

環境庁殿

## 試 験 報 告 書

2, 2' -アゾビス (2-メチルプロパニトリル) 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: EDI96001)

平成 9 年 6 月 30 日作成

住化テクノス株式会社

## 最終報告書修正書

試験番号：EDI96001

修正書番号：1

表題：2, 2-アゾビス(2-メチルプロパニトリル)のオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験

試験施設：住化テクノサービス株式会社

修正内容：

- 1) 8ページ、1.1、被験物質の分子式を以下の通り修正した。

修正前： $C_8H_{12}O_4$

修正後： $C_8H_{12}N_4$

修正理由：

- 1) 記載に誤りがあったため。

試験責任者

2002年4月18日

## 信頼性保証書

本修正事項は、当社の信頼性保証部門によって下記の監査を受けている

監査日		報告日	
項 目	Q A U	試験責任者	運営管理者
草 稿	2002年4月18日		
最終版	2002年4月18日	2002年4月18日	2002年4月18日

信頼性保証責任者：

2002年4月18日

## 陳 述 書

住化テクノス株式会社

試験委託者：環境庁

表題：2, 2' -アゾビス (2-メチルプロパニトリル) 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：EDI96001

上記試験は環境庁の「生態影響試験実施に関する基準」に従って実施したものである。

平成 9 年 6 月 30 日

運営管理者



## 信頼性保証証明書

試験表題： 2,2'-アゾビス(2-メチルプロパニトリル)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： EDI96001

本最終報告書の試験は、当施設の信頼性保証部門に関する標準操作手順書に従って下記の  
査察を受けている。

査察項目	査察日	報告日	
	QAU	試験責任者	運営管理者
試験計画書	平成8年12月26日 平成9年2月13日 平成9年2月26日 平成9年3月31日	平成9年1月15日 平成9年2月13日 平成9年2月26日 平成9年3月31日	平成9年1月30日 平成9年2月17日 平成9年2月26日 平成9年3月31日
試験査察	平成9年3月11日	平成9年3月12日	平成9年3月13日
最終報告書	平成9年3月27日 平成8年6月30日	平成9年4月1日 平成9年6月30日	平成9年6月30日

本試験は適正に実施されており、本最終報告書は試験した方法、手順が正確に記録され、  
かつ、試験の生データを正確に反映していることを認めます。

平成 9 年 6 月 30 日  
住化テクノス株式会社  
信頼性保証責任者




## 試験実施概要

1. 表題 : 2, 2' -アゾビス (2-メチルプロパニトリル) 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 : 2, 2' -アゾビス (2-メチルプロパニトリル) 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および48時間後の50%遊泳阻害濃度 (EC50) 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 : 本試験は環境庁「生態影響試験実施に関する基準」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1丁目2番2号
  - 委託責任者 : XXXXXXXXXX
6. 試験受託者 :
  - 名称 : 住化テクノス株式会社
  - 所在地 : 〒665 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号
7. 試験施設 :
  - 名称 : 住化テクノス株式会社
  - 所在地 : 〒665 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

## 8. 試験関係者：

試験責任者

[REDACTED]

[REDACTED]

(平成 9 年 6 月 30 日)

試験担当責任者

[REDACTED]

[REDACTED]

(平成 9 年 6 月 30 日)

試験担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(平成 9 年 6 月 30 日)

試験担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(平成 9 年 6 月 30 日)

## 9. 試験期間：試験開始日

平成 9 年 2 月 17 日

試験終了日

平成 9 年 6 月 30 日

暴露期間

平成 9 年 3 月 11 日～平成 9 年 3 月 13 日

## 10. 保管：

試験計画書、生データ、記録文書および試験報告書は、試験報告書作成後10年間、住化テクノス株式会社の試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。

## 目 次

	頁
要 旨 .....	7
1 被験物質 .....	8
1.1 名称、構造式および物理化学的性状 .....	8
1.2 供試試料 .....	8
1.3 被験物質の確認および保管条件下の安定性 .....	8
2 供試生物 .....	9
3 試験方法 .....	10
3.1 試験条件 .....	10
3.2 希釈水 .....	10
3.3 試験容器および恒温槽等 .....	10
3.4 試験濃度の設定 .....	10
3.5 試験液の調製 .....	11
3.6 試験液の分析 .....	11
3.7 試験操作 .....	11
4 結果の算出 .....	12
5 結果および考察 .....	12
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 .....	12
5.2 試験水中の被験物質濃度 .....	12
5.3 半数遊泳阻害濃度 (EC50) .....	12
5.4 最大無作用濃度 (NOEC) および100%阻害最低濃度 .....	12
5.5 試験水の水溫、溶存酸素濃度およびpH .....	13
Table 1～7.....	14～16
Figure 1.....	17
付属資料－1      希釈水の水質.....	18
付属資料－2      試験液の分析方法.....	20
付属資料－3      餌料の有機炭素含量測定.....	34

## 要 旨

### 試験委託者

環境庁

### 表 題

2, 2' -アゾビス (2-メチルプロパニトリル) 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

EDI96001

### 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, 2' -アゾビス (2-メチルプロパニトリル)
- 2) 暴露方法：止水式
- 3) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間：48時間
- 5) 連数：1試験区につき4連
- 6) 生物数：20頭/1試験区 (1連につき5頭で1試験区20頭)
- 7) 試験濃度：対照区, 助剤対照区 (助剤濃度100mg/L), 10mg/L (設定濃度)
- 8) 試験液量：100mL
- 9) 照明：室内光、16時間明/8時間暗
- 10) 試験水温：20±1℃

### 結 果

- 1) 24時間暴露後の結果  
24時間半数遊泳阻害濃度 (EiC50) >10mg/L
- 2) 48時間暴露後の結果  
48時間半数遊泳阻害濃度 (EiC50) >10mg/L  
最大無作用濃度 (NOECi) =10mg/L  
100%阻害最低濃度 >10mg/L

(上記濃度は、全て設定値に基づく値)



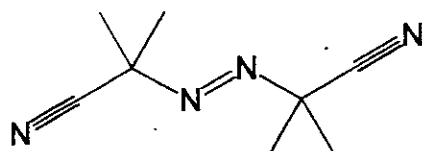
## 1 被験物質

## 1.1 名称、構造式および物理化学的性状

名 称 : 2, 2' -アゾビス (2 -メチルプロパニトリル)

(CAS番号: 78-67-1、略称: AMP、識別番号: 96E-2)

構造式 :



分子式 : ~~C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>~~ C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub> 正

分子量 : 164.21

## 1.2 供試試料

購入先 : XXXXXXXXXX

入手日 : 平成8年12月20日

ロット番号: DLE7785

外観 : 白色結晶性粉末

純度 : 99.3%

## 1.3 被験物質の確認および保管条件下の安定性

被験物質は当社の冷蔵庫に保管した。

入手した被験物質についてIR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。暴露終了時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、被験物質は当社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

試験には生後24時間令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、当社において累代飼育しているものである。また、基準物質（重クロム酸カリウム、試薬特級、Lot No. KCE6888、和光純薬工業㈱）による急性遊泳阻害試験の48時間 $EC_{50}$ は0.78mg/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

累代飼育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、翌日、産出された幼体を別の容器に分けた。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。成熟し幼体の産出開始後は1週間に少なくとも2回以上幼体を除去した。2～4週間後、暴露開始前日に育房内に幼体を持つ雌成体を選別し、翌日（24時間以内）、産出された幼体を試験に用いた。供試ミジンコの親を飼育中、多数の死亡個体および休眠卵や雄は生じなかった。

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 :  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$

照明 : 室内光、16時間明/8時間暗

餌 : *Chlorella vulgaris*

市販のクロレラ濃縮液（商品名：生クロレラV12、クロレラ工業㈱）を遠心操作により、希釈水に置換して給餌した。

1%懸濁液の有機炭素含量は1050mgC/Lであり、この値を基に餌の添加量を決定した。実際の有機炭素含量の測定は、広栄テクノサービス㈱に委託した。

[付属資料－3]

給餌量 : 原則として、ミジンコ1頭当たり *Chlorella vulgaris* を0.1～0.2mgC (有機炭素含量) /日の割合で与えた。

### 3 試験方法

#### 3.1 試験条件

暴露方法：止水式

暴露期間：48時間

連数：1試験区に付き4連

生物数：20頭／1試験区（1連に付き5頭で1試験区20頭）

試験液量：100mL／容器

試験水温：20±1℃

照明：室内光、16時間明／8時間暗

給餌：無給餌

#### 3.2 希釈水

脱塩素水（宝塚市水道水を活性炭処理し、残留塩素等を除去したもので充分通気した）を使用した。希釈水の主な水質として、総硬度が約63mg/L（CaCO<sub>3</sub>換算）、pHが8.1であった。

[付属資料－1]

#### 3.3 試験容器および恒温槽等

試験容器：100mL容ガラスビーカー

恒温槽：ミジンコ試験用恒温槽

水温計：電子温度計（PC-2200 株式会社佐藤計量器製作所製）

pH計：F-8AT型（堀場製作所製）

溶存酸素計：58型（YSI製）

#### 3.4 試験濃度の設定

被験物質が難水溶性のため最大助剤濃度（100mg/L）で均一分散可能な10mg/Lを試験最高濃度とした。5.0および10mg/Lで予備試験を実施したところ、暴露期間中遊泳阻害は認められなかった。以上の結果を基に、本試験は10mg/Lのみの限度試験とした。

### 3.5 試験液の調製

被験物質を電子天秤を用いて秤量し、これに助剤としてジメチルホルムアミドを10倍量添加して十分に混合した後、希釈水を加えて攪拌、定容して試験液を調製した。

助剤は被験物質10mg/L中に含まれる助剤濃度が100mg/Lとなるように添加した。

助剤対照区として、ジメチルホルムアミドを電子天秤で秤量し希釈水を加えて攪拌、定容して助剤濃度100mg/Lの試験液を調製した。

対照には被験物質を加えない希釈水を用いた。

調製した試験液を1濃度につき4個の試験容器に100mLずつ分注した。

### 3.6 試験液の分析

暴露開始時および終了時に全試験区の試験液（但し、各1試験容器）について、栓付ガラス製遠沈管に満水（約15mL）となるように採取した。採取した試験液はフィルター濾過後、HPLCにより分析し、試料のピーク面積から絶対検量線法により定量した。詳細は付属資料-2に示した。なお、実際の物理化学的試験は㈱住化分析センターに委託した。

### 3.7 試験操作

試験液の水溫、D.O.、pHを測定後、試験容器に供試ミジンコを放泳し、その時点を暴露開始とした。先端が比較的広口のガラスピペットを用いて供試ミジンコを放泳した。その際、試験液量に対して、ピペット内の飼育水は全量で1%以内を目安とした。

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、遊泳阻害と見なした。（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む。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、D.O.、pHは暴露開始時および終了時に、全試験区（但し、各1試験容器）の試験液について測定した。

#### 4 結果の算出

被験物質が均一分散可能な最高濃度 (10mg/L) のみの限度試験としたため、統計的手法 (Binomial法、Moving average法およびProbit法) による半数遊泳阻害濃度 (EiC50) の算出はできなかった。

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

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は無かった。

##### 5.2 試験水中の被験物質濃度

暴露開始時および暴露終了時に試験水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9.7mg/L(設定値10mg/L) であり、暴露終了時の被験物質濃度は9.2mg/L(設定値10mg/L) であった。これらの実測濃度を幾何平均すると、9.4mg/Lとなり、設定値に対する割合は94%であった。

[Table 1 (p.14), 付属資料-2]

##### 5.3 半数遊泳阻害濃度 (EiC50)

2, 2'-アゾビス (2-メチルプロパニトリル) に48時間暴露したミジンコの遊泳阻害率は設定濃度10mg/Lで0%であった。対照区および助剤対照区の遊泳阻害率は 0%であった。2, 2'-アゾビス (2-メチルプロパニトリル) の設定濃度に基づく24時間および48時間半数遊泳阻害濃度 (EiC50) は10mg/L以上であった。

[Table 2 (p.14), Table 3 (p.15), Figure 1 (p.17)]

##### 5.4 最大無作用濃度 (NOECi) および100%阻害最低濃度

2, 2'-アゾビス (2-メチルプロパニトリル) に 48時間暴露したミジンコの最大無作用濃度 (NOECi) は10mg/L(設定濃度) であり、100%阻害最低濃度は10mg/L (設定濃度) 以上であった。

[Table 4 (p.15), Figure 1 (p.17)]

#### 5.5 試験水の水温、溶存酸素濃度およびpH

48時間の暴露期間中の水温は 19.5～20.7℃であった。暴露期間中の pH は 7.5～8.3であった。暴露期間中の溶存酸素濃度は 7.6～8.0mg/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：8.8mg/L）。

[Table 5～7(p. 16)]

以 上

Table 1. Measured Concentrations of 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile) 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	48 Hour	Geometric Mean	
Control	<1	<1	—	—
Solvent Control	<1	<1	—	—
10	9.7	9.2	9.4	94

Table 2. Immobility of *Daphnia magna* Exposed to 2,2'-Azobis(2-methyl-propanitrile) under Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Cumulative Number of Immobilized <i>Daphnia</i> (Percent Immobility)	
	24 Hour	48 Hour
Control	0( 0)	0( 0)
Solvent Control	0( 0)	0( 0)
10	0( 0)	0( 0)

Table 3. Calculated EiC50 Values for *Daphnia magna* Exposed to 2,2'-Azobis-(2-methylpropanitrile) Based on Nominal Concentrations under Static Test Conditions

Exposure Period (Hour)	EiC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	>10	—	—
48	>10	—	—

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

Exposure Period (Hour)	No Observed Effect Concentration (NOECi) (mg/L)	Lowest Concentration in 100% Immobility (mg/L)
24	10	>10
48	10	>10



Table 5. pH Values during a 48-Hour Static Exposure of *Daphnia magna* to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile)

Nominal Concentration (mg/L)	pH	
	0 Hour	48 Hour
Control	7.5	7.9
Solvent Control	7.7	8.2
10	7.6	8.3

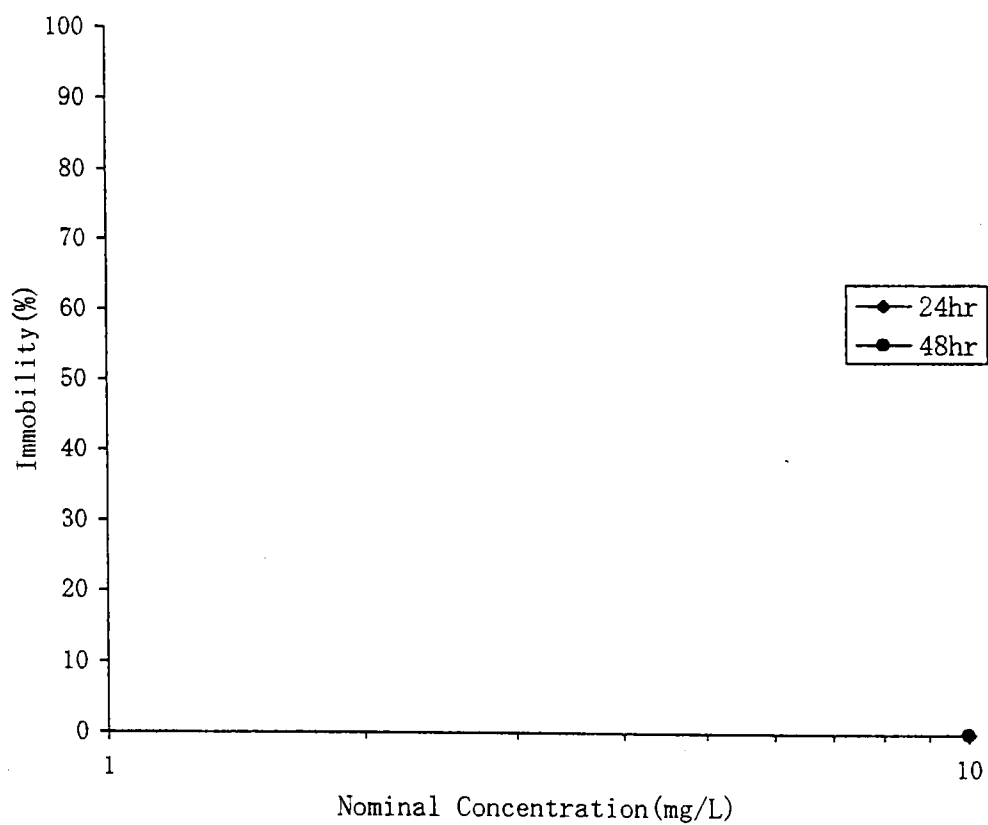
Table 6. Dissolved Oxygen Concentrations during a 48-Hour Static Exposure of *Daphnia magna* to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile)

Nominal Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration (mg/L)	
	0 Hour	48 Hour
Control	7.6	7.9
Solvent Control	7.6	8.0
10	7.7	7.9

Table 7. Temperature Values during a 48-Hour Static Exposure of *Daphnia magna* to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile)

Nominal Concentration (mg/L)	Temperature (°C)	
	0 Hour	48 Hour
Control	20.6	19.5
Solvent Control	20.7	20.1
10	20.7	20.0

Figure 1. Concentration-Response Curve of 2, 2'-Azobis(2-methylpropanitrile) Immobility in *Daphnia magna*



付属資料－ 1

希釈水の水質  
(全 1 頁)

## Water Quality of Dilution Water

Parameter	Concentration
COD	<1 mg/L
Phosphorus	<0.01 mg/L
pH	8.1 (15.0°C)
E. coli	N. D.
Total mercury	<0.0005 mg/L
Copper	<0.01 mg/L
Cadmium	<0.001 mg/L
Zinc	<0.01 mg/L
Lead	<0.005 mg/L
Aluminum	<0.02 mg/L
Nil	<0.02 mg/L
Total chromium	<0.02 mg/L
Soluble manganese	<0.005 mg/L
Tin	<0.03 mg/L
Soluble iron	<0.03 mg/L
Cyanide	N. D. (<0.01 mg/L)
Free chlorine	0.01 mg/L
Bromide ion	0.5 mg/L
Fluoride	0.29 mg/L
Sulfide ion	<0.1 mg/L
Ammonium ion	<0.1 mg/L
Arsenic	<0.001 mg/L
Selenium	<0.001 mg/L
Evaporated residue	230 mg/L
Electro conductivity	38 mS/m
Total hardness	63.1 mg/L
M-alkalinity	59 mg/L
Sodium	54 mg/L
Potassium	3.6 mg/L
Calcium	6.6 mg/L
Magnesium	3.9 mg/L
Total chlorinated pesticides	<0.001 mg/L
Total organophosphorus pesticides	<0.001 mg/L
PCB	<0.0005 mg/L

Date: Nov. 8, 1996

付属資料－ 2

試験液の分析方法  
(全13頁)

## 試験結果報告書

表題： 2,2'-アゾビス(2-メチルプロパニール)のオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する  
急性遊泳阻害試験 (物理・化学系)

(試験番号： EDI96001)

1997年 3月25日

運営管理者

大阪事業所 所長

株式会社 住化分析センター  
大阪事業所

ESOP/REC/011 RS-01

陳 述 書

試験委託者 :

名 称 住化テクノス株式会社  
住 所 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

試験の表題 : 2,2'-アゾビス(2-メチルプロパニトリル)のオオミジンコ (*Daphnia magna*)  
に対する急性遊泳阻害試験 (物理・化学系)

試験番号 : EDI96001

上記試験は、環境庁の「生態影響試験実施に関する基準」に従って実施したものであり、  
提出した資料は原本と相違ありません。

1997 年 3 月 25 日

(所属)

株式会社 住化分析センター  
大阪事業所 所長

(氏名)

運営管理者

## 監査・査察報告書 (951025)

試験の表題: 2,2'-アゾビス(2-メチルプロパニトリル)のオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する急性遊泳阻害試験 (物理・化学系)

試験番号: EDI96001

本最終報告書の試験は、当施設の信頼性保証部門に関する標準操作手順書に従って下記の監査・査察を受けている。

[illegible]

本試験は適正に実施されており、本最終報告書は試験で使用方法、手順が正確に記録され、かつ試験の生データを正確に反映していることを認めます。

1997年 3月25日

株式会社 住化分析センター 大阪事業所

### Q A 責任者

ESOP/QAU/001 RS-11



試験番号：EDI96001

表題： 2,2'-アゾビス(2-メチルプロピオニトリル)のオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する  
急性遊泳阻害試験 (物理・化学系)

## 試験委託者

名 称 住化テクノス株式会社  
住 所 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

## 試験期間

自： 1997年 3月 11日  
至： 1997年 3月 25日

## 試験施設

名 称 株式会社 住化分析センター 大阪事業所  
住 所 〒665 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

試験責任者



1997年 3月 25日

試験担当責任者



1997年 3月 25日

試験担当者



1997年 3月 25日

最終報告書作成者



1997年 3月 25日

運営管理者



1997年 3月 25日

## 目 次

1. 要約
2. 緒言
3. 試験物質、試薬および装置
4. 試験の実施
  - (1) 用いた試験方法
  - (2) 試験装置
  - (3) 試験液の分析
5. 試験結果
  - (1) 添加回収試験結果
  - (2) 試験液測定結果
6. 試験成績の信頼性に及ぼしたと思われる環境要因
7. SOPまたは試験計画書からの逸脱
8. 資料の保管
9. 添付資料

## 1. 要約

生態影響試験「2,2'-アゾビス (2-メチルプロパニトリル) のオオミジンコに対する急性遊泳阻害試験 (試験番号: EDI96001)」時の試験液 (試料) 中の被験物質濃度を測定した。

## 2. 緒言

試料中の被験物質濃度を高速液体クロマトグラフにて測定した。

## 3. 試験物質、試薬および装置

2,2'-アゾビス (2-メチルプロパニトリル) 標準品:

より提供された純度既知の被験物質

Lot. No. : DLE7785

純 度 : 99.3%

アセトニトリル:	高速液体クロマトグラフ用	関東化学製
蒸留水:	高速液体クロマトグラフ用	関東化学製
フィルター:	DISMIC-13HP (PTFE 0.45 $\mu$ m)	ADVANTEC
高速液体クロマトグラフ用ポンプ:	LC-5A	島津製作所製
紫外分光光度計検出器:	SPD-6A	島津製作所製
自動注入装置:	KMT-60A-II型	協和精密製作所製
データ処理装置:	C-R4A	島津製作所製
天秤:	AT-250	メトラー社製

## 4. 試験の実施

## (1) 用いた試験方法

試験液をフィルターに通した後、高速液体クロマトグラフにて定量した。

## (2) 試験装置

高速液体クロマトグラフ操作条件

カラム: Sumipax ODS A-212  
(粒径 5  $\mu$ m, 内径 6 mm, 長さ 15 cm)

移動相: アセトニトリル/水 = 2/3 (V/V)

カラム温度: 室温

流量: 1.0 mL/min

保持時間: 約 12.5 分

測定波長: 205 nm

注入量: 50  $\mu$ L

## (3) 試験液の分析

## 1) 検量線の作成

2,2'-アゾビス(2-メチルプロパニトリル)標準品約 30 mg を精密に秤り取り 30 mL 容メスフラスコに入れ、アセトニリルを加えて溶かし、定容とした。この液より一定量を採取し、蒸留水で希釈後、約 1, 5, 10, 20 mg/L の標準溶液を調製した。

4. (2) の条件に調整した高速液体クロマトグラフに注入し、それぞれの標準溶液のピーク面積と標準品の重量から検量線を作成し、最小自乗法により回帰直線式を求めた。

なお、検量線のバラツキの許容範囲は相関係数が、0.95 以上であることとした。

## 2) 試料の分析

- a. 試料は、15 mL 容遠沈管に満たした状態で試験委託者より受け取った。
- b. a. を被験物質の濃度が 1~20 mg/L になるように蒸留水で希釈し、フィルターに通したのち、4. (2) の測定条件にて絶対検量線法で濃度を求めた。

感度確認のため、測定終了後に標準溶液を注入し、感度変化のないことを確認した。

## 3) 検出限界

検出限界 = 1 mg/L

## 5. 試験結果

## (1) 添加回収試験結果

検出限界の 10 倍濃度 (10 mg/L) における回収試験を行ったところ、以下の結果が得られた。なお、変動係数は 10 % 以内であった。

設定濃度 mg/L	回収率 %	平均回収率 %
10.08	99.16	96.94
	97.85	
	93.82	

## (2) 試験液測定結果

設定濃度 mg/L	測定値 mg/L	
	0 時間	48 時間
対照区	<1	<1
助剤対照区	<1	<1
10	9.650	9.227

## 6. 試験成績の信頼性に及ぼしたと思われる環境要因

試験成績の信頼性に及ぼしたと思われる環境要因は特に認められなかった。

## 7. SOPまたは試験計画書からの逸脱

SOPまたは試験計画書からの逸脱は特に認められなかった。

## 8. 資料の保管

試験計画書、生データ、資料、最終報告書は、試験報告書作成後 10 年間、当社施設の資料保管室に保管する。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。

## 9. 添付資料

検量線

標準溶液のクロマトグラム

試料のクロマトグラム

Figure 1 Typical Calibration Curve of 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile)  
by HPLC Analysis

Input Data		
No.	Weight (n g)	Peak Area ( $\mu$ v · s e c)
1	50.20	4135
2	251.0	22107
3	502.0	44883
4	1004	89059

$$Y(\text{Peak Area}) = -187.7 + 89.05 X (\text{Weight})$$

$$r = 1.000$$

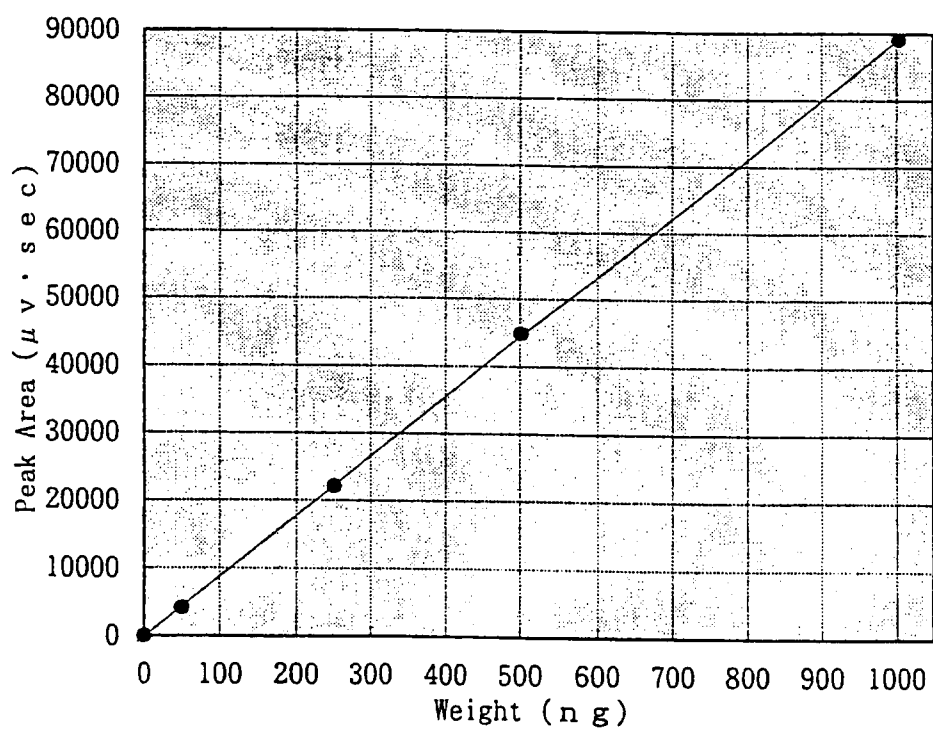
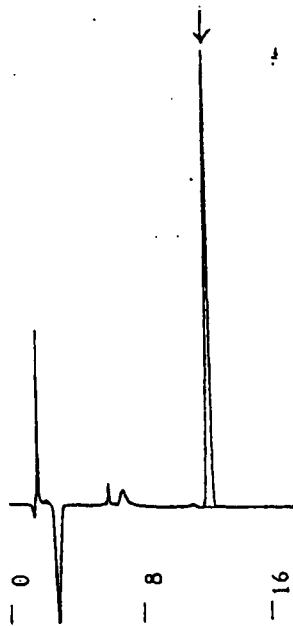


Figure 2 Representative Chromatograms

(1) Standard 10.04 mg/L

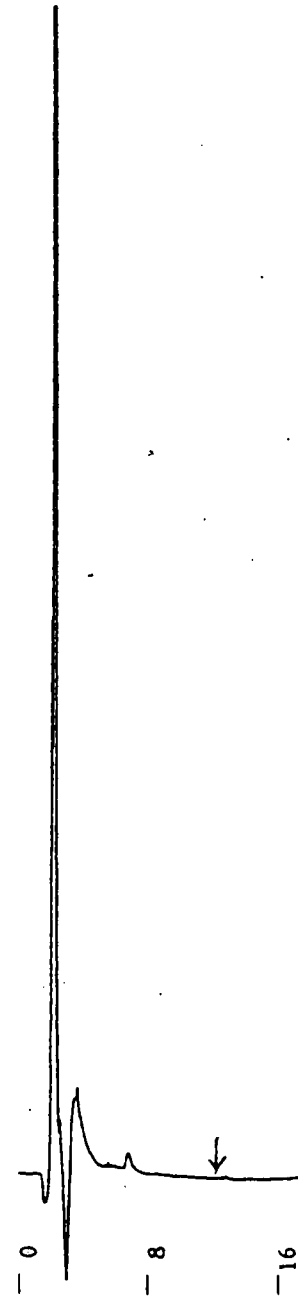
(2) Control: Hour 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=4 クロマト=2:970311.C04 97/03/11 16:29:55



** 定量計算結果 **					
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	NAME
1	1	12.14	44883	3109	
TOTAL			44883	3109	
					100
					100

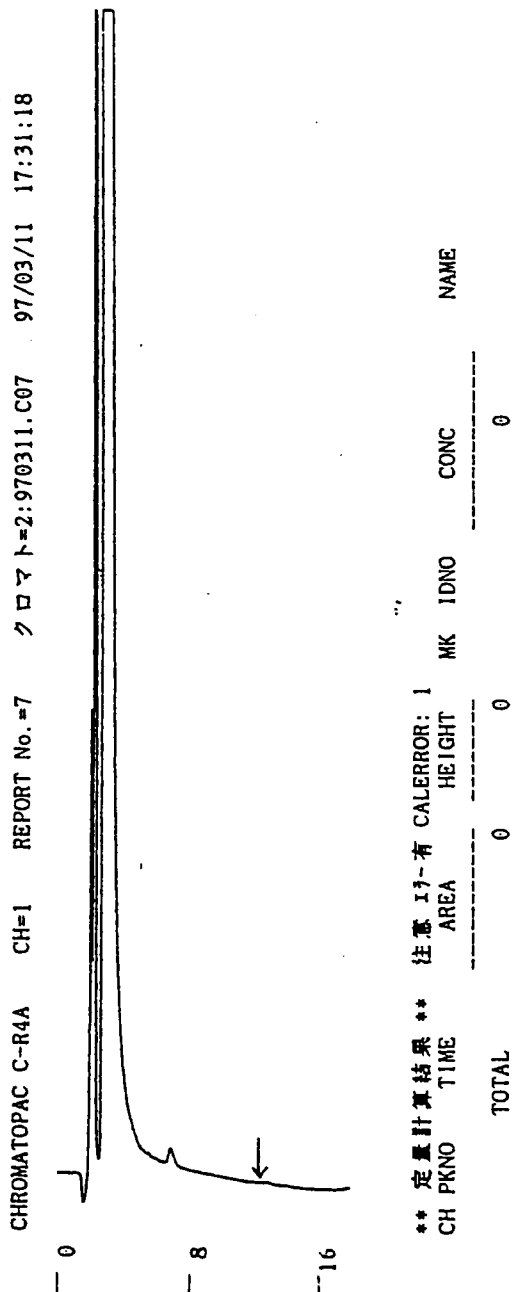
CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=6 クロマト=2:970311.C06 97/03/11 17:10:50



** 定量計算結果 ** 注意 17-有 CALERROR: 1					
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	NAME
			0	0	
TOTAL			0	0	
					0

Figure 2 Continued

(3) Solvent Control; Hour 0



(4) 10 mg/L nominal; Hour 0

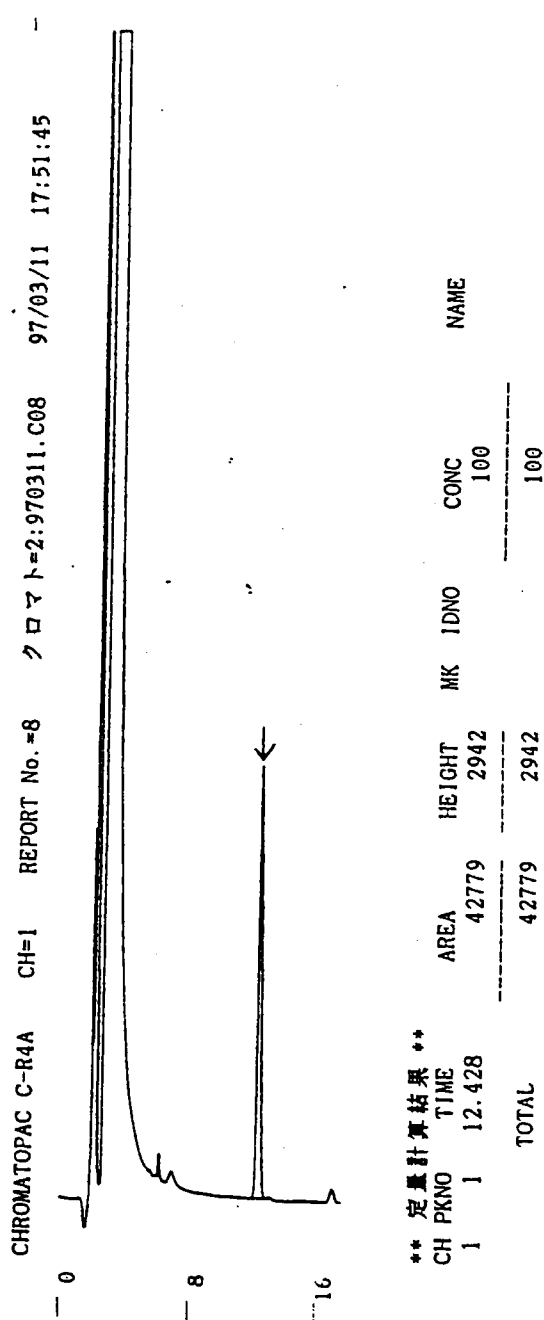
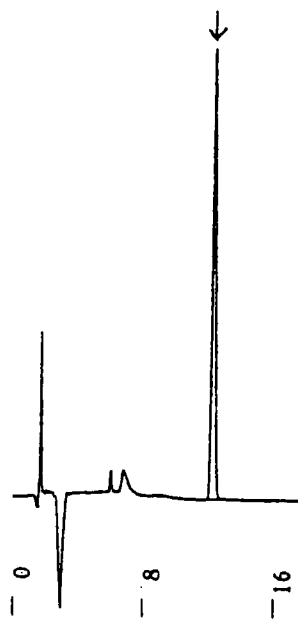




Figure 2 Continued

(5) Standard 10.04 mg/L

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=52 クロマト=2:970313.C04 97/03/13 11:25:07

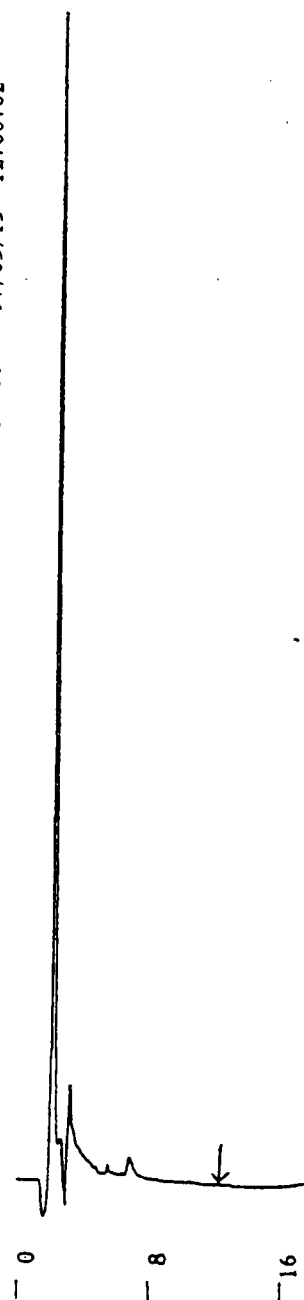


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	12.25	43932	3067			100	
TOTAL			43932	3067			100	

(6) Control: Hour 48

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=54 クロマト=2:970313.C06 97/03/13 12:06:02

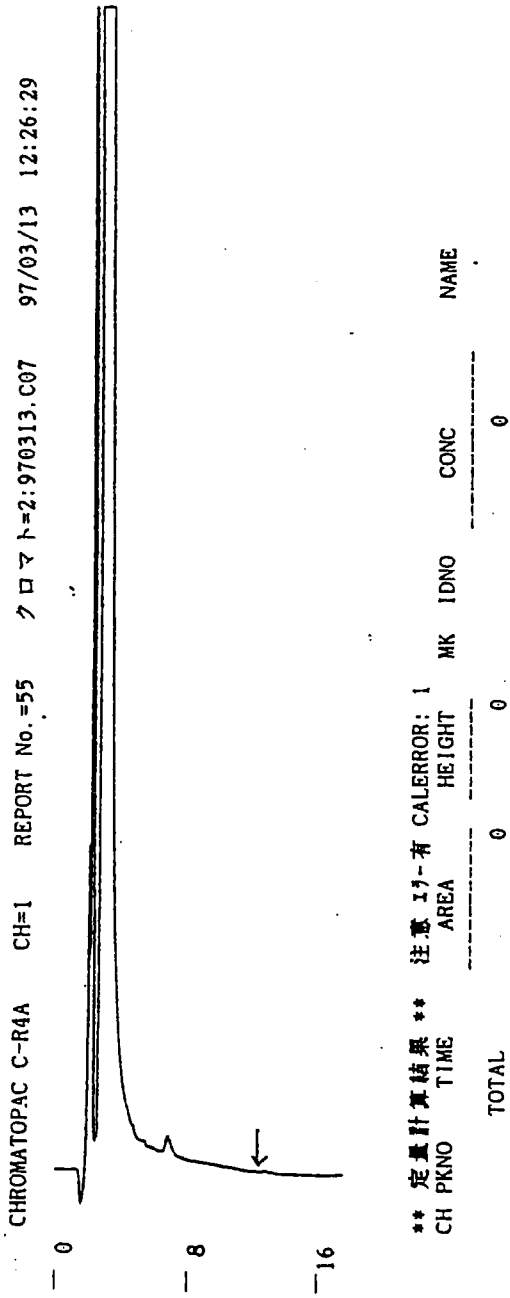


\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 17-有 CALERROR: 1

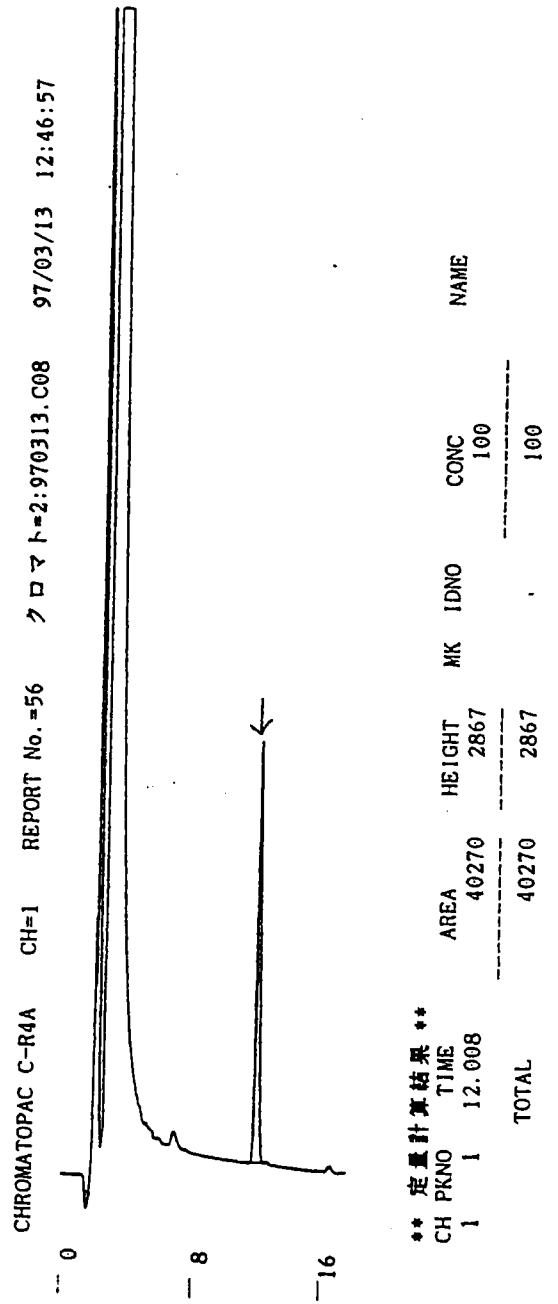
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
			0	0			0	
TOTAL			0	0			0	

Figure 2 Continued

(7) Solvent Control; Hour 48



(8) 10 mg/L nominal; Hour 48



付属資料－ 3

餌料の有機炭素含量測定  
(全5頁)

# 報 告 書

薬類懸濁液中の全有機炭素量測定  
(試験番号6001)

広栄テクノサービス株式会社

## 信頼性保証報告書

試験の種類

藻類懸濁液中の全有機炭素量測定

試験No. 6001

本試験は、「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」（昭和63年11月18日環企研第233号、衛生第38号及び63基局第823号）に従って適正に行われており、報告書には、試験で使用方法および手順が正確に記載され、報告結果は、試験の生データを正確に反映していることを保証する。

## 記

監査・査察の対象

監査・査察実施日

報告日

試験実施日

平成8年11月21日

平成8年11月21日

報告書監査

平成8年11月27日

平成8年11月27日

平成 8年11月28日

信頼性保証業務担当者

所属 広栄テクノサービス株式会社 大阪事業所

職 副事業所長

氏名



試験No.6001

表題：藻類懸濁液の全有機炭素量測定

試験期間

自：平成 8 年 11 月 19 日

至：平成 8 年 11 月 27 日

測定実施日

平成 8 年 11 月 21 日

試験機関の名称と所在地

広栄テクノサービス株式会社 大阪事業所  
大阪市城東区放出西2丁目12-13

運営管理者氏名

[REDACTED]

[REDACTED]

平成 8 年 11 月 27 日

試験責任者氏名

[REDACTED]

[REDACTED]

平成 8 年 11 月 27 日

試験担当者氏名

[REDACTED]

[REDACTED]

平成 8 年 11 月 27 日

報告書作成者名

[REDACTED]

[REDACTED]

最終報告書作成年月日

平成 8 年 11 月 27 日

KOEI TECHNO SERVICE

## 1. 測定試料

Chlorella vulgaris 1%懸濁液 (生クロレラ V12) Lot.Y-961119

## 2. 試料の前処理

- ①測定試料5mlを100mlのメスフラスコにホルビペットで取り、超純水<sup>\*1</sup>でメスアップした。  
 ②測定試料8mlを100mlのメスフラスコにホルビペットで取り、超純水<sup>\*1</sup>でメスアップした。

<sup>\*1</sup> 当GLP試験施設において管理している超純水  
 : MILLI-Q (ミリポア製超純水製造装置) による自製

## &lt;標準液の調製&gt;

TC標準液: 7,2,6-トリカルボキシ安息香酸0.085gを正確にはかり採り、超純水で100mlにメスアップする。これを更に4倍希釈したものを標準液とした。

IC標準液: 炭酸水素ナトリウム0.14g、炭酸ナトリウム0.177gを正確にはかり採り、超純水で100mlにメスアップする。これを更に4倍希釈したものを標準液とした。

## 3. 全有機炭素 (TOC) 分析測定結果

試料	TC 濃度 (mg/l)	IC 濃度 (mg/l)	TOC 濃度 (mg/l)
TC標準液	100.3	—	—
IC標準液	—	100.5	—
①Chlorella vulgaris 1%懸濁液 (20倍希釈)	52.6	0.0	52.6
②Chlorella vulgaris 1%懸濁液 (12.5倍希釈)	83.8	0.0	83.8

Chlorella vulgaris 1%懸濁液の全有機炭素濃度: ① $52.6 \times 20 = 1052$  (mg/l)  
 ② $83.8 \times 12.5 = 1048$  (mg/l)  
 平均: 1050 (mg/l)

## 4. 全有機炭素量測定条件

装置: TOC分析装置 TOC-500 (島津製作所製)  
 range:  $\times 10$   
 注入量: 30  $\mu$ l  
 触媒: TC触媒  
 キャリガス: 空気  
 流速: 150ml/min

## 5. データの解析に使用する統計学的方法

TOCのデータ処理は、分析計に付属するデータ処理装置で行った。  
 TOCの濃度 (mg/l) は、小数以下1桁に丸めて表示した。  
 数値を平均する場合は、算術平均とした。  
 数値の丸め方は、JIS Z 8401-1961による。

## 6. 添付資料

全有機炭素測定データ (生データ写し)

## 7. 資料の保管

当該試験に関する記録及び資料は 広栄テクノサービス (株) が保有する試資料保管室に保管する。

TOC-500 ANAL-CONDIT.  
 DATE 96.11.21  
 RANGE X10  
 FLOW 15X10ML/MIN  
 INJ-VOL 030MICRO.L  
 MEMO

T O C 分析 Lot. Y-961119  
*Chlorella vulgaris* 懸濁液 (1%)  
 試験 No. 6001

試験責任者

STD-HI 100.3

TC 01 020077  
 TC 02 020149  
 TC 03 020155

MEAN 020127

CAL.FACTOR

A 100.0  
 B 49.83

STD-LO 0.0

TC 01 000000  
 TC 02 000000  
 TC 03 000000

MEAN 000000

CAL.FACTOR

A 100.0  
 B 49.83

STD-HI 100.5

IC 01 020097  
 IC 02 020134  
 IC 03 020221

MEAN 020151

CAL.FACTOR

A 100.0  
 B 49.88

STD-LO 0.0

IC 01 000000  
 IC 02 000000  
 IC 03 000000

MEAN 000000

CAL.FACTOR

A 100.0  
 B 49.88

MEAN 000000 EDI96001 39/39

CAL.FACTOR

A 100.0  
 B 49.88

*Chlorella vulgaris* 懸濁液 (1%)

SMPL01 (20倍希釈)

TC 01 010489 52.3  
 TC 02 010660 53.1  
 TC 03 010501 52.3

MEAN 010550 52.6

*Chlorella vulgaris* 懸濁液 (1%)

SMPL01 (20倍希釈)

IC 01 000000 0.0  
 IC 02 000000 0.0  
 IC 03 000000 0.0

MEAN 000000 0.0

*Chlorella vulgaris* 懸濁液 (1%)

SMPL02 (12.5倍希釈)

TC 01 016814 83.8  
 TC 02 016871 84.1  
 TC 03 016779 83.6

MEAN 016821 83.8

*Chlorella vulgaris* 懸濁液 (1%)

SMPL02 (12.5倍希釈)

IC 01 000000 0.0  
 IC 02 000000 0.0  
 IC 03 000000 0.0

MEAN 000000 0.0

NO	TC	IC	TOC
01	52.6	0.0	52.6
02	83.8	0.0	83.8

NO VOC

END