

本写しは原本と相違ありません

(株)三菱化学安全科学研究所
横浜研究所 運営管理者

環境省殿

最 終 報 告 書

2-ブロモプロパンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験

(試験番号 : A 0 0 0 4 6 3 - 2 G)

2 0 0 1 年 6 月 2 9 日 作 成

株式会社三菱化学安全科学研究所

本写しは原本と相違ありません

(株)三菱化学安全科学研究所
横浜研究所 運営管理者

修正番号：01

最 終 報 告 書 修 正 書

試験委託者：環境省

表 題：2-ブロモプロパンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験

試験番号：A000463-2G

修 正 内 容

修正箇所：5頁 10. 保管

修正前：5) 被験物質

修正後：5) 被験物質は保管しない（沸点がきわめて低く、正常な保管が困難なため）

理 由

記載ミス

試験実施施設：株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所

2001年12月26日 作成 試験責任者

2001年12月26日 確認 信頼性保証業務担当者

2001年12月26日 承認 運営管理者

陳 述 書

株式会社三菱化学安全科学研究所
横浜研究所

試験委託者： 環境省

表題： 2-ブロモプロパンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻
害試験

試験番号： A 0 0 0 4 6 3 - 2 G

本試験は環境省の G L P 規則に従って実施したものである。

2 0 0 1 年 6 月 2 9 日

運営管理者

信 頼 性 保 証 証 明

株式会社三菱化学安全科学研究所
横浜研究所

試験委託者： 環境省

表題： 2-プロモプロパンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻
害試験


試験番号： A 0 0 0 4 6 3 - 2 G

本試験は試験計画書およ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。

記

実 施 事 項		実 施 日	運営管理者および 試験責任者への報告日
試験計画書監査		2 0 0 0 年 1 1 月 2 2 日	2 0 0 0 年 1 1 月 2 2 日
試験の査察	試験液の調製	2 0 0 1 年 4 月 2 5 日	2 0 0 1 年 4 月 2 5 日
	ミジンの投入	2 0 0 1 年 4 月 2 5 日	2 0 0 1 年 4 月 2 5 日
	ミジンの観察	2 0 0 1 年 4 月 2 7 日	2 0 0 1 年 4 月 2 7 日
最終報告書監査		2 0 0 1 年 6 月 2 9 日	2 0 0 1 年 6 月 2 9 日

2 0 0 1 年 6 月 2 9 日

信頼性保証業務担当者： 





試験実施概要

1. 表題： 2-ブロモプロパンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験
2. 試験目的： 被験物質のオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験を行い、24および48時間後の半数遊泳阻害濃度 (EC50) および最大無作用濃度 (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 No. 202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験および繁殖試験」(1984年)に準拠した。
4. 適用GLP： 本試験は環境省GLP規則に準拠した。
5. 試験委託者
名称： 環境省
住所： 〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目2-2
委託担当者： 総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室
室長補佐 XXXXXXXXXX
6. 試験受託者：
名称： 株式会社三菱化学安全科学研究所
所在地： 〒105-0014 東京都港区芝二丁目1-30
7. 試験施設：
名称： 株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所
所在地： 〒227-0033 神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

「10. 保管」について

次頁の「10. 保管」には、

5) 被験物質

と記載されているが、これは記載ミスのため、




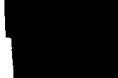
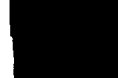

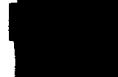

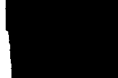

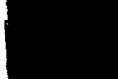

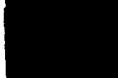
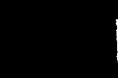
5) 被験物質は保管しない（沸点がきわめて低く、正常な保管が困難なため）

と読み替えるものとする。

試験実施施設： 株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所

2001年12月26日 作成 試験責任者

8. 試験関係者：

試験責任者			(2001年 6月29日)
試験担当者			(2001年 6月29日)
			(2001年 6月29日)
			(2001年 6月29日)
			(2001年 6月29日)
			(2001年 6月29日)
			(2001年 6月29日)
分析担当者			(2001年 6月29日)

9. 試験期間：	試験開始日	2000年11月22日
	試験終了日	2001年 6月29日
	暴露期間	2001年 4月25日～2001年 4月27日

10. 保管：

試験に関する下記の記録および試資料は、最終報告書作成後10年間、当研究所試資料保管施設に保管する。その後の保管については別途協議の上定める。

- 1) 試験計画書
- 2) 最終報告書
- 3) 生データ
- 4) 信頼性保証業務担当者の監査・査察記録
- 5) 被験物質
- 6) その他必要なもの

目 次

頁

要 旨	7
1 被験物質	9
1.1 名称, 構造式および物理化学的性状	9
1.2 供試試料	9
1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性	10
2 供試生物	10
3 試験方法	11
3.1 試験条件	11
3.2 希釈水	11
3.3 試験容器および恒温槽等	11
3.4 試験濃度の設定	12
3.5 試験液の調製	12
3.6 試験液の分析	13
3.7 試験操作	13
4 結果の算出	14
4.1 阻害濃度算出に用いる被験物質濃度の決定	14
4.2 半数遊泳阻害濃度 (EiC50) の算出	14
4.3 最大無作用濃度 (NOECi) および100%阻害最低濃度	14
5 結果および考察	15
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	15
5.2 試験液中の被験物質濃度	15
5.3 半数遊泳阻害濃度 (EiC50)	15
5.4 最大無作用濃度 (NOECi) および100%阻害最低濃度	15
5.5 試験液の水温, 溶存酸素濃度およびpH	16
Table 1~7	17~22
Figure 1	23
付属資料-1 希釈水の組成	24~25
付属資料-2 試験液の分析	26~35

要 旨

試験委託者

環境省

表 題

2-ブロモプロパンのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験

試験番号

A 0 0 0 4 6 3 - 2 G

試験方法

本試験は、OECD 化学品テストガイドライン No. 202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験および繁殖試験」(1984年)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質： 2-ブロモプロパン
- 2) 暴露方式： 半止水式 (24時間後に試験液の全量を交換)，水面をテフロンシートで被覆
- 3) 供試生物： オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間： 48時間
- 5) 試験濃度 (設定値) :
対照区, 5.00, 10.0, 24.0, 48.0, 100 mg/L
公比：約 2.1
- 6) 試験液量： 100 mL／容器
- 7) 連数： 4 容器／試験区
- 8) 供試生物数： 20頭／試験区 (5頭／容器)
- 9) 試験温度： 20±1℃
- 10) 照明： 16時間明／8時間暗
- 11) 分析法： ガスクロマトグラフィー (GC)

結 果

1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果、測定値の設定値に対する割合が、±20%を超える値があったため、結果の算出には測定値の幾何平均値を用いた。

2) 24 時間暴露後の結果

半数遊泳阻害濃度 (EiC50) : 37.5 mg/L (95%信頼区間 : 25.1~55.9 mg/L)

最大無作用濃度 (NOECi) : 25.1 mg/L

100%阻害最低濃度 : 55.9 mg/L

3) 48 時間暴露後の結果

半数遊泳阻害濃度 (EiC50) : 23.1 mg/L (95%信頼区間 : 17.4~55.9 mg/L)

最大無作用濃度 (NOECi) : 17.4 mg/L

100%阻害最低濃度 : 55.9 mg/L

1 被験物質

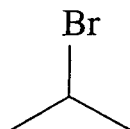
1.1 名称, 構造式および物理化学的性状

名 称: 2-ブロモプロパン (略称 2-BP)

別 名: 臭化イソプロピル

CAS No: 75-26-3

構造式:



分子式: C_3H_7Br

分子量^{*1}: 122.99

沸点^{*2}: 59.41℃

融点^{*2}: -90.0℃

水溶解度^{*2}: 0.286% (30℃)

比重^{*2}: 1.306 (20℃)

安定性^{*2}: 酸化剤, 金属粉末, アルカリ金属と接触すると激しい反応が起きることがある。

その他^{*1,2}: 刺激臭, 分解性 73~89% (by BOD),
水中での半減期 2.1days (25℃, pH 7)

*1: Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals, 3rd ed. ed. by
Verschueren, K., Von Nostrand Reinhold Company, New York (1996)

*2: 供給者提供資料

1.2 供試試料

純度^{*1}: 99.9% (GC法)

ロット番号^{*1}: 109D2157

供給者: XXXXXXXXXX

受領量^{*1}: 25g

受領日: 2000年11月14日

外観^{*1}: 無色液体

*1: 供給者提供資料

1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性

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、被験物質の特性が認められることを確認した。試験期間中、被験物質は当研究所の冷蔵庫に保管した。また、試験終了時にも赤外吸収スペクトルを測定し、試験開始時に測定したスペクトルと比較した。その結果、スペクトルに変化はなかったことより被験物質は保管中は安定であったと判断された。

2 供試生物

1) 和名： オオミジンコ

2) 学名： *Daphnia magna*

3) 入手先： 環境庁国立環境研究所（現 独立行政法人国立環境研究所）

4) 入手日： 1995 年 7 月 18 日

5) 感受性： 基準物質（重クロム酸カリウム，試薬特級）による 48 時間の半数遊泳阻害濃度（ EC_{50} ） = 0.68 mg/L（この値は当研究所における 1998 年 6 月以降の EC_{50} 値 0.57~1.02 mg/L, $n=5$ の範囲内にある。）

6) 生育段階： 雌の幼体（24 時間以内令）

7) 供試生物を得るための親ミジンコの飼育条件：

飼育水： 希釈水（3.2 参照）

飼育密度： 1 頭/80 mL 飼育水（25 頭/2 L）

水温： $20 \pm 1^\circ\text{C}$

溶存酸素濃度： 飽和濃度の 60% 以上

pH： 6.7~8.5

照明： 室内光，16 時間明（800 lux 以下）/8 時間暗

飼育期間： 2001 年 4 月 11 日~2001 年 4 月 25 日

暴露開始前 2 週間の親の死亡率： 0%

休眠卵および雄の発生： 無し

餌の種類： *Chlorella vulgaris*（単細胞緑藻類）

（生きている藻類から培養液を遠心分離し，希釈水に置換して使用）

給餌量： 0.2 mg C（有機炭素含量）/頭/日

飼育水の交換： 定期的に 3 回/週 交換

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式： 半止水式（24 時間後に試験液の全量を交換），水面をテフロンシートで被覆
- 2) 暴露期間： 48 時間
- 3) 試験液量： 100 mL／容器
- 4) 連数： 4 容器／試験区
- 5) 供試生物数： 20 頭／試験区（5 頭／容器）
- 6) 試験温度： $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 7) 溶存酸素濃度： 飽和濃度の 60%以上
- 8) pH： 試験液の pH調整は行わない
- 9) 照明： 室内光，16 時間明（800 lux 以下）／8 時間暗
- 10) 給餌： 無給餌

3.2 希釈水

OECD 化学品テストガイドライン No. 211「オオミジンコ繁殖試験」に記載してある調製水，Elendt M4 を用いた。組成を付属資料－1 に示した。

3.3 試験容器および恒温槽等

- 1) 試験容器： 100mL 容ガラスビーカー，テフロンシート製蓋
- 2) 恒温槽： 塩ビ製水槽（恒温装置，タイテック製 ケルニット CL-80F）
- 3) 水温計： 横河電機製 2455 02 型 No. 1
- 4) 溶存酸素計： 電気化学計器製 DOL-10 型 No. 2
- 5) pH計： 東亜電波工業製 HM-40V 型 No. 1

3.4 試験濃度の設定

以下の表に示す予備試験（各2連，10頭／試験区）結果に基づき，本試験濃度を次のように決定した。

本試験濃度：対照区，5.00，10.0，24.0，48.0，100 mg/L（公比：約 2.1）

予備試験結果

予試 1			予試 2		
濃度 (mg/L)	遊泳阻害率 (%)		濃度 (mg/L)	遊泳阻害率 (%)	
	24時間後	48時間後		24時間後	48時間後
対照区	0	0	対照区	0	0
1.00	0	10	2.00	0	0
10.0	0	20	5.80	0	0
100	100	100	17.0	0	0
			50.0	10	30

3.5 試験液の調製

試験液調製時の希釈水は，調製前に暴気を行い，恒温槽内で $20 \pm 1^\circ\text{C}$ とした。

被験物質をマイクロシリンジで $77 \mu\text{L}$ （100 mg）採取し，これを精製水に溶解して 100 mL に定容し，濃厚な被験物質溶液（被験物質濃度 1000 mg/L）を調製した。

500 mL のメスフラスコに希釈水を入れ，上記の濃厚な被験物質溶液を各濃度に応じて添加し，希釈水で定容して，各試験液を調製した。1 濃度につき 4 個の試験容器に各 100 mL 入れた。

対照区には，被験物質を加えない希釈水を用いた。

調製時の試験液の状態（外観）は全試験区において無色透明であった。

3.6 試験液の分析

全試験区各 1 試験容器について、暴露開始時および換水前（暴露開始24時間後）の各試験液を測定用バイアルに10 mL採取，または1 mL採取し 4℃の精製水9 mLに添加したものに，アセトン100 μ Lを添加し混合後，GCにより分析した。各試験液の被験物質濃度は，標準溶液のピーク面積との比から定量した。詳細は付属資料－2に示した。

3.7 試験操作

試験液の水溫，溶存酸素濃度，pHを測定後，ガラスピペットを用いて供試ミジンコを投入し，その時点を暴露開始時とした。ミジンコ投入の際，試験液量に対するピペット内の飼育水が全量で1%以内となるようにした。

暴露開始 24 および 48 時間後にミジンコの遊泳阻害数の観察を行った。試験容器を穏やかに動かした後，15 秒間泳げない場合は遊泳阻害されたとみなした（ただし，遊泳とは水中を泳げることを意味し，水底を這って動くものは阻害に含めた。水面で動くものについては，水滴を落とす等の操作でミジンコを強制的に水中に沈めると遊泳することもあるが，再び浮上した場合には遊泳阻害に含めた。また，正常な遊泳でない場合でも 15 秒間に 1 回でも水中を遊泳した場合は，阻害に含めなかった）。

水溫，溶存酸素濃度および pHは，暴露開始時および換水前に，全試験区各 1 試験容器の試験液について測定した。

4 結果の算出

4.1 障害濃度算出に用いる被験物質濃度の決定

試験液の分析（3.6 参照）の結果，測定値の設定値に対する割合により，障害濃度の算出に用いる被験物質濃度を，以下の表に従い決定した。

測定値の 設定値に対する割合	全ての値が±20%以内	±20%を超える値が ひとつでもある
算出に使用する濃度 (全試験区)	設定値	測定値の幾何平均値

4.2 半数遊泳障害濃度 (EiC50) の算出

24および48時間の各試験区における，ミジンコの遊泳障害数と供試個体数（20頭）から遊泳障害率（%）を求め，以下の方法で半数遊泳障害濃度 (EiC50) を決定した。

最高濃度区における障害率	≥ 50%	< 50%
EiC50算出の可否	可	不可
EiC50の決定方法	Binomial法, Moving average法, Probit法 での算出結果から適切と 判断されたものを採用。 可能な限り 95%信頼区間を算出。	> 最高濃度区 とする。
濃度－遊泳障害率曲線の 記載	記載する。	記載する。

4.3 最大無作用濃度 (NOECi) および100%障害最低濃度

ミジンコが遊泳障害を受けない最高濃度区（最大無作用濃度 (NOECi)）を24および48時間について可能な限り記録した。同様に，全てのミジンコが遊泳障害を受ける最低濃度区（100%障害最低濃度）を記録した。

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

該当する事象はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時および換水前に試験液中の被験物質濃度を測定した。その結果を Table 1 に示した。

試験液の分析 (3.6 参照) の結果、測定値の設定値に対する割合が $\pm 20\%$ を超える値があったため、以下の結果 (半数遊泳阻害濃度, 最大無作用濃度および100%阻害最低濃度) には測定値の幾何平均値を用いた。

5.3 半数遊泳阻害濃度 (EiC50)

各時間における遊泳阻害率および半数遊泳阻害濃度 (EiC50) をそれぞれ Table 2 および Table 3 に、濃度-遊泳阻害率曲線を Figure 1 に示した。

暴露終了時の対照区における遊泳阻害率は 5%, 水面に浮いたミジンコは 0%であり, 試験成立条件を満たした。

以上の結果から、以下の結論を得た。

24時間 EiC50 : 37.5 mg/L (95%信頼区間 : 25.1~55.9 mg/L)

48時間 EiC50 : 23.1 mg/L (95%信頼区間 : 17.4~55.9 mg/L)

5.4 最大無作用濃度 (NOECi) および 100%阻害最低濃度

最大無作用濃度 (NOECi) および100%阻害最低濃度を Table 4 および以下に示した。

24時間 NOECi : 25.1 mg/L

24時間 100%阻害最低濃度 : 55.9 mg/L

48時間 NOECi : 17.4 mg/L

48時間 100%阻害最低濃度 : 55.9 mg/L

5.5 試験液の水温，溶存酸素濃度およびpH

試験液の水温を Table 5，溶存酸素濃度を Table 6，pHを Table 7 に示した。

水温はすべての試験区で $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ で，溶存酸素濃度はすべての試験区で飽和溶存酸素濃度（ 20.0°C の飽和溶存酸素濃度：8.8 mg/L）の60%以上であり，いずれも試験基準を満たした。pHはミジンコの飼育環境として適正範囲（6.0～8.5）内であった。

以 上

Table 1 Measured Concentrations of the Test Substance in Test Water
(Semi-Static Conditions)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L)				Geometric Mean During 24 Hours (mg/L)
	0 Hour new	Percent of Nominal	24 Hours old	Percent of Nominal	
Control	< 0.0006	--	< 0.0006	--	--
5.00	4.82	96	3.27	65	3.97
10.0	9.19	92	6.16	62	7.52
24.0	20.8	87	14.5	60	17.4
48.0	30.7	64	20.6	43	25.1
100	66.5	67	47.0	47	55.9

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 24 hours exposure

Table 2 The Numbers of Immobile *Daphnia* (Percent Immobility)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L)	Cumulative Numbers of Immobilized <i>Daphnia</i> (Percent Immobility)	
		24 Hours	48 Hours
Control	--	1 (5)	1 (5)
5.00	3.97	0 (0)	0 (0)
10.0	7.52	0 (0)	0 (0)
24.0	17.4	0 (0)	0 (0)
48.0	25.1	0 (0)	14 (70)
100	55.9	20 (100)	20 (100)

Table 3 Calculated EiC50 Values

Exposure Period (Hours)	EiC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	37.5	25.1 ~ 55.9	Binomial
48	23.1	17.4 ~ 55.9	Binomial

Table 4 No Observed Effect Concentration (NOECi) and Lowest Concentration in 100% Immobility

Exposure Period (Hours)	No Observed Effect Concentration (NOECi) (mg/L)	Lowest Concentration in 100% Immobility (mg/L)
24	25.1	55.9
48	17.4	55.9

Table 5 Temperature

(Semi-Static Conditions)

Nominal Concentration (mg/L)	Temperature, °C	
	0 Hour New	24 Hours Old
Control	20.1	19.8
5.00	20.0	19.8
10.0	20.1	19.8
24.0	20.1	19.8
48.0	20.1	19.8
100	20.1	19.8

New: freshly prepared test solutions

Old: test solutions after 24 hours exposure

Table 6 Dissolved Oxygen Concentrations

(Semi-Static Conditions)

Nominal Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration, mg/L	
	0 Hour New	24 Hours Old
Control	8.7	8.7
5.00	8.6	8.6
10.0	8.7	8.7
24.0	8.6	8.5
48.0	8.8	8.7
100	8.6	8.7

New: freshly prepared test solutions

Old: test solutions after 24 hours exposure

Table 7 pH Values

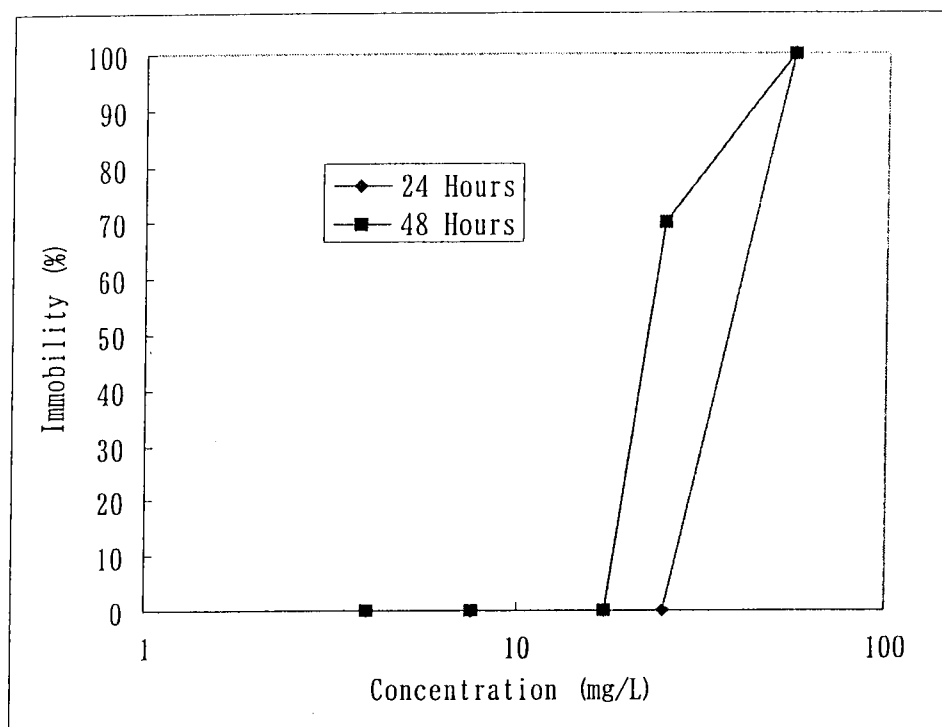
(Semi-Static Conditions)

Nominal Concentration (mg/L)	pH	
	0 Hour New	24 Hours Old
Control	8.2	8.2
5.00	8.3	8.2
10.0	8.3	8.1
24.0	8.3	7.9
48.0	8.3	7.9
100	8.3	7.4

New: freshly prepared test solutions

Old: test solutions after 24 hours exposure

Figure 1 Concentration-Response (Immobility) Curve



付属資料－ 1

希釈水の組成

Table A-1 Elendt M4 Medium Recommended by OECD Guideline No. 211

Used as Dilution Water

Macro nutrients	Concentration (mg/L)
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	293.8
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	123.3
KCl	5.80
NaHCO_3	64.8
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	10.0
NaNO_3	0.274
KH_2PO_4	0.143
K_2HPO_4	0.184

Trace elements	Concentration ($\mu\text{g/L}$)
H_3BO_3	2859.5
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	360.5
LiCl	306.0
RbCl	71.0
$\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	152.0
NaBr	16.0
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	63.0
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	16.8
ZnCl_2	13.0
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10.0
KI	3.25
Na_2SeO_3	2.19
NH_4VO_3	0.575
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2500
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	995.5

Vitamines	Concentration ($\mu\text{g/L}$)
Thiamine hydrochloride	75.0
Cyanocobalamine (B12)	1.00
Biotine	0.750

付属資料－ 2

試験液の分析

1 試験液の分析方法

- 1) 各試験液を測定用バイアルに10 mL採取，または1 mL採取し精製水9 mLに添加したものに，アセトン100 μ Lを添加し混合後，GCにより分析した。
- 2) アセトンで調製した標準溶液100 μ Lを，精製水10 mLを予め入れておいた測定用バイアルに添加し混合後，GCにより分析した。
- 3) 各試験液の被験物質濃度は，標準溶液のピーク面積との比から定量した。

2 ガスクロマトグラフィー (GC) 測定条件

(装置)

ガスクロマトグラフ質量分析計 (ヘッドスペースサンプラ付き), No. 1

ガスクロマトグラフ: Agilent (Hewlett Packard) 6890

ワークステーション: Agilentケミステーション (Windows NT)

注入口: スプリット/スプリットレス

ヘッドスペースサンプラ (HSS): Agilent 7694

質量選択検出器 (MSD): Agilent 5973N MSD (Mass Selective Detector)

(条件)

GC条件

カラム: DB-5MS, 60 m×0.25 mm (i. d.), df=1.0 μm

キャリアーガス: ヘリウム (constant flow)

流速: 1.0 mL/min

カラムオープン温度: 40 °C (5 min) → 20 °C/min → 140 °C (1 min)

注入口温度: 200 °C (Front), MSインターフェース温度; 200 °C

注入方法: Split, Split ratio=1:100

試料注入量: 3.0 mL (HSSサンプルループ容量)

HSS条件

温度条件: Oven=60 °C, Loop=120 °C, Transfer Line=200 °C

イベント時間: Vial Equilibration Time=20 min

Pressurization Time=0.2 min

Loop Fill Time=0.03 min

Loop Equilibration Time=0.2 min

Inject Time=0.2 min

バイアルパラメータ: Shake=2

MSD条件

温度条件： イオン源温度=150 ℃，四重極マス・フィルタ温度=230 ℃

SIM (Selected Ion Monitoring) 条件：

Solvent Delay=8 min

Quant ion=122, 124 m/z の TIC

Qualifier ion = non

3 検量線

被験物質の 10000 mg/L アセトン溶液を調製し，アセトンで順次希釈し，0, 10.0～1000 mg/L の標準溶液を調製した。この標準溶液を 100 μ L 採取し 10 mL の精製水に添加したものを分析サンプルとし GC で測定した。横軸に濃度を (mg/L)，縦軸にピーク面積をとり，検量線を作成した。検量線はほぼ原点を通る直線となり，最小二乗法による直線回帰式の相関係数は 1.000 と良好であった。

4 検出限界

最小検出ピーク面積を 1000 count に設定し，これに相当する試験液中の被験物質濃度 0.0006 mg/L を検出限界とした。

5 添加回収試験

分析前処理は，「1 試験液の分析方法」に示したように，試験液とアセトンを混合する操作だけであるので，添加回収試験の必要はなかった。したがって，回収率の補正は行わなかった。

Figure A-2-1 Calibration Curve

No.	Concentration (mg/L)	Peak Area (count)
1	0	0
2	10.0	176948
3	20.0	354362
4	50.0	910406
5	100	1863372
6	200	3688797
7	500	9691384
8	1000	18913706

Each acetone standard solution was added to 100-fold volume of water before injection.

$$Y = 18,985X$$

$$r = 1.000$$

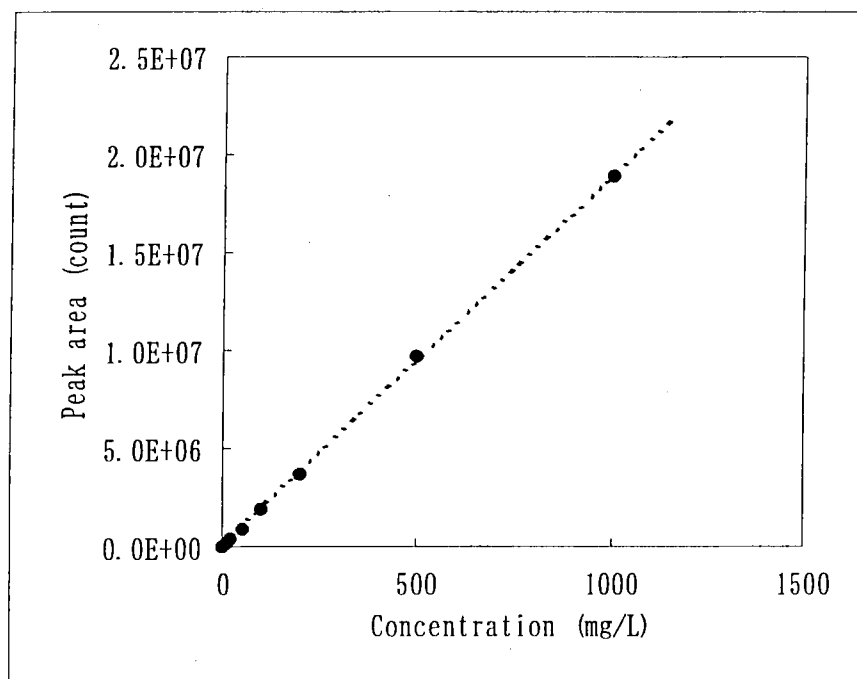
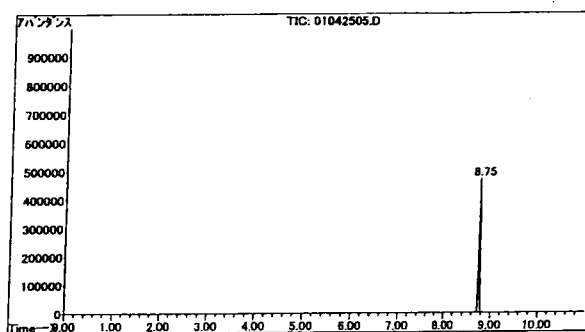


Figure A-2-2 Representative chromatograms

(1) Standard 500 mg/L ; 0 Hour

(Standard solution was added to 100-fold volume of water before injection.)

Study No. : A000463
 Date : 2001. 04. 25
 Operator :
 Sample Information: STD-5mg/L STD 500PPm } 検出 0.1.4.25
 Sample Name : STD-5ppm- STD 500ppm
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042505.D
 Acquired : 25 Apr 2001 14:00 using AcoMethod 2-BP

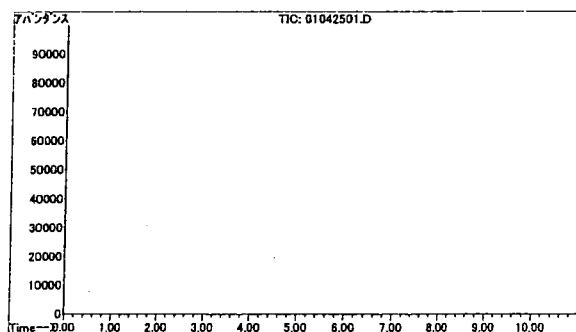


TIC: 01042505.D

ピーク	リテンションタイム	タイプ	半値幅	面積	開始時間	終了時間
1	8.755	M	0.032	9146137	8.694	8.812

(2) Control ; 0 Hour

Study No. : A000463
 Date : 2001. 04. 25
 Operator :
 Sample Information: Control
 Sample Name : C
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042501.D
 Acquired : 25 Apr 2001 15:50 using AcoMethod 2-BP



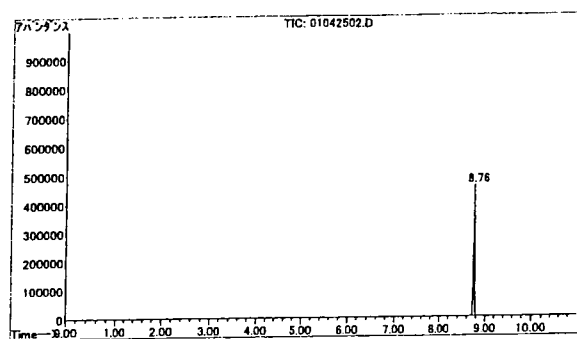
TIC: 01042501.D

加トゲラムが検分されていません

Figure A-2-2 Continued

(3) 5.00 mg/L nominal ; 0 Hour

Study No. : A000463
 Date : 2001.04.25
 Operator :
 Sample Information: C1
 Sample Name : C1
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042502.D
 Acquired : 25 Apr 2001 12:44 using AcqMethod 2-BP

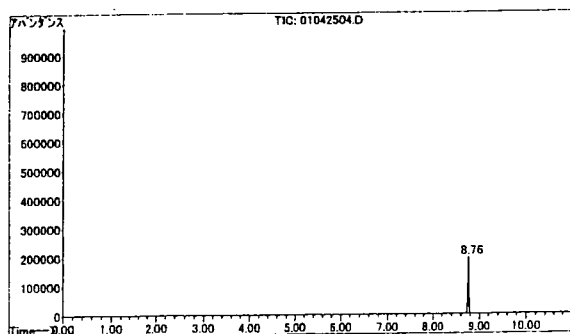


TIC: 01042502.D

ピーク#	リテンションタイム	タイプ	半値幅	面積	開始時間	終了時間
1	8.755	M	0.032	8824943	8.694	8.811

(4) 24.0 mg/L nominal ; 0 Hour

Study No. : A000463
 Date : 2001.04.25
 Operator :
 Sample Information: C3
 Sample Name : C3
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042504.D
 Acquired : 25 Apr 2001 13:35 using AcqMethod 2-BP



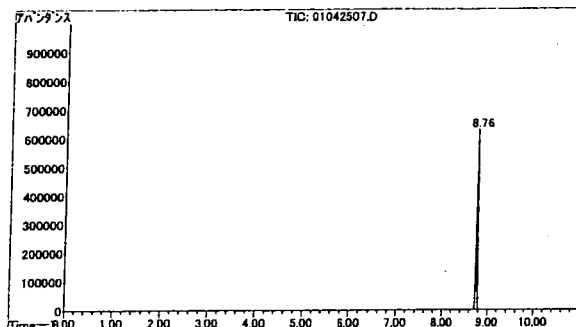
TIC: 01042504.D

ピーク#	リテンションタイム	タイプ	半値幅	面積	開始時間	終了時間
1	8.755	M	0.032	3806910	8.694	8.811

Figure A-2-2 Continued

(5) 100 mg/L nominal ; 0 Hour

Study No. : A000463
 Date : 2001. 04. 25
 Operator :
 Sample Information: C5
 Sample Name : C5
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042507.D
 Acquired : 25 Apr 2001 14:50 using AcoMethod 2-BP



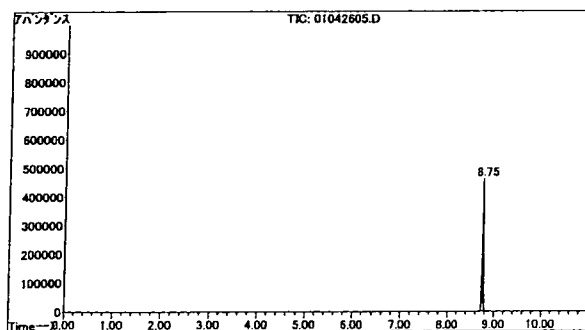
TIC: 01042507.D

ピーク	リテンションタイム	タイプ	半値幅	面積	開始時間	終了時間
1	8.755	M	0.032	12159599	8.692	8.811

(6) Standard 500 mg/L ; 24 Hours

(Standard solution was added to 100-fold volume of water before injection.)

Study No. : A000463
 Date : 2001. 04. 26
 Operator :
 Sample Information: STD-5mg/L STD 500ppm (濃度) 61.4.26
 Sample Name : STD-5mg/L STD 500ppm
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042605.D
 Acquired : 26 Apr 2001 13:40 using AcoMethod 2-BP



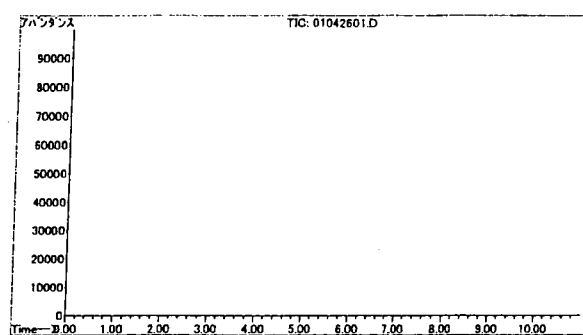
TIC: 01042605.D

ピーク	リテンションタイム	タイプ	半値幅	面積	開始時間	終了時間
1	8.755	M	0.032	8924890	8.695	8.811

Figure A-2-2 Continued

(7) Control ; 24 Hours

Study No. : A000463
 Date : 2001. 04. 26
 Operator :
 Sample Information: Control
 Sample Name : Control OLD
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042601.D
 Acquired : 26 Apr 2001 12:13 using AcqMethod 2-BP

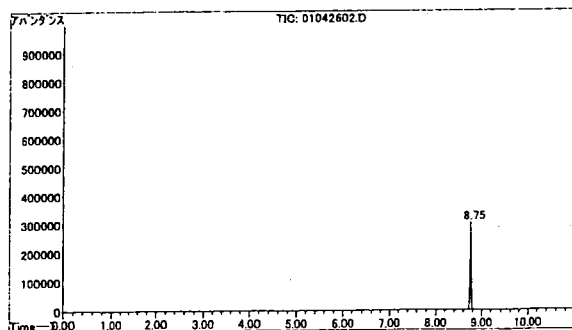


TIC: 01042601.D

クロマトグラムが積分されていません

(8) 5.00 mg/L nominal ; 24 Hours

Study No. : A000463
 Date : 2001. 04. 26
 Operator :
 Sample Information: C1
 Sample Name : C1 OLD
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042602.D
 Acquired : 26 Apr 2001 12:35 using AcqMethod 2-BP



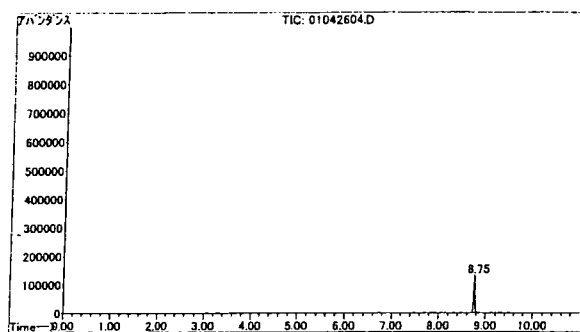
TIC: 01042602.D

ピーク#	リテンションタイム	タイプ	半値幅	面積	開始時間	終了時間
1	8.755	M	0.032	5829404	8.693	8.811

Figure A-2-2 Continued

(9) 24.0 mg/L nominal ; 24 Hours

Study No. : A000463
 Date : 2001.04.26
 Operator :
 Sample Information: C3
 Sample Name : C3 OLD
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042604.D
 Acquired : 26 Apr 2001 13:18 using AcqMethod 2-BP

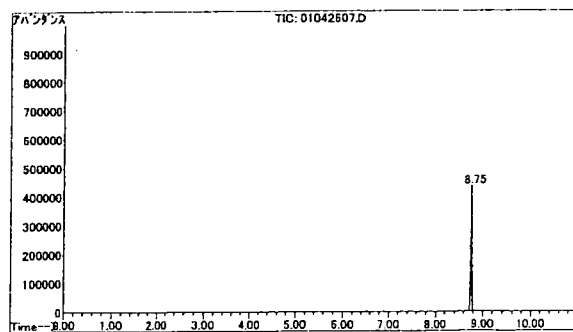


TIC: 01042604.D

ピーク	リテンションタイム	タイプ	半値幅	面積	開始時間	終了時間
1	8.754	M	0.032	2581446	8.693	8.811

(10) 100 mg/L nominal ; 24 Hours

Study No. : A000463
 Date : 2001.04.26
 Operator :
 Sample Information: C5
 Sample Name : C5
 Misc Info :
 File Name : C:\MSDCHEM\1\DATA\2-BP\01042607.D
 Acquired : 26 Apr 2001 14:23 using AcqMethod 2-BP



TIC: 01042607.D

ピーク	リテンションタイム	タイプ	半値幅	面積	開始時間	終了時間
1	8.755	M	0.032	8392562	8.694	8.811