

環境庁殿

試 験 報 告 書

1-ブタノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験－14日間

(試験番号：EFP96004)

平成 9 年 4 月 25 日作成

住化テクノス株式会社

陳 述 書

住化テクノス株式会社

試験委託者： 環境庁

表題： 1-ブタノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する  
延長毒性試験－14日間

試験番号： EFP96004

上記試験は環境庁の「生態影響試験実施に関する基準」に従って実施したものである。

平成 9 年 4 月 25 日

運営管理者



## 信頼性保証証明書

試験表題： 1-ブタリ-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： EFP96004

本最終報告書の試験は、当施設の信頼性保証部門に関する標準操作手順書に従って下記の査察を受けている。

査察項目	査察日	報告日	
	QAU	試験責任者	運営管理者
試験計画書	平成9年3月17日	平成9年3月17日	平成9年3月17日
試験査察	平成9年3月19日	平成9年3月19日	平成9年3月19日
最終報告書	平成9年4月18日 平成9年4月25日	平成9年4月21日 平成9年4月25日	平成9年4月25日

本試験は適正に実施されており、本最終報告書は試験した方法、手順が正確に記録され、かつ、試験の生データを正確に反映していることを認めます。

平成9年4月25日  
住化テクノス株式会社  
信頼性保証責任者



## 試験実施概要

1. 表題： 1-ブタノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する  
延長毒性試験-14日間
2. 試験目的： 1-ブタノールについて、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および最大無作用濃度 (NOEC) を求める。
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. 204 「魚類延長毒性試験-14日間」 (1984年) に準拠して実施した。
4. 適用GLP：本試験は環境庁の「生態影響試験実施に関する基準」に準拠した。
5. 試験委託者  
名称： 環境庁  
住所： 〒100 東京都千代田区霞が関1丁目2番2号  
試験委託担当者： XXXXXXXXXX
6. 試験受託者：  
名称： 住化テクノス株式会社  
所在地： 〒665 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号
7. 試験施設：  
名称： 住化テクノス株式会社  
所在地： 〒665 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

## 8. 試験関係者：

試験責任者

[REDACTED]

[REDACTED]

(平成 9 年 4 月 25 日)

試験担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(平成 9 年 4 月 25 日)

9. 試験期間：
- |       |    |    |    |                 |
|-------|----|----|----|-----------------|
| 試験開始日 | 平成 | 9年 | 3月 | 17日             |
| 試験終了日 | 平成 | 9年 | 4月 | 25日             |
| 暴露期間  | 平成 | 9年 | 3月 | 19日～平成 9年 4月 2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、住化テクノス株式会社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	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	11
3.7 試験操作	11
4. 結果の算出	12
4.1 最小致死濃度、最小作用濃度、最大無作用濃度	12
4.2 半数致死濃度 (LC50) の算出	12
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 試験液の被験物質濃度	12
5.3 最小致死濃度および最小作用濃度	12
5.4 半数致死濃度 (LC50)	13
5.5 毒性症状および摂餌状況	13
5.6 供試魚の体重および体長	13
5.7 最大無作用濃度	13
5.8 試験液の水溫、溶存酸素濃度および pH	13
Table 1~9	14~21
Figure 1	22
付属資料-1 希釈水の水質	23
付属資料-2 試験液の分析方法	25

## 要 旨

### 試験委託者

環境庁

### 表 題

1-ブタノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験－14日間

### 試験番号

EFP96004

### 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： 1-ブタノール
- 2) 方式： 流水式 (定量ポンプを用いる連続希釈装置を使用)
- 3) 供試生物： ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 4) 試験濃度： 対照区10, 22, 46および100mg/L (濃度公比：2.2)
- 5) 暴露期間： 14日間
- 6) 試験液量： 5.0 L
- 7) 生物数： 10尾/試験区
- 8) 照明： 16時間明/8時間暗 (室内光)
- 9) エアレーション： なし
- 10) 温度： 24±2℃
- 11) 試験液中の被験物質の分析： GC法

### 結 果

- 1) 14日間の最小致死濃度=100mg/L
- 2) 14日間の最小作用濃度=100mg/L
- 3) 14日間の最大無作用濃度 (NOEC) =46mg/L
- 4) 7日間の半数致死濃度 (LC50) =100mg/L以上
- 5) 14日間の半数致死濃度 (LC50) =85mg/L (95%信頼区間:算出不可)  
(上記濃度は、全て設定値に基づく値)

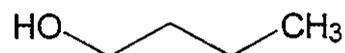
## 1. 被験物質

## 1.1 名称、構造式および物理化学的性状

名称： 1-ブタノール

(CAS番号：71-36-3、略称：BTA、識別番号：96B)

構造式：

分子式：  $C_4H_{10}O$ 

分子量： 74.12

1-オクタノール/水分配係数 (log P) : 0.84\*

水への溶解度：77g/L\*

蒸気圧： 7.02mmHg at 25°C\*

\* The Dictionary of Substances and their Effects. Vol.1 (1992)より引用

## 1.2 供試試料

購入先： XXXXXXXXXX

入手日： 平成 8年12月20日

ロット番号：LEF5803

外 観： 無色透明液体

純 度： 99.9%

## 1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性

被験物質は当社の試薬棚に保管した。

入手した被験物質についてIR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。暴露終了時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、スペクトルに変化が無かったことより被験物質は当社の試薬棚に保管中は安定であったと判断された。

## 2. 供試生物

試験に使用したヒメダカ (*Oryzias latipes*) を下記に示した。供試魚の体長 (被鱗体長) は $2.0 \pm 0.5$ cmであった。

- 1) 一般名 : ヒメダカ
- 2) 学名 : *Oryzias latipes*
- 3) 被鱗体長 : 2.2cm (2.0~2.3cm), n=10
- 4) 体重 : 0.16g (0.11~0.21g), n=10
- 5) ロット番号 : K-961113
- 6) 購入先 : 滋賀県南郷水産センター
- 7) 購入日 : 平成 8年11月13日

### 馴化

試験条件と同条件 (水質、温度等) で12日間以上、飼育馴化した。餌は市販のテトラミンステーブルフードを与えた。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%未満であった。また、供試魚の基準物質 (硫酸銅 (II) 五水和物 : 試薬特級、Lot No. SKM2884、和光純薬工業(株) による急性毒性試験の結果、96時間LC50は5.7mg/Lであった。

## 3. 試験方法

### 3.1 試験条件

- 1) 方式 : 流水式 (定量ポンプを用いる連続希釈装置を使用、試験液交換率10回/日)
- 2) 暴露期間 : 14日間
- 3) 連数 : 1濃度区につき1連
- 4) 生物数 : 10尾/試験区
- 5) 試験液量 : 5.0L
- 6) 温度 :  $24 \pm 2$ °C
- 7) 照明 : 16時間明/8時間暗 (室内光)
- 8) 給餌 : 市販のテトラミンステーブルフードを毎日、暴露開始時の魚体重の 2%与えた (生存魚数によって調整)
- 9) エアレーション : なし

### 3.2 希釈水

脱塩素水（宝塚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、硬度が63.1mg/L（CaCO<sub>3</sub>換算）、pHが8.1であった。

[付属資料-1]

### 3.3 試験装置、試験容器および恒温槽等

流水式試験装置：試験原液送液ポンプとしてガラス定量ポンプ（GMW型 東京理化工機株式会社製）、希釈水送液ポンプとしてローラーポンプ（RP-MRF型 古江サイエンス株式会社製）を用い、双方の送液をシリコ栓をした混合槽（300mL容ガラス製枝付三角フラスコ）中でスターラーを用いて攪拌し、所定濃度の試験液を得る装置を使用した。得られた試験液は試験水槽へ流入させ、サイホン管により排出した。対照区への希釈水の送液には、ガラス定量ポンプ（GMWA型 東京理化工機株式会社製）を使用した。

試験容器： ガラス製中蓋を設置し半密閉容器とした5.0L容総ガラス製水槽（内寸約21×16×23cm）

恒温槽： FRP製恒温槽（内寸 249×82.5×26.5cm、温水・冷水で水温制御）

水温計： 電子温度計（PC-2200株式会社佐藤計量器製作所）

pH計： F-15（堀場製作所製）

溶存酸素計： 58型（YSI製）

### 3.4 試験濃度の設定

当被験物質のヒメダカに対する急性毒性試験の結果、96時間のLC<sub>50</sub>値が100mg/L以上（住化テクノス報告番号：EFA96006）であったため、試験最高濃度は100mg/Lとした。また、最低濃度を10mg/Lに設定し、14日間の暴露期間中中毒症状が発現しないことが確保されるよう配慮した。濃度公比は2.2とし、10, 22, 46および100mg/Lの4濃度を本試験濃度として採用した。

### 3.5 試験液の調製

試験液は流水式試験装置により、各試験濃度に対応する試験原液を希釈水で連続希釈することにより得た。

試験原液は試験区毎に必要な量の被験物質を個別秤量し、10L容密閉容器（テドラー®バッグ）中で希釈水と混和し、設定の20倍濃度の原液を10L調製した。各試験原液は設定流量1.8mL/分で送液し、一方希釈水は設定流量34.2mL/分で送液し、所定濃度の試験液を調製した。対照区は、希釈水のみを36mL/分で送液した。調製された試験原液および試験液は全て透明であった。また、試験原液は3日毎に交換した。

なお、暴露開始時の試験液は各濃度区毎に必要な量の被験物質を電子天秤を用いて個別秤量し、希釈水で希釈して設定濃度10, 22, 46および100mg/Lの試験液を調製した。

### 3.6 試験液の分析

全試験区について暴露開始時(0日)、7日および14日に、あらかじめ塩化ナトリウムおよびジクロロメタンを入れた遠心管に試験液8mLを採取し、振盪抽出後、GCにより分析した。試験液の分析に際しては、試料のピーク高さから絶対検量線法により定量した。詳細は付属資料-2に示した。なお、実際の物理化学的試験は(株)住化分析センターで実施した。

### 3.7 試験操作

暴露開始時に供試魚と同水槽で馴化した魚10尾の重量および被鱗体長を測定し、被鱗体長で $2.0 \pm 0.5$ cmであることを確認した。各試験区のpH、溶存酸素濃度、水温を測定後、試験水槽中に供試魚を1試験区当たり10尾投入した。

暴露開始後、週3回各試験区の水温、pH、溶存酸素濃度を測定した。

暴露期間中、餌は一日あたり個体重量の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、毎日死亡個体数および毒性症状の観察は、下記の定義に従って実施した。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魚の重量および被鱗体長を測定記録した。

#### 一般的症例と定義

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。

摂餌量の低下： 対照区の魚と比較して餌の残しがあること。

死亡： 刺激を与えた場合に反応の認められないもの。

#### 4. 結果の算出

##### 4.1 最小致死濃度、最小作用濃度、最大無作用濃度

試験において被験物質の影響により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。

試験において供試魚に致死以外の他の作用も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。

致死やその他の作用が認められない最高試験濃度区を最大無作用濃度（NOEC）とした。

##### 4.2 半数致死濃度（LC50）の算出

暴露7日および14日における半数致死濃度（LC50）の内、暴露7日目は死亡数の関係により統計処理（Binomial法、Moving average法およびProbit法）できなかつた。暴露14日目においてはBinomial法で算出したが、95%信頼限界は得られなかつた。

#### 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

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は特に認められなかつた。

##### 5.2 試験液の被験物質濃度

暴露開始時、7日後および14日後に試験液中の被験物質濃度を測定した。暴露期間中の平均被験物質濃度は11, 22, 48および100mg/L（設定値10, 22, 46および100mg/L）であり、設定濃度に対する割合は100～110%であった。このため、以下の濃度は設定濃度で示す。

[Table 1(p.14), 付属資料-2]

##### 5.3 最小致死濃度および最小作用濃度

試験において、被験物質の影響によると思われる死亡個体が観察された濃度区の最も低い濃度（最小致死濃度）は100mg/Lであった。

試験において、供試魚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（最小作用濃度）は100mg/Lであった。

[Tables 2 & 4 (p.15 & 17), Figure 1 (p.22)]

#### 5.4 半数致死濃度 (LC50)

7日および14日の半数致死濃度 (LC50) はそれぞれ100mg/L以上および85mg/Lであった。

[Table 3 (p. 16), Figure 1 (p. 22)]

#### 5.5 毒性症状および摂餌状況

毒性症状として試験最高濃度100mg/L区で異常遊泳が観察された。対照区では暴露期間中に異常な症状は観察されなかった。

ヒメダカの摂餌低下は、全試験区において認められなかった。

[Table 4 (p. 17)]

#### 5.6 供試魚の体重および体長

1-ブタノールに14日間暴露したヒメダカの体重および被鱗体長は、いずれの濃度区においても対照区と比較して、有意な差は認められなかった ( $\alpha=0.05$ 、統計的方法: Dunnett 1-side)。

[Tables 5 & 6 (p. 18 & 19)]

#### 5.7 最大無作用濃度

死亡個体が対照区と比較して有意な差が認められない濃度区の最も高い濃度区は46mg/L、毒性症状が観察されない濃度区の最も高い濃度区は46mg/L、摂餌状況に異常が認められない濃度区の最も高い濃度区は100mg/Lであった。これらの内、最も低い46mg/Lが最大無作用濃度 (NOEC) であると判断した。

[Tables 2, 4, 5 & 6 (p. 15, 17, 18 & 19)]

#### 5.8 試験水の水温、溶存酸素濃度およびpH

14日の暴露期間中の水温は23.5~23.7℃であり、基準 (24±1℃) を満たしていた。暴露期間中のpHは7.8~8.1であった。暴露期間中の溶存酸素濃度は7.3~8.1mg/Lであり、すべての試験区において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: 8.25mg/L)。

[Tables 7, 8 & 9 (p. 20 & 21)]

以上

Table 1. Measured Concentrations of 1-Butanol during a 14-Day Exposure of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration mg/L	Measured Concentration, mg/L (Percent of Nominal)			
	0 Day	7 Day	14 Day	Mean
Control	<7	<7	<7	---
10	11 (110)	11 (110)	11 (110)	11 (110)
22	23 (100)	21 ( 97)	22 (100)	22 (100)
46	49 (110)	47 (100)	49 (110)	48 (110)
100	110 (110)	92 ( 92)	110 (110)	100 (100)

Table 2. Mortality of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to 1-Butanol under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration mg/L	Cumulative Number of Dead (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)
10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
22	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
46	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)

Nominal Concentration mg/L	Cumulative Number of Dead (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)
10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
22	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
46	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
100	0 ( 0)	0 ( 0)	4 ( 40)	7 ( 70)	7 ( 70)	7 ( 70)	7 ( 70)

Table 3. Calculated LC50 Values for Orange Killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to 1-Butanol Based on Nominal Concentrations under Flow-Through Test Conditions

Exposure Period (Day)	LC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
7	>100	---	---
14	85	---	Binomial

Table 4. Symptoms of Toxicity Observed in Orange Killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to 1-Butanol 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	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10
10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10
22	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10
46	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10
100	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10

Measured Concentration mg/L	Symptoms						
	8 Day	9 Day	10 Day	11 Day	12 Day	13 Day	14 Day
Control	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10
10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10
22	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10
46	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10	A:10
100	A:8, C:2	C:10	C:6	C:3	C:3	C:3	C:3

A: normal, B: abnormal respiration, C: abnormal swimming, D: inverted, E: feeding behavior (reduced)

Table 5. Fish Weight (g)

No.	Nominal Concentration (mg/L)					before exp.
	Control	10	22	46	100	
1	0.14	0.18	0.19	0.22	0.14	0.15
2	0.18	0.13	0.18	0.18	0.18	0.19
3	0.19	0.10	0.19	0.14	0.19	0.21
4	0.15	0.22	0.18	0.21	-	0.17
5	0.12	0.15	0.17	0.15	-	0.13
6	0.20	0.18	0.14	0.19	-	0.11
7	0.22	0.16	0.12	0.11	-	0.18
8	0.13	0.19	0.22	0.10	-	0.13
9	0.17	0.19	0.21	0.18	-	0.17
10	0.18	0.21	0.13	0.18	-	0.14
Mean	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.16
S. D.	0.03	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03

Table 6. Fish Length (cm)

No.	Nominal Concentration (mg/L)					before exp.
	Control	10	22	46	100	
1	2.1	2.2	2.2	2.3	2.1	2.1
2	2.2	2.1	2.2	2.2	2.2	2.2
3	2.2	2.0	2.2	2.1	2.2	2.3
4	2.1	2.3	2.2	2.3	-	2.2
5	2.0	2.1	2.2	2.1	-	2.1
6	2.2	2.2	2.1	2.2	-	2.0
7	2.3	2.1	2.0	2.1	-	2.2
8	2.1	2.2	2.3	2.0	-	2.1
9	2.2	2.2	2.3	2.2	-	2.2
10	2.2	2.3	2.0	2.2	-	2.1
Mean	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2	2.2
S. D.	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

Table 7. pH Values during a 14-Day Flow-Through Exposure of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) to 1-Butanol

Nominal Concentration mg/L	pH						
	0 Day	2 Day	5 Day	7 Day	10 Day	12 Day	14 Day
Control	7.9	7.9	8.0	7.9	7.9	7.9	7.8
10	7.9	7.9	8.0	8.0	8.0	7.9	7.8
22	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	7.8
46	8.0	8.1	8.0	8.0	8.0	8.0	7.9
100	8.0	8.1	8.0	8.0	8.0	8.0	7.9

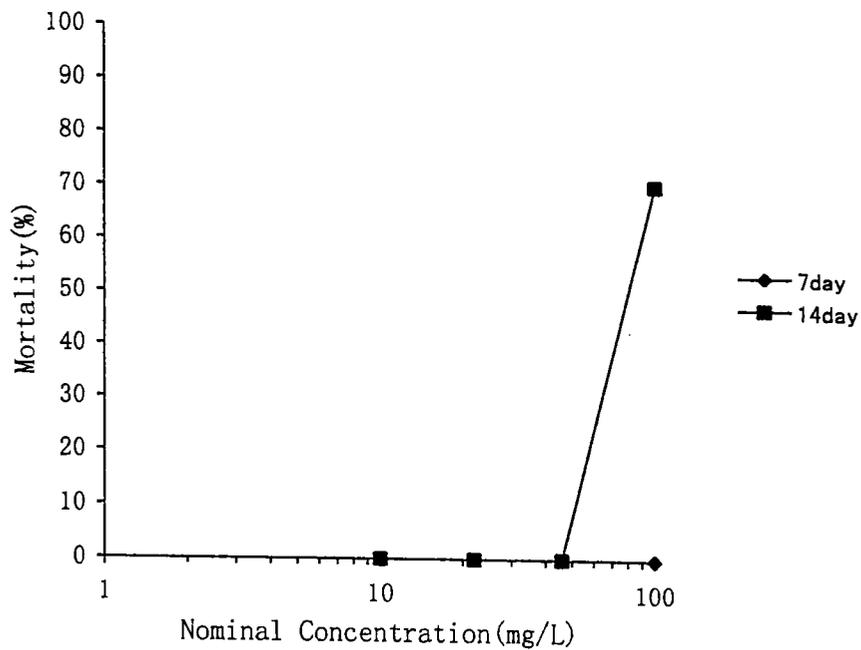
Table 8. Dissolved Oxygen Concentrations during a 14-Day Flow-Through Exposure of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) to 1-Butanol

Nominal Concentration mg/L	Dissolved Oxygen Concentration mg/L						
	0 Day	2 Day	5 Day	7 Day	10 Day	12 Day	14 Day
Control	7.8	7.8	7.7	7.6	7.5	7.5	7.5
10	8.1	7.9	7.7	7.8	7.5	7.5	7.4
22	7.9	7.8	7.8	7.8	7.5	7.5	7.5
46	7.9	7.9	7.8	7.6	7.6	7.5	7.3
100	7.9	7.9	7.9	7.5	7.3	7.4	7.4

Table 9. Temperature Values during a 14-Day Flow-Through Exposure of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) to 1-Butanol

Nominal Concentration mg/L	Temperature, °C						
	0 Day	2 Day	5 Day	7 Day	9 Day	12 Day	14 Day
Control	23.7	23.7	23.5	23.7	23.5	23.6	23.6
10	23.6	23.7	23.6	23.6	23.7	23.6	23.6
22	23.6	23.7	23.6	23.5	23.7	23.6	23.5
46	23.6	23.6	23.7	23.5	23.5	23.5	23.5
100	23.6	23.6	23.6	23.5	23.6	23.5	23.5

Figure 1. Concentration-Response Curve of 1-Butanol Mortality in Orange Killifish (*Oryzias latipes*)



付属資料－ 1

希积水の水質

(全 1 頁)

## Water Quality of Dilution Water

Parameter	Concentration
COD	<1 mg/L
Phosphorus	0.01 mg/L
pH	8.1 (15.0°C)
E. coli	N. D.
Total mercury	<0.0005 mg/L
Copper	<0.01 mg/L
Cadmium	<0.001 mg/L
Zinc	<0.01 mg/L
Lead	<0.005 mg/L
Aluminum	<0.02 mg/L
Nickel	<0.02 mg/L
Total chromium	<0.02 mg/L
Soluble manganese	<0.005 mg/L
Tin	<0.03 mg/L
Soluble iron	<0.03 mg/L
Cyanide	N. D (<0.01 mg/L)
Free chlorine	0.01 mg/L
Bromide ion	0.5 mg/L
Fluoride	0.29 mg/L
Sulfide ion	<0.1 mg/L
Ammonium ion	<0.1 mg/L
Arsenic	<0.001 mg/L
Selenium	<0.001 mg/L
Evaporated residue	230 mg/L
Electro conductivity	38 mS/m
Total hardness	63.1 mg/L
M-alkalinity	59 mg/L
Sodium	54 mg/L
Potassium	3.6 mg/L
Calcium	6.6 mg/L
Magnesium	3.9 mg/L
Total chlorinated pesticides	<0.001 mg/L
Total organophosphorus pesticides	<0.001 mg/L
PCB	<0.0005 mg/L

Date: Nov. 8, 1996

## 付属資料－ 2

試験液の分析方法

(全18頁)

試験結果報告書

表題： 1-ブタノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験-14日間  
(物理・化学系)

(試験番号： EFP96004)

1997年 4月18日

運営管理者  
大阪事業所 所長

株式会社 住化分析センター  
大阪事業所

ESOP/REC/011 RS-01

陳 述 書

試験委託者 :

名 称 住化テクノス株式会社  
住 所 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

試験の表題 : 1-ブタノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する  
延長毒性試験-14日間 (物理・化学系)

試験番号 : EFP96004

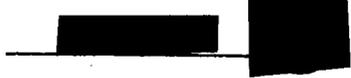
上記試験は、環境庁の「生態影響試験実施に関する基準」に従って実施したものであり、  
提出した資料は原本と相違ありません。

1997 年 4 月 18 日

(所属)

株式会社 住化分析センター  
大阪事業所 所長

(氏名)

運営管理者 

## 監査・査察報告書 (951025)

試験の表題: 1-ブタールのヒメダカ(Oryzias latipes) に対する延長毒性試験-14日間 (物理・化学系)

試験番号: EFP96004

本最終報告書の試験は、当施設の信頼性保証部門に関する標準操作手順書に従って下記の監査・査察を受けている。

QAU 監査・査察日	運営管理者および 試験責任者への報告日	監査・査察 項目
1997年 3月19日	1997年 3月19日	試験計画書
1997年 3月19日	1997年 3月19日	試験操作
1997年 4月11日	1997年 4月11日	最終報告書 (草稿)
1997年 4月18日	1997年 4月18日	最終報告書

本試験は適正に実施されており、本最終報告書は試験で使用した方法、手順が正確に記録され、かつ試験の生データを正確に反映していることを認めます。

1997年 4月18日

株式会社 住化分析センター 大阪事業所

QA責任者

[Redacted Signature]

[Redacted Seal]

ESOP/QAU/001 RS-11

試験番号：EFP96004

表 題 1-ブタノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験  
- 14日間 (物理・化学系)

## 試験委託者

名 称 住化テクノス株式会社  
住 所 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

## 試験期間

自： 1997年 3月 19日  
至： 1997年 4月 18日

## 試験施設

名 称 株式会社 住化分析センター 大阪事業所  
住 所 〒665 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

試験責任者			1997年 4月 18日
試験担当責任者			1997年 4月 18日
試験担当者			1997年 4月 18日
最終報告書作成者			1997年 4月 18日
運営管理者			1997年 4月 18日

## 目 次

1. 要約
2. 緒言
3. 試験物質、試薬および装置
4. 試験の実施
  - (1) 用いた試験方法
  - (2) 試験装置
  - (3) 試験液の分析
5. 試験結果
  - (1) 添加回収試験結果
  - (2) 試験液測定結果
6. 試験成績の信頼性に及ぼしたと思われる環境要因
7. SOPまたは試験計画書からの逸脱
8. 資料の保管
9. 添付資料

## 1. 要約

生態影響試験「1-ブタノールのヒメダカに対する延長毒性試験－14日間（試験番号：EFP96004）」時の試験液（試料）中の被験物質濃度を測定した。なお、濃度測定においては、平均回収率にて補正した値を測定値とした。

## 2. 緒言

試料中の被験物質濃度を、ガスクロマトグラフにて測定した。

## 3. 試験物質、試薬および装置

1-ブタノール標準品： XXXXXXXXXX より提供された純度既知の被験物質

Lot. No. : LEF5803

純 度 : 99.9%

ジクロロメタン:	残留農薬試験用	関東化学㈱製
塩化ナトリウム:	特級	和光純薬工業㈱製
振盪機:	SR-IIw	大洋科学工業㈱製
ガスクロマトグラフ:	GC-14A	㈱島津製作所製
自動注入装置:	A0C-1400	㈱島津製作所製
データ処理装置:	C-R4A	㈱島津製作所製
天秤:	AT-250	メトラー社製

## 4. 試験の実施

## (1) 用いた試験方法

試験液を液々抽出後、ガスクロマトグラフにて定量した。

## (2) 試験装置

ガスクロマトグラフ操作条件

機 種 : 島津GC-14A

検 出 器 : FID

カ ラ ム : Chromosorb 101(80/100 mesh), 内径 3mm, 長さ 2m

温 度 : カラム槽 140℃

注入口 270℃

検出器 270℃

キャリアガス流量 : 50 mL/min (ヘリウム)

ガス圧力 : 水素 0.6 kg/cm<sup>2</sup>

空気 0.6 kg/cm<sup>2</sup>

検出感度(1%) : 10

保持時間 : 約20分

注 入 量 : 4  $\mu$  L

### (3) 試験液の分析

#### 1) 検量線の作成

1-ブタノール標準品約 30 mg を精密に秤り取り 30 mL 容メスフラスコに入れ、ジクロロメタンを加えて溶かし、定容とした。この液より一定量を採取し、ジクロロメタンで希釈し、約 10, 50, 100, 200 mg/L の標準溶液を調製した。

4. (2) の条件に調整したガスクロマトグラフに注入し、それぞれの標準溶液のピーク高さから検量線を作成し、最小自乗法により回帰直線式を求めた。なお、検量線のバラツキの許容範囲は相関係数が、0.95 以上であることとした。

#### 2) 試料の分析

- a. あらかじめ、塩化ナトリウム 1.6 g 及びジクロロメタン 4 mL を入れた遠沈管を準備した。
- b. a. を試験委託者に受け渡し、試料 8 mL を採取した状態で試験委託者より受け取った。
- c. b. を振盪抽出後、5 分間静置した。下層を採取し、被験物質の濃度が 10~200 mg/L になるようにジクロロメタンで希釈後、4. (2) の測定条件にて絶対検量線法で濃度を求めた。感度確認のため測定終了後に標準溶液を注入し感度変化のないことを確認した。

#### 3) 検出限界

装置の最小検出量	: 40 ng	最終液量	: 4 mL
注入量	: 4 $\mu$ L	試料量	: 8 mL

$$40 \text{ ng} / 4 \mu \text{ L} \times 4 \text{ mL} / 8 \text{ mL} = 5 \text{ mg} / \text{L}$$

### 5. 試験結果

#### (1) 添加回収試験結果

検出限界の 10 倍濃度 (50 mg/L) における回収試験を行ったところ、以下の結果が得られた。なお、変動係数は 10% 以内であった。

設定濃度 mg/L	回収率 %	平均回収率 %
50.65	75.42	73.49
	72.76	
	72.29	

測定値については、平均回収率にて補正した値を測定値とした。その補正に伴い検出限界は、5 mg/Lから7 mg/Lに補正された。

## (2) 試験液測定結果

設定濃度 mg/L	測定値 mg/L		
	0日	7日	14日
対照区	<7	<7	<7
10	11.26	11.32	11.41
22	22.89	21.24	21.96
46	49.48	46.93	48.67
100	108.5	91.60	108.8

## 6. 試験成績の信頼性に及ぼしたと思われる環境要因

試験成績の信頼性に及ぼしたと思われる環境要因は特に認められなかった。

## 7. SOPまたは試験計画書からの逸脱

SOPまたは試験計画書からの逸脱は特に認められなかった。

## 8. 資料の保管

試験計画書、生データ、資料、最終報告書は、試験報告書作成後10年間、当社施設の資料保管室に保管する。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。

## 9. 添付資料

検量線

標準溶液のクロマトグラム

試料のクロマトグラム

Figure 1 Typical Calibration Curve of 1-Butanol by GC-FID Analysis

Input Data		
No.	Weight (n g)	Peak Height ( $\mu v \cdot s e c$ )
1	40.68	156
2	203.4	998
3	406.8	2062
4	813.6	4225

$$Y(\text{Peak Height}) = -68.82 + 5.269X (\text{Weight})$$

$r = 1.000$

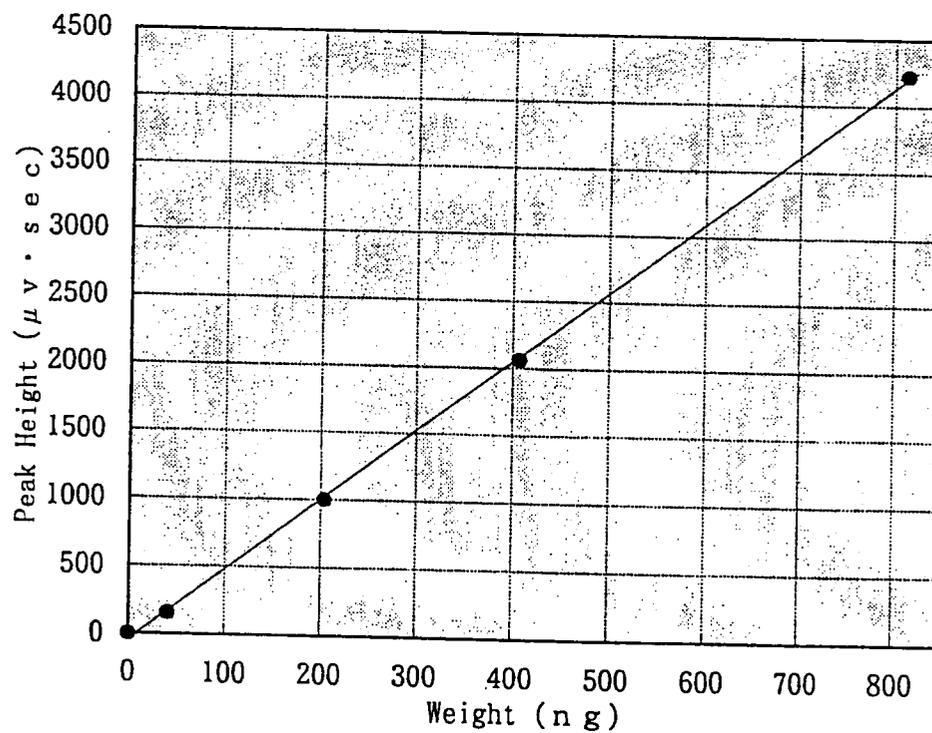
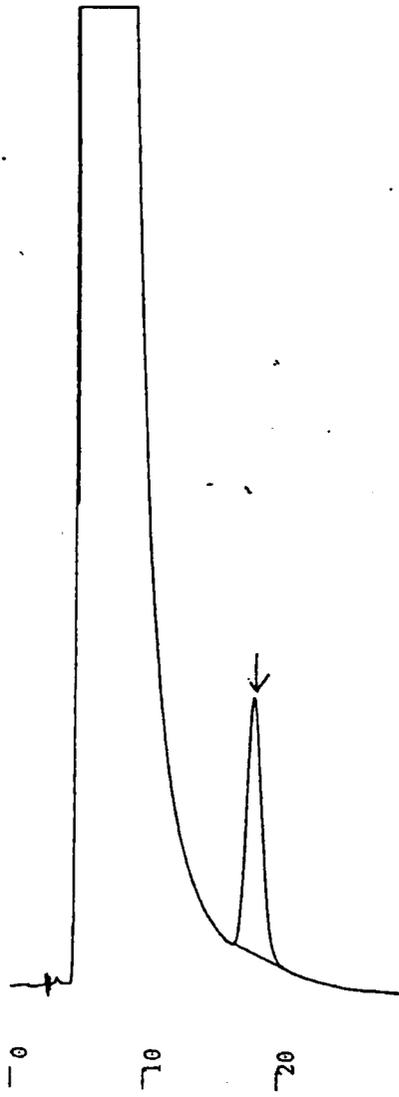


Figure 2 Representative Chromatograms

(1) Standard 101.7 mg/L

(2) Control; Day 0

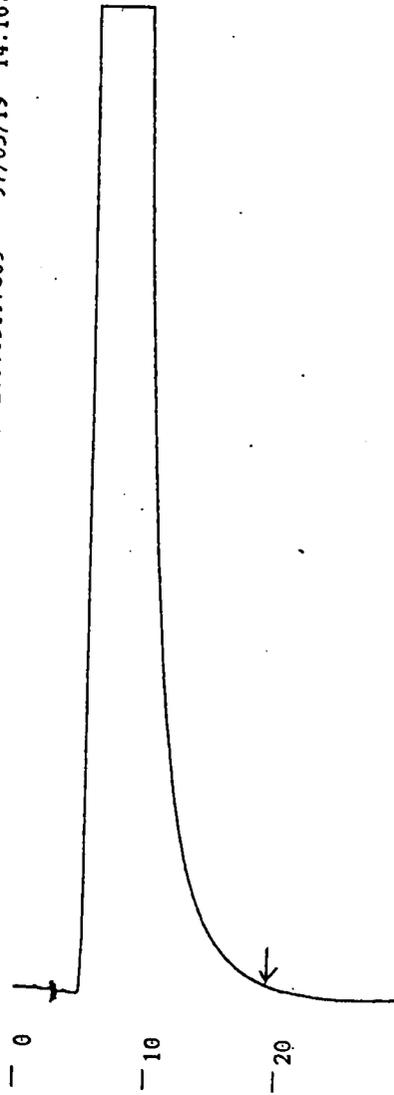
CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=79 クロマト=2:970319.C03 97/03/19 12:54:24



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.242	163013	2062			100	
TOTAL			163013	2062			100	

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=81 クロマト=2:970319.C05 97/03/19 14:16:23



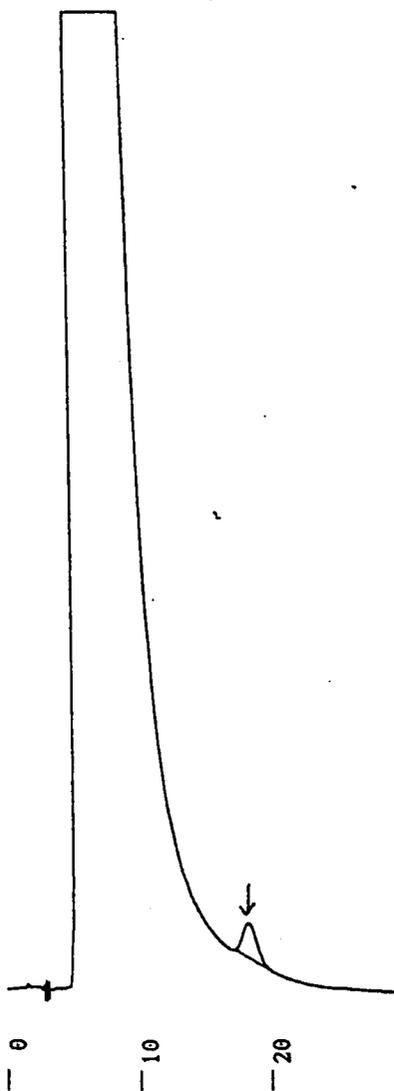
\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 17-有 CALERROR: 1

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
TOTAL			0	0			0	

Figure 2 Continued

(3) 10 mg/L nominal; Day 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=82 ログ名=2:970319.C06 97/03/19 14:57:23

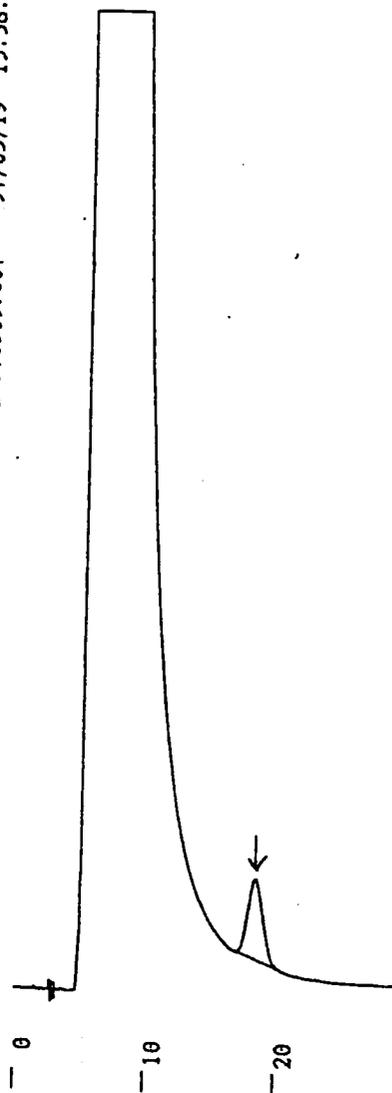


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.36	20833	280			100	
TOTAL			20833	280			100	

(4) 22 mg/L nominal; Day 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=83 ログ名=2:970319.C07 97/03/19 15:38:24



\*\* 定量計算結果 \*\*

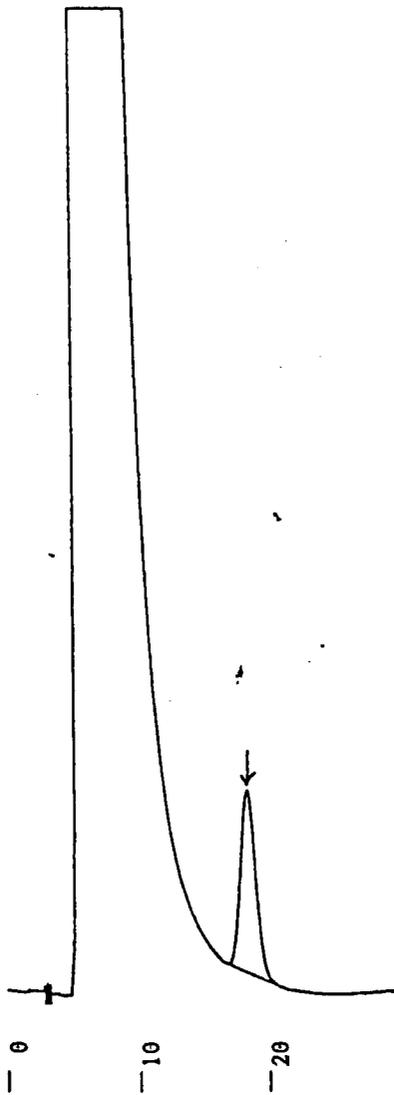
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.389	49779	640			100	
TOTAL			49779	640			100	

Figure 2 Continued

(5) 46mg/L nominal; Day 0

(6) 100 mg/L nominal; Day 0

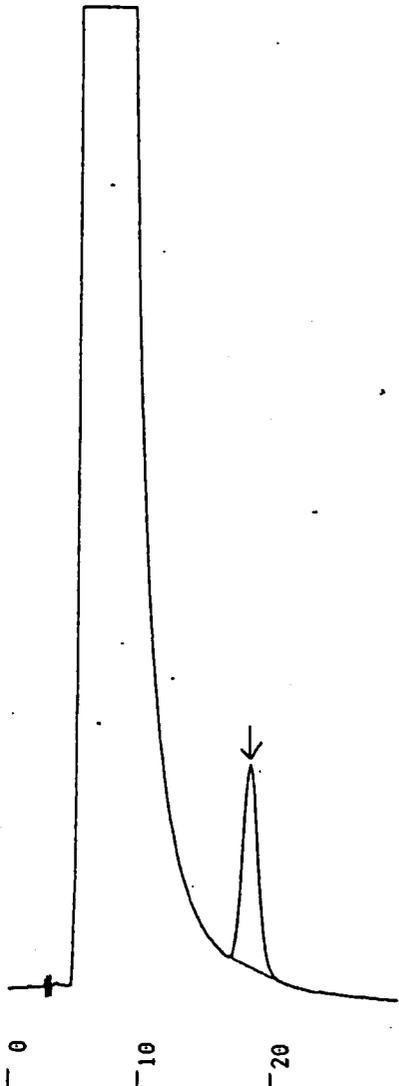
CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=84 クロマト=2:970319.C08 97/03/19 16:19:27



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME	
2	1	18.355	116132	1464			100		
TOTAL							116132	1464	100

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=85 クロマト=2:970319.C09 97/03/19 17:00:30



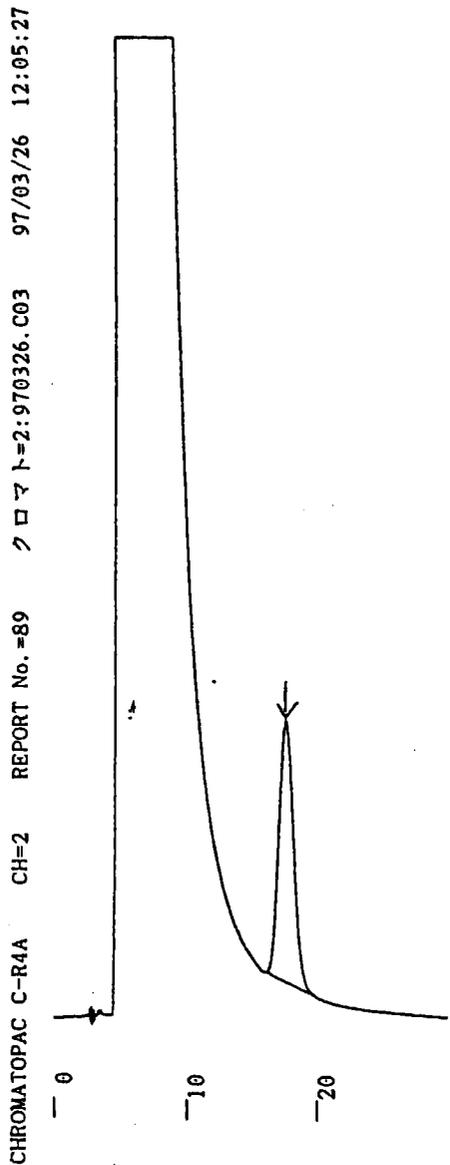
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME	
2	1	18.367	128565	1611			100		
TOTAL							128565	1611	100

Figure 2 Continued

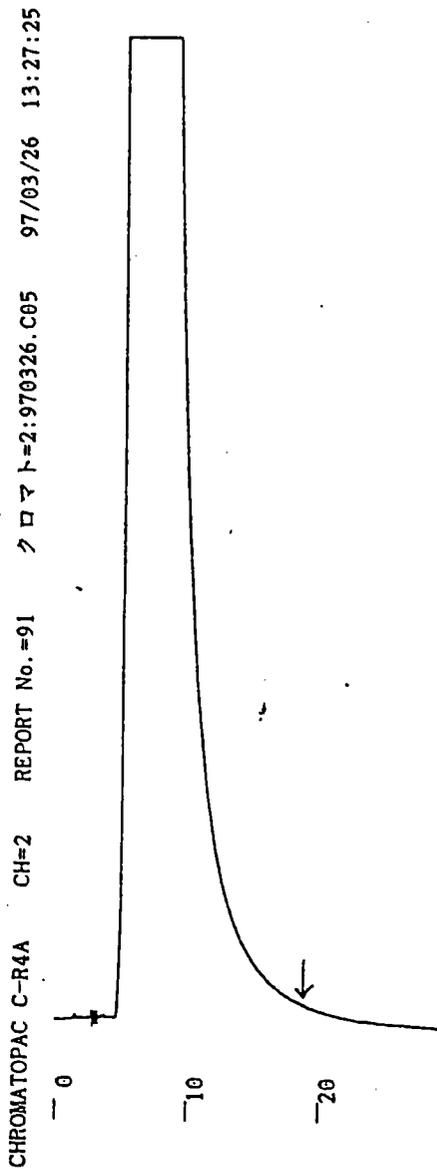
(7) Standard 101.9 mg/L

(8) Control; Day 7



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	17.6	160855	2099			100	
TOTAL			160855	2099			100	



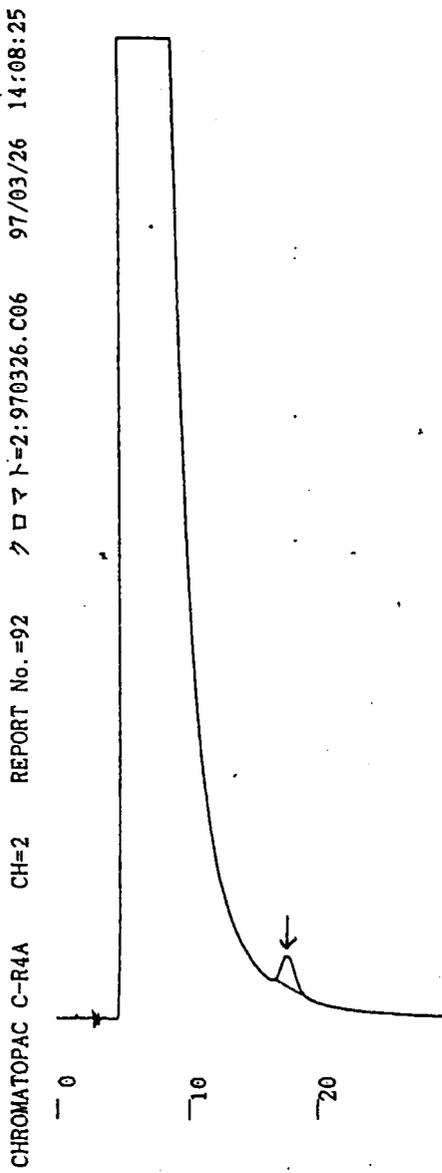
\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 1.3-有 CALERROR: 1

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
TOTAL			0	0			0	

Figure 2 Continued

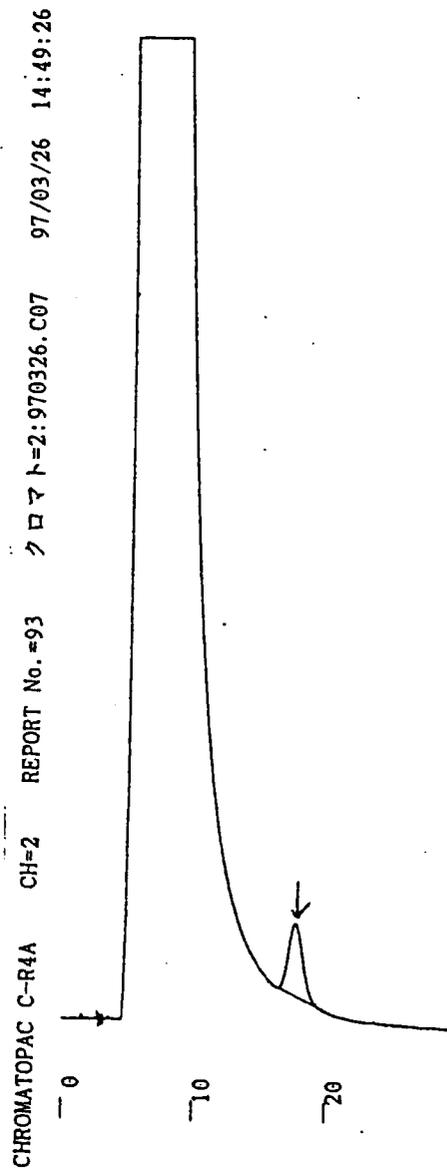
(9) 10 mg/L nominal; Day 7

(10) 22 mg/L nominal; Day 7



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	17.739	17399	254			100	
TOTAL			17399	254			100	



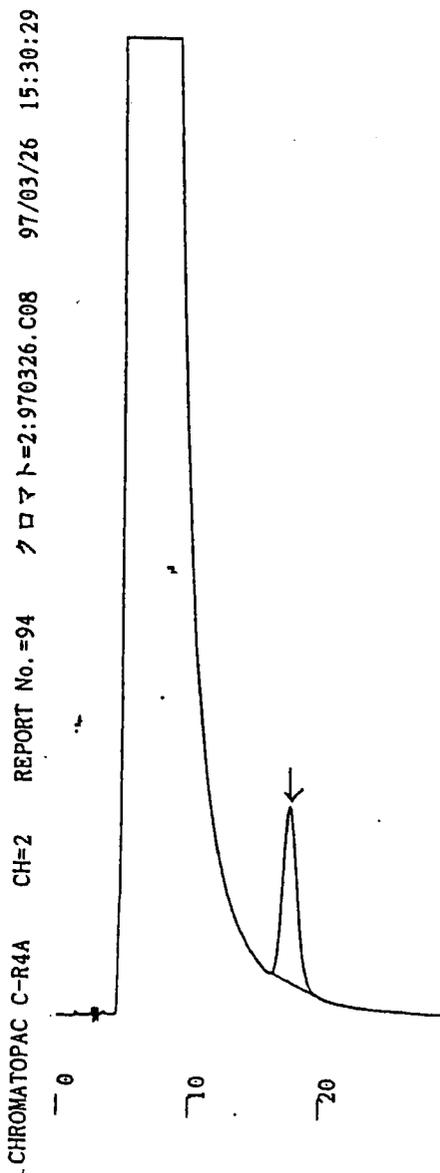
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	17.712	42958	579			100	
TOTAL			42958	579			100	

Figure 2 Continued

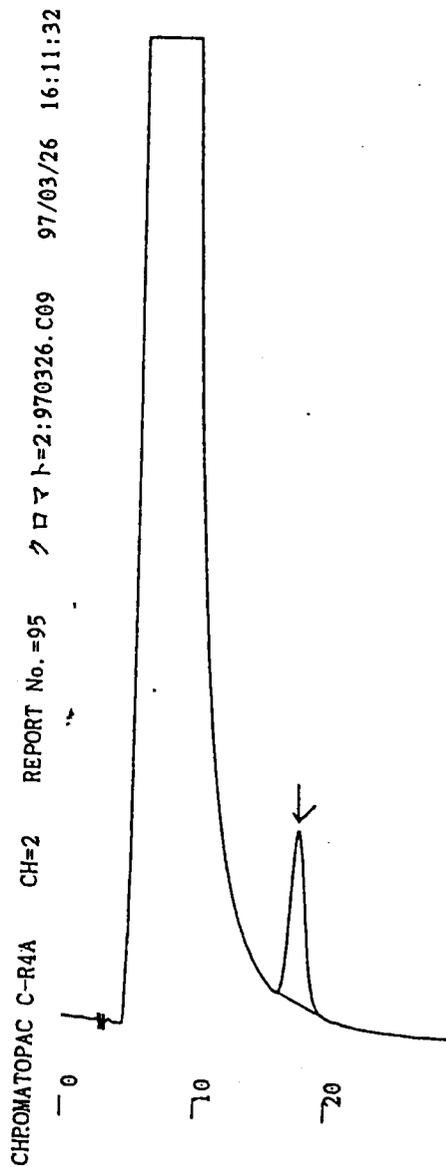
(11) 46mg/L nominal; Day 7

(12) 100 mg/L nominal; Day 7



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME	
2	1	17.727	108326	1421			100		
TOTAL							108326	1421	100



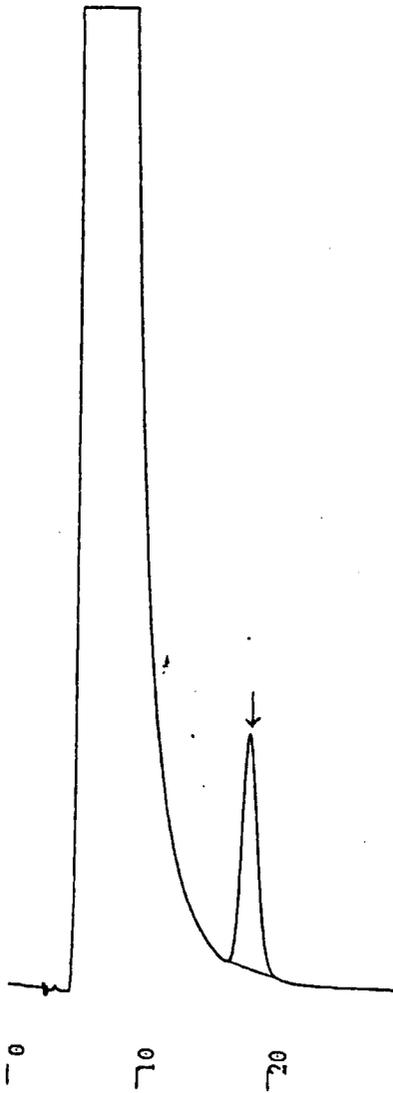
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME	
2	1	17.717	105873	1384			100		
TOTAL							105873	1384	100

Figure 2 Continued

(13) Standard 101.7 mg/L

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=111 97/04/02 11:29:48

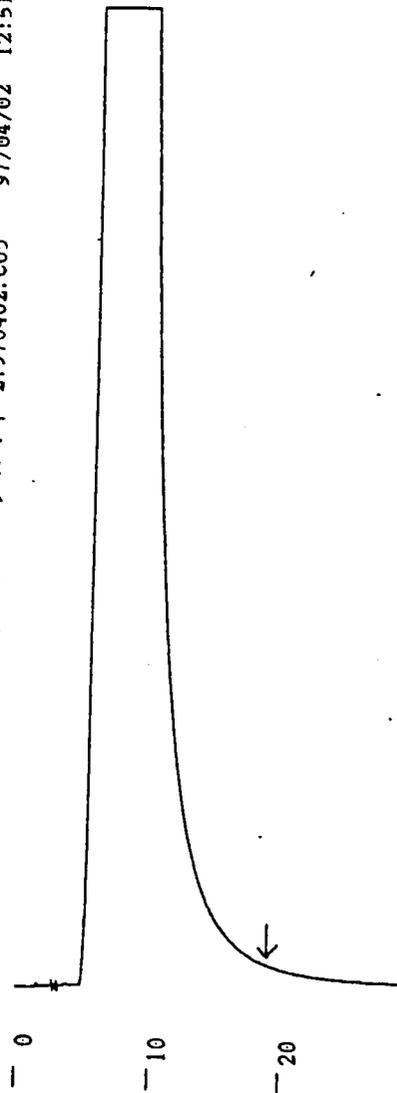


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.433	152423	1893			100	
TOTAL			152423	1893			100	

(14) Control; Day 14

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=113 97/04/02 12:51:45



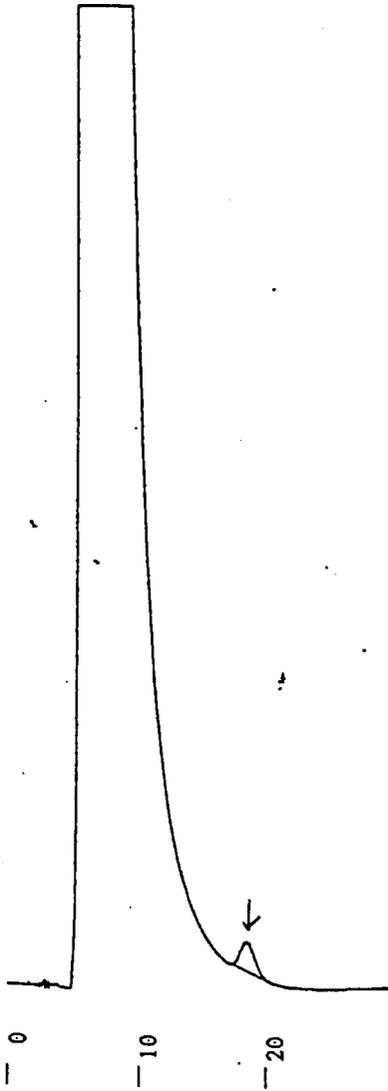
\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 17-有 CALERROR: 1

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
TOTAL			0	0			0	

Figure 2 Continued

(15) 10 mg/L nominal; Day 14

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=114 クロマト=2:970402.C06 97/04/02 13:32:46

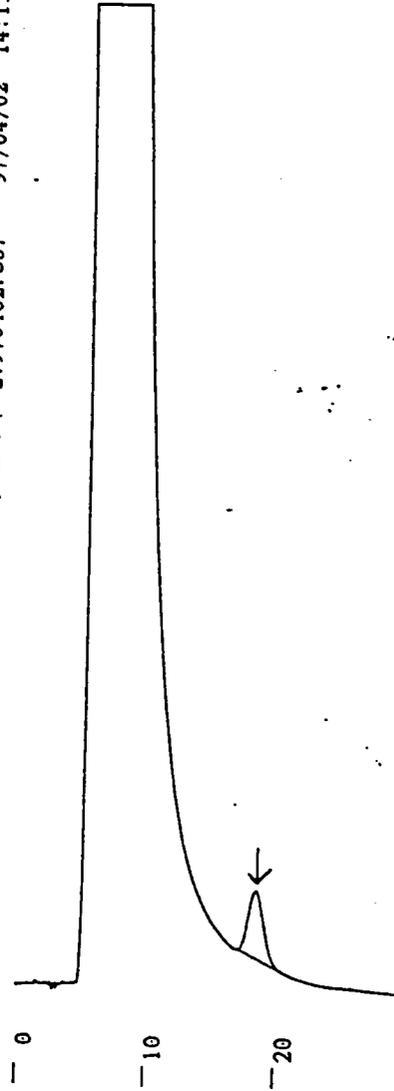


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.505	17527	233			100	
TOTAL			17527	233			100	

(16) 22 mg/L nominal; Day 14

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=115 クロマト=2:970402.C07 97/04/02 14:13:47



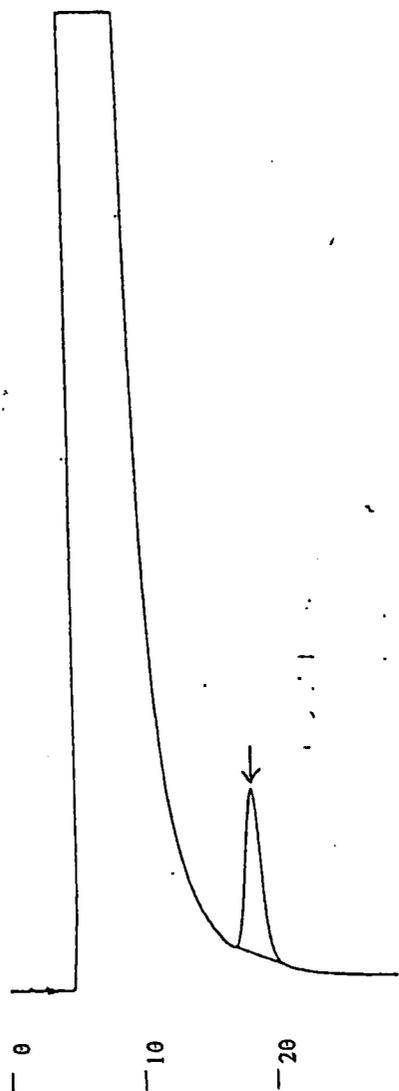
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	2	18.483	43248	545	V		100	
TOTAL			43248	545			100	

Figure 2 Continued

(17) 46mg/L nominal; Day 14

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=116 97/04/02 14:54:50

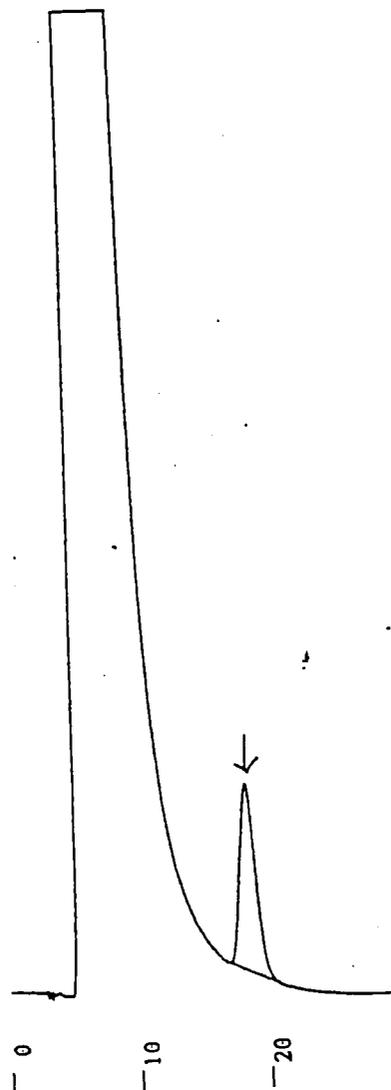


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.511	107522	1334			100	
TOTAL			107522	1334			100	

(18) 100 mg/L nominal; Day 14

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=117 97/04/02 15:35:53



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.473	120579	503			100	
TOTAL			120579	1503			100	