

# 仕 様 書

## 1. 件名 6PPD 代替物質のギンザケを用いた生態影響試験

## 2. 研究の概要

産業技術総合研究所環境調和型産業技術研究ラボ（以下、「産総研」という。）は、ネイチャーポジティブに資する環境影響評価技術の研究開発を行っている。その一環として、ヨコエビや魚類といった水生生物を用いた生態影響試験を実施し、様々な環境かく乱が生物へもたらす影響について評価してきた。近年の社会課題として、ゴムタイヤの酸化防止剤である N-(1,3-ジメチルブチル)-N'-フェニル-p-フェニレンジアミン-キノン(6PPD)の分解産物である 6PPD-キノン(6PPD-Q)が都市雨水死亡症候群の原因物質であることが特定され、2024 年 5 月に米国では 6PPD 及び 6PPD-Q のスクリーニング値が公表されている。今後、タイヤにおける 6PPD の製造、加工、使用、流通が制限、禁止される可能性があり、欧米では 6PPD に代わる代替物質の検討が要求されている。日本においても代替物質の検討が進められており、これら代替物質及びその分解物のサケ科魚類への影響を評価する必要がある。

本業務では、6PPD-Q に対する感受性が高いギンザケ(*Oncorhynchus kisutch*)稚魚を使用して、代替物質 2 種及びその分解物の生態影響試験を実施する。なお、6PPD 及び 6PPD-Q でも試験を実施し、供試するギンザケ稚魚の感受性及び試験の再現性等を確認する。

## 3. 作業項目

- (1) 打ち合わせ
- (2) 供試生物の準備
- (3) 代替物質及び分解物の予備検討
- (4) 6PPD 及び 6PPD-Q の LC<sub>50</sub> 算出試験
- (5) 代替物質及び分解物の LC<sub>50</sub> 算出試験
- (6) 報告書の作成

## 4. 作業項目別仕様

- (1) 打ち合わせ

下記に記載する事項について打ち合わせを実施するものとし、必要に応じて追加する。

- ① 代替物質及び分解物の検討内容についての打ち合わせ
- ② 検討結果を踏まえ、代替物質及び分解物の LC<sub>50</sub> 算出試験についての打ち合わせ

## (2) 供試生物の準備

### ①じゅん化飼育施設

- ・ 餌付けが終了したギンザケ稚魚の飼育管理可能な飼育環境を整備する。

### ②供試生物のじゅん化

- ・ 試験に供試するまでの期間、供試生物を適切な環境で飼育管理する。

## (3) 代替物質及び分解物の予備検討

代替物質は 2 物質とする。物質については、調達請求者と相談の上、決定する。  
また、分解物についてはそれぞれの代替物質のキノン体 2 物質を想定する。

### ① 試験条件の検討

- ・ 供試生物の大きさから、試験条件(試験容器・試験液量)を決定する。

### ② 試験液調製方法の検討

- ・ 試験上限濃度について検討する。
- ・ 溶解助剤の使用可能性を考慮し、OECD ガイダンスドキュメント 23 で推奨されている助剤に対しての溶解度を確認する。
- ・ 試験液の調製方法を検討する。
- ・ レンジファインディングテストを実施する。
- ・ 被験物質濃度の測定方法を決定する。

## (4) 6PPD 及び 6PPD-Q の LC<sub>50</sub> 算出試験

### ① LC<sub>50</sub> 算出試験

- ・ ギンザケを供試魚とした先行研究(6PPD は Tian *et al.* 2021、6PPD-Q は調達請求者が過年度に実施した試験結果)を参考にして設定した被験物質濃度(5 濃度を想定)で本試験を実施する。別に対照区(助剤を使用する場合は助剤対照区)を設定する。OECD テストガイドライン 203 に準拠して実施するものとするが、暴露時間は 24 時間とする。
- ・ 暴露期間中に死亡した個体を含むすべての供試生物の全長及び湿重量を測定する。

### ② 試験液中の被験物質濃度の測定

- ・ 暴露開始時、暴露終了時にすべての試験液の被験物質濃度を測定する。また、供試魚の死亡状況を踏まえて測定が必要と考えられる場合や、試験の信頼性を担保する上で必要と考えられる場合は、調達請求者の指示に従い、試料を採取して被験物質濃度を測定する。

## (5) 代替物質及び分解物の LC<sub>50</sub> 算出試験

### ① LC<sub>50</sub> 算出試験

- ・レンジファインディングテストの結果を踏まえ、調達請求者の指示に従い、設定した被験物質濃度(5 濃度を想定)で本試験を実施する。別に対照区(助剤を使用する場合は助剤対照区)を設定する。OECD テストガイドライン 203 に準拠して実施するものとするが、暴露時間は 24 時間とする。
- ・暴露期間中に死亡した個体を含むすべての供試生物の全長及び湿重量を測定する。

#### ② 試験液中の被験物質濃度の測定

- ・暴露開始時、暴露終了時にすべての試験液の被験物質濃度を測定する。また、供試魚の死亡状況を踏まえて測定が必要と考えられる場合や、試験の信頼性を担保する上で必要と考えられる場合は、調達請求者の指示に従い、試料を採取して被験物質濃度を測定する。

#### (6)報告書の作成

- ・試験結果をとりまとめ、供試生物や試験方法等に関する情報及び試験結果について記載するとともに、試験の妥当性に関する考察を付した報告書を作成する。

### 5. 特記事項

- (1)試験の進捗や結果については、随時、調達請求者に報告すること。
- (2)本業務の実施にあたっては、試験結果の信頼性を確保するために、生態影響試験に係る化審法「GLP(試験平成23年3月31日薬食発0331第8号平成23・03・29製局第6号環境企発第110331010号)」の適合確認を受けており、冷水性淡水魚類の飼育及び試験実績があること。

### 6. 支給品

- ・代替物質 2 種及びそのキノン体 2 種

### 7. 納入の完了

作業完了の後、「8. 納入物品」に記載された納入物品が過不足なく納入され、仕様書を満たしていることを確認して、納入の完了とする。

### 8. 納入物品

- ・報告書 1 部(電子媒体) ※USB メモリ等の外部電磁的記録媒体を用いないこと。

### 9. 納入期限及び納入場所

納入期限:令和7年3月28日(金)

納入場所:茨城県つくば市東 1-1-1

国立研究開発法人産業技術総合研究所 地質情報研究部門  
中央7群 7-3B 棟 213 室

10. 付帯事項

- ・ 本仕様書の技術的内容及び知り得た情報については、守秘義務を負うものとする。
- ・ 本仕様書の技術的内容に関する質問等については、調達請求者と協議すること。また、本仕様書に定めのない事項及び疑義が生じた場合は、調達担当者と協議のうえ決定する。