

環境庁殿

最 終 報 告 書

ジクロロプロモメタンのヒメダカ (*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

(試験番号：91509)

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 残留化学物質研究所

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： ジクロロブロモメタンのヒメダカ (*Oryzias latipes*)に対する
急性毒性試験

試験番号： 91509

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： ジクロロブロモメタンのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する
急性毒性試験

試験番号： 91509

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 (査察者)	報告日 (監査者)
試験計画書監査	1996年 2月 9日	1996年 2月 9日	1996年 2月 9日
試験実施状況査察	1996年 2月 9日	1996年 2月13日	1996年 2月13日
試験実施状況査察	1996年 2月13日	1996年 2月13日	1996年 2月13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

ジクロロプロモメタンのヒメダカ (*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

2. 試験目的

ジクロロプロモメタンについて、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]

分析担当

[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

1996 年 2 月 9 日

試験終了日

1996 年 3 月 28 日

暴露期間

1996 年 2 月 9 日～1996 年 2 月 13 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

ジクロロブロモメタンのヒメダカ (*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

試験番号

91509

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： ジクロロブロモメタン
- 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： 100, 66.7, 44.4, 29.6, 19.8 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

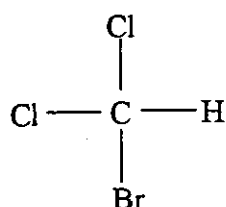
- 1) 96時間の半数致死濃度 (LC50)=28.2 mg/L(95%信頼区間：23.7～33.3 mg/L)
- 2) 0%死亡最高濃度＝本試験の濃度範囲では得られなかった。
- 3) 100%死亡最低濃度＝44.4 mg/L
(上記濃度は、全て設定値に基づく値)

1. 被験物質

本試験報告書においてジクロロブロモメタンは、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: ジクロロブロモメタン
(CAS番号 75-27-4)
- 2) 構 造 式:



- 3) 分子式: CHBrCl_2
4) 分子量: 163.83^{#2}
5) 比重: 1.9836 (20°C/20°C)^{#1}
6) 外觀: 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): 1.88^{#2}
9) pKa: 不明
10) 水への溶解度: 不溶^{#2}
11) 蒸気圧: 50 mmHg (20°C)^{#2}
12) 純度及び不純物: 含量(ガスクロマトグラフ法) 96.5%^{#1}
不純物 エタノール 0.7%^{#1}
13) ロット番号: FLB01
14) 供給者: XXXXXXXXXX
15) 供給量: 125g (25 g×5本)
16) 入手日: 1995年12月1日

情報源

- #1: 供給者提供の添付資料
#2: 環境庁環境化学物質研究会編「環境化学物質要覧」(丸善)1988.

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. 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: 1.71 cm (1.53~1.93 cm), n=10
- 4) 体重: 0.0545 g (0.0305~0.0842 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薬浴方式を用いた。
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 (CaCO₃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100 mg/Lにおいて100%死亡、19.8 mg/Lにおいて0%死亡であったので、試験濃度は100 mg/Lを最高濃度として濃度公比1.5で5濃度区(100, 66.7, 44.4, 29.6及び19.8 mg/L)を設定した。対照には希釈水のみ対照区を設けた。

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(1.98)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)	100	66.7	44.4	29.6	19.8
1 L当たりの添加量(μ L)	50.5	33.7	22.4	14.9	10.0

3.6 試験液の分析

試験開始時及び換水前 (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、Probit法及び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17.6～93.8 mg/L (設定値19.8～100 mg/L)であり、設定値に対する割合は86.0～93.8%であった。換水前の被験物質濃度は18.0～86.1 mg/Lであり、設定値に対する割合は82.7～91.0%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)

ジクロロブロモメタンの設定濃度に基づく96時間の半数致死濃度 (LC50)は28.2 mg/Lであり、その95%信頼区間は23.7～33.3 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

ジクロロブロモメタンに96時間暴露したヒメダカの0%死亡最高濃度は本試験の濃度範囲では得られなかった。100%死亡最低濃度は44.4 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100 mg/L区において表層集中、完全平衡喪失、狂奔及び活動度の低下が、66.7 mg/L区においては表層集中、過敏、軽度平衡喪失、活動度の低下、完全平衡喪失、狂奔及び嗜眠状態が、44.4 mg/L区においては表層集中、過敏、活動度の低下、完全平衡喪失、狂奔及び嗜眠状態が、29.6 mg/L区においては表層集中、活動度の低下、完全平衡喪失、軽度平衡喪失及び嗜眠状態が、19.8 mg/L区においては表層集中、活動度の低下及び軽度平衡喪失が観察された。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23.3～24.4℃であった。暴露期間中の溶存酸素濃度は6.7～8.2 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7.36～7.89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 dichlorobromomethane 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	-
19.8	17.6 (88.8)	18.0 (91.0)	17.8 (89.9)
29.6	27.3 (92.1)	26.6 (89.8)	26.9 (90.9)
44.4	38.2 (86.0)	36.7 (82.7)	37.4 (84.2)
66.7	60.9 (91.3)	58.9 (88.3)	59.9 (89.8)
100	93.8 (93.8)	86.1 (86.1)	89.9 (89.9)

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 dichlorobromomethane

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)
19.8	0 (0)	0 (0)	1 (10)	1 (10)
29.6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (50)
44.4	0 (0)	0 (0)	9 (90)	10 (100)
66.7	2 (20)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
100	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)

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

Exposure time (hour)	LC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)	Statistical method
24	75.8	44.4 ~ 100	binomial
48	54.4	44.4 ~ 66.7	binomial
72	37.8	29.6 ~ 44.4	binomial
96	28.2	23.7 ~ 33.3	probit

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	44.4	100
48	44.4	66.7
72	29.6	66.7
96	-	44.4

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

Nominal concentration (mg/L)	Symptoms				
	3-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	-	-	-	-	-
19.8	-	AS(2) RA(10)	AS(2) PLE(1) RA(10)	AS(3) RA(9)	AS(4) RA(9)
29.6	-	AS(3) RA(10)	AS(6) CLE(1) PLE(1) RA(10)	AS(4) LETH(4) PLE(5) RA(6)	AS(2) LETH(4) PLE(1) RA(1)
44.4	-	AS(2) HS(5) RA(10)	AS(2) CLE(1) ERR(2) LETH(1) RA(9)	AS(6) CLE(2) LETH(8) RA(2)	LETH(1)
66.7	-	AS(3) HS(5) PLE(3) RA(10)	CLE(3) ERR(3) LETH(6) RA(3)		
100	-	AS(3) CLE(4) ERR(2) RA(10)			

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

AS : At the surface
 CLE : Complete loss of equilibrium
 ERR : Erratic
 HS : Hypersensitive
 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 dichlorobromomethane

Nominal concentration (mg/L)		Temperature (°C)				
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	new	23.5	23.3	23.6	24.0	
	old		24.4	23.9	24.3	24.3
19.8	new	23.6	23.8	23.3	24.1	
	old		24.2	24.2	24.3	24.3
29.6	new	23.8	23.9	23.8	24.3	
	old		24.2	24.1	24.3	24.2
44.4	new	23.8	23.9	24.0	n	
	old		24.0	24.2	24.3	n
66.7	new	23.8	23.9	n	n	
	old		24.1	24.2	n	n
100	new	23.8	n	n	n	
	old		24.1	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 7. Dissolved oxygen concentrations of media during 96-hour semi-static exposure of orange killifish (*Oryzias latipes*) to dichlorobromomethane

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	8.0	8.1	
	old		6.6	7.6	7.2	7.6
19.8	new	8.2	8.2	8.0	8.1	
	old		6.7	7.2	7.0	7.5
29.6	new	8.2	8.2	8.0	8.1	
	old		6.7	7.0	6.8	7.7
44.4	new	8.2	8.2	8.0	n	
	old		6.7	6.8	7.0	n
66.7	new	8.2	8.2	n	n	
	old		6.8	7.2	n	n
100	new	8.2	n	n	n	
	old		7.1	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 dichlorobromomethane

Nominal concentration (mg/L)		pH				
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour	96-hour
Control	new	7.44	7.76	7.67	7.68	
	old		7.36	7.49	7.52	7.45
19.8	new	7.56	7.87	7.73	7.75	
	old		7.45	7.50	7.55	7.51
29.6	new	7.65	7.88	7.74	7.78	
	old		7.47	7.49	7.50	7.51
44.4	new	7.63	7.89	7.75	n	
	old		7.44	7.43	7.54	n
66.7	new	7.67	7.87	n	n	
	old		7.45	7.55	n	n
100	new	7.69	n	n	n	
	old		7.43	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.

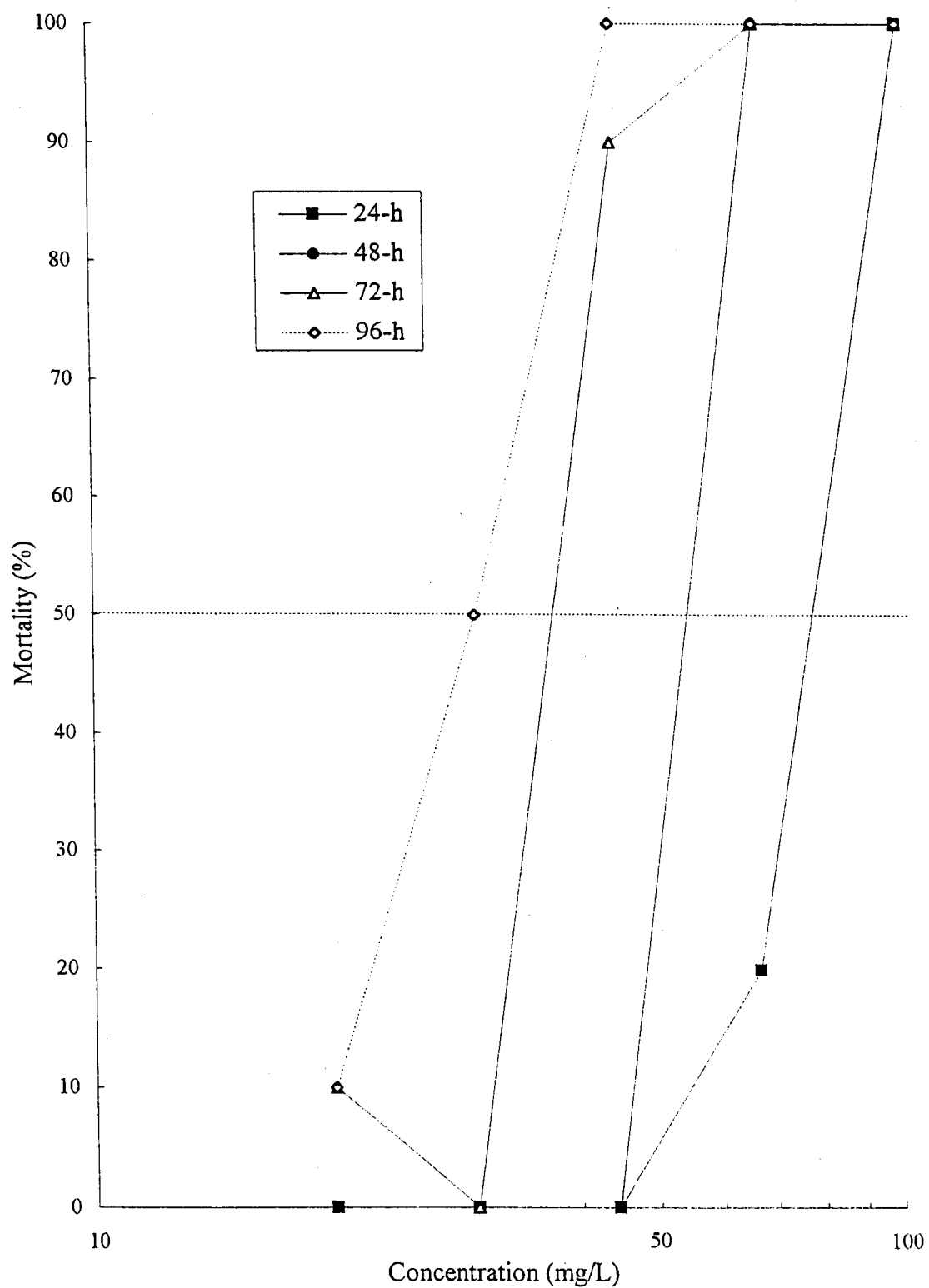


Figure 1. Concentration-toxicity curve of dichlorobromomethane in orange killifish (*Oryzias latipes*).

付属資料－1

希积水の水質

(全2頁)

Appendix 1. Water quality of dilution water

Parameter	Concentration	Lower limit of detection
	1995.Nov.28	
pH	6.9	
COD (mg/L)	0.2	
Coliform group bacteria (MPN/100mL)	0	
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) (mg/L)	35.5	
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
		1995.Nov.28	of detection
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)

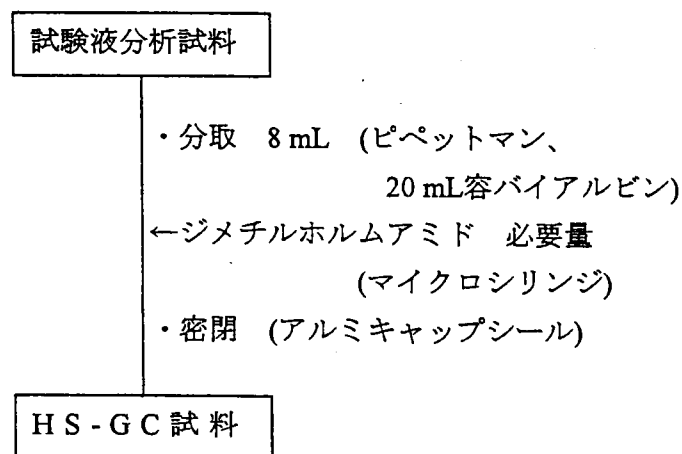
試 験 名 : 魚類急性毒性試験
 被験物質物質名 : ジクロロブロモメタン

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 dichlorobromomethane 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 44.4 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 44.4 mg/L as nominal concentration, 24-hour)
- Figure 2-6. Example of chromatogram.
(expired test solution of control, 24-hour)

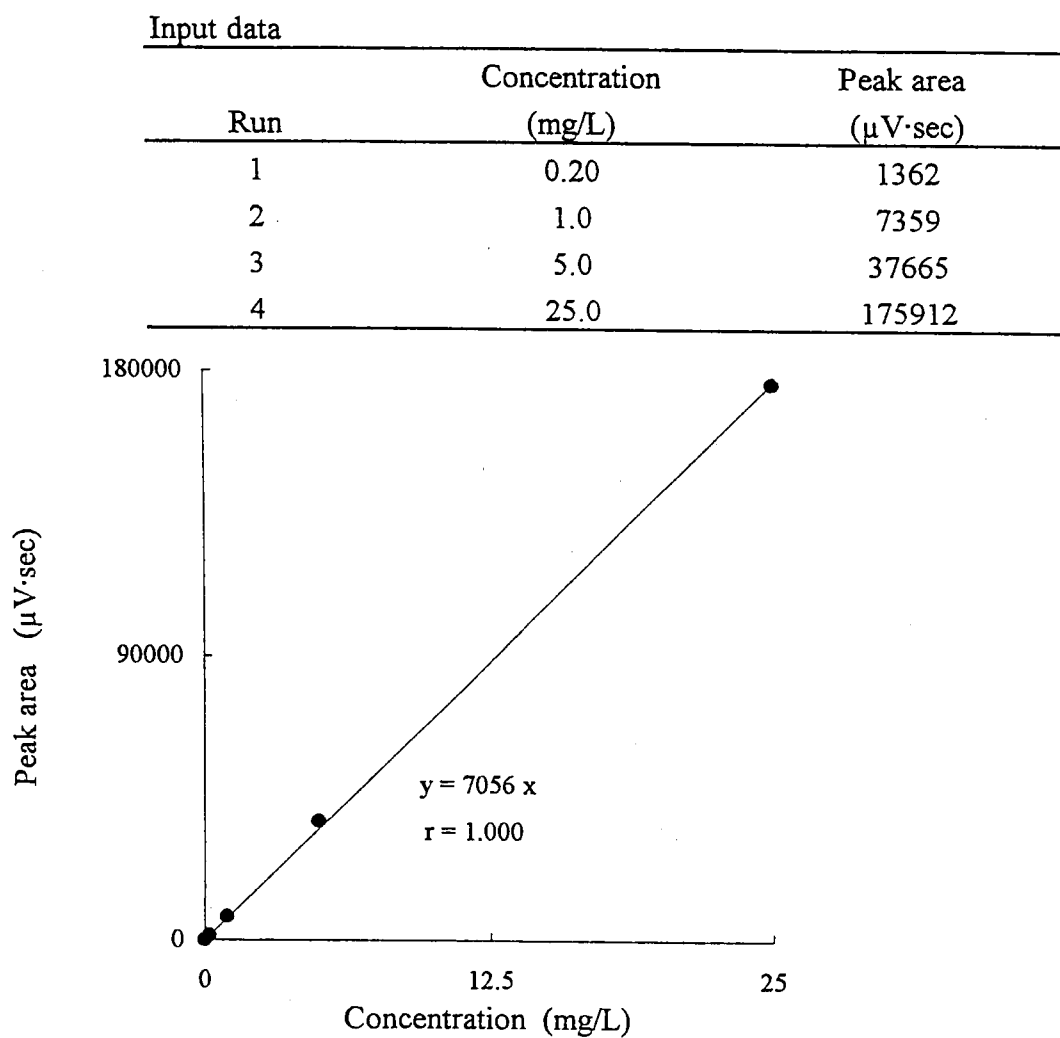


Figure 1. Calibration curve of dichlorobromomethane by GC analysis.

1996.1.25

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=200 データ=91509H1S.D01 96/02/10 00:48:36 96.2.10

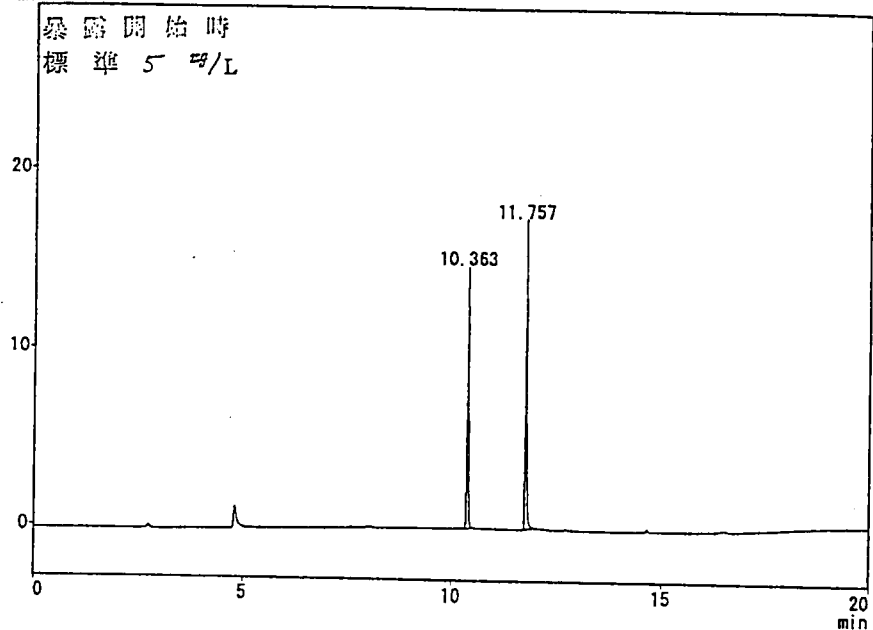
サンプル : DCBM/std.
ID : 5
サンプル量 : 100
タイプ : 標準試料
検出器 : WFI0
オペレータ名 :

91509

*** クロマトグラム *** ファイル名:91509H1S.C01

mV

暴露開始時
標準 5 mg/L



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA (uV.Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.363	38091	14656		1		DCBM
2	11.757	44289	17395				
		82380	32050				

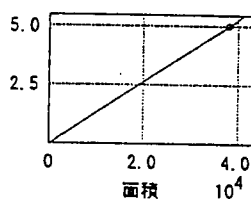
*** キャリブレーション結果 ***

*** ID テーブル ***

IDNO	成分名	時間	濃度	F1	F2
1	DCBM	10.37	5	0.000131264	

** 検量線 **

濃度



IDNO: 1
NAME: DCBM
TIME: 10.37

濃度
(1) 5 面積 38091

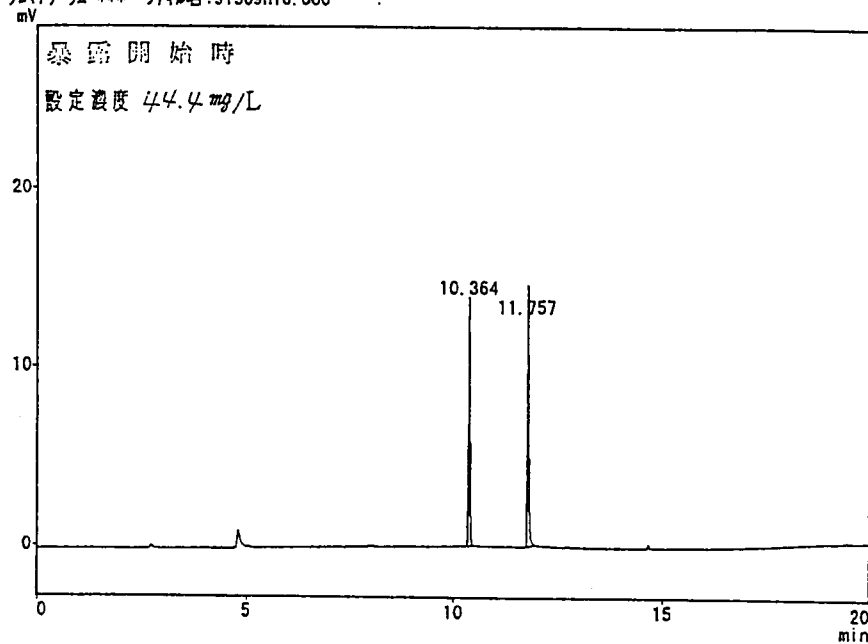
RF1
(1) 0.000131264 RF2 0
r2 = 1

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

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=204 データ=91509H1C.D00 96/02/10 02:34:18 96.2.10
 サンプル : DCBM/F9/0h
 ID : 44.4/8
 サンプル量 : 12.5
 タイプ : 未知試料
 検出器 : WFIID
 オペレータ名: [REDACTED]

試験番号 91509

*** クロマトグラム *** ファイル名: 91509H1C.C00



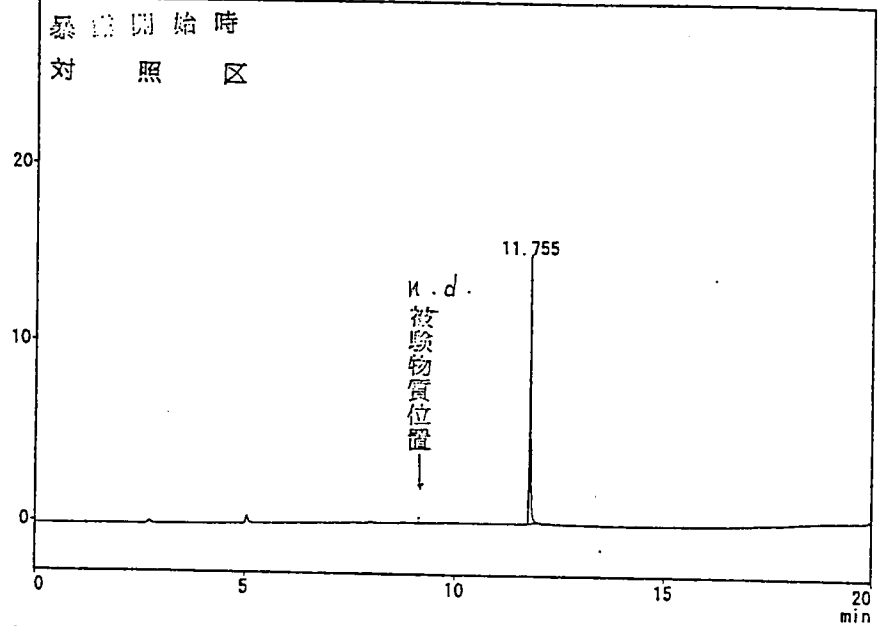
*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA (μV.Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.364	36346	13917		1	38.1679	DCBM
2	11.757	37521	14597				
		73868	28514				
							38.1679

Figure 2-2. Example of chromatogram.
 (fresh test solution of 44.4 mg/L as nominal concentration, 0-hour)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=207 データ=91509H1Z.D00 96/02/10 04:20:00 '96.2.10
 サンプル : DCBM/F12/0h
 ID : 対照区
 サンプル量 : 100
 タイプ : 未知試料
 検出器 : WFI0
 オペレータ名 : XXXXXXXXXX 試験番号 91509

*** クロマトグラム *** ファイル名: 91509H1Z.C00
 mV



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA(μV.Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	11.755	38343	15041				

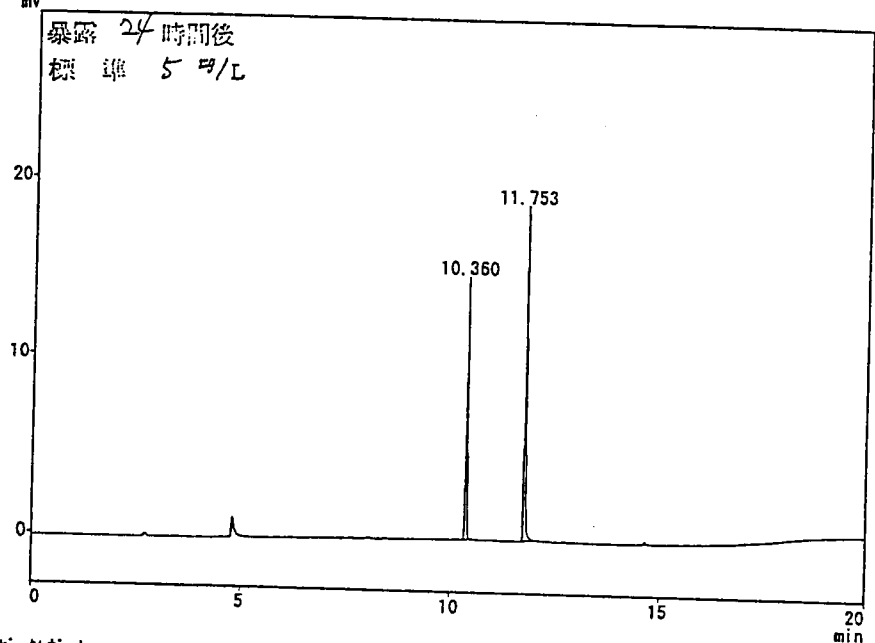
Figure 2-3. Example of chromatogram.
 (fresh test solution of control, 0-hour)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=218 データ=91509H2S.D01 96/02/10 19:38:22
 サンプル : DCBM/std.
 ID : 5
 サンプル量 : 100
 タイプ : 標準試料
 検出器 : WFI D
 オペレータ名 :

1996.2.13

試験番号 91509

*** クロマトグラム *** ファイル名: 91509H2S.C01



*** ピークレポート ***

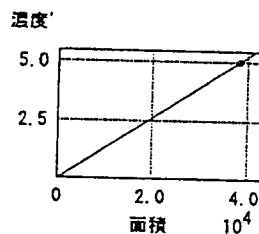
PKNO	TIME	AREA(μV.Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.360	38259	14751		1		DCBM
2	11.753	47992	18850				
		86251	33601				

*** キャリブレーション結果 ***

** ID テーブル **

IDNO	成分名	時間	温度	F1	F2
1	DCBM	10.37	5	0.00013069	

** 検量線 **



IDNO: 1
 NAME: DCBM
 TIME: 10.37

(1) 濃度 面積
 (1) 5 38259

(1) RF1 0.00013069 RF2

r2 = 1

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

1976.2.13

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=221 データ=91509H2C.D00 96/02/10 21:24:06

サンプル : DCBM/F3/24h

ID : 44.4/8

サンプル量 : 12.5

タイプ : 未知試料

検出器 : WFI0

オペレータ名:

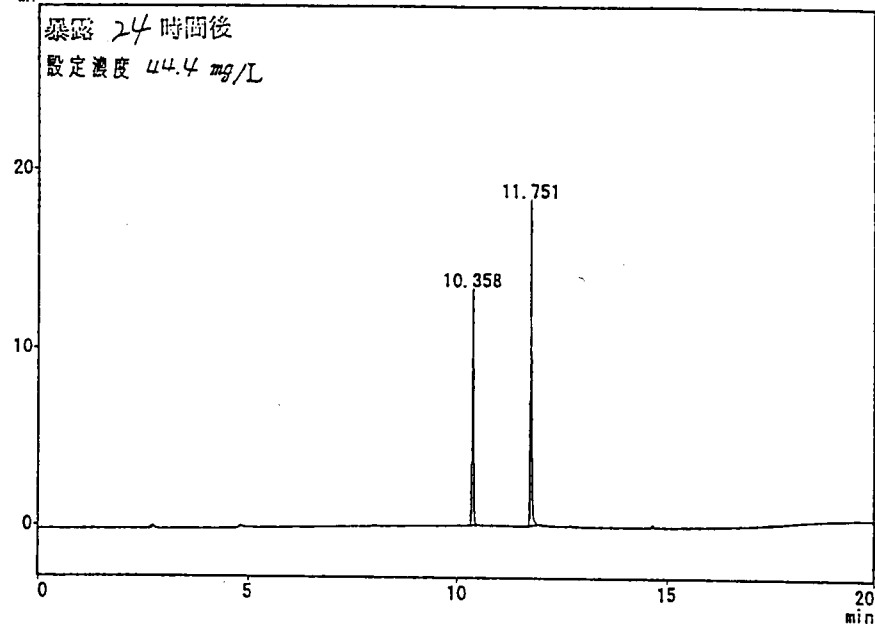
試験番号 91509

*** クロマトグラム *** ファイル名:91509H2C.C00

mV

暴露 24 時間後

設定濃度 44.4 mg/L



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA(μV.Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.358	35120	13422		1	36.7181	DCBM
2	11.751	47234	18407				
		82353	31830				
							36.7181

Figure 2-5. Example of chromatogram.

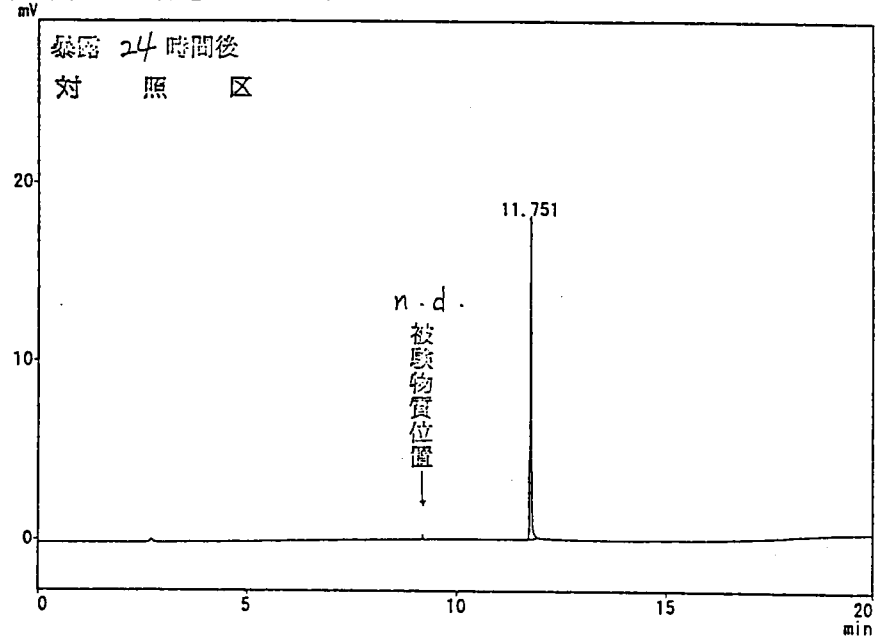
(expired test solution of 44.4 mg/L as nominal concentration, 24-hour)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=224 データ=91509H2Z.D00 96/02/10 23:09:48
 サンプル : DCBM/F6/24h
 ID : 対照区
 サンプル量 : 100
 タイプ : 未知試料
 検出器 : WFIID
 サンプル名: [REDACTED]

1996.2.13

試験番号 91509

*** クロマトグラム *** ファイル名: 91509H2Z.C00



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA(μV.Sec)	HEIGHT	WK	IDNO	CONC	NAME
1	11.751	46420	18130				
		46420	18130				

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