

環境庁殿

## 試 験 報 告 書

1-ブタノールの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験

(試験番号: EAI96004)

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-ブタノールの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験

試験番号： E A I 9 6 0 0 4

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

[Redacted]

[Redacted]

## 信頼性保証証明書

試験表題： 1-7' タ) -ルの藻類(*Selenastrum capricornutum*)に対する  
生長阻害試験

試験番号： E A I 9 6 0 0 4

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	
	Q A U	試験責任者	運営管理者
試験計画書	平成9年1月9日	平成9年1月13日	平成9年1月30日
	平成9年3月3日	平成9年3月3日	平成9年3月3日
	平成9年3月10日	平成9年3月10日	平成9年3月10日
	平成9年3月31日	平成9年3月31日	平成9年3月31日
試験査察	平成9年3月11日	平成9年3月12日	平成9年3月13日
最終報告書	平成9年3月28日	平成9年3月28日	平成9年4月25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-ブタノールの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験
2. 試験目的： 1-ブタノールについて、藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験を行い、50%生長阻害濃度 (EC50) および無影響濃度 (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. 201「藻類生長阻害試験」(1984年) に準拠した。
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  
委託責任者： 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



(平成 9 年 4 月 25 日)

試験担当者



(平成 9 年 4 月 25 日)

9. 試験期間： 試験開始日 平成 9 年 3 月 3 日  
試験終了日 平成 9 年 4 月 25 日  
暴露期間 平成 9 年 3 月 11 日～平成 9 年 3 月 14 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試資料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 培地 -----	9
3.3 試験容器、藻類培養試験装置および機器 -----	9
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 -----	10
3.7 試験操作 -----	10
4. 結果の算出 -----	11
4.1 藻類生長曲線 -----	11
4.2 藻類生長阻害濃度の算出 -----	11
4.3 無影響濃度 (NOEC) の算出 -----	12
5. 結果および考察 -----	13
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 -----	13
5.2 試験液中の被験物質濃度 -----	13
5.3 藻類生長曲線 -----	13
5.4 半数影響濃度 (EC50) および無影響濃度 (NOEC) -----	13
5.5 温度および pH -----	14
Table 1～7 -----	15～20
Figure 1～3 -----	21～22
付属資料－1      試験液の分析方法 -----	23

## 要 旨

試験委託者

環境庁

表 題1-ブタノールの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験試験番号

E A I 9 6 0 0 4

試験方法

本試験は、OECD 化学品テストガイドライン No. 201「藻類生長阻害試験」(1984年)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質 : 1-ブタノール
- 2) 培養方式 : 振盪培養 (100rpm)
- 3) 供試生物種 : *Selenastrum capricornutum* (ATCC22662)
- 4) 温度 :  $23 \pm 2$  °C
- 5) 暴露期間 : 72時間
- 6) 試験液量 : 100 mL (OECD培地)
- 7) 照明 : 4200 ~ 4800 lux (連続照明)
- 8) 初期細胞濃度 :  $1 \times 10^4$  cells/mL
- 9) 試験濃度(設定) : 対照区, 100mg/L, 180mg/L, 320mg/L, 560mg/L, 1000mg/L
- 10) 試験液中の被験物質の分析 : GC法 (暴露開始時、終了時)

結 果

## 1) 生長曲線下の面積の比較による生長阻害濃度

 $E_bC_{50}$  (0-72h) : >1000mg/L

NOEC (面積法 0-72h) : 560mg/L

## 2) 生長速度の比較による生長阻害濃度

 $E_rC_{50}$  (24-48h) : >1000mg/L

NOEC (速度法 24-48h) : 1000mg/L

 $E_rC_{50}$  (24-72h) : >1000mg/L

NOEC (速度法 24-72h) : 180mg/L

(上記濃度は、全て設定値に基づく値)

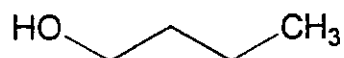
## 1. 被験物質

### 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-1)

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 (logP) : 0.84\*

水への溶解度：77g/L\*

蒸気圧： 7.02mmHg at 25℃\*

\* 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 : 無色澄明液体

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赤外吸収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

試験には、単細胞緑藻類である *Selenastrum capricornutum* を用いた。

本種は、American Type Culture Collection より入手した ATCC22662株を、当社において無菌的に継代培養しているものである。基準物質（重クロム酸カリウム、試薬特級、Lot No. KCE6888、和光純薬工業㈱）による72時間の生長阻害濃度（E<sub>50</sub>C50）は、0.42mg/Lであった。

### 前培養

試験に供す藻類は試験条件と同じ条件で暴露開始前に4日間培養したものを使用した。

## 3. 試験方法

### 3.1 試験条件

- 1) 培養方式 : 振盪培養 (100rpm)
- 2) 温度 : 23±2 °C
- 3) 暴露期間 : 72時間
- 4) 試験液量 : 100 mL (OECD培地)
- 5) 照明 : 4200 ~ 4800 lux (連続照明)
- 6) 初期細胞濃度 :  $1 \times 10^4$  cells/mL

### 3.2 培地

前培養および試験ともに OECD 化学品テストガイドラインに示されている培地を用いた。  
[Table 1]

### 3.3 試験容器、藻類培養試験装置および機器

- |            |  |
|------------|--|
| 試験容器       | : 500mL容ガラス製三角フラスコ (密栓)                          |
| 藻類培養試験装置   | : AGP-50RL (ダイキンプラント㈱; 連続振盪培養、連続照明および一定照度の確保が可能) |
| 光学顕微鏡      | : BH-2 (オリンパス光学工業株式会社)                           |
| pHメーター     | : F-22 (㈱堀場製作所)                                  |
| 粒子計数装置     | : マルチサイザー II (コールター株式会社)                         |
| 粒子計数装置用電解液 | : ISOTON II (コールター株式会社)                          |
| 温度計        | : デジタル温度計 (㈱カスタム)                                |
| 照度計        | : SPI-6A (㈱トプコン)                                 |

### 3.4 試験濃度の設定

10, 100 および 1000mg/L で予備試験を実施したところ、10 および 100mg/L 区では対照区と同等もしくはそれ以上の生長が見られたが、1000mg/L 区では約 38%の増殖阻害が認められた。以上の結果を基に最低濃度を 100mg/L とし、公比 1.8 で 180, 320, 560 および 1000mg/L の 5 濃度を本試験の設定濃度とした。

### 3.5 試験液の調製

各設定濃度に必要な量の被験物質を比重 (0.809g/mL) で容量換算して、直接マイクロシリンジを用いて量り取り、培地に添加して各濃度の試験液を調製した。添加後は直ちに栓をして攪拌した。

対照区には培地だけのものを用いた。

### 3.6 試験液の分析

全試験区の試験液について、暴露開始時 (0 時間) および暴露終了時 (72 時間) に、あらかじめ塩化ナトリウム 1.6g およびジクロロメタン 4mL を入れた遠沈管に、各濃度区 3 連の試験容器からほぼ均等に採取した試験液 8mL を添加し、振盪抽出後 GC により分析した。ただし、暴露終了時には 0.45  $\mu$ m メンブレンフィルター濾過により藻体を除去した。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。

なお、実際の物理化学的試験は株式会社分析センターで実施した。詳細は付属資料-1 に示した。

### 3.7 試験操作

前培養した藻類の細胞数を計数し、試験液中の細胞濃度が  $1 \times 10^4$  cells/mL となるように、前培養液の一定量を試験液の入った容器に添加した。

各試験容器を  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  の培養装置に設置して試験を開始し、24、48 および 72 時間に細胞濃度を測定した。細胞濃度の測定は各試験容器より試験液 2.0mL を採取し、電解液 (ISOTON-II) を 18mL 混合した後、粒子計数装置により計測した。

試験液調製時の pH は 3 連の他に pH 測定用に調製した試験液について測定し、各試験区の暴露開始時の pH とし、暴露終了時には各試験区 3 連のうち 1 本を測定した。暴露期間中、藻類培養試験装置内の温度、照度、回転数を 1 日 1 回測定した。

#### 4. 結果の算出

##### 4.1 藻類生長曲線

各濃度区および対照区の細胞濃度の平均値を時間に対してプロットし生長曲線を作成した。

##### 4.2 藻類生長阻害濃度の算出

次に下記の方法で生長阻害濃度を算出した。

###### 1) 生長曲線下の面積の比較による生長阻害濃度 ( $E_bC50$ )

生長曲線下の面積は次の式により算出した。

$$A = \frac{N_1 - N_0}{2} \times t_1 + \frac{N_1 + N_2 - 2N_0}{2} \times (t_2 - t_1) + \cdots + \frac{N_{n-1} + N_n - 2N_0}{2} \times (t_n - t_{n-1})$$

ここで、

A : 生長曲線下の面積

$N_0$  : 暴露開始時の設定細胞濃度 (cells/mL)

$N_1$  :  $t_1$ 時の実測細胞濃度 (cells/mL)

$N_n$  :  $t_n$ 時の実測細胞濃度 (cells/mL)

$t_1$  : 暴露開始後最初に細胞濃度を測定した時間

$t_n$  : 暴露開始後  $n$  回目に細胞濃度を測定した時間

生長曲線下の面積より各濃度区における生長の阻害百分率 ( $I_A$ ) を次の式により算出した。

$$I_A = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100$$

ここで、

$A_c$  : 対照区の生長曲線下の面積

$A_t$  : 各濃度区における生長曲線下の面積

各濃度区に対応する  $I_A$  値を算出したところ、試験最高濃度の 1000mg/L (設定値) で 50%未満であったため、統計手法による  $E_bC50$  (0-72h) の算出はできなかった。

###### 2) 生長速度の比較による生長阻害濃度 ( $E_rC50$ )

指数増殖している培養での細胞濃度の平均値から平均の生長速度 ( $\mu$ ) を次の式より算出した。

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_1}{t_n - t_1}$$

ここで、

$N_1$ :  $t_1$ 時の実測細胞濃度 (cells/mL)

$N_n$ :  $t_n$ 時の実測細胞濃度 (cells/mL)

$t_1$ : 暴露開始後最初に細胞濃度を測定した時間

$t_n$ : 暴露開始後  $n$  回目に細胞濃度を測定した時間

平均の生長速度 ( $\mu$ ) より各濃度区における平均生長速度の低下百分率を次の式により算出した。

$$I_m = \frac{\mu_c - \mu_t}{\mu_c} \times 100$$

ここで、

$\mu_c$ : 対照区の平均生長速度

$\mu_t$ : 各濃度区における平均生長速度

各濃度区に対応する  $I_m$  値を算出したところ、試験最高濃度の 1000mg/L で 50%未満であったため、統計手法による  $E_rC50$  (24-48h) および  $E_rC50$  (24-72h) の算出はできなかった。

#### 4.3 無影響濃度 (NOEC) の算出

統計的手法 (等分散性検定 (Bartlett)、一元配置分散分析および多重比較検定 (Dunnett)) により、対照区と比較して有意差 (有意水準 5%) が認められない試験最高濃度を無影響濃度 (NOEC) とした。その際、面積法により求めた場合は NOEC (面積法 0-72h)、速度法により求めた場合は NOEC (速度法 24-48h) または NOEC (速度法 24-72h) と記載した。

## 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認められなかった。

### 5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時の被験物質濃度は 100, 190, 340, 600 および 1100mg/L (設定値 100, 180, 320, 560 および 1000mg/L) であり、全ての濃度区において設定値に対する実測値の割合が 100~110%でほぼ設定どおりであった。暴露 72 時間の被験物質濃度は 110, 190, 350, 590 および 1100mg/L (設定値 100, 180, 320, 560 および 1000mg/L) で、設定値の 110%あり、濃度は暴露期間中維持されていた。

これらの結果から、暴露開始時の分析において、すべての試験液の濃度が設定値の±20%以内であったため、結果の表示は設定値を採用した。

[Table 2 (p.16), 付属資料-1]

### 5.3 藻類生長曲線

対照区における細胞濃度は、72 時間の培養で 48 倍に増殖し、試験条件下で正常な生長を示した。

100 および 180mg/L 区においては、44~47 倍の増殖となり対照区とほぼ同等の生長が見られた。320mg/L 以上の区では増殖倍率が濃度依存的に低下するものの、試験最高濃度区の 1000mg/L 区でも 33 倍の増殖を示し、阻害は軽度であった。

[Table 3 (p.17), Figure 1 (p.21)]

### 5.4 半数影響濃度 (EC50) および無影響濃度 (NOEC)

#### 1) 生長曲線下の面積の比較による生長阻害濃度 ( $E_bC50$ )

試験最高濃度区における  $I_A$  値が 27%であることから、 $E_bC50(0-72h)$  は >1000mg/L であった。対照区と比較して有意差が認められない試験最高濃度 (NOEC(面積法 0-72h)) は 560mg/L(Dunnett) であった。

[Table 4, 5 (p.18, 19), Figure 2(p.22)]

#### 2) 生長速度の比較による生長阻害濃度 ( $E_rC50$ )

試験最高濃度区における  $I_m$  値が 13%以下であることから、 $E_rC50(24-48h)$  および  $E_rC50(24-72h)$  は、いずれも >1000mg/L であった。対照区と比較して有意差が認められない試験最高濃度 (NOEC(速度法 24-48, 24-72h)) は、それぞれ 1000mg/L(一元配置分散

分析), 180mg/L(Dunnett)であり、統計学的には両者間で顕著な差が認められたものの、 $I_m$  値から推測すると 1000mg/L でも軽微な影響であることから、生物学的には前者と差がないと考えた方が適切である。

[Table 4, 5 (p. 18, 19), Figure 3 (p. 22)]

#### 5.5 温度およびpH

72 時間の暴露期間中の藻類培養試験器内の温度は 22.9~23.5℃であり、その平均温度は  $23.3 \pm 0.3$ ℃であった。試験液のpHは暴露開始時が 7.8 であり、暴露終了時が 10.0~10.2 であった。

[Table 6, 7 (p. 20)]

以 上

Table 1. OECD medium

Nutrient Salts	Concentration (mg/L)
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.185
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.415
$\text{ZnCl}_2$	0.003
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.08
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0015
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.007
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.00001
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	18
$\text{NH}_4\text{Cl}$	15
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.6
$\text{NaHCO}_3$	50
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	12
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	15

Table 2. Measured Concentrations of 1-Butanol during a 72-Hour Exposure to *Selenastrum capricornutum*.

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)			
	0 Hour	Percent of Nominal	72 Hour	Percent of Nominal
Control	<7	—	<7	—
100	100	100	110	110
180	190	100	190	110
320	340	110	350	110
560	600	110	590	110
1000	1100	110	1100	110



Table 3. Cell Density of *Selenastrum capricornutum* to 1-Butanol.

Nominal Concentration (mg/L)	No.	Cell Density ( $\times 10^4$ cells/mL)			
		0 Hour	24 Hour	48 Hour	72 Hour
Control	1	1.00	2.90	16.7	47.8
	2	1.00	2.80	17.8	46.6
	3	1.00	2.71	18.2	49.9
	Mean	1.00	2.80	17.6	48.1
	SD	0	0.10	0.8	1.7
100	1	1.00	3.30	17.8	38.8
	2	1.00	3.25	17.7	43.3
	3	1.00	3.13	16.6	50.2
	Mean	1.00	3.23	17.4	44.1
	SD	0	0.08	0.7	5.7
180	1	1.00	3.38	17.1	40.9
	2	1.00	3.19	17.6	48.6
	3	1.00	3.12	19.7	51.7
	Mean	1.00	3.23	18.1	47.1
	SD	0	0.14	1.4	5.6
320	1	1.00	3.46	17.3	36.3
	2	1.00	3.59	18.5	41.9
	3	1.00	2.80	19.4	39.9
	Mean	1.00	3.28	18.4	39.3
	SD	0	0.42	1.1	2.8
560	1	1.00	3.20	18.2	34.4
	2	1.00	3.36	17.9	37.7
	3	1.00	3.27	17.9	37.3
	Mean	1.00	3.28	18.0	36.4
	SD	0	0.08	0.1	1.8
1000	1	1.00	2.33	13.6	31.1
	2	1.00	2.95	13.9	32.9
	3	1.00	2.97	14.9	34.7
	Mean	1.00	2.75	14.2	32.9
	SD	0	0.37	0.7	1.8

Each value represents the mean of three sample counts.

SD: Standard Deviation

Table 4. Growth Inhibition of *Selenastrum capricornutum* to 1-Butanol.

Nominal Concentration		Area	Inhibition (%)	Rate	Inhibition (%)	Rate	Inhibition (%)
mg/L	No.	A(0-72h)	I <sub>A</sub> (0-72h)	μ(24-48h)	I <sub>m</sub> (24-48h)	μ(24-72h)	I <sub>m</sub> (24-72h)
Control	1	9834480		0.0729		0.0584	
	2	9943440		0.0772		0.0586	
	3	10416480		0.0794		0.0607	
	Mean	10064800	0.0	0.0765	0.0	0.0592	0.0
100	1	9127920		0.0703		0.0514	
	2	9627840		0.0707		0.0540	
	3	10163280		0.0695		0.0578	
	Mean	9639680	4.2	0.0702	8.3	0.0544	8.2
180	1	9221280		0.0675		0.0519	
	2	10212240		0.0711		0.0568	
	3	11079120		0.0768		0.0585	
	Mean	10170880	-1.1	0.0718	6.1	0.0557	5.9
320	1	8744640		0.0672		0.0490	
	2	9726960		0.0683		0.0511	
	3	9522480		0.0807		0.0553	
	Mean	9331360	7.3	0.0721	5.8	0.0518	12.5
560	1	8652480		0.0723		0.0494	
	2	9025680		0.0697		0.0503	
	3	8953200		0.0709		0.0507	
	Mean	8877120	11.8	0.0710	7.2	0.0502	15.3
1000	1	6953040		0.0736		0.0540	
	2	7398480		0.0646		0.0502	
	3	7850640		0.0673		0.0512	
	Mean	7400720	26.5	0.0685	10.4	0.0518	12.5

Table 5. Calculated EC50 and NOEC Values for 1-Butanol.

Based on  $I_A$  Value

Item	Value (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)
$E_bC50$ (0-72h)	>1000	—
NOEC <sub>b</sub> (0-72h)	560	—

Based on  $I_m$  Value

Item	Value (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)
$E_rC50$ (24-48h)	>1000	—
NOEC <sub>r</sub> (24-48h)	1000	—
$E_rC50$ (24-72h)	>1000	—
NOEC <sub>r</sub> (24-72h)	180	—

Table 6. Daily Temperature in the Incubation Chamber during a 72-Hour Exposure of *Selenastrum capricornutum* to 1-Butanol.

Exposure Period (Hours)	Temperature (°C)
0	22.9
24	23.5
48	23.5
72	23.4
Mean $\pm$ SD	23.3 $\pm$ 0.3

Table 7. pH Values at 0-Hour and 72-Hour Exposure of *Selenastrum capricornutum* to 1-Butanol.

Nominal Concentration (mg/L)	pH	
	0 Hour	72 Hour
Control	7.8	10.0
100	7.8	10.2
180	7.8	10.2
320	7.8	10.2
560	7.8	10.2
1000	7.8	10.1

Figure 1. Algal Growth Curve of *Selenastrum capricornutum* Exposed to 1-Butanol.

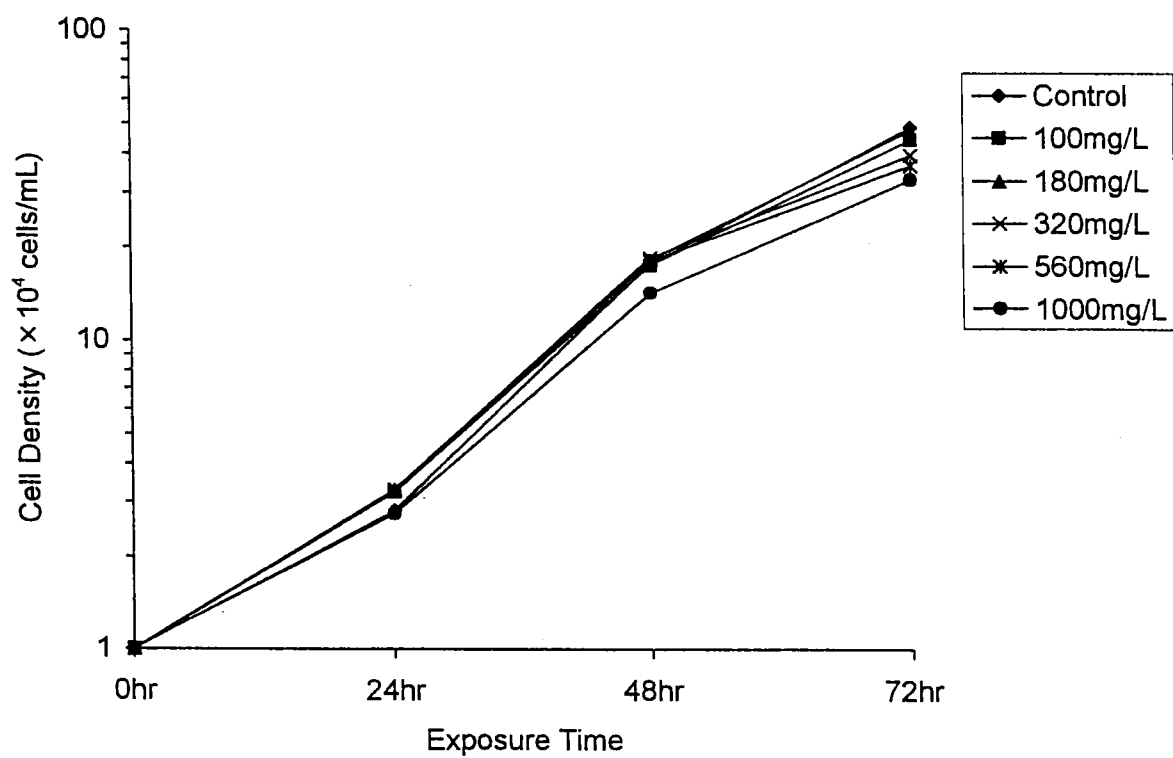


Figure 2. Concentration-Inhibition Curve of *Selenastrum capricornutum* Based on  $I_A$  (0-72h) Value to 1-Butanol.

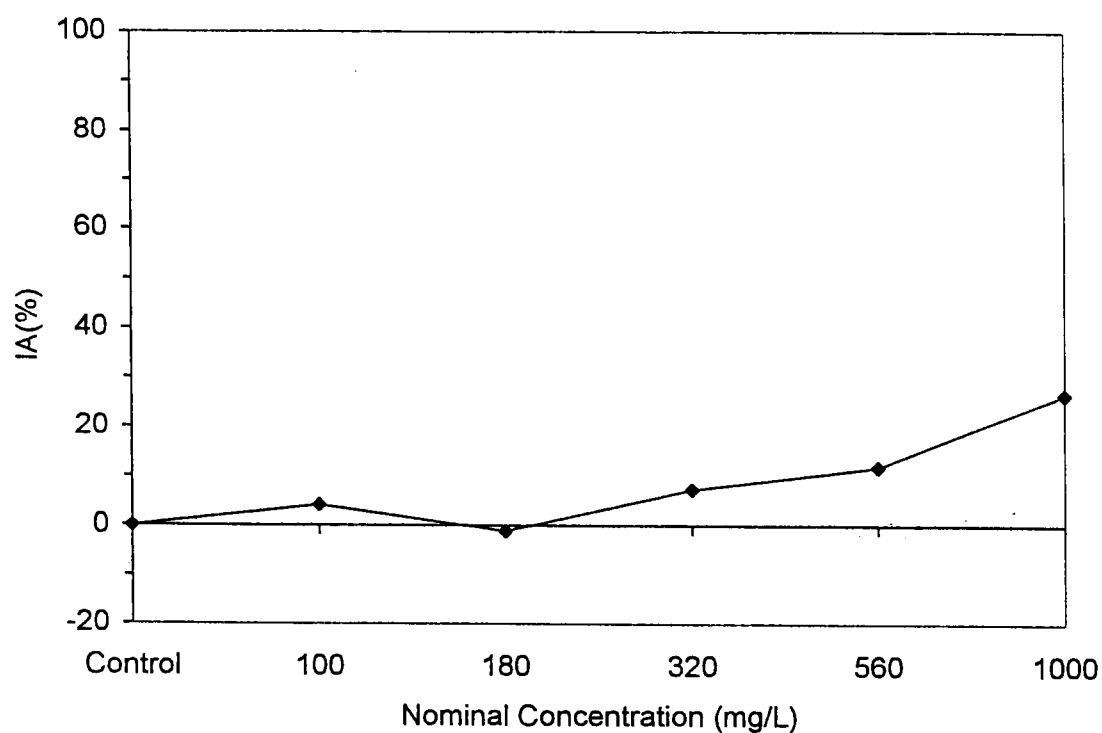
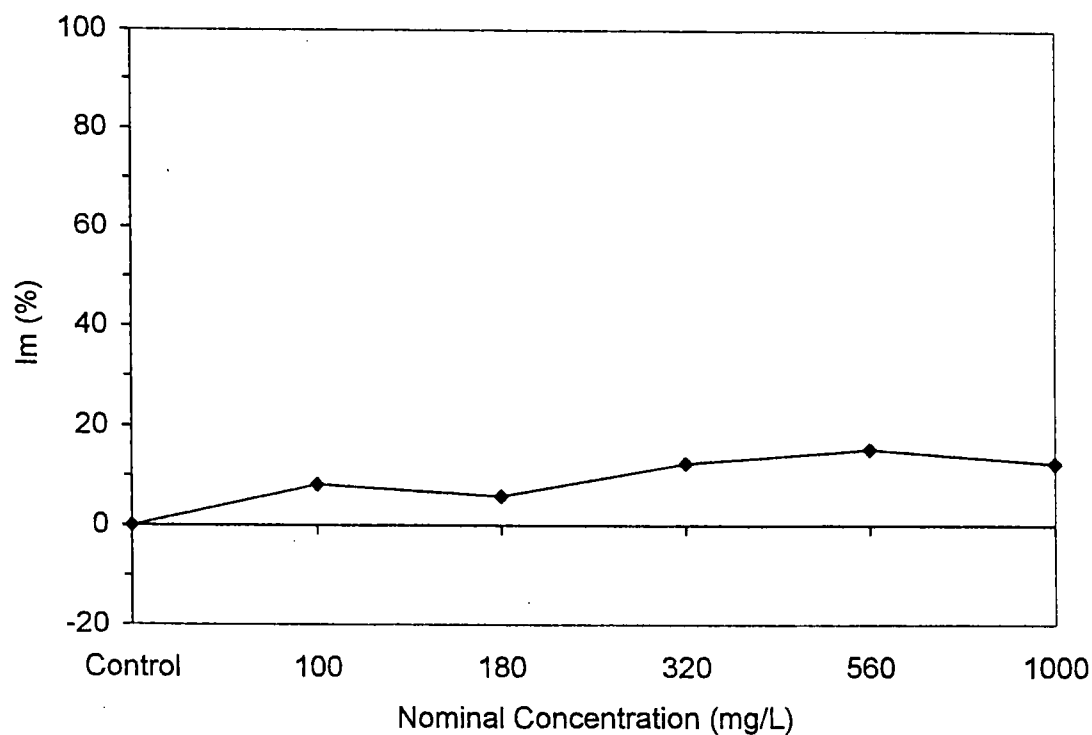


Figure 3. Concentration-Inhibition Curve of *Selenastrum capricornutum* Based on  $I_m$  (24-72h) Value to 1-Butanol.



## 付属資料－1

試験液の分析方法

(全15頁)

試験結果報告書

表題： 1-ブタノールの藻類 (*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害試験  
(物理・化学系)

(試験番号： EAI96004)

1997年 3月25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-ブタノールの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する  
生長阻害試験 (物理・化学系)

試験番号 : EAI96004

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 3 月 25 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



試験番号：EAI96004

表 題 1-ブタノールの藻類 (*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害試験  
(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 6日  
至: 1997年 3月 25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 3月 25日
試験担当責任者			1997年 3月 25日
試験担当者			1997年 3月 25日
最終報告書作成者			1997年 3月 25日
運営管理者			1997年 3月 25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-ブタノールの藻類に対する生長阻害試験（試験番号：EA196004）」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： [REDACTED] 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-11w	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:	AOC-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 3 mm, 長さ 2 m

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(ノイズ) : 10

保 持 時 間 : 約 20 分

注 入 量 :  $4 \mu\text{L}$

### (3) 試験液の分析

#### 1) 検量線の作成

1-ブタノール標準品約  $30 \text{ mg}$  を精密に秤り取り  $30 \text{ mL}$  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  $10, 50, 100, 200 \text{ mg/L}$  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と標準品の重量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  $1.6 \text{ g}$  及びジクロロメタン  $4 \text{ mL}$  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  $8 \text{ mL}$  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  $10 \sim 200 \text{ mg/L}$  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	: $40 \text{ ng}$	最終液量	: $4 \text{ mL}$
注入量	: $4 \mu\text{L}$	試料量	: $8 \text{ mL}$

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

### 5. 試験結果

#### (1) 添加回収試験結果

検出限界の  $10$  倍濃度 ( $50 \text{ mg/L}$ ) 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 時間	72 時間
対照区	<7	<7
100	102.8	105.9
180	188.2	192.1
320	344.3	354.6
560	597.2	594.8
1000	1063	1103

## 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 . s e c)
1	40.16	147
2	200.8	941
3	401.6	1939
4	803.2	4002

$$Y(\text{Peak Height}) = -70.42 + 5.057X (\text{Weight})$$

$$r = 1.000$$

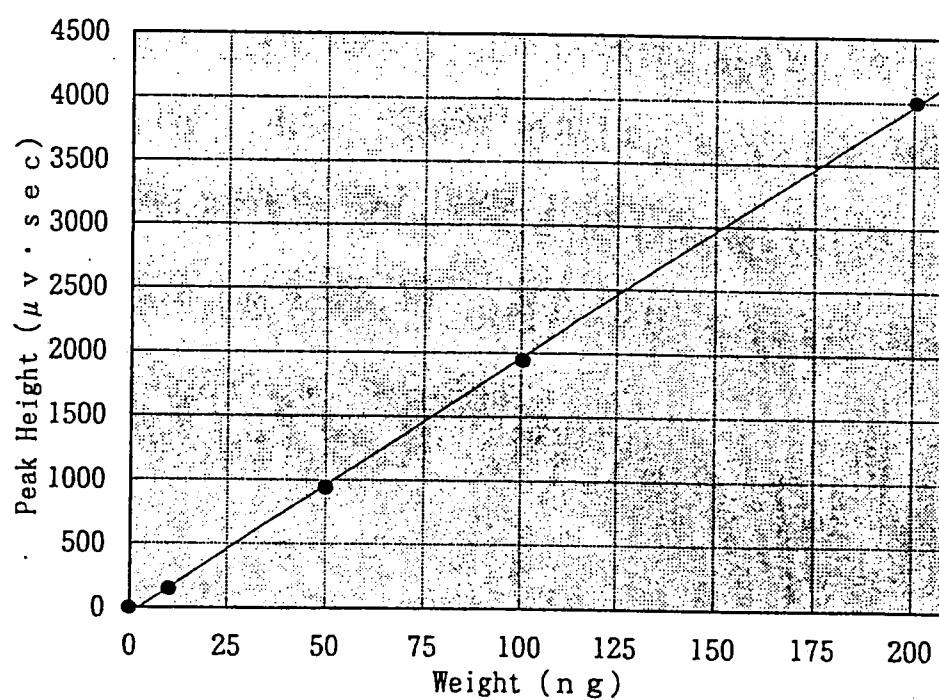
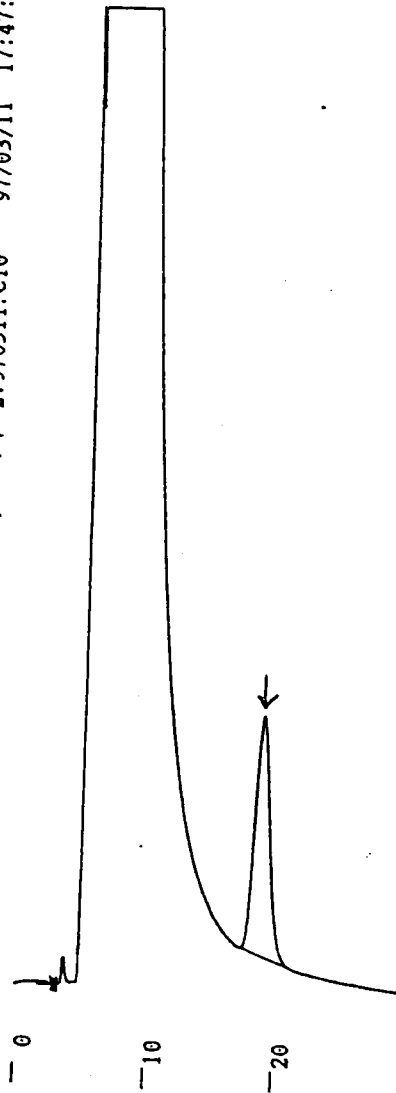




Figure 2 Representative Chromatograms

(1) Standard 100.4 mg/L

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=38 クロマト=2:970311.C10 97/03/11 17:47:16

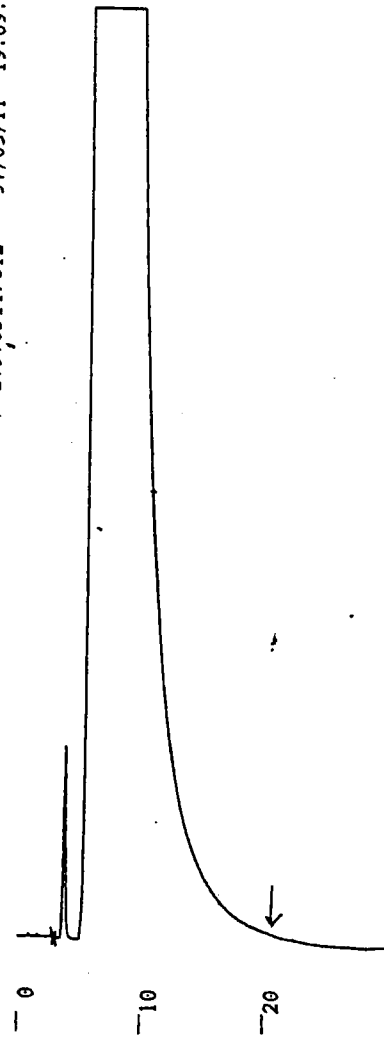


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.862	156057	1939			100	
TOTAL			156057	1939			100	

(2) Control: Hour 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=40 クロマト=2:970311.C12 97/03/11 19:09:12



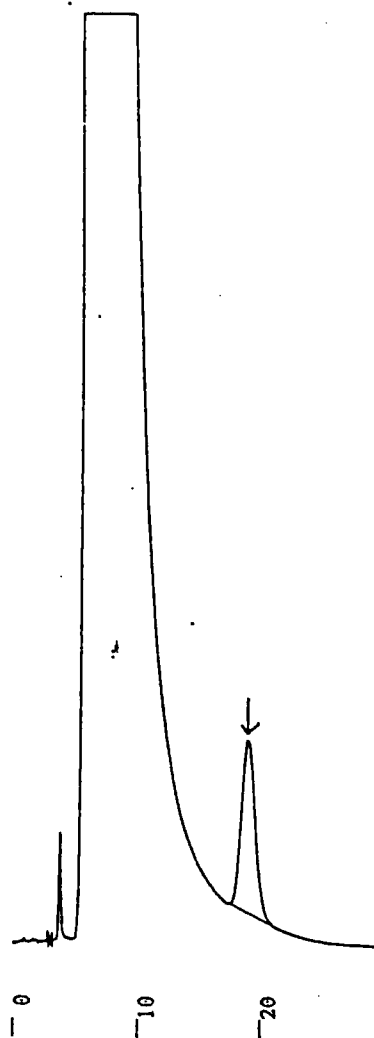
\*\* 定量計算結果 \*\* 注意: 17-有 CALERROR: 1

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

Figure 2 Continued

(3) 100 mg/L nominal; Hour 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=41 クロマト=2:970311.C13 97/03/11 19:50:10

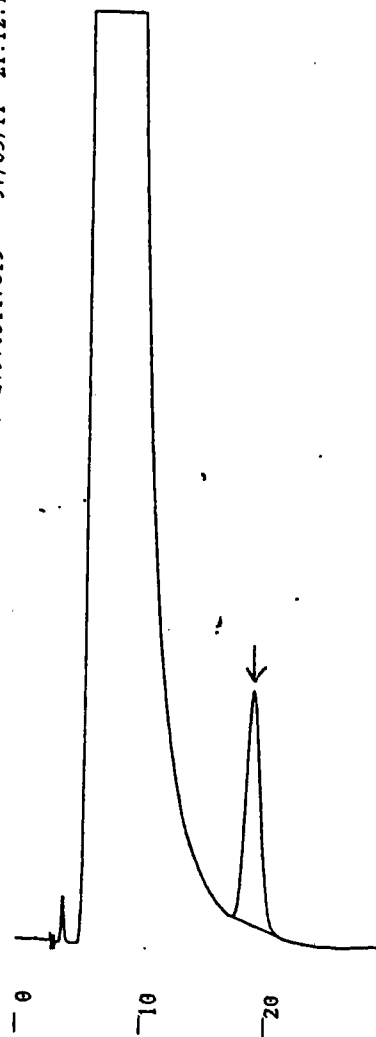


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.908	117396	1458			100	
TOTAL			117396	1458			100	

(4) 320 mg/L nominal; Hour 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=43 クロマト=2:970311.C15 97/03/11 21:12:10



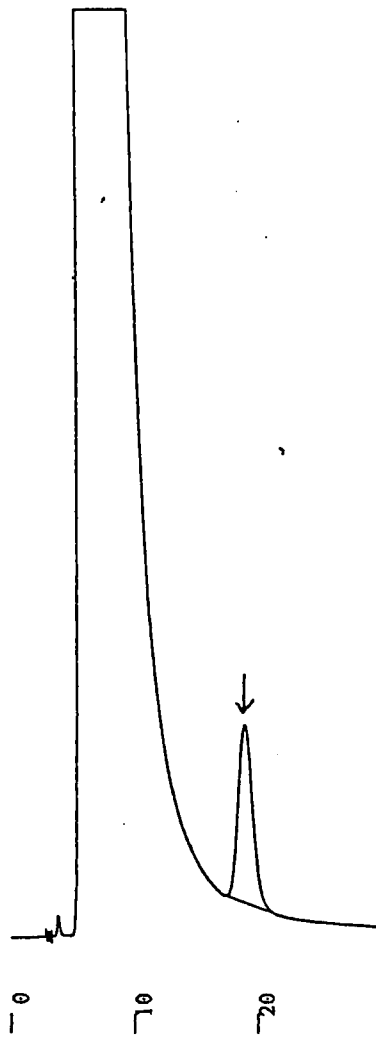
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.904	160297	1977			100	
TOTAL			160297	1977			100	

Figure 2 Continued

(5) 1000mg/L nominal; Hour 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=45 クロマト=2:970311.C17 97/03/11 22:34:13



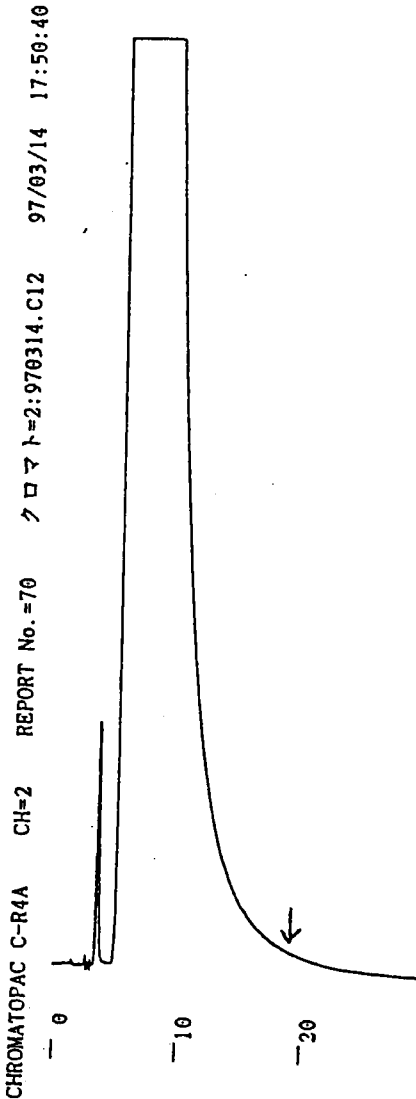
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.953	122461	1510			100	
TOTAL			122461	1510			100	

Figure 2 Continued

(6) Standard 100.4 mg/L

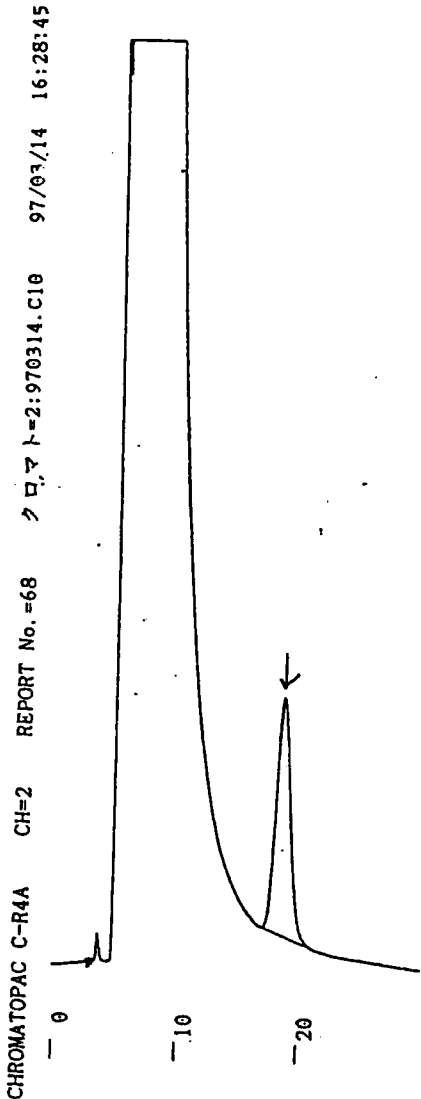
(7) Control: Hour 72



\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 1) 有 CALERROR: 1

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

TOTAL 0



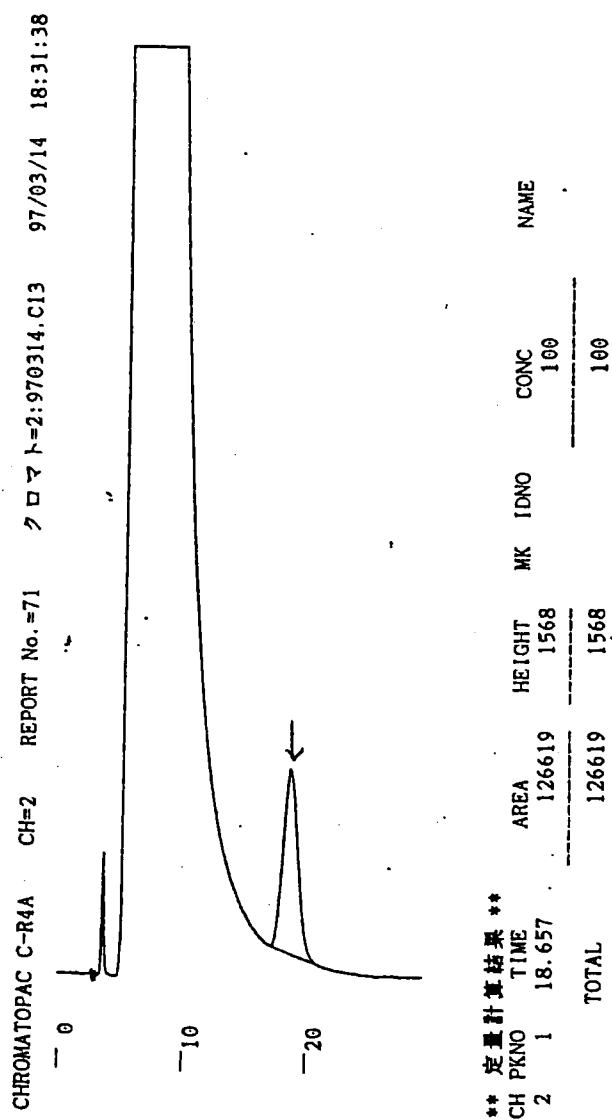
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.625	163279	2023			100	
			163279	2023			100	

TOTAL 163279 2023

Figure 2 Continued

(8) 100 mg/L nominal; Hour 72



(9) 320mg/L nominal; Hour 72

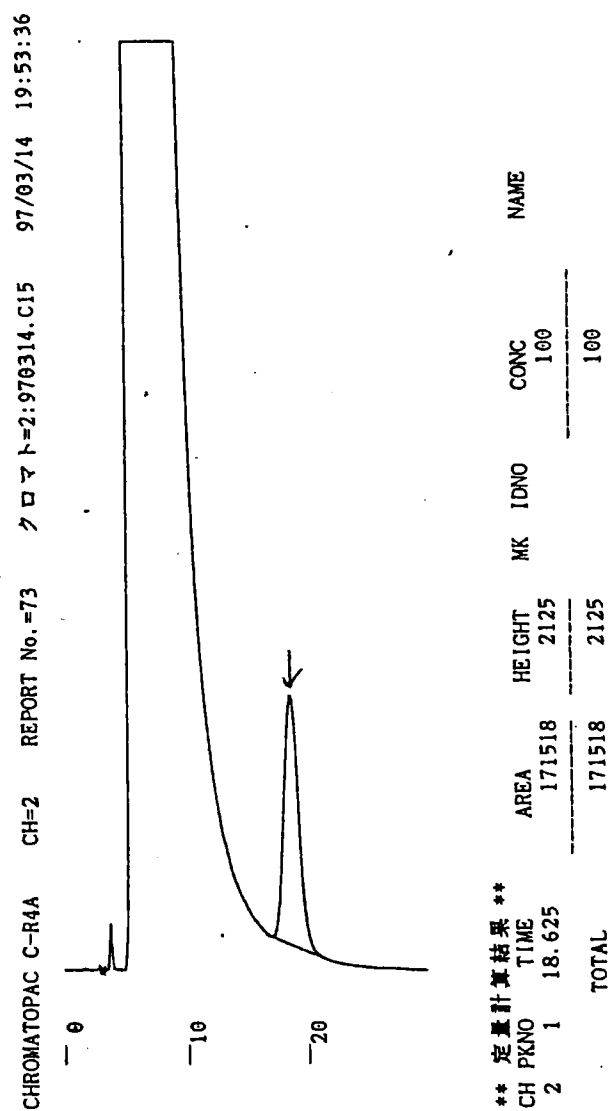
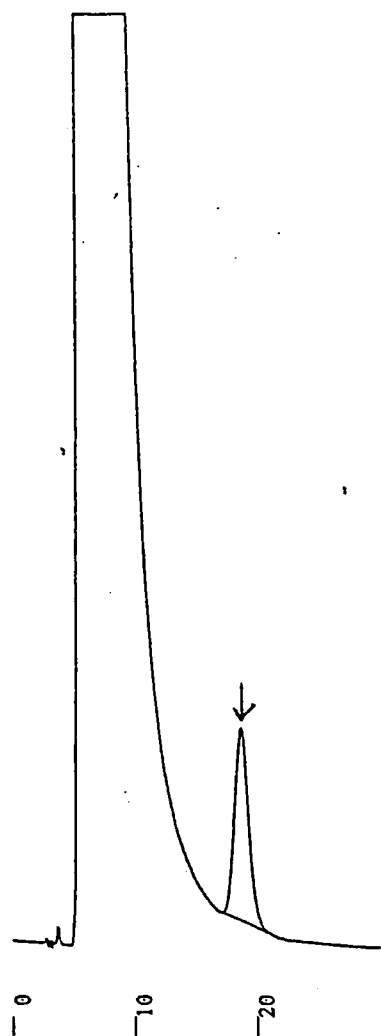


Figure 2 Continued

(10) 1000mg/L nominal; Hour 72

CHROMATOPAC C-R4A CH=2 REPORT No.=75 クロマト=2:970314.C17 97/03/14 21:15:39



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
2	1	18.681	132506	1636			100	
TOTAL			132506	1636			100	