

# 試験報告書

ペンタクロロフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

(試験番号：第09014号)

財団法人 日本食品分析センター

化学分析部

# 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 .....	6
4 結果の算出 .....	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 .....	7
5.4 半数致死濃度（LC50） .....	7
5.5 0 %死亡最高濃度及び100 %死亡最低濃度 .....	7
5.6 毒性症状 .....	7
5.7 試験水のpH，溶存酸素濃度及び水温 .....	8
Table 1～8 .....	9～15
Figure 1 .....	16
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*) に対する急性毒性試験

### 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*) に対する急性毒性試験を行い、半数致死濃度 (LC50) 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 203「魚類急性毒性試験」(1992年) に準拠した。

### 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 5 2 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 1 1 番 1 0 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 2 1 番 6 号

8. 試験関係者

試験責任者

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

生物担当責任者

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

生物系試験担当者

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

[Redacted]

( 年 月 日)

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

分析担当責任者

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

[Redacted] (1998年4月1日異動)

理化学系分析担当者

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

[Redacted]

(1998 年 6 月 1 日)

[Redacted] (1998年4月1日異動)

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 6 月 1 日

曝露期間：平成 10 年 1 月 26 日～平成 10 年 1 月 30 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*) に対する急性毒性試験

## 試験番号

第 0 9 0 1 4 号

## 試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン 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：ペンタクロロフェノール
- 2) 曝露方法：半止水式(24時間毎に全量換水)
- 3) 供 試 魚：ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 4) 水 温：24±1℃
- 5) 曝露期間：96時間
- 6) 試験水量：4 L
- 7) 連 数：1濃度区1連
- 8) 供試魚数：10尾／濃度区
- 9) 照 明：室内光，16時間明／8時間暗
- 10) 給餌方法：無給餌
- 11) エアレーション：無し
- 12) 試験濃度：対照区，助剤対照区，0.018，0.032，0.056，0.10，0.18，0.32及び0.56 mg/L濃度区
- 13) 試験水中の被験物質の分析：高速液体クロマトグラフ法(曝露開始時，換水前)

## 結 果

- 1) 96時間の半数致死濃度(LC50) = 0.19 mg/L
  - 2) 96時間の0%死亡最高濃度 = 0.10 mg/L
  - 3) 96時間の100%死亡最低濃度 = 0.32 mg/L
- (上記濃度は，1)は実測濃度，2)及び3)は設定濃度に基づく値)

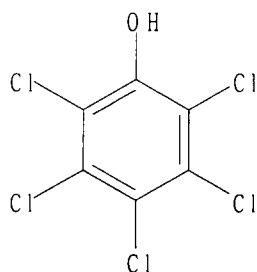
## 1 被験物質

### 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<sub>ow</sub> : 5.01

水への溶解度：80 mg/L (25 °C)，14 mg/L (20 °C)

蒸 気 圧：14.7 mPa (20 °C)

### 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  $2.0 \pm 0.5$  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: 1.9 cm (1.7~2.1 cm), n=10
- 4) 体重: 0.09 g (0.06~0.11 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時間前からは給餌をしなかった。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: 半止水式 (24時間毎に全量換水)
- 2) 水温:  $24 \pm 1$  °C
- 3) 曝露期間: 96時間
- 4) 供試魚数: 10尾/濃度区
- 5) 試験水量: 4 L
- 6) 連数: 1濃度区1連
- 7) 照明: 室内光, 16時間明/8時間暗
- 8) 給餌: 無給餌
- 9) 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。

試験に使用した希釈水のpH及び硬度はそれぞれ7.7及び56 mg/L (CaCO<sub>3</sub>換算) であった。

### 3.3 試験水槽及び恒温室等

- 1) 試験水槽：5 L容丸形ガラス製水槽
- 2) 恒 温 室：21.84R-5510（日立冷熱株式会社）
- 3) 温 度 計：AP-210（安立計器株式会社）
- 4) p H 計：HM-11P及び14P（東亜電波工業株式会社）
- 5) 溶存酸素計：D0-14P（東亜電波工業株式会社）
- 6) 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

本試験の実施に先立ち、公比10で0.01, 0.1及び1.0 mg/Lの濃度区を設定し、予備試験を行い、本試験の濃度段階を決定した。

本試験は公比1.8, 試験濃度0.018, 0.032, 0.056, 0.10, 0.18, 0.32及び0.56 mg/Lの濃度区で試験を行った。

### 3.5 試験水の調製

被験物質は溶解助剤（ジメチルスルホキシド及びポリオキシエチレンソルビット脂肪酸エステル）を用いて水に溶解させ、被験物質原液及び溶液を調製し、希釈水に添加し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濃度区の最高添加濃度（5.6 mg/L）とし、対照区は希釈水のみとした。

### 3.6 試験水の分析

曝露開始時及び24時間後に各試験水槽より試験水を100 mL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濃度区当り10尾投入した。24時間毎に供試魚を新しい試験水に移しかえ、96時間曝露した。また、換水前後及び終了時にpH, D0及び水温を測定した。

曝露開始より24, 48, 72及び96時間後に死亡数\* 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：異常呼吸, 異常遊泳及び遊泳不能等）を記録した。また、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いた。

\*：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

各濃度区での死亡数と供試魚数から死亡率を算出し、24、48、72及び96時間のLC50値はBinominal法で算出した。なお、95 %信頼限界は算出できなかった。

#### 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

曝露開始時及び24時間後に試験水中の被験物質の濃度を測定した。

曝露開始時の濃度は0.0176～0.549 mg/L（設定濃度0.018～0.56 mg/L）であり、試験開始後24時間の濃度は0.0130～0.535 mg/L（設定濃度0.018～0.56 mg/L）であった。

設定値に対する割合は72～102%であった。

[Table 1 (p. 9) , 付属資料－2]

##### 5.3 死亡数及び死亡率

被験物質に96時間曝露したヒメダカの死亡数及び死亡率は0.32及び0.56 mg/L濃度区（以下設定濃度）において10尾（100 %）, 0.018, 0.032, 0.056及び0.10 mg/L 濃度区では0尾（0%）であった。

なお、助剤対照区及び対照区はそれぞれ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. 10) ]

##### 5.4 半数致死濃度（LC50）

被験物質の実測濃度に基づく96時間LC50値は0.19 mg/Lであった。

[Table 3 (p. 11) ]

##### 5.5 0 %死亡最高濃度及び100 %死亡最低濃度

被験物質の設定濃度に基づく96時間曝露したヒメダカの0 %死亡最高濃度は0.10 mg/Lであり、100 %死亡最低濃度は0.32 mg/Lであった。

[Table 4 (p. 11) ]

##### 5.6 毒性症状

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、被験物質に曝露期間中の毒性症状として、ヒメダカに平衡の喪失（横転）、不活発及び水面浮上の異常が観察された。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。

[Table 5 (p. 12) ]

#### 5.7 試験水のpH，溶存酸素濃度及び水温

曝露期間中の各濃度区のpHは7.2～8.0，溶存酸素濃度は6.0～8.8 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，水温は23.8～24.4 ℃であった。

[Table 6～8 (p.13～15) ]

以 上

Table 1. Measured Concentrations of Pentachlorophenol ; Orange killifish  
(*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 96-hour under  
Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L)			Percent of Nominal
	0 hour new	24 hours old	Time-weighted Mean	
Control	< 0.0001	< 0.0001	---	---
Solvent Control	< 0.0001	< 0.0001	---	---
0.018	0.0176	0.0130	0.0152	84
0.032	0.0314	0.0241	0.0276	86
0.056	0.0549	0.0422	0.0483	86
0.10	0.0992	0.0794	0.0889	89
0.18	0.183	0.149	0.165	92
0.32	0.327	0.289	0.308	96
0.56	0.549	0.535	0.542	97

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours exposure period

Table 2. Mortality ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 96-hour under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Cumulative Number of Dead (Percent Mortality)			
	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
Control	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
Solvent Control	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
0.018	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
0.032	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
0.056	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
0.10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
0.18	0 ( 0)	2 ( 20)	2 ( 20)	3 ( 30)
0.32	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)
0.56	10 (100)	10 (100)	10 (100)	10 (100)

Table 3. Calculated LC50 Values (Based on Measured Concentrations) ;  
Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol  
for a 96-hour under Semi-Static Test Conditions

Exposure Period (hours)	LC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	0.23	not calculated	Binominal
48	0.20	not calculated	Binominal
72	0.20	not calculated	Binominal
96	0.19	not calculated	Binominal

Table 4. Observation of Highest Concentration in 0% Mortality and Lowest  
Concentration in 100% Mortality Values (Based on Nominal  
Concentrations) ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to  
Pentachlorophenol for a 96-hour under Semi-Static Test Conditions

Exposure Period (hours)	Highest Concentration in 0% Mortality (mg/L)	Lowest Concentration in 100% Mortality (mg/L)
24	0.18	0.32
48	0.10	0.32
72	0.10	0.32
96	0.10	0.32

Table 5. Observed Symptoms ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 96-hour under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Symptoms			
	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
Control	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.
0.018	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
0.032	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
0.056	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.
0.10	n. a. d.	n. a. d.	n. a. d.	le.
0.18	n. a. d.	le.	le.	le., s. s.
0.32	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>
0.56	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>

n. a. d. : No abnormalities are detected

le. : lethargy

s. s. : surface slicks

<sup>a</sup> : No observation was made because all Orange killifish were dead at this period.

Table 6. pH Values ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 96-hour under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)		pH				
		0 hour	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
Control	new	7.9	7.7	7.8	7.7	---
	old	---	7.5	7.5	7.6	7.6
Solvent Control	new	7.9	7.7	7.7	7.7	---
	old	---	7.5	7.5	7.5	7.5
0.018	new	7.4	7.8	7.9	7.7	---
	old	---	7.3	7.2	7.3	7.3
0.032	new	7.5	7.9	7.9	7.8	---
	old	---	7.4	7.3	7.3	7.3
0.056	new	7.5	7.9	7.9	7.9	---
	old	---	7.4	7.4	7.4	7.3
0.10	new	7.5	7.8	7.9	7.9	---
	old	---	7.4	7.4	7.4	7.4
0.18	new	7.6	7.8	8.0	7.8	---
	old	---	7.3	7.3	7.3	7.3
0.32	new	7.6	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---
	old	---	7.4	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>
0.56	new	7.6	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---
	old	---	7.3	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours exposure period

<sup>a</sup> : No measurement was made because all Orange killifish were dead at this period.

Table 7. Dissolved Oxygen Concentrations ; Orange killifish (*Oryzias latipes*)  
was Exposed to Pentachlorophenol for a 96-hour under Semi-Static Test  
Conditions

Nominal Concentration		Dissolved Oxygen Concentrations (mg/L)				
(mg/L)		0 hour	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
Control	new	8.8	8.6	8.6	8.5	---
	old	---	7.2	7.7	7.4	7.5
Solvent	new	8.6	8.5	8.6	8.3	---
Control	old	---	7.0	7.4	7.1	7.1
0.018	new	8.8	8.6	8.4	8.4	---
	old	---	7.2	6.0	6.9	6.8
0.032	new	8.8	8.5	8.4	8.4	---
	old	---	7.2	6.3	7.1	7.1
0.056	new	8.8	8.5	8.4	8.4	---
	old	---	7.3	6.7	7.1	7.0
0.10	new	8.8	8.5	8.4	8.4	---
	old	---	7.3	6.9	7.1	6.9
0.18	new	8.8	8.4	8.3	8.4	---
	old	---	7.0	6.4	7.0	7.1
0.32	new	8.8	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---
	old	---	7.3	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>
0.56	new	8.7	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---
	old	---	8.1	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours exposure period

<sup>a</sup> : No measurement was made because all Orange killifish were dead at this period.



Table 8. Temperature Values ; Orange killifish (*Oryzias latipes*) was Exposed to Pentachlorophenol for a 96-hour under Semi-Static Test Conditions

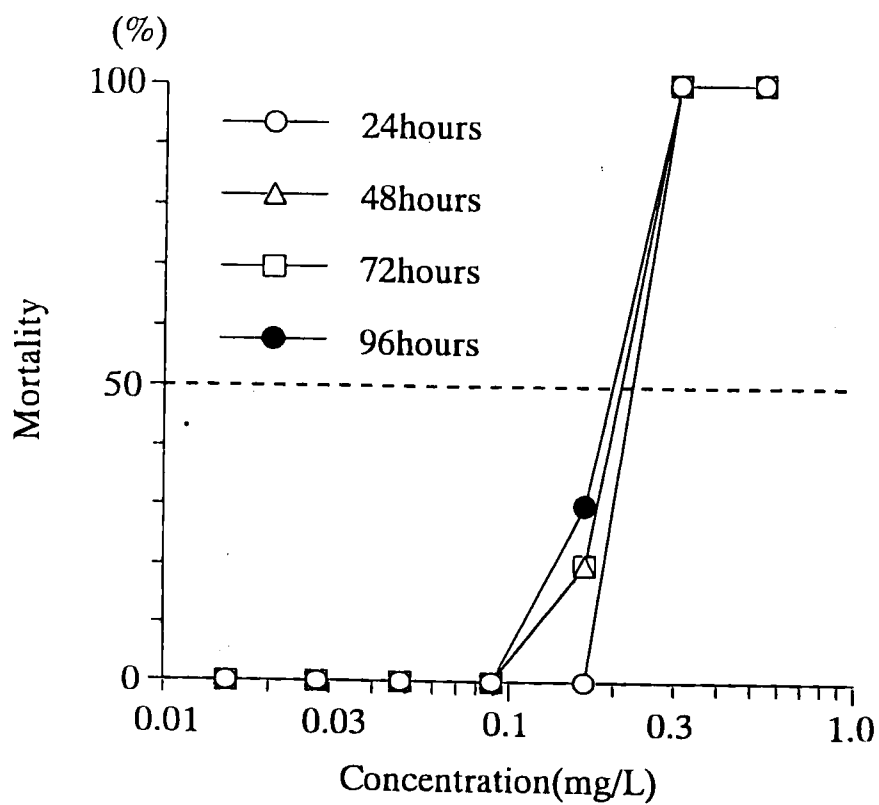
Nominal Concentration (mg/L)		Temperature (°C)				
		0 hour	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
Control	new	23.9	24.3	24.4	24.0	---
	old	---	24.2	23.9	24.1	24.0
Solvent	new	24.1	24.3	24.4	23.9	---
	old	---	24.3	23.9	24.0	24.0
0.018	new	24.2	24.3	24.4	24.2	---
	old	---	23.9	23.9	23.8	23.8
0.032	new	24.3	24.4	24.3	24.3	---
	old	---	23.9	23.9	23.8	23.8
0.056	new	24.3	24.3	24.3	24.4	---
	old	---	23.9	23.9	23.8	23.8
0.10	new	24.3	24.2	24.3	24.4	---
	old	---	23.8	24.0	23.8	23.8
0.18	new	24.2	24.2	24.3	24.3	---
	old	---	23.8	23.9	23.8	23.8
0.32	new	24.3	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---
	old	---	23.8	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>
0.56	new	24.4	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---
	old	---	24.1	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>	---- <sup>a</sup>

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours exposure period

<sup>a</sup> : No measurement was made because all Orange killifish were dead at this period.

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



## 付属資料－ 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 <sub>3</sub> )	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 $\mu$ S /cm
Alkalinity (as CaCO <sub>3</sub> )	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 一 2

試験水の分析方法  
(全 11 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) 0.018mg/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) 0.032mg/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 2.5ml に溶解し，これを試料溶液とした。

##### d) 0.056mg/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 5ml に溶解し，これを試料溶液とした。

##### e) 0.10mg/L，0.18mg/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) 0.32mg/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 25ml に溶解し，これを試料溶液とした。

g) 0.56mg/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 2.5ml に溶解し，メタノールで 20 倍に希釈し，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  $\mu$ g/ml の標準溶液を調製した。

③定量

試料溶液 20  $\mu$ l 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  $\phi$ 4.6mm×15cm, 孔径 5 $\mu$ m

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 $\mu$ l

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 $\mu$ l 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 95.4%，96.8%，97.4%（平均 96.5%）であった。

### ②高濃度添加

飼育水に濃度が 0.8mg/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 91.1%，96.1%，94.4%（平均 93.9%）であった。

Figure 1 Calibration Curve of PCP by HPLC Analysis

Amount (ng)	Peak Height ( $\mu$ Abs)
20	36551
10	18218
1	1770

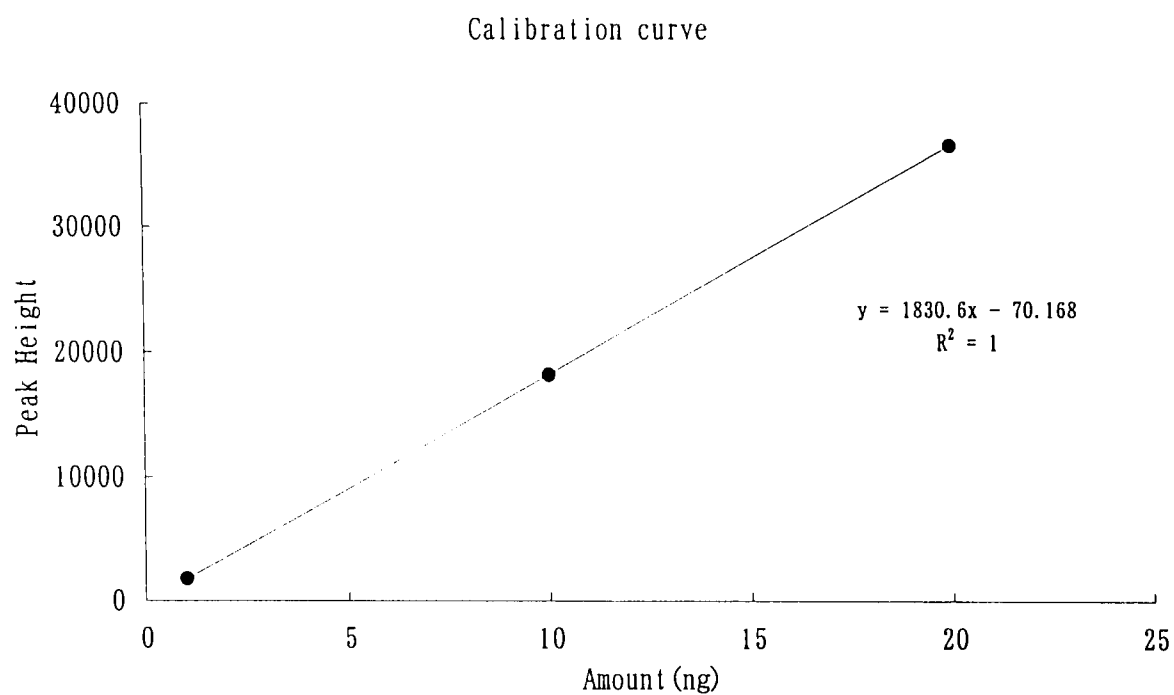
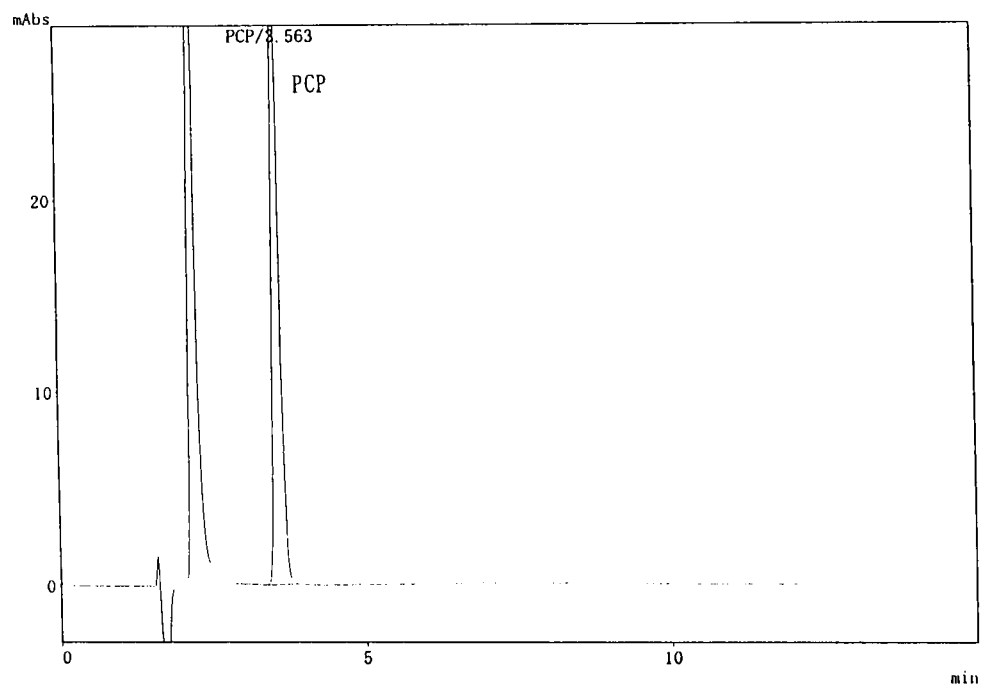


Figure 2 Representative Chromatogram

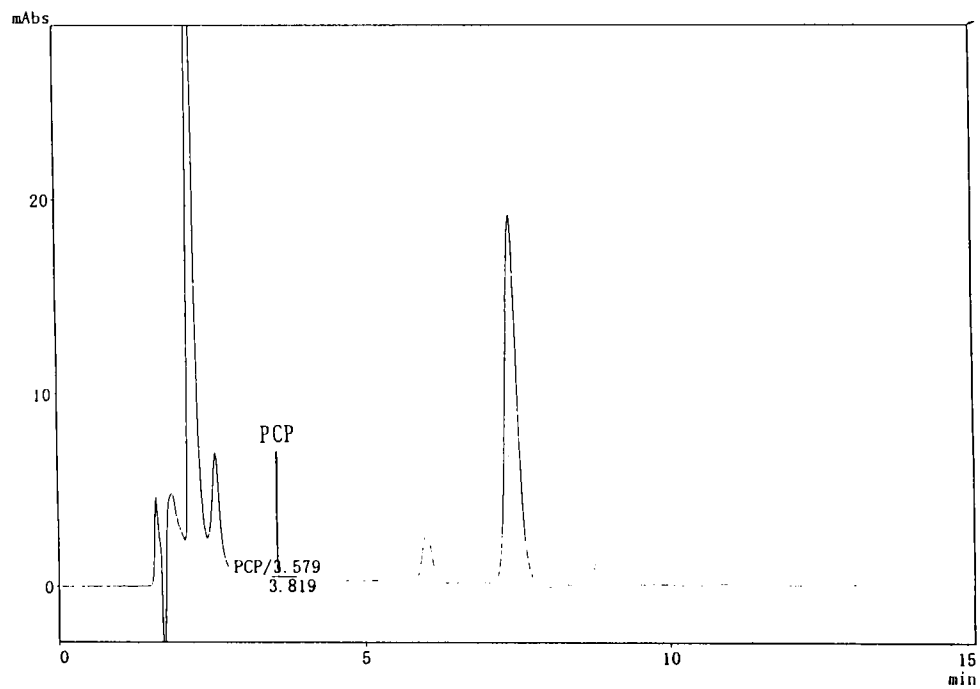
Standard(20ng) : 0hour



\*\*\* ピークレポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.563	272199	36551	

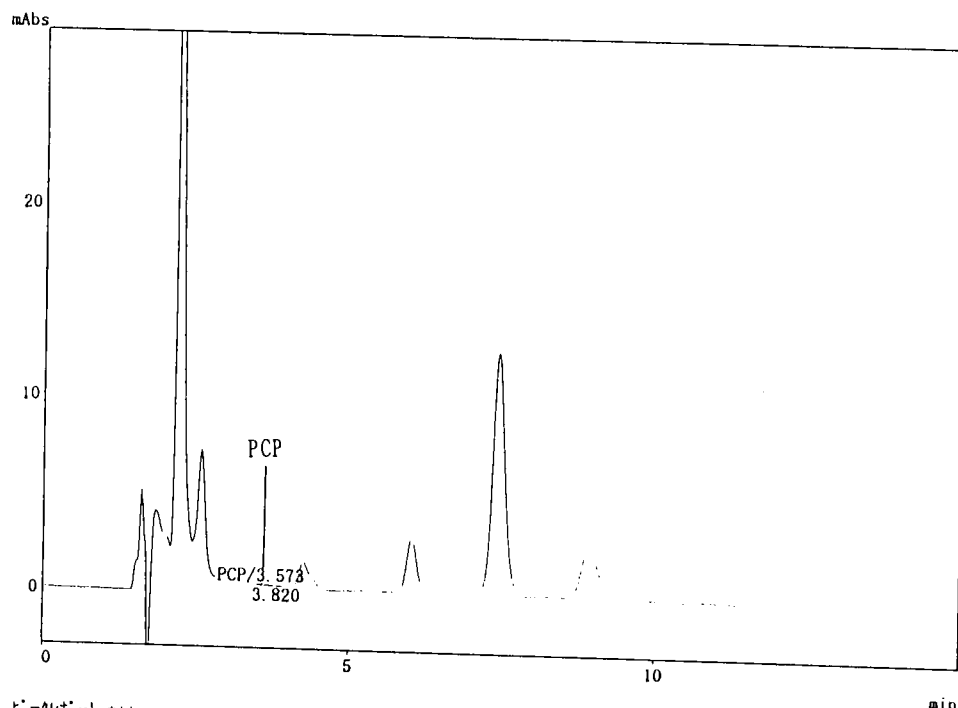
Control : 0hour



\*\*\* ピークレポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.579	424	71	

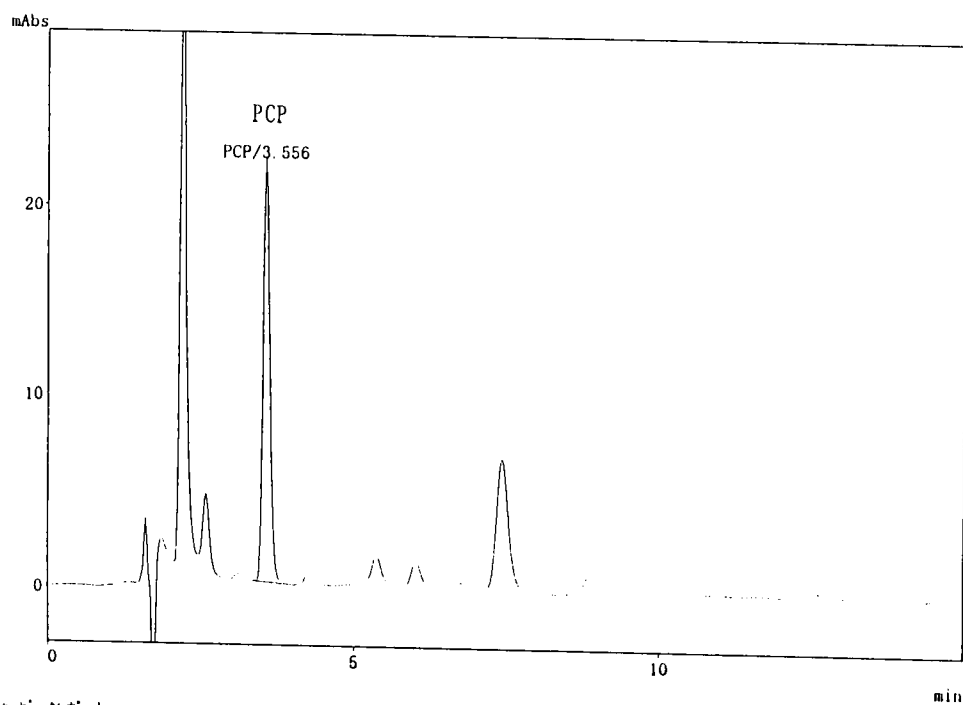
Solvent control : 0hour



\*\*\* ピークレポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.573	527	66	

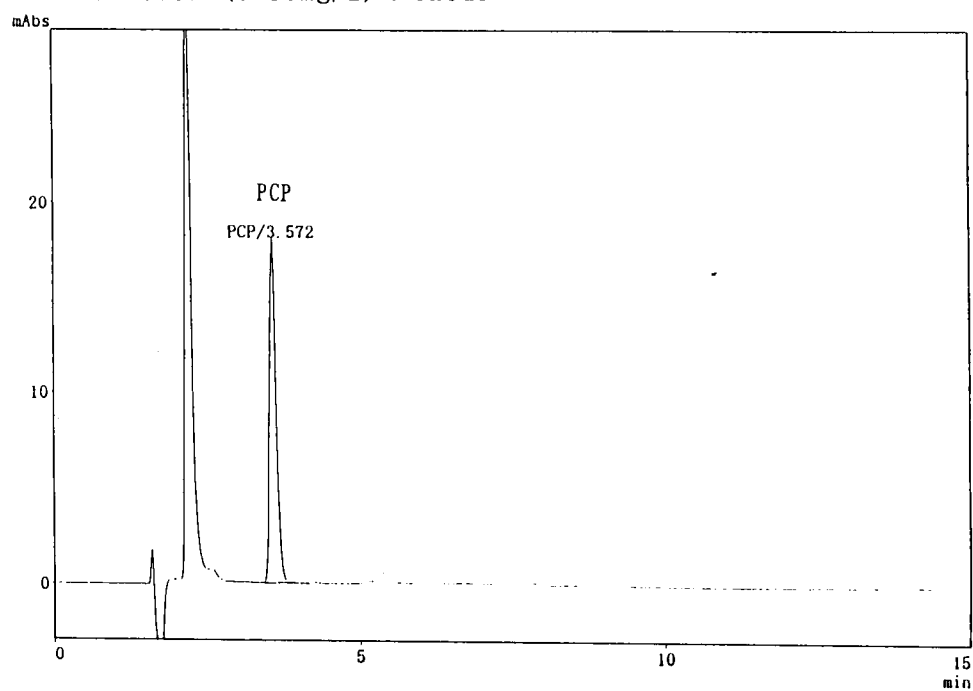
Test solution (0.018mg/L) : 0hour



\*\*\* ピークレポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.556	169849	22210	

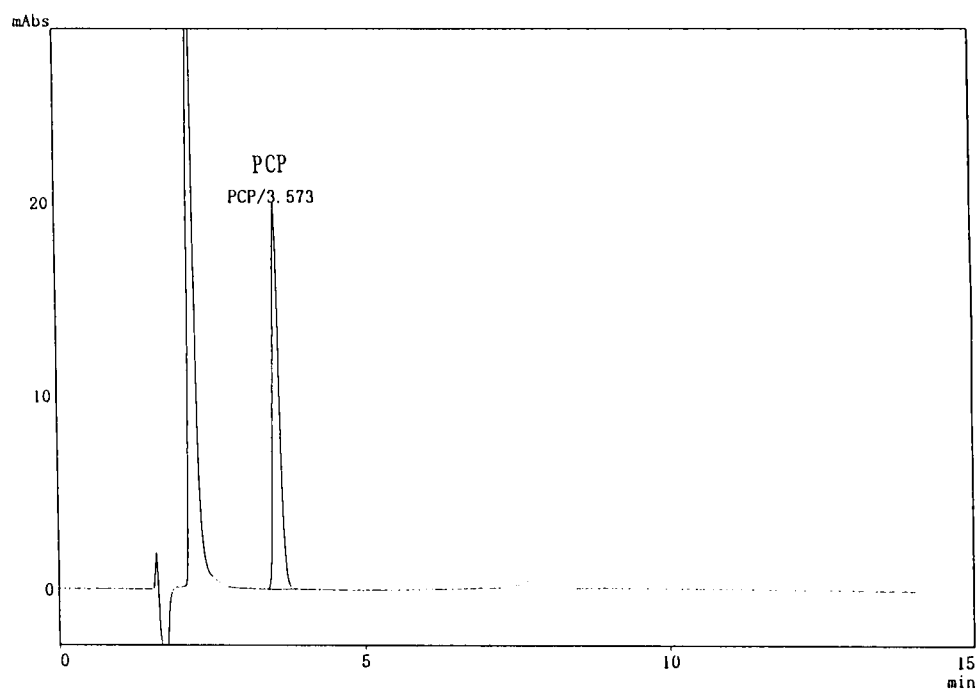
Test solution (0.10mg/L) : 0hour



\*\*\* ピークレポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.572	135360	<u>18087</u>	

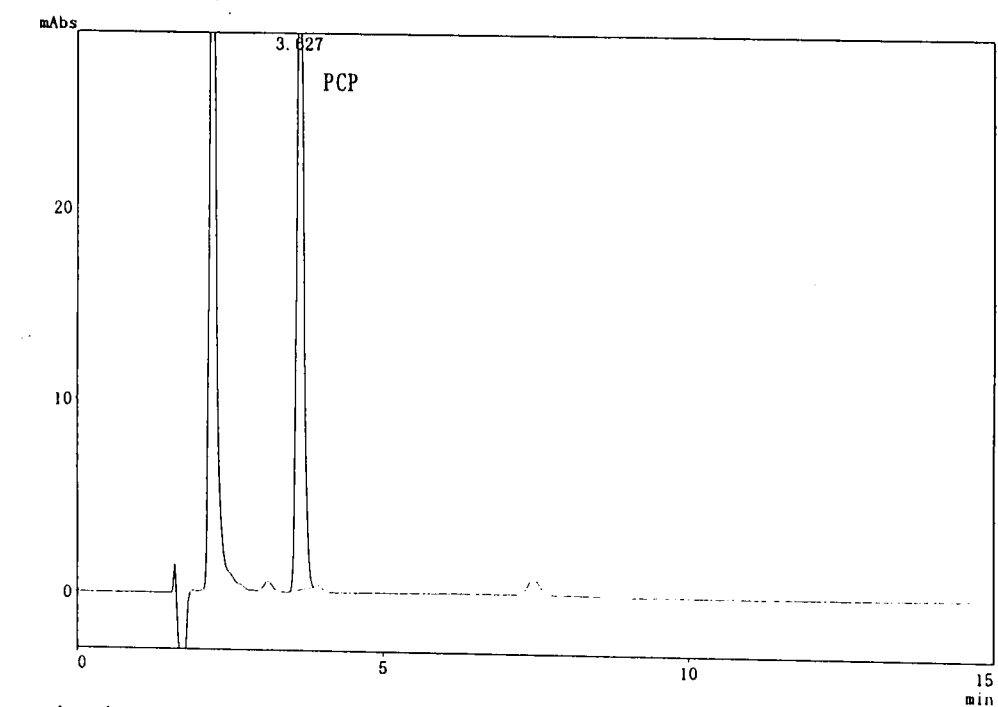
Test solution (0.56mg/L) : 0hour



\*\*\* ピークレポート \*\*\*

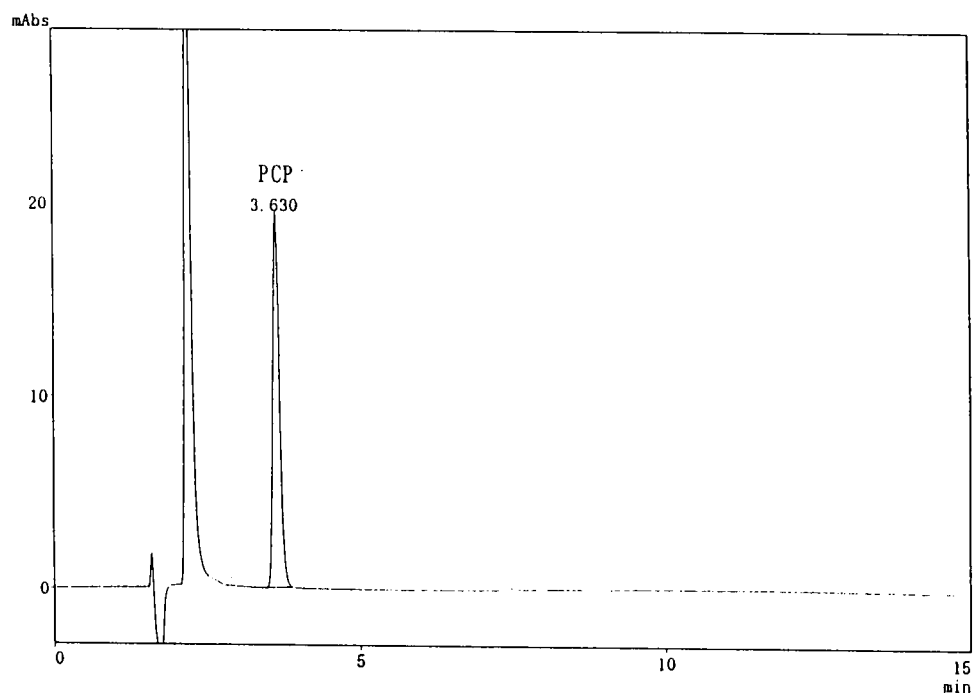
PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.573	150203	<u>20024</u>	

Standard (20ng) : 8hours



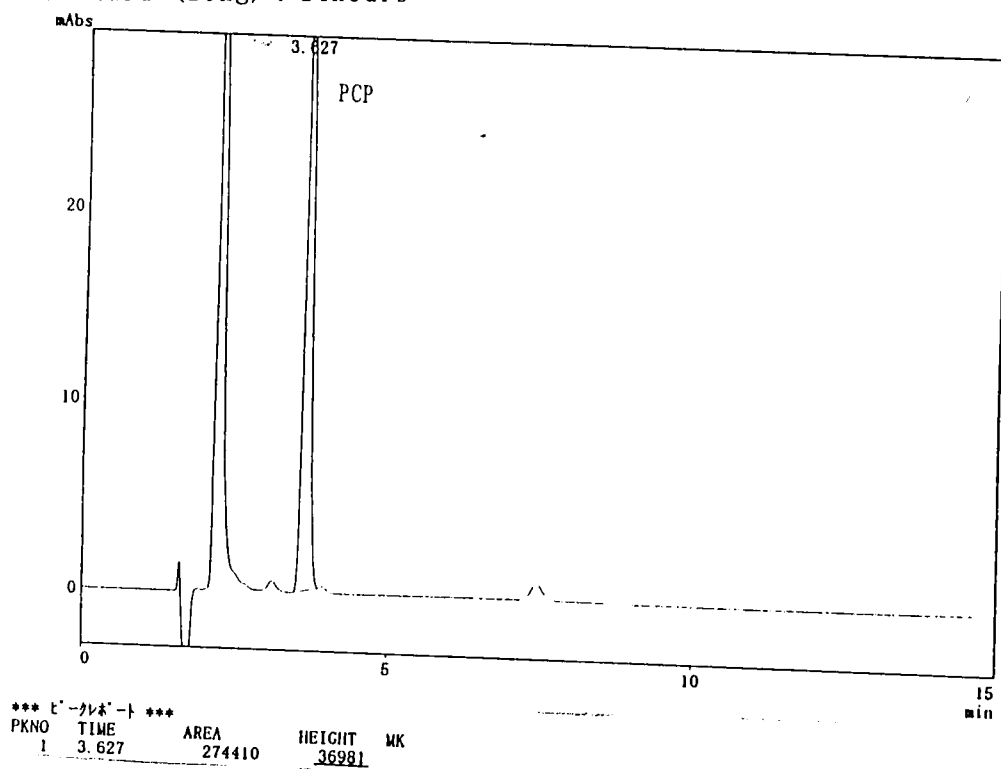
\*\*\* ピークレポート \*\*\*  
 PKNO TIME AREA HEIGHT WK  
 1 3.627 274410 36981

Test solution (0.56mg/L) : 8hours

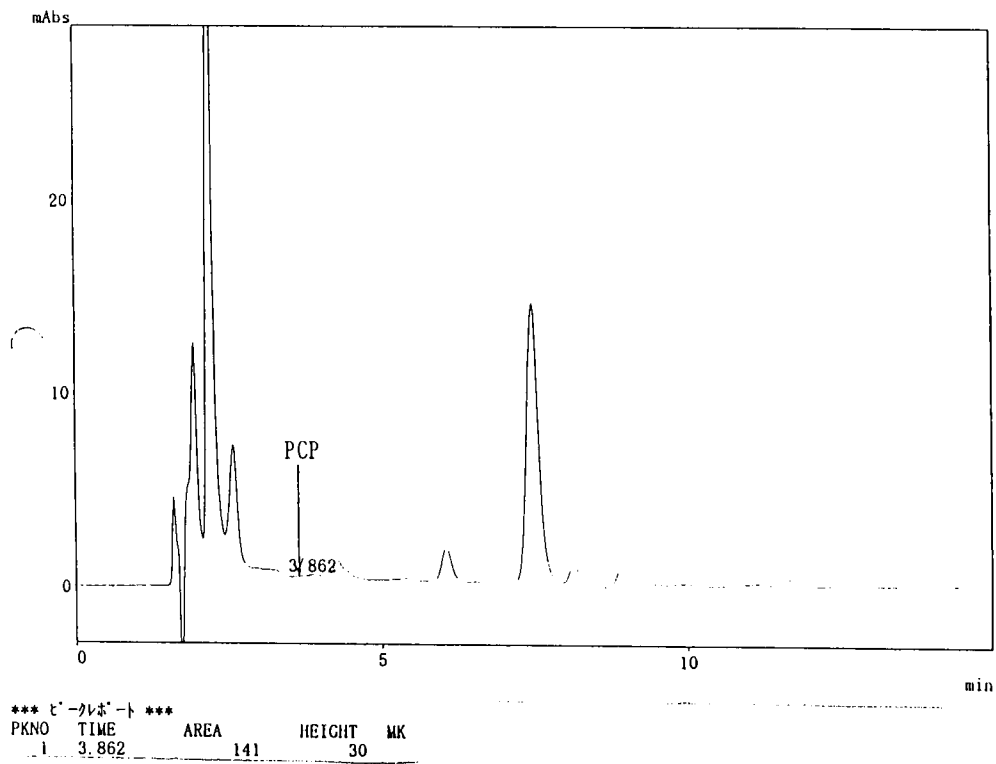


\*\*\* ピークレポート \*\*\*  
 PKNO TIME AREA HEIGHT WK  
 1 3.630 146476 19541

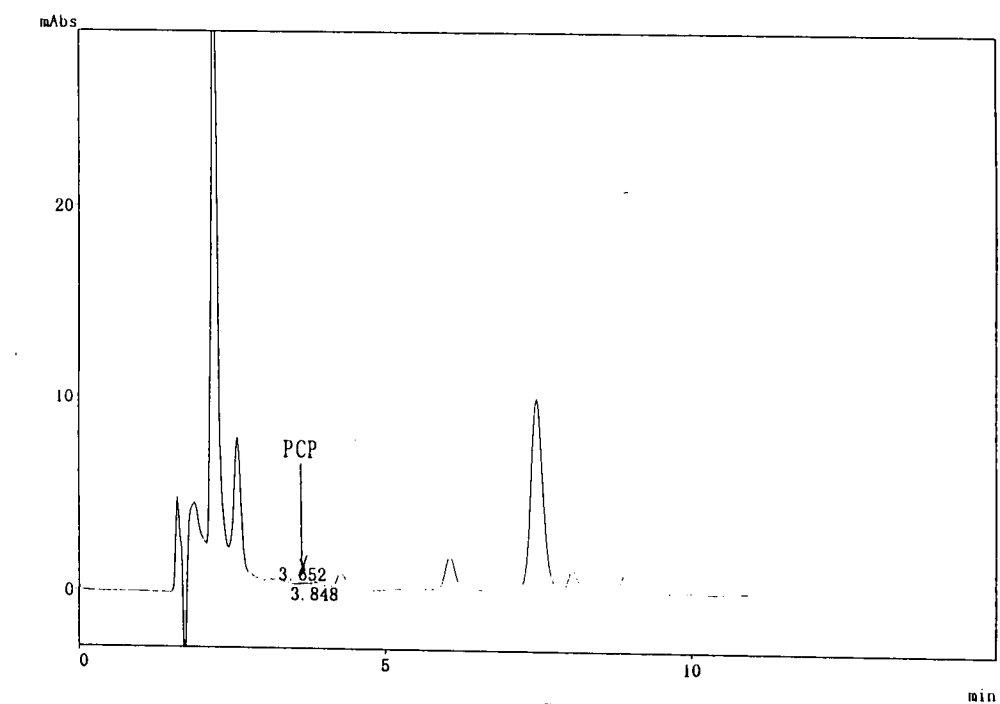
Standard (20ng) : 24hours



Control : 24hours



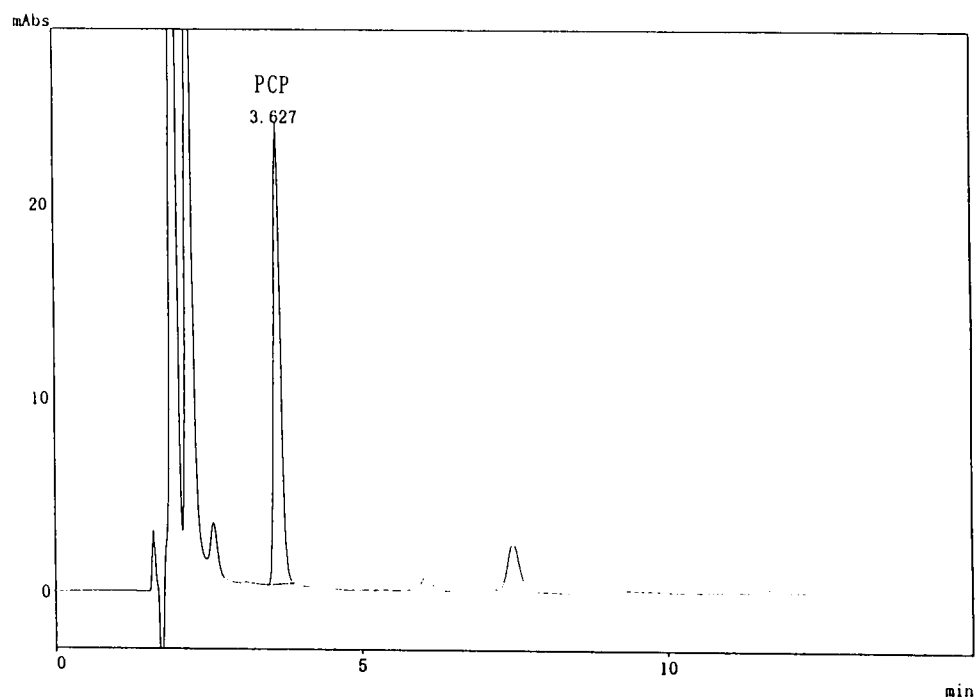
Solvent control : 24hours



\*\*\* リポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.652	219	30	

Test solution (0.018mg/L) : 24hours

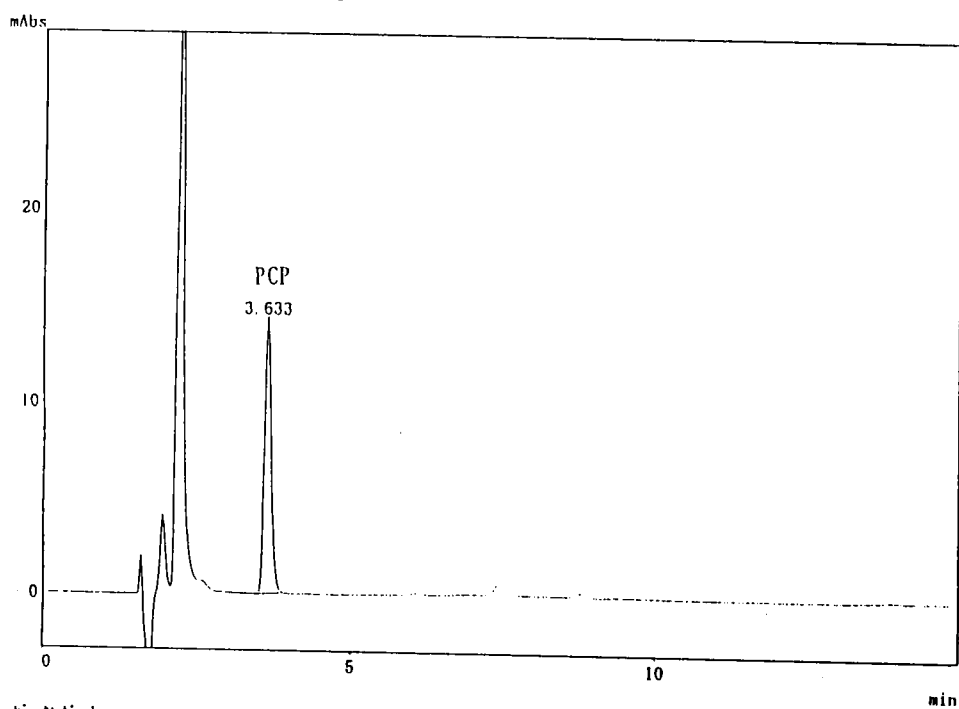


\*\*\* リポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.627	182080	23872	



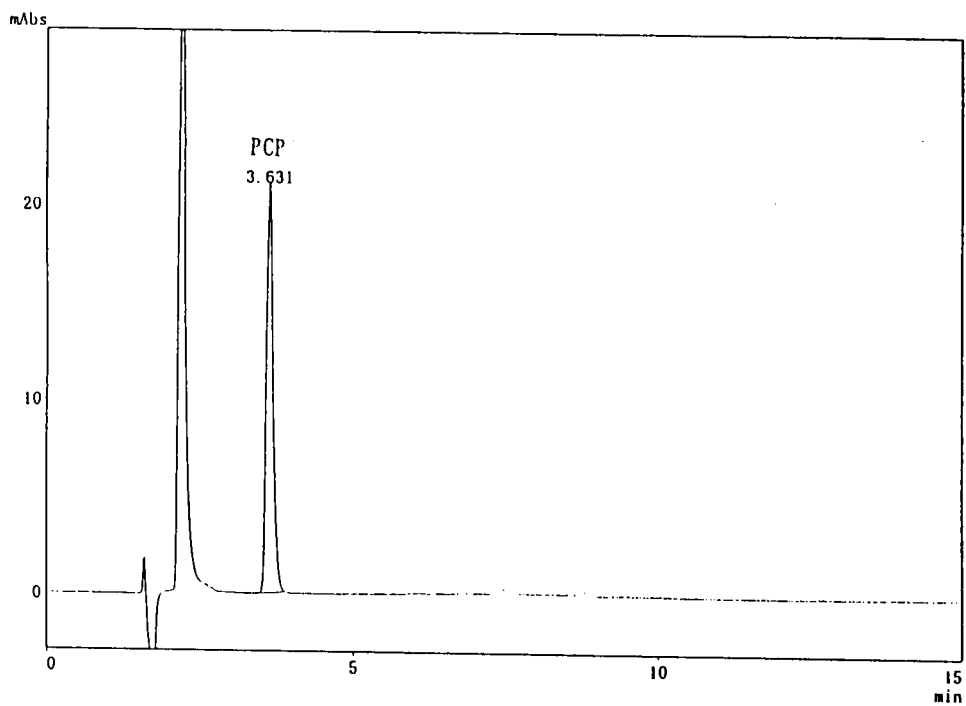
Test solution (0.10mg/L) : 24hours



\*\*\* ピークレポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.633	109130	14423	

Test solution (0.32mg/L) : 24hours



\*\*\* ピークレポート \*\*\*

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.631	158535	21094	

## 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  
急性毒性試験

試験番号： 第09014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 6 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  
急性毒性試験

試験番号： 第09014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 6月 1日	1997年12月10日 ～1998年 6月 1日
試験報告書監査	1998年 6月 1日	1998年 6月 1日

1998 年 6 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

