

環境庁殿

最 終 報 告 書

1,2-ジクロロプロパンのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

(試験番号：91514)

1996 年 3 月 28 日作成

財団法人 化 学 品 検 査 協 会
化学品安全センター 化学物質研究所

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： 1,2-ジクロロプロパンのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性
試験

試験番号： 91514

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。

1996年 3月 28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： 1,2-ジクロロプロパンのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する
急性毒性試験

試験番号： 91514

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 (通関業者)	報告日 (試験責任者)
試験計画書監査	1995年12月 5日	1995年12月 5日	1995年12月 5日
試験計画書の変更監査	1995年12月19日	1995年12月19日	1995年12月19日
試験計画書の変更監査	1996年 1月31日	1996年 1月31日	1996年 1月31日
試験実施状況査察	1996年 2月 5日	1996年 2月15日	1996年 2月15日
試験実施状況査察	1996年 2月 9日	1996年 2月15日	1996年 2月15日
試験計画書の変更監査	1996年 3月12日	1996年 3月12日	1996年 3月12日
最終報告書監査	1996年 3月28日	1996年 3月28日	1996年 3月28日

1996年 3月28日

信頼性保証部門責任者：



試験実施概要

1. 表 題

1,2-ジクロロプロパンのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

2. 試験目的

1,2-ジクロロプロパンについて、ヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験を行い、半数致死濃度 (LC50) 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.203 「魚類急性毒性試験」(1992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 東京都千代田区霞が関一丁目2-2

6. 試験受託者

名 称： 財団法人 化学品検査協会

所在地： 〒136 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

所在地： 〒830 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]

[REDACTED]

分析担当

[REDACTED]

[REDACTED]

データ処理担当

[REDACTED]

試験資料管理部門責任者

[REDACTED]

9. 最終報告書の承認

1996 年 3 月 28 日

試験責任者

氏名

[REDACTED]

10. 試験期間

試験開始日

1995 年 12 月 5 日

試験終了日

1996 年 3 月 28 日

暴露期間

1996 年 2 月 5 日～1996 年 2 月 9 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. 供試生物	3
3. 試験方法	4
3.1 試験条件	4
3.2 希釈水	4
3.3 試験容器及び恒温槽等	4
3.4 試験濃度の設定	4
3.5 試験液の調製	5
3.6 試験液の分析	5
3.7 試験操作	5
3.8 数値の取扱い	5
4. 結果の算出	5
5. 結果及び考察	6
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	6
5.2 試験液中の被験物質濃度	6
5.3 半数致死濃度 (LC50)	6
5.4 0%死亡最高濃度及び100%死亡最低濃度	6
5.5 毒性症状	6
5.6 試験液の水温、溶存酸素濃度及びpH	7
5.7 試験液の状態	7
Table 1～8	8～14
Figure 1	15
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

1,2-ジクロロプロパンのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

試験番号

91514

試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドラインNo.203「魚類急性毒性試験」(1992年)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質： 1,2-ジクロロプロパン
- 2) 供試生物： ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 3) 生 物 数： 10尾／1試験区
- 4) 暴露期間： 96時間
- 5) 暴露方式： 半止水式(24時間毎に換水)
- 6) 試験濃度： 300, 200, 133, 88.9, 59.3 mg/L(濃度公比：1.5) 及び対照区
- 7) 連 数： 1試験区につき2連
- 8) 試験液量： 3.0 L／1容器 × 2容器／1試験区
- 9) 水 温： 24 ± 1℃
- 10) 照 明： 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： ヘッドスペースガスクロマトグラフィー(HS-GC)
(開始時、換水前)

結 果

- 1) 96時間の半数致死濃度(LC50) = 163 mg/L(95%信頼区間：133 ~ 200 mg/L)
 - 2) 0%死亡最高濃度 = 133 mg/L
 - 3) 100%死亡最低濃度 = 200 mg/L
- (上記濃度は、全て設定値に基づく値)

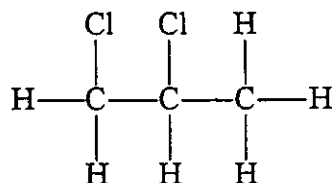
1. 被験物質

本報告書において1,2-ジクロロプロパンは、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： 1,2-ジクロロプロパン
(CAS番号 78-87-5)

- 2) 構 造 式：



- 3) 分 子 式： $\text{C}_3\text{H}_6\text{Cl}_2$
 4) 分 子 量： 112.99 ^{#2}
 5) 比 重： 1.1579 (20°C/20°C) ^{#1}
 6) 外 観： 無色透明液体 ^{#1}
 7) 安 定 性： 不明
 8) 1-オクタノール／水分配係数(logP)： 不明
 9) pKa : 不明
 10) 水への溶解度： 2,700 mg/L (20°C) ^{#2}
 11) 蒸 気 圧： 42 mmHg (20°C) ^{#2}
 12) 純度及び不純物： 含量 (ガスクロマトグラフ法) 99.8% ^{#1}
 13) ロット番号： FAZ01
 14) 供 給 者： XXXXXXXXXX
 15) 供 給 量： 500 g
 16) 入 手 日： 1995 年 11 月 27 日

情 報 源

#1： 供給者提供の添付資料

#2： Karel Verschueren, "Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals" 2nd Ed., Van Nostrand Reinhold, 1983.

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な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. 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 ± 0.5 cm であった。

- 1) 一般名： ヒメダカ
- 2) 学名： *Oryzias latipes*
- 3) 体長： 1.79 cm (1.65～1.93 cm), n=10
- 4) 体重： 0.0599 g (0.0464～0.0863 g), n=10
- 5) ロット番号： LNR-960122
- 6) 購入先： 中島養魚場 (〒869-01 熊本県玉名郡長洲町大明神)
- 7) 購入日： 1996年1月16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。馴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)の96時間LC50は1.08 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葉浴方式を用いた。
試験は密閉式で半止水式 (24時間毎に換水) で行った。
- 2) 暴露期間： 96時間
- 3) 連 数： 1試験区につき2連
- 4) 生物数： 10尾/1試験区
- 5) 試験液量： 3.0 L/1容器×2容器/1試験区
- 6) 水 温： $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 7) 照 明： 16時間明/8時間暗
- 8) 給 餌： 無給餌
- 9) エアレーション： 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35.5 mg/L (CaCO_3 換算)、pHは6.9 であった。希釈水使用時にはオルトトリジン法によって残留塩素濃度が 0.02 mg/L以下であることを確認した。

[付属資料-1]

3.3 試験容器及び恒温槽等

- 1) 試験容器： 3.0 L容のガラス容器 (直径16 cm、深さ17 cm) を用いた。また、密閉にするための蓋としてガラス板を用いた。
- 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) 水 温 計： 検定済ガラス製棒状温度計
- 4) 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)
- 5) 溶存酸素計： 溶存酸素計51B型 (Yellow Springs Instrument Co., Inc.)

3.4 試験濃度の設定

本試験に先立って行った予備試験の結果では 500 mg/Lにおいて100%死亡、100 mg/Lにおいて 0 %死亡、10~100 mg/Lにおいて無影響濃度であったので、試験濃度は 300 mg/Lを最高濃度として濃度公比 1.5で5濃度区 (300, 200, 133, 88.9 及び 59.3 mg/L) を設定した。対照には希釈水のみを対照区を設けた。

3.5 試験液の調製

必要量の被験物質を希釈水に添加し [比重(1.158)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、希釈水に溶解させて調製した。各濃度区での添加量を以下に示す。

濃度区 (mg/L)	300	200	133	88.9	59.3
1 L 当たりの添加量 (μ L)	259	173	115	76.8	51.2

3.6 試験液の分析

暴露開始時及び換水前 (暴露開始後24時間) に各試験区の2容器の中層より試験液を等量採取して混合した後、HS-GCにより分析した。試験液の分析に際しては、試料測定毎に標準溶液 (濃度 5.0 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

暴露開始時に供試魚と同じ容器で馴化した魚10尾の重量及び被鱗体長を測定した。暴露期間中給餌は行わなかった。

全試験区 (ただし、各1試験容器) の試験液の水温、溶存酸素濃度、pHを測定後、試験容器中に供試魚を1濃度区当り10尾投入した。全試験区 (ただし、各1試験容器) の水温、溶存酸素濃度、pHは暴露期間中毎日1回測定した。また、換水前後にも、水温、溶存酸素濃度、pHを測定した。

暴露開始後、24、48、72及び96時間後に死亡個体数を記録するとともに観察された毒性の徴候或いは異常 (例：外部刺激への反応異常、平衡感覚喪失、遊泳異常、呼吸機能の異常、体色変化、背曲がり、出血等) を記録した。死亡個体は換水時に取り除いた。

*：ステンレス製ピンセットの先で尾部に軽く触れても反応がない個体を死亡とみなした。

3.8 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8202-1985参考3 規則Aによった。

4. 結果の算出

各濃度区での死亡数と供試個体数 (10尾) から死亡率 (%) を算出し、Binomial法により半数致死濃度 (LC50) を算出した。また、その95%信頼限界も示した。なお、被験物質の測定濃度が設定値の ± 20 %以内であったので、結果の算出には設定濃度を用いた。

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

暴露開始時及び換水前 (暴露開始後 24 時間)に試験液中の被験物質濃度を測定した。暴露開始時の被験物質濃度は 52.9～246 mg/L (設定値59.3～300 mg/L) であり、設定値に対する割合は 82.1～ 90.0%であった。換水前の被験物質濃度は 53.4～251 mg/L であり、設定値に対する割合は 83.7～90.0%であった。被験物質の測定濃度はいずれもほぼ設定濃度に保たれていた。

[Table 1 (p.8), 付属資料-2]

5.3 半数致死濃度 (LC50)

1,2-ジクロロプロパンの設定濃度に基づく96時間の半数致死濃度 (LC50) は 163 mg/Lであり、その95%信頼区間は133 ～200 mg/Lであった。対照区の死亡率は 0 %であった。

[Table 2,3 (p.9,10), Figure 1 (p.15)]

5.4 0%死亡最高濃度及び100%死亡最低濃度

1,2-ジクロロプロパンに96 時間暴露したヒメダカの 0 %死亡最高濃度は 133 mg/L (設定濃度) であり、100 %死亡最低濃度は 200 mg/L (設定濃度) であった。

[Table 4 (p.10), Figure 1 (p.15)]

5.5 毒性症状

毒性症状として133 mg/L区において表層集中、嗜眠状態、軽度平衡喪失、活動度の低下及び完全平衡喪失が、88.9 mg/L区及び59.3 mg/L区においては表層集中及び活動度の低下が観察された。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。

(上記濃度は、全て設定濃度を示す。)

[Table 5 (p.11)]

5.6 試験液の水温、溶存酸素濃度及びpH

96時間の暴露期間中の水温は 23.0～24.3℃であった。暴露期間中の溶存酸素濃度は 6.7～8.3 mg/Lであり、全ての試験区で飽和溶存酸素濃度の 60 %以上であった。暴露期間中のpHは 7.38～7.89であった。

(24.0℃の飽和溶存酸素濃度：8.25 mg/L)

[Table 6,7,8 (p.12～14)]

5.7 試験液の状態

調製時の試験液は無色透明で、その状態は換水時まで保たれていた。

以 上

Table 1. Concentrations of 1,2-dichloropropane in acute toxicity test using orange killifish (*Oryzias latipes*) under semi-static conditions

Nominal concentration (mg/L)	Observed concentration (mg/L) (Percent of nominal)		
	0-hour ^{a)}	24-hour ^{b)}	Mean ^{c)}
Control	0	0	-
59.3	52.9 (89.3)	53.4 (90.0)	53.2 (89.7)
88.9	80.0 (90.0)	79.9 (89.9)	79.9 (89.9)
133	116 (87.1)	113 (85.0)	114 (85.7)
200	167 (83.4)	172 (86.2)	170 (85.0)
300	246 (82.1)	251 (83.7)	249 (83.0)

a) fresh solutions

b) expired solutions

c) The values are expressed as time-weighted means calculated by the following equation:

$$(C_0 - C_{24}) / (\ln C_0 - \ln C_{24})$$

where

C_0 : the observed concentration at 0-hour

C_{24} : the observed concentration at 24-hour

$\ln C_0$: the natural logarithm of C_0

$\ln C_{24}$: the natural logarithm of C_{24}

Table 2. Mortality of orange killifish (*Oryzias latipes*) exposed to 1,2-dichloropropane

Nominal concentration (mg/L)	Cumulative number of dead fish (Percent mortality)			
	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
59.3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
88.9	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
133	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
200	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
300	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)

Table 3. Calculated LC50 values for orange killifish (*Oryzias latipes*) exposed to 1,2-dichloropropane based on nominal concentrations

Exposure time (Hour)	LC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)	Statistical method
24	163	133 ~ 200	binomial
48	163	133 ~ 200	binomial
72	163	133 ~ 200	binomial
96	163	133 ~ 200	binomial

Table 4. Highest concentration in 0% mortality and lowest concentration in 100% mortality

Exposure time (Hour)	Highest concentration in 0% mortality (mg/L)	Lowest concentration in 100% mortality (mg/L)
24	133	200
48	133	200
72	133	200
96	133	200

Table 5. Toxic symptoms observed in orange killifish (*Oryzias latipes*) during exposure to 1,2-dichloropropane under semi-static test conditions

Nominal concentration (mg/L)	Symptoms				
	3-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	-	-	-	-	-
59.3	AS(6)	AS(6)	AS(2)	AS(4)	AS(3)
			RA(3)	RA(2)	RA(2)
88.9	AS(10)	AS(8)	AS(5)	AS(4)	AS(4)
	RA(10)	RA(6)	RA(7)	RA(10)	RA(10)
133	AS(3)	AS(10)	AS(10)	AS(9)	AS(7)
	LETH(2)	PLE(3)	LETH(1)	CLE(1)	CLE(1)
	PLE(1)	RA(10)	PLE(1)	LETH(1)	LETH(1)
	RA(8)		RA(9)	RA(9)	RA(9)
200					
300					

The values in parentheses express the number of fish showing the symptom.

AS : At the surface
 CLE : Complete loss of equilibrium
 LETH: Lethargic
 PLE : Partial loss of equilibrium
 RA : Reduced activity
 - : no symptom

Table 6. Temperature of media during 96-hour semi-static exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 1,2-dichloropropane

Nominal concentration (mg/L)		Temperature (°C)				
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	new	23.1	23.0	24.0	24.0	
	old		24.3	24.1	24.1	23.4
59.3	new	23.1	23.0	23.9	24.0	
	old		24.2	24.2	24.2	23.5
88.9	new	23.2	23.2	24.1	24.0	
	old		24.2	24.2	24.2	23.4
133	new	23.3	24.1	24.3	24.1	
	old		24.2	24.2	24.2	23.4
200	new	23.4	n	n	n	
	old		24.1	n	n	n
300	new	23.6	n	n		
	old		24.3	n	n	n

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions at 24-hour after preparation

n : No measurement was made because all orange killifish died at this observation time.

Table 7. Dissolved oxygen concentrations of media during 96-hour semi-static exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 1,2-dichloropropane

Nominal concentration (mg/L)		Dissolved oxygen concentration (mg/L)				
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	new	8.2	8.2	8.2	8.3	
	old		7.0	6.7	7.1	7.4
59.3	new	8.2	8.2	8.2	8.3	
	old		7.0	7.2	7.2	7.3
88.9	new	8.2	8.2	8.2	8.3	
	old		7.4	7.2	7.0	7.4
133	new	8.2	8.2	8.2	8.3	
	old		7.1	7.2	7.0	7.4
200	new	8.2	n	n	n	
	old		8.1	n	n	n
300	new	8.2	n	n	n	
	old		8.1	n	n	n

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions at 24-hour after preparation

n : No measurement was made because all orange killifish died at this observation time.

Table 8. pH values of media during 96-hour semi-static exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to 1,2-dichloropropane

Nominal concentration (mg/L)		pH				
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	new	7.44	7.62	7.56	7.70	
	old		7.46	7.39	7.49	7.38
59.3	new	7.54	7.74	7.65	7.77	
	old		7.50	7.61	7.56	7.49
88.9	new	7.61	7.78	7.67	7.79	
	old		7.50	7.61	7.56	7.53
133	new	7.60	7.89	7.75	7.78	
	old		7.48	7.61	7.57	7.54
200	new	7.62	n	n	n	
	old		7.55	n	n	n
300	new	7.59	n	n	n	
	old		7.59	n	n	n

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions at 24-hour after preparation

n : No measurement was made because all orange killifish died at this observation time.

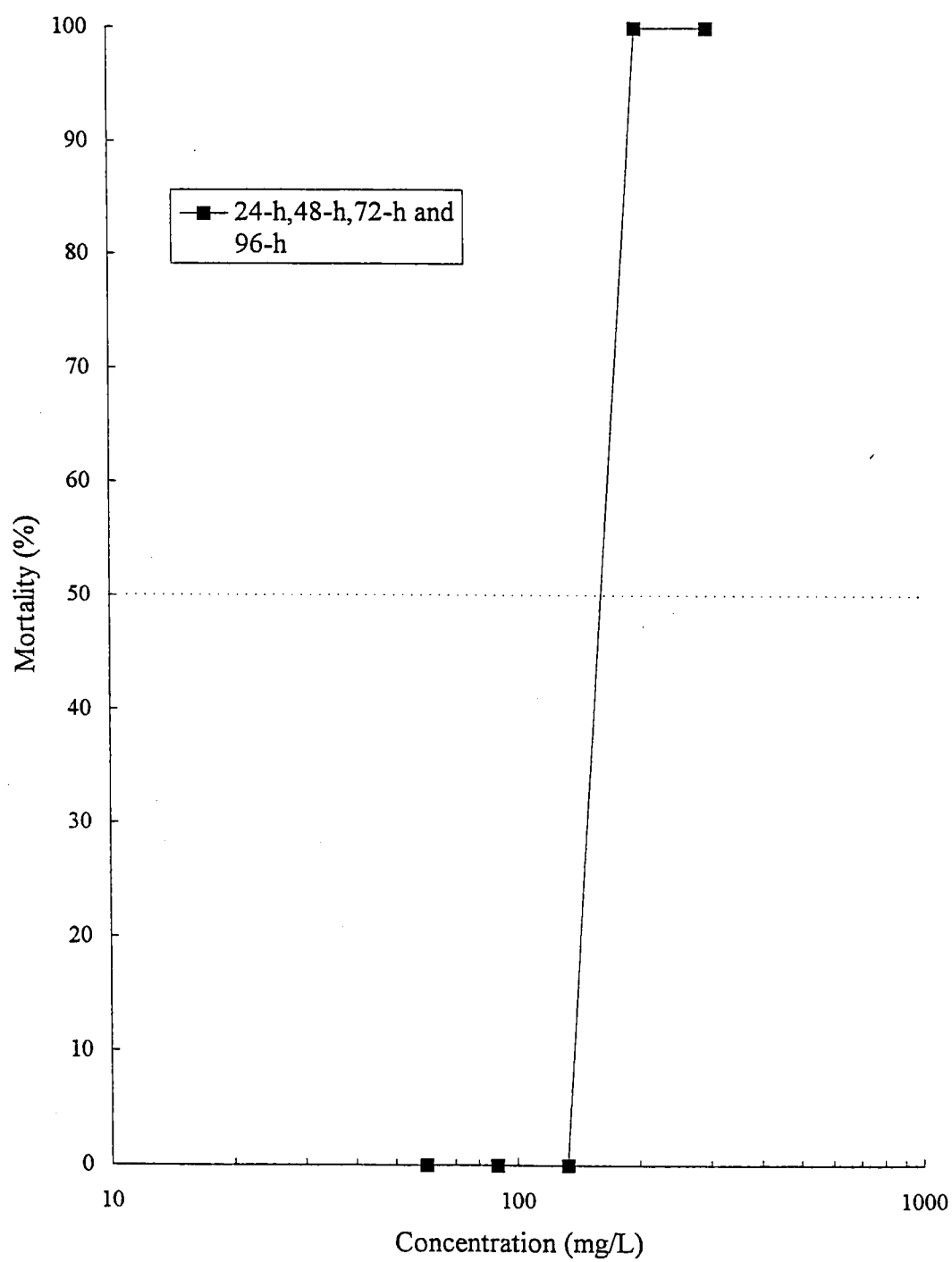


Figure 1. Concentration-toxicity curve of 1,2-dichloropropane in orange killifish (*Oryzias latipes*).

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
		1995.Nov.28	of detection
pH		6.9	
COD	(mg/L)	0.2	
Coliform group bacteria		0	
	(MPN/100mL)		
Total phosphorus	(mg/L)	0.03	
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)	0.01	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)	0.13	0.01
Tin	(mg/L)	N.D.	0.5
Iron	(mg/L)	0.02	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)	0.01	
Arsenic	(mg/L)	N.D.	0.002
Selenium	(mg/L)	N.D.	0.002
Evaporation residue	(mg/L)	118	
Electric conductivity	(μ S/cm)	147	
Total hardness (as CaCO ₃)		35.5	
	(mg/L)		
Alkalinity	(mg/L)	21.0	
Sodium	(mg/L)	12.85	
Potassium	(mg/L)	3.55	
Calcium	(mg/L)	9.2	
Magnesium	(mg/L)	3.06	

Appendix 1. (continued)

Parameter		Concentration	Lower limit of detection
		1995.Nov.28	
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 cupper	(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
Benthiocarb	(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 11 頁)

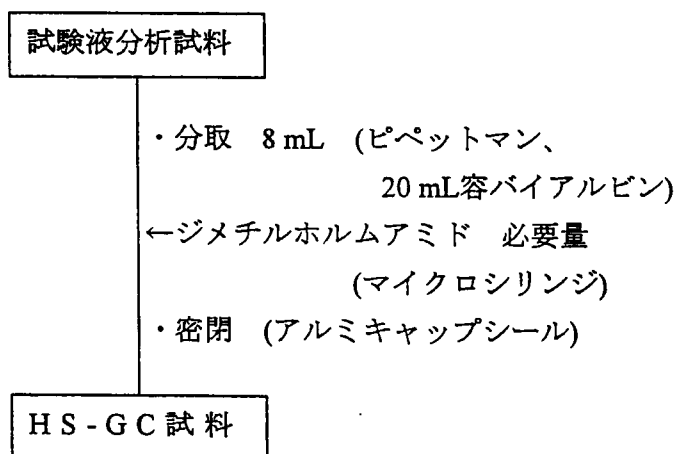
試 験 名 : 魚類急性毒性試験
被験物質物質名 : 1,2-ジクロロプロパン

1) 試験液の分析方法

① 試験液の前処理操作

混合した溶液は、そのままもしくは蒸留水で希釈して、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



最終定容溶液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 100 mg を正確にはかりとり、ジメチルホルムアミドに溶解して 1,000 mg/L の被験物質溶液を調製した。これをジメチルホルムアミドで希釈して 10 及び 100 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 容バイアルビンに蒸留水 8 mL を添加し、これに 1,000 mg/L の被験物質溶液を 40 μ L 添加した後、ただちにアルミキャップシールを行い、5.0 mg/L の標準溶液を調製した。

2) GCの分析条件

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	80℃
・加 温 時 間	60 分
・ニードル温度	140℃
・トランスファー温度	150℃

ガスクロマトグラフ条件

・機 器	HP5890 Series -II (機器 No. GC-45) HEWLETT PACKARD 製
・検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
・検 出 器 温 度	250℃
・カ ラ ム	NeutraBond-1 (0.25 mmID×50 m)
・カ ラ ム 温 度	40℃ (2 min) → 200℃ (2 min)
・昇 温 速 度	10℃/min
・試料導入部温度	200℃
・キャリアーガス	ヘリウム 160 kPa
・水 素	1.2 Kg/cm ²
・空 気	2.0 Kg/cm ²
・スプリット比	1:50
・感 度	レンジ 1 V

3) 検量線の作成

1) ③の標準溶液の調製と同様にして5.0及び25.0 mg/Lの標準溶液を調製した。また、10及び100 mg/Lの被験物質溶液より、それぞれ0.20及び1.0 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 1,2-dichloropropane by GC analysis.
- Figure 2-1. Example of chromatogram.
(standard solution of 5.0 mg/L, 0-hour)
- Figure 2-2. Example of chromatogram.
(fresh test solution of 133 mg/L as nominal concentration, 0-hour)
- Figure 2-3. Example of chromatogram.
(fresh test solution of control, 0-hour)
- Figure 2-4. Example of chromatogram.
(standard solution of 5.0 mg/L, 24-hour)
- Figure 2-5. Example of chromatogram.
(expired test solution of 133 mg/L as nominal concentration, 24-hour)
- Figure 2-6. Example of chromatogram.
(expired test solution of control, 24-hour)

Input data

Run	Concentration (mg/L)	Peak area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)
1	0.20	8621
2	1.0	44895
3	5.0	224931
4	25.0	1040960

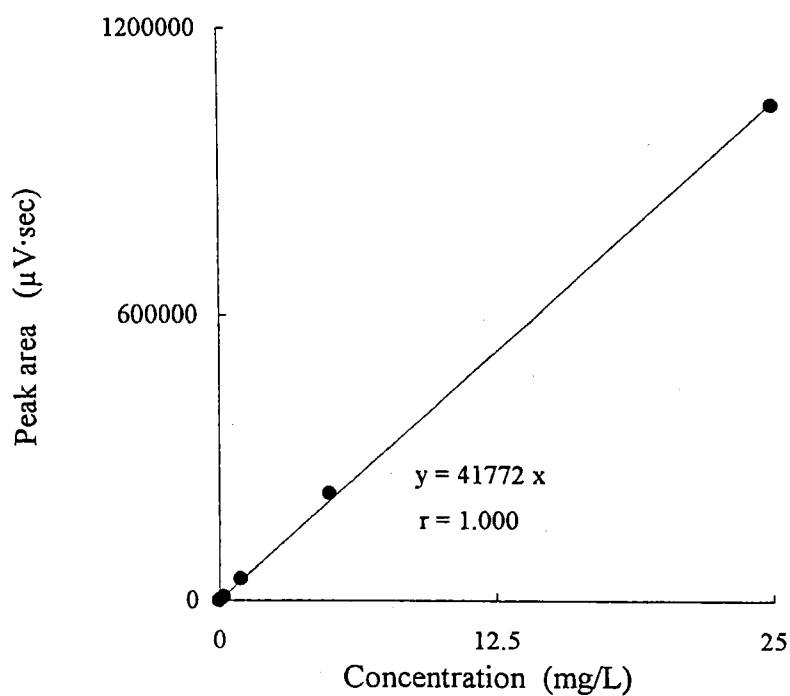


Figure 1. Calibration curve of 1,2-dichloropropane by GC analysis.

1996. 1. 25. [REDACTED]

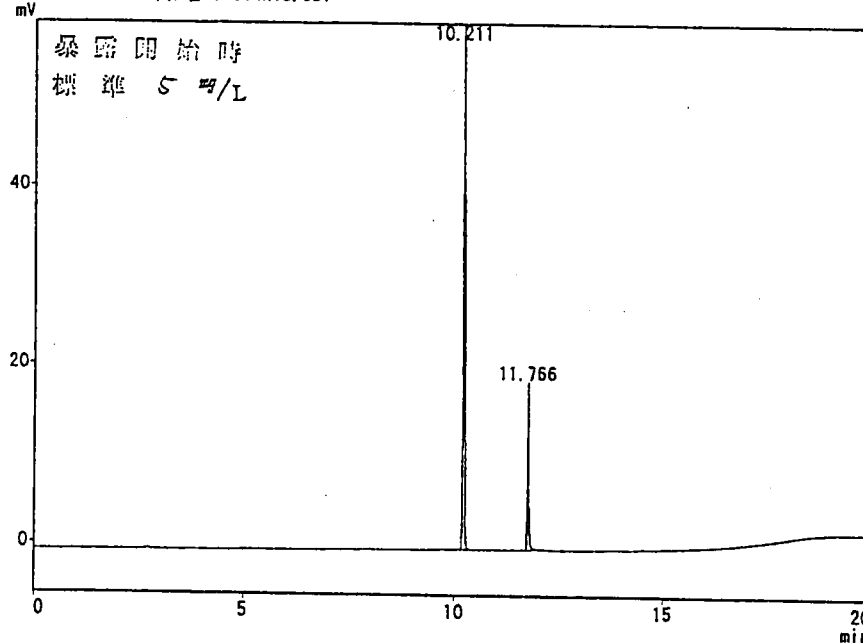
1996. 2 6

試験番号 91514

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=8 データ=91514H1S.D31 96/02/05 20:28:40

サンプル : DCP/std.
ID : 5
サンプル量 : 100
タイプ : 標準試料
検出器 : WFI0
オペレータ名 :

*** クロマトグラム *** ファイル名:91514H1S.C31



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA(μV·Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.211	227759	86044		1		DCP
2	11.766	48475	18855				

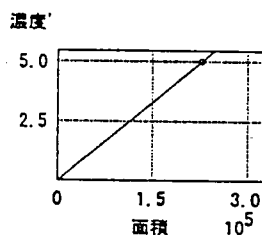
276233 104899

*** キャリブレーション結果 ***

** ID テーブル **

IDNO	成分名	時間	濃度	F1	F2
1	DCP	10.21	5	2.19531e-005	

** 検量線 **



IDNO: 1
NAME: DCP
TIME: 10.21

濃度
(1) 5 面積
227759

RF1
(1) 2.19531e-005 RF2
0
r2 = 1

Figure 2-1. Example of chromatogram.
(standard solution of 5.0 mg/L, 0-hour)

1996.2.6

試験番号 91514

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=11 テーサ=91514H1C.D30 96/02/05 22:14:22

サンプル : DCP/F8/On

ID : 133/20

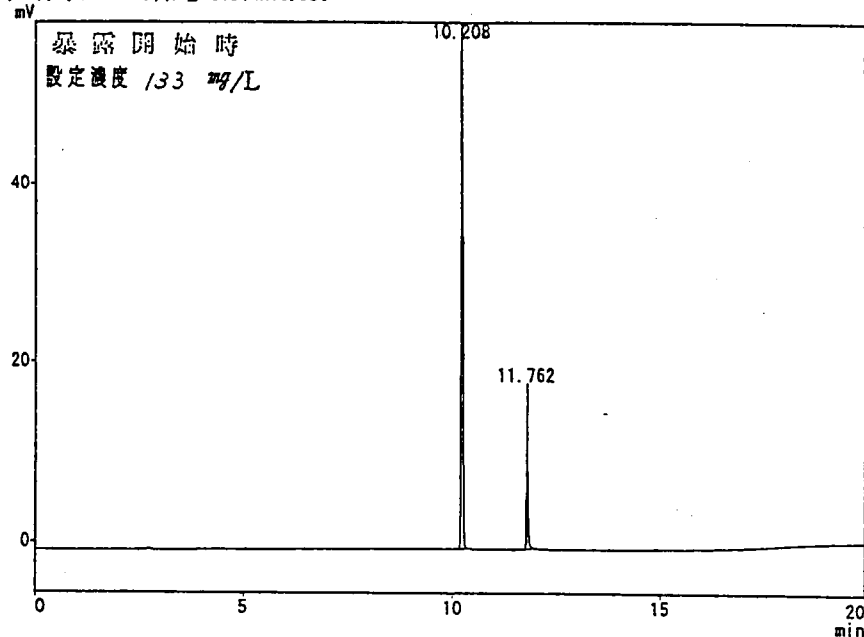
サンプル量 : 5

タイプ : 未知試料

検出器 : WFID

オペレータ名

*** クロマトグラム *** ファイル名:91514H1C.C30



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA (xV-Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.208	263948	101132		1	115.8893	DCP
2	11.762	46398	18490				
		310346	119623				
				115.8893			

Figure 2-2. Example of chromatogram.

(fresh test solution of 133 mg/L as nominal concentration, 0-hour)

1996.2.6

試験番号 91574

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=14 データ=91514H1Z.D30 96/02/06 00:00:04

サンプル : DCP/F11/0h

ID : 対照区

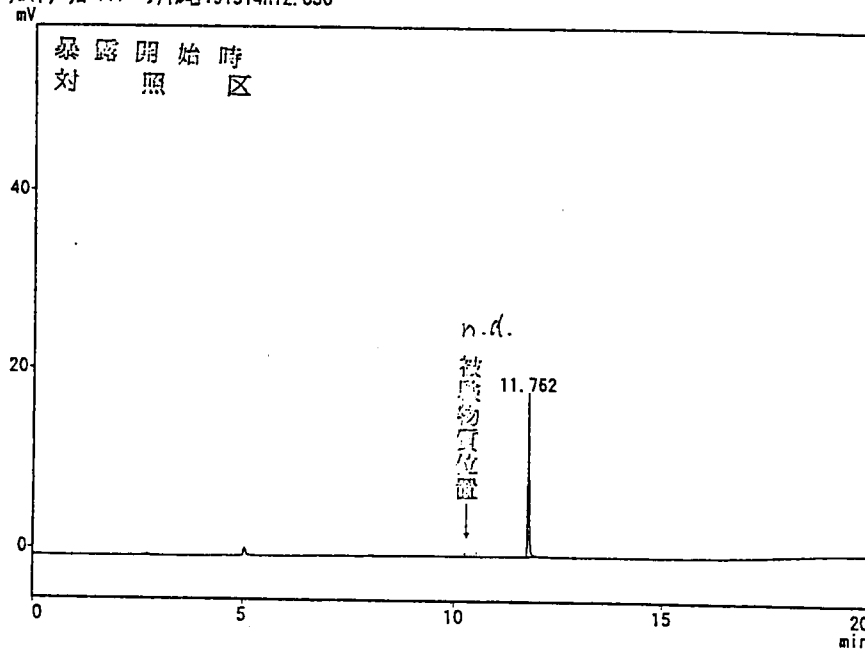
サンプル量 : 100

タイプ : 未知試料

検出器 : WFLD

オペレータ名

*** クロマトグラム *** ファイル名:91514H1Z.C30



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA(μV-Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	11.762	46829	18337				

46829 18337

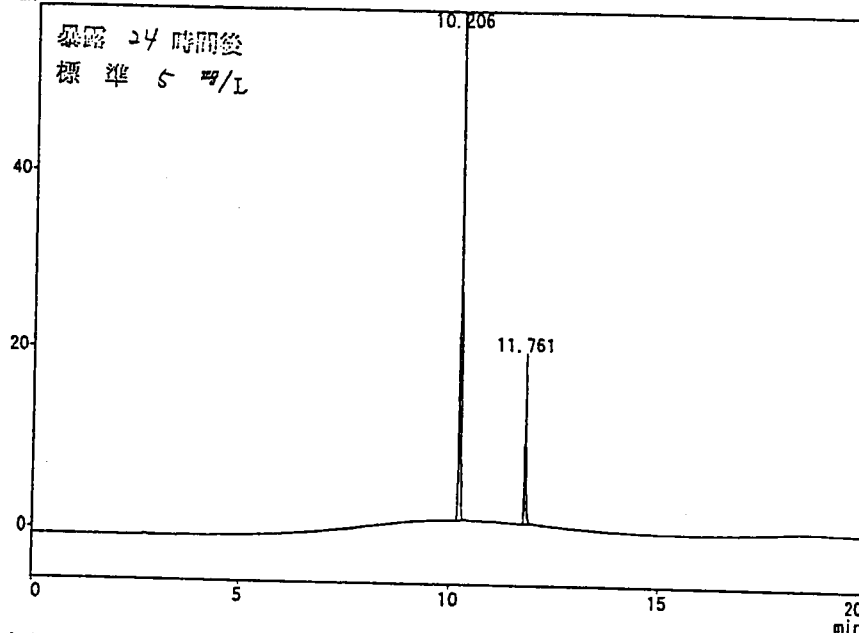
Figure 2-3. Example of chromatogram.
(fresh test solution of control, 0-hour)

1996.2-1

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=91 テーカ=91514H2S.D30 96/02/06 19:07:10
 サンプル : DCP/std.
 ID : 5
 サンプル量 : 100
 タイプ : 標準試料
 検出器 : WFI D
 サンプル名 :

試験番号 91574

*** クロマトグラム *** ファイル名:91514H2S.C30
 mV



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA(μV·Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.206	225611	85284		1		DCP
2	11.761	47924	18958				

273535 104242

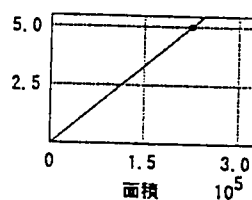
*** キャリブレーション結果 ***

** ID テーブル **

IDNO	成分名	時間	濃度	F1	F2
1	DCP	10.21	5	2.2162e-005	

** 検査線 **

濃度



IDNO: 1
 NAME: DCP
 TIME: 10.21

濃度
 (1) 5 面積 225611

RF1 RF2
 (1) 2.2162e-005 0
 r2 = 1

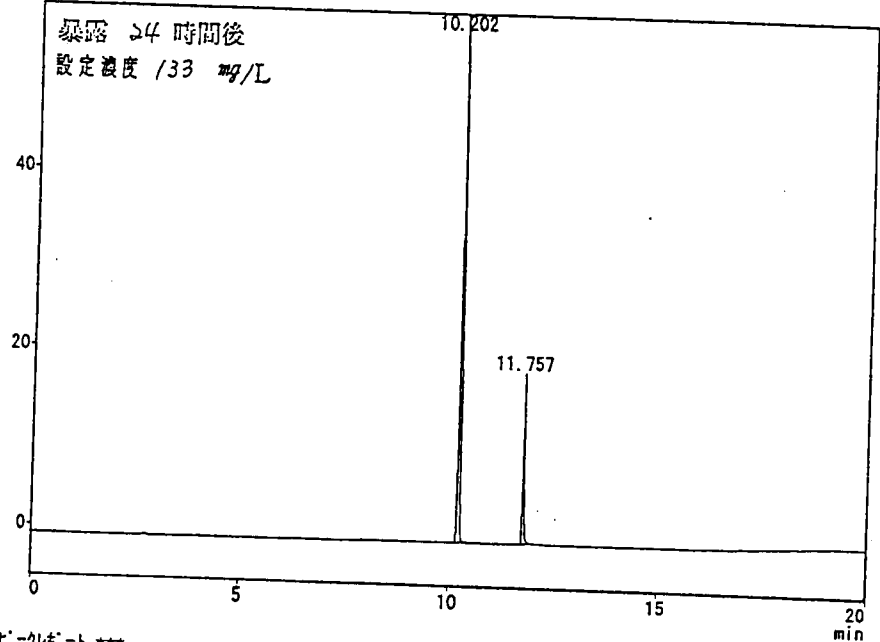
Figure 2-4. Example of chromatogram.
 (standard solution of 5.0 mg/L, 24-hour)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=95 データ=91514H2C.D30 96/02/06 21:28:08
 サンプル : DCP/F11/24h
 ID : 133/20
 サンプル量 : 5
 タイプ : 未知試料
 検出器 : WFI D
 サンプル名 :

1996.2.7

試験番号 91574

*** カロリグラム *** ファイル名: 91514H2C.C30
 mV



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA (μV-Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.202	255186	98168		1	113.1088	DCP
2	11.757	48229	19019				
		303415	117187	113.1088			

Figure 2-5. Example of chromatogram.

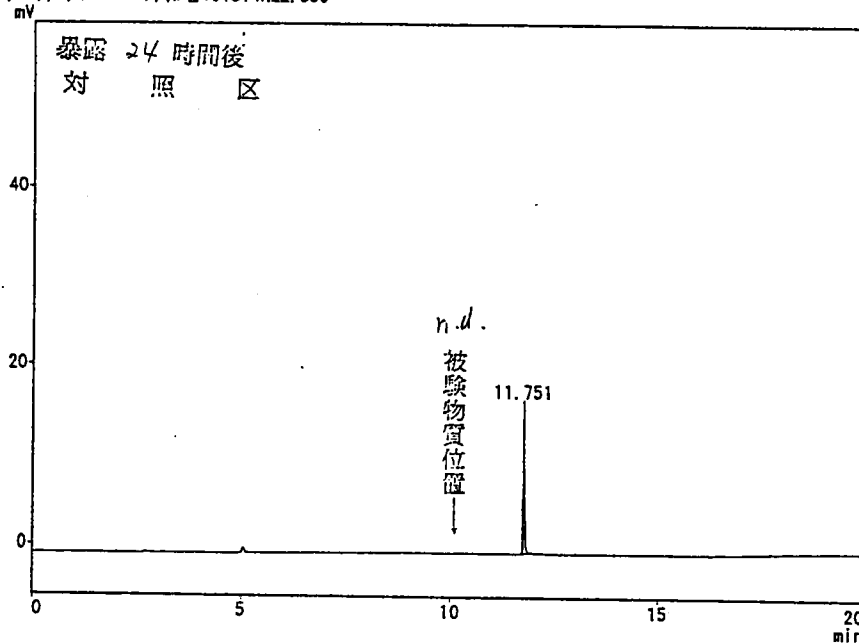
(expired test solution of 133 mg/L as nominal concentration, 24-hour)

1996. 2. 7

試験番号 91574

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 検出器番号=62 検出器=91514H2Z.D30 96/02/06 23:13:52
 サンプル : DCP/F14/24h
 ID : 対照区
 サンプル量 : 100
 サンプル : 未知試料
 検出器 : WFLD
 サンプル名 :

*** クロマトグラム *** ファイル名:91514H2Z.C30



PKNO	TIME	AREA (μV·Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	11.751	43624	17063				
		43624	17063				

Figure 2-6. Example of chromatogram.
 (expired test solution of control, 24-hour)