, 0.01)$ は自由度 $n-1$ の危険率 1%（片側）の t 値であり、下表を与える。

表 繰り返し回数とその $t(n-1, 0.01)$

繰り返し回数 (n)	自由度 (n-1)	$t(n-1, 0.01)$ 、片側
7 回	6	3.143
8 回	7	2.998
9 回	8	2.896
10 回	9	2.821

検出下限値 : 0.059 mg/L

定量下限値 : 0.18 mg/L

6. 添加回収試験及び測定値の補正

本試験については、分析前処理が試験液とアセトニトリルを混合する操作だけであるため、添加回収試験は実施しなかった。これに伴い、回収率の補正も実施しなかった。

付属資料－5

予備試験結果

・ 予備試験

予備試験識別番号： 1007-Y-201

実施期間：2010 年 11 月 29 日～12 月 2 日

・ 試験条件

- 1) 暴露方式 : 開放系 (通気性シリコン製栓)、振とう培養 (100 rpm)
- 2) 供試生物 : *Pseudokirchneriella subcapitata* (ATCC 22662)
- 3) 暴露期間 : 72時間
- 4) 試験濃度 (設定値) : 6.25、12.5、25.0、50.0、100 mg/L (公比 ; 2) に加え、pH値を調整した100 mg/Lの 6試験濃度区及び対照区
- 5) 試験液量 : 100 mL/容器
- 6) 連数 : 3容器/試験濃度区、6容器/対照区、pH値を調整した試験濃度区
- 7) 初期生物量 : 1.0×10^4 cells/mL
- 8) 試験温度 : 23°C設定 (変動幅は $\pm 2^\circ\text{C}$)
- 9) 照明 : 蛍光灯による連続照明
(波長400~700 nmの範囲の光量子について $60 \sim 90 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)
- 10) 助剤の種類 : 使用しない
- 11) 試験液中の助剤濃度 : -
- 12) 分析方法 : HPLC

・ 予備試験結果

Nominal Concentration (mg/L)	Initial Measured Concentration (mg/L)	Vessel No.	Growth rate	
			Rate μ (0-72h)	Inhibition (%) $I \mu$ (0-72h)
Control	<0.059	1	1.60	
		2	1.63	
		3	1.64	
		4	1.65	
		5	1.69	
		6	1.65	
		Average	1.64	-
		SD	0.03	
6.25	5.36	CV (%)	1.7	
		1	1.60	2.6
		2	1.64	0.1
		3	1.66	-0.7
		Average	1.63	0.7
		SD	0.03	
		CV (%)	1.7	

SD : Standard deviation

・ 予備試験結果 (続き)

Nominal Concentration (mg/L)	Initial Measured Concentration (mg/L)	Vessel No.	Growth rate	
			Rate μ (0-72h)	Inhibition (%) $I \mu$ (0-72h)
12.5	11.9	1	1.68	-1.8
		2	1.67	-1.5
		3	1.62	1.3
		Average	1.66	-0.7
		SD	0.03	
		CV (%)	1.7	
25.0	24.1	1	1.66	-1.0
		2	1.68	-2.3
		3	1.71	-3.7
		Average	1.68	-2.3
		SD	0.02	
		CV (%)	1.3	
	48.0	1	1.62	1.4
		2	1.59	3.1
		3	1.62	1.7
		Average	1.61	2.1
		SD	0.01	
		CV (%)	0.9	
100	94.1	1	0.20	87.9
		2	-0.23	114.3
		3	0.22	86.8
		Average	0.06	96.3
		SD	0.26	
		CV (%)	421.8	
100 (pH adjusted)	87.7	1	1.66	-0.8
		2	1.56	5.0
		3	1.65	-0.6
		4	1.61	2.3
		5	1.60	2.8
		6	1.62	1.5
		Average	1.62	1.7
		SD	0.04	
		CV (%)	2.2	

SD : Standard deviation

・ 予備試験時の試験液の pH

Nominal Concentration (mg/L)	Mean* Measured Concentration (mg/L)	Vessel No.	pH	
			0 hour	72 hours
Control	<0.059	1	7.9	8.0
6.25	5.36	1	7.7	8.0
12.5	11.9	1	7.5	7.9
25.0	24.1	1	7.2	7.8
50.0	48.0	1	6.5	6.9
100	94.1	1	5.2	5.6
		2	-	5.5
		3	-	5.5
100 (pH adjusted)	87.7	1	7.5	6.8

付属資料－6

供試試料の試験成績書

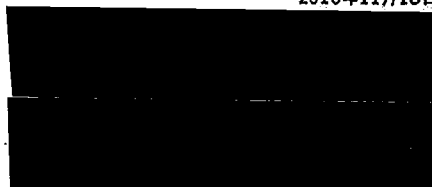






(



試験成績書

2010年11月18日



製品名: 			
製品コード: 	等級: GR	製品ロット: 	判定: 合格

項目	結果	規格値
純度(GC)	99.9 %	99.0 %以上
純度(中和滴定)	99.7 %	98.0 %以上
凝固点	35.0 deg-C	32.0 ~ 36.0 deg-C