

# 底質添加による ユスリカ毒性試験について

独立行政法人国立環境研究所 菅谷芳雄

OECD Environment Monographs No. 92  
OECD Environmental Health and Safety Publications  
Series on Testing and Assessment  
No. 3

9.	Equilibrium Partitioning Method (EP法)	54
9.1	Introduction	54
9.2	Proposed Approach	55

# OECD TG218/219 ユスリカを用いた底質毒性試験法

1995年	ガイダンスドキュメントNo.3: Aquatic Effects Assessment
1998年	ドラフトテストガイドライン
2002年1月	改訂ドラフト
2002年5月	14th WNT で論議修正
2002年度	国内リングテストの実施(環境省研究委託)
2003年5月	15th WNT で承認
2003年度	国内リングテストの実施(環境省研究委託)
2004年3月25日	通知「第三種監視化学物質に係る有害性の調査のための試験の方法について(別添:ユスリカの生息又は生育に及ぼす影響に関する試験の方法(底質添加によるユスリカ毒性試験))」
2004年4月	OECD-TG-218/219採択

OECDテストガイドライン218 & 219 策定のための材料

国内リングテスト  
ピレン(非吸着性物質)  
PCP(吸着性物質)

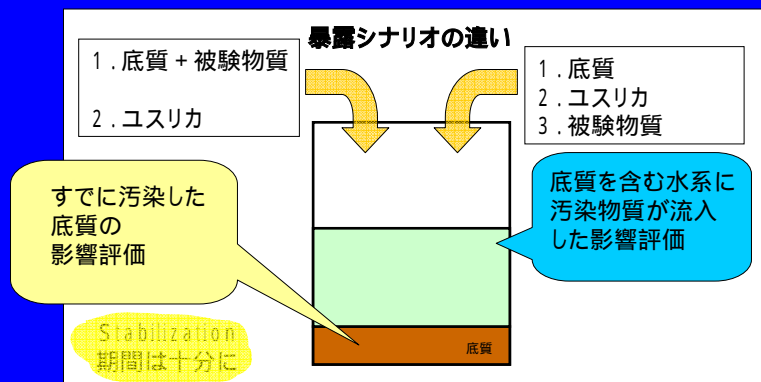
【成果】1) 国産種の導入、試験条

国内でのGLP底質毒性試験の実施(2004年度より)

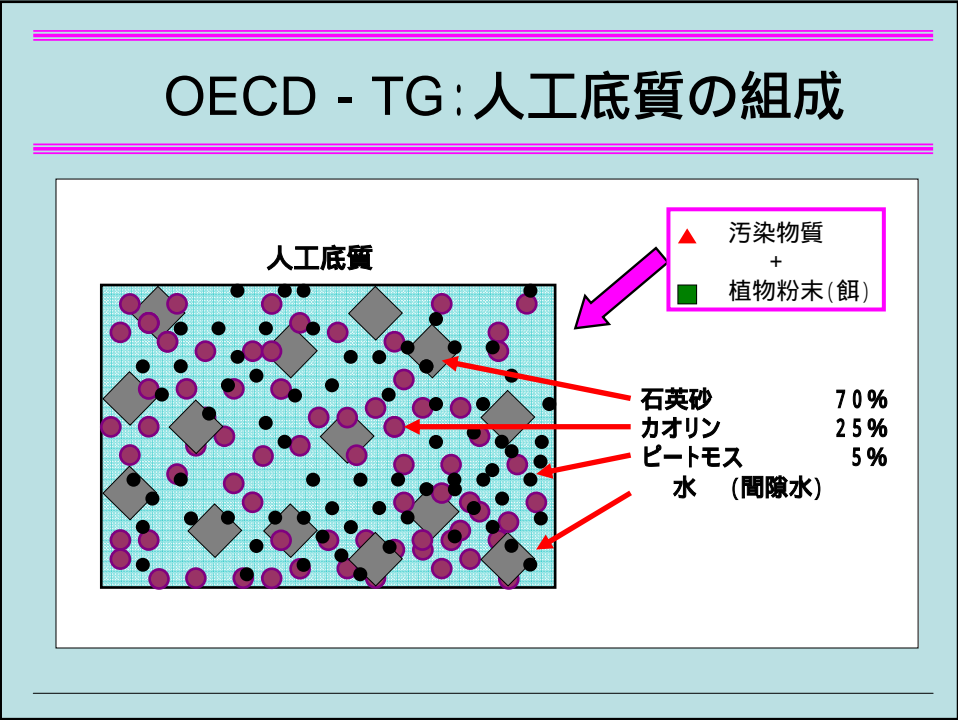
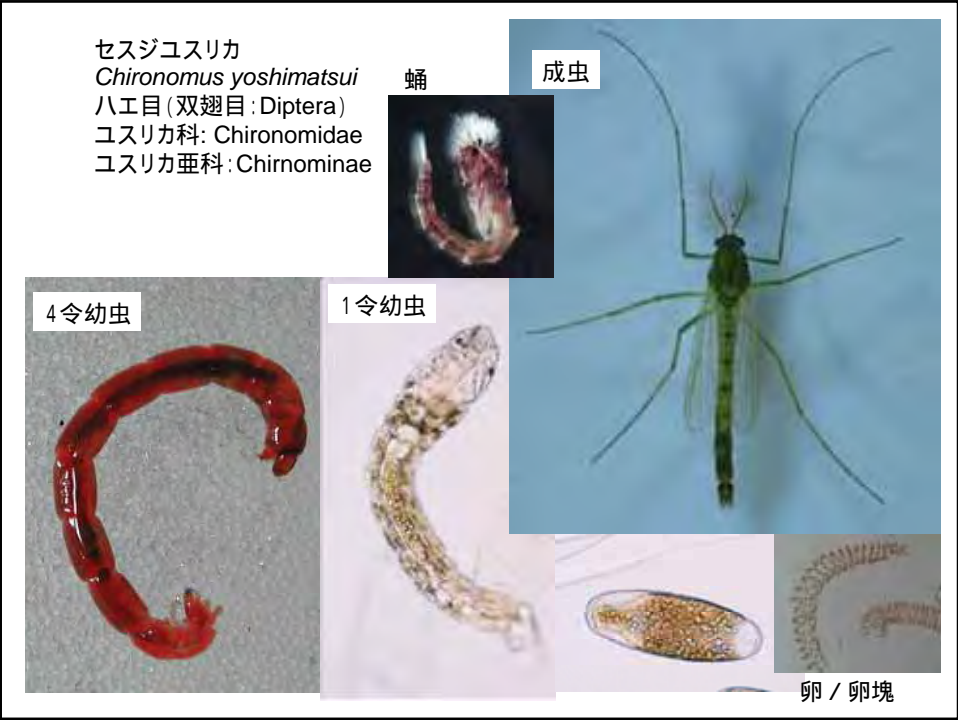
再現性の確認  
試験の妥当性クライテリア

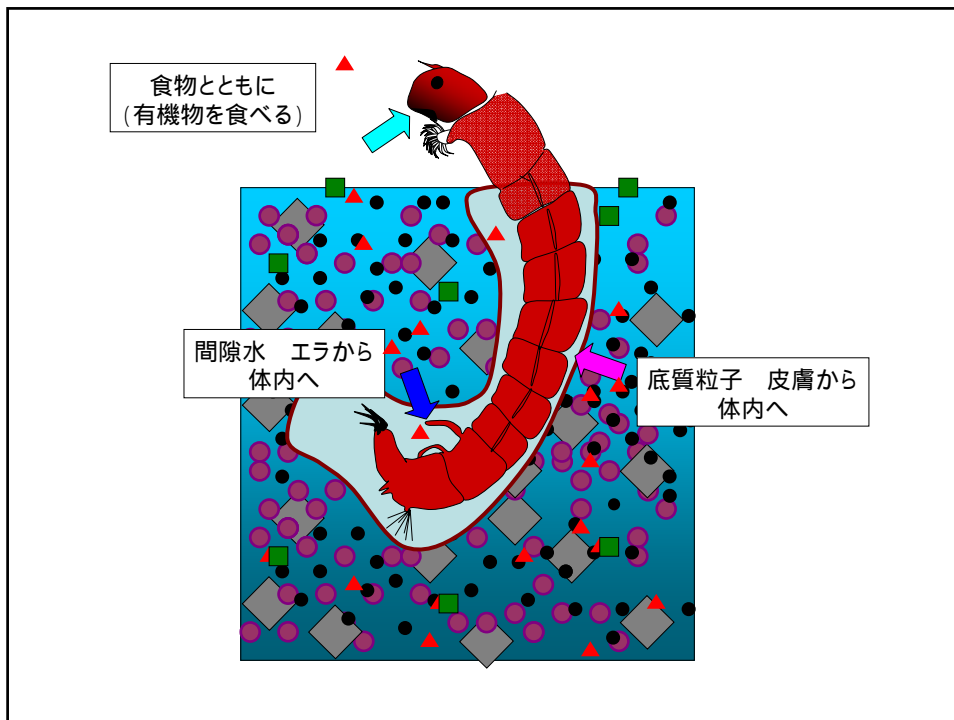
標準試験手順の作成  
データ処理ソフトの改良  
4) 審査法試験法

## 底質添加法 と 上層水添加法 TG218 TG219



汚染底質の慢性的な影響の試験としては、  
TG218の暴露シナリオがちがひ。





## OECDテストガイドライン218における 難水溶性物質の試験手順

底質の調製      被験物質の添加      安定化      ユスリカの投入

環境要因のモニタリング (pH、DO、水温、アンモニア濃度)

観察: ユスリカの行動変化: 底質の上や水中に逃げ出す

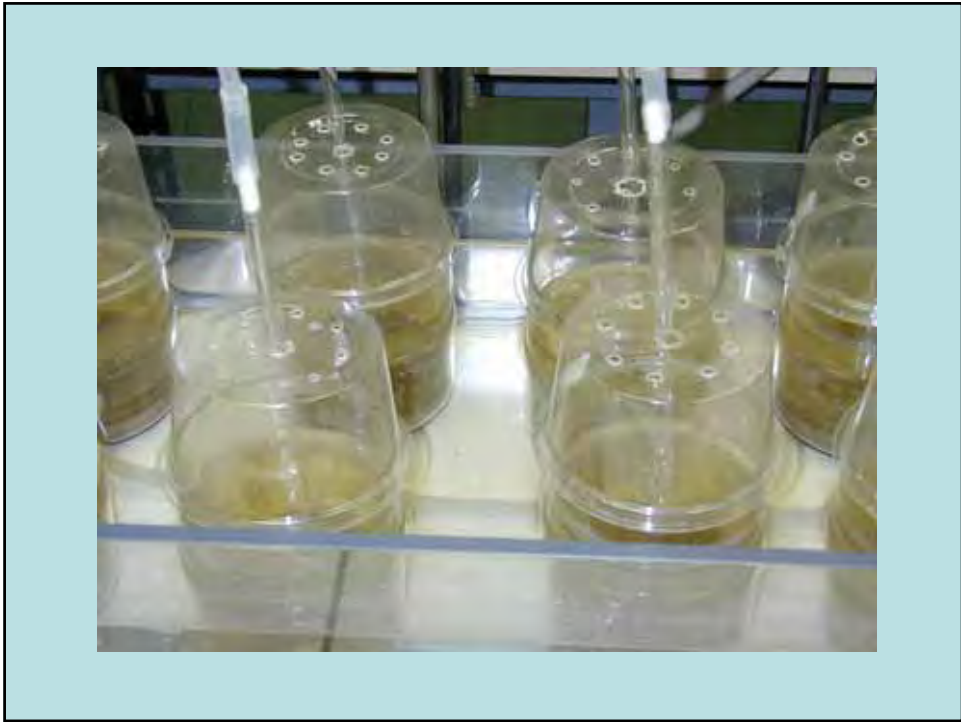
上層水の補給: 蒸留水を加える

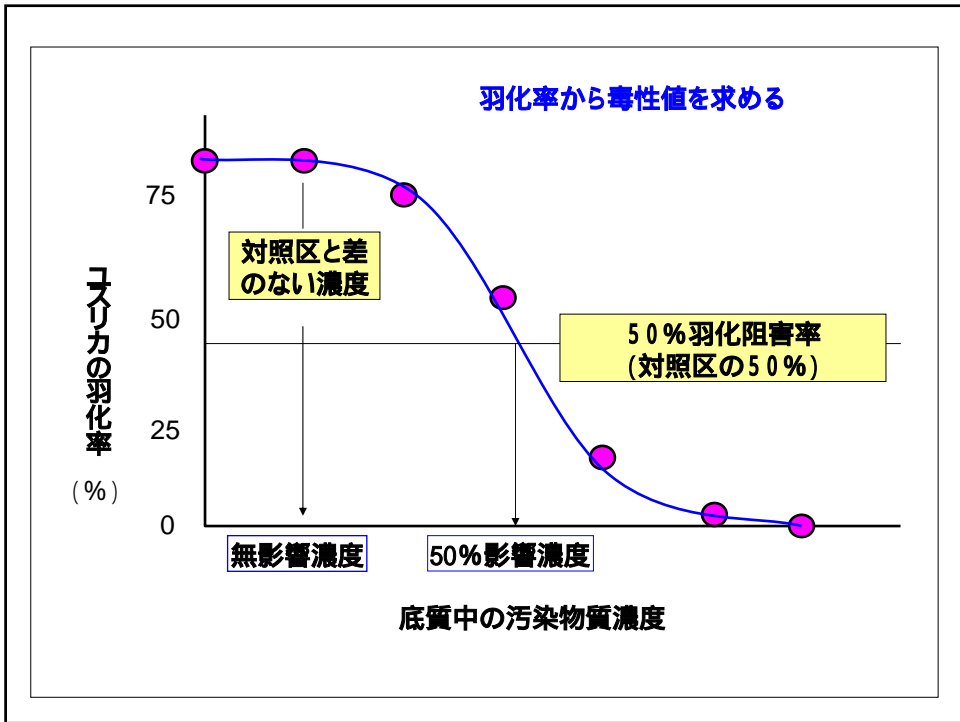
14日目 羽化の開始: 雌雄を分けて羽化(失敗) 個体数のカウント

28日目 暴露の終了 幼虫の回収 データの解析

初期濃度  
測定

終了時濃度  
測定





# エンドポイント

羽化個体数の雌雄差はあるか？    あり    なし

Development rate (pooled)

$x = \frac{f_i x_i}{n_i}$      $f_i$ :  $i-1 \sim i$ 日の羽化数     $x_i$ :  $1/(i-1/2)$  1/day     $n_i$ : その容器の羽化数

羽化率    容器毎にarcsin 変換(離散データから連続データ,正規化)    NOEC算出  
対照区の羽化率で補正して相対羽化率とし, probit法でEC50値の算出  
(相対羽化率5-95%のデータを使用)

死亡率    試験終了時に幼虫で残った数 + 羽化数から死亡率の算出

羽化個体の大きさ    濃度区間で差はあるか？

残存幼虫数

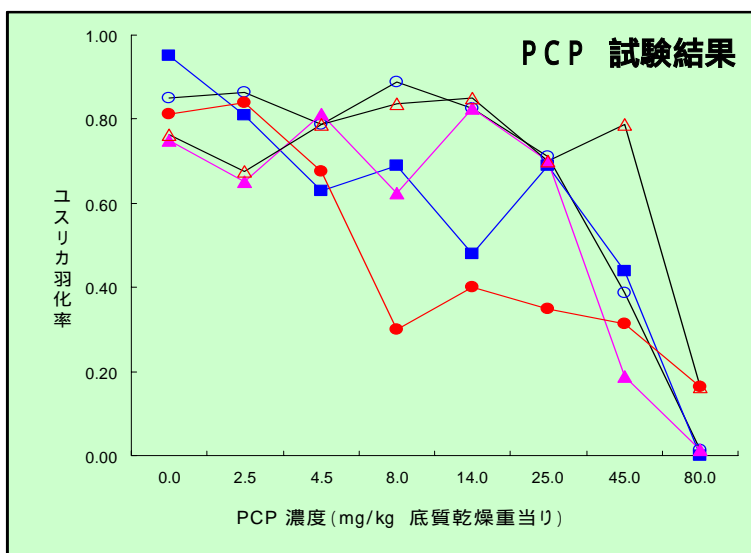
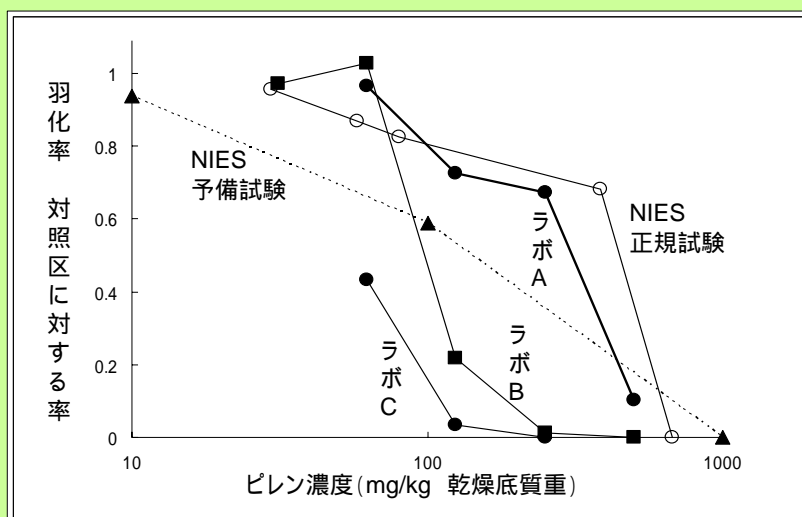
## 被験物質の物性

C16H10  
分子量:202.26  
CAS:129-00-0



- ・沸点:            404
- ・融点:            151
- ・密度:            1.27            g/cm<sup>3</sup>
- ・水溶解度:      0.135            mg/l(25 )
- ・蒸気圧:        0.08            Pa( )
- ・log Pow :      4.88

## ピレンの試験結果：濃度反応(羽化率)曲線



吸着性物質の国内リングテストの結果  
(本研究所 + 国内4試験機関)

	A研究所	B研究所	C研究所	D研究所	本研究所	平均
50%羽化阻害濃度	37.4	37	38	13.7	60	37.2
無影響濃度	14	14	25	4.5	25	16.5



## ま と め

- TG218 / 219の検討を行い, 両試験法の妥当性を再確認した. 国内では底質添加法(TG218)を取り入れた.
- 国内リングテストを2002年度(3機関), 2003年度(4機関)で実施し, 標準法および吸着性物質(LogKow>5)の試験を行った. 両法で妥当性を確認した.
- 2004年度より, 国内ラボで試験を実施

## 情報交換: 試験実施上の問題点

国内リングテストに参加した各ラボから提出された問題点

1. 人工底質のpH調製のタイミング
2. ビートモスの入手
3. 人工底質の調製後の水分含量
4. 被験物質の添加法
5. 平衡化に要する時間の設定
6. 上層水中の懸濁物
7. 試験開始時のpH許容範囲
8. 使用生物の輸送
9. 底質調製の手順(餌の混合時期)
10. 上層水の硬度の設定(pH調製用炭酸カルシウムの処理)
11. 餌によるカビの増殖 - カビの物理的影響
12. 雌雄差の扱い
13. 容器間の羽化個体数のバラツキ