

# 試験報告書

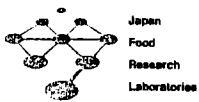
プロピレングリコールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験 - 21日間

(試験番号: 第07015号)

平成8年3月29日作成

財団法人 日本食品分析センター

多摩研究所



## 陳 述 書

試験委託者： 環境庁

試験の表題： プロピレングリコールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する  
延長毒性試験－21日間

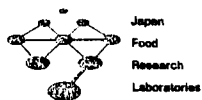
試験番号： 第 0 7 0 1 5 号

上記試験は、環境庁 G L P 「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。

1996 年 3 月 29 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： プロピレングリコールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する  
延長毒性試験－21日間

試験番号： 第07015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	1995年11月 7日 ～1996年 3月29日	1995年11月 7日 ～1996年 3月29日
試験報告書監査	1996年 3月29日	1996年 3月29日

1996 年 3 月 29 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



## 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 結果及び考察 .....	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 ヒメダカの死亡数及び死亡率 .....	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 .....	10~18
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

プロピレングリコールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験－  
21日間

### 2. 試験目的

プロピレングリコールについて、ヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験－21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「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1－2－2

### 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52－1

### 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6－11－10

## 8. 試験関係者

試験責任者

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

生物系試験担当者

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

理化学系試験担当者

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

## 9. 試験期間

試験開始日：平成 7 年 11 月 7 日

試験終了日：平成 8 年 3 月 29 日

曝露期間：平成 7 年 12 月 18 日～平成 8 年 1 月 8 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

プロピレングリコールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する延長毒性試験－21日間

### 試験番号

第 0 7 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：プロピレングリコール
- 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) 温 度：24±1℃
- 5) 曝露期間：21日間
- 6) 試験水槽：10L容角形ガラス製水槽
- 7) 流量及び換水率：80ml／分，約13回／日
- 8) 生 物 数：20尾／濃度区
- 9) 照 明：16時間明／8時間暗
- 10) エアレーション：無し
- 11) 試験濃度：対照区，22，48及び100mg／L
- 12) 試験水中の被験物質の分析方法：ガスクロマトグラフ法（0，7，14及び21日後）

### 結 果

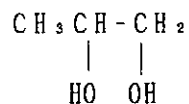
- 1) 21日間の最小致死濃度 = 100mg／L以上
- 2) 21日間の最小作用濃度 = 100mg／L以上
- 3) 21日間の最大無作用濃度 (NOEC) = 100mg／L
- 4) 7日間の半数致死濃度 (LC50) = 100mg／L以上
- 5) 14日間の半数致死濃度 (LC50) = 100mg／L以上
- 6) 21日間の半数致死濃度 (LC50) = 100mg／L以上  
(上記の濃度は，全て設定値に基づく値)

## 1 被験物質

### 1.1 名称, 構造式及び物理化学的性状

名 称 : プロピレングリコール

構造式 :



分子式 :  $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$

分子量 : 76.10

安定性 : —

$P_o/w$  : -1.41 ~ -0.30

pKa : —

水への溶解度 : 可溶

蒸気圧 : 0.2mmHg (20℃)

### 1.2 供試試料

購入先 :

入手先 :

入手日 : 平成7年11月 1日

ロット番号 : 703S1954

外 観 : 無色液体

純 度 : 99.5%以上

### 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（室温）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

供試魚の基準物質（硫酸銅（Ⅱ）五水和物，試薬特級）による急性毒性試験の96時間LC50値は，1.3mg/Lであった。

- 1) 一般名：ヒメダカ
- 2) 学名：*Oryzias latipes*
- 3) 体長：2.2cm (2.0~2.4cm)，n=10
- 4) 体重：0.16g (0.12~0.21g)，n=10
- 5) ロット番号：1995/10/25
- 6) 購入先：滝沢養魚場（埼玉県鴻巣市郷地747）
- 7) 購入日：1995年10月25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。

餌は市販のテトラミンを与え，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個体を使用した。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) 方式：流水式（定量ポンプを用いる連続希釈装置を使用）
- 2) 温度： $24 \pm 1$  °C
- 3) 曝露期間：21日間
- 4) 生物数：20尾/濃度区
- 5) 流量及び換水率：80ml/分，約13回/日
- 6) 連数：1濃度区につき1連
- 7) 給餌：市販のテトラミンを毎日個体重量の2%与えた
- 8) エアレーション：無し
- 9) 照明：16時間明/8時間暗

### 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7.1~7.7及び75~82mg/L (CaCO<sub>3</sub>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：10L容角形ガラス製水槽
- 3) 恒温室：試験水槽内の水温が $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 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（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）

### 3.4 試験濃度の設定

ヒメダカに対する96時間半数致死濃度（96hr-LC50値＝100mg/L以上）付近から始めて，それ以下の濃度を公比2.2で3段階設定した。各濃度区は以下のとおりである。

（対照区，22，48及び100mg/L）

### 3.5 試験水の調製

被験物質を水に溶解して調製した薬液及び希釈水を，それぞれ流量20ml/分（薬液用定量ポンプ）及び80ml/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，対照区は希釈水のみとした。

### 3.6 試験水の分析

開始時，7日後，14日後及び21日後に各試験水槽より試験水20mlを採取し，分析用試験水とした。

試験水は，速やかにガス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を用いて検量線を作成し，試験水より得られたピーク高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、被鱗体長及び体重を測定した。

各試験水槽の試験水のpH、溶存酸素濃度及び水温を測定後、試験水槽中に供試魚を1濃度区当たり20尾投入した。

曝露開始後、週2回各試験水槽の試験水のpH、溶存酸素濃度及び水温を測定した。

曝露期間中、餌は1日当たり個体重量の約2%を与えた。死亡により個体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、毎日死亡個体数を記録した。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き、被鱗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：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）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被鱗体長及び体重を測定記録した。

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

## 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個体数（20尾）から、7、14及び21日間における半数致死濃度（LC50）を算出した。

### 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。

試験において試験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。なお、被験物質に21日間曝露された各濃度区のヒメダカの体重を対照区と比較して、一元配置分散分析（有意水準5%）を行った。有意差が認められた場合は、ダネット（Dunnett）の多重比較法（有意水準5%）により有意差を検定した。

## 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なし。

### 5.2 試験水中の被験物質濃度

曝露開始時、7日後、14日後及び21日後に試験水中の被験物質濃度を測定した。曝露期間中の被験物質濃度は18～114mg/L（設定値22～100mg/L）あり、設定濃度に対する割合は82～114%であった。

[Table 1-1, 1-2 (p.10), 付属資料-2]

### 5.3 ヒメダカの死亡数及び死亡率

プロピレングリコールにおける曝露終了時の死亡数及び死亡率は、22～100mg/L濃度区（設定濃度）において、すべて0尾（0%）であった。なお、対照区は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.11) ]

### 5.4 半数致死濃度（LC50）

プロピレングリコールの設定濃度に基づく、7、14及び21日間の半数致死濃度（LC50）は100mg/L以上であった。

[Table 3 (p.12) ]

### 5.5 最小致死濃度，最小作用濃度

試験において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以上（設定濃度）であった。

試験において試験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以上（設定濃度）であった。

[Table 2, 4 (p.11, 13) ]

### 5.6 最大無作用濃度

死亡数が対照区と比較して差が認められない最も高い濃度区は100mg/L（以下設定濃度），毒性症状が観察されない最も高い濃度区は100mg/L，摂餌状況に異常が認められない最も高い濃度区は100mg/L，供試生物の体重が対照区と比較して有意な差が認められない最も高い濃度区は100mg/Lであった。これらの濃度区で最も低い濃度である100mg/Lが最大無作用濃度（NOEC）と判断した。

[Table 4 (p.13) ]

### 5.7 毒性症状及び摂餌状況

各濃度区を対照区と比較して観察を行った結果，曝露期間中に毒性症状は観察されなかった。なお，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。

各濃度区及び対照区の摂餌状況は，全曝露期間で摂餌量の低下が認められなかった。

[Table 4 (p.13) ]

#### 5.8 供試魚の体長及び体重

プロピレングリコールに21日間曝露した各濃度区のヒメダカの平均体長は、最大値が48mg/L濃度区（以下設定濃度）の2.4cm、最小値が22及び100mg/L濃度区の2.3cmであった。また、平均体重は最大値が48mg/L濃度区の0.22g、最小値が22mg/L濃度区の0.18gであった。なお、平均体重を各濃度区と対照区で比較した結果（ダネットの多重比較法 有意水準=0.05）、有意な差は認められなかった。

[Table 5, 6 (p.14, 15)]

#### 5.9 試験水のpH, 溶存酸素濃度及び水温

21日間の曝露期間中のpHは7.0~7.7, 溶存酸素濃度は7.9~8.8mg/Lであり、すべての試験水槽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：8.3mg/L）。また、曝露期間中の水温は24.0~24.6℃であった。

[Table 7~9 (p.16~18)]

以 上

Table 1-1. Measured Concentration of Propylene glycol During a 21-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 days	14 days	21 days
Control	< 1	< 1	< 1	< 1
22	18 ( 82)	20 ( 91)	24 (109)	23 (105)
48	49 (102)	48 (100)	50 (104)	49 (102)
100	93 ( 93)	106 (106)	114 (114)	107 (107)

Table 1-2. The Mean Value of each Exposed Period for Measured Concentration of Propylene glycol During a 21-day Exposure of Orange killifish (*Oryzias latipes*) under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	The Mean Value of Measured Concentration (mg/L)		
	0-7days	0-14days	0-21days
Control	< 1	< 1	< 1
22	19	21	21
48	49	49	49
100	100	104	105

Table 2. Mortality of Orange killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to Propylene glycol under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Cumulative number of Dead (Percent Mortality)								
	2 days	4 days	7 days	9 days	11 days	14 days	16 days	18 days	21 days
Control	0( 0)	0( 0)	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)	0( 0)	0( 0)
48	0( 0)	0( 0)	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)	0( 0)	0( 0)

Threshold Level of Lethal Effect : > 100mg/L

Table 3. Calculated LC50 Values for Orange killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to Propylene glycol on Nominal Concentrations under Flow-Through Test Conditions

Exposure Period (days)	LC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
7	> 100	not calculated	----
14	> 100	not calculated	----
21	> 100	not calculated	----



Table 4. Symptoms of Toxicity Observed in Orange killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to Propylene glycol under Flow-Through Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Symptoms								
	2 days	4 days	7 days	9 days	11 days	14 days	16 days	18 days	21 days
Control	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
22	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
48	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
100	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.

Threshold Level of Lethal Effect : > 100mg/L

n. a. d. : No abnormalities are detected

Table 5. Body Length (cm)

No.	Nominal Concentration (mg/L)			
	Control	22	48	100
1	2.4	2.5	2.6	2.4
2	2.4	2.3	2.5	2.4
3	2.4	2.0	2.4	2.5
4	2.3	2.3	2.6	2.4
5	2.3	2.3	2.4	2.4
6	2.4	2.4	2.3	2.0
7	2.3	2.2	2.4	2.1
8	2.2	2.1	2.5	2.1
9	2.1	2.3	2.3	2.3
10	2.3	2.4	2.5	2.2
11	2.2	2.3	2.2	2.3
12	2.3	2.4	2.4	2.3
13	2.4	2.2	2.2	2.2
14	2.3	2.4	2.2	2.0
15	2.0	2.3	2.4	2.2
16	2.1	2.3	2.2	2.4
17	2.1	2.2	2.4	2.2
18	2.2	2.2	2.4	2.2
19	2.2	2.3	2.6	2.3
20	2.1	2.4	2.3	2.3
mean	2.3	2.3	2.4	2.3

Table 6. Body Weight (g)

No.	Nominal Concentration (mg/L)			
	Control	22	48	100
1	0.20	0.22	0.26	0.18
2	0.20	0.19	0.26	0.22
3	0.23	0.12	0.23	0.26
4	0.20	0.19	0.27	0.20
5	0.19	0.18	0.23	0.20
6	0.21	0.21	0.21	0.15
7	0.18	0.18	0.24	0.17
8	0.18	0.12	0.21	0.13
9	0.14	0.18	0.23	0.16
10	0.17	0.23	0.29	0.21
11	0.15	0.20	0.17	0.18
12	0.19	0.23	0.18	0.23
13	0.21	0.16	0.17	0.20
14	0.19	0.20	0.18	0.15
15	0.11	0.20	0.22	0.16
16	0.16	0.19	0.15	0.24
17	0.14	0.16	0.21	0.16
18	0.16	0.16	0.23	0.16
19	0.18	0.17	0.27	0.17
20	0.16	0.20	0.23	0.19
mean	0.18	0.18	0.22	0.19

Table 7. pH Values During a 21-day Flow-Through Exposure of Orange killifish (*Oryzias latipes*) to Propylene glycol

Nominal Concentration (mg/L)	pH						
	0 day	3 days	7 days	10 days	14 days	17 days	21 days
Control	7.5	7.1	7.8	7.6	7.5	7.5	7.4
22	7.4	7.1	7.7	7.3	7.4	7.6	7.3
48	7.3	7.0	7.6	7.3	7.3	7.6	7.3
100	7.3	7.0	7.6	7.3	7.3	7.6	7.3

Table 8. Dissolved Oxygen Concentrations During a 21-day Flow-Through Exposure of Orange killifish (*Oryzias latipes*) to Propylene glycol

Nominal Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration (mg/L)						
	0 day	3 days	7 days	10 days	14 days	17 days	21 days
Control	8.9	8.9	9.0	8.2	8.5	9.3	8.0
22	8.4	8.5	8.4	8.1	8.2	8.8	8.0
48	8.4	8.5	8.4	7.9	8.2	8.8	8.0
100	8.5	8.2	8.6	8.3	8.2	8.6	8.4

Table 9. Temperature Values During a 21-day Flow-Through Exposure of Orange killifish (*Oryzias latipes*) to Propylene glycol

Nominal Concentration (mg/L)	Temperature (°C)						
	0 day	3 days	7 days	10 days	14 days	17 days	21 days
Control	23.4	23.5	23.6	23.2	23.4	23.5	24.0
22	24.0	24.1	24.6	24.2	24.4	24.4	24.2
48	24.1	24.1	24.4	24.2	24.4	24.3	24.3
100	24.1	24.0	24.5	24.1	24.3	24.1	24.2

## 付 属 資 料 ー 1

希釈水の水質  
(全1頁)

# Water Quality of Dilution Water

Parameter	Concentration
COD	1.4 mg/L
Phosphorus	< 0.01 mg/L
pH	7.7(22°C)
Coliform organisms	ND
Mercury	< 0.0001 mg/L
Copper	< 0.01 mg/L
Cadmium	< 0.001 mg/L
Zinc	0.010 mg/L
Lead	< 0.005 mg/L
Aluminium	< 0.05 mg/L
Nickel	0.003 mg/L
Chromium(VI)	< 0.005 mg/L
Manganese	< 0.005 mg/L
Tin	< 0.1 mg/L
Iron	< 0.03 mg/L
Cyanide	< 0.1 mg/L
Free residual chlorine	< 0.01 mg/L
Bromide	< 0.5 mg/L
Fluoride	0.14 mg/L
Sulfide	< 0.01 mg/L
Ammonium	0.05 mg/L
Arsenic	< 0.001 mg/L
Selenium	< 0.001 mg/L
Total residue	190 mg/L
Electric conductivity	290 $\mu$ S/cm
Total hardness (as CaCO <sub>3</sub> )	86 mg/L
Alkalinity	41 mg/L
Sodium	18 mg/L
Potassium	3.1 mg/L
Calcium	26 mg/L
Magnesium	5.2 mg/L
PCB	< 0.0005 mg/L
Organophosphate	< 0.02 mg/L

Date : November 13, 1995



## 付 属 資 料 ー 2

試験水の分析方法  
(全14頁)

## 試験水の分析方法

### 1 試験方法

#### ① 試料溶液の調製

##### a) 100mg/L濃度区の試験水

試験水5mlを正確に量り、水を用いて50mlに定容し、これを試料溶液とした。

##### b) 48mg/L及び22mg/L濃度区の試験水及び対照区の試験水

そのまま試料溶液とした。

#### ② 標準溶液の調製

標準品約0.05gを精密に量りとり、水に溶解して50mlに定容し、これを標準原液とした。この標準原液を水を用いて適宜希釈し、1, 5, 25, 50 $\mu$ g/mlの標準溶液を調製した。

#### ③ 定量

①及び②で調製した試料溶液及び標準溶液各々2 $\mu$ lを正確に量り、ガスクロマトグラフに注入しプロピレングリコール含量を測定した。

### 2 ガスクロマトグラフ操作条件

機 種：GC-14A（島津製作所）

検 出 器：FID

カ ラ ム：DB-WAX,  $\phi$ 0.53mm $\times$ 20m, 膜厚 1.0 $\mu$ m

温 度：注入口・検出器 250 $^{\circ}$ C

：カラム100 $^{\circ}$ C（1min保持） $\rightarrow$  5 $^{\circ}$ C/min  $\rightarrow$ 150 $^{\circ}$ C

導 入 系：スプリットレス

ガス圧力：キャリアーガス He 0.7kg/cm<sup>2</sup>, 水素 0.6kg/cm<sup>2</sup>, 空気 0.5kg/cm<sup>2</sup>,

データ処理装置：クロマトパック C-R4A（島津製作所）

### 3 検量線

1で調製した標準溶液2 $\mu$ lをガスクロマトグラフに注入し、ピーク高とプロピレングリコールの注入量から検量線を作成した。

### 4 添加回収試験

対照区の試験水に濃度が100mg/Lになるようにプロピレングリコールを添加し、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93.1%, 92.3%, 92.9%（平均92.8%）であった。

Figure 1 Calibration Curve of Propylene Glycol by GC analysis

Input data		
No.	ng Injected	Peak Hight $\mu V$
1	2	264
2	10	952
3	50	4,468
4	100	9,183

$$Y(\text{Peak Hight}) = 33.12 + 90.9539 \times (\text{ng Injected})$$

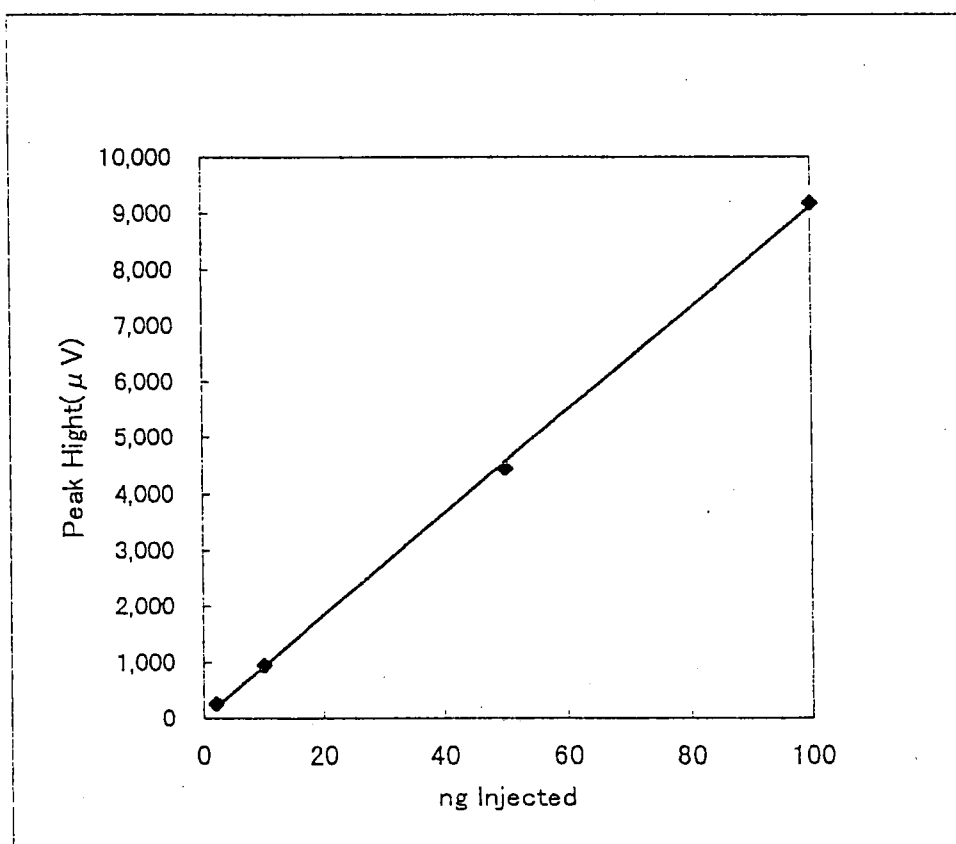
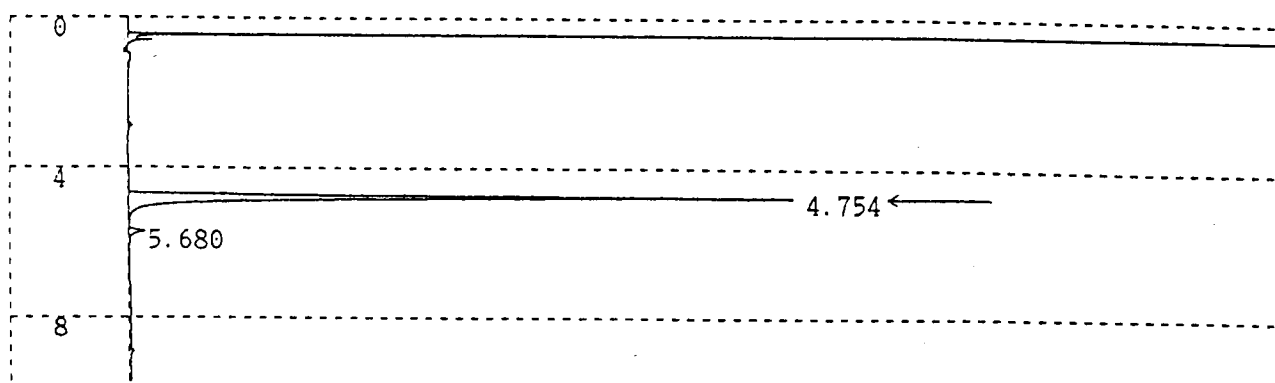


Figure 2 Representative chromatograms

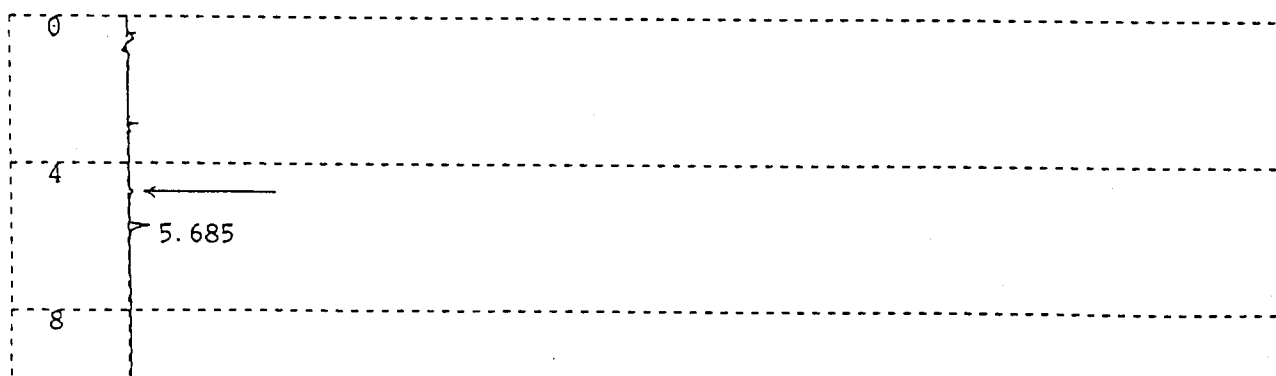
1) Standard (50mg/L) ; 0 day



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.754	58148	9183		1		7'0t'1'G
	2	5.68	1269	206				
TOTAL			59417	9389			0	

2) Control ; 0 day

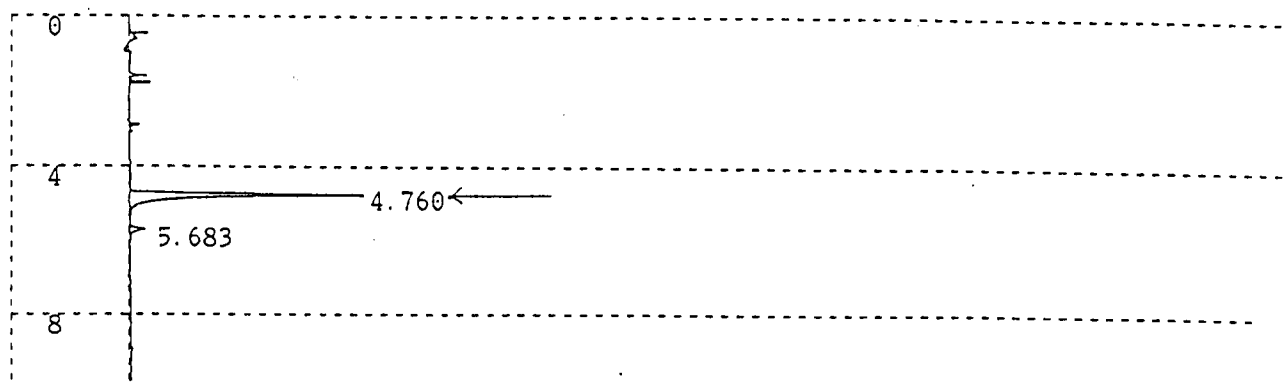


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	3	5.685	1764	269				
TOTAL			1764	269			0	

Figure 2 Representative chromatograms

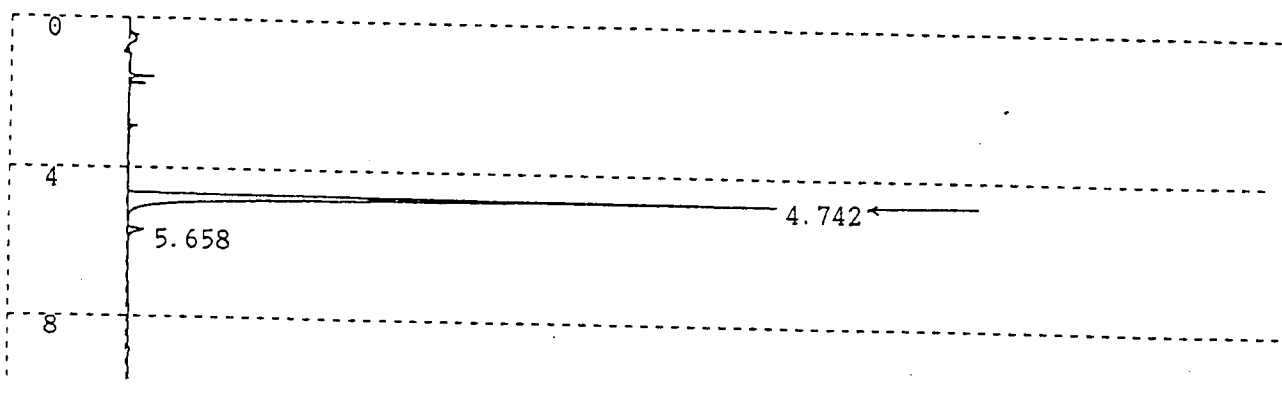
3) test solution (22mg/L) ; 0 day



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.76	21349	3249		1		7・0t・VNG
	3	5.683	1234	191				
TOTAL			22584	3440			0	

4) test solution (48mg/L) ; 0 day.

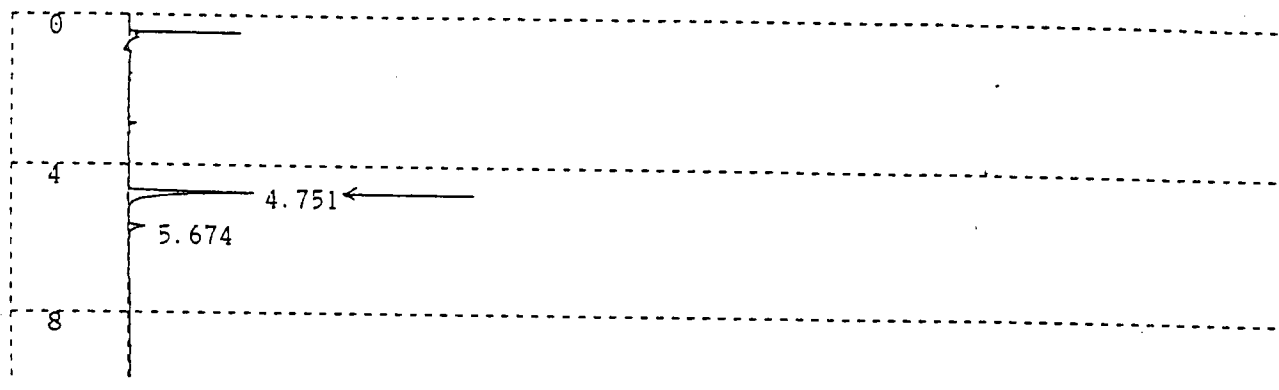


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.742	56928	8928		1		7・0t・VNG
	3	5.658	1425	218				
TOTAL			58353	9146			0	

Figure 2 Representative chromatograms

5) test solution (100mg/L) ;0 day

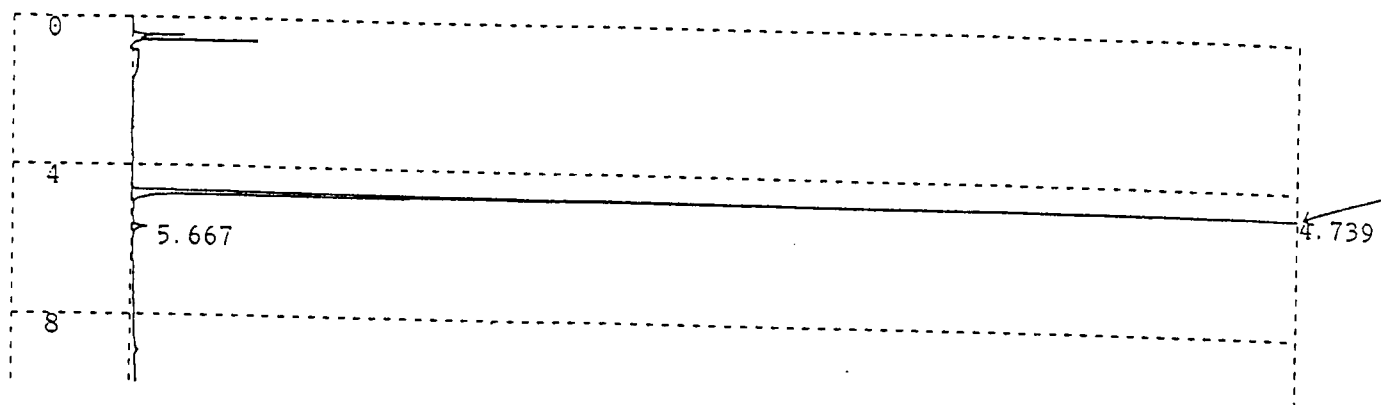


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.751	11421	1715		1		
	3	5.674	1365	217				
TOTAL			12786	1931			0	

Figure 2 Representative chromatograms

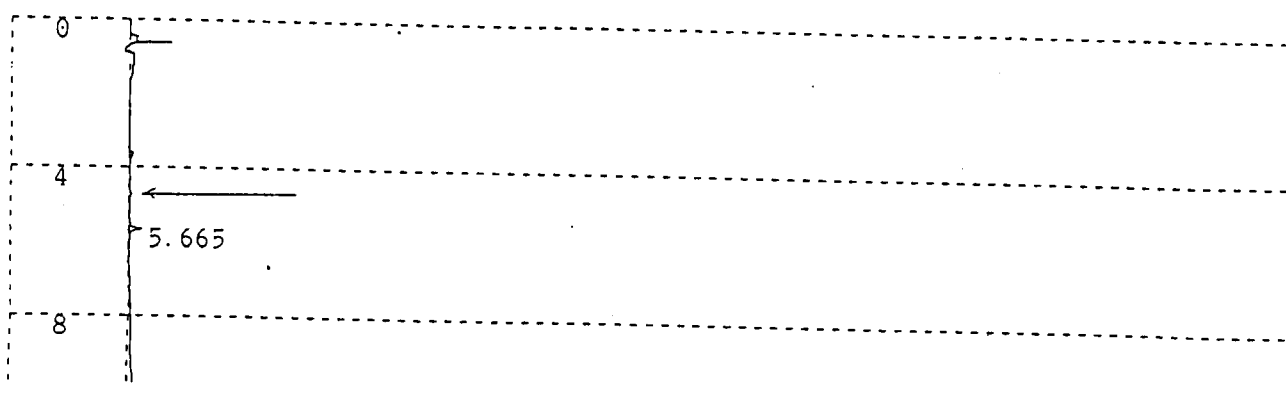
1) Standard (50mg/L) ; 7 days



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.739	61284	17258		1		
	3	5.667	1245	204	V			7'0t'レG
TOTAL			62528	17462			0	

2) Control ; 7 days

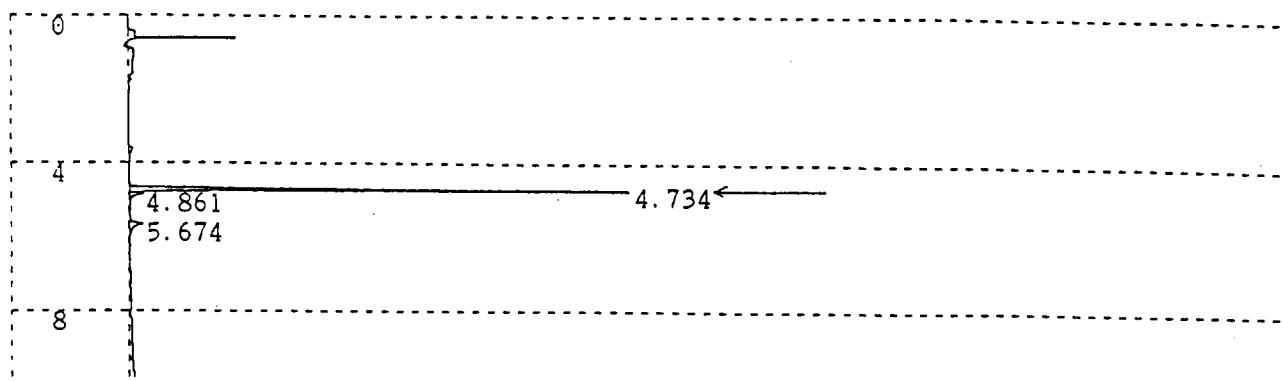


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	4	5.665	999	169	V			
TOTAL			999	169			0	

Figure 2 Representative chromatograms

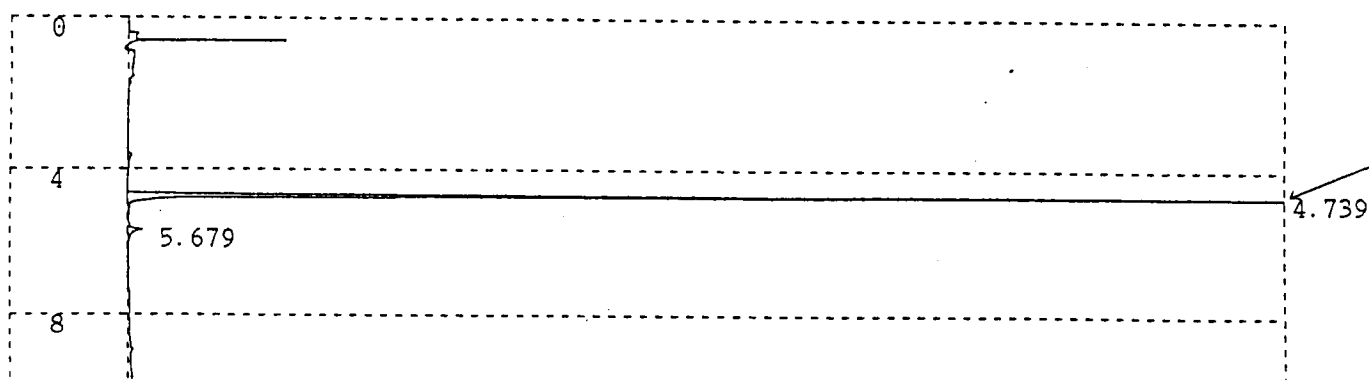
3) test solution (22mg/L) ; 7 days



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.734	24891	6941		1		7'pt'lyG
	3	4.861	1010	192	V	1		7'pt'lyG
	5	5.674	1454	184	V			
TOTAL			27355	7317			0	

4) test solution (48mg/L) ; 7 days



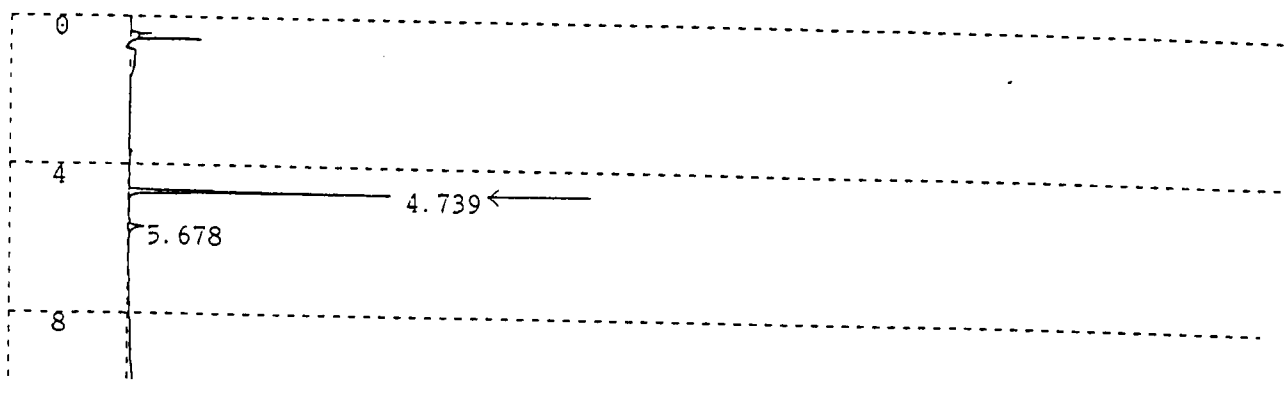
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.739	60735	16720		1		7'pt'lyG
	4	5.679	1489	195	V			
TOTAL			62224	16915			0	



Figure 2 Representative chromatograms

5) test solution (100mg/L) ; 7 days

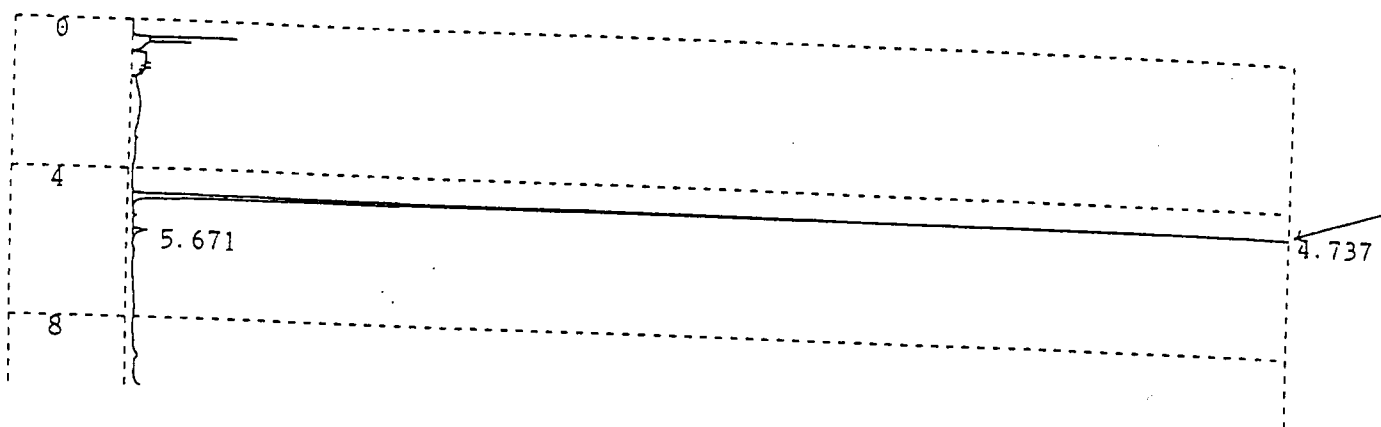


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.739	13027	3633		1		
	3	5.678	1330	206	V			7.06.12G
TOTAL			14357	3839			0	

Figure 2 Representative chromatograms

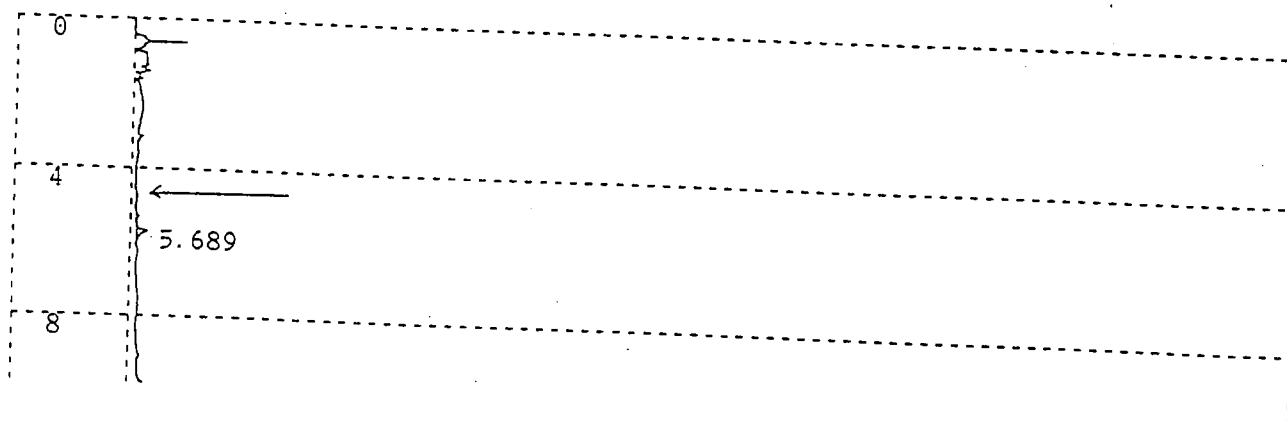
1) Standard (50mg/L) ; 14 days



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.737	59930	16195		1		
	4	5.671	1490	198				7.0t.1yG
TOTAL			61420	16393			0	

2) Control ; 14 days

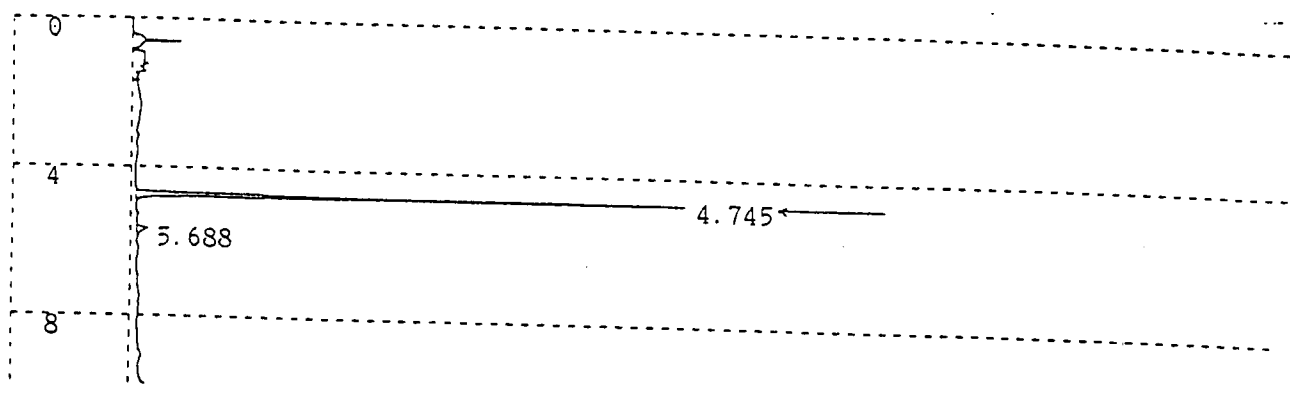


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	3	5.689	1388	154				
TOTAL			1388	154			0	

Figure 2 Representative chromatograms

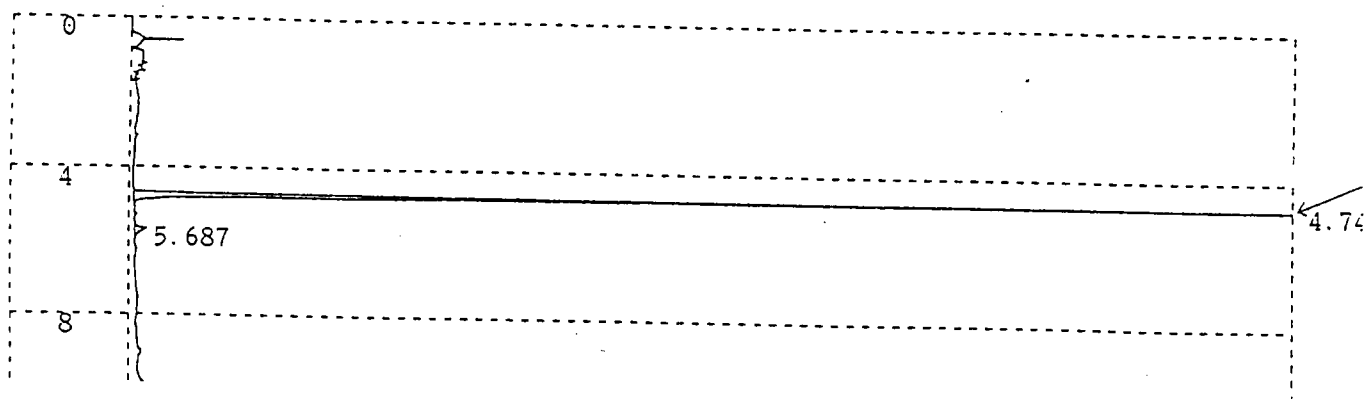
3) test solution (22mg/L) ;14 days



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.745	28343	7543		1		7.0pt.レノG
	4	5.688	1407	155				
TOTAL			29750	7698			0	

4) test solution (48mg/L) ; 14 days

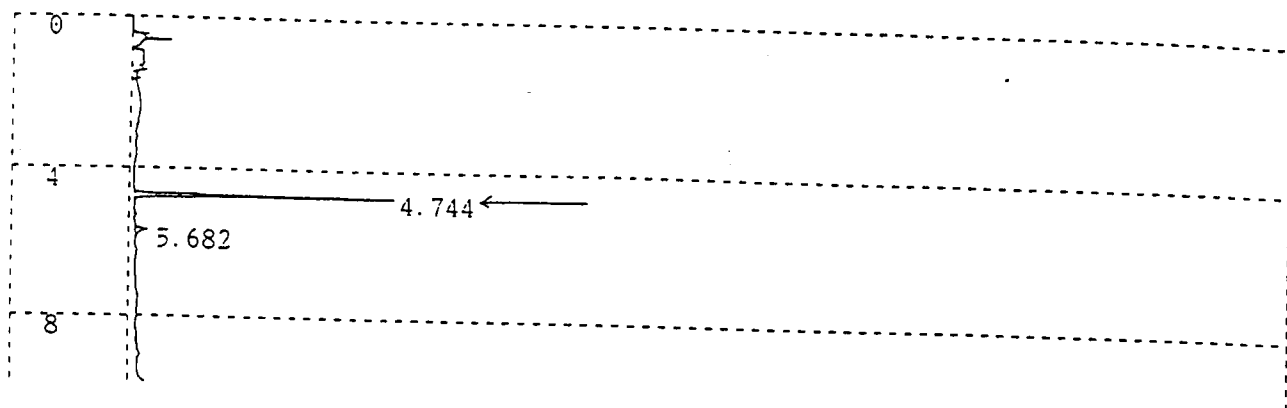


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.749	60390	16134		1		7.0pt.レノG
	4	5.687	1519	159				
TOTAL			61909	16293			0	

Figure 2 Representative chromatograms

5) test solution (100mg/L) ; 14 days

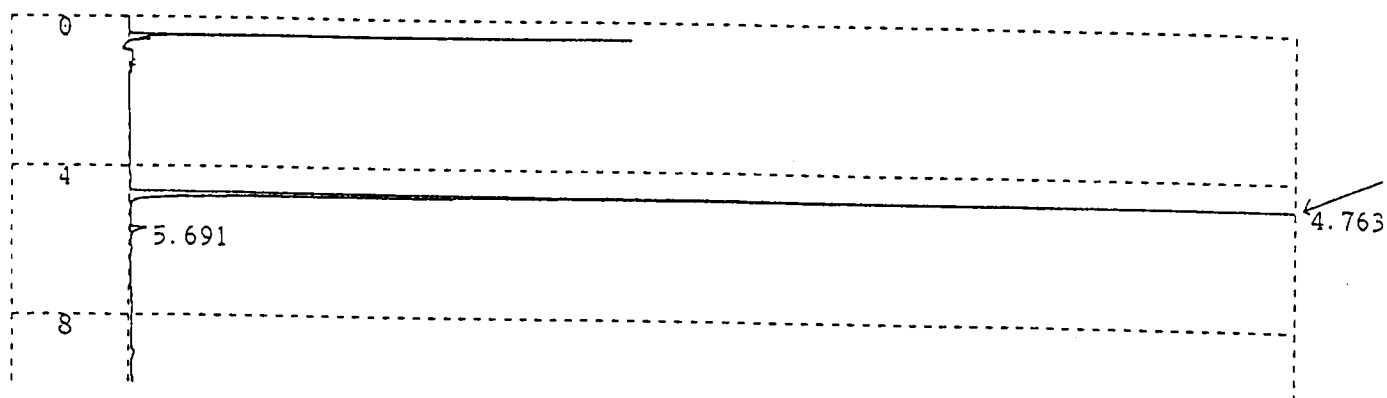


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.744	13451	3606		1		
	4	5.682	1296	170				
TOTAL			14747	3776			0	

Figure 2 Representative chromatograms

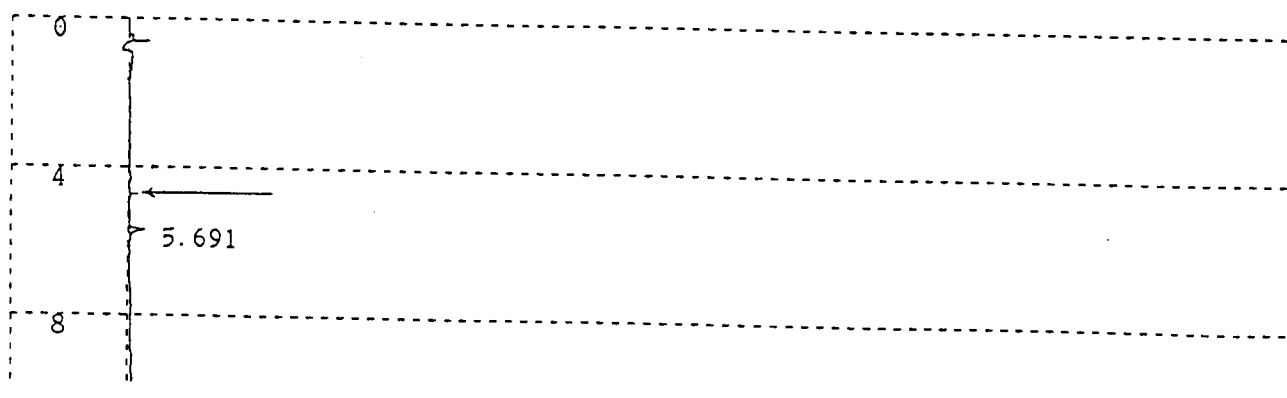
1) Standard (50mg/L) ; 21 days



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.763	61065	15978		1		
	2	5.691	1494	225				7'0t'1'2'G
TOTAL			62559	16203			0	

2) Control ; 21 days

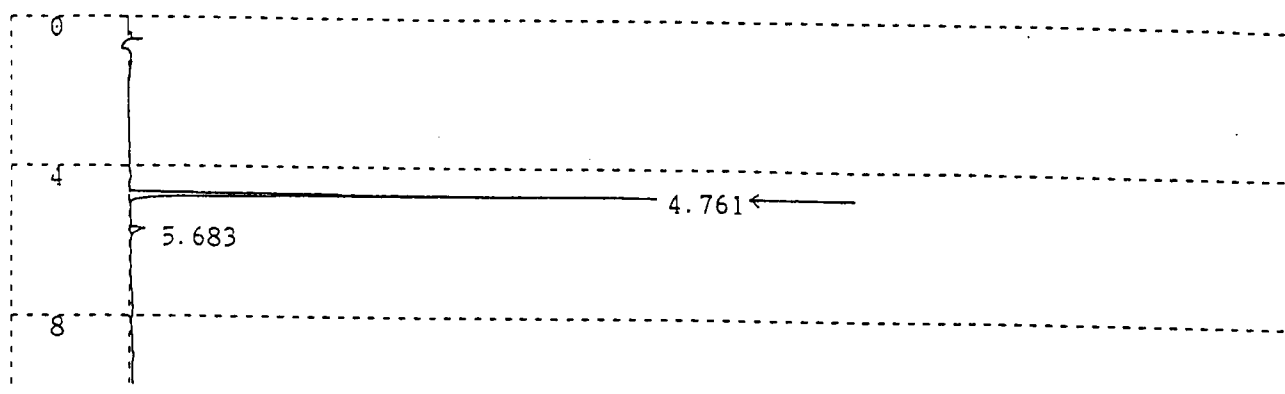


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	5.691	1470	215				
TOTAL			1470	215			0	

Figure 2 Representative chromatograms

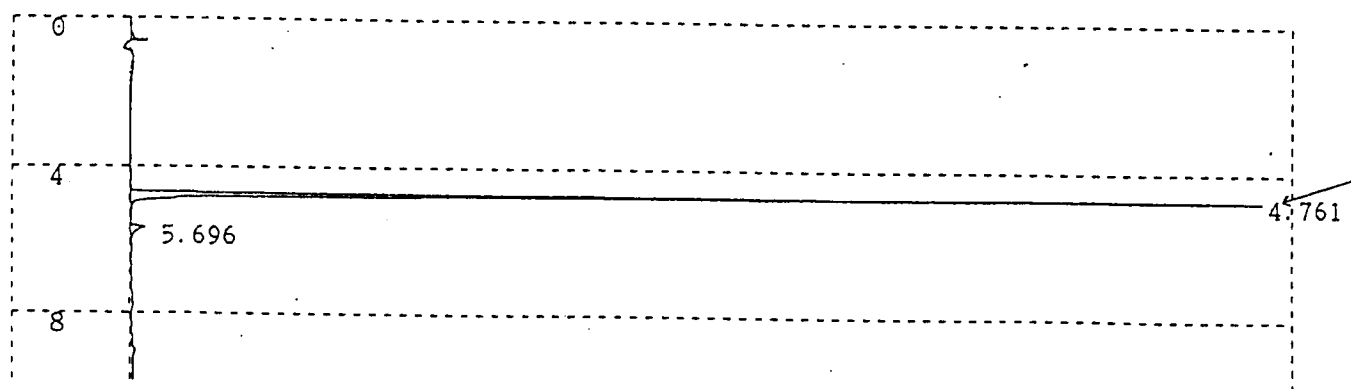
3) test solution (22mg/L) ;21 days



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.761	28413	7253		1		7'0t'vG
	2	5.683	1528	195				
TOTAL			29941	7447			0	

4) test solution (48mg/L) ; 21 days

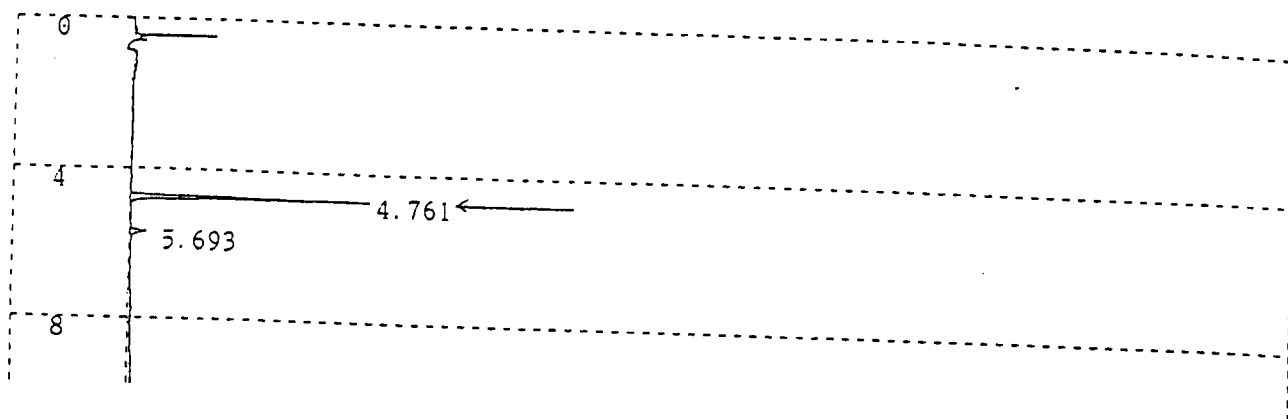


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.761	61818	15593		1		7'0t'vG
	2	5.696	1567	182				
TOTAL			63385	15775			0	

Figure 2 Representative chromatograms

5) test solution (100mg/L) ; 21 days



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.761	12944	3295		1		
	2	5.693	1335	220				
TOTAL			14278	3515			0	