

試 験 報 告 書

ペンタクロロフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験－14日間

(試験番号：第09015号)

財団法人 日本環境衛生センター

化学研究所

目 次

	頁
試験概要	1
要 旨	3
1 被験物質	4
1.1 名称，構造式及び物理化学的性状	4
1.2 供試試料	4
1.3 被験物質の確認及び保管条件下での安定性	4
2 供試生物	5
3 試験方法	5
3.1 試験条件	5
3.2 希釈水	5
3.3 試験装置，試験水槽及び恒温室等	6
3.4 試験濃度の設定	6
3.5 試験水の調製	6
3.6 試験水の分析	6
3.7 試験操作	7
4 結果の算出	7
4.1 半数致死濃度（LC50）の算出	7
4.2 最小致死濃度，最小作用濃度及び最大無作用濃度	7
5 結果	7
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	7
5.2 試験水中の被験物質濃度	7
5.3 死亡数及び死亡率	8
5.4 半数致死濃度（LC50）	8
5.5 最小致死濃度及び最小作用濃度	8
5.6 最大無作用濃度	8
5.7 毒性症状及び摂餌状況	8
5.8 供試魚の体長及び体重	9
5.9 試験水のpH，溶存酸素濃度及び水温	9
Table 1～9	10～19
Figure 1	20
付属資料－1	希釈水の水質
付属資料－2	試験水の分析方法

試験概要

1. 表 題

ペンタクロロフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験－14日間

2. 試験目的

ペンタクロロフェノールについて、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. 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 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GLP規則「生態影響試験実施に関する基準」に従い実施した。

5. 試験委託者

名 称：環境庁

住 所：東京都千代田区霞が関1丁目2番2号

委託責任者：企画調整局環境保健部環境安全課環境リスク評価室室長補佐

6. 試験受託者

名 称：財団法人 日本食品分析センター

所在地：東京都渋谷区元代々木町52番1号

7. 試験施設：

名 称：財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

所在地：東京都多摩市永山6丁目11番10号

名 称：財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所別館

所在地：東京都多摩市永山6丁目21番6号

8. 試験関係者

試験責任者

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

生物担当責任者

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

生物系試験担当者

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

(1998 年 7 月 1 日)

分析担当責任者

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

理化学系分析担当者

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

[Redacted]

(1998 年 7 月 1 日)

9. 試験期間

試験開始日：平成 9 年 12 月 10 日

試験終了日：平成 10 年 7 月 1 日

曝露期間：平成 10 年 2 月 25 日～平成 10 年 3 月 11 日

10. 保管

試験計画書，生データ，記録文書及び試験報告書は，試験報告書作成後 10 年間，財団法人日本食品分析センター多摩研究所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。

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題

ペンタクロロフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験－14日間

試験番号

第 0 9 0 1 5 号

試験方法

本試験はOECD化学品テストガイドライン 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：ペンタクロロフェノール
- 2) 曝露方法：流水式(定量ポンプを用いる連続希釈装置を使用)
- 3) 曝露期間：14日間
- 4) 連 数：1濃度区1連
- 5) 供 試 魚：ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 6) 供試魚数：10尾／濃度区
- 7) 試験水量：約9 L
- 8) 流量及び換水率：50 mL/分，約 8回/日
- 9) 温 度：24±2 ℃
- 10) 照 明：室内光，16時間明／8時間暗
- 11) エアレーション：無し
- 12) 試験濃度：対照区，助剤対照区，0.010，0.022，0.046，0.10及び0.22 mg/L濃度区
- 13) 試験水中の被験物質の分析方法：高速液体クロマトグラフ法(0，7及び14日後)

結 果

- 1) 14日間の最小致死濃度＝0.10 mg/L (0.0896 mg/L)
 - 2) 14日間の最小作用濃度＝0.10 mg/L (0.0896 mg/L)
 - 3) 14日間の最大無作用濃度 (NOEC)＝0.046 mg/L (0.0391 mg/L)
 - 4) 7日間の半数致死濃度 (LC50)＝0.19 mg/L
 - 5) 14日間の半数致死濃度 (LC50)＝0.18 mg/L (95 %信頼限界：0.13～0.43 mg/L)
- (上記の濃度は，1)～3)設定濃度に基づく値，但し，括弧内は実測濃度に基づく値。
4)及び5)は実測濃度に基づく値。)

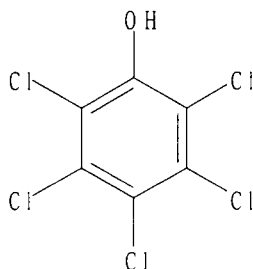
1 被験物質

1.1 名称、構造式及び物理化学的性状

名 称：ペンタクロロフェノール

略 称：PCP (CASNo. 87-86-5)

構 造 式：



分 子 式： C_6Cl_5OH

分 子 量：266.34

安 定 性：－

pKa : 4.71 (Na塩)

LogP_{ow} : 5.01

水への溶解度：80 mg/L (25 ℃)，14 mg/L (20 ℃)

蒸 気 圧：14.7 mPa (20 ℃)

1.2 供試試料

供給者：[REDACTED]

入手日：1997年12月 5日

ロット番号：MSK9571

外 観：ほとんど白色結晶性粉末

純 度：99.6 %

供給量：2 g

1.3 被験物質の確認及び保管条件下での安定性

被験物質は財団法人日本食品分析センター多摩研究所の被験物質保管庫（遮光，冷蔵）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。試験終了時にも同様にスペクトルを測定し，試験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。よって，被験物質は多摩研究所の被験物質保管庫に保管中は安定であったと判断された。

2 供試生物

試験に供したヒメダカ (*Oryzias latipes*) を下記に示した。供試魚の被鱗体長（以下体長と略す。）は 2.0 ± 0.5 cm であった

基準物質（硫酸銅（Ⅱ）五水和物，試薬特級）の供試魚に対する急性毒性試験の96時間の半数致死濃度（LC50）は，0.85 mg/Lであった。

- 1) 一般名：ヒメダカ
- 2) 学 名：*Oryzias latipes*
- 3) 体 長：2.0 cm (1.8～2.3 cm)，n=10
- 4) 体 重：0.15 g (0.11～0.19 g)，n=10
- 5) ロット番号：1997/12/22
- 6) 購入先：滝沢養魚場（埼玉県鴻巣市郷地747）
- 7) 購入日：1997年12月22日

順 化

試験条件と同条件（水質，温度等）で12日間以上，順化飼育した。

餌は市販の配合飼料（テトラミン・ステープルフード：テトラベルケ社製）を与え，曝露開始の24時間前からは給餌しなかった。また，試験には健康で肉眼的に正常な魚を使用した。なお，曝露開始前7日間の死亡率は5 %以下であった。

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 曝露方法：流水式（定量ポンプを用いる連続希釈装置を使用）
- 2) 曝露期間：14日間
- 3) 連 数：1濃度区1連
- 4) 供試魚数：10尾/濃度区
- 5) 試験水量：約9 L
- 6) 流量及び換水率：50 mL/分，約 8回/日
- 7) 水 温： $24 \pm 2^\circ\text{C}$
- 8) 照 明：室内光，16時間明/8時間暗
- 9) 給 餌：市販配合飼料を毎日体重の2 %与えた
- 10) エアレーション：無し

3.2 希釈水

希釈水は脱塩素水（東京都水道水を活性炭処理し，残留塩素を除去したもので，充分通気した。）を使用した。なお，定期測定による希釈水の水質結果を付属資料－1に示した。

曝露期間中の試験に使用した希釈水のpH及び硬度はそれぞれ7.6～7.7及び45～48 mg/L（ CaCO_3 換算）であった。

3.3 試験装置，試験水槽及び恒温室等

- 1) 流水式試験装置：薬液用定量ポンプ，SP-D-2500(S)（日本精密科学株式会社）
希釈水用定量ポンプ，7523-30型（ヤマト科学株式会社）
- 2) 試験水槽：10 L容角形ガラス製水槽
- 3) 恒温室：試験水槽内の水温が 24 ± 2 °Cに維持可能な施設
- 4) 温度計：AP-210（安立計器株式会社）
- 5) pH計：HM-11P及び14P（東亜電波工業株式会社）
- 6) 溶存酸素計：DO-14P（東亜電波工業株式会社）
- 7) 残留塩素比色測定器：OT-I型（理研光学株式会社）

3.4 試験濃度の設定

被験物質のヒメダカに対する96時間急性毒性試験の96時間LC50値(0.19 mg/L) 付近から始めて，それ以下の濃度を公比2.2で5段階設定した。各濃度区は以下のとおりである。
濃度区：対照区，助剤対照区，0.010, 0.022, 0.046, 0.10及び0.22 mg/L

3.5 試験水の調製

被験物質を溶解助剤（アセトン及びポリオキシエチレンソルビット脂肪酸エステル）に溶解して調製した薬液及び希釈水を，それぞれ流量 5 μ l/分（薬液用定量ポンプ）及び50 mL/分（希釈水用定量ポンプ）で混合槽に注入し混合させて試験水を調製した。

なお，助剤対照区の溶解助剤の添加濃度は各濃度区と同じ濃度（100 mg/L）とし，対照区は希釈水のみとした。

3.6 試験水の分析

曝露開始時，7日後及び14日後に各試験水槽より試験水100 mLを採取し，分析用試験水とした。なお，対照区及び助剤対照区は試験水100 mLを採取し，分析用試験水とした。

試験水は，速やかに高速液体クロマトグラフを用いて分析した。試験水の分析に際しては，標準溶液のピーク高さをを用いて検量線を作成し，試験水より得られたピーク高さから試験水中の被験物質濃度を算出した。なお，詳細は付属資料-2に示した。

3.7 試験操作

曝露開始時に順化水槽より任意に10尾を採取し、体長及び体重を測定した。

各試験水のpH、溶存酸素濃度（D0）及び水温を測定後、供試魚を1濃度区当たり10尾投入した。

曝露開始後、週2回各濃度区の試験水のpH、D0及び水温を測定した。

曝露期間中、餌は1日当たり体重の約2 %を与え、死亡により供試魚数が減少した場合は、その分の給餌量を減らした。

曝露開始後、毎日死魚数*を記録した。死魚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き、体長及び体重を測定し記録した。また、最低週 3回、観察された毒性の徴候或いは異常（例：異常呼吸、異常遊泳及び遊泳不能等）及び摂餌量の低下を記録した。曝露終了時には全ての生存魚の体長及び体重を測定した。

*：ガラス棒の先で尾部に軽く触れ反応がない魚を死亡とみなした。

4 結果の算出

4.1 半数致死濃度（LC50）の算出

各濃度区での死亡数と供試魚数から、Binominal法及びProbit法により7及び14日間におけるLC50値を算出した。なお、7日間のLC50については95 %信頼限界は算出できなかった。

4.2 最小致死濃度、最小作用濃度及び最大無作用濃度

試験において死魚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。

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

5 結果

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なし。

5.2 試験水中の被験物質濃度

曝露開始時、7日後及び14日後に試験水中の被験物質の濃度を測定した。

曝露期間中の濃度は0.0064～0.214 mg/L（設定濃度0.010～0.22 mg/L）であった。設定濃度に対する割合は64～98 %であった。

[Table 1-1, 1-2 (p. 10, 11) , 付属資料-2]

5.3 死亡数及び死亡率

被験物質に14日間曝露したヒメダカの死亡数及び死亡率は、0.22 mg/L濃度区（以下設定濃度）で6尾（60 %），0.10 mg/L濃度区で1尾（10 %），0.010, 0.022及び0.046 mg/L濃度区で0尾（0 %）であった。

なお、助剤対照区及び対照区は0尾（0 %）であり、試験成立条件である 10 %以下の基準を満たした。

[Table 2 (p.12) , Figure 1 (p.20)]

5.4 半数致死濃度（LC50）

被験物質の実測濃度に基づく、ヒメダカに対する7及び14日間のLC50値はそれぞれ0.19 mg/L及び0.18 mg/L（95 %信頼限界：0.13～0.43 mg/L）であった。

[Table 3 (p.13) , Figure 1 (p.20)]

5.5 最小致死濃度，最小作用濃度

被験物質の実測濃度に基づく、ヒメダカに対する最小致死濃度及び最小作用濃度はいずれも0.0896 mg/Lであった。

[Table 2, 4 (p.12, 14) , Figure 1 (p.20)]

5.6 最大無作用濃度（NOEC）

曝露期間14日間におけるヒメダカの死亡数が対照区と比較して差が認められない被験物質の最も高い濃度区は0.0391 mg/L（以下実測濃度），毒性症状が観察されない最も高い濃度区は0.0391 mg/L，摂餌状況に異常が認められない最も高い濃度区は0.0391 mg/Lであった。これらの濃度区で最も低い濃度区である0.0391 mg/LがNOECと判断した。

[Table 2, 4 (p.12, 14)]

5.7 毒性症状及び摂餌状況

各濃度区及び助剤対照区を対照区と比較して観察を行った結果，被験物質の曝露期間中の毒性症状として0.10及び0.22 mg/L濃度区（以下設定濃度）において，ヒメダカに不活発が観察された。なお，助剤対照区及び対照区では曝露期間中に異常な症状は観察されなかった。

ヒメダカの摂餌状況は，曝露期間中に0.10及び0.22 mg/L濃度区において摂餌量の低下が認められた。

[Table 4 (p.14)]

5.8 供試魚の体長及び体重

被験物質に14日間曝露した各濃度区のヒメダカの平均体長及び平均体重は、それぞれ0.010 mg/L濃度区で2.1 cm及び0.16 g, 0.022 mg/L濃度区で2.0 cm及び0.15 g, 0.046 mg/L濃度区で2.1 cm及び0.15 g, 0.10 mg/L濃度区で2.0 cm及び0.12 g, 0.22 mg/L濃度区で2.0 cm及び0.13 gであった。また、対照区及び助剤対照区の平均体長と平均体重は、それぞれ2.1 cm, 0.16 g及び2.1 cm, 0.14 gであった。

[Table 5, 6 (p.15, 16)]

5.9 試験水のpH, 溶存酸素濃度及び水温

14日間の曝露期間中の各濃度区のpHは7.1～7.4, DOは8.2～8.9 mg/Lであり、すべての試験水で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: 8.3 mg/L)。また、曝露期間中の水温は23.2～24.5℃であった。

[Table 7～9 (p.17～19)]

以 上

Table 1-1. Measured Concentration of Pentachlorophenol (mg/L) ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 14-day under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (Percent of Nominal)		
	0 day	7 days	14 days
Control	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Solvent Control	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
0.010	0.0089 (89)	0.0098 (98)	0.0064 (64)
0.022	0.0216 (98)	0.0186 (85)	0.0159 (72)
0.046	0.0355 (77)	0.0433 (94)	0.0384 (83)
0.10	0.0915 (92)	0.0924 (92)	0.0849 (85)
0.22	0.210 (95)	0.212 (96)	0.214 (97)

Table 1-2. The Mean Value on Measured Concentrations of Pentachlorophenol at each Period ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 14-day under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	The Mean Value on Measured Concentration (mg/L)	
	0-7days	0-14days
Control	< 0.0001	< 0.0001
Solvent Control	< 0.0001	< 0.0001
0.010	0.00935 (94)	0.00837 (84)
0.022	0.0201 (91)	0.0187 (85)
0.046	0.0394 (86)	0.0391 (85)
0.10	0.0920 (92)	0.0896 (90)
0.22	0.211 (96)	0.212 (96)

Each value in parentheses represents the percent of nominal.

Table 2. Mortality ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 14-day under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Cumulative number of Dead (Percent Mortality)					
	3 days	5 days	7 days	10 days	12 days	14 days
Control	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Solvent Control	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0.010	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0.022	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0.046	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0.10	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	1 (10)
0.22	6 (60)	6 (60)	6 (60)	6 (60)	6 (60)	6 (60)

Threshold Level of Lethal Effect : 0.10 mg/L (Measured concentration : 0.0896 mg/L)

Table 3. Calculated LC50 Values (Based on Nominal Concentrations) ;
 Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for
 a 14-day under Flow-Through Test Conditions

Exposure Period (days)	LC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
7	0.19	---	Binominal
14	0.18	0.13~0.43	Probit

Table 4. Observed Symptoms : Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 14-day under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Symptoms					
	3 days	5 days	7 days	10 days	12 days	14 days
Control	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
Solvent Control	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
0.010	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
0.022	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
0.046	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
0.10	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	le.
0.22	le.	le.	le.	le.	le.	le.

Threshold Level of Lethal Effect : 0.10 mg/L (Measured concentration : 0.0896 mg/L)

n. a. d. : No abnormalities are detected

le. : lethargy

Table 5. Body Lengthes (cm) of Orange killifish (*Oryzias latipes*) after a 14-day Exposure under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Body Length (cm)						
	Control	Solvent Control	0.010	0.022	0.046	0.10	0.22
No.							
1	2.3	2.2	1.9	2.0	2.0	1.9 ^d	1.9 ^d
2	2.2	2.1	2.1	2.2	2.0	2.1	2.1 ^d
3	2.2	2.1	2.4	2.0	2.2	1.8	2.0 ^d
4	2.0	2.0	2.0	1.9	2.3	2.0	1.9 ^d
5	2.2	2.1	2.2	1.9	2.0	1.9	2.1 ^d
6	2.0	2.0	2.1	2.0	2.1	1.9	2.0 ^d
7	2.0	2.1	2.0	2.0	2.2	2.1	1.9
8	2.1	2.0	2.0	2.0	2.1	2.2	1.9
9	2.1	2.2	1.9	1.9	1.9	2.0	1.9
10	2.0	2.1	1.9	2.2	2.0	2.3	2.0
Mean	2.1	2.1	2.1	2.0	2.1	2.0	2.0

^d Orange killifish was dead during the test period.

Table 6. Body Weights (g) of Orange killifish (*Oryzias latipes*) after a 14-day Exposure under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Body Weight (g)						
	Control	Solvent Control	0.010	0.022	0.046	0.10	0.22
No.							
1	0.18	0.16	0.12	0.14	0.13	0.09 ^d	0.12 ^d
2	0.17	0.13	0.16	0.17	0.15	0.13	0.19 ^d
3	0.17	0.14	0.22	0.14	0.17	0.10	0.12 ^d
4	0.15	0.14	0.14	0.15	0.17	0.12	0.10 ^d
5	0.18	0.14	0.20	0.14	0.14	0.11	0.15 ^d
6	0.14	0.14	0.17	0.16	0.14	0.11	0.13 ^d
7	0.12	0.15	0.18	0.14	0.15	0.13	0.12
8	0.15	0.13	0.15	0.13	0.14	0.15	0.13
9	0.14	0.15	0.14	0.14	0.12	0.12	0.11
10	0.15	0.15	0.14	0.16	0.15	0.16	0.12
Mean	0.16	0.14	0.16	0.15	0.15	0.12	0.13

^d Orange killifish was dead during the test period.

Table 7. pH Values ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 14-day under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	pH				
	0 day	4 days	7 days	11 days	14 days
Control	7.3	7.3	7.2	7.1	7.3
Solvent Control	7.3	7.3	7.2	7.2	7.3
0.010	7.2	7.3	7.2	7.2	7.4
0.022	7.2	7.2	7.1	7.2	7.3
0.046	7.2	7.3	7.2	7.3	7.3
0.10	7.3	7.4	7.2	7.3	7.3
0.22	7.3	7.3	7.2	7.3	7.3

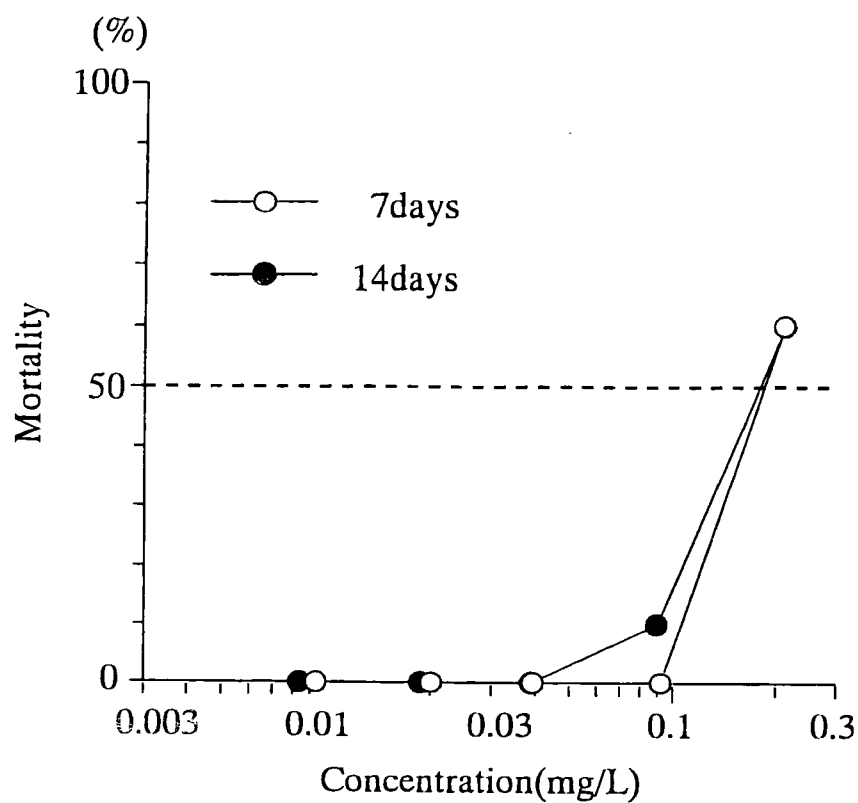
Table 8. Dissolved Oxygen Concentrations : Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 14-day under Flow-Through Test

Nominal Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration (mg/L)				
	0 day	4 days	7 days	11 days	14 days
Control	8.8	8.7	8.5	8.4	8.3
Solvent Control	8.8	8.7	8.4	8.2	8.2
0.010	8.8	8.6	8.4	8.4	8.3
0.022	8.9	8.7	8.4	8.4	8.3
0.046	8.9	8.7	8.4	8.4	8.2
0.10	8.9	8.4	8.4	8.4	8.2
0.22	8.9	8.5	8.6	8.9	8.4

Table 9. Temperature Values : Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 14-day under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Temperature (°C)				
	0 day	3 days	7 days	10 days	14 days
Control	23.6	24.0	23.3	23.9	24.2
Solvent Control	23.3	23.9	23.3	24.0	24.6
0.010	23.6	23.9	23.2	23.8	24.0
0.022	23.9	24.5	23.6	24.2	24.3
0.046	23.5	24.4	23.6	24.0	24.1
0.10	23.7	24.3	23.6	24.0	23.9
0.22	23.8	24.3	23.4	24.1	24.1

Figure 1. Concentration-Response Curve of Pentachlorophenol Mortality in Orange killifish



付属資料一 1

希釈水の水質
(全 2 頁)

Water Quality of Dilution Water-1

Parameter	Concentration
Coliform group	ND
Cadmium	< 0.001 mg/L
Mercury	< 0.0001 mg/L
Selenium	< 0.001 mg/L
Lead	< 0.005 mg/L
Arsenic	< 0.001 mg/L
Chromium(VI)	< 0.005 mg/L
Cyanide	< 0.005 mg/L
Nitrate and Nitrite	0.4 mg/L
Fluoride	0.36 mg/L
Carbon tetrachloride	< 0.0002 mg/L
1,2-Dichloroethane	< 0.0002 mg/L
1,1-Dichloroethylene	< 0.001 mg/L
Dichloromethane	< 0.001 mg/L
cis-1,2-Dichloroethylene	< 0.001 mg/L
Tetrachloroethylene	< 0.001 mg/L
1,1,2-Trichloroethane	< 0.0005 mg/L
Trichloroethylene	< 0.001 mg/L
Benzene	< 0.001 mg/L
Chloroform	< 0.001 mg/L
Dibromochloromethane	< 0.001 mg/L
Bromochloromethane	< 0.001 mg/L
Bromoform	< 0.001 mg/L
Trihalomethanes	< 0.001 mg/L
1,3-Dichloropropene	< 0.0002 mg/L
Simazine	< 0.0002 mg/L
Thiram	< 0.0005 mg/L
Thiobencarb	< 0.001 mg/L
Zinc	< 0.005 mg/L
Iron	< 0.03 mg/L
Copper	< 0.01 mg/L
Sodium	18 mg/L
Manganese	< 0.005 mg/L
Chloride	8.0 mg/L
Total hardness (as CaCO ₃)	70 mg/L
Total residue	160 mg/L
Surface active agents (anionic)	< 0.02 mg/L
1,1,1-Trichloroethane	< 0.001 mg/L
Phenols	< 0.005 mg/L

Date : January 6, 1998

- continue -

Water Quality of Dilution Water-2

Parameter	Concentration
Permanganate reduction substances	< 1.0 mg/L
pH Value	7.0
Taste	normal
Odor	normal
Color	< 1°
Turbidity	< 1°
Phosphorus	0.03 mg/L
Aluminium	< 0.05 mg/L
Nickel	0.002 mg/L
Tin	< 0.1 mg/L
Free residual chlorine	< 0.01 mg/L
Bromide	< 0.5 mg/L
Sulfide	< 0.01 mg/L
Ammonium	< 0.05 mg/L
Electric conductivity	240 μ S /cm
Alkalinity (as CaCO ₃)	37 mg/L
Potassium	2.5 mg/L
Calcium	21 mg/L
Magnesium	4.5 mg/L
PCB	< 0.0005 mg/L
Organophosphate	< 0.02 mg/L

Date : January 6, 1998

付属資料－ 2

試験水の分析方法
(全 10 頁)

試験水の分析方法

1 試験方法

①試料溶液の調製

a) 対照区，助剤対照区の試験水

試験水 50ml を 100ml の分液漏斗に正確に量り，塩化ナトリウム 2.5g，5mol/L 硫酸 1ml，ジクロロメタン 25ml を加えて 5 分間振とうした。静置後，ジクロロメタン層を分取し，水層にはさらにジクロロメタン 25ml を加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール 0.5ml に溶解し，これを試料溶液とした。

b) 0.010mg/L 濃度区の試験水

試験水 50ml を 100ml の分液漏斗に正確に量り，塩化ナトリウム 2.5g，5mol/L 硫酸 1ml，ジクロロメタン 25ml を加えて 5 分間振とうした。静置後，ジクロロメタン層を分取し，水層にはさらにジクロロメタン 25ml を加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール 1ml に溶解し，これを試料溶液とした。

c) 0.022mg/L 濃度区の試験水

試験水 50ml を 100ml の分液漏斗に正確に量り，塩化ナトリウム 2.5g，5mol/L 硫酸 1ml，ジクロロメタン 25ml を加えて 5 分間振とうした。静置後，ジクロロメタン層を分取し，水層にはさらにジクロロメタン 25ml を加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール 2ml に溶解し，これを試料溶液とした。

d) 0.046mg/L 濃度区の試験水

試験水 50ml を 100ml の分液漏斗に正確に量り，塩化ナトリウム 2.5g，5mol/L 硫酸 1ml，ジクロロメタン 25ml を加えて 5 分間振とうした。静置後，ジクロロメタン層を分取し，水層にはさらにジクロロメタン 25ml を加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール 4ml に溶解し，これを試料溶液とした。

e) 0.10mg/L 濃度区の試験水

試験水 50ml を 100ml の分液漏斗に正確に量り，塩化ナトリウム 2.5g，5mol/L 硫酸 1ml，ジクロロメタン 25ml を加えて 5 分間振とうした。静置後，ジクロロメタン層を分取し，水層にはさらにジクロロメタン 25ml を加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール 10ml に溶解し，これを試料溶液とした。

f) 0.22mg/L 濃度区の試験水

試験水 50ml を 100ml の分液漏斗に正確に量り，塩化ナトリウム 2.5g，5mol/L 硫酸 1ml，ジクロロメタン 25ml を加えて 5 分間振とうした。静置後，ジクロロメタン層を分取し，水層にはさらにジクロロメタン 25ml を加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ，無水硫酸ナトリウムで脱水後，減圧濃縮乾燥した。得られた残留物をメタノール 20ml に溶解し，これを試料溶液とした。

②標準溶液の調製

標準品 0.025g を正確に量りとり，メタノールに溶解して 50ml に溶解し，これを標準原液とした。この標準原液からメタノールを用いて適宜希釈し，0.01，0.05，0.5，1.0 $\mu\text{g/ml}$ の標準溶液を調製した。

③定量

試料溶液 20 μl を高速液体クロマトグラフに注入し，得られたピーク高さと検量線から試料溶液中の PCP 濃度を求め，試験水中の PCP 濃度を算出した。

2 高速液体クロマトグラフ操作条件

機 種：島津製作所 LC-10AD

検 出 器：UV

カ ラ ム：CAPCELL PAK C18 SG120Å $\phi 4.6\text{mm} \times 15\text{cm}$ ，孔径 5 μm

移 動 相：0.02mol/L 酢酸－メタノール (1:9 V/V)

測定波長：215nm

流 速：1.0ml/分

温 度：40℃

注 入 量：20 μl

データ処理装置：島津製作所 LC ワークステーション

3 検量線

1-②で調製した標準溶液 20 μl を高速液体クロマトグラフに注入し，注入量 (ng) と得られたピーク高さから検量線を作成した。

4 添加回収試験

①低濃度添加

飼育水に濃度が 0.01mg/L になるように PCP を添加し、この溶液を用いて添加回収試験を行った。試験は平行測定 3 回で実施し、回収率は 91.2%, 91.4%, 90.3% (平均 91.0%) であった。

②高濃度添加

飼育水に濃度が 0.4mg/L になるように PCP を添加し、この溶液を用いて添加回収試験を行った。試験は平行測定 3 回で実施し、回収率は 97.3%, 92.3%, 92.8% (平均 94.1%) であった。

Figure 1 Calibration Curve of PCP by HPLC Analysis

Amount (ng)	Peak Height (μ Abs)
20	36567
10	18219
1	1845

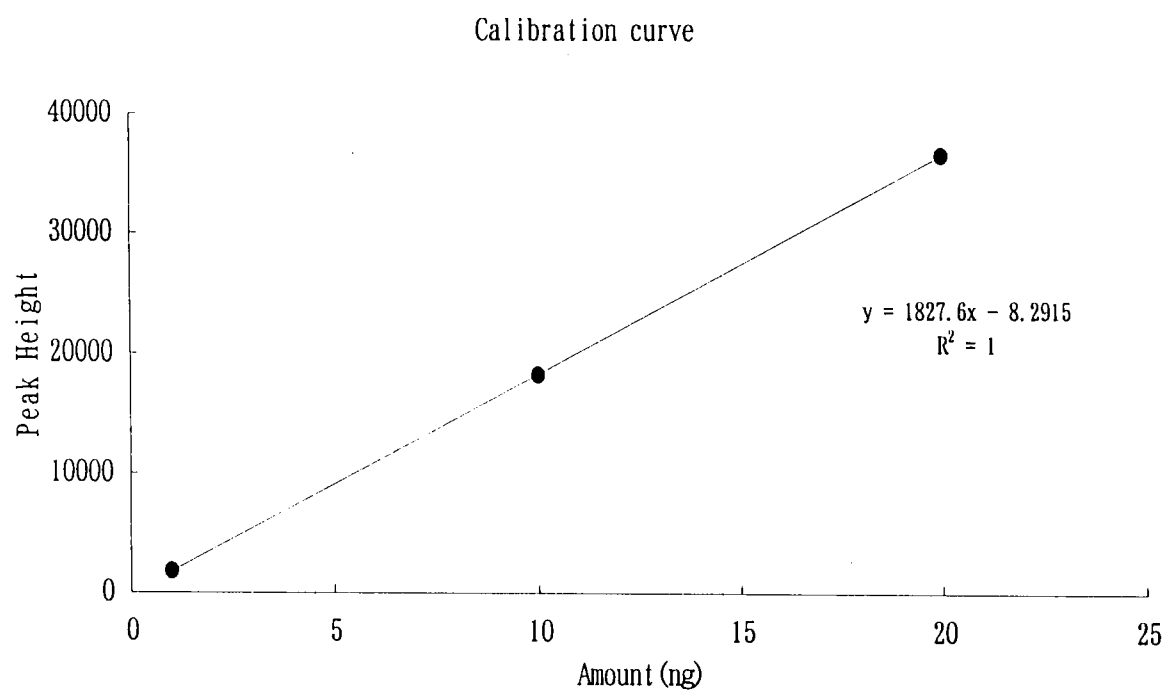
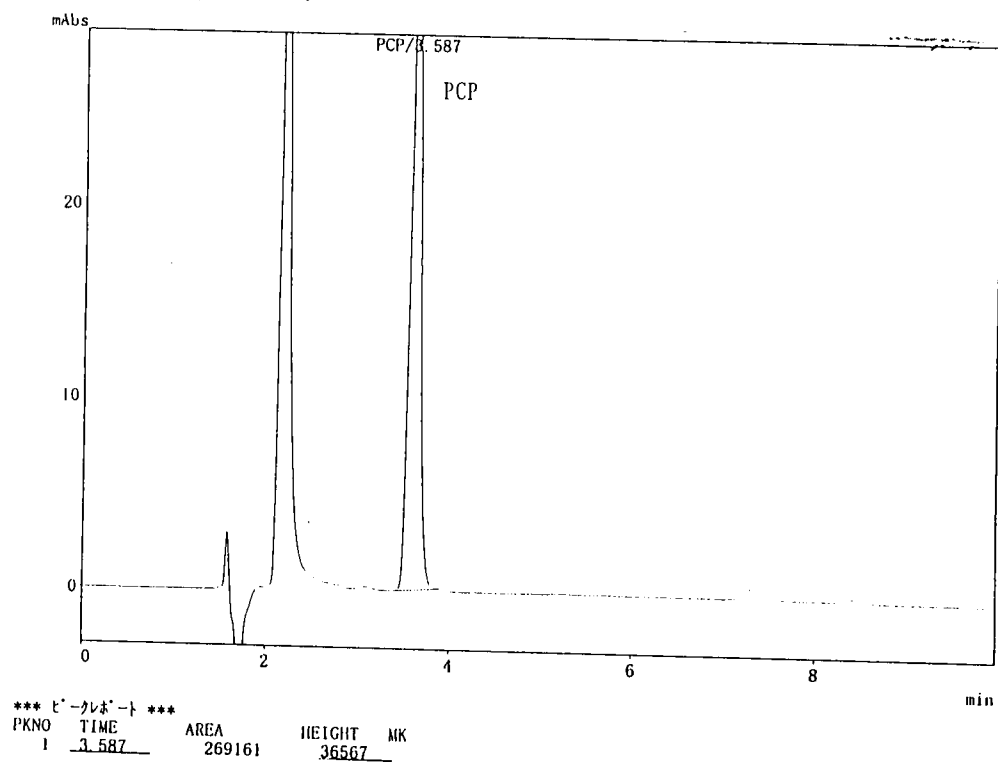
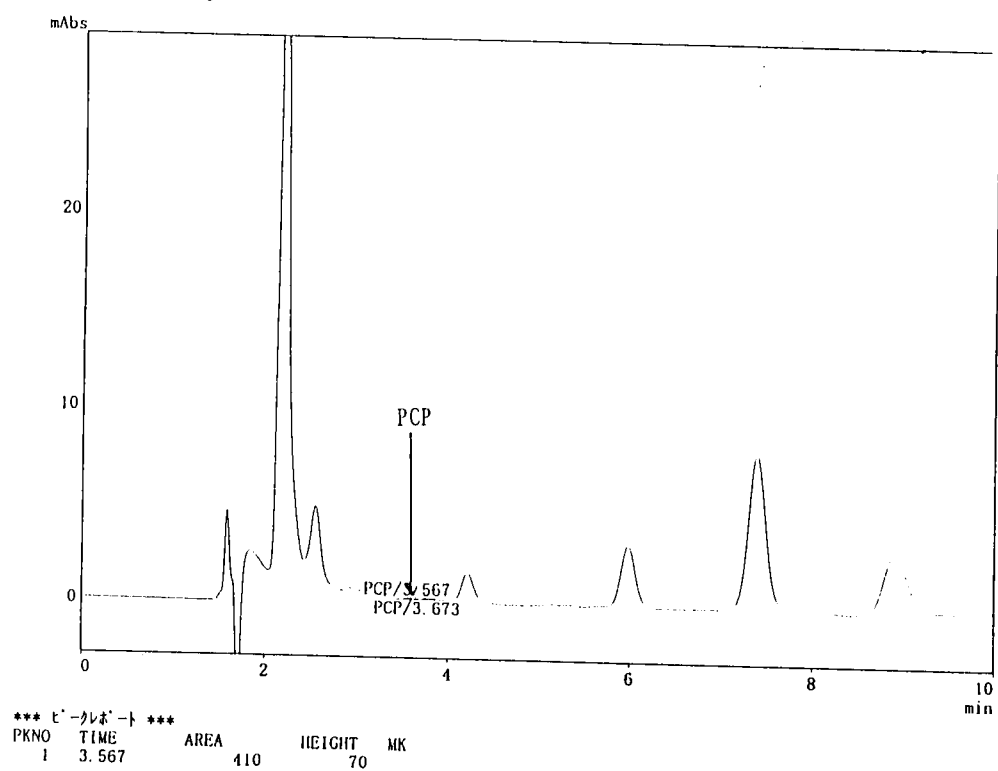


Figure 2 Representative Chromatogram

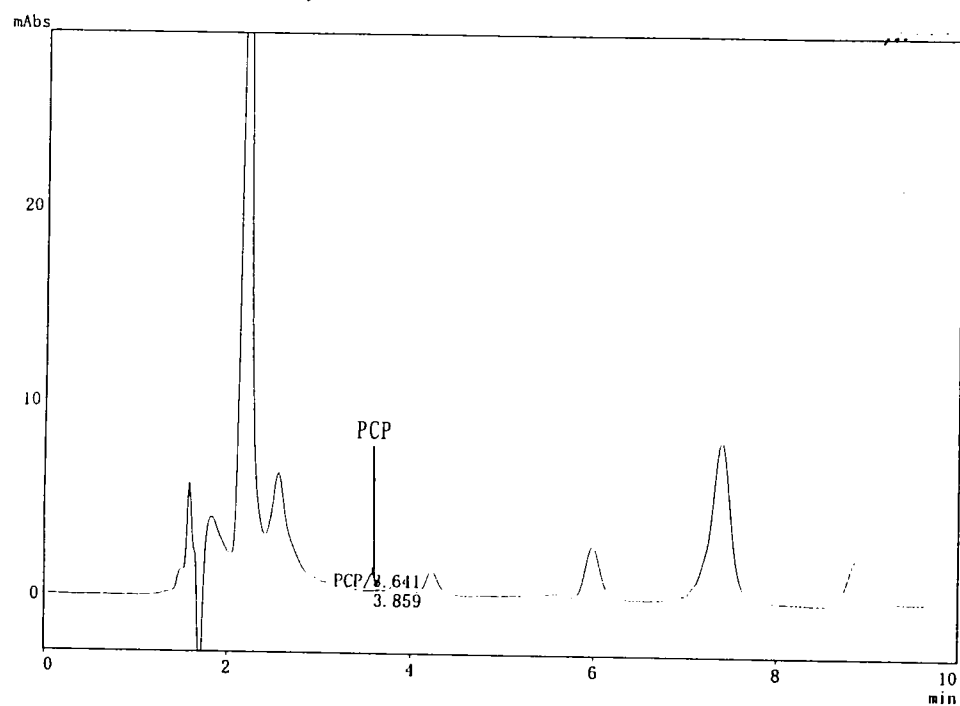
Standard(20ng) : 0day



Control : 0day



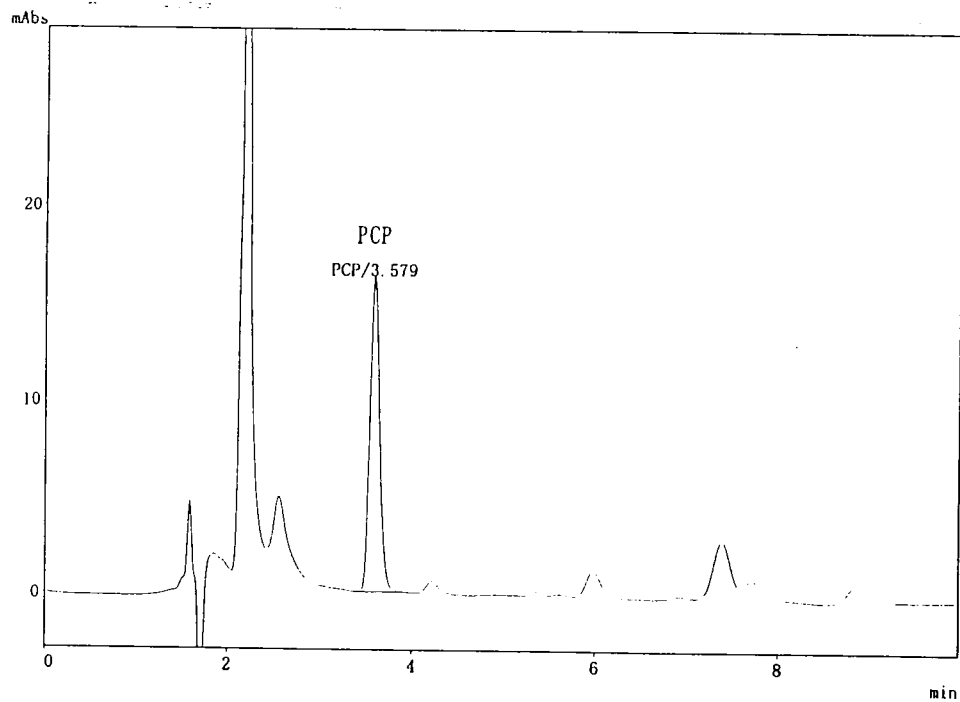
Solvent control : 0day



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.641	285	52	

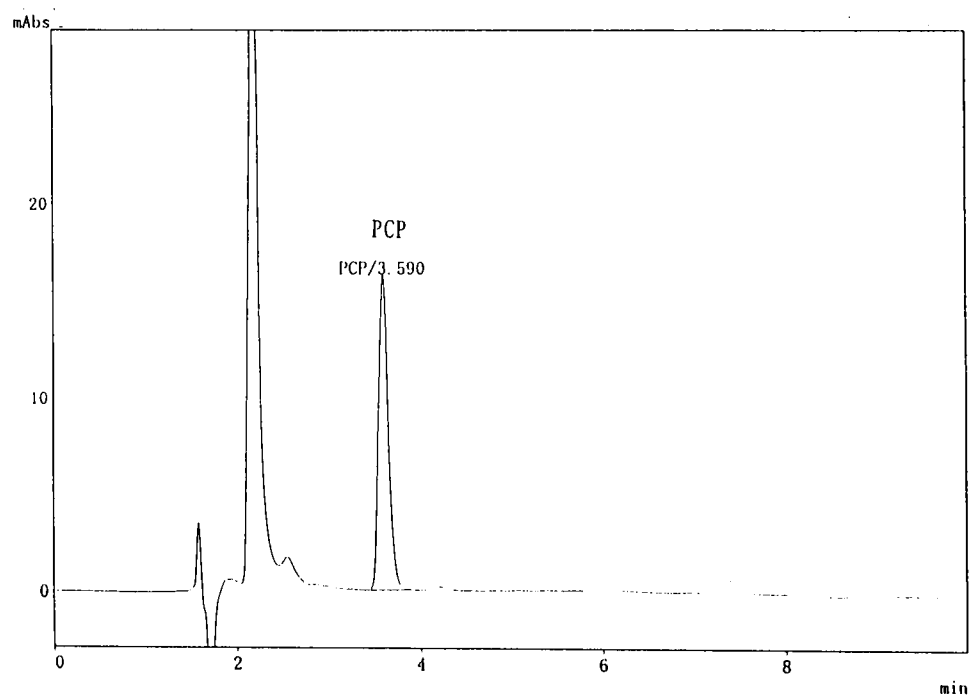
Test solution (0.010mg/L) : 0day



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.579	121501	16273	

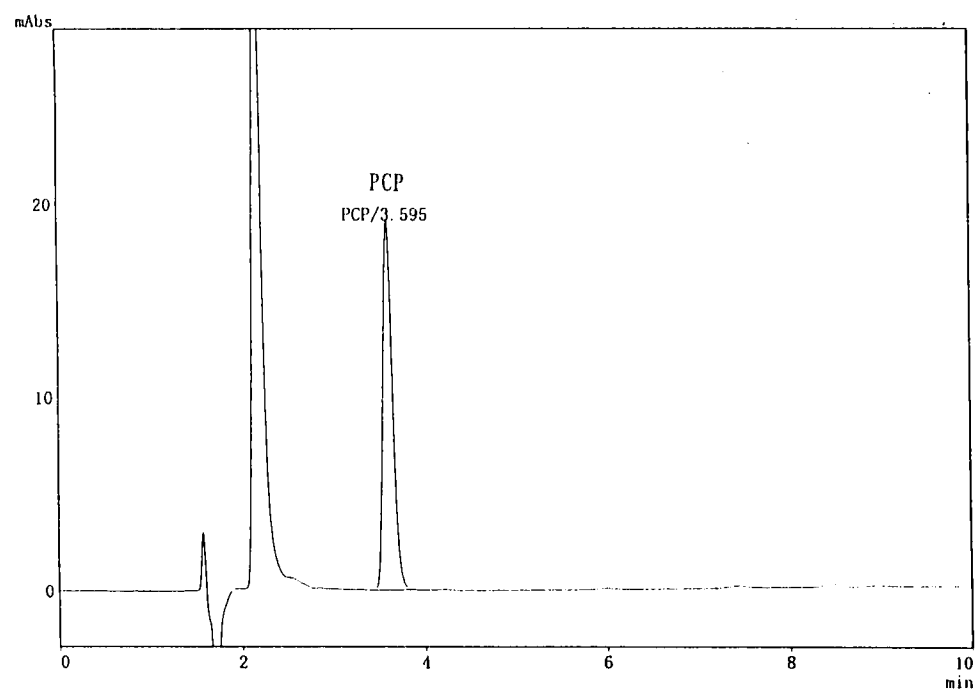
Test solution (0.046mg/L) : 0day



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.590	120035	16224	

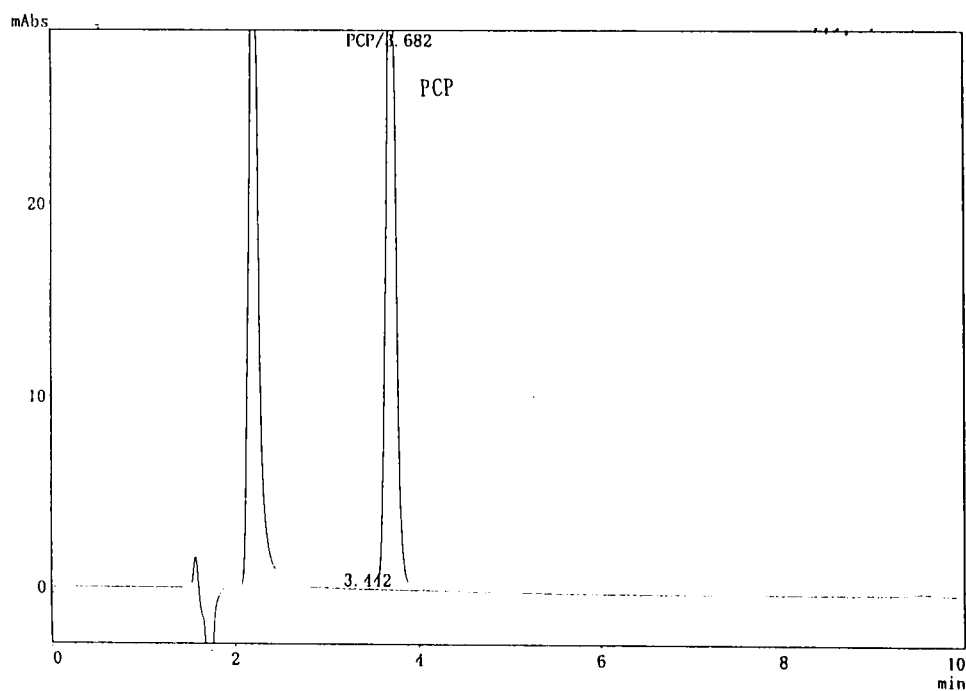
Test solution (0.22mg/L) : 0day



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.595	140252	19138	

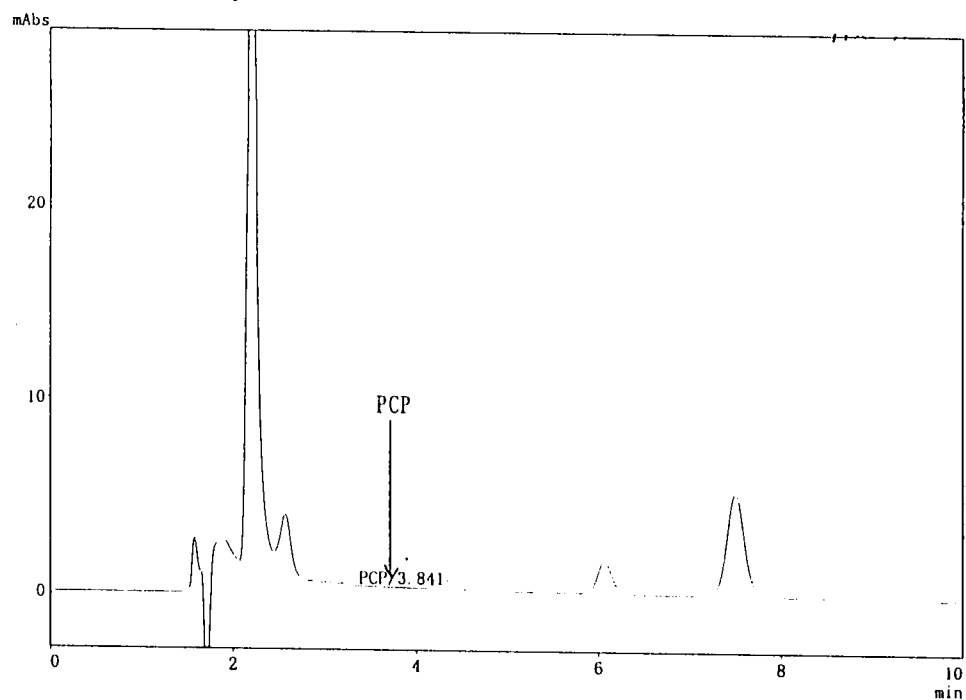
Standard (20ng) : 14days



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.442	124	30	
1	3.682	272587	37315	V

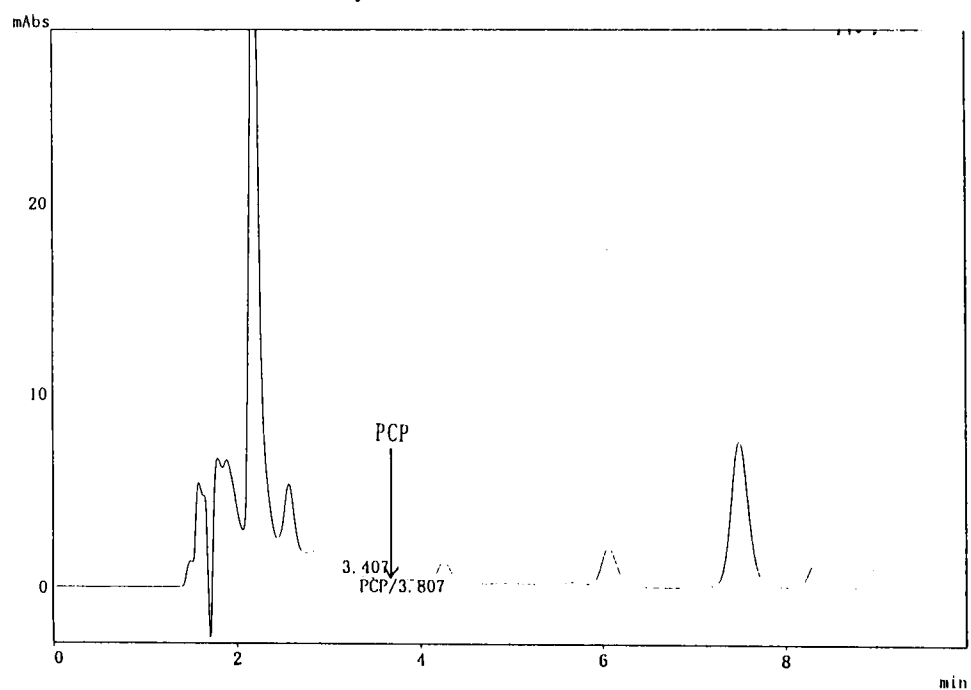
Control : 14days



*** ピークレポート ***

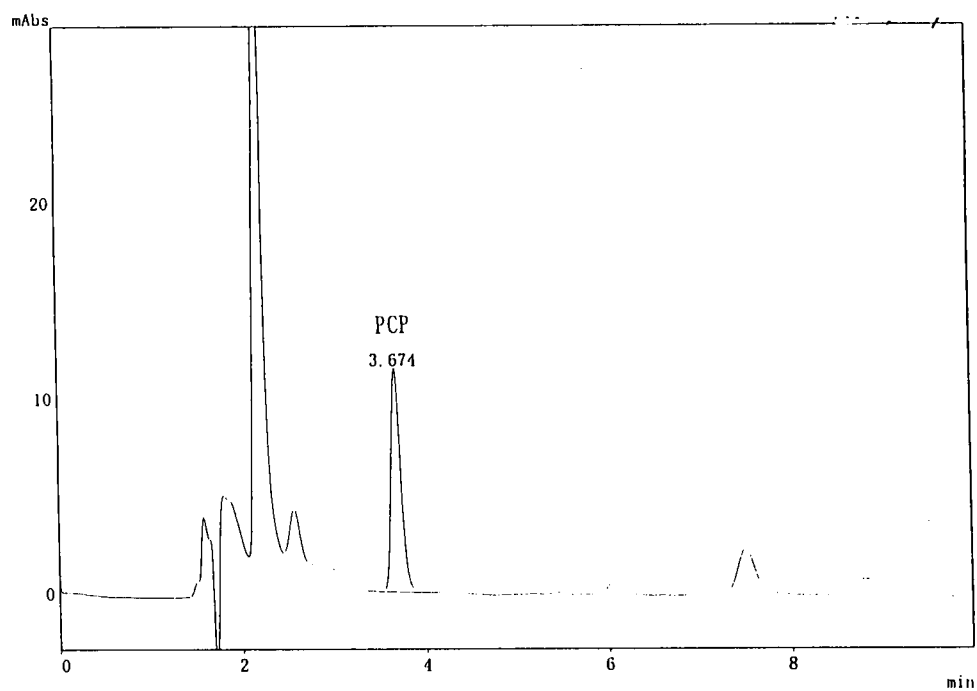
PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.841	322	62	

Solvent control : 14days



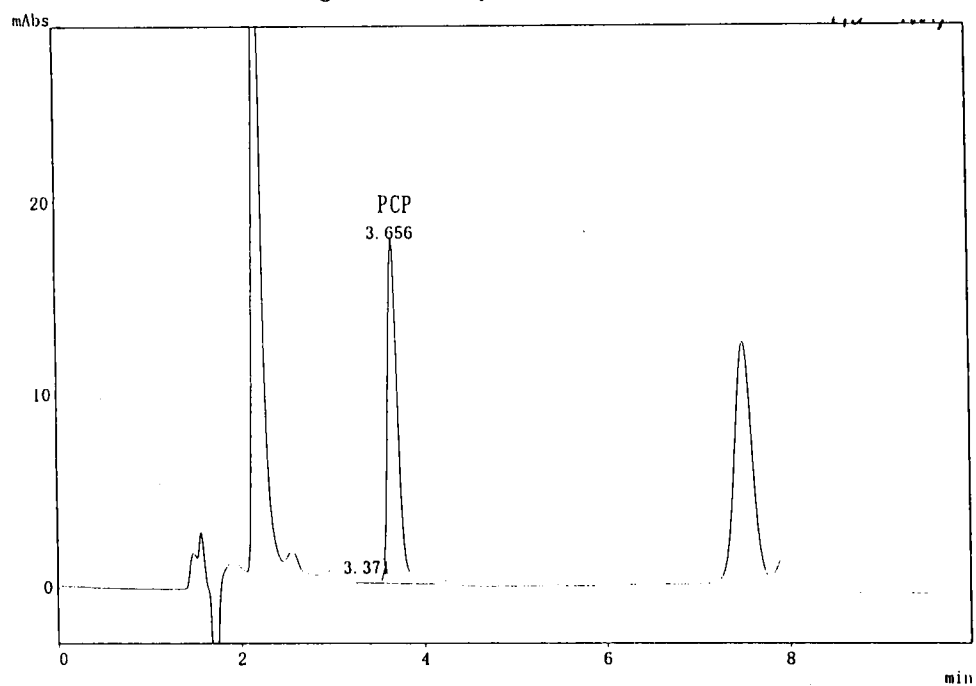
*** ヒートアップ ***
 PKNO TIME AREA HEIGHT MK
 -1 3.407 364 77

Test solution (0.010mg/L) : 14days



*** ヒートアップ ***
 PKNO TIME AREA HEIGHT MK
 1 3.674 85048 11498

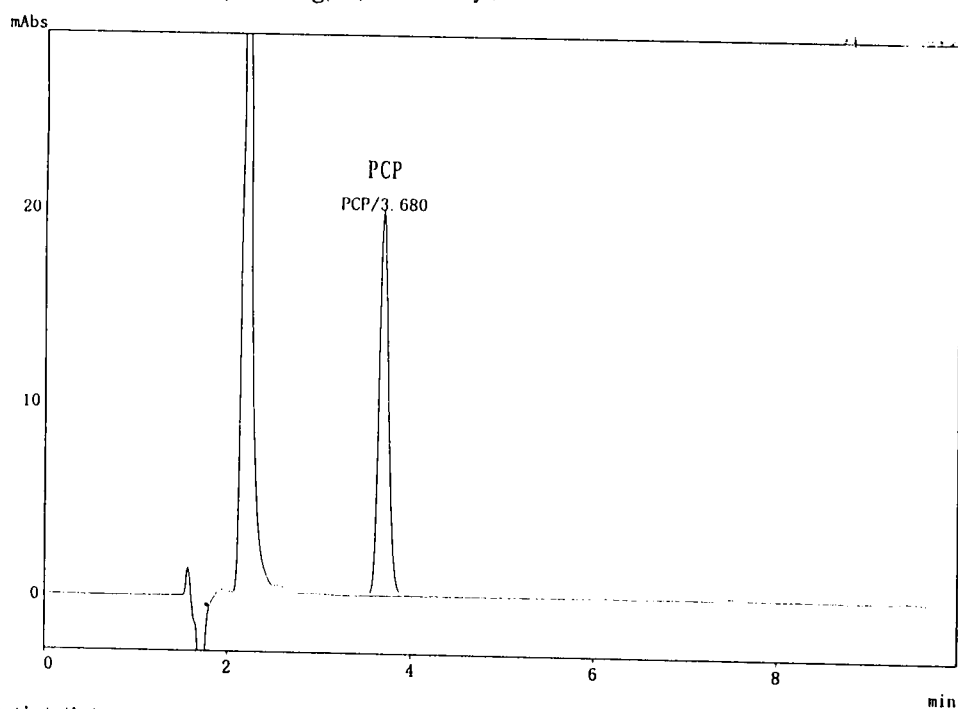
Test solution (0.046mg/L) : 14days



*** ヒートレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.371	2245	346	
2	3.656	136581	<u>17898</u>	

Test solution (0.22mg/L) : 14days



*** ヒートレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.680	144046	<u>19952</u>	

陳述書

試験委託者： 環境庁

試験の表題： ペンタクロロフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する
延長毒性試験－14日間

試験番号： 第09015号

上記試験は、環境庁GLP規則「生態影響試験実施に関する基準」を遵守して実施したものである。

1998 年 7 月 1 日

(財) 日本食品分析センター 多摩研究所

運営管理者



信頼性保証証明書

試験委託者： 環境庁

試験の表題： ペンタクロロフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する
延長毒性試験－14日間

試験番号： 第09015号

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用いた方法、手順が正確に記載されており、試験結果は試験の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。

記

	実施日	試験責任者及び 運営管理者への報告日
査察実施期間	1997年12月10日 ～1998年 7月 1日	1997年12月10日 ～1998年 7月 1日
試験報告書監査	1998年 7月 1日	1998年 7月 1日

1998 年 7 月 1 日

(財) 日本食品分析センター 多摩研究所

信頼性保証責任者

