CERI

2018 年 5 月 31 日

品質保証書

一般財団法人化学物質評価研究機構
久留米事業所

1．依頼者　山一化学工業株式会社

2．試料名　バイオハクリ X-WB

3．件　名　土木鋼構造物用塗膜剥離剤ガイドライン（案）改訂第 2 版（ISSN 0386-5878、土木研究所資料第 4354 号、平成 29 年 3 月）に規定された塗膜剥離剤の品質及び塗膜剥離剤を用いた塗膜除去工法の品質における安全性項目の魚毒性に関する適合確認試験

4．結　果　魚毒性試験（試験番号 98202、2018 年 5 月発行）の結果、魚毒性性の基準値を満たすことが確認された。

塗膜剥離剤の品質

性能	項目	基準値	試験結果	試験方法
安全性	魚毒性	96 時間 LC_{50} が 10 ppm より大きいこと	96 時間 LC_{50} >1000 mg/L	4.4 による※

塗膜剥離剤を用いた塗膜除去工法の品質

性能	項目	基準値	試験結果	試験方法
安全性	魚毒性	96 時間 LC_{50} が 10 ppm より大きいこと	96 時間 LC_{50} >1000 mg/L	4.4 による※

※土木鋼構造物用塗膜剥離剤ガイドライン（案）改訂第 2 版（ISSN 0386-5878、土木研究所資料第 4354 号、平成 29 年 3 月）付属資料 1 土木鋼構造物用塗膜剥離剤およびこれを用いた塗膜除去工法の品質規格（暫定案）

以上

CERI

試験計画書からの逸脱 1

一般財団法人化学物質評価研究機構
久留米事業所

1. 試験の表題（試験番号）

バイオハクリ X-WB のヒメダカを用いる 96 時間急性毒性試験（98202）

2. 逸脱箇所

14.3　試験液の調製法　　（6 頁）（理由及び内容は別紙参照）

3. 試験の信頼性と完全性に及ぼす影響

試験計画書の記載ミスであり試験液調製に試験容器を用いる必要は無いため、試験の信頼性と完全性に及ぼす影響はないと考えられる。

4. 承　認

2018 年 5 月 31 日

試験責任者　久樂裔

別紙

逸脱箇所　14.3　試験液の調製法　（6 頁）

逸脱理由

紛らわしい表現により記載の誤りに気がつかなかったため

逸脱内容

試験計画書では、試験液の調製に用いる容器を「試験容器」と記載していたが、実際には「調製容器」を使用して試験液の調製を実施した。

CERI

受付番号	662-17-E-8202
試験番号	98202

最　終　報　告　書

バイオハクリ X-WB のヒメダカを用いる 96 時間急性毒性試験

2018 年 5 月

一般財団法人化学物質評価研究機構
久留米事業所

本文書は正本を正確に転写したものです。
一般財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所
2018 年 5 月 31 日
試験責任者 久樂喬

陳　述　書

一般財団法人化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者　　山一化学工業株式会社

試験の表題　　バイオハクリ X-WB のヒメダカを用いる 96 時間急性毒性試験

試験番号　　98202

上記試験は以下の GLP に従って実施したものである。

a) 「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 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 8 号、平成 23・03・29 製局第 6 号、環保企発第 110331010 号）に定める「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」

b) OECD Principles of Good Laboratory Practice, November 26, 1997, ENV/MC/CHEM (98)17

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認した。

2018 年 5 月 31 日

試験責任者　　久樂喬

信頼性保証書

一般財団法人化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者: 山一化学工業株式会社

試験の表題: バイオハクリX-WBのヒメダカを用いる96時間急性毒性試験

試験番号: 98202

本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証する。
なお、監査又は査察の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告した。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日
試験計画書	2018 年 5 月 2 日	2018 年 5 月 2 日
指摘事項への回答確認（試験計画書）	2018 年 5 月 7 日	2018 年 5 月 7 日
試験液の調製	2018 年 5 月 7 日	2018 年 5 月 7 日
暴露開始時	2018 年 5 月 7 日	2018 年 5 月 7 日
暴露開始後	2018 年 5 月 11 日	2018 年 5 月 11 日
生データ、最終報告書草案	2018 年 5 月 28 日	2018 年 5 月 28 日
試験計画書からの逸脱1	2018 年 5 月 31 日	2018 年 5 月 31 日
最終報告書	2018 年 5 月 31 日	2018 年 5 月 31 日

2018年 5 月 31 日

信頼性保証部門担当者 堀 匡四郎

目　次

頁

1. 表　題 6
2. 試験委託者 6
3. 試験施設 6
4. 試験目的 6
5. 試験法 6
6. GLP 基準 6
7. 動物愛護 7
8. 試験日程 7
9. 試資料の保管 7
10. 試験関係者 7
11. 最終報告書の承認 7
12. 要　約 8
13. 試験材料 10
    13.1 被験物質 10
    13.2 試験生物 10
14. 試験の実施 11
    14.1 試験用水 11
    14.2 試験器具及び装置 11
    14.3 試験液の調製法 11
    14.4 試験条件 12
    14.5 観察及び測定 12
    14.6 LC_{50} の算出法 12
    14.7 試験の有効性 13
    14.8 数値の取扱い 13
15. 試験結果及び考察 13
    15.1 死亡率 13
    15.2 一般状態等の観察結果 13
    15.3 試験生物の大きさ 13
    15.4 試験液の観察と測定結果 13
    15.5 LC_{50} 13
    15.6 考　察 13
16. 結　論 14
17. 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 14
18. 試験計画書から逸脱した事項 14

Tables

Table 1 Cumulative mortality 15
Table 2 Observed abnormal response 15
Table 3-1 Dissolved oxygen concentration of test solutions 16
Table 3-2 pH of test solutions 16
Table 3-3 Temperature of test solutions 17
Table 4 LC_{50} to Medaka 17

Appendix 試験用水の水質
Additional data 予備試験結果

1. 表　題

バイオハクリ X-WB のヒメダカを用いる 96 時間急性毒性試験

2. 試験委託者

名　称　　山一化学工業株式会社

所在地　　〒110-0005　東京都台東区上野 3-24-6 上野フロンティアタワー15 階

3. 試験施設

名　称　　一般財団法人化学物質評価研究機構　久留米事業所

所在地　　〒839-0801　福岡県久留米市宮ノ陣三丁目 2 番 7 号

4. 試験目的

土木鋼構造物用塗膜剥離剤ガイドライン（案）改訂第 2 版（ISSN 0386-5878、土木研究所資料第 4354 号、平成 29 年 3 月）に規定された塗膜剥離剤の品質及び塗膜剥離剤を用いた塗膜除去工法の品質における安全性項目の魚毒性の基準値をバイオハクリ X-WB が満たすことを確認する。

5. 試験法

土木鋼構造物用塗膜剥離剤ガイドライン（案）改訂第 2 版（ISSN 0386-5878、土木研究所資料第 4354 号、平成 29 年 3 月）付属資料 1 土木鋼構造物用塗膜剥離剤およびこれを用いた塗膜除去工法の品質規格（暫定案）の 4.4 魚毒性及び、公共工事等における新技術活用システム（テーマ設定型）「土木鋼構造用塗膜剥離剤技術に関する公募」試行調査手順書の 4.7 C-3：魚毒性に定められた試験方法

以下の試験法に準拠して試験を実施した。ただし、試験液中の被験物質濃度の測定は実施しなかった。

a) 「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 7 号、平成 23・03・29 製局第 5 号、環保企発第 110331009 号；最終改正 平成 27 年 12 月 21 日、薬生発 1221 第 1 号、20151209 製局第 1 号、環保企発第 1512211 号）に定める「魚類急性毒性試験」

b) OECD Guidelines for Testing of Chemicals, No. 203, July 17, 1992, "Fish, Acute Toxicity Test"

c) OECD Guidance Document, No. 23, September 2000, "Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures"

6. GLP 基準

a) 「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 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 8 号、平成 23・03・29 製局第 6 号、環保企発第 110331010 号）に定める「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」

b) OECD Principles of Good Laboratory Practice, November 26, 1997, ENV/MC/CHEM (98)17

7. 動物愛護

本試験は「動物実験の適正な実施に関する指針」（最終改正 平成29年4月21日、一般財団法人化学物質評価研究機構久留米事業所における指針）及び「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（最終改正 平成25年8月30日、環境省告示第84号）に従って行った。

8. 試験日程

試験開始日	2018年4月26日
実験開始日	2018年5月 7日
実験終了日	2018年5月11日
試験終了日	2018年5月31日

9. 試資料の保管

試験計画書（正本）、最終報告書（正本）、生データ、試験委託書、被験物質調査票及びその他の記録は当試験施設に保管し、被験物質は国立研究開発法人土木研究所 先端材料資源研究センターに返却する。

保管期間は試験終了後10年間とする。

保管期間終了後の処置（継続保管、廃棄又は返却）は、試験委託者と協議の上決定する。

10. 試験関係者

試験責任者	久 樂 喬	（所属 試験第四課）
試験担当者（生物試験の実施）	穴井真紀子	

11. 最終報告書の承認

2018年 5月31日

試験責任者 久樂喬

12. 要　約

被験物質

バイオハクリ X-WB

試験目的

土木鋼構造物用塗膜剥離剤ガイドライン（案）改訂第 2 版（ISSN 0386-5878、土木研究所資料第 4354 号、平成 29 年 3 月）に規定された塗膜剥離剤の品質及び塗膜剥離剤を用いた塗膜除去工法の品質における安全性項目の魚毒性の基準値をバイオハクリ X-WB が満たすことを確認する。

試験法

土木鋼構造物用塗膜剥離剤ガイドライン（案）改訂第 2 版（ISSN 0386-5878、土木研究所資料第 4354 号、平成 29 年 3 月）付属資料 1 土木鋼構造物用塗膜剥離剤およびこれを用いた塗膜除去工法の品質規格（暫定案）の 4.4 魚毒性及び、公共工事等における新技術活用システム（テーマ設定型）「土木鋼構造用塗膜剥離剤技術に関する公募」試行調査手順書の 4.7 C-3：魚毒性に定められた試験方法

以下の試験法に準拠して試験を実施した。ただし、試験液中の被験物質濃度の測定は実施しなかった。

a) 「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 7 号、平成 23・03・29 製局第 5 号、環保企発第 110331009 号；最終改正 平成 27 年 12 月 21 日、薬生発 1221 第 1 号、20151209 製局第 1 号、環保企発第 1512211 号）に定める「魚類急性毒性試験」

b) OECD Guidelines for Testing of Chemicals, No. 203, July 17, 1992, "Fish, Acute Toxicity Test"

c) OECD Guidance Document, No. 23, September 2000, "Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures"

試験条件

試験生物	ヒメダカ（*Oryzias latipes*）
試験用水	脱塩素水道水
試験区	1000、560、310、170、95 mg/L（公比 1.8）の 5 濃度区及び対照区
試験液の調製	被験物質と試験用水を混合し、48 時間撹拌した後、Stericup® Filter Unit（HV, 孔径 0.45 µm, Merck Millipore）で吸引ろ過したものを試験液とした。
暴露方式	半止水式（24 時間ごとに換水）
暴露期間	96 時間
連　数	1 連/試験区
試験生物数	7 尾/試験区
試験液量	約 2.8 L/試験区
水　温	23.2～24.0℃
エアレーション	緩やかなエアレーションを実施

照　明　　室内灯、16 時間明/8 時間暗
給　餌　　無給餌

試験結果

96 時間 LC_{50}　　> 1000 mg/L
（上記濃度は、設定濃度に基づく値）

結　論

バイオハクリ X-WB は土木鋼構造物用塗膜剥離剤ガイドライン（案）改訂第 2 版（ISSN 0386-5878、土木研究所資料第 4354 号、平成 29 年 3 月）に規定された塗膜剥離剤の品質及び塗膜剥離剤を用いた塗膜除去工法の品質における安全性項目の魚毒性の基準値（96 時間 LC_{50} が 10 ppm より大きいこと）を満たすことが確認された。

13. 試験材料

13.1 被験物質

a) 名称等

名　称　　バイオハクリ X-WB

別　名　　バイオハクリ X-WB

b) 供試試料

供給者　　山一化学工業株式会社

ロット番号　　81123985

被験物質は純度 100%として取り扱った。

c) 物理化学的性状

常温における性状　粘性液体

d) 保管条件

室温暗所保管した。

e) 使用期限及び安定性

保管条件下で 2019 年 1 月 11 日まで安定

f) 被験物質の確認

受領した被験物質容器の外観及び記載内容が、試験委託者提供の被験物質情報及びサンプル封印の記録と一致することを確認した。

g) 取扱い上の注意

手袋、マスク、保護めがね及び白衣を着用し、皮膚、目への接触及び吸入を避けた。

13.2 試験生物

種	ヒメダカ（*Oryzias latipes*）
生物種選択の理由	テストガイドラインに推奨されている種
供給源	当試験施設（自家生産）
大きさ	全長 2.3±1.2 cm、5. a)に定める規定値を適用
群分け	無作為抽出
じゅん化	
ふ化日	2017 年 12 月 6 日（供試時月齢；5 か月齢）
飼育水	脱塩素水道水
じゅん化方式	流水式
溶存酸素濃度	飽和溶存酸素濃度の 80%以上
水　温	24±1℃
明暗周期	室内灯による 16 時間明/8 時間暗
餌　料	教材メダカのエサ（キョーリン）
給餌量・頻度	魚体重の 3%量/日を毎日
薬　浴	実施せず
じゅん化期間	27 日間（2018 年 4 月 10 日～2018 年 5 月 7 日）
供試群の死亡率	0.6%（供試前 7 日間）
無給餌期間	供試前 24 時間は餌を与えなかった。

試験系の再現性の確認

定期的に基準物質による急性毒性試験を実施
最新のデータを以下に示す。
基準物質：硫酸銅（Ⅱ）五水和物
（試薬特級，ロット番号 WDN5149，富士フイルム和光純薬）
実施期間：2017 年 11 月 13 日～11 月 17 日
96 時間 LC_{50}：0.33 mg/L
この値は当試験施設におけるバックグラウンドデータの規定範囲内であった［平均±2×標準偏差: 0.14～0.90 mg/L（n=61）］。以上のデータはすべて硫酸銅（Ⅱ）換算で表示した。

14. 試験の実施

14.1 試験用水

十分にエアレーションし、温度調節した脱塩素水道水を用いた。定期的に測定した試験用水の水質測定結果を Appendix に示す。なお、水質測定結果は当試験施設の標準操作手順書で規定した基準を満たしていた。

14.2 試験器具及び装置

試験容器　3 L 容ガラス製容器［直径 16 cm，深さ 17 cm（水深として 14 cm）］
蓋　透明なプラスチック製の蓋
恒温槽　プラスチック製水槽
加熱冷却装置　RX-401 HPN-Z（イワキ）

14.3 試験液の調製法

各試験濃度になるようにひょう量した被験物質と試験用水を調製容器で混合し、マグネティックスターラーにより 48 時間撹拌した。撹拌停止後、Stericup® Filter Unit（HV, 孔径 0.45 μm, Merck Millipore）で吸引ろ過した。その後、吸引ろ過によって低下した溶存酸素をエアレーションにより回復させたものを試験液とした。なお、試験液は換水ごとに新しく調製した。各試験濃度区における被験物質添加量及び試験用水量を下表に示す。

試験区 (mg/L)	被験物質添加量 (g)	試験用水量 (L)
95	0.285	3
170	0.51	3
310	0.93	3
560	1.68	3
1000	3.0	3

14.4 試験条件

暴露方式	半止水式（24 時間ごとに試験液の全量を交換）
暴露期間	96 時間
試験濃度	1000、560、310、170、95 mg/L（公比 1.8） 予備試験結果から試験濃度及び公比を決定した。 予備試験結果を Additional data に示す。
対照区	試験液と同様の撹拌処理をした被験物質を含まない試験用水
連　数	1 連/試験区
試験生物数	7 尾/試験区
試験液量	約 2.8 L/試験区
水　温	24±1℃
エアレーション	緩やかなエアレーションを実施
pH 調整	無し
照　明	室内灯による 16 時間明/8 時間暗
給　餌	無給餌

14.5 観察及び測定

a) 試験生物の一般状態

死亡及び一般状態を暴露開始 3、24、48、72 及び 96 時間後に観察した。観察可能な動き（吻、鰓蓋の動き等）がなく、ガラス棒で尾柄部に軽く触れ反応がない個体を死亡とみなした。さらに暴露終了時の生存個体については氷冷水に生物を浸漬し、麻痺させた後に冷凍庫内に入れ、凍結させて安楽死させた。

b) 試験生物の全長及び体重

暴露終了後、氷冷水を用いて麻痺させた対照区の試験生物について全長及び体重を測定

c) 試験液の状態

暴露開始時及び換水前（24 時間後）に観察

d) 試験液の水質

測定項目	溶存酸素濃度、pH 及び水温
測定頻度	暴露開始時、換水前後及び暴露終了時
測定方法	試験容器より一部分取した試験液について測定（調製時） 試験容器内の試験液について測定（換水前及び暴露終了時）
測定機器	溶存酸素計　HQ30d（HACH） pH 計　HM-21P（東亜ディーケーケー） ガラス製棒状温度計

14.6 LC_{50} の算出法

試験濃度範囲で 50%以上の死亡率が得られなかったため、LC_{50} は「>試験最高濃度」と表示した。

なお、結果の算出には設定濃度を用いた。

14.7　試験の有効性

a)　暴露期間中、対照区における死亡数が 1 尾を超えてはならない。

b)　暴露期間中の溶存酸素濃度は、試験水温での飽和溶存酸素濃度の 60%以上でなければならない。

14.8　数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401: 1999 規則 B に従った。

15. 試験結果及び考察

15.1　死亡率

各時間での累積死亡率を Table 1 に示す。

暴露期間中、試験濃度区において試験生物の死亡は認められなかった。なお、暴露終了時における対照区の死亡数は 0 尾であり、有効性基準（1 尾を超えない）を満たしていた。

15.2　一般状態等の観察結果

暴露期間中における一般状態の観察結果を Table 2 に示す。

対照区において、症状は認められなかった。

以下の観察結果はすべて対照区との比較に基づくものである。

暴露期間中に観察された症状は表層集中、完全平衡喪失、過活動、活動度の低下及び体色明化であった。310 及び 560 mg/L 区の各 1 個体については表層集中の症状が回復した。

15.3　試験生物の大きさ

［平均値±標準偏差（n=7）］

全長　2.6 ± 0.1 cm

体重　0.18 ± 0.03 g

15.4　試験液の観察と測定結果

a)　試験液の状態

暴露開始時及び換水前は対照区、試験濃度区ともに無色透明であった。

b)　試験液の水質

試験液の水質を Table 3-1、3-2 及び 3-3 に示す。

暴露期間中に測定した溶存酸素濃度は 7.7～8.6 mg/L、pH は 7.4～7.9、水温は 23.2～24.0℃であった。なお、溶存酸素濃度は有効性基準（試験水温での飽和濃度*の 60%以上）を満たしていた。

*　23～25℃の飽和溶存酸素濃度: 8.58～8.26 mg/L、JIS K 0102: 2016

15.5　LC_{50}

24 時間ごとの LC_{50} を Table 4 に示す。

被験物質のヒメダカに対する 96 時間 LC_{50} は>1000 mg/L（設定濃度）であった。

15.6　考　察

試験は被検物質の試験生物に対する影響を求める試験として行った。

その結果、96 時間 LC_{50} は>1000 mg/L（設定濃度）であった。

試験環境条件は適切な範囲内であり、試験の有効性も満たしていることから、本試験は試験法に準じたものであったと判断される。

16. 結　論

96 時間 LC_{50} は>1000 mg/L（設定濃度）となった。したがって、バイオハクリ X-WB は土木鋼構造物用塗膜剥離剤ガイドライン（案）改訂第 2 版（ISSN 0386-5878、土木研究所資料第 4354 号、平成 29 年 3 月）に規定された塗膜剥離剤の品質及び塗膜剥離剤を用いた塗膜除去工法の品質における安全性項目の魚毒性の基準値（96 時間 LC_{50} が 10 ppm より大きいこと）を満たすことが確認された。

17. 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

当該要因はなかった。

18. 試験計画書から逸脱した事項

試験液の調製に用いる容器を試験容器としていたが調製容器を使用したため、試験計画書から逸脱した。しかし、試験計画書の記載ミスであり試験液調製に試験容器を用いる必要は無いため、試験の信頼性と完全性に及ぼす影響はなかった。

Table 1 Cumulative mortality

Nominal concentration (mg/L)	Cumulative mortality (%)				
	3 hours	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
Control	0	0	0	0	0
95	0	0	0	0	0
170	0	0	0	0	0
310	0	0	0	0	0
560	0	0	0	0	0
1000	0	0	0	0	0

Table 2 Observed abnormal response

Nominal concentration (mg/L)	Result of observation (Left column: Number of affected fish/Total survival number, Right column: Symptom detail)									
	3 hours		24 hours		48 hours		72 hours		96 hours	
Control	0/7	N	0/7	N	0/7	N	0/7	N	0/7	N
95	0/7	N	0/7	N	0/7	N	0/7	N	0/7	N
170	0/7	N	0/7	N	0/7	N	0/7	N	0/7	N
310	1/7	AS(1)	0/7	N	0/7	N	0/7	N	0/7	N
560	2/7	AS(2)	1/7	AS(1)	1/7	AS(1)	1/7	AS(1)	1/7	AS(1)
1000	5/7	AS(5) RA(1)	6/7	AS(6)	5/7	AS(4) CLE(1) HYP(1)	3/7	AS(2) CLE(1) HYP(1)	5/7	AS(4) CLE(1) RA(2) LT(1)

N: Normal (No abnormal response)

Value in parentheses expresses the number of individuals that showed the symptom.

Abbreviation of symptoms

AS: At the surface

CLE: Complete loss of equilibrium

HYP: Hyperactive

RA: Reduced activity

LT: Light body color

Table 3-1 Dissolved oxygen concentration of test solutions

Nominal concentration (mg/L)	At the start	24 hours		48 hours		72 hours		At the end
		Old	New	Old	New	Old	New	
Control	8.3	8.1	8.5	8.0	8.5	8.3	8.6	8.2
95	8.3	8.1	8.4	8.0	8.4	8.0	8.5	7.7
170	8.3	8.1	8.5	7.9	8.4	7.9	8.5	7.8
310	8.2	8.2	8.4	8.0	8.4	8.1	8.5	8.0
560	8.2	8.1	8.4	8.0	8.4	8.2	8.5	8.1
1000	8.2	8.2	8.3	8.0	8.4	8.2	8.4	8.1

Old: before the renewal

New: after the renewal

Unit: mg/L

Table 3-2 pH of test solutions

Nominal concentration (mg/L)	At the start	24 hours		48 hours		72 hours		At the end
		Old	New	Old	New	Old	New	
Control	7.8	7.7	7.8	7.7	7.9	7.8	7.7	7.8
95	7.8	7.7	7.9	7.7	7.9	7.7	7.8	7.6
170	7.8	7.7	7.8	7.7	7.8	7.7	7.8	7.6
310	7.8	7.7	7.8	7.7	7.8	7.7	7.8	7.7
560	7.8	7.7	7.8	7.7	7.7	7.7	7.8	7.7
1000	7.8	7.6	7.4	7.7	7.4	7.7	7.5	7.7

Old: before the renewal

New: after the renewal

Table 3-3 Temperature of test solutions

Nominal concentration (mg/L)	At the start	24 hours		48 hours		72 hours		At the end
		Old	New	Old	New	Old	New	
Control	24.0	23.5	23.2	23.3	23.2	23.3	23.5	23.6
95	24.0	23.5	23.2	23.3	23.2	23.3	23.5	23.6
170	24.0	23.5	23.3	23.3	23.2	23.3	23.4	23.6
310	24.0	23.5	23.3	23.3	23.2	23.3	23.4	23.6
560	24.0	23.4	23.3	23.3	23.2	23.3	23.3	23.6
1000	24.0	23.4	23.3	23.3	23.2	23.3	23.3	23.6

Old: before the renewal

New: after the renewal

Unit: °C

Table 4 LC_{50} to Medaka

Exposure duration	LC_{50} (mg/L)
24-hour	>1000
48-hour	>1000
72-hour	>1000
96-hour	>1000

Appendix

試験用水の水質

Chemical characteristics of dilution water (Sampling on January 9, 2018)

Parameter	Unit	Results	Determination limit
Total hardness (Ca, Mg)	mg/L	43	1
Suspended solid	mg/L	< 1	1
pH	-	7.8 (22.9°C)	-
Total organic carbon	mg/L	< 0.5	0.5
Chemical oxygen demand	mg/L	< 1	1
Residual chlorine	mg/L	< 0.02	0.02
Ammonium ion	mg/L	< 0.1	0.1
Total cyanide	mg/L	< 0.05	0.05
Alkalinity	mg/L	42	1
Electric conductivity	mS/m	17	0.1
Total mercury	mg/L	< 0.0005	0.0005
Cadmium	mg/L	< 0.001	0.001
Chromium (VI)	mg/L	< 0.01	0.01
Lead	mg/L	< 0.001	0.001
Arsenic	mg/L	< 0.005	0.005
Iron	mg/L	< 0.01	0.01
Copper	mg/L	< 0.001	0.001
Cobalt	mg/L	< 0.001	0.001
Manganese	mg/L	< 0.005	0.005
Aluminum	mg/L	< 0.02	0.02
Zinc	mg/L	< 0.1	0.1
Nickel	mg/L	< 0.001	0.001
Silver	mg/L	< 0.0001	0.0001
1,2-dichloropropane	mg/L	< 0.002	0.002
Chlorothalonil	mg/L	< 0.001	0.001
Propyzamide	mg/L	< 0.0008	0.0008
Chlornitrofen	mg/L	< 0.0001	0.0001
Simazine	mg/L	< 0.0003	0.0003
Thiobencarb	mg/L	< 0.001	0.001
Diazinon	mg/L	< 0.0005	0.0005
Isoxathion	mg/L	< 0.0008	0.0008
Fenitrothion	mg/L	< 0.0003	0.0003
EPN	mg/L	< 0.0006	0.0006
Dichlorvos	mg/L	< 0.001	0.001
Iprobenfos	mg/L	< 0.0008	0.0008
PCB	mg/L	< 0.0005	0.0005
Boron	mg/L	< 0.1	0.1
Fluorine	mg/L	0.1	0.1
Sulfate ion	mg/L	17	0.5
Chloride ion	mg/L	13	0.2
Sodium	mg/L	15	0.2
Potassium	mg/L	3.6	0.2
Calcium	mg/L	11	0.1
Magnesium	mg/L	3.5	0.1

Additional data

予備試験結果

1. 生物予備試験

試験委託者の要望により、試験上限濃度は 1000 mg/L に設定して予備試験を実施した。

暴露方式　半止水式（24 時間ごとに換水）

生物数/試験液量　2 尾/約 0.8 L

エアレーション　緩やかなエアレーションを実施

試験液調製法　各試験濃度になるように供試試料と試験用水を混合し、48 時間撹拌した。撹拌停止後、Stericup® Filter Unit（HV, 孔径 0.45 µm, Merck Millipore）でろ過したものを試験液とした。

＜試験生物への影響＞

設定濃度区 (mg/L)	左：累積死亡率（%）　右：症状の有無（有：＊、無：N）									
	3 時間		24 時間		48 時間		72 時間		96 時間	
10	0	N	0	N	0	N	0	N	0	N
100	0	N	0	N	0	N	0	N	0	N
1000	0	N	0	＊	100	—	100	—	100	—

—全個体が死亡したことを示す。

2. 本試験条件

試験区　設定濃度として 1000、560、310、170、95 mg/L（公比 1.8）及び対照区

暴露方式　半止水式（24 時間ごとに換水）

エアレーション　緩やかなエアレーションを実施