

環境庁殿

試 験 報 告 書

ホルムアミドのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

(試験番号：NO1998-生07)

1999年 3月30日

株式会社クレタ分社
〒100-0001 東京都千代田区千代田1-1-1

陳 述 書

株式会社クレハ分析センター

試験委託者： 環境庁

表題： ホルムアミドのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号： NO1998-生07

上記試験は環境庁のG L P規則に従って実施したものである。

1999年 3月30日

運営管理者



信 頼 性 保 証 証 明

株式会社クレハ分析センター

試験委託者： 環境庁

表題： ホルムアミドのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する
繁殖阻害試験

試験番号： NO1998-生07

本試験は試験計画書および標準操作手順書に従って実施され、本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通り確認した。

記

	実 施 日	運営管理者への 報告日	試験責任者への 報告日
試験実施状況査察	1999年1月27日	1999年1月27日	1999年1月27日
	1999年2月 3日	1999年2月 3日	1999年2月 3日
	1999年2月10日	1999年2月10日	1999年2月10日
	1999年2月17日	1999年2月17日	1999年2月22日
試験報告書監査	1999年3月26日	1999年3月26日	1999年3月26日

1999年3月30日

信頼性保証業務担当者：



試験実施概要

1. 表題：ホルムアミドのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験
2. 試験目的：ホルムアミドについて、オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験を 21 日間行い、最小作用濃度 (LOEC) と最大無作用濃度 (NOEC) を求め、可能な限り 50% 繁殖阻害濃度 (EC50) も求める。
3. 適用ガイドライン：本試験は、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 4 月採択) の改訂版であるガイドライン No. 211 「オオミジンコ繁殖試験」(1997 年 4 月提案) に準拠した。
4. 適用 GLP：本試験は環境庁の GLP 規則に準拠した。
5. 試験委託者
名称：環境庁
住所：〒100-8975 東京都千代田区霞ヶ関一丁目 2-2
委託責任者：環境庁企画調整局環境保健部環境安全課環境リスク評価室
室長補佐 XXXXXXXXXX
6. 試験受託者：
名称：株式会社クレハ分析センター
所在地：〒974-8686 福島県いわき市錦町落合 16 番地
7. 試験施設：
名称：株式会社クレハ分析センター
所在地：〒974-8686 福島県いわき市錦町落合 16 番地

8. 試験関係者：

試験責任者（生物）	[REDACTED]	[REDACTED]	（1999年 3月30日）
試験責任者（理化学）	[REDACTED]	[REDACTED]	（1999年 3月30日）
試験担当者（生物）	[REDACTED]	[REDACTED]	（1999年 3月30日）
試験担当者（生物）	[REDACTED]	[REDACTED]	（1999年 3月30日）
試験担当者（生物）	[REDACTED]	[REDACTED]	（1999年 3月30日）
試験担当者（生物）	[REDACTED]	[REDACTED]	（1999年 3月30日）
試験担当者（理化学）	[REDACTED]	[REDACTED]	（1999年 3月30日）

9. 試験期間： 試験開始日 1999年 1月 4日
試験終了日 1999年 3月30日
暴露期間 1999年 1月27日～
1999年 2月17日

10. 保管：

試験計画書、生データ、記録文書および試験報告書は、試験報告書作成後10年間、株式会社クレハ分析センターの保管施設に保管する。その後の保管については試験委託者と協議の上決定する。

目 次

	頁
要旨	7
1. 被験物質	8
1. 1 名称、構造式および物理化学的性状	8
1. 2 供試試料	8
1. 3 被験物質の確認および保管条件下での安定性	8
2. 供試生物	9
3. 試験方法	9
3. 1 試験条件	9
3. 2 希釈水	10
3. 3 試験装置、試験容器および恒温槽等	10
3. 4 試験濃度の設定	10
3. 5 試験液の調製	10
3. 6 試験液の分析	10
3. 7 試験操作	10
4. 結果の算出	11
4. 1 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) の算出	11
4. 2 50%繁殖阻害濃度 (EC50) の算出	11
4. 3 最大無作用濃度 (NOEC) および最小作用濃度 (LOEC)	11
5. 結果および考察	12
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	12
5. 2 試験水中の被験物質濃度	12
5. 3 ミジンコの観察結果	12
5. 4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)	13
5. 5 50%繁殖阻害濃度 (EC50)	13
5. 6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOEC) および最小作用濃度 (LOEC)	13
5. 7 試験水の水温、溶存酸素濃度、pHおよび硬度	13
Table 1～11	14～22
Figure 1	18
付属資料－1 希釈水の水質	
付属資料－2 試験液の分析方法	
付属資料－3 ミジンコの観察結果	

要 旨

試験委託者 環境庁

表 題 ホルムアミドのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号 NO1998-生07

試験方法

本試験は、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4月採択）の改訂版であるガイドライン No. 211「オオミジンコ繁殖試験」（1997年4月提案）に準拠して実施した。

- 1) 被験物質： ホルムアミド
- 2) 暴露方法： 半止水式（週3回、試験液の全量を交換）
- 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、100、32および10mg/L
- 6) 試験液量： 1容器（連）につき80ml
- 7) 連数： 1濃度区につき10連
- 8) 供試生物数： 10頭/濃度区（1連につき1頭）
- 9) 試験温度： 20±1℃
- 10) 照明： 16時間明/8時間暗
- 11) 被験物質の分析： HPLC法

結 果

- 1) 試験液中の被験物質濃度

被験物質が設定濃度の±20%以内であり、設定濃度を用いて計算を行った。

- 2) 21日間の親ミジンコの50%致死濃度（LC50）：100mg/L以上
- 3) 21日間の50%繁殖阻害濃度（EC50）：100mg/L以上
- 4) 21日間の最大無作用濃度（NOEC）：100mg/L
- 5) 21日間の最小無作用濃度（LOEC）：求められなかった。

無作用濃度
修正あり

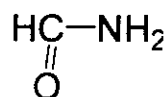
1. 被験物質

1. 1 名称、構造式および物理化学的性状

名称：ホルムアミド

(CAS：75-12-7)

構造式：



分子式：HCONH₂

分子量：45.04

安定性：安定

1-オクタノール／水分配係数 (log P)：-1.51

水への溶解度：水に可溶

蒸気圧：1 mmHg (21℃)

1. 2 供試試料

購入先：[REDACTED]

入手先：[REDACTED]

入手日：1998年11月20日

ロット番号：ACH6014

外観：無色澄明の液体

純度及び不純物：99.6%

1. 3 被験物質の確認および保管条件下での安定性

被験物質は当施設の冷蔵庫に保管した。

入手した被験物質について赤外吸収スペクトルを測定し、被験物質の構造と矛盾が認められないことを確認した。試験終了時にも同様にスペクトルを測定し、試験開始前に測定したスペクトルと比較した結果、スペクトルに変化は認められなかったことより被験物質は当施設の冷蔵庫に保管中は安定であったと判断された。

2. 供試生物

試験には生後24時間令以内のオオミジンコ (*Daphnia magna*) の幼体を用いた。

本種は、1997年2月5日に国立環境研究所より入手したものを、(株)クレハ分析センターにおいて継代飼育しているものである。また、基準物質(重クロム酸カリウム、試薬特級)による48時間の半数遊泳阻害濃度(EC50)は0.79 mg/Lであった。

供試する幼体を得るためのミジンコの飼育方法

継代中のものから幼体を抱えた肉眼的に健康かつ十分な大きさの雌成体を選別し、別に用意したビーカーに移し、翌日、産出された幼体を別のビーカーに分けた。この幼体(1999年1月5日生まれ)を供試ミジンコの親とし、以下の条件で飼育した。成熟し幼体を産むようになったら1週間に少なくとも2回以上幼体を除去した。3週目に入り暴露開始前日に、その前2週間の死亡率が0%で休眠卵や雄が発生しなかったバッチから、育房内に幼体を持つ雌成体を選別し、翌日(24時間以内)産出された幼体を試験に用いた(1999年1月27日暴露開始)。

飼育水： 希釈水(3.2参照)

飼育密度： 15頭/L飼育水

水温： 20±1℃

照明： 室内光、16時間明/8時間暗

餌： *Chlorella vulgaris*

給餌量： ミジンコ1頭当たり*Chlorella vulgaris*を0.15 mg C(有機炭素含量)/日の割合で与えた。

3. 試験方法

3.1 試験条件

1) 暴露方法： 半止水式

2) 暴露期間： 21日間

3) 試験液量： 1容器(連)につき80 mL

4) 連数： 10容器(連)/濃度区

5) 供試生物数： 10頭/1濃度区(1連につき1頭)

6) 試験温度： 20±1℃

7) 照明： 室内光、16時間明(1200lux以下)/8時間暗

8) 給餌量： ミジンコ1頭当たり*Chlorella vulgaris*を0.15～0.18 mg C(有機炭素含量)/日

3. 2 希釈水

脱塩素水（呉羽化学工業株式会社錦工場内の工業用水（塩素処理を行い、飲料水グレードのもの）を活性炭処理で残留塩素等を除去し、空気による曝気処理を行ったもの）を使用した。希釈水の主な水質として、硬度が32mg/L（CaCO₃換算）、pHが7.7であった。

また、1999年2月2日の希釈水の分析結果を〔付属資料－1〕に示した。

3. 3 試験装置、試験容器および恒温槽等

試験容器： 100mL容ガラス製ビーカー
恒温槽： 恒温室
水温計： 水銀温度計
pH計： 東亜電波工業（HM－30V）
溶存酸素計： 飯島電子工業（B－505）
ICP発光分析装置： 日立306型

3. 4 試験濃度の設定

オオミジンコに対する48時間急性遊泳阻害濃度は1000mg/L以上であることから、100mg/Lから始めて、それ以下の濃度を公比3.2で3段階設定した。各濃度区は以下の通りである。

（対照区、100、32、10mg/L）

3. 5 試験液の調製

1000mg/Lの濃度のホルムアミドを原液として希釈水で調製し、その所定量を1Lメスフラスコに入れ希釈水で定容し試験液とした。

3. 6 試験液の分析

全濃度区（但し、各1試験容器）について、暴露期間中に3回（換水前後で計6回）の頻度で10mLずつ採取し、HPLCにより分析した。試験水の分析に際しては、試料測定毎に標準溶液の測定を行い、そのピーク高さから定量した。詳細は〔付属資料－2〕に示した。

3. 7 試験操作

試験液の水温、溶存酸素濃度（DO）、pHおよび硬度を測定後、ガラスピペットを用いて供試ミジンコを投入し、その時点を暴露開始時とした。その際、ピペット内の飼育水が、全量で試験液量に対して1%以内となるようにした。その後、換水毎にミジンコを新しい試験液に移しかえ、21日目まで飼育した。暴露期間中は毎日一定量の給餌を行った（3.1参照）。

・ミジンコの観察：

(親ミジンコ) 生死、遊泳状態および外観の異常の有無を毎日観察して、記録した。
計数後の死亡個体は取り除いた。

(産出幼体) 最初の産仔から毎日幼体の生存数を計数し、計数後の幼体は取り除いた。

死亡幼体、墮胎卵および休眠卵の発生等については、その有無を毎日観察し記録した。最初の幼体産出日を、初産日として記録した。

・水質測定：水温、溶存酸素濃度(D.O.)、pHを全濃度区(但し、各1試験容器)について、暴露期間中に少なくとも3回(調製時および換水前で1回)換水前後に測定した。硬度は対照区について測定を行った。

4 結果の算出

4. 1 親ミジンコの半数致死濃度(LC50)の算出

各濃度区での親ミジンコの死亡数は0%であることから、21日間の半数致死濃度(LC50)は試験最高濃度以上とした。

4. 2 50%繁殖阻害濃度(EC50)の算出

各濃度区での生存親1頭当たりの平均累積産仔数(生存幼体)から阻害百分率を算出した。阻害百分率を濃度に対してプロットし、試験最高濃度においても阻害百分率が50%を越えないので21日間の50%繁殖阻害濃度(EC50)は試験最高濃度以上とした。

4. 3 最大無作用濃度(NOEC)および最小作用濃度(LOEC)と

各濃度区毎の21日間暴露の生存親1頭当たりの累積産仔数を算出し、各濃度区と対照区との有意差の有無をDunnett multiple comparison法により求め、対照区と有意差が認められない最高濃度(最大無作用濃度:NOEC)および有意差が認められる最低濃度(最小作用濃度:LOEC)を決定した。

統計解析には、統計処理手順書(Z992050、992051)に従った。

5 結果および考察

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 認められなかった。

5. 2 試験水中の被験物質濃度

暴露開始当日、9日目および19日目の試験液調製時の被験物質濃度は設定値10.0～100mg/Lに対して、それぞれ10.0～98.3mg/L、9.9～98.9mg/Lおよび9.7～95.2mg/Lであり、設定値に対する割合はそれぞれ98～100%、98～99%、95～98%であった。また、2日目、12日目および21日目の換水前の濃度はそれぞれ10.5～107mg/L、11.2～110mg/Lおよび10.8～109mg/Lであり、設定値に対する割合はそれぞれ105～107%、108～112%、108～109%であった。

[Table-1 (p. 14)、付属資料-2]

5. 3 ミジンコの観察結果

親ミジンコの死亡数および死亡率

対照区での親ミジンコの死亡率は暴露終了時で0%であり、試験成立条件である20%以下の基準を満たした。

[Table2-1、2-2 (p. 15) 付属資料-3]

初産日

対照区での親ミジンコの初産日は暴露開始後8～9日後であった。

[Table3- (p. 16) 付属資料-3]

平均累積産仔数

対照区の21日間での親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は118.5頭であり、試験成立条件である平均累積産仔数60頭の基準を満たした。

[Table-4 (P. 17)、Figure-1 (P. 18)、付属資料-3]

休眠卵の発生等

対照区および各試験濃度区で休眠卵は認められなかった。

5. 4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)

21日間暴露の親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) は100mg/L以上であった。

[Table-5 (P. 19)]

5. 5 50%繁殖阻害濃度 (EC50)

21日間暴露の50%繁殖阻害濃度 (EC50) は、100mg/L以上であった。

[Table-6 (P. 19)]

5. 6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOEC) および最小作用濃度 (LOEC)

親ミジンコ1頭あたりの累積産仔数に及ぼす21日間の最大無作用濃度 (NOEC) は100mg/Lであり、最小作用濃度 (LOEC) は求めることが出来なかった。

[Table-7 (P. 20)]

5. 7 試験水の水温、溶存酸素濃度、pHおよび硬度

21日間の暴露期間中の水温は20.2~21.0℃であり、設定範囲内であった。
溶存酸素濃度は8.2~8.9mg/Lであり、すべての濃度区で飽和溶存酸素濃度の60%以上が維持された (20.0℃の飽和溶存酸素濃度: 8.84mg/L)。

pHは7.2~8.0であり、変動は1以下であった。

硬度は25~37mg/Lであり、設定範囲内であった。

以上のことから、水温、溶存酸素濃度 pHおよび硬度については、ミジンコの生育条件としては適切な範囲であったと思われる。

[Table-8、9、10、11 (P. 21、22)]

以 上

Table. 1 Measured Concentration of formamide during a 21-day Exposure of *Daphnia magna* under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration mg/L	Measured Concentration (mg/L)		Percent of Nominal	
	0 day new	2 day old	new	old
Control	N.D.	N.D.	----	----
10	10.0	10.5	100	105
32	31.6	33.8	99	106
100	98.3	107	98	107

Nominal Concentration mg/L	Measured Concentration (mg/L)		Percent of Nominal	
	9 day new	12 day old	new	old
Control	N.D.	N.D.	----	----
10	9.9	11.2	99	112
32	31.5	34.7	98	108
100	98.9	110	99	110

Nominal Concentration mg/L	Measured Concentration (mg/L)		Percent of Nominal	
	19 day new	21 day old	new	old
Control	N.D.	N.D.	----	----
10	9.7	10.8	97	108
32	31.3	35.0	98	109
100	95.2	109	95	109

new : freshly prepared test solution

old : test solutions 48,72 hours after freshly prepared

Table 2-1 Cumulative Number of Dead Parental *Daphnia magna*

Nonimal Conc. (mg/L)	Days																					
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2-2 Mortality (%) of Parental *Daphnia magna*

Nominal Conc. (mg/L)	Days					
	1	2	4	7	14	21
Control	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0	0

Table 3 Time (days) to First Brood Production

Vessel No.	Nominal Concentration (mg/L)			
	Control	10	32	100
1	8	8	9	8
2	9	9	8	9
3	9	8	8	8
4	9	8	8	8
5	8	8	8	8
6	9	9	9	8
7	9	8	8	8
8	8	8	8	8
9	8	8	8	8
10	8	8	8	8
Mean	8.5	8.2	8.2	8.1

Table 4 Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult ($\Sigma F1/P$)

Nominal Conc.	Measured Conc.	Days																
(mg/L)	(mg/L)	0	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	Control	0	0	0	6.3	13.1	13.1	28.7	33.8	33.8	62.1	62.1	62.1	80.0	87.1	87.1	106.6	118.5
10	10.3	0	0	0	8.4	13.5	13.5	30.5	33.4	33.4	57.6	60.0	60.0	80.4	87.6	87.6	110.7	119.9
32	33.0	0	0	0	9.2	12.2	12.2	30.5	32.4	32.4	59.3	59.3	59.3	81.4	86.3	86.3	112.2	118.2
100	103	0	0	0	8.9	10.4	10.4	29.7	29.7	29.7	53.5	53.5	53.5	79.0	79.0	79.0	107.4	107.4

Figure 1 Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult ($\Sigma F1/P$) during 21 days

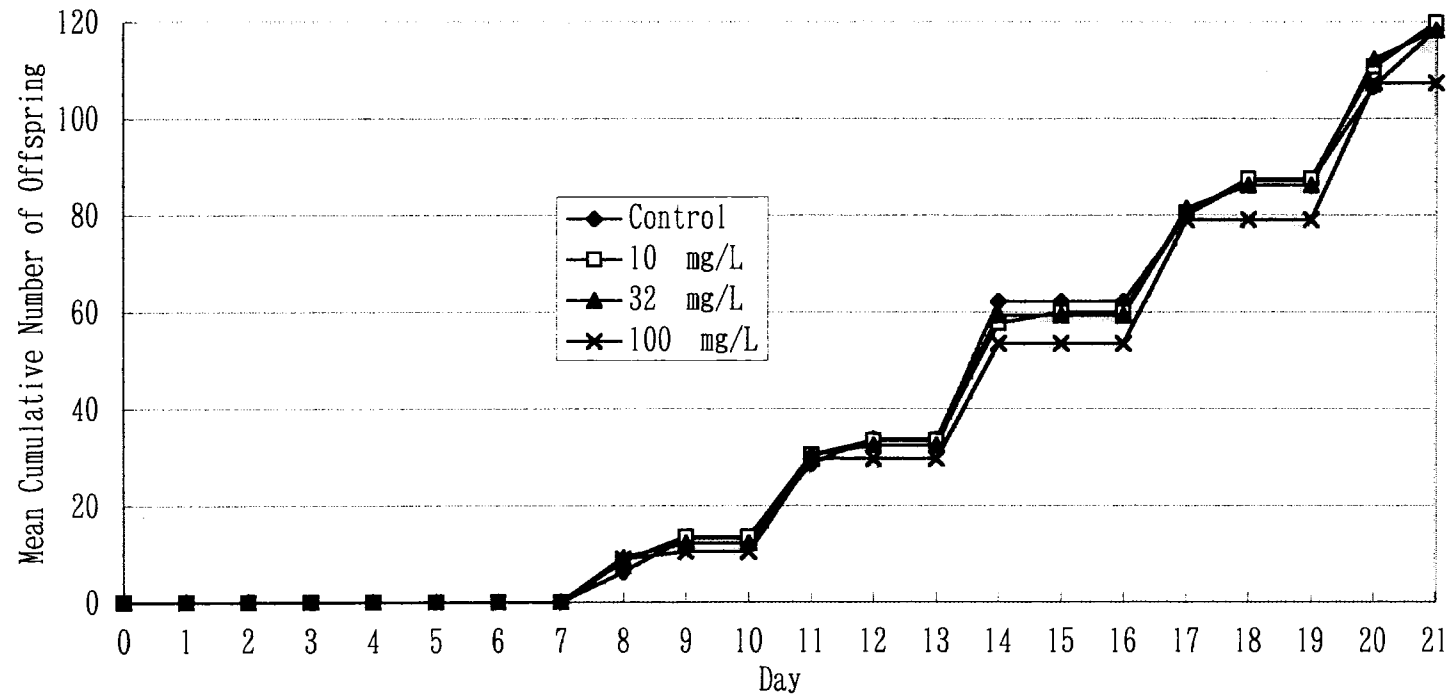


Table 5 Calculated LC50 Values for Parental *Daphnia magna*

Exposure period (day)	LC50 (mg/L)	95% Confidence limit (mg/L)	Statistical method
21	>100	–	–

Table 6 Calculated EC50 Values for Inhibition of Reproduction

Exposure period (day)	EC50 (mg/L)	95% Confidence limit (mg/L)	Statistical method
21	>100	–	–

Table 7 Cumulative numbers of juveniles produced per adult alive for 21days

Vessel No.	Nominal Concentration, mg/L (Measured Concentration, mg/L)			
	Control	10 (10.3)	32 (33.0)	100 (103)
1	122	117	102	103
2	124	102	117	107
3	123	124	111	116
4	120	118	123	121
5	122	127	115	104
6	103	121	119	105
7	115	131	124	108
8	136	126	122	108
9	97	114	123	105
10	123	119	126	97
Mean	118.5	119.9	118.2	107.4
S.D.	11.1	8.1	7.3	6.8
Inhibition ratio (%)		-1.2	0.3	9.4
Significant difference		N.S.	N.S.	N.S.

N.S.: Indicate a no- significant difference by Dunnett multiple comparison procedure

Table 8 Temperature during a 21-day *Daphnia magna* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

		Temperature, °C			
		Nominal Concentration (mg/L)			
days		Control	10	32	100
0	new	21.0	21.0	21.0	21.0
2	old	20.7	20.6	20.6	20.7
9	new	20.6	20.6	20.6	20.6
12	old	20.6	20.5	20.8	20.6
19	new	20.6	20.6	20.6	20.6
21	old	20.3	20.3	20.2	20.2

new : freshly prepared test solution

old : test solutions after 48 ,72 hours exposure

Table 9 Dissolved Oxygen Concentration(D.O.)during a 21-day *Daphnia magna* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

		D.O. (mg/L)			
		Nominal Concentration (mg/L)			
days		Control	10	32	100
0	new	8.6	8.6	8.7	8.6
2	old	8.9	8.9	8.8	8.9
9	new	8.7	8.7	8.6	8.7
12	old	8.6	8.6	8.6	8.5
19	new	8.8	8.8	8.8	8.7
21	old	8.2	8.3	8.3	8.2

new : freshly prepared test solution

old : test solutions after 48-72 hours exposure

Table 10 pH during a 21-day *Daphnia magna* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

pH		Nominal Concentration (mg/L)			
days		Control	10	32	100
0	new	7.7	7.7	7.7	7.7
2	old	7.9	8.0	8.0	7.9
9	new	7.8	7.8	7.8	7.8
12	old	8.0	8.0	8.0	7.9
19	new	7.4	7.4	7.4	7.4
21	old	7.2	7.2	7.3	7.3

new : freshly prepared test solution
old : test solutions after 48-72 hours exposure

Table 11 Total hardness (as CaCO₃) during a 21-day *Daphnia magna* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Total hardness (as CaCO ₃) (mg/L)		Nominal Concentration (mg/L)			
days		Control	10	32	100
0	new	32	31	31	31
2	old	30	29	31	30
9	new	29	30	29	30
12	old	36	35	37	37
19	new	25	25	25	25
21	old	25	27	27	28

new : freshly prepared test solution
old : test solutions after 48-72 hours exposure

付属試料－ 1

希积水の水質

(全 1 頁)

Water Quality of Dilute Water

Parameter	Concentration	
Coliform group bacteria	N. D.	
pH	8.1	-
BOD	<0.5	mg/L
COD	<0.5	mg/L
Mercury	<0.0005	mg/L
Copper	<0.01	mg/L
Cadmium	<0.002	mg/L
Zinc	<0.01	mg/L
Lead	<0.005	mg/L
Aluminium	<0.02	mg/L
Nickel	<0.005	mg/L
Chromium	<0.05	mg/L
Manganese	<0.02	mg/L
Tin	<0.1	mg/L
Iron	<0.1	mg/L
Cyanide	<0.1	mg/L
Free Chlorine	<0.05	mg/L
Bromide ion	<0.2	mg/L
Fluoride	0.04	mg/L
Sulfide ion	<0.5	mg/L
Ammonium ion	<0.03	mg/L
Arsenic	<0.005	mg/L
Selenium	<0.005	mg/L
Evaporation residue	61	mg/L
Electric conductivity	7.4	mS/m
Total hardness (as CaCO ₃)	25.8	mg/L
Alkalinity	29.5	mg/L
Sodium	5.6	mg/L
Potassium	1.1	mg/L
Calcium	8.1	mg/L
Magnesium	1.8	mg/L
Total organophosphorous pesticide	<0.003	mg/L
Herbicide Simazine	<0.0003	mg/L
Herbicide Thiobencarb	<0.002	mg/L
Fungicide Thiuram	<0.0006	mg/L

Sampling Date : 1999.02.02

付属試料－2

試験液の分析方法

(全24頁)

ホルムアミドの分析法

(株)クレハ分析センター

1. 試料 : 試験液

化学名及び化学式

ホルムアミド

分子式

: H_3CON

化学式

: HCONH_2

分子量

: 45.04

物理的・化学的性質

性状

: 水に可溶
: 無色透明の液体

2. 分析法

1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ	: L-6000	日立製作所
検出器 (UV)	: L-4000又はL-4200	日立製作所
インテグレーター	: D-2000又はD-2500	日立製作所
メスフラスコ	: 100ml	
マイクロピペッター	: 250、500、1000 μl	
マイクロシリンジ	: 50 μl	

2) 試薬

アセトニトリル	: 試薬 高速液体クロマトグラフ用	和光純薬 (株)
水	: 超純水 Milli-RX12 α	Millipore
りん酸	: 試薬 特級	
ホルムアミド	: 試薬 特級	

3) ホルムアミド標準原液 (1000mg/ml)

ホルムアミド標準品の約0.1gを正秤し、容量100mlのメスフラスコに秤りとり、水を標線まで加える。

4) 高速液体クロマトグラフの操作条件

カラム	: Shim pack LCL-ODS	島津製作所
	150mm×6mm ID	
溶離液	: アセトニトリル:水 (25:75)	
	＋りん酸 (1lに対して0.7ml添加)	
流量	: 1.0ml/min	
検出器	: UV (210nm)	
注入量	: 50 μl	

5) 検量線の作製

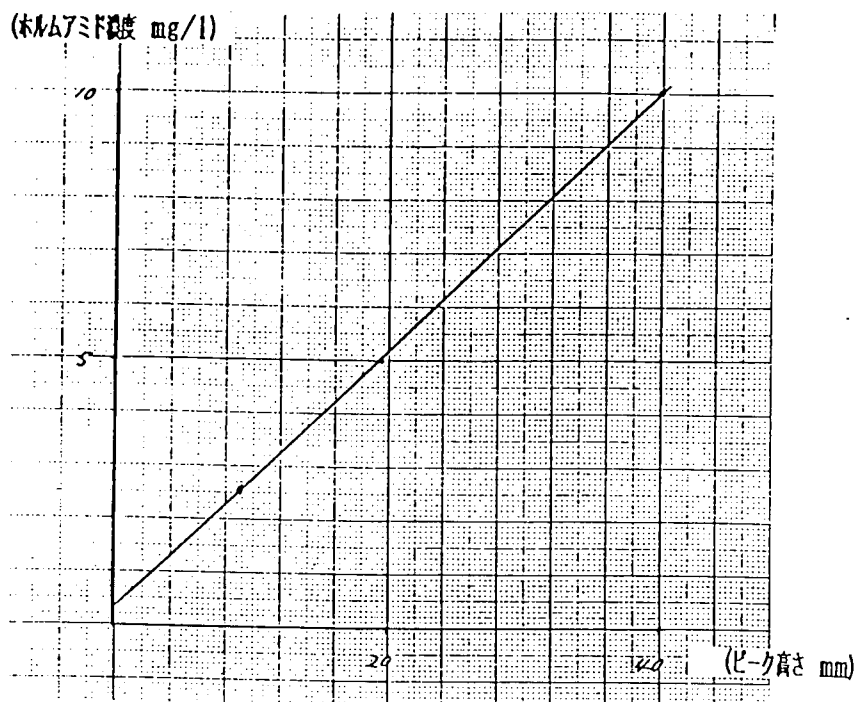
ホルムアミド標準原液に水を加えて希釈し、2.5、5、10mg/lの標準液を調整する。この液50 μl を上記条件の高速液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムをかせ、ピーク高さをノギス (mm) ではかりとる。
濃度を縦軸に、横軸にピークの高さをとり検量線を作成する。

①. 検量線作成

表-1 Input Date

No.	標準溶液濃度 (mg/l)	ピーク高さ (mm)
1	2.515	9.47
2	5.030	19.68
3	10.060	39.94

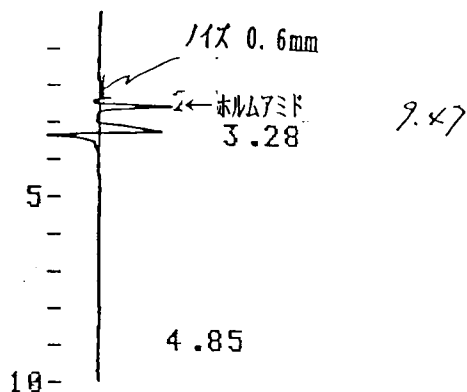
図-1 検量線



②. 検出下限値の計算

図-2 クロマトグラム

CH. 1 C.S 2.515 PPM 5.00 ATT 4 OFFS 0 01/04/99 13:46



- ・ホルムアミド濃度 2.515 mg/l
- ・ホルムアミドのピーク高さ 9.47 mm
- ・ノイズの高さ 0.6 mm

< 計 算 式 >

(S/N=2) としたとき

$$\frac{2 \times 0.6}{9.47} \times 2.515 = 0.3 \text{ (mg/l)}$$

試料液を直接注入できるので
定量下限値は、0.3 (mg/l) となる。

計算により、定量下限値 0.3 mg/l、
よって、定量下限値未満の表示NDは、0.3 mg/l 未満を示す。

6) 分析操作 (例 1000mg/l)

10ml 共栓フラスコに水約5ml をとり、これに、試料溶液の100 μ l をマイクロピペッターではかりとり、水を標線まで加える。
この液を50 μ l を前記条件の高速液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムをかせ、ホルムアミドの保持時間に相当するピークの高さをノギスではかり、検量線より濃度を求める。

尚、検量線は測定日毎に調整し、試料溶液濃度は10mg/l 前後になるように調整することにした。又、傾向的な日内変動(約1割程度の感度変化)が見られるため、検量線調整時に3回程度同じ試験液を注入し確認すると共に、各依頼件毎に検量線を作成後、測定することにした。

2. 添加回収率試験

ホルムアミドの標準原液に水を加えて希釈し、約1~1000mg/l の試験溶液4種類を下記の様に調整し、繰り返し測定を行った結果、若干ばらつきの大きい時があることがわかったが各試験液共に異常値(設定値 \pm 20%)内であることから、測定は可能と考えられる。(各試験試料はn=2で測定した)

表-2 添加回収率試験の測定結果

No	試料濃度 (mg/l)	測定値 (mg/l)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
1	1006	1012.7 1099.4	100.7 109.3	105.0
2	100.6	104.6 98.8	104.0 98.2	101.1
3	10.06	10.7 10.2	106.3 101.4	103.9
4	1.006	1.1 1.1	109.3 109.3	109.3

3. 保存安定性試験

ホルムアミドの標準原液に水を加えて希釈し、約1~1000mg/l の試験溶液4種類を下記の様に調整した。この試験溶液を4℃の冷暗所に保存した時の3日間後の経時測定により保存安定性を求めた結果、いずれの濃度においても顕著な濃度変化は見られなかった。(各試験試料はn=2で測定した)

表-3 保存安定性試験の測定結果

No	試料濃度 (mg/l)	3日後の経時変化濃度 (mg/l)				
		調整時	1日目	2日目	3日目	平均
1	1006	1012.7 1099.4	1021.9 1002.3	1035.4 1031.6	935.0 966.7	1013.2
2	100.6	104.6 98.8	100.4 97.0	103.3 110.1	98.0 100.0	101.5
3	10.06	10.7 10.2	10.2 10.1	10.2 10.4	9.43 9.72	10.2
4	1.006	1.1 1.1	0.83 0.96	0.94 0.88	1.1 1.2	1.03

しかし、ばらつきが若干大きいことがわかったので分析はn=2の平均値を用いることにした。それで、上記データがすべてばらつきと考え、n=2の平均値を用いて算出した場合(表-4)、この方法でのばらつきは、10mg/l 以上は CV=5%以内で問題ないと

思われるが1mg/lは CV=14%程度でばらつきが大きいため異常値（設定値±20%）となった場合はnの数を増やす又は、検量線を再確認することにした。

表-4 保存安定性試験の測定結果（n=2の平均値とそのばらつき）

No	試料濃度 (mg/l)	3日後の経時変化濃度 (mg/l)				
		調整時	1日目	2日目	3日目	平均
1	1006	1056.1	1012.1	1033.5	950.8	1013.2 δ_{n-1} 45.3 CV % 4.5
2	100.6	101.7	98.7	106.7	99.0	101.5 δ_{n-1} 3.7 CV % 3.6
3	10.06	10.5	10.2	10.3	9.72	10.2 δ_{n-1} 0.33 CV % 3.3
4	1.006	1.1	0.90	0.92	1.2	1.03 δ_{n-1} 0.14 CV % 14

図-3 標準溶液の液体クロマトグラム (検量線作成用)

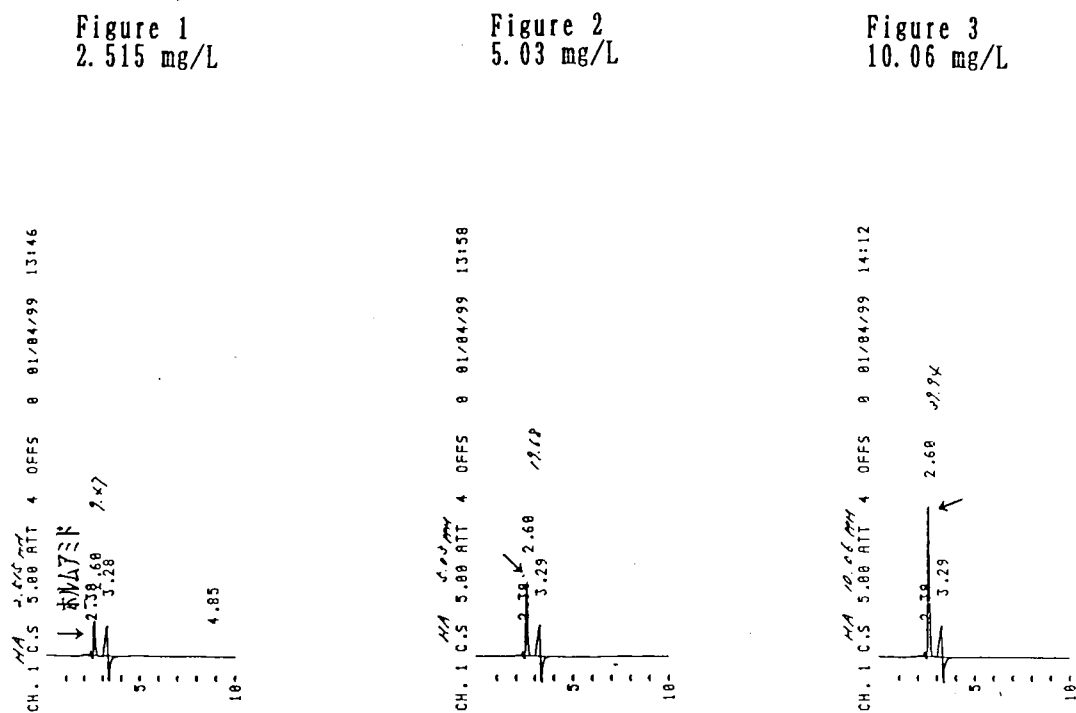


図-4 添加回収率試験の液体クロマトグラム

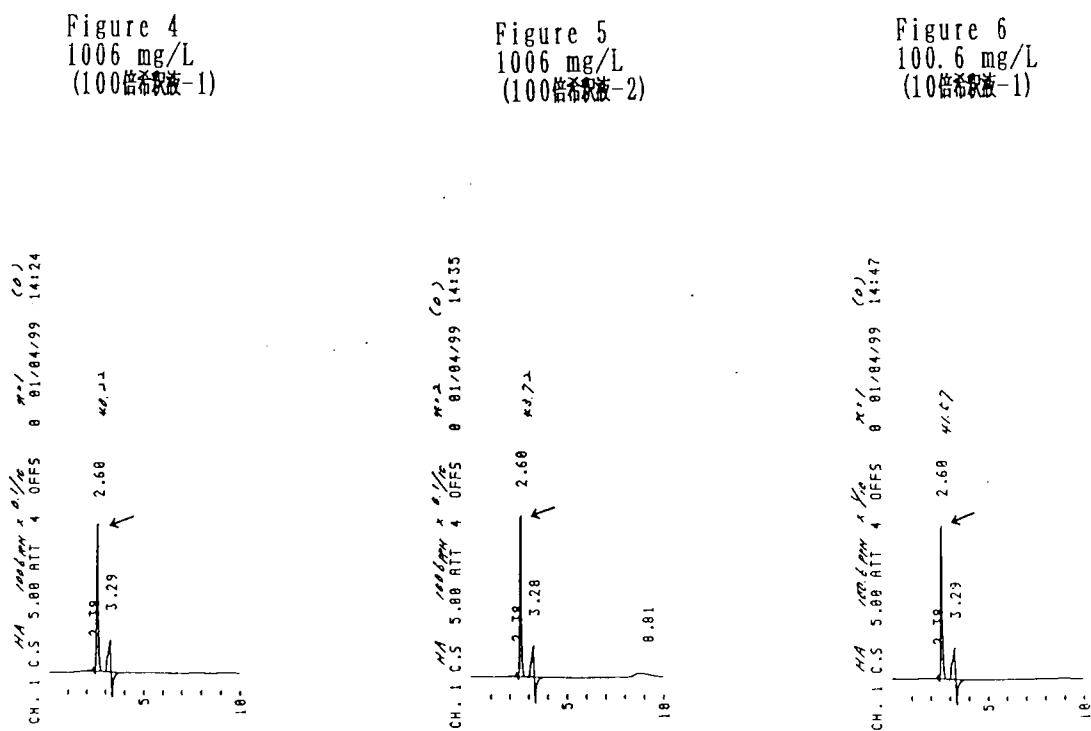


Figure 7
100.6 mg/L
(10.06 mg/L x 10)
(n-2)

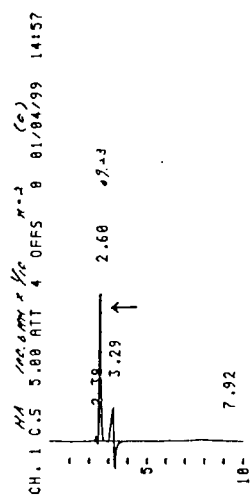


Figure 8
10.06 mg/L
(n-1)

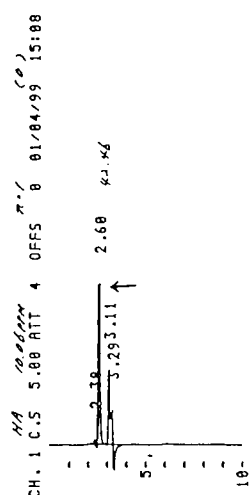


Figure 9
10.06 mg/L
(n-2)

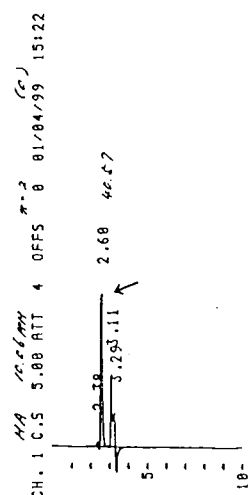


Figure 10
1.006 mg/L
(n-1)

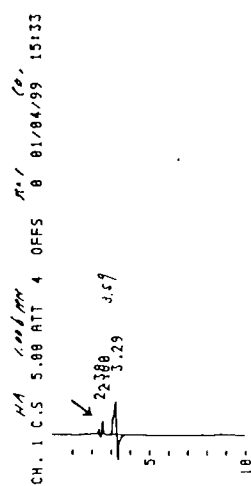


Figure 11
1.006 mg/L
(n-2)

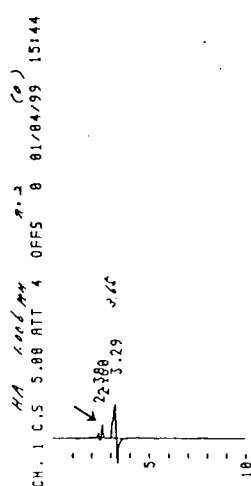


図-5 保存安定性試験の液体クロマトグラム

Figure 12
標準溶液
2.905 mg/L

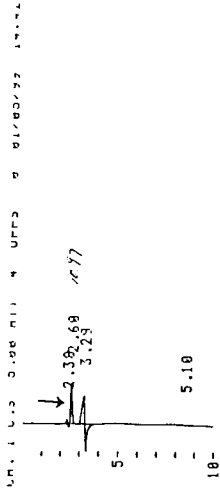


Figure 13
標準溶液
5.81 mg/L

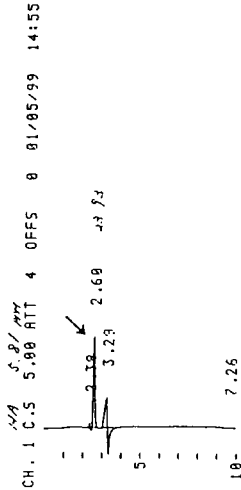


Figure 14
標準溶液
11.62 mg/L

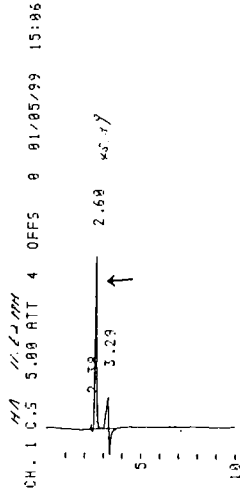


Figure 15
1006 mg/L (1日後)
(100倍希釈液-1)

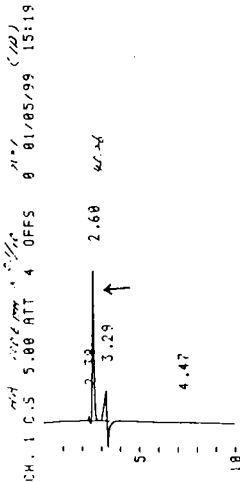


Figure 16
1006 mg/L (1日後)
(100倍希釈液-2)

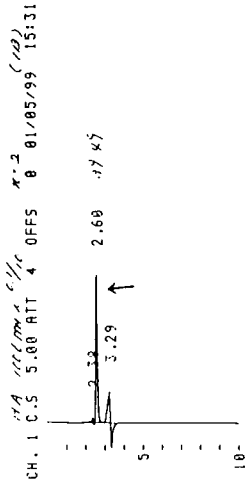


Figure 17
100.6 mg/L (1日後)
(10倍希釈液-1)

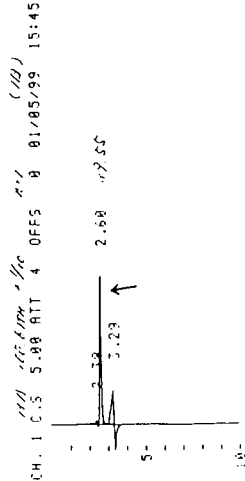


Figure 18
100.6 mg/L (1日後)
(10倍希釈液-2)

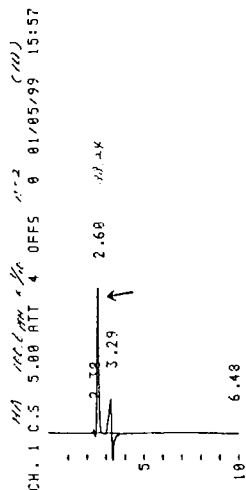


Figure 19
10.06 mg/L (1日後)
(n-1)

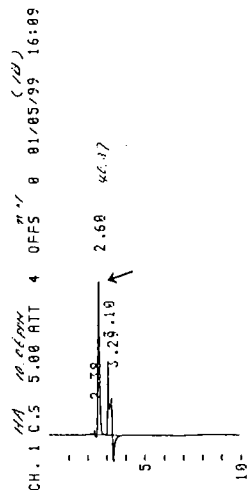


Figure 20
10.06 mg/L (1日後)
(n-2)

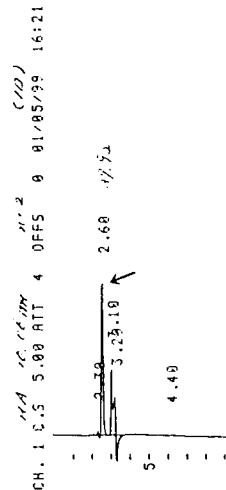


Figure 21
1.006 mg/L (1日後)
(n-1)

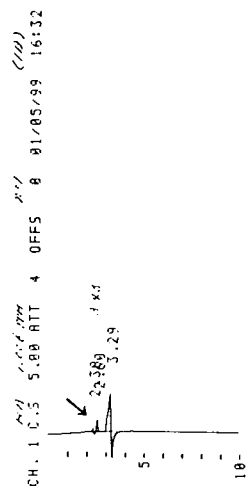


Figure 22
1.006 mg/L (1日後)
(n-2)

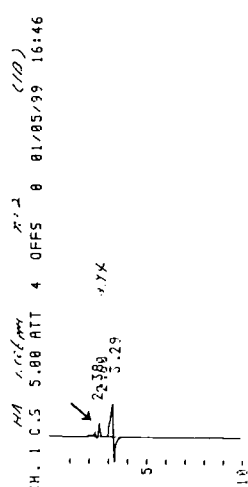


Figure 23
標準溶液
2.955 mg/L

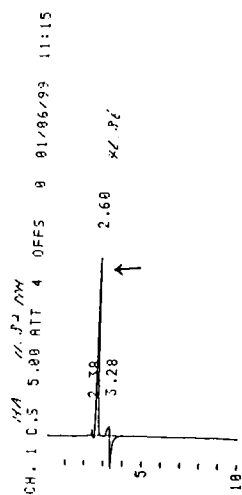


Figure 24
標準溶液
5.91 mg/L

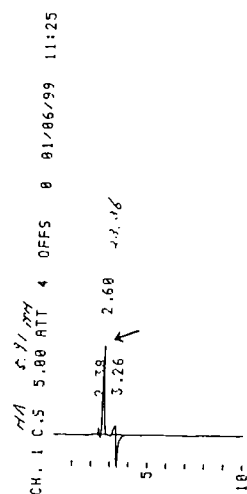


Figure 25
標準溶液
11.82 mg/L

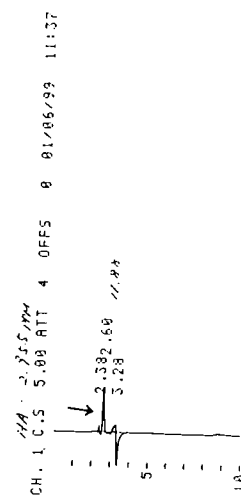


Figure 26
1006 mg/L (2日後)
(100倍希釈液-1)

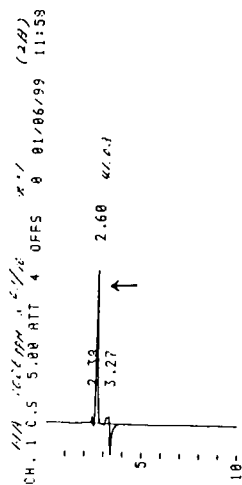


Figure 27
1006 mg/L (2日後)
(100倍希釈液-2)

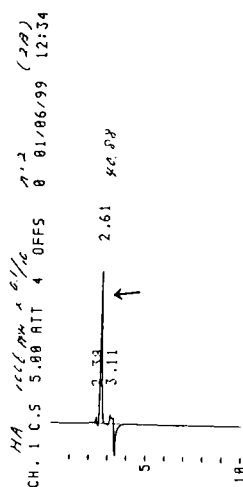


Figure 28
100.6 mg/L (2日後)
(10倍希釈液-1)

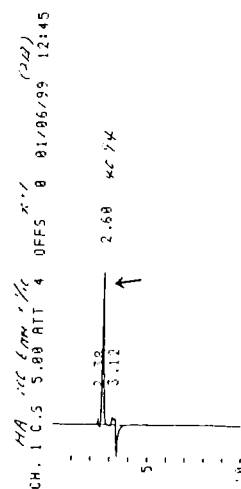


Figure 29
100.6 mg/L (2日後)
(10倍希釈液-2)

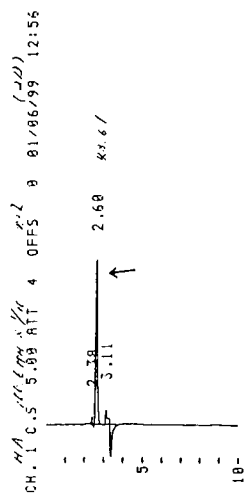


Figure 30
10.06 mg/L (2日後)
(n-1)

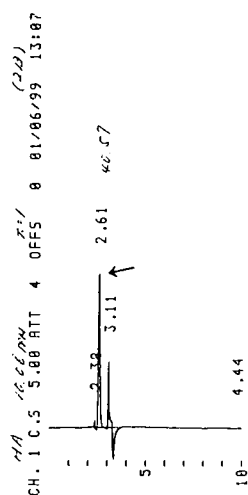


Figure 31
10.06 mg/L (2日後)
(n-2)

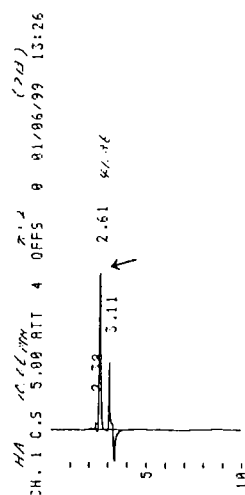


Figure 32
1.006 mg/L (2日後)
(n-1)

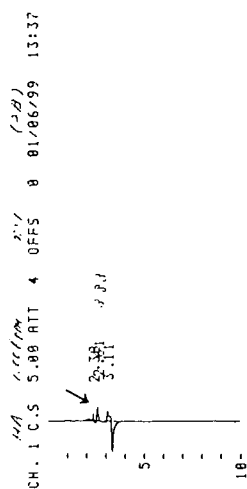


Figure 33
1.006 mg/L (2日後)
(n-2)

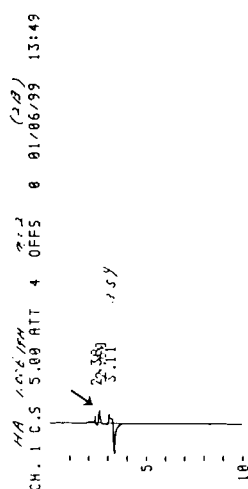


Figure 34
標準溶液
2.725 mg/L

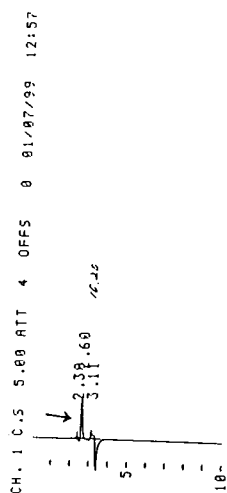


Figure 35
標準溶液
5.46 mg/L

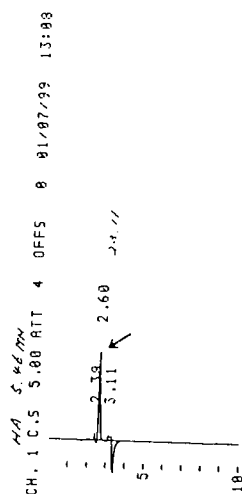


Figure 36
標準溶液
10.92 mg/L

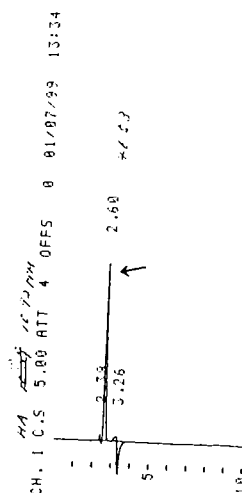


Figure 37
1006 mg/L (3日後)
(100倍希釈液-1)

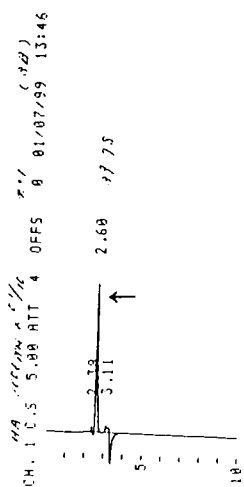


Figure 38
1006 mg/L (3日後)
(100倍希釈液-2)

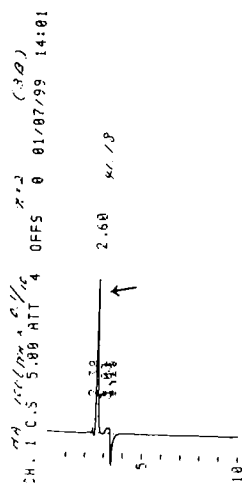


Figure 39
100.6 mg/L (3日後)
(10倍希釈液-1)

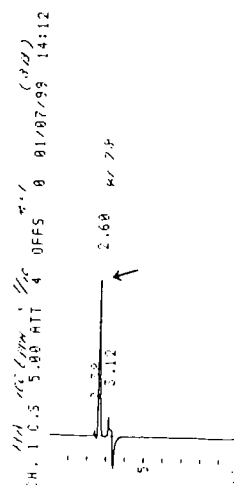


Figure 40
100.6 mg/L (3日後)
(10倍希釈液-2)

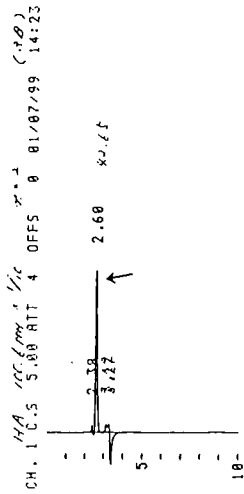


Figure 41
10.06 mg/L (3日後)
(n-1)

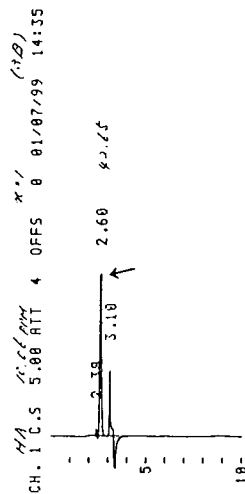


Figure 42
10.06 mg/L (3日後)
(n-2)

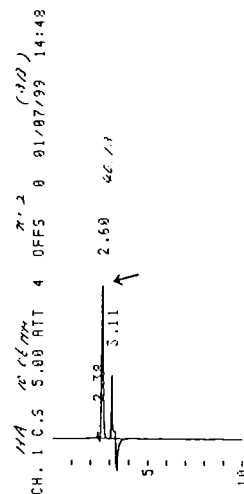


Figure 43
1.006 mg/L (3日後)
(n-1)

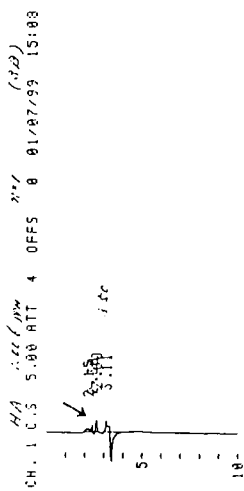
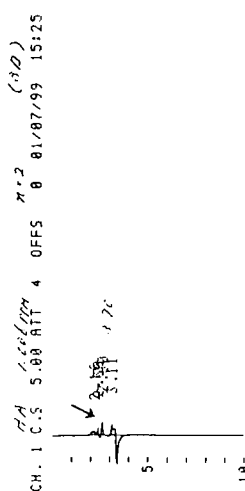


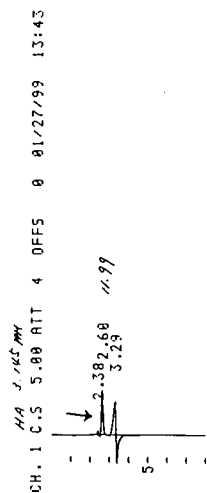
Figure 44
1.006 mg/L (3日後)
(n-2)



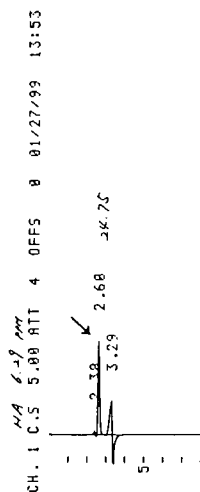
試験結果の液体クロマトグラム

試料名：ホルムアミドのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験
(試験番号：NO1998生-07)

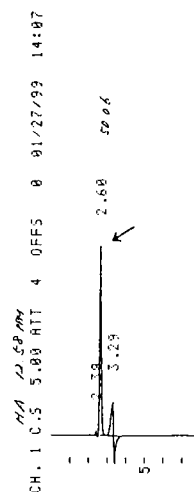
暴露開始時
Figure 45
標準液 3.145 mg/L



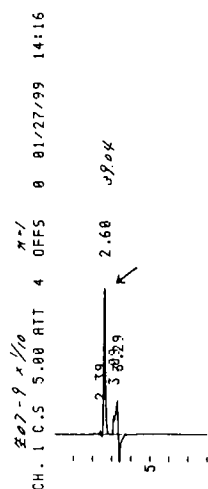
暴露開始時
Figure 46
標準液 6.29 mg/L



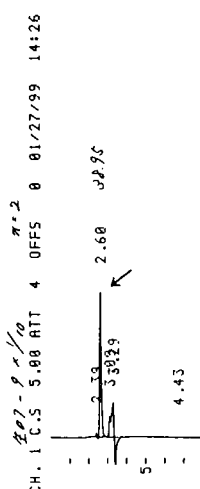
暴露開始時
Figure 47
標準液 12.58 mg/L



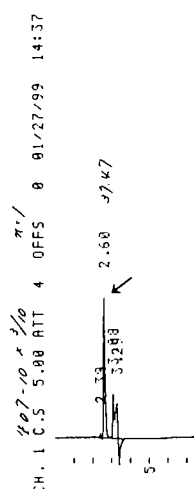
暴露開始時
Figure 48
100 mg/L
生-07-9-1
(10倍希釈液)



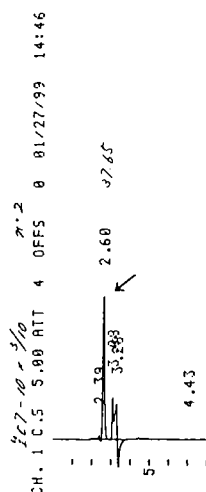
暴露開始時
Figure 49
100 mg/L
生-07-9-2
(10倍希釈液)



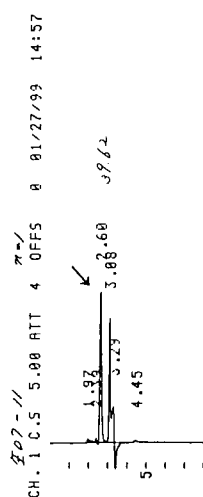
暴露開始時
Figure 50
32 mg/L
生-07-10-1
(3.33倍希釈液)



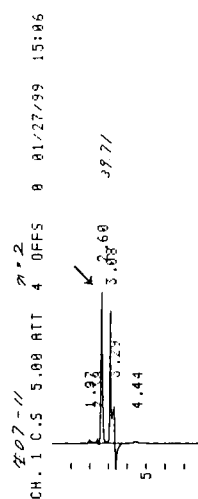
暴露開始時
Figure 51
32 mg/L
生-07-10-2
(3.33倍希釈液)



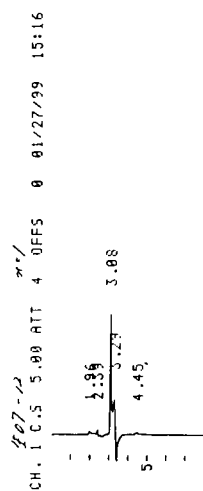
暴露開始時
Figure 52
10 mg/L
生-07-11-1



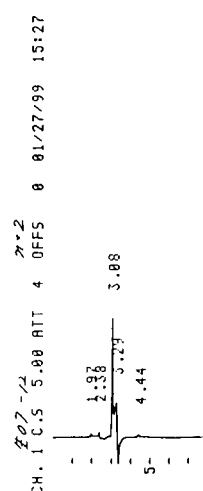
暴露開始時
Figure 53
10 mg/L
生-07-11-2



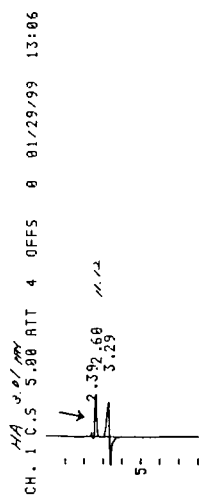
暴露開始時
Figure 54
Control
生-07-12-1



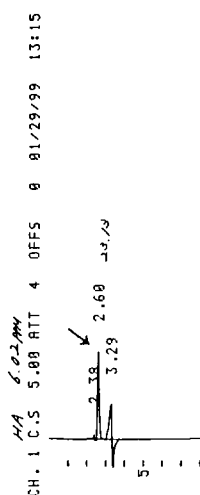
暴露開始時
Figure 55
Control
生-07-12-2



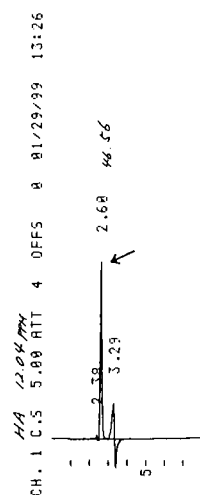
暴露 (48時間換水前)
Figure 56
標準溶液 3.01 mg/L



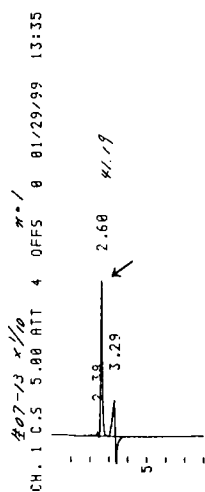
暴露 (48時間換水前)
Figure 57
標準溶液 6.02 mg/L



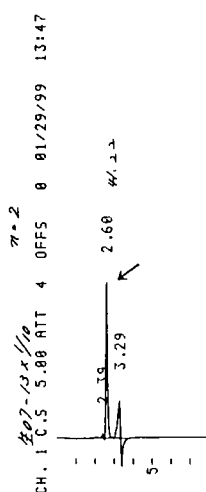
暴露 (48時間換水前)
Figure 58
標準溶液 12.04 mg/L



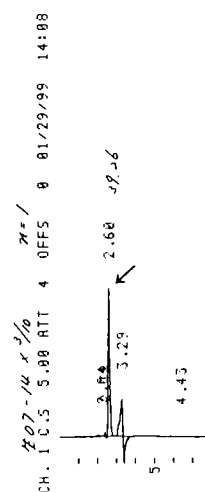
暴露 (48時間換水前)
Figure 59
100 mg/L
生-07-13-1
(10倍希釈液)



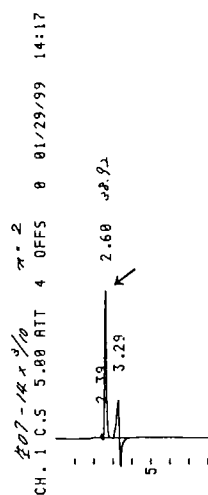
暴露 (48時間換水前)
Figure 60
100 mg/L
生-07-13-2
(10倍希釈液)



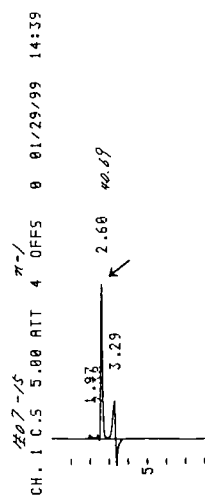
暴露 (48時間換水前)
Figure 61
32 mg/L
生-07-14-1
(3.33倍希釈液)



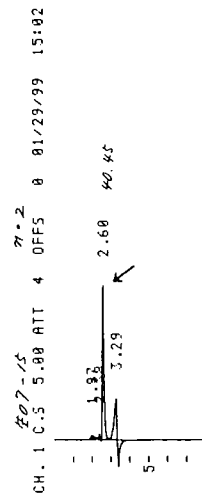
暴露 (48時間換水前)
Figure 62
32 mg/L
生-07-14-2
(3.33倍希釈液)



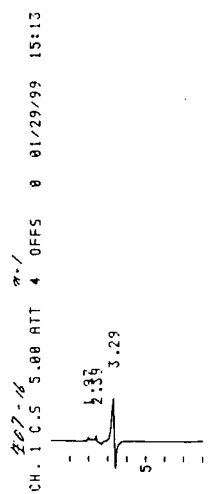
暴露 (48時間換水前)
Figure 63
10 mg/L
生-07-15-1



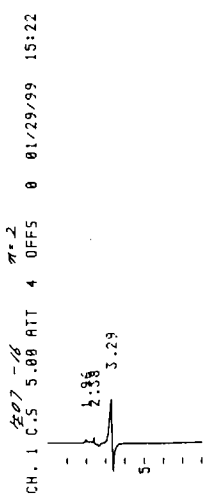
暴露 (48時間換水前)
Figure 64
10 mg/L
生-07-15-2



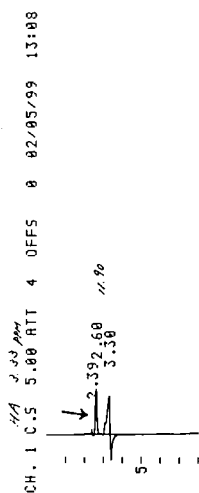
暴露 (48時間換水前)
Figure 65
Control
生-07-16-1



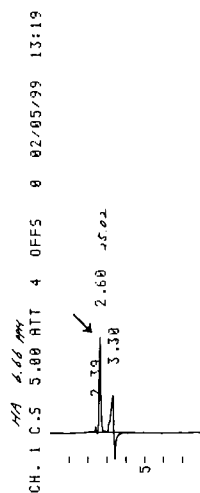
暴露 (48時間換水前)
Figure 66
Control
生-07-16-2



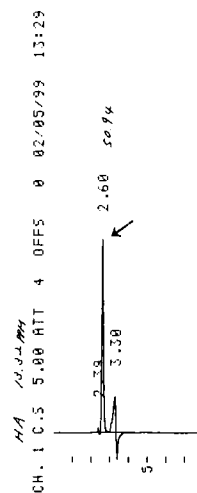
暴露 (第二週換水後)
Figure 67
標準溶液 3.01 mg/L



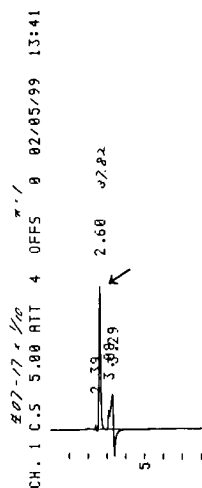
暴露 (第二週換水後)
Figure 68
標準溶液 6.02 mg/L



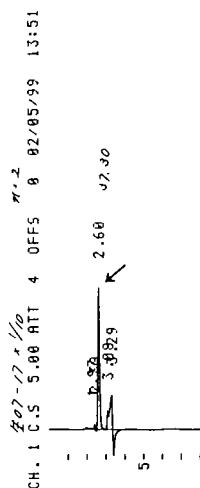
暴露 (第二週換水後)
Figure 69
標準溶液 12.04 mg/L



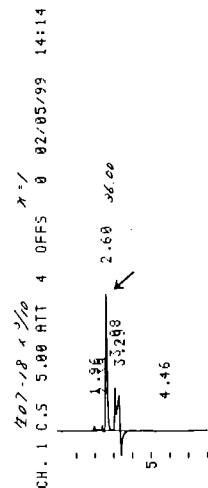
暴露 (第二週換水後)
Figure 70
100 mg/L
生-07-17-1
(10倍希釈液)



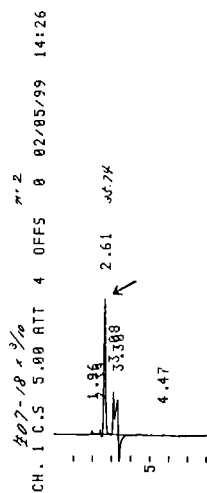
暴露 (第二週換水後)
Figure 71
100 mg/L
生-07-17-2
(10倍希釈液)



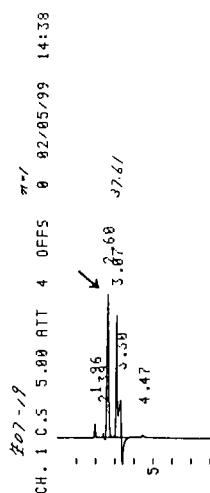
暴露 (第二週換水後)
Figure 72
32 mg/L
生-07-18-1
(3.33倍希釈液)



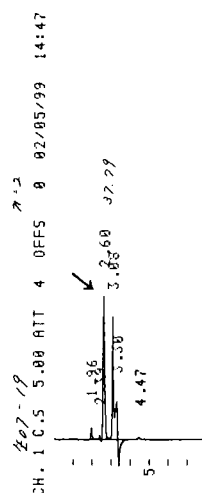
暴露 (第二週換水後)
Figure 73
32 mg/L
生-07-18-2
(3.33倍希釈液)



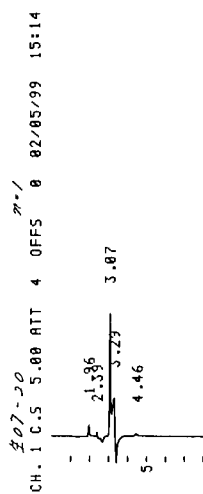
暴露 (第二週換水後)
Figure 74
10 mg/L
生-07-19-1



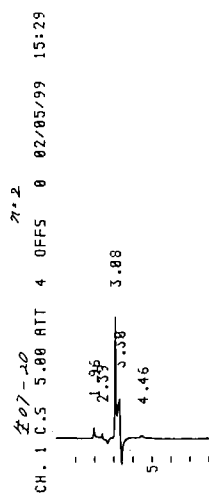
暴露 (第二週換水後)
Figure 75
10 mg/L
生-07-19-2



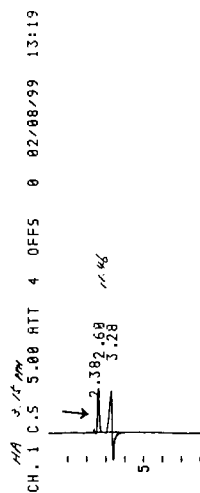
暴露 (第二週換水後)
Figure 76
Control
生-07-20-1



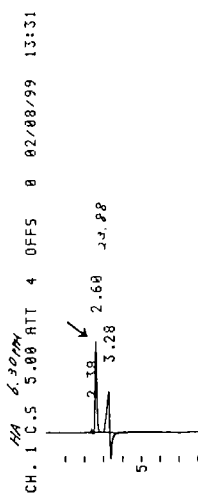
暴露 (第二週換水後)
Figure 77
Control
生-07-20-2



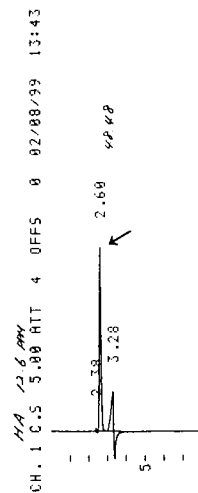
暴露 (第二週換水前)
Figure 78
標準溶液 3.01 mg/L



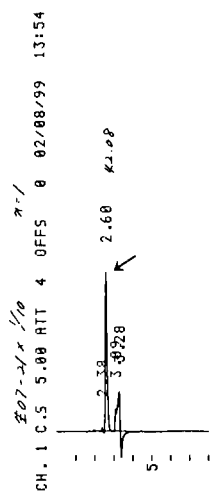
暴露 (第二週換水前)
Figure 79
標準溶液 6.02 mg/L



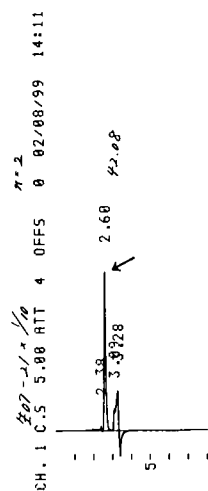
暴露 (第二週換水前)
Figure 80
標準溶液 12.04 mg/L



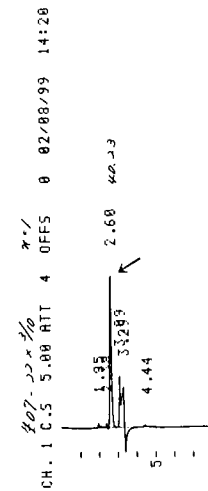
暴露 (第二週換水前)
Figure 81
100 mg/L
生-07-21-1
(10倍希釈液)



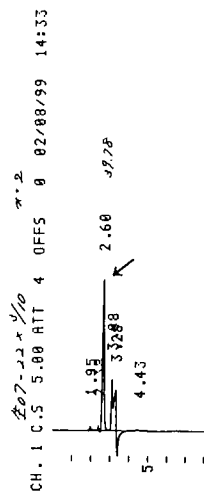
暴露 (第二週換水前)
Figure 82
100 mg/L
生-07-21-2
(10倍希釈液)



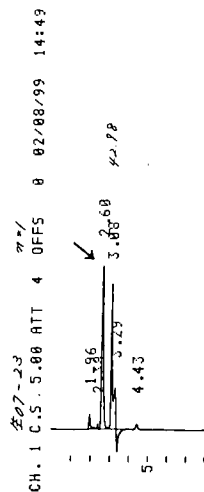
暴露 (第二週換水前)
Figure 83
32 mg/L
生-07-22-1
(3.33倍希釈液)



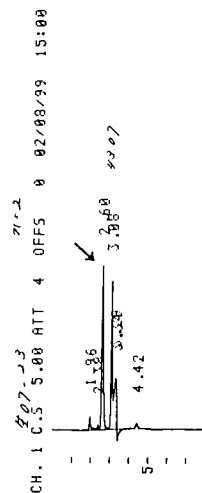
暴露 (第二週換水前)
Figure 84
32 mg/L
生-07-22-2
(3.33倍稀释液)



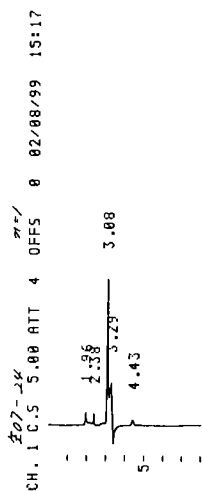
暴露 (第二週換水前)
Figure 85
10 mg/L
生-07-23-1



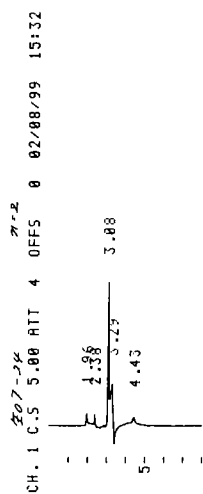
暴露 (第二週換水前)
Figure 86
10 mg/L
生-07-23-2



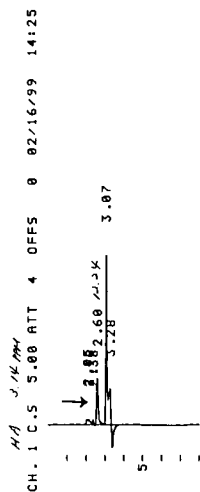
暴露 (第二週換水前)
Figure 88
Control
生-07-24-1



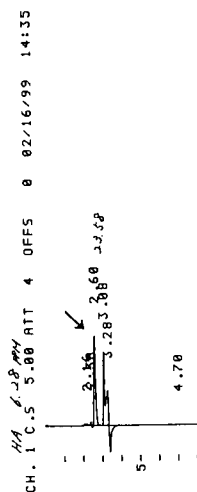
暴露 (第二週換水前)
Figure 89
Control
生-07-24-2



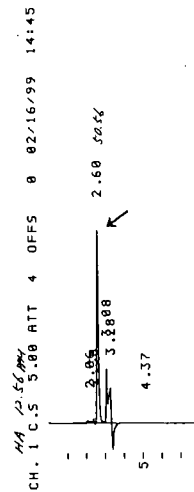
暴露 (第三週換水後)
Figure 90
標準稀液 3.14 mg/L



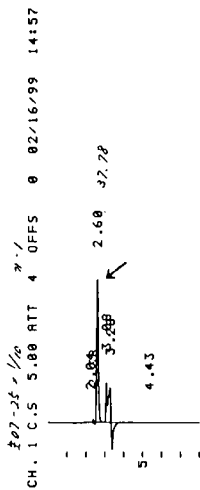
暴露 (第三週換水後)
Figure 91
標準稀液 6.28 mg/L



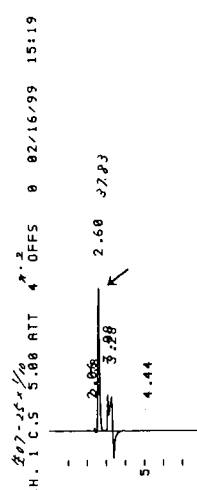
暴露 (第三週換水後)
Figure 92
標準稀液 12.56 mg/L



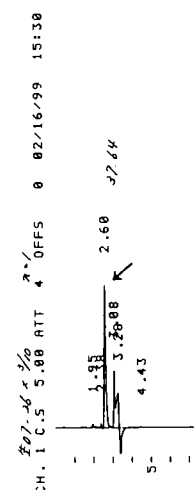
暴露 (第三週換水後)
Figure 93
100 mg/L
生-07-25-1
(10倍希釈液)



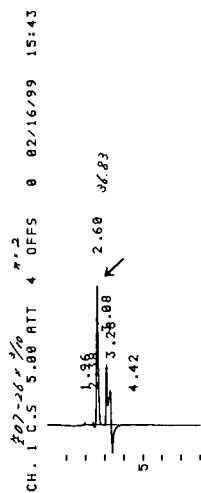
暴露 (第三週換水後)
Figure 94
100 mg/L
生-07-25-2
(10倍希釈液)



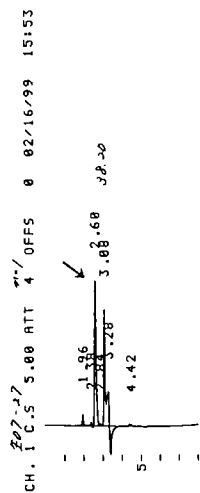
暴露 (第三週換水後)
Figure 95
32 mg/L
生-07-26-1
(3.33倍希釈液)



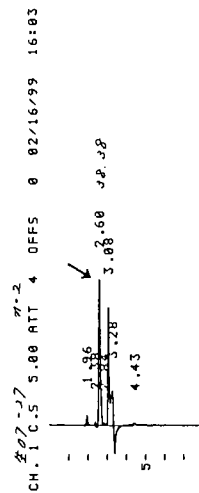
暴露 (第三週換水後)
Figure 96
32 mg/L
生-07-26-2
(3.33倍希釈液)



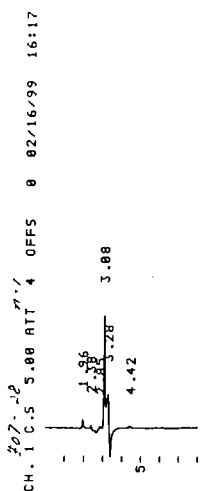
暴露 (第三週換水後)
Figure 97
10 mg/L
生-07-27-1



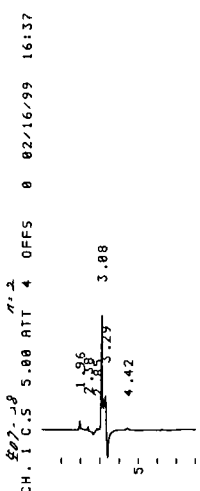
暴露 (第三週換水後)
Figure 98
10 mg/L
生-07-27-2



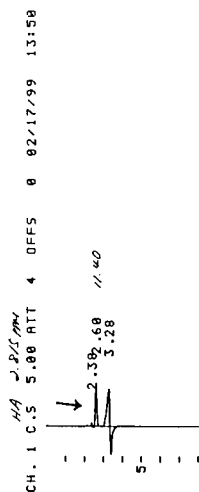
暴露 (第三週換水後)
Figure 99
Control
生-07-28-1



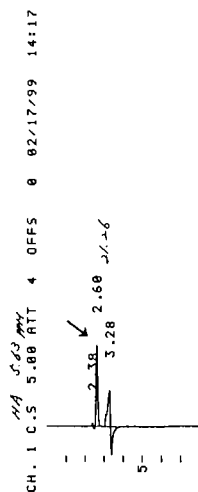
暴露 (第三週換水後)
Figure 100
Control
生-07-28-2



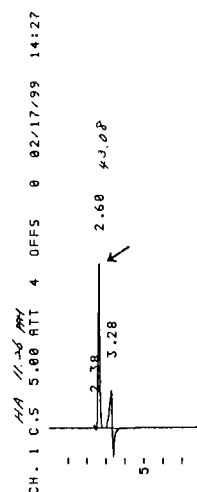
暴露終了時
Figure 101
標準溶液 3.14 mg/L



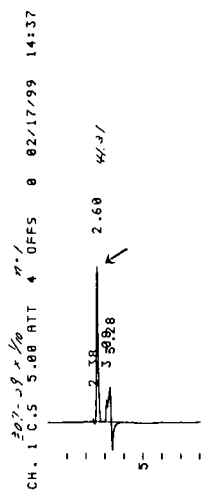
暴露終了時
Figure 102
標準溶液 6.28 mg/L



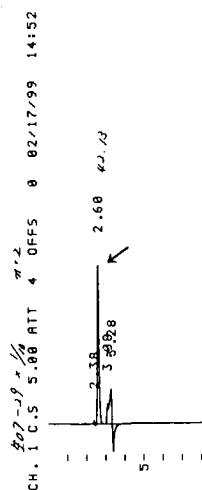
暴露終了時
Figure 103
標準溶液 12.56 mg/L



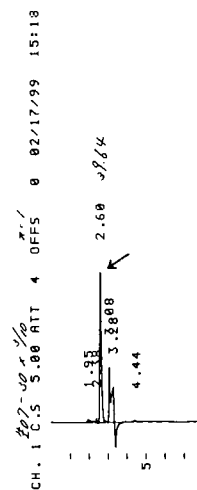
暴露終了時
Figure 104
100 mg/L
生-07-29-1
(10倍希釈液)



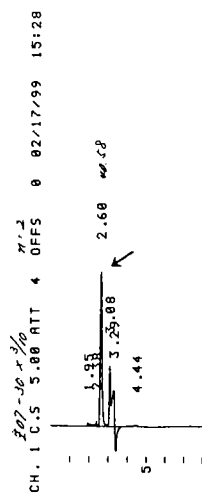
暴露終了時
Figure 105
100 mg/L
生-07-29-2
(10倍希釈液)



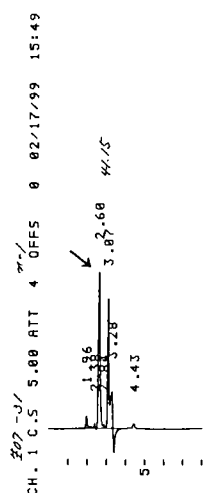
暴露終了時
Figure 106
32 mg/L
生-07-30-1
(3.33倍希釈液)



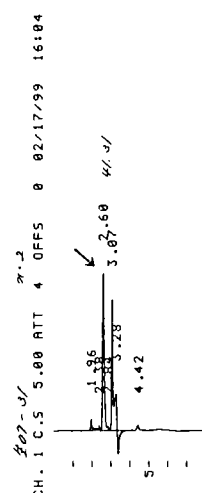
暴露終了時
Figure 107
32 mg/L
生-07-30-2
(3.33倍希釈液)



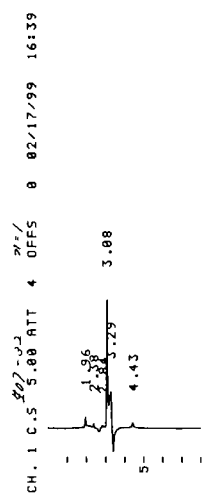
暴露終了時
Figure 108
10 mg/L
生-07-31-1



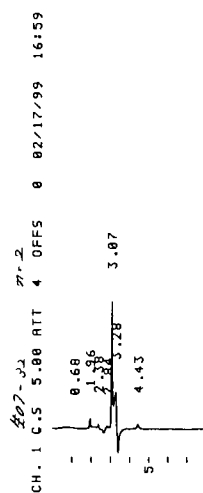
暴露終了時
Figure 109
10 mg/L
生-07-31-2



暴露終了時
Figure 110
Control
生-07-32-1



暴露終了時
Figure 111
Control
生-07-32-2



付属試料－3

ミジンコの観察結果

(全4頁)

Appendix 3-1 Result of Reproduction Test

(Test Chemical : Formamide)

Control

Rep. No.	Time																						
	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14	2/15	2/16	2/17		
	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d	Total	
1	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	20	0	0	28	0	0	26	0	0	34	0	122
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	34	34	34	62	62	62	88	88	88	122	122	122
2	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	24	0	0	25	0	0	28	0	0	34	0	124
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	37	37	37	62	62	62	90	90	90	124	124	124
3	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	16	0	0	30	0	0	27	0	0	36	0	123
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	30	30	30	60	60	60	87	87	87	123	123	123
4	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	21	0	30	0	0	0	23	0	0	33	120
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	34	34	64	64	64	64	87	87	87	120	120
5	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	22	3	0	30	0	0	23	0	0	0	30	122
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	36	39	39	69	69	69	92	92	92	92	122	122
6	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	4	8	0	25	0	0	0	22	0	0	29	103
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	19	27	27	52	52	52	52	74	74	74	103	103
7	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	19	0	30	0	0	0	26	0	0	27	115
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	32	32	62	62	62	62	88	88	88	115	115
8	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	28	0	0	29	0	0	30	0	0	35	0	136
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	42	42	42	71	71	71	101	101	101	136	136	136
9	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	19	0	0	23	0	0	17	0	0	28	0	97
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	29	29	29	52	52	52	69	69	69	97	97	97
10	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	23	0	0	33	0	0	28	0	0	28	0	123
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	34	34	34	67	67	67	95	95	95	123	123	123

The time (days) to first brood: 1: 8 days, 2: 9 days, 3: 9 days, 4: 9 days, 5: 8 days,
6: 9 days, 7: 9 days, 8: 8 days, 9: 8 days, 10: 8 days.

Appendix 3-2 Result of Reproduction Test

(Test Chemical : Formanide)

10 mg/L

Rep. No.	Time																					Total	
	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14	2/15	2/16	2/17		
	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d		
1	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	5	8	0	21	0	0	23	0	0	6	22	0	0	32	117
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	5	13	13	34	34	34	57	57	57	63	85	85	85	117	117
2	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	12	0	26	0	0	0	24	0	0	26	102
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	26	26	52	52	52	52	76	76	76	102	102
3	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	15	0	0	31	0	0	30	0	0	34	0	124
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	29	29	29	60	60	60	90	90	90	124	124	124
4	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	24	0	0	25	0	0	24	0	0	34	0	118
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	35	35	35	60	60	60	84	84	84	118	118	118
5	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	21	0	0	29	0	0	31	0	0	32	0	127
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	35	35	35	64	64	64	95	95	95	127	127	127
6	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	17	0	0	24	0	0	26	0	0	34	121
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	37	37	37	61	61	61	87	87	87	121	121
7	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	25	0	0	29	0	0	32	0	0	33	0	131
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	37	37	37	66	66	66	98	98	98	131	131	131
8	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	25	0	0	27	0	0	23	0	0	37	0	126
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	39	39	39	66	66	66	89	89	89	126	126	126
9	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	19	0	0	27	0	0	30	0	0	28	0	114
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	29	29	29	56	56	56	86	86	86	114	114	114
10	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---	
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	4	9	0	20	0	0	25	0	0	28	0	0	33	0	119
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	4	13	13	33	33	33	58	58	58	86	86	86	119	119	119

The time (days) to first brood:

1:	8 days,	2:	9 days,	3:	8 days,	4:	8 days,	5:	8 days,
6:	9 days,	7:	8 days,	8:	8 days,	9:	8 days,	10:	8 days,

Appendix 3-3 Result of Reproduction Test

(Test Chemical : Formamide)

32 mg/L

Rep. No.		Time																				Total
		1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14	2/15	2/16	
		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	
1	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	17	0	21	0	0	0	24	0	0	30
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	27	27	48	48	48	48	72	72	72	102
2	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	16	0	0	28	0	0	26	0	0	35	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	28	28	28	56	56	56	82	82	82	117	117
3	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	16	0	0	24	0	0	28	0	0	30	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	29	29	29	53	53	53	81	81	81	111	111
4	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	23	0	0	28	0	0	26	0	0	34	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	35	35	35	63	63	63	89	89	89	123	123
5	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	7	8	0	11	2	0	30	0	0	2	25	0	0	30
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	7	15	15	26	28	28	58	58	58	60	85	85	85	115
6	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	24	0	0	24	0	0	27	0	0	32	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	36	36	36	60	60	60	87	87	87	119	119
7	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	24	0	0	28	0	0	26	0	0	32	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	38	38	38	66	66	66	92	92	92	124	124
8	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	24	0	0	29	0	0	26	0	0	33	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	34	34	34	63	63	63	89	89	89	122	122
9	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	20	0	0	30	0	0	30	0	0	31	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	32	32	32	62	62	62	92	92	92	123	123
10	P generation Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	25	0	0	27	0	0	30	0	0	32	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	37	37	37	64	64	64	94	94	94	126	126

The time (days) to first brood:

1: 9 days.

2: 8 days.

3: 8 days.

4: 8 days.

5: 8 days.

6: 9 days.

7: 8 days.

8: 8 days.

9: 8 days.

10: 8 days.

Appendix 3-4 Result of Reproduction Test

(Test Chemical : Formamide)

100 mg/L

Rep. No.			Time																					
			1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14	2/15	2/16	2/17	
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d	Total
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	15	0	0	24	0	0	27	0	0	26	0	103
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	26	26	26	50	50	50	77	77	77	103	103	103
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	20	0	0	24	0	0	26	0	0	28	0	107
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	29	29	29	53	53	53	79	79	79	107	107	107
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	21	0	0	25	0	0	28	0	0	29	0	116
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	34	34	34	59	59	59	87	87	87	116	116	116
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	3	6	0	18	0	0	33	0	0	28	0	0	33	0	121
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	9	9	27	27	27	60	60	60	88	88	88	121	121	121
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	19	0	0	22	0	0	26	0	0	28	0	104
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	28	28	28	50	50	50	76	76	76	104	104	104
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	19	0	0	23	0	0	25	0	0	26	0	105
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	31	31	31	54	54	54	79	79	79	105	105	105
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	21	0	0	25	0	0	22	0	0	28	0	108
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	33	33	33	58	58	58	80	80	80	108	108	108
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	20	0	0	12	0	0	30	0	0	33	0	108
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	33	33	33	45	45	45	75	75	75	108	108	108
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	18	0	0	27	0	0	24	0	0	29	0	105
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	25	25	25	52	52	52	76	76	76	105	105	105
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	---
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	22	0	0	23	0	0	19	0	0	24	0	97
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	31	31	31	54	54	54	73	73	73	97	97	97

The time (days) to first brood:

1: 8 days, 2: 9 days, 3: 8 days, 4: 8 days, 5: 8 days,
6: 8 days, 7: 8 days, 8: 8 days, 9: 8 days, 10: 8 days.

最終報告書修正書

試験名：ホルムアミドのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号： 1998-生07

該当するページ： p-7

① p-7

修正する項目等：

訂正または追加前の内容（____部分の修正）

結果


5) 21日間の最小無作用濃度（LOEC）：求められなかった。

訂正または追加後の内容

結果

5) 21日間の最小作用濃度（LOEC）：求められなかった。

訂正または追加の理由： 記載ミス

試験責任者氏名：  承認月日 2002年3月29日