

試 験 報 告 書

ペントクロロフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験

(試験番号：第09012号)

財団法人 日本食品衛生センター

衛生研究所

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 試験容器及び恒温室等 -----	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 遊泳阻害数及び遊泳阻害率 -----	7
5.4 EiC50 -----	7
5.5 NOECi及び100 %阻害最低濃度 -----	7
5.6 試験水のpH，溶存酸素濃度及び水温 -----	8
Table 1～7 -----	9～14
Figure 1 -----	15
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

ペンタクロロフェノールについて、オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験を行い、24及び48時間後の50 %遊泳阻害濃度 (EiC50) 及び最大無作用濃度 (NOECi) 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 202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」(1984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]

(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28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オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験

試験番号

第 0 9 0 1 2 号

試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン 202「ミジンコ類，急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」（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：止水式
- 3) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 水 温：20±1 °C
- 5) 曝露期間：48時間
- 6) 試験水量：100 mL
- 7) 連 数：1濃度区 4連
- 8) 生 物 数：20頭／1濃度区（1連 5頭，1濃度区 20頭）
- 9) 照 明：室内光，16時間明／8時間暗
- 10) 試験濃度：対照区，助剤対照区，0.010，0.022，0.046，0.10，0.22，0.46及び
1.0 mg/L
- 11) 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，終了時）

結 果

- 1) 24時間の半数遊泳阻害濃度
EiC50 (24hr) = 0.18 mg/L (95 %信頼限界：0.15～0.23 mg/L)
- 2) 48時間の半数遊泳阻害濃度
EiC50 (48hr) = 0.11 mg/L
- 3) 48時間の最大無作用濃度 (NOECi) = 0.046 mg/L
- 4) 48時間の100 %阻害最低濃度 = 0.22 mg/L
(上記濃度は，全て設定濃度に基づく値)

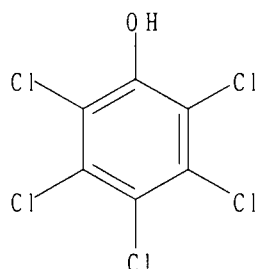
1 被験物質

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_{ow} : 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 :

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

試験には生後24時間以内のオオミジンコ (*Daphnia magna*) の幼体を用いた。

本種は、国立環境研究所より入手したものを、財団法人日本食品分析センターにおいて継代飼育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）の供試ミジンコに対する急性遊泳阻害試験の48時間 EC_{50} 値は0.40 mg/Lであった。

供試する幼体を得るためのミジンコの飼育方法

継代中のものから幼体を抱えた肉眼的に健康かつ十分な大きさの雌成体を選別し、別に用意した容器に移した。翌日、産出された幼体を順化用容器（1 L容ガラス製ビーカー）に分け、この幼体を供試ミジンコの親とし、以下の条件で2～4週間飼育した。成熟し幼体を産むようになったら1週間に3回幼体を除去した。2～4週間後、曝露開始前日に順化用容器から幼体を除去し、翌日（24時間以内）産出された幼体を試験に用いた。なお、ミジンコの異常が認められた容器、死亡個体の多い容器、休眠卵や雄が生じた容器のミジンコは使用しなかった。

飼育水：希釈水（3.2参照）

飼育密度：20～50頭/L飼育水（但し、成熟個体の場合は、25頭以下/Lとした。）

水温：20±1℃

照明：室内光，16時間明／8時間暗

餌：*Chlorella vulgaris*

給餌：ミジンコ1頭当たり0.15 mgC(有機体炭素含量)／日の割合で与えた。

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 曝露方法：止水式
- 2) 水温：20±1℃
- 3) 曝露期間：48時間
- 4) 生物数：20頭/1濃度区（1連 5頭，1濃度区 20頭）
- 5) 試験水量：100 mL
- 6) 連数：1濃度区 4連
- 7) 照明：室内光，16時間明／8時間暗
- 8) 給餌：無給餌

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（CaCO₃換算）であった。

3.3 試験容器及び恒温室等

- 1) 試験容器：270 mL容ガラス製密封瓶
- 2) 恒 温 室：21.84R-4410（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2.2で0.010, 0.022, 0.046, 0.10, 0.22, 0.46及び1.0 mg/Lの濃度区で試験を行った。

3.5 試験水の調製

被験物質を溶解助剤（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中の最高添加濃度（10 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48時間後に各濃度区（1濃度 4連）の試験容器より各25 mLを等量混合（合計100 mL）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

曝露開始時に順化用容器から24時間以内の幼体を採取し、供試ミジンコとした。

試験水のpH、溶存酸素濃度（D0）及び水温を測定後、供試ミジンコを先端が比較的広口のガラスピペットを用いて各試験容器に5頭ずつ（1濃度区当たり20頭）投入した。その際、試験水量に対して、ピペット内の飼育水は全量で1 %以内を目安とした。また、曝露終了時にpH、溶存酸素濃度及び水温を測定した（全濃度区、各1試験容器）。

曝露開始より24及び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見なした（但し、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。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。）。

4 結果の算出

各濃度区でのミジンコの遊泳阻害数及び死亡数と供試個体数（20頭）から遊泳阻害率（%）を算出し、24時間半数遊泳阻害濃度（EiC50）はProbit法、48時間EiC50はBinominal法で算出した。また、24時間EiC50の95 %信頼限界も算出した。

ミジンコが遊泳阻害を受けない最高濃度区を最大無作用濃度（NOECi）とし、全てのミジンコが遊泳阻害を受ける最低濃度を100 %阻害最低濃度とした。

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

曝露開始時及び48時間後（終了時）に試験水中の被験物質濃度を測定した。

曝露開始時の濃度は0.0103～1.06 mg/L（設定濃度0.010～1.0 mg/L）であり、試験開始後48時間の濃度は0.0100～0.237 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95～108 %であった。また、開始後24時間で全数死亡した濃度はそれぞれ0.471及び1.04 mg/L（設定濃度0.46及び1.0 mg/L）で設定濃度に対する割合はそれぞれ102及び104 %であった。

[Table 1 (p. 9) , 付属資料－2]

5.3 遊泳阻害数及び遊泳阻害率

被験物質の設定濃度に基づく48時間曝露したミジンコの遊泳阻害数及び遊泳阻害率は0.22, 0.46, 及び1.0 mg/L濃度区において20頭（100 %）であった。また、0.010, 0.022及び0.046 mg/L濃度区は0頭（0 %）あった。

なお、対照区におけるミジンコが水面に浮く率は0 %, 遊泳阻害率は0 %であり、試験成立条件である10 %以下の基準を共に満たした。

[Table 2 (p. 10)]

5.4 EiC50

被験物質の設定濃度に基づく24時間のEiC50値は0.18 mg/Lであり、その95 %信頼限界は0.15～0.23 mg/Lであった。また、48時間のEiC50値は0.11 mg/Lであった。

[Table 3 (p. 11) , Figure 1 (p. 15)]

5.5 NOECi及び100 %阻害最低濃度

被験物質に48時間曝露したミジンコのNOECiは0.046 mg/Lであり、100 %阻害最低濃度は0.22 mg/Lであった。

[Table 4 (p. 11) , Figure 1 (p. 15)]

5.6 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7.2～7.6であり, 溶存酸素濃度は8.6～9.3 mg/Lであり, すべての試験容器で飽和溶存酸素濃度の60 %以上であった。(20.0 ℃の飽和溶存酸素濃度: 8.8 mg/L) また, 水温は19.9～20.1 ℃であった。

[Table 5～7 (p. 12～14)]

以 上

Table 1. Measured Concentrations of Pentachlorophenol During a 48-hour Exposure of *Daphnia magna* under Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)			Percent of Nominal
	0 hour new	48 hours old	Time-weighted Mean	
Control	< 0.0001	< 0.0001	----	---
Solvent Control	< 0.0001	< 0.0001	----	---
0.010	0.0103	0.0100	0.0102	102
0.022	0.0208	0.0226	0.0217* ²	99
0.046	0.0465	0.0474	0.0470* ²	102
0.10	0.0998	0.103	0.101* ²	101
0.22	0.231	0.237	0.234* ²	106
0.46	0.477	0.471* ¹	0.474	103
1.0	1.06	1.04* ¹	1.05	105

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 48 hours exposure period

*1 : test solutions after 24 hours exposure period

*2 : arithmetic average

Table 2. Mortality or Immobility of *Daphnia magna* Exposed to Pentachlorophenol under Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Cumulative Number of Dead or Immobilized <i>Daphnia magna</i> (Percent Mortality or Immobility)	
	24 hours	48 hours
Control	0 (0)	0 (0)
Solvent Control	0 (0)	0 (0)
0.010	0 (0)	0 (0)
0.022	0 (0)	0 (0)
0.046	0 (0)	0 (0)
0.10	3 (15)	8 (40)
0.22	11 (55)	20 (100)
0.46	20 (100)	20 (100)
1.0	20 (100)	20 (100)

Table 3. Calculated EiC50 Values for *Daphnia magna* Exposed to Pentachlorophenol
Based on Nominal Concentrations under Static Test Conditions

Exposure Period (hours)	EiC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	0.18	0.15 ~ 0.23	Probit
48	0.11	not calculated	Binominal

Table 4. Observation of No Observed Effect Concentration (NOECi) and Lowest
Concentration in 100% Mortality or Immobility Values

Exposure Period (hours)	NOECi (mg/L)	Lowest Concentration in 100% Mortality or Immobility (mg/L)
24	0.046	0.46
48	0.046	0.22

Table 5 pH Values During a 48-hour Static Exposure of *Daphnia magna* to Pentachlorophenol

Nominal Concentration (mg/L)		pH	
		0 hour	48 hours
Control	new	7.3	----
	old	----	7.3
Solvent Control	new	7.4	----
	old	----	7.4
0.010	new	7.2	----
	old	----	7.5
0.022	new	7.3	----
	old	----	7.5
0.046	new	7.2	----
	old	----	7.6
0.10	new	7.3	----
	old	----	7.6
0.22	new	7.4	----
	old	----	7.5
0.46	new	7.4	----
	old	----	---- ^a
1.0	new	7.4	----
	old	----	---- ^a

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 48 hours exposure period

^a: No measurement was made because all *Daphnia magna* were dead at this observation time.

Table 6. Dissolved Oxygen Concentrations During a 48-hour Static Exposure of *Daphnia magna* to Pentachlorophenol

Nominal Concentration (mg/L)		Dissolved Oxygen Concentrations (mg/L)	
		0 hour	48 hours
Control	new	9.4	----
	old	----	8.9
Solvent Control	new	9.4	----
	old	----	8.9
0.010	new	9.3	----
	old	----	8.7
0.022	new	9.2	----
	old	----	8.7
0.046	new	9.2	----
	old	----	8.6
0.10	new	9.2	----
	old	----	8.6
0.22	new	9.2	----
	old	----	8.6
0.46	new	9.2	----
	old	----	---- ^a
1.0	new	9.3	----
	old	----	---- ^a

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 48 hours exposure period

^a : No measurement was made because all *Daphnia magna* were dead at this observation time.

Table 7 Temperature Values During a 48-hour Static Exposure of *Daphnia magna* to Pentachlorophenol

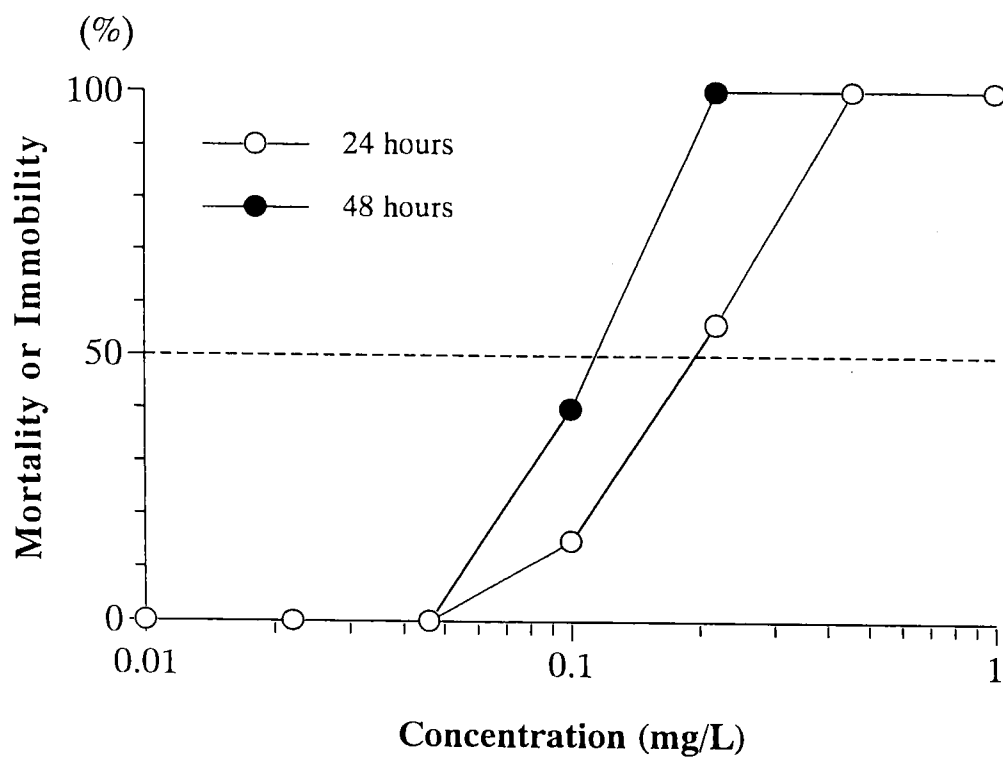
Nominal Concentration (mg/L)		Temperature (°C)	
		0 hour	48 hours
Control	new	19.7	----
	old	----	20.0
Solvent Control	new	19.7	----
	old	----	20.0
0.010	new	20.1	----
	old	----	20.1
0.022	new	20.1	----
	old	----	20.1
0.046	new	20.1	----
	old	----	20.0
0.10	new	20.1	----
	old	----	20.1
0.22	new	20.0	----
	old	----	20.1
0.46	new	19.9	----
	old	----	---- ^a
1.0	new	20.0	----
	old	----	---- ^a

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 48 hours exposure period

^a : No measurement was made because all *Daphnia magna* were dead at this observation time.

Figure 1. Concentration-Response Curve of Pentachlorophenol Mortality or Immobility in *Daphnia magna*



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 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 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) 0.010mg/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 2.5ml 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，減圧濃縮乾固した。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。

g) 0.46mg/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。

h) 1.0mg/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，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 $\mu\text{g/ml}$ 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 $5\mu\text{m}$

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 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 92.7%, 96.4%, 95.8% (平均 95.0%) であった。

②高濃度添加

飼育水に濃度が 1mg/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 94.6%, 98.1%, 98.9% (平均 97.2%) であった。

Figure 1 Calibration Curve of PCP by HPLC Analysis

Amount (ng)	Peak Height (μ Abs)
20	36837
10	18909
1	1900

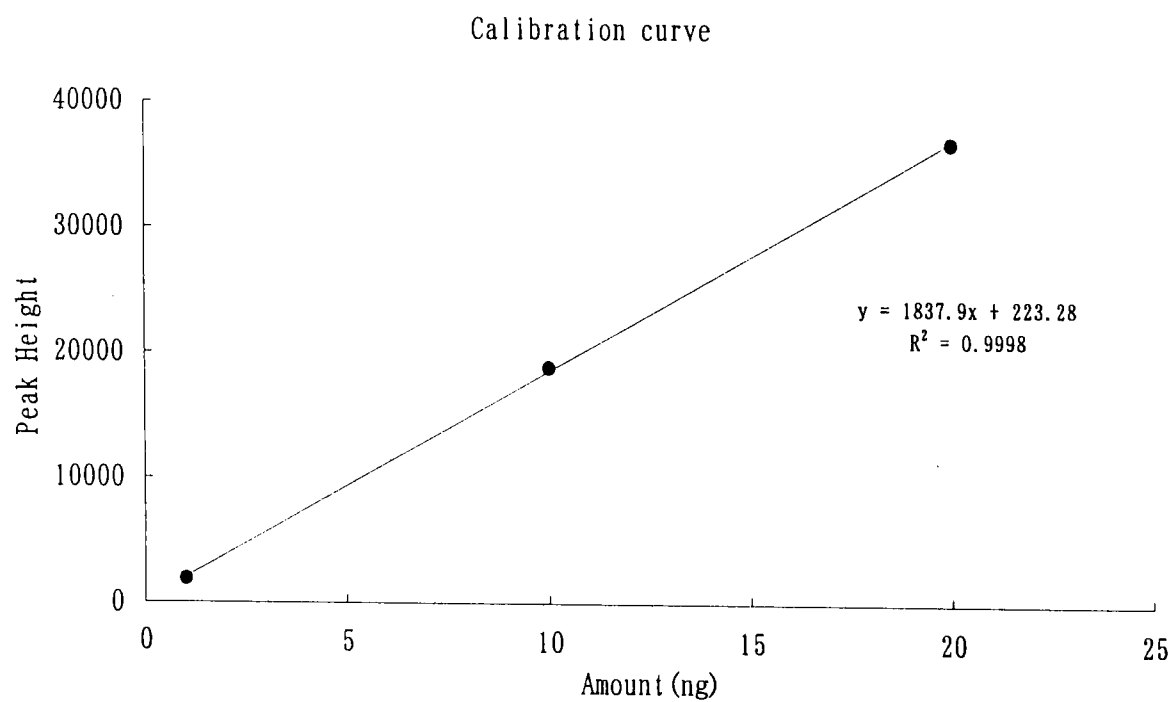
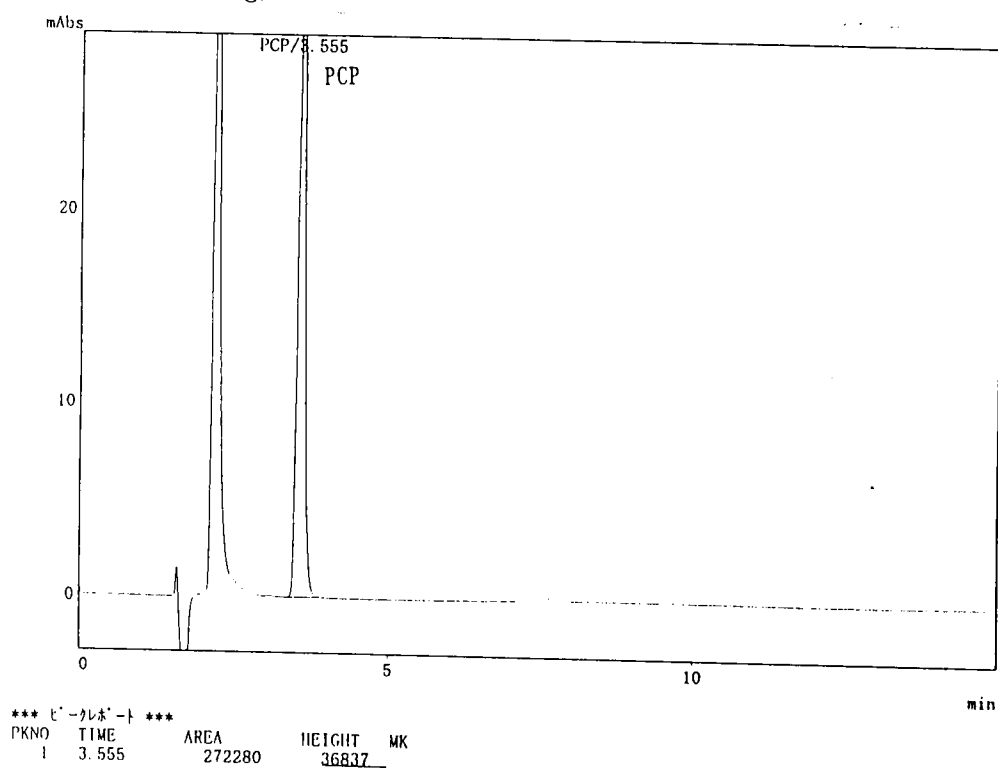
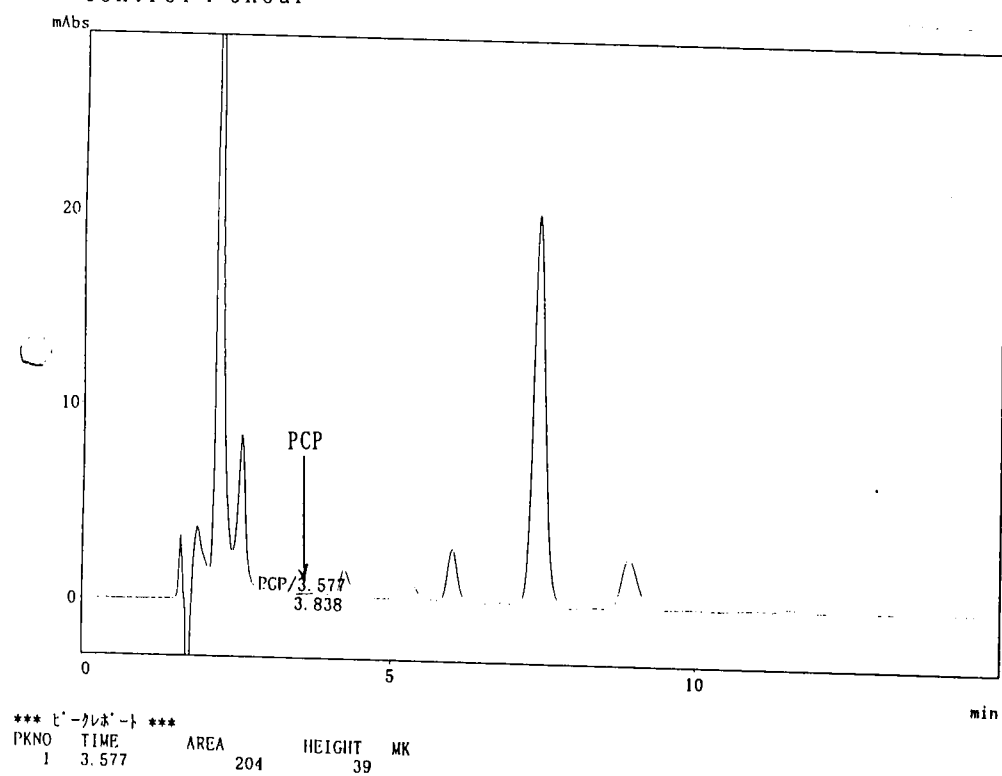


Figure 2 Representative Chromatogram

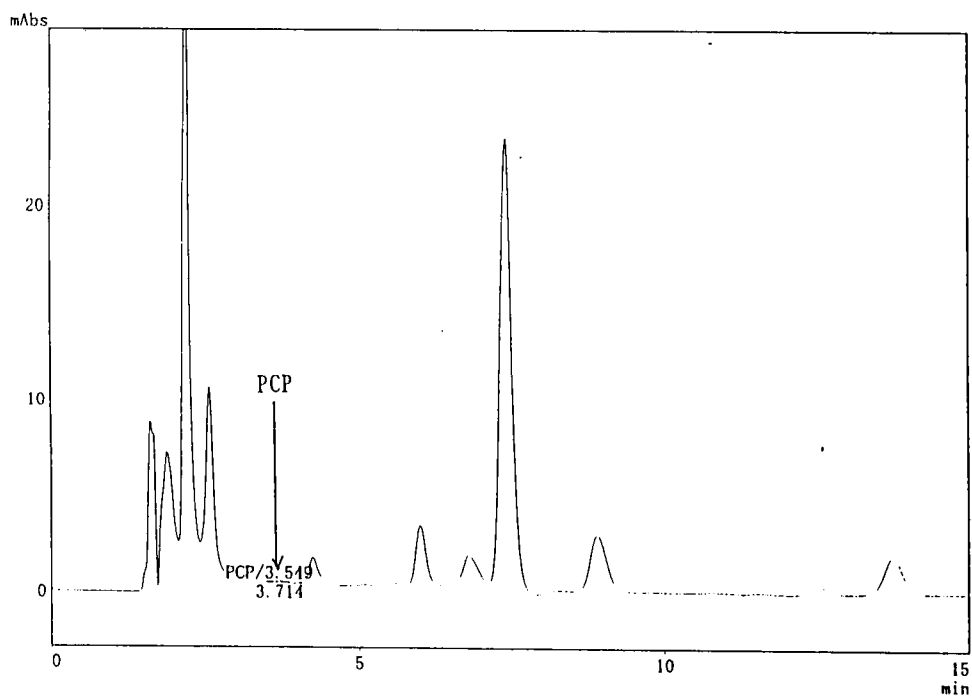
Standard(20ng) : 0hour



Control : 0hour



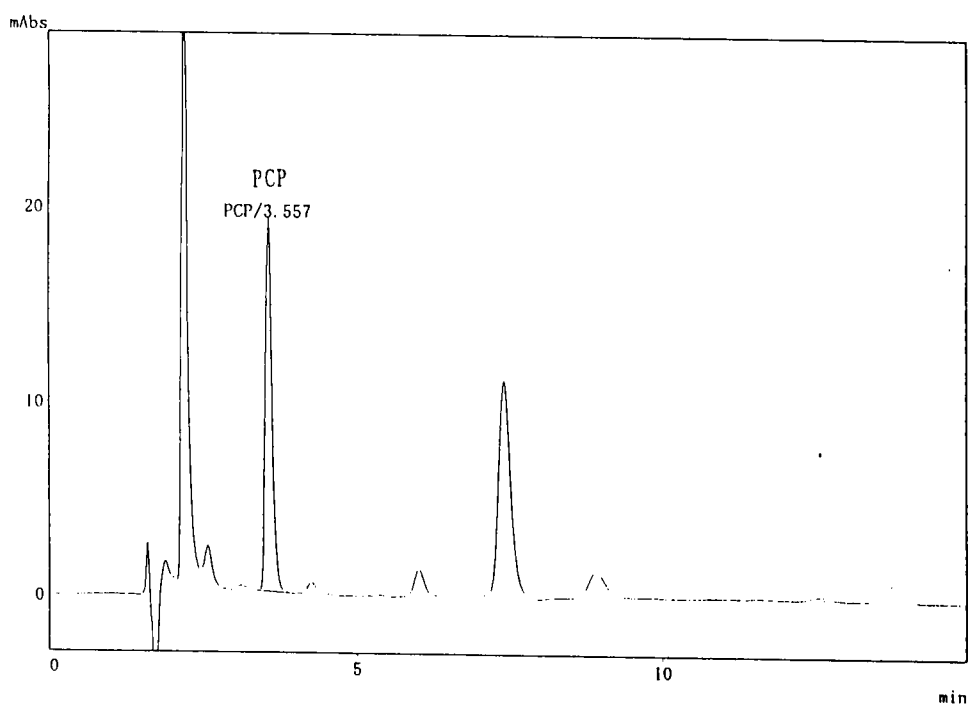
Solvent control : 0hour



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.549	153	35	

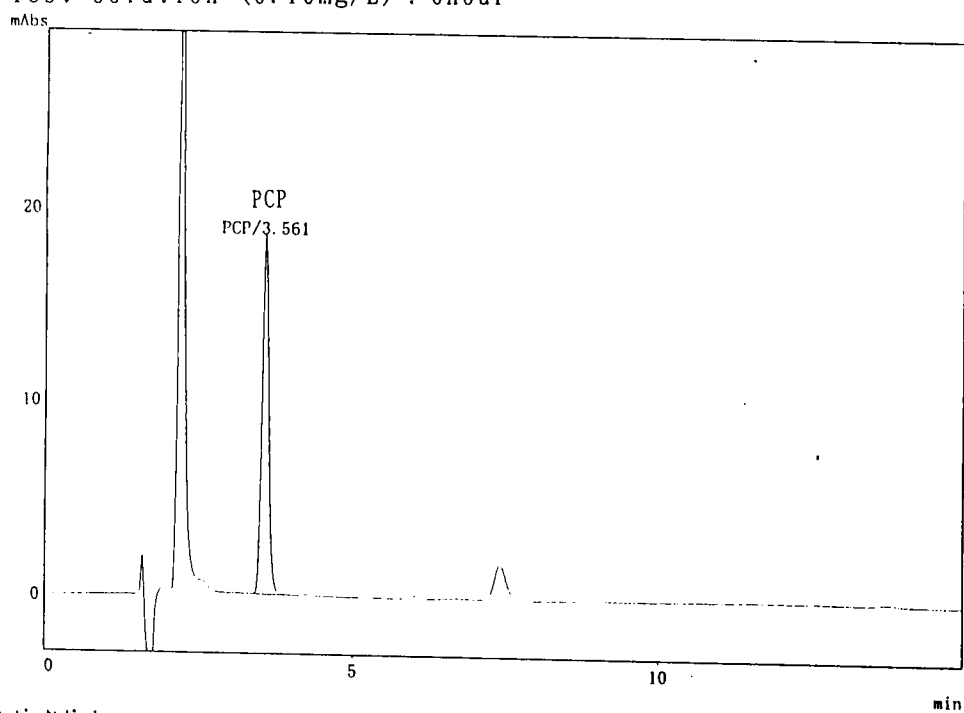
Test solution (0.010 mg/L) : 0hour



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK
1	3.557	145248	19218	

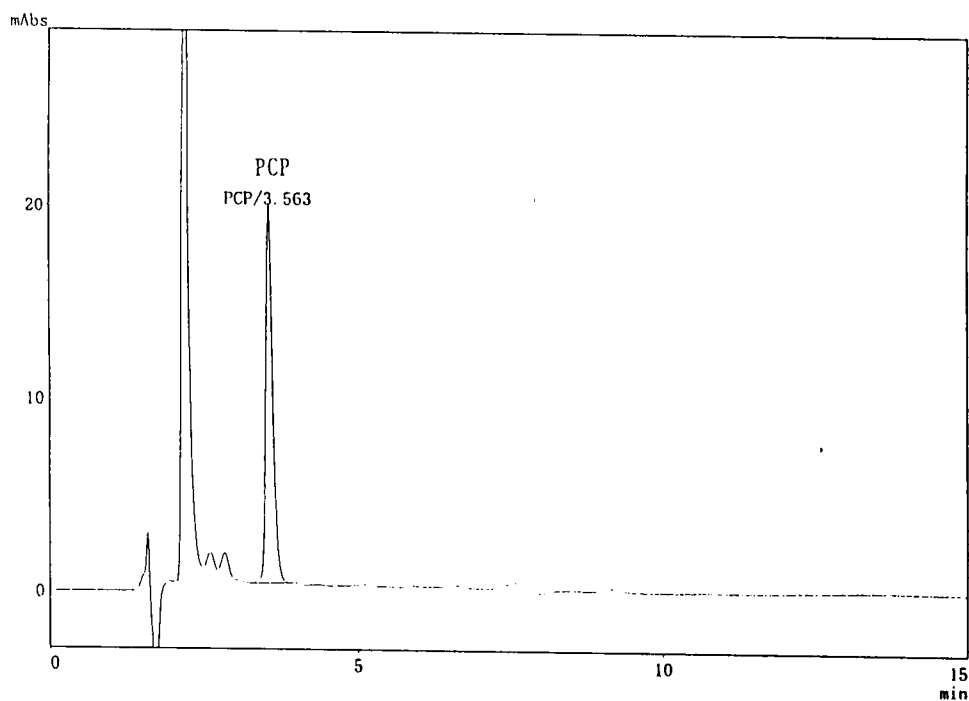
Test solution (0.10mg/L) : 0hour



*** ヒートアップ ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.561	139081	18563	-

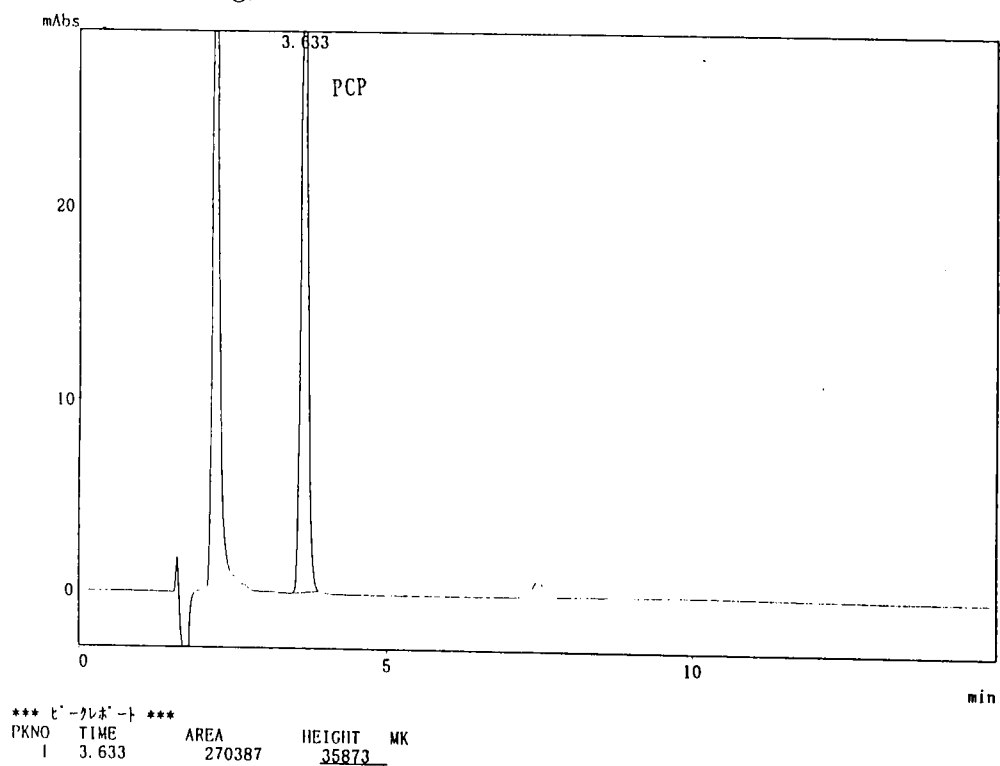
Test solution (1.0mg/L) : 0hour



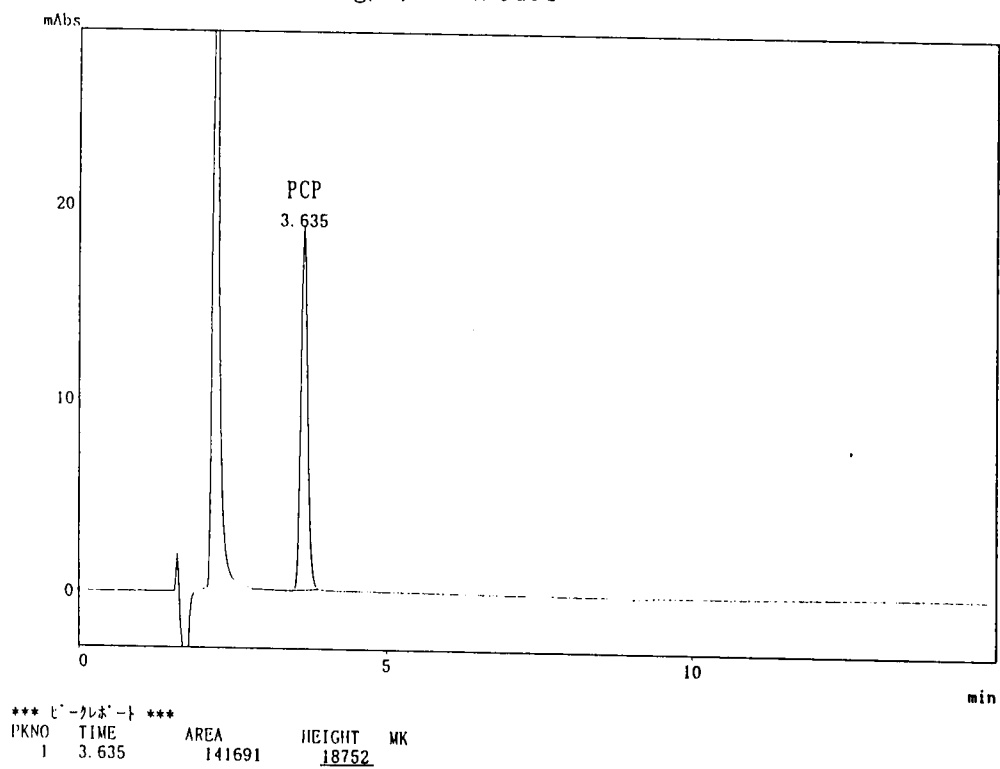
*** ヒートアップ ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.563	153098	19648	-

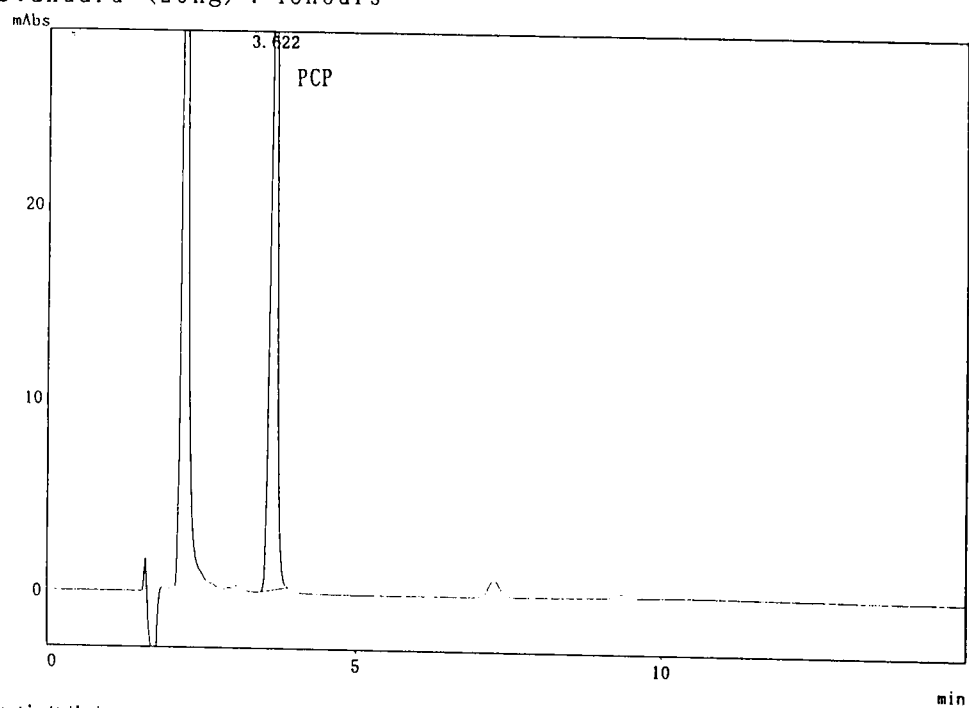
Standard (20ng) : 24hours



Test solution (1.0mg/L) : 24hours



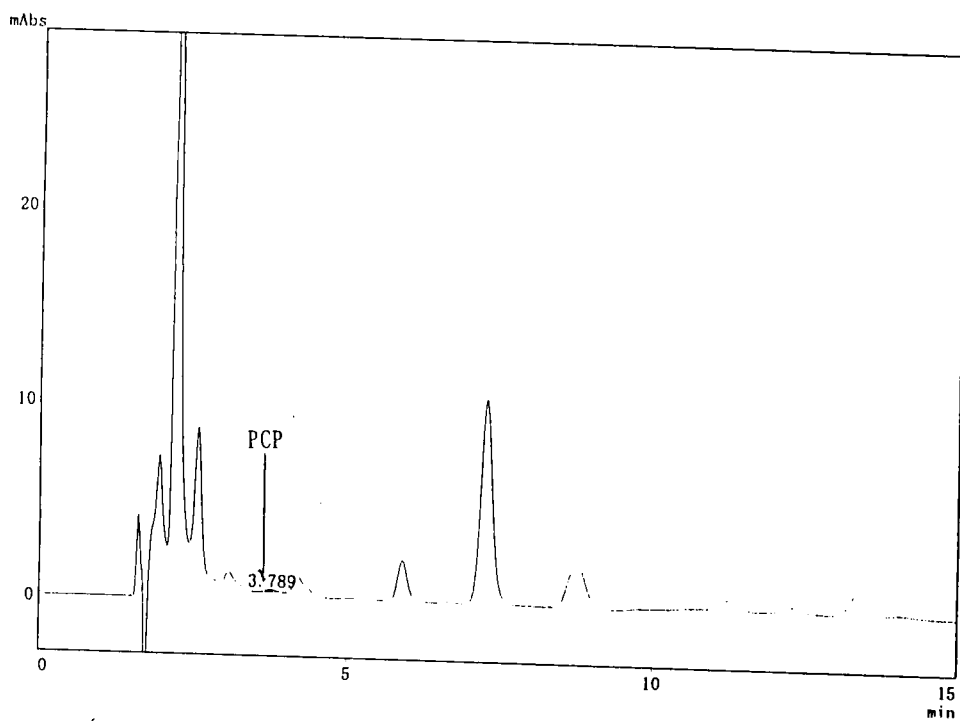
Standard (20ng) : 48hours



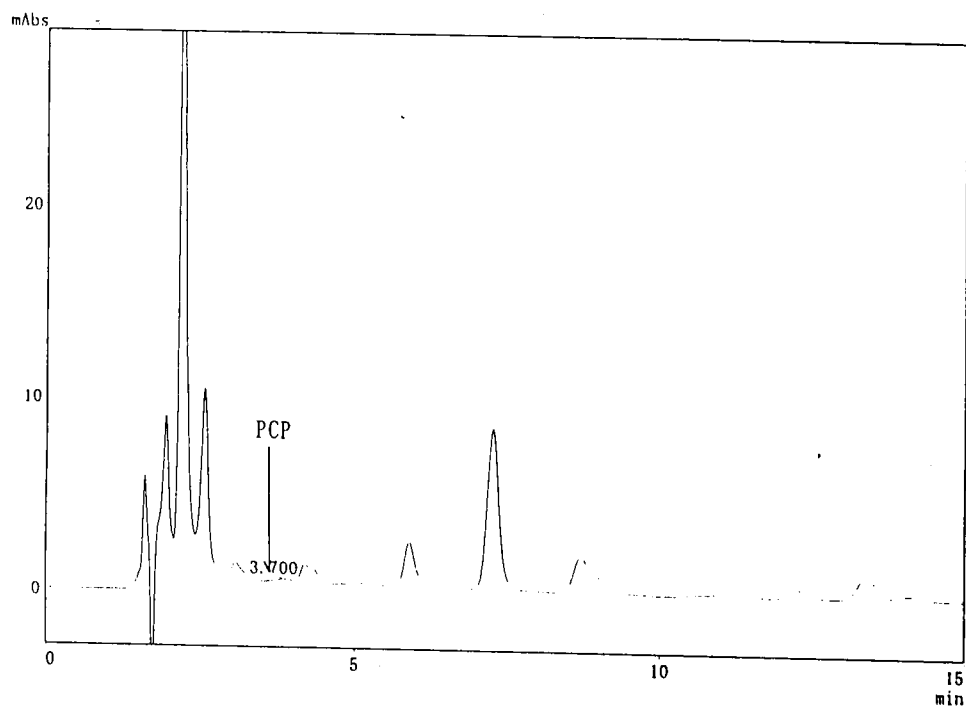
*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.622	277337	37271	

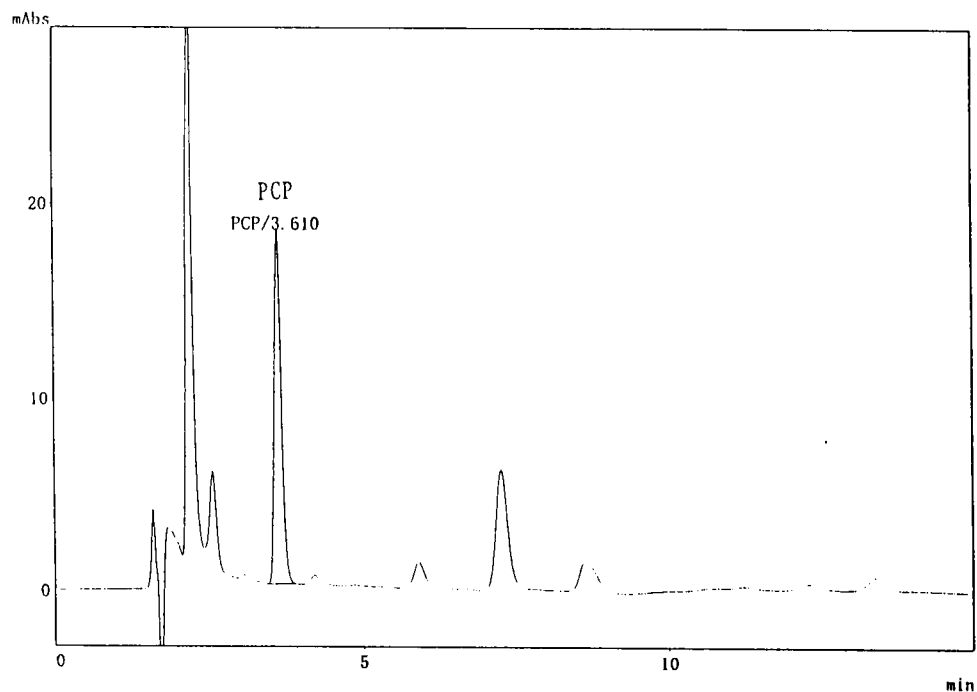
Control : 48hours



Solvent control : 48hours



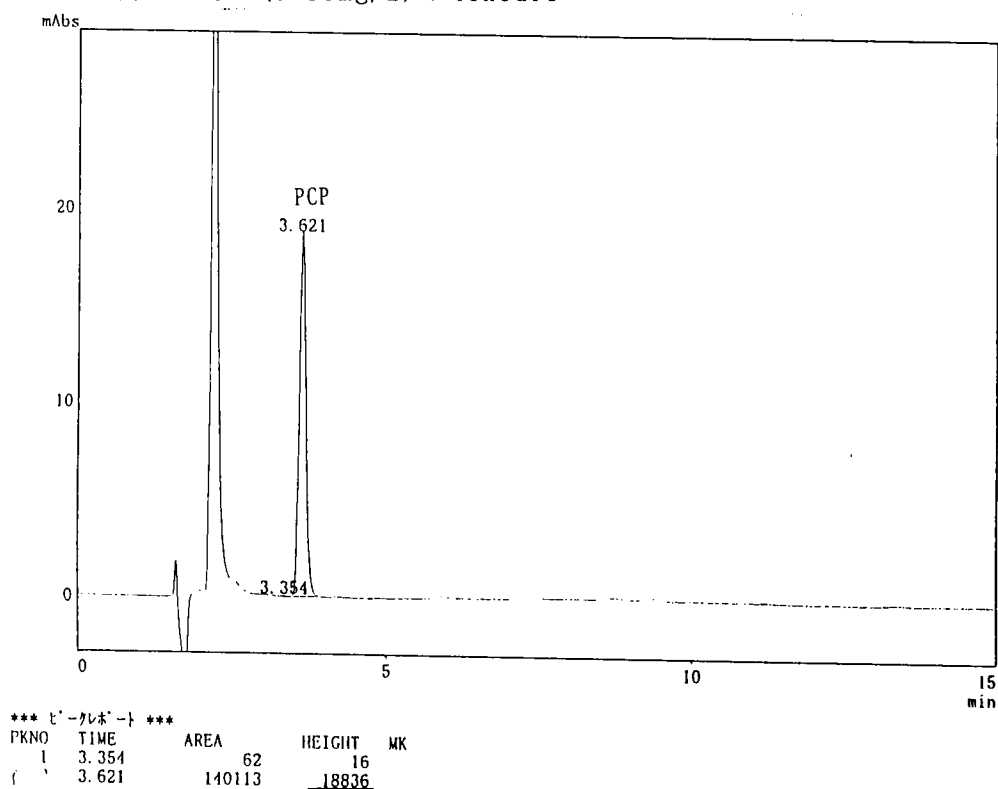
Test solution (0.010mg/L) : 48hours



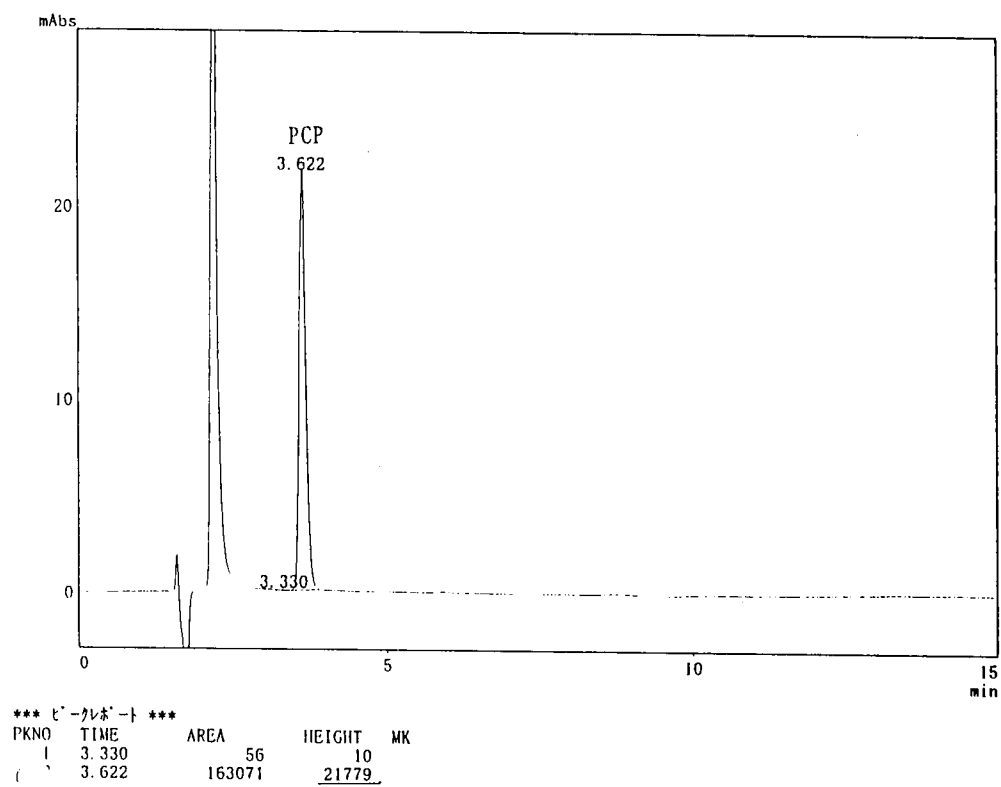
*** レポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK
1	3.610	143929	<u>18266</u>	

Test solution (0.10mg/L) : 48hours



Test solution (0.22mg/L) : 48hours



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オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する
急性遊泳阻害試験

試験番号： 第09012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オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する
急性遊泳阻害試験

試験番号： 第09012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

