

環境庁殿

最 終 報 告 書

1,2-ジクロロプロパンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験

(試験番号：91511)

1996年3月28日作成

財団法人 化学製品検査試験協会
化学製品安全センター 茨城県つくば市

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

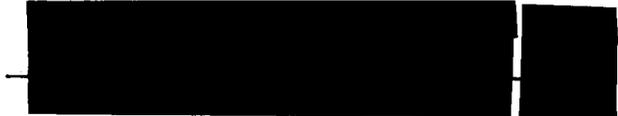
表 題： 1,2-ジクロロプロパンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する
生長阻害試験

試験番号： 91511

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藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する
 生長阻害試験

試験番号： 91511

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 (認査者)	報告日 (試験者)
試験計画書監査	1995年12月18日	1995年12月18日	1995年12月18日
試験実施状況査察	1995年12月18日	1995年12月25日	1995年12月25日
試験実施状況査察	1995年12月19日	1995年12月25日	1995年12月25日
試験実施状況査察	1995年12月22日	1995年12月25日	1995年12月25日
試験計画書の変更監査	1996年 3月13日	1996年 3月13日	1996年 3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

1,2-ジクロロプロパンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する
生長阻害試験

2. 試験目的

1,2-ジクロロプロパンについて、藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する
生長阻害試験を行い、50%生長阻害濃度 (EC50) 及び無影響濃度 (NOEC) 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.201 「藻類生長阻害試験」
(1984年) に準拠して実施した。

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]、[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18日

試験終了日

1996年3月28日

暴露期間

1995年12月19日～1995年12月22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	3
3.1 試験条件	3
3.2 培地	3
3.3 試験容器、藻類培養試験装置及び機器	4
3.4 試験濃度の設定	4
3.5 試験液の調製	4
3.6 試験液の分析	4
3.7 試験操作	5
3.8 数値の取扱い	5
4. 結果の算出	5
4.1 藻類生長曲線	5
4.2 藻類生長阻害濃度の算出	5
4.3 無影響濃度(NOEC)の算出	6
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 試験液中の被験物質濃度	7
5.3 藻類生長曲線	7
5.4 半数影響濃度 (EC50) 及び無影響濃度 (NOEC)	7
5.5 温度、pH及び照度	8
5.6 試験液の状態	8
Table 1～8	9～16
Figure 1～3	17～18
付属資料－1 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藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験試験番号

91511

試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン No.201「藻類生長阻害試験」(1984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 : *Selenastrum capricornutum* (ATCC 22662)
- 3) 初期細胞濃度 : 1×10^4 cells/mL
- 4) 暴 露 期 間 : 72時間
- 5) 培 養 方 式 : 振とう培養 (100 rpm)
- 6) 試 験 濃 度 : 300, 150, 75.0, 37.5, 18.8 mg/L及び対照区
- 7) 連 数 : 1試験区につき3連
- 8) 試 験 液 量 : 100 mL (OECD培地) / 容器×3容器 / 1試験区
- 9) 温 度 : $23 \pm 2^\circ\text{C}$
- 10) 照 明 : 13,000 lux (連続照明)
- 11) 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)
(暴露開始時、終了時)

結 果

- 1) 生長曲線下の面積の比較による生長阻害濃度
 $E_p\text{C50 (0-72h)} = 73.2 \text{ mg/L}$ (95%信頼区間 : 33.7 ~ 159 mg/L)
 無影響濃度 (NOEC) = 10.6 mg/L
- 2) 生長速度の比較による生長阻害濃度
 $E_r\text{C50 (24-48h)} = 126 \text{ mg/L}$
 無影響濃度 (NOEC) = 81.4 mg/L
 $E_r\text{C50 (24-72h)} = 140 \text{ mg/L}$
 無影響濃度 (NOEC) = 81.4 mg/L

(上記濃度は、全て暴露開始時測定値に基づく値)

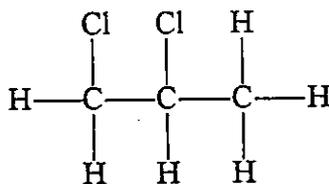
1. 被験物質

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

試験には、単細胞緑藻類である *Selenastrum capricornutum* を用いた。

本種は、American Type Culture Collection (12301 Parklawn Drive Rockville, Maryland, 20852-1776 U.S.A.) より入手した ATCC 22662株を、当研究所において無菌的に継代培養しているものである。基準物質（重クロム酸カリウム、試薬特級）の72時間 E_{630} は、0.395 mg/Lであった。

前培養

試験に供する藻類は試験条件と同じ条件で暴露開始前に3日間培養したものを使用した。

3. 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 培養方式：振とう培養 (100 rpm)
- 2) 暴露期間：72時間
- 3) 連数：1試験区につき3連
- 4) 初期細胞濃度： 1×10^4 cells/mL
- 5) 試験液量：100 mL (OECD培地) / 容器×3容器 / 1試験区
- 6) 温度： $23 \pm 2^\circ\text{C}$
- 7) 照明：13,000 lux (連続照明)

3.2 培地

前培養及び試験ともにOECD化学品テストガイドラインに示されている培地を用いた。

[Table-1 (p.9)]

3.3 試験容器、藻類培養試験装置及び機器

- 1) 試験容器： 500 mL容ガラス製三角フラスコ (密閉コック付)
- 2) 藻類培養試験装置： 温度維持及び連続振とう培養が可能で、連続照明及び一定の照度を保てる装置 (高崎科学器械) を用いた。
- 3) 光学顕微鏡： システム顕微鏡BHS (オリンパス光学工業)
- 4) pH メーター： ガラス電極式水素イオン濃度計HM-11P
- 5) コールタカウンタ： コールターカウンターZB型
- 6) 電解液： アイソトンII (コールター)
- 7) 温度計： 測温抵抗体PT100オーム (培養装置設備)

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 300 mg/Lで100%生長阻害、20 mg/Lで 0 %生長阻害と考えられたので、試験濃度は 300 mg/Lを最高濃度として濃度公比 2 で 5 濃度区 (300, 150, 75.0, 37.5 及び 18.8 mg/L) を設定した。対照には培地のみの対照区を設けた。

3.5 試験液の調製

必要量の被験物質を培地 100 mLが入った試験容器に添加 (比重(1.158)換算し、容量で添加) して調製した。各濃度区での添加量を以下に示す。また、本物質は揮発性があるため、試験液中の被験物質濃度を安定するために本試験と同様の条件下で24時間振とうしてから試験に供した。

濃度区 (mg/L)	300	150	75	37.5	18.8
100 mL当たりの添加量 (μ L)	26.0	13.0	6.5	3.2	1.6

3.6 試験液の分析

暴露開始時には試験液分析用及び水質測定用にあらかじめ別途調製した試験容器 (試験液) から一部を採取し HS-GC により分析した。終了時には各試験区の 3 容器の中層より試験液を等量採取して混合した後、遠心分離 (3,000 rpm で 10分間) をして、藻体を除去し、その上澄液を分析に供した。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-1に示した。

3.7 試験操作

前培養した藻類の細胞数を計数し、試験液中の細胞濃度が 1×10^4 cells/mL となるように、前培養液の一定量を試験液の入った容器に添加した。

各試験容器を $23 \pm 2^\circ\text{C}$ の培養装置に設置し試験を開始し、24、48 及び 72 時間に細胞濃度を測定した。細胞濃度の測定は各試験容器より試験液を少量採取し、電解液(ISOTON-II)で適宜希釈後、コールターカウンターにより計測した。

試験液調製時の pH は 3 連の他に予備 1 本について測定し各濃度区の暴露開始時の pH とし、終了時には 3 連全て測定した。暴露期間中、培養装置内の温度、照度を 1 日 1 回測定した。

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

得られたデータを基に以下の 3 項目の結果を算出した。結果の算出には暴露開始時の被験物質濃度の測定値が設定値の $\pm 20\%$ 以上であったので測定値(暴露開始時)を用いた。

4.1 藻類生長曲線

各濃度区及び対照区の細胞濃度の平均値を時間に対してプロットし生長曲線を作成した。

4.2 藻類生長阻害濃度の算出

次に下記の方法で生長阻害濃度を算出した。

1) 生長曲線下の面積の比較による生長阻害濃度(E_0C50)

生長曲線下の面積は次の式により算出した。

$$A = \frac{N_1 - N_0}{2} \times t_1 + \frac{N_1 + N_2 - 2N_0}{2} \times (t_2 - t_1) + \dots + \frac{N_{n-1} + N_n - 2N_0}{2} \times (t_n - t_{n-1})$$

ここで、

A : 生長曲線下の面積

N_0 : 暴露開始時の設定細胞濃度(cells/mL)

N_1 : t_1 時の実測細胞濃度(cells/mL)

N_n : t_n 時の実測細胞濃度(cells/mL)

t_1 : 暴露開始後最初に細胞濃度を測定した時間

t_n : 暴露開始後n回目に細胞濃度を測定した時間

生長曲線下の面積より各濃度区における生長の阻害百分率(I_A)を次の式により算出した。

$$I_A = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100$$

ここで、

A_c : 対照区の生長曲線下の面積

A_t : 各濃度区における生長曲線下の面積

各濃度区に対応する I_A 値を片対数紙にプロットし回帰直線(最小二乗法)の切片から E_bC50 (0-72) 及び可能な場合、その95%信頼区間を算出した。

2) 生長速度の比較による生長阻害濃度 ($E_T C50$)

指数増殖している培養での細胞濃度の平均値から平均の生長速度(μ)を次の式より算出した。

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_1}{t_n - t_1}$$

ここで、

N_1 : t_1 時の実測細胞濃度 (cells/mL)

N_n : t_n 時の実測細胞濃度 (cells/mL)

t_1 : 暴露開始後最初に細胞濃度を測定した時間

t_n : 暴露開始後 n 回目に細胞濃度を測定した時間

平均の生長速度(μ)より各濃度区における平均生長速度の低下百分率を次の式により算出した。

$$I_m = \frac{\mu_c - \mu_t}{\mu_c} \times 100$$

ここで、

μ_c : 対照区の平均生長速度

μ_t : 各濃度区における平均生長速度

各濃度区に対応する I_m 値を片対数紙にプロットし回帰直線(最小二乗法)の切片から $E_T C50$ (24-48)、 $E_T C50$ (24-72) 及び可能な場合、その95%信頼区間を算出した。

4.3 無影響濃度(NOEC)の算出

各試験容器毎の生長曲線下面積及び生長速度について、一元配置分散分析、Kruskal-Wallisの順位和検定及びDunnettの多重比較法により有意差の検定を行い、対照区と比較して有意差(5%水準)が認められない最高試験濃度を無影響濃度(NOEC)とした。

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

該当する要因はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時及び終了時(暴露開始後72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10.6~171 mg/L(設定値18.8~300 mg/L)であり、設定値に対する割合は48.7~63.4%であった。暴露終了時の被験物質濃度は9.96~151 mg/Lであり、設定値に対する割合は50.5~58.8%であった。暴露開始時の測定値が設定値の80%を下回ったため、結果の算出には設定濃度ではなく測定濃度(暴露開始時)を用いた。

[Table 2 (p.10), 付属資料-1]

5.3 藻類生長曲線

対照区における細胞濃度は暴露終了時まで75倍以上に増殖した。これは本試験条件下で正常な生長をしたことを示す。各濃度区の生長は対照区と比較して以下のとおりであった。300 mg/L(測定濃度171mg/L)区では暴露開始24時間からかなりの生長阻害を受け、暴露終了時までその阻害は緩和されず、わずかな生長にとどまった。150 mg/L(測定濃度81.4mg/L)区では阻害されてはいるものの対照区とほぼ同じ生長過程を示した。75.0 mg/L(測定濃度36.5mg/L)以下の濃度区では対照区とほぼ同じ生長を示した。

[Table 3 (p.11), Figure 1 (p.17)]

5.4 半数影響濃度(EC50)及び無影響濃度(NOEC)

1) 生長曲線下面積の比較による生長阻害濃度(E_bC50)

1,2-ジクロロプロパンの測定値に基づく $E_bC50(0-72h)$ は73.2mg/Lであり、その95%信頼区間は33.7 mg/L ~ 159 mg/Lであった(対数正規確率紙を用いて算出した場合、 $E_bC50(0-72h)$ は67.7 mg/Lであり、その95%信頼区間は得られなかった)。対照区と比較して有意差が認められない最高試験濃度(無影響濃度(NOEC))は10.6mg/L(測定濃度)と判定された。

[Table 4,5 (p.12,13), Figure 2(p.18)]

2) 生長速度の比較による生長阻害濃度 (E_rC50)

1,2-ジクロロプロパンの測定値に基づく E_rC50 (24-48h)、 E_rC50 (24-72h) は、それぞれ 126mg/L、140 mg/Lであり、それらの95%信頼区間は共に本試験の結果からは得られなかった(対数正規確率紙を用いて算出した場合、 E_rC50 (24-48h)、 E_rC50 (24-72h) は、それぞれ 130 mg/L、171 mg/Lであり、それらの95%信頼区間は共に得られなかった)。対照区と比較して有意差が認められない最高試験濃度(無影響濃度(NOEC))は、共に 81.4 mg/L(測定濃度)と判定された。

[Table 4,5 (p.12,13), Figure 3 (p.18)]

5.5 温度、pH及び照度

72時間の暴露期間中の藻類培養装置内の温度は 22.5~23.5 °Cであった。試験液のpHは暴露開始時が 7.73~7.78 であり、暴露終了時が 7.74~10.64 であった。72時間の暴露期間中の藻類培養装置内の照度は 13,000 luxであった。

[Table 6,7,8 (p.14~16)]

5.6 試験液の状態

調製時の試験液は無色透明であり、終了時では 300mg/L(測定濃度 171mg/L)区で無色透明であり、それ以下の濃度区では細胞増殖のため緑色を呈していた。

以上

Table 1. OECD medium

Nutrient salts	Concentration (mg/L)
H ₃ BO ₃	0.185
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.415
ZnCl ₂	0.003
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.08
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0.1
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.0015
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.007
CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.00001
CaCl ₂ ·2H ₂ O	18
NH ₄ Cl	15
KH ₂ PO ₄	1.6
NaHCO ₃	50
MgCl ₂ ·6H ₂ O	12
MgSO ₄ ·7H ₂ O	15

Table 2. Concentrations of 1,2-dichloropropne in growth inhibition test using *Selenastrum capricornutum* under static conditions

Nominal concentration (mg/L)	Observed concentration (mg/L) (Percent of nominal)		
	0-hour ^{a)}	72-hour ^{b)}	Mean ^{c)}
Control	0	0	-
18.8	10.6 (56.4)	9.96 (53.0)	10.3 (54.7)
37.5	23.8 (63.4)	20.2 (53.9)	21.9 (58.5)
75.0	36.5 (48.7)	44.1 (58.8)	40.2 (53.6)
150	81.4 (54.3)	84.3 (56.2)	82.8 (55.2)
300	171 (57.1)	151 (50.5)	161 (53.7)

a) initial

b) final

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

$$(C_0 - C_{72}) / (\ln C_0 - \ln C_{72})$$

where

C_0 : the observed concentration at 0-hour

C_{72} : the observed concentration at 72-hour

$\ln C_0$: the natural logarithm of C_0

$\ln C_{72}$: the natural logarithm of C_{72}

Table 3. Cell density of *Selenastrum capricornutum* during 72-hour exposure to 1,2-dichloropropane

Observed concentration (mg/L)	No.	Cell density ($\times 10^4$ cells/mL)			
		0-hour	24-hour	48-hour	72-hour
Control	1	1.0	6.2	33.8	79.6
	2	1.0	6.3	40.4	90.9
	3	1.0	5.9	37.5	77.7
	Average	1.0	6.2	37.3	82.7
	S.D.	0.0	0.2	3.3	7.1
10.6	1	1.0	6.0	27.5	75.4
	2	1.0	6.4	30.3	84.1
	3	1.0	6.2	35.7	78.0
	Average	1.0	6.2	31.2	79.2
	S.D.	0.0	0.2	4.2	4.5
23.8	1	1.0	5.9	28.8	80.8
	2	1.0	6.0	32.4	72.1
	3	1.0	5.9	28.6	76.4
	Average	1.0	5.9	29.9	76.4
	S.D.	0.0	0.1	2.1	4.4
36.5	1	1.0	5.8	26.6	73.0
	2	1.0	4.7	24.0	77.2
	3	1.0	5.3	27.0	81.9
	Average	1.0	5.2	25.8	77.4
	S.D.	0.0	0.5	1.6	4.4
81.4	1	1.0	2.5	19.6	55.4
	2	1.0	4.0	17.9	52.1
	3	1.0	4.5	20.3	67.2
	Average	1.0	3.7	19.3	58.2
	S.D.	0.0	1.0	1.2	7.9
171	1	1.0	2.1	3.1	4.7
	2	1.0	2.1	3.0	4.8
	3	1.0	2.2	2.9	4.0
	Average	1.0	2.1	3.0	4.5
	S.D.	0.0	0.1	0.1	0.4

Table 4. Growth inhibition of *Selenastrum capricornutum* during 72-hour exposure to 1,2-dichloropropane

Concentration (mg/L)	No.	Area	Inhibition	Rate	Inhibition	Rate	Inhibition
		A(0-72h)	I _A (0-72h)	μ(24-48h)	I _m (24-48h)	μ(24-72h)	I _m (24-72h)
Control	1	1860	-	0.0706	-	0.106	-
	2	2150	-	0.0773	-	0.111	-
	3	1920	-	0.0767	-	0.107	-
	Average	1970	-	0.0749	-	0.108	-
10.6	1	1650	16.6	0.0635	15.2	0.106	2.33
	2	1830	7.25	0.0648	13.5	0.107	0.789
	3	1880	4.67	0.0731	2.35	0.106	2.27
	Average	1790	9.50	0.0671	10.4	0.106	1.80
23.8	1	1740	11.8	0.0660	11.8	0.109	-0.884
	2	1730	12.6	0.0703	6.18	0.104	4.14
	3	1690	14.7	0.0658	12.1	0.107	1.34
	Average	1720	13.0	0.0674	10.1	0.106	1.53
36.5	1	1590	19.4	0.0637	15.0	0.106	2.14
	2	1550	21.3	0.0680	9.23	0.117	-8.00
	3	1700	14.1	0.0681	9.07	0.114	-5.74
	Average	1610	18.2	0.0666	11.1	0.112	-3.87
81.4	1	1140	42.4	0.0855	-14.2	0.129	-19.0
	2	1090	44.7	0.0620	17.3	0.106	1.55
	3	1340	32.1	0.0632	15.6	0.113	-4.54
	Average	1190	39.7	0.0702	6.25	0.116	-7.34
171	1	119	94.0	0.0167	77.8	0.0342	68.4
	2	120	93.9	0.0145	80.7	0.0335	69.0
	3	112	94.3	0.0116	84.5	0.0250	76.9
	Average	117	94.1	0.0142	81.0	0.0309	71.4

Table 5. Calculated EC50 and NOEC of 1,2-dichloropropane
in *Selenastrum capricornutum*

Based on I_A value

	1,2-Dichloropropane (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)
EbC50(0-72h)	73.2	33.7 ~ 159
NOECb(0-72h)	10.6	-

Based on I_m value

	1,2-Dichloropropane (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)
ErC50(24-48h)	126	- ~ -
NOECr(24-48h)	81.4	-
ErC50(24-72h)	140	- ~ -
NOECr(24-72h)	81.4	-

Table 6. Temperature in the incubation chamber during 72-hour exposure to 1,2-dichloropropane

Exposure time (hour)	Temperature (°C)
0	22.5
24	23.2
48	23.0
72	23.5
Average	23.1

Table 7. pH values of media at 0-hour and 72-hour exposure to 1,2-dichloropropane

Observed concentration (mg/L)	No.	pH	
		0-hour	72-hour
Control	1		10.40
	2	7.76	10.56
	3		10.59
10.6	1		10.60
	2	7.75	10.64
	3		10.62
23.8	1		10.64
	2	7.78	10.59
	3		10.61
36.5	1		10.54
	2	7.73	10.59
	3		10.57
81.4	1		10.29
	2	7.74	10.43
	3		10.47
171	1		7.88
	2	7.74	7.82
	3		7.74

Table 8. Light intensity in the incubation chamber during 72-hour exposure to 1,2-dichloropropane

Exposure time (hour)	Light intensity (lux)
0	13,000
24	13,000
48	13,000
72	13,000
Average	13,000

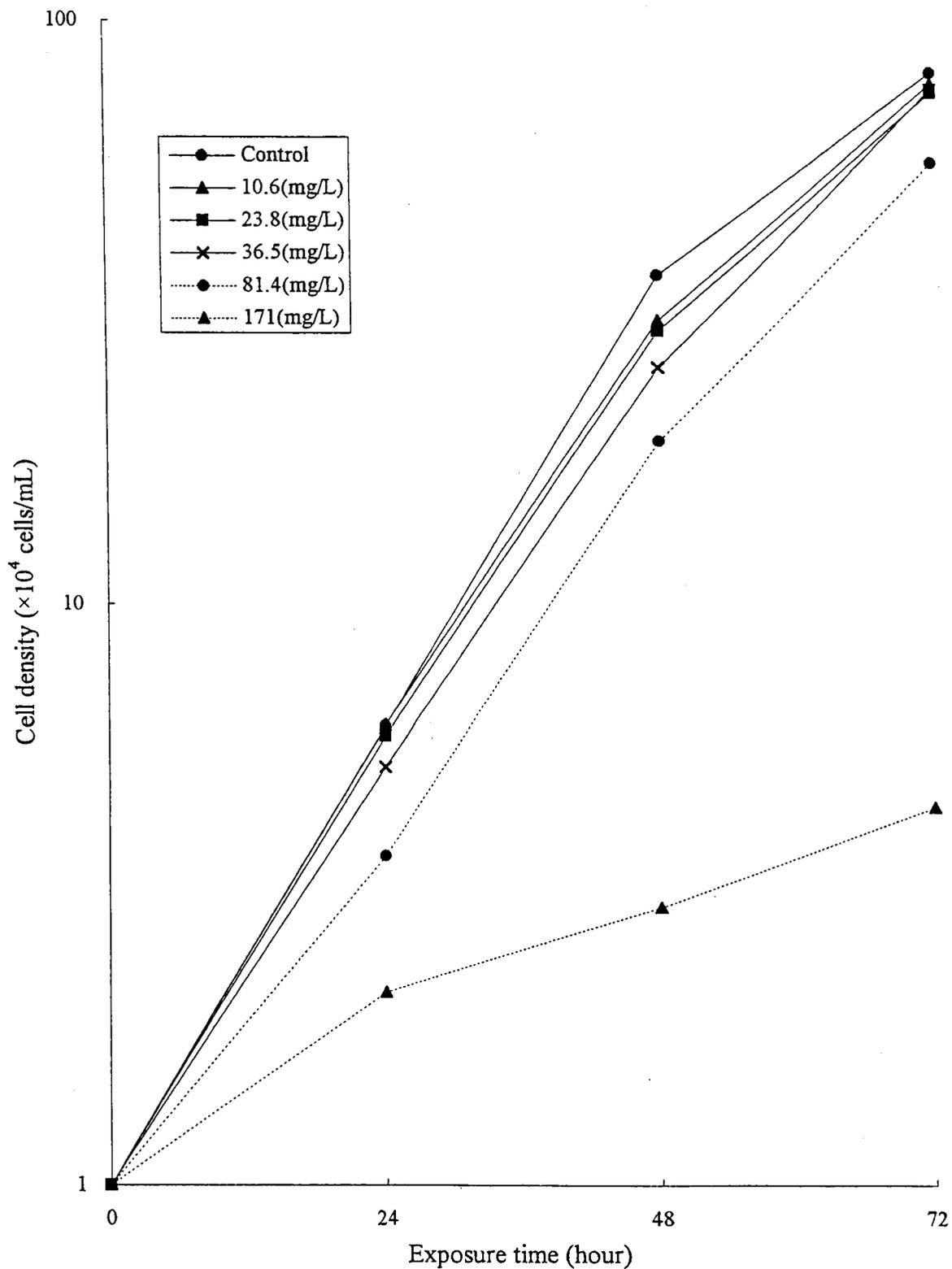


Figure 1. Growth curve of *Selenastrum capricornutum* during 72-hour exposure to 1,2-dichloropropane.

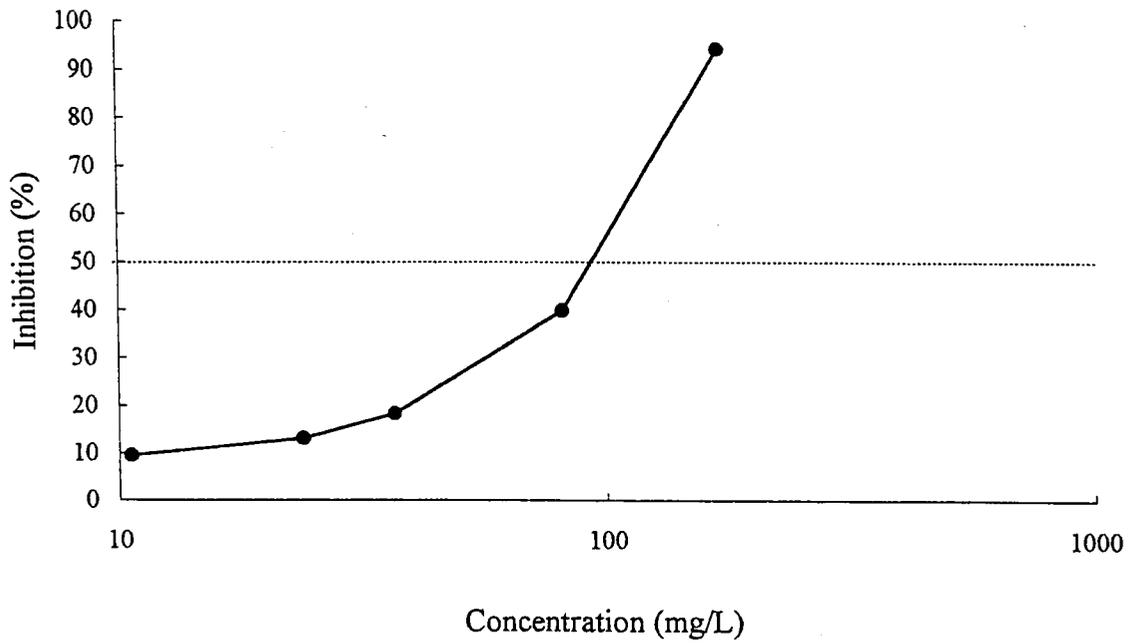


Figure 2. Concentration-inhibition curve of 1,2-dichloropropane in *Selenastrum capricornutum* based on I_A value.

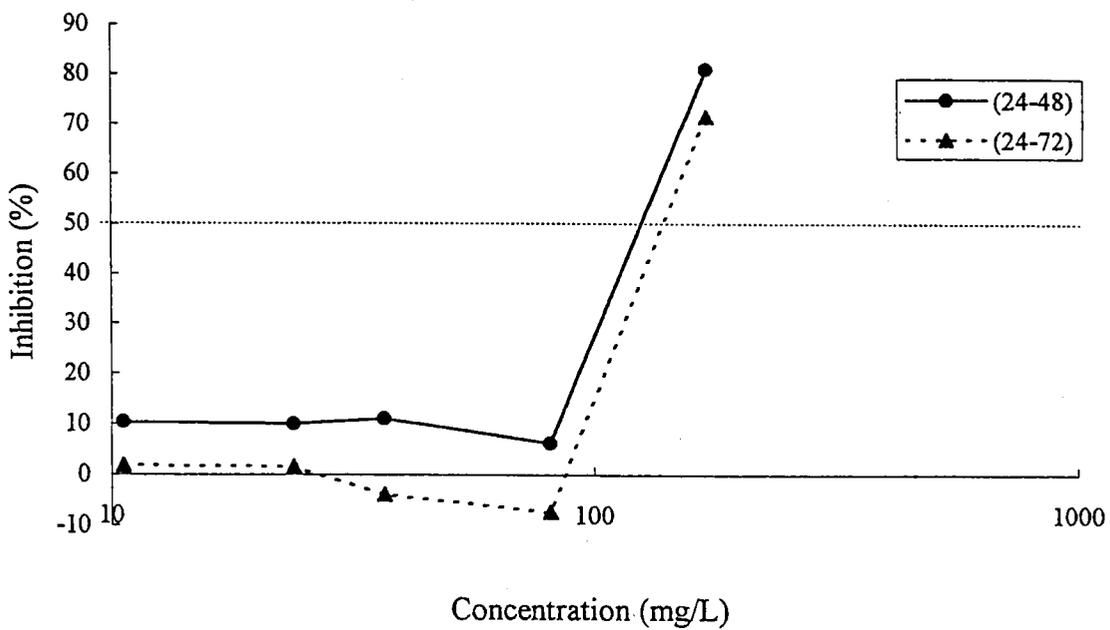


Figure 3. Concentration-inhibition curve of 1,2-dichloropropane in *Selenastrum capricornutum* based on I_m value.

付属資料－1

試験液の分析方法及び分析チャート

(全 11 頁)

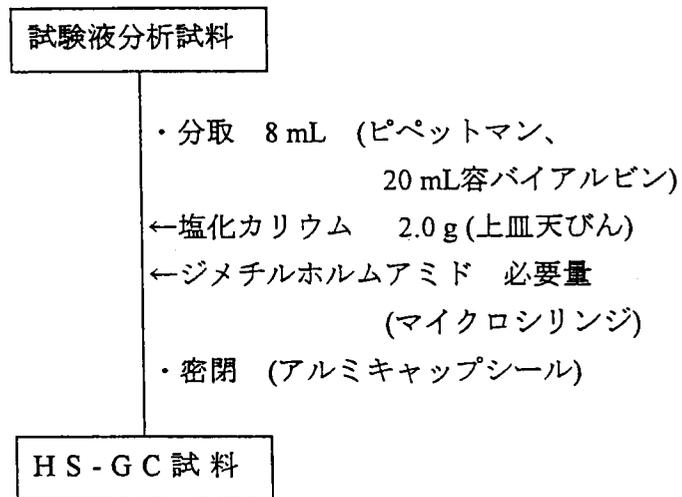
試験名 : 藻類生長阻害試験
 被験物質物質名 : 1,2-ジクロロプロパン

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 及び塩化カリウム 2.0 g を添加した。これに 1,000 mg/L の被験物質溶液を 40 μ L 添加し、ただちにアルミキャップシールを行った後、塩化カリウムを溶解し、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°C
・加 温 時 間	60分
・ニードル温度	140°C
・トランスファー温度	150°C

ガスクロマトグラフ条件

・機 器	HP5890 Series - II HEWLETT PACKARD 製
・検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
・検 出 器 温 度	250°C
・カ ラ ム	NeutraBond-1 (0.25 mmID×50 m)
・カ ラ ム 温 度	40°C (2 min) → 200°C (2 min)
・昇 温 速 度	10°C/min
・試料導入部温度	200°C
・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 75.0 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, 72-hour)
- Figure 2-5. Example of chromatogram.
(expired test solution of 75.0 mg/L as nominal concentration, 72-hour)
- Figure 2-6. Example of chromatogram.
(expired test solution of control, 72-hour)

Input data		
Run	Concentration (mg/L)	Peak area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)
1	0.20	8950
2	1.0	45511
3	5.0	210988
4	25.0	980933

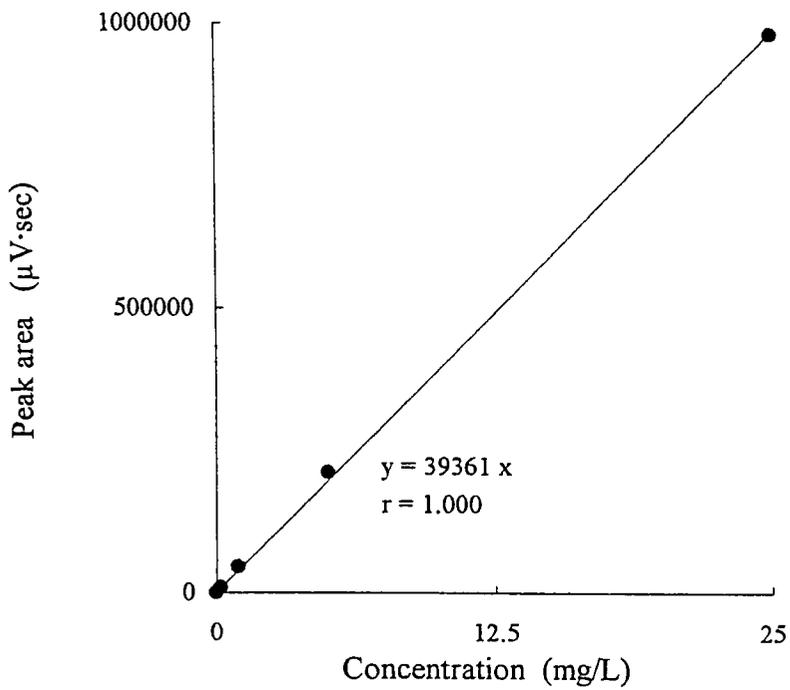


Figure 1. Calibration curve of 1,2-dichloropropane by GC analysis.

1995.10.5 [REDACTED]

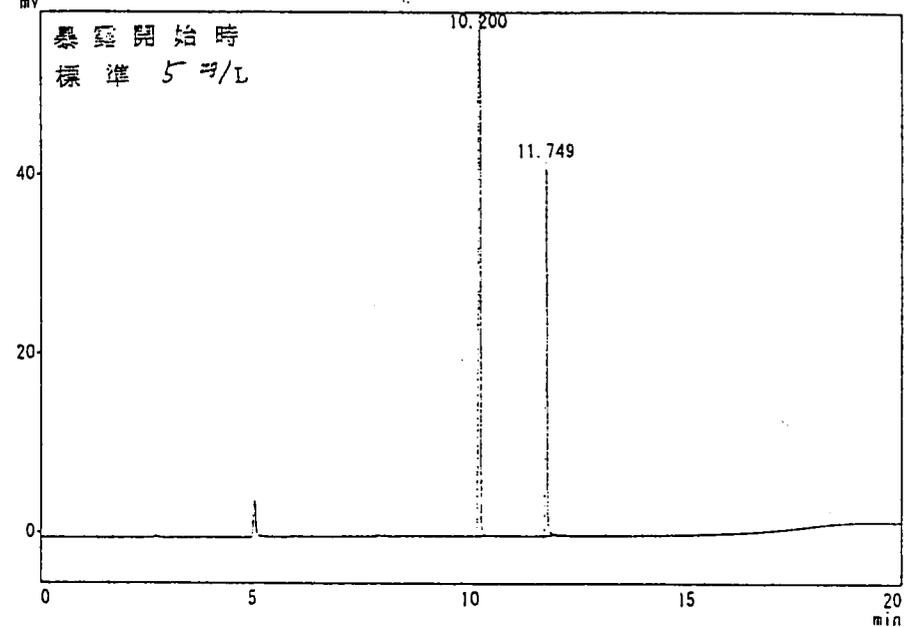
1995.12.20

(3/9)

試験番号 91511

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=132 日-時=91511HIS.D10 95/12/19 17:32:20
 サンプル : DCP/std.
 ID : 5
 サンプル量 : 100
 タイプ : 標準試料
 検出器 : WFID
 サンプル名 : [REDACTED]

*** カロリグラム *** ファイル名:91511HIS.C10

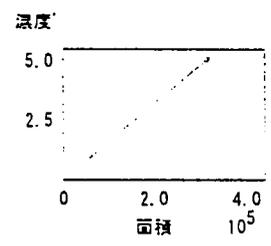


PKNO	TIME	AREA (μV·Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.200	312159	117552		1		1,2-DCPropan
2	11.749	105651	42432				

*** キャリブレーション結果 ***

IDNO	成分名	時間	濃度	F1	F2
1	1,2-DCPropan	10.21	5	1.60175e-005	
2	1,2-DCEthane	8.80	5	0	

** 検量線 **



IDNO: 1
 NAME: 1,2-DCPropan
 TIME: 10.21

濃度	面積
(1) 5	312159

RF1	RF2
(1) 1.60175e-005	0

r2 = 1

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

1995.12.20

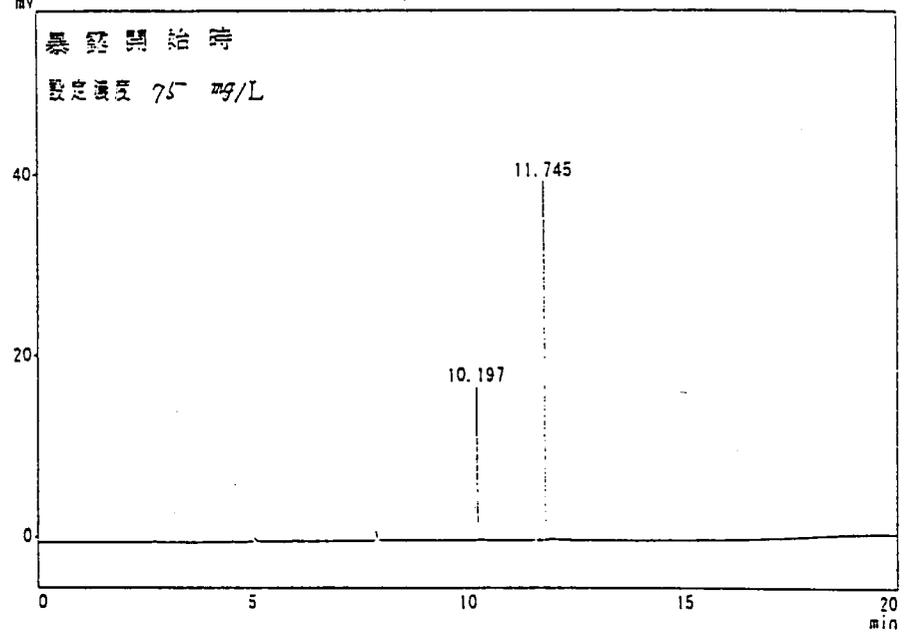
[Redacted]

(4/9)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 検体番号=135 分析日=91511H1C.D00 95/12/19 19:18:02
 サンプル : DCP/S3/Ch
 ID : 75/50
 サンプル量 : 2
 タイプ : 未知試料
 検出器 : WFLD
 サンプル名 : [Redacted]

試験番号 91511

--- カロリゲラム --- ファイル名:91511H1C.D00



--- ピークレポート ---

PKNO	TIME	AREA (μV·s)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.197	45567	17123		1	36.4937	1,2-DCPropan
2	11.745	100690	40383				
		146257	57506			36.4937	

Figure 2-2. Example of chromatogram.
 (fresh test solution of 75.0 mg/L as nominal concentration, 0-hour)

1995.12.20

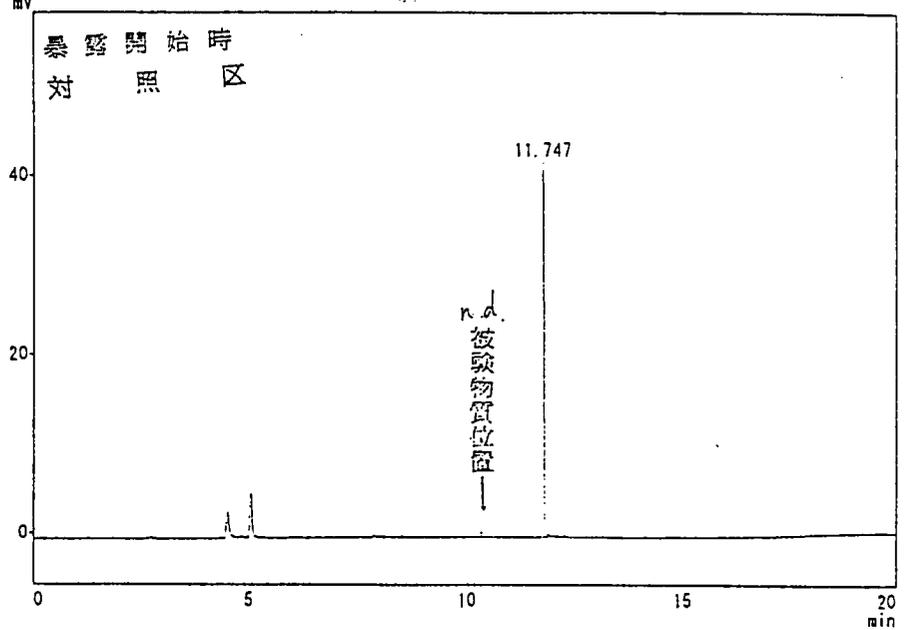
[Redacted]

(9/9)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=138 データ=91511H1Z.D00 95/12/19 21:03:44
 サンプル : DCP/S6/0h
 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]

試験番号 91511

*** カロリテラ *** ファイル名:91511H1Z.C00



*** レポート ***

PKNO	TIME	AREA (uV·Sec)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	11.747	106352	42538				
		106352	42538				

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

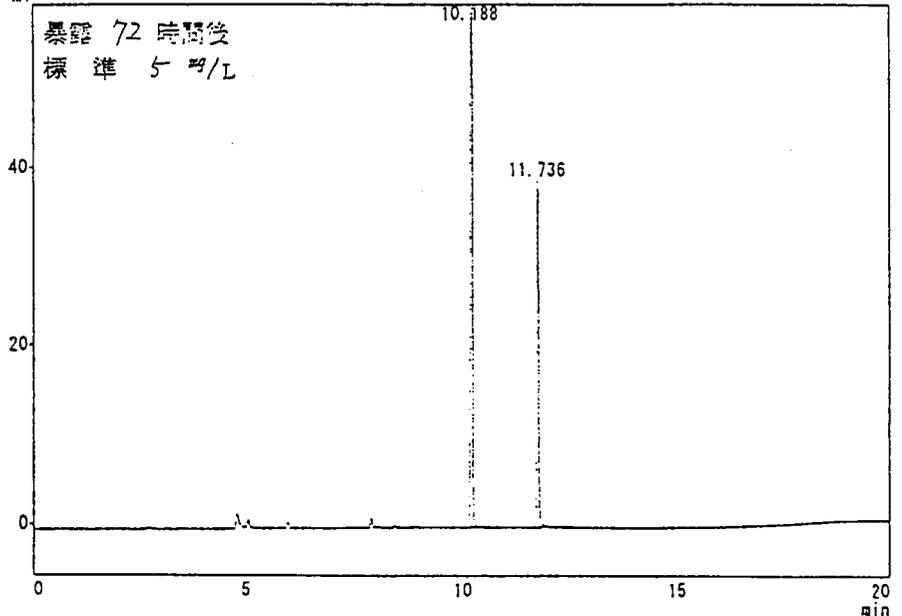
1995. 12. 25

(3/9)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=282 データ=91511H2S.001 95/12/22 19:09:52
 サンプル : DCP/std.
 ID : 5
 サンプル量 : 100
 タイプ : 標準試料
 検出器 : WFID
 サンプル名 : [REDACTED]

試験番号 91511

*** カロリゲラム *** ファイル名:91511H2S.C01

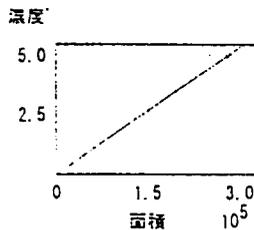


PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.188	280075	107989		1		1.2-DCPropan
2	11.736	98617	39366				
		378691	147354				

*** キャリブレーション結果 ***

IDNO	成分名	時間	濃度	F1	F2
1	1.2-DCPropan	10.20	5	1.78524e-005	
2	1.2-DCEthane	8.80	5	0	

** 検量線 **



IDNO: 1
 NAME: 1.2-DCPropan
 TIME: 10.2

濃度 面積
 (1) 5 280075

RF1 RF2
 (1) 1.78524e-005 0

r2 = 1

Figure 2-4. Example of chromatogram.
 (standard solution of 5.0 mg/L, 72-hour)

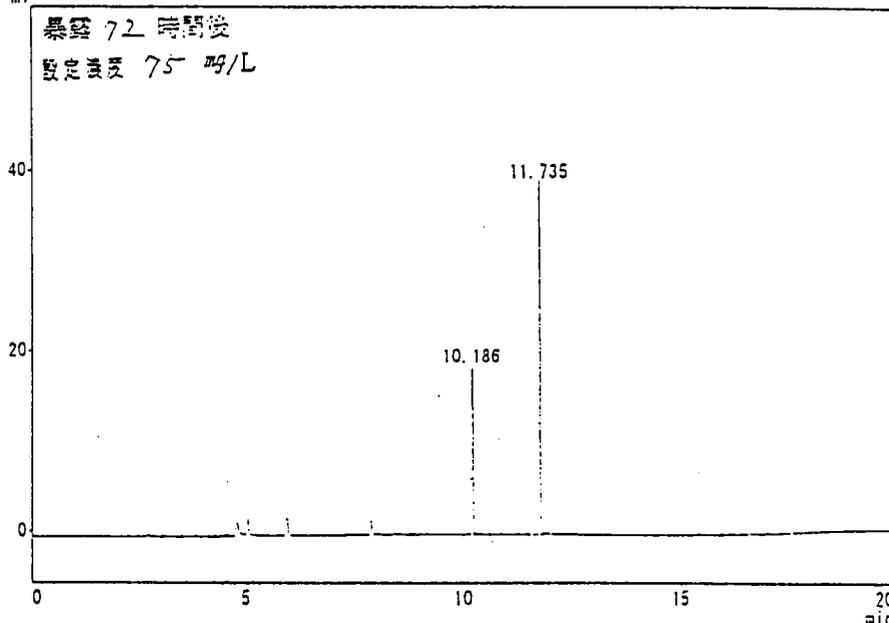
1995. 12. 25

(6/9)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 検体番号=285 分析日=91511H2C.D00 95/12/22 20:55:36
 サンプル : DCP/S3/72h
 ID : 75/50
 サンプル量 : 2
 タイプ : 未知試料
 検出器 : WFID
 分析機名 : ██████████

検出器番号 91511

*** 検出器名 *** ファイル名:91511H2C.D00
 mV



*** 検出器名 ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	10.186	49378	18745		1	44.0757	1,2-DCPropan
2	11.735	99384	39663				
		148762	58408			44.0757	

Figure 2-5. Example of chromatogram.
 (expired test solution of 75.0 mg/L as nominal concentration, 72-hour)

1995. 12. 25

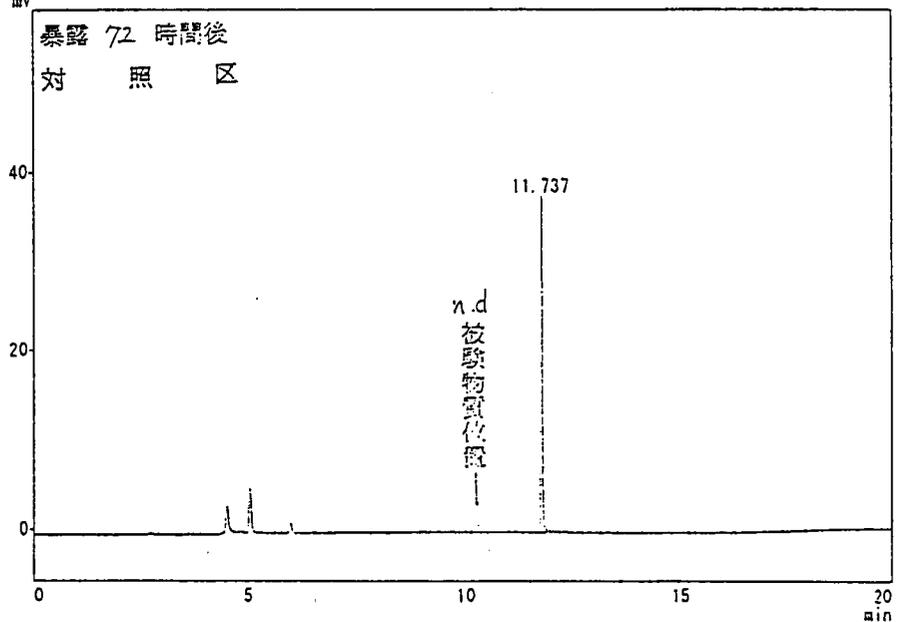


(9/9)

CLASS-GC10 システム番号=2 Ch=1 レポート番号=288 日付=91511H2Z.D10 95/12/22 22:41:18
 サンプル : DCP/S6/72h
 ID : 対照区
 サンプル量 : 100
 タイプ : 未知試料
 検出器 : WFI D
 サンプル名 : ██████████

試験番号 91511

*** プロトタイプ *** ファイル名:91511H2Z.C10



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA (a.u.)	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	11.737	95817	38030				

Figure 2-6. Example of chromatogram.
 (expired test solution of control, 72-hour)