

環境庁殿

最 終 報 告 書

2-プロパノールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する延長毒性試験－14日間

(試験番号：91920)

1998 年 3 月 24 日作成

財団法人 化学製品検査協会
化学品安全センター 化学物質残留米研究所

陳 述 書

財団法人 化 学 品 検 査 協 会
化学品安全センター 久留米研究所

試験委託者： 環境庁

表 題： 2-プロパノールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する
延長毒性試験－14日間

試験番号： 91920

上記試験は契約書別添2「生態影響試験実施に関する基準」(平成7年9月26日)に
準拠したものである。

1998年 3 月 24 日

運営管理者



信 頼 性 保 証 書

財団法人 化 学 品 検 査 協 会
化学品安全センター 久留米研究所

試験委託者： 環境庁

表 題： 2-プロパノールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する
延長毒性試験－14日間

試験番号： 91920

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。

監査又は査察内容	実施日	報告日(運営管理者)	報告日(試験責任者)
試験計画書監査	1997年12月22日	1997年12月22日	1997年12月22日
試験実施状況査察	1998年 2月 3日	1998年 2月23日	1998年 2月20日
試験実施状況査察	1998年 2月17日	1998年 2月23日	1998年 2月20日
最終報告書監査	1998年 3月24日	1998年 3月24日	1998年 3月24日

1998年 3月24日

信頼性保証部門責任者



試験実施概要

1 表 題

2-プロパノールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する延長毒性試験－14日間

2 試験目的

2-プロパノールについて、ヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する延長毒性試験－14日間を行いヒメダカに対する致死、その他の観察される影響の閾値及び最大無作用濃度(NOEC)を求める。

3 試験方法

本試験は、OECD 化学品テストガイドライン No.204「魚類延長毒性試験－14日間」(1984年)に準拠した。

4 適用GLP

本試験は契約書別添 2「生態影響試験実施に関する基準」(平成 7 年 9 月 26 日)に準拠した。

5 試験委託者

名 称： 環境庁

住 所： (〒100-0013)東京都千代田区霞が関 1-2-2

6 試験受託者

名 称： 財団法人 化学品検査協会

住 所： (〒136-0071)東京都江東区亀戸 5-6-21

7 試験施設

名 称： 化学品安全センター 久留米研究所

住 所： (〒830-0023)福岡県久留米市中央町 19-14

運営管理者： XXXXXXXXXX

8 試験関係者

試験責任者

[REDACTED]

試験担当者

生物試験担当

[REDACTED]

分析担当

[REDACTED]

試験資料管理部門責任者

[REDACTED]

9 最終報告書の作成

1998年 3 月 24 日

試験責任者

氏名

[REDACTED]

10 試験期間

試験開始日

1997 年 12 月 22 日

試験終了日

1998 年 3 月 24 日

暴露期間

1998 年 2 月 3 日 ~ 1998 年 2 月 17 日

11 保管

試験計画書、生データ、記録文書、最終報告書及び被験物質は、最終報告書作成後10年間、財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター 久留米研究所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うえ決定する。

目 次

	頁
要 旨	1
1 被 験 物 質	2
1.1 名称、構造式及び物理化学的性状	2
1.2 被験物質の確認及び保管条件下での安定性	3
2 試 験 生 物	3
3 試 験 方 法	4
3.1 試 験 条 件	4
3.2 希 釈 水	4
3.3 試験装置、試験容器及び恒温槽等	4
3.4 試験濃度の設定	5
3.5 試験液の調製	5
3.6 試験液の分析	5
3.7 試 験 操 作	6
3.8 数値の取扱い	6
4 結果の算出	7
4.1 最小致死濃度及び最小作用濃度	7
4.2 最大無作用濃度(NOEC)	7
4.3 半数致死濃度(LC50)の算出	7
5 結果及び考察	8
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	8
5.2 試験液中の被験物質濃度	8
5.3 最小致死濃度、最小作用濃度	8
5.4 半数致死濃度(LC50)	8
5.5 毒性症状及び摂餌状況	8
5.6 暴露終了時における試験生物の生存個体重量	8
5.7 最大無作用濃度	9
5.8 試験液の水温、溶存酸素濃度及びpH	9
5.9 試験液の状態	9
Table 1～8	10～18
Figure 1	19
付属資料－1 希釈水の水質	
付属資料－2 試験液の分析方法及び分析チャート	

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題2-プロパノールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する延長毒性試験－14日間試験番号

91920

試験方法

本試験は、OECD 化学品テストガイドライン No.204「魚類延長毒性試験－14 日間」(1984 年)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質： 2-プロパノール
- 2) 試験生物： ヒメダカ(*Oryzias latipes*)
- 3) 生物数： 10尾／1試験区
- 4) 暴露期間： 14日間
- 5) 暴露方式： 流水式(連続的に試験液を供給する方式)、密閉系で実施
- 6) 試験濃度： 100、50.0、25.0、12.5 mg/L(公比：2.0)及び対照区
- 7) 連 数： 1試験区につき1連
- 8) 試験液量： 1試験容器(1連)につき3.4 L
- 9) 試験水温： 24±1℃
- 10) 照 明： 室内光、16時間明／8時間暗
- 11) エアレーション： なし
- 12) 試験液中の被験物質の分析： ガスクロマトグラフィー(GC)
(0日目、7日目及び14日目)

結 果

- 1) 14日間の最小致死濃度 > 100 mg/L
- 2) 14日間の最小作用濃度 > 100 mg/L
- 3) 14日間の最大無作用濃度 (NOEC) ≥ 100 mg/L
- 4) 7日間の半数致死濃度 (LC50) > 100 mg/L
- 5) 14日間の半数致死濃度 (LC50) > 100 mg/L
(上記濃度は、全て設定値に基づく値)

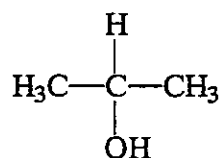
1 被 験 物 質

本報告書において2-プロパノールは、次の名称及び品質等を有するものとする。
被験物質に関する情報については供給者提供の添付資料等によった。

1.1 名称、構造式及び物理化学的性状

- 1) 名 称： 2-プロパノール
(CAS番号 67-63-0)

- 2) 構 造 式：



- 3) 分 子 式： $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$
 4) 分 子 量： 60.10
 5) 外 観： 無色澄明の液体^{*1}
 6) 安 定 性： 不明
 7) 1-オクタノール／水分配係数(logP)： 0.05^{*2}
 8) pKa： 不明
 9) 水への溶解度： 10%以上^{*3}
 10) 蒸 気 圧： 33 mmHg (20℃)^{*2}
 11) 密 度： 0.786 g/mL (20℃)^{*1}
 12) 純度及び不純物： 100.0% (GC)^{*1}
 水分 0.01%^{*1}
 不揮発物 0.001%以下^{*1}
 酸 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$ として) 0.002%以下^{*1}
 13) ロット番号： TPL7310
 14) 供 給 者： XXXXXXXXXX

情 報 源

- *1： 供給者提供の添付資料
 *2： 化学物質安全情報研究会編「化学物質安全性データブック」(オーム社)
 1994.
 *3： Hazardous Substances Data Bank(HSDB), U.S. National Library of Medicine
 (1995).

1.2 被験物質の確認及び保管条件下での安定性

被験物質は当研究所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、被験物質の特性と矛盾が認められないことを確認した。暴露終了後にも同様にスペクトルを測定し、暴露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無かったことより被験物質は当研究所の冷蔵庫に保管中は安定であったと判断された。

2 試験生物

試験に使用したヒメダカ(*Oryzias latipes*)を下記に示した。開始時の試験生物の体長(被鱗体長)は 2.0 ± 0.5 cmであった。

- 1) 一般名： ヒメダカ
- 2) 学名： *Oryzias latipes*
- 3) 体長： 1.8 cm (1.7~2.0 cm), n=10
- 4) 体重： 0.090 g (0.078~0.11 g), n=10
- 5) ロット番号： LNR-980106
- 6) 購入先： 中島養魚場(〒869-0123 熊本県玉名郡長洲町大明神)
- 7) 購入日： 1997 年 12 月 24 日

順化

試験条件と同条件(水質、温度等)で 12 日間以上、飼育順化した。順化開始時にエルバージュ(上野製薬製)を用いて止水状態で 24 時間薬浴を行った。餌は市販のテトラミン(テトラベルケ社)を与えた。暴露開始の 24 時間前からは給餌しなかった。試験には健康で肉眼的に正常な個体を使用した。暴露開始前 7 日間の死亡率は 5%以下であった。また、基準物質〔硫酸銅(Ⅱ)五水和物、試薬特級、和光純薬工業株式会社〕の 96 時間 LC50 は 0.427 mg/L であった。

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式： 被験物質を含む試験液へ試験生物を暴露する薬浴方式を用いた。
試験は密閉系流水式で行った。
- 2) 暴露期間： 14日間
- 3) 連 数： 1試験区につき1連
- 4) 生物数： 10尾／1試験区
- 5) 試験液量： 1試験容器(1連)につき3.4 L
- 6) 流 水 量： 25.0 mL／分
- 7) 換 水 率： 約10回／日
- 8) 試験水温： $24\pm 1^{\circ}\text{C}$
- 9) 照 明： 室内光、16時間明／8時間暗
- 10) 給 餌： テトラミン(テトラベルケ社)を毎日魚体重の2%与えた。
- 11) エレクション： なし

3.2 希 釈 水

脱塩素水道水(久留米市水道水を活性炭処理し、残留塩素等を除去したもので、充分通気した)を使用した。希釈水の主な水質として、硬度は $40.5\text{ mg/L}(\text{CaCO}_3\text{ 換算})$ 、pHは7.6であった。残留塩素については1日に1回オルトトリジン法により残留塩素濃度が 0.02 mg/L 以下であることを確認した。

[付属資料-1]

3.3 試験装置、試験容器及び恒温槽等

- 1) 試 験 容 器： 3.4 L容のガラス製容器(直径16 cm、深さ17 cm)を用いた。
密閉にするため容器上面をガラス板で覆い、入水及び排水用の穴をあけた。
- 2) 恒 温 槽： 加温冷却機によって試験容器内の水温を $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ に維持する恒温槽を用いた。
- 3) 希 釈 装 置： 試験原液から必要な濃度段階に希釈された試験液を連続的に供給するものを用いた。
- 4) 定量ポンプ： ガラス微量定量ポンプGMW-A型(東京理化器械株式会社)
- 5) 水 温 計： 検定済ガラス製棒状温度計
- 6) pH 計： ガラス電極式水素イオン濃度計 HM-11P 型(東亜電波工業)
- 7) 溶存酸素計： 溶存酸素計58型(Yellow Springs Instrument Co., Inc.)

3.4 試験濃度の設定

魚類急性毒性試験の結果である96時間LC50(>100 mg/L)から、試験濃度は100 mg/Lを最高濃度として公比2.0で4濃度区(100、50.0、25.0及び12.5 mg/L)を設定した。対照には希釈水のみに対照区を設けた。

3.5 試験液の調製

必要量の被験物質を希釈水に添加し〔密度(0.786 g/mL)換算し、容量で添加〕、マグネティックスターラーを用いて攪拌を行い、20,000 mg/Lの被験物質溶液を調製した。この被験物質溶液を適宜希釈して、各濃度区毎に試験原液を調製した(100 mg/L区：1,000 mg/L、50.0 mg/L区：500 mg/L、25.0 mg/L区：250 mg/L、12.5 mg/L区：125 mg/L)。試験液は試験原液と希釈水を一定流量(試験原液：2.5 mL/分、希釈水：22.5 mL/分)で混合して調製した。試験原液の流量は定量ポンプを用い、希釈水の流量は流量調節コック及びキャピラリー管を用いて調節した。

3.6 試験液の分析

暴露開始時(0日目)、7日目及び暴露終了時(14日目)に各試験容器の中層より試験液を採取した後、そのまま若しくは希釈してGCにより分析した。試験液の分析に際しては、標準溶液(濃度49.9 mg/L)の測定を行い、そのピーク面積比から定量した。詳細は付属資料-2に示した。

3.7 試験操作

暴露開始時に試験生物と同水槽で順化した魚10尾の重量及び被鱗体長を測定し、被鱗体長で 2.0 ± 0.5 cmであることを確認した。試験液の被験物質濃度が安定した後、各試験区の試験液の水溫、溶存酸素濃度、pHを測定後、試験容器中に試験生物を1試験区当り10尾投入した。

暴露開始後、週2回各試験区の試験液の水溫、溶存酸素濃度、pHを測定した。

暴露期間中、餌は1日当たり個体重量の約2%を与えた。死亡により個体数が減少した場合は、その分給餌量を減らした。

暴露開始後、毎日死亡個体数を記録するとともに観察された一般的症例或いは特異的症例(背曲がり、出血、体色変化、粘液の分泌等)を記録した。一般的症例と定義を下記に示した*。死亡個体を発見した場合水質の悪化が起こらないよう速やかに取り除いた。暴露終了時には全ての生存個体の重量及び被鱗体長を測定記録した。

* 一般的症例と定義

死 亡： 刺激を与えた場合に反応の認められないもの。

摂餌量低下： 軽度の症状の一つで、対照区の魚と比較して餌の食べ残しがあること。

異常呼吸： 対照区の魚と比較して鰓蓋の動きが異なるもの。

異常遊泳： 明らかに対照区の魚と異なる遊泳をしたもの。動作の緩慢、過敏、痙攣、反転等。

遊泳不能： 底部または水面で動いてはいるものの、水中を遊泳することが不可能なもの。横転、仮死を含む。

3.8 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8202-1985 参考 3 規則 B によった。

4 結果の算出

得られたデータを基に以下の3項目の結果を算出した。結果の算出には被験物質濃度の測定濃度が設定値の $\pm 20\%$ 以内であったので設定濃度を用いた。

4.1 最小致死濃度及び最小作用濃度

試験において死亡個体が観察された濃度区の最も低い濃度を最小致死濃度とした。

試験において試験生物に致死以外の他の作用が観察された濃度区の最も低い濃度を最小作用濃度とした。

4.2 最大無作用濃度(NOEC)

暴露終了時における生存個体の重量について、Bartlett法による等分散検定を行った後、各濃度区と対照群との有意差の有無を一元配置分散分析により調べた。

この生存個体の重量有意差検定結果及び試験生物の死亡率や観察された症状等も含めてNOECを評価した。

4.3 半数致死濃度(LC50)の算出

試験最高濃度で50%以上の死亡率が得られなかったため、7及び14日における半数致死濃度(LC50)は「>試験最高濃度」と表した。

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
該当する要因はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時(0日目)、7日目及び暴露終了時(14日目)に試験液中の被験物質濃度を測定した。被験物質の測定濃度の設定値に対する割合は、暴露開始時で96.1～100%、7日目で89.5～96.5%、暴露終了時で96.6～98.6%であった。

[Table 1 (p.10), 付属資料-2]

5.3 最小致死濃度、最小作用濃度

試験最高濃度において死亡個体及び症状共に観察されなかったため、最小致死濃度並びに最小作用濃度は「>試験最高濃度」(>100 mg/L)と表した。

(上記濃度は設定濃度を示す)

[Table 2, 4 (p.11, 13, 14)]

5.4 半数致死濃度(LC50)

7日間及び14日間の設定濃度に基づく半数致死濃度(LC50)は共に>100 mg/Lであった。

(上記濃度は設定濃度を示す)

[Table 3 (p.12), Figure 1 (p.19)]

5.5 毒性症状及び摂餌状況

全濃度区及び対照区共に暴露期間中に症状及び摂餌低下は観察されなかった。

[Table 4 (p.13, 14)]

5.6 暴露終了時における試験生物の生存個体重量

2-プロパノールに14日間暴露したヒメダカの生存個体重量は、すべての濃度区において対照区と比較して有意差は認められなかった。

($p=0.05$ 、統計的方法：一元配置分散分析)

[Table 5 (p.15)]

5.7 最大無作用濃度

本試験における最小致死濃度及び最小作用濃度はいずれも>100 mg/Lであった。また、本試験最高濃度(100 mg/L)においても試験生物の生存個体重量に関して対照区との間に有意差は認められなかった。これらの結果より本試験の最大無作用濃度(NOEC)は100 mg/L以上と判断した。

(上記濃度は、全て設定濃度を示す)

[Table 2, 4, 5 (p.11, 13~15)]

5.8 試験液の水溫、溶存酸素濃度及びpH

暴露期間中に測定した水溫は23.9~24.4℃であった。溶存酸素濃度は7.7~8.1 mg/Lであり、飽和溶存酸素濃度の60%以上であった(24.0℃の飽和溶存酸素濃度：8.25 mg/L)。pHは7.2~7.9であった。

[Table 6~8 (p.16~18)]

5.9 試験液の状態

暴露開始時には無色透明であり、その状態は暴露終了時まで変わらなかった。

以 上

Table 1. Concentrations of 2-propanol in prolonged toxicity test (14-day) using orange killifish (*Oryzias latipes*) under flow-through test conditions

Nominal concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L) (Percentage of nominal)			
	0-day	7-day	14-day	Mean ^{a)}
Control	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
12.5	12.5 (100)	11.2 (89.5)	12.1 (96.9)	11.9 (95.6)
25.0	24.5 (98.1)	23.4 (93.8)	24.6 (98.6)	24.2 (96.8)
50.0	48.1 (96.1)	48.2 (96.5)	48.6 (97.1)	48.3 (96.6)
100	98.8 (98.8)	96.3 (96.3)	96.6 (96.6)	97.2 (97.2)

n.d. : < 6.24 mg/L

a) The values are expressed as arithmetic means calculated by the following equation:

$$(C_0 + C_7 + C_{14}) / 3$$

where

C_0 : the measured concentration at 0-day

C_7 : the measured concentration at 7-day

C_{14} : the measured concentration at 14-day.

Table 2. Mortality of orange killifish (*Oryzias latipes*) exposed to 2-propanol under flow-through test conditions

Nominal concentration (mg/L)	Cumulative number of dead fish (Percent mortality)						
	1-day	2-day	3-day	4-day	5-day	6-day	7-day
Control	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
12.5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
25.0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
50.0	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)

Table 2. (continued)

Nominal concentration (mg/L)	Cumulative number of dead fish (Percent mortality)						
	8-day	9-day	10-day	11-day	12-day	13-day	14-day
Control	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
12.5	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
25.0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
50.0	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)

Table 3. Calculated LC50 values for orange killifish (*Oryzias latipes*) exposed to 2-propanol based on nominal concentrations

Exposure time (day)	LC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)	Statistical method
7	> 100	-	-
14	> 100	-	-

Table 4. Toxic symptoms observed in orange killifish (*Oryzias latipes*) during exposure to 2-propanol under flow-through test conditions

Nominal concentration (mg/L)	Symptoms						
	1-day	2-day	3-day	4-day	5-day	6-day	7-day
Control	-	-	-	-	-	-	-
12.5	-	-	-	-	-	-	-
25.0	-	-	-	-	-	-	-
50.0	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-

- : No symptom

Table 4. (continued)

Nominal concentration (mg/L)	Symptoms						
	8-day	9-day	10-day	11-day	12-day	13-day	14-day
Control	-	-	-	-	-	-	-
12.5	-	-	-	-	-	-	-
25.0	-	-	-	-	-	-	-
50.0	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	-	-	-	-

- : No symptom

Table 5. Individual weight (g) of survival organisms at the end of exposure

No.	Nominal concentration (mg/L)				
	Control	12.5	25.0	50.0	100
1	0.118	0.0988	0.0846	0.0996	0.110
2	0.104	0.131	0.0849	0.0858	0.108
3	0.103	0.0872	0.118	0.104	0.109
4	0.118	0.119	0.0899	0.0887	0.113
5	0.122	0.0956	0.108	0.0978	0.0902
6	0.0753	0.112	0.116	0.0946	0.0818
7	0.0829	0.0914	0.0834	0.0828	0.0888
8	0.0806	0.0937	0.0831	0.104	0.0801
9	0.114	0.0920	0.0786	0.183	0.0966
10	0.0921	0.0678	0.0791	0.0769	0.0989
Mean	0.101	0.0989	0.0926	0.102	0.0976
S.D.	0.0173	0.0178	0.0153	0.0300	0.0121

Table 6. Temperature of test solutions during 14-day flow-through exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)	Temperature (°C)				
	0-day	3-day	7-day	10-day	14-day
Control	24.0	23.9	24.1	24.4	24.1
12.5	24.0	23.9	24.1	24.4	24.1
25.0	24.0	23.9	24.2	24.4	24.1
50.0	24.0	23.9	24.1	24.4	24.1
100	24.0	23.9	24.1	24.4	24.1

Table 7. Dissolved oxygen concentrations of test solutions during 14-day flow-through exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)	Dissolved oxygen concentration (mg/L)				
	0-day	3-day	7-day	10-day	14-day
Control	8.0	8.1	7.8	7.8	7.9
12.5	8.1	8.1	7.9	7.8	7.7
25.0	8.1	8.0	7.9	7.8	7.7
50.0	8.1	8.0	7.9	7.8	7.7
100	8.1	8.0	7.9	7.8	7.7

Table 8. pH values of test solutions during 14-day flow-through exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)	pH				
	0-day	3-day	7-day	10-day	14-day
Control	7.2	7.6	7.9	7.7	7.2
12.5	7.3	7.7	7.9	7.7	7.2
25.0	7.4	7.7	7.9	7.8	7.3
50.0	7.5	7.7	7.9	7.8	7.4
100	7.5	7.7	7.8	7.8	7.4

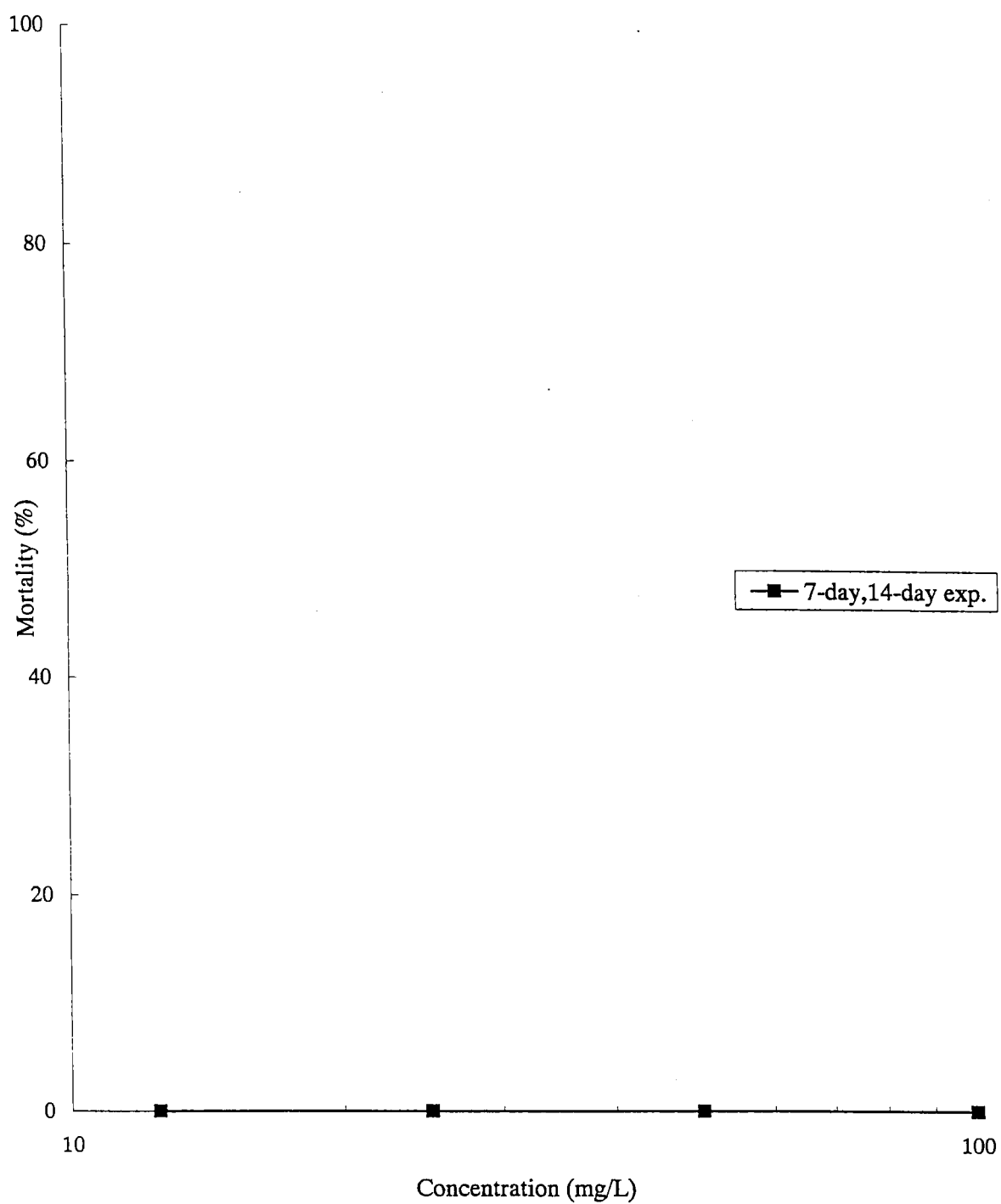


Figure 1. Concentration - toxicity curve of 2-propanol in orange killifish (*Oryzias latipes*) .

付属資料－1

希釈水の水質

(全 2 頁)

Appendix 1. Water quality of dilution water

Parameter	Concentration	Lower limit
	1997.Aug.21	of detection
pH	7.6	
COD (mg/L)	<0.5	
Coliform group bacteria (MPN/100mL)	0	
Total phosphorus (mg/L)	0.004	
Total mercury (mg/L)	n.d.	0.0005
Copper (mg/L)	n.d.	0.005
Cadmium (mg/L)	n.d.	0.005
Zinc (mg/L)	n.d.	0.01
Lead (mg/L)	n.d.	0.005
Aluminium (mg/L)	n.d.	0.1
Nickel (mg/L)	n.d.	0.01
Total chromium (mg/L)	n.d.	0.02
Manganese (mg/L)	n.d.	0.01
Tin (mg/L)	n.d.	0.5
Iron (mg/L)	0.03	0.01
Cyanide (mg/L)	n.d.	0.1
Free chlorine (mg/L)	n.d.	0.01
Bromide ion (mg/L)	n.d.	0.1
Fluoride (mg/L)	n.d.	0.15
Sulfide ion (mg/L)	n.d.	0.1
Ammonia nitrogen (mg/L)	n.d.	0.01
Arsenic (mg/L)	n.d.	0.002
Selenium (mg/L)	n.d.	0.002
Evaporation residue (mg/L)	116	
Electric conductivity (μs/cm)	148	
Total hardness (as CaCO ₃) (mg/L)	40.5	
Alkalinity (mg/L)	29.0	
Sodium (mg/L)	10.2	
Potassium (mg/L)	2.92	
Calcium (mg/L)	10.4	
Magnesium (mg/L)	3.52	

Appendix 1. (continued)

Parameter		Concentration	Lower limit of detection
		1997.Aug.21	
1,2-Dichloropropane	(mg/L)	n.d.	0.006
Diazinon	(mg/L)	n.d.	0.0005
Isoxathion	(mg/L)	n.d.	0.0008
Fenitrothion (MEP)	(mg/L)	n.d.	0.0003
Isoprothiolane	(mg/L)	n.d.	0.004
Oxine copper	(mg/L)	n.d.	0.004
Chlorothalonil (TPN)	(mg/L)	n.d.	0.004
Propyzamide	(mg/L)	n.d.	0.0008
EPN	(mg/L)	n.d.	0.0006
Dichlorvos (DDVP)	(mg/L)	n.d.	0.001
Fenobucarb (BPMC)	(mg/L)	n.d.	0.002
Iprobenfos (IBP)	(mg/L)	n.d.	0.0008
Chlornitrofen (CNP)	(mg/L)	n.d.	0.0005
Thiram	(mg/L)	n.d.	0.0006
Simazine (CAT)	(mg/L)	n.d.	0.0003
Thiobencarb	(mg/L)	n.d.	0.002
PCB	(mg/L)	n.d.	0.0005

n.d. : not detected

付属資料－2

試験液の分析方法及び分析チャート

(全 6 頁)

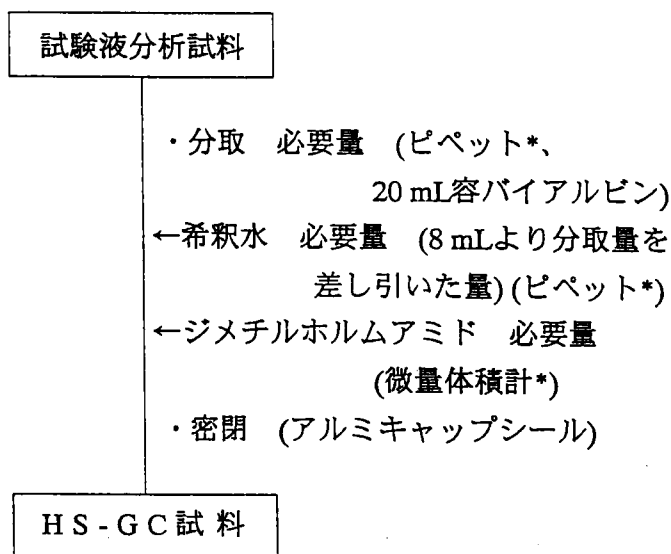
試 験 名 : 魚類延長毒性試験
被験物質物質名 : 2-プロパノール

1) 試験液の分析方法

(1) 試験液の前処理操作

採取した溶液は、そのまま若しくは希釈して以下のフロースキームに従いヘッドスペース-ガスクロマトグラフィー(HS-GC)によって分析した。

フロースキーム



* エッペンドルフ社製

HS-GC試料中の被験物質濃度は、クロマトグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた。

(2) 被験物質溶液の調製

被験物質127 μ L[99.8 mg=127 μ L \times 0.786 g/mL(密度)]をマイクロシリンジで分取し、ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解して3,990 mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをDMFで希釈して998 mg/Lの被験物質溶液を調製した。

(3) 標準溶液の調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための標準溶液の調製は次のようにして行った。20 mL容バイアルビンに希釈水8 mLを添加し、これに3,990 mg/Lの被験物質溶液を100 μ L、更にDMF含有量が2.5%になるようにDMFを添加した後、直ちにアルミキャップシールを行い、49.9 mg/Lの標準溶液とした。

2) 定量条件

ヘッドスペース オートサンプラー条件

機 器	PERKIN ELMER Head Space Sampler HS40 PERKIN ELMER製
サンプル加熱温度	90℃
ニードル温度	140℃
トランスファー温度	150℃
注 入 時 間	0.08分
加 熱 時 間	30分

ガスクロマトグラフ条件

機 器	ガスクロマトグラフ HEWLETT PACKARD製 HP 5890 Series- II
検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
カ ラ ム	50 m×0.25 mm
液 相	NeutraBond-1 膜厚 1.5 μm
カラム温度	40℃ (1 min)→170℃ (1 min)
昇 温 速 度	10℃/min
試料導入部温度	200℃
検 出 器 温 度	250℃
スプリット比	1 : 75
キャリアーガス	ヘリウム 150 kpa
水 素	2.2 Kg/cm ²
空 気	2.8 Kg/cm ²
感 度	
検 出 器	レンジ 2 ⁰ , 1 V/FS
記 録 計	ATTEN 2 ⁶

3) 検量線の作成

(3)の標準溶液の調製と同様にして25.0、49.9及び99.8 mg/Lの標準溶液を調製した。また、998 mg/Lの被験物質溶液より6.24 mg/Lの標準溶液を調製した。これらを分析機器の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのクロマトグラム上のピーク面積と濃度により、検量線を作成した。

Content of figure

- Figure 1. Calibration curve of 2-propanol by GC analysis.
- Figure 2-1. Example of chromatogram.
(standard solution of 49.9 mg/L, 0-day)
- Figure 2-2. Example of chromatogram.
(test solution of 25.0 mg/L as nominal concentration, 0-day)
- Figure 2-3. Example of chromatogram.
(test solution of control, 0-day)
- Figure 2-4. Example of chromatogram.
(standard solution of 49.9 mg/L, 14-day)
- Figure 2-5. Example of chromatogram.
(test solution of 25.0 mg/L as nominal concentration, 14-day)
- Figure 2-6. Example of chromatogram.
(test solution of control, 14-day)

Input data

Run	Concentration (mg/L)	Peak area (μ V·sec)
1	6.24	8141
2	25.0	33749
3	49.9	66923
4	99.8	138540

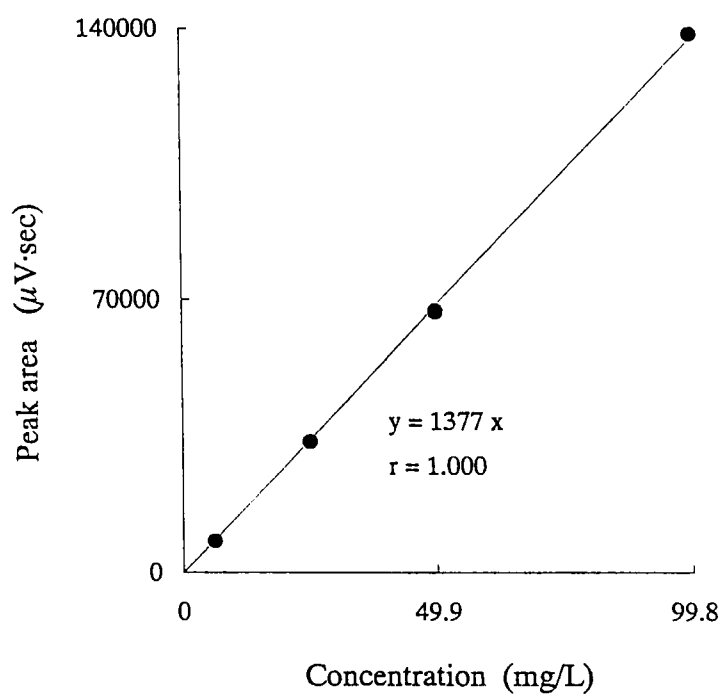


Figure 1. Calibration curve of 2-propanol by GC analysis.

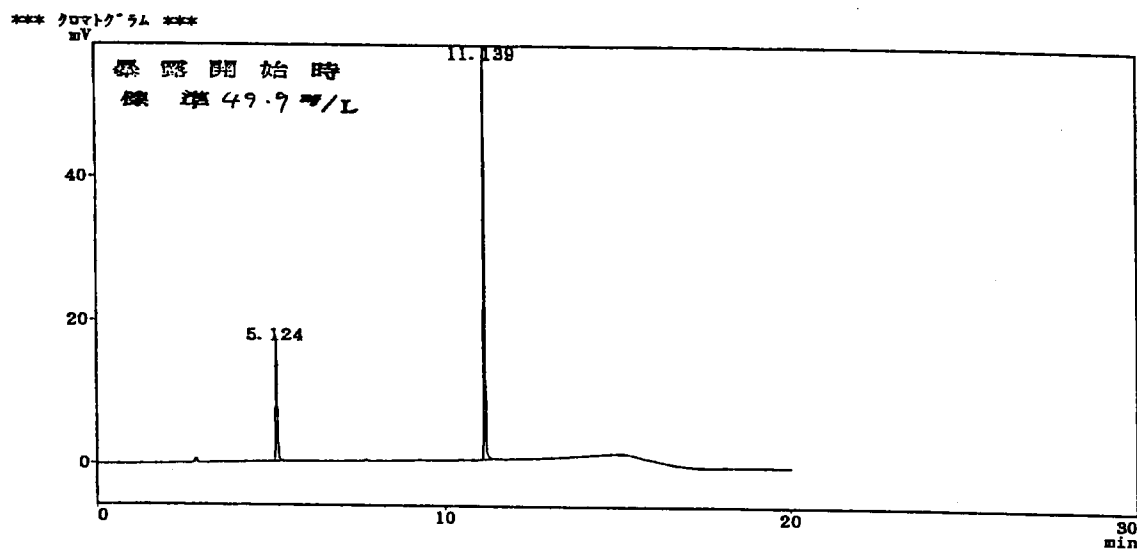


Figure 2-1. Example of chromatogram.
(standard solution of 49.9 mg/L, 0-day)

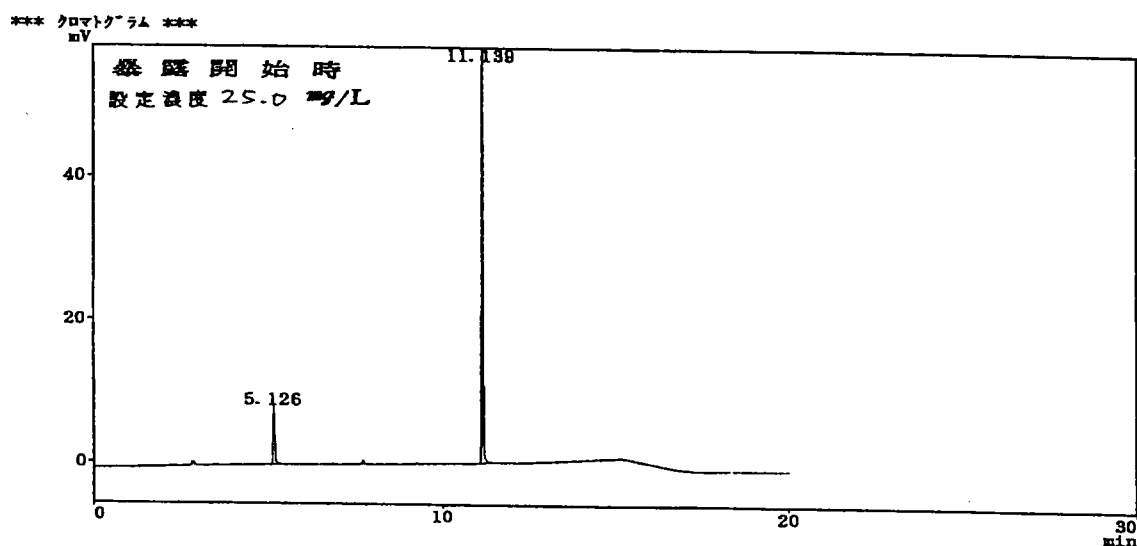


Figure 2-2. Example of chromatogram.
(test solution of 25.0 mg/L as nominal concentration, 0-day)

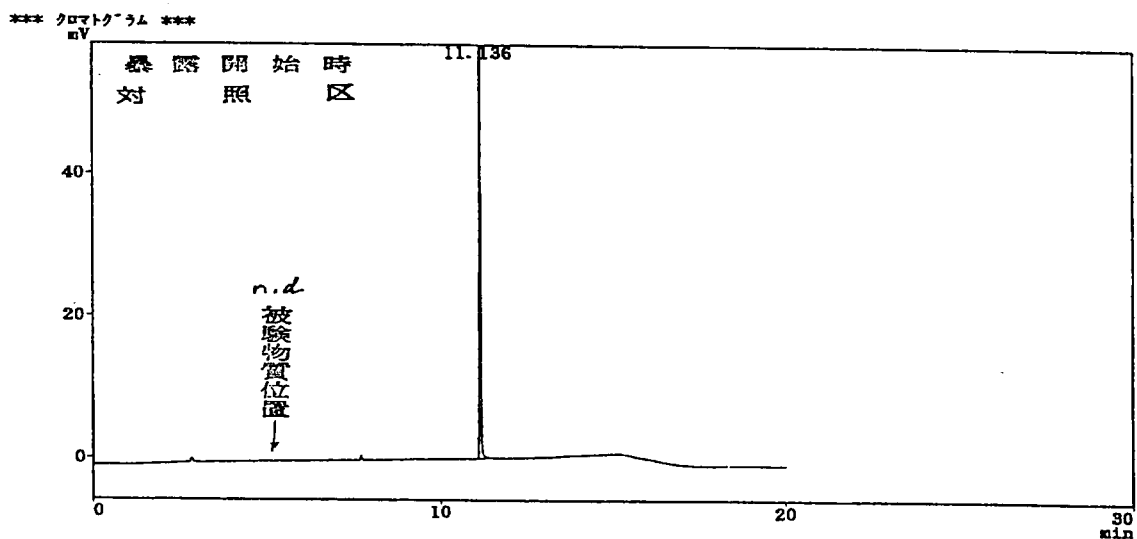


Figure 2-3. Example of chromatogram.
(test solution of control, 0-day)

*** クロマトグラム ***

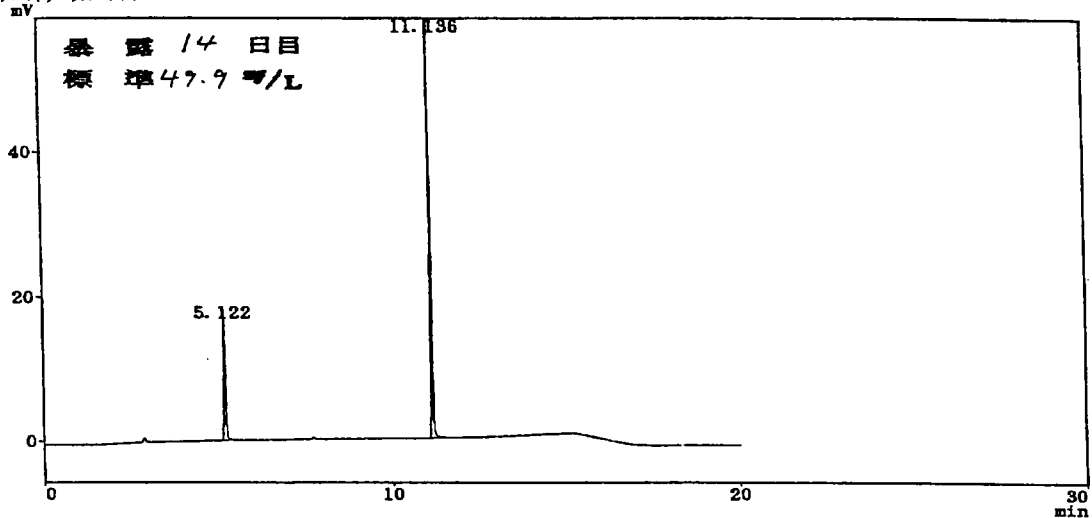


Figure 2-4. Example of chromatogram.
(standard solution of 49.9 mg/L, 14-day)

*** クロマトグラム ***

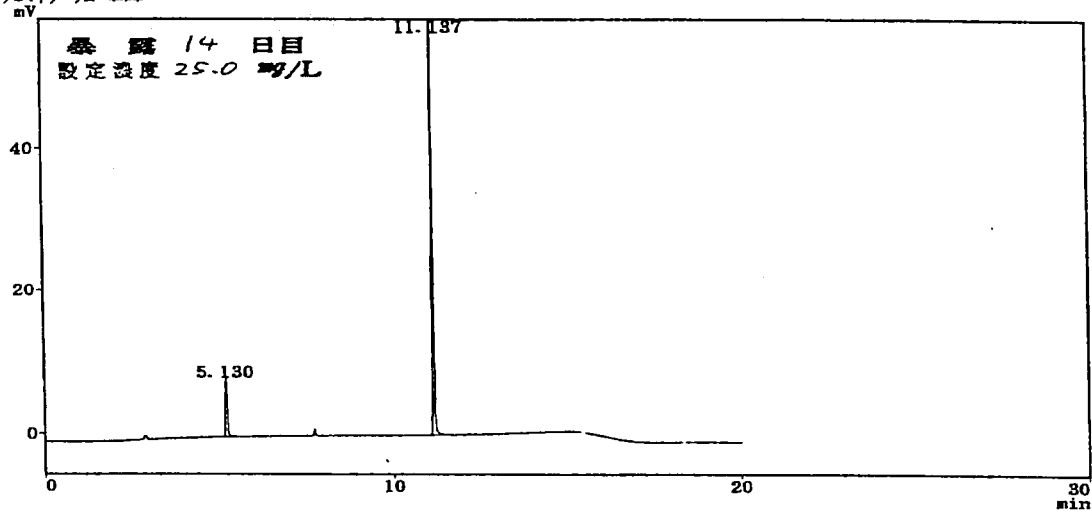


Figure 2-5. Example of chromatogram.
(test solution of 25.0 mg/L as nominal concentration, 14-day)

*** クロマトグラム ***

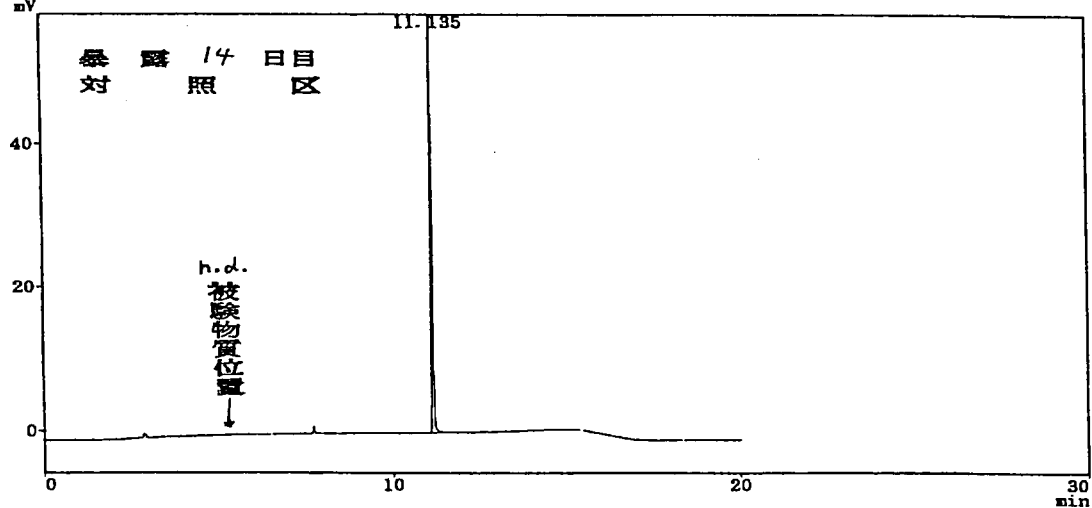


Figure 2-6. Example of chromatogram.
(test solution of control, 14-day)