

環境庁殿

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
[Redacted]

試 験 報 告 書

9, 10-アントラキノンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*)

に対する生長阻害試験

(試験番号：9 B 4 3 8 G)

2000年 4月28日作成

株式会社三菱化学安全科学研究所

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： 環境庁

表題： 9,10-アントラキノンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害
試験

試験番号： 9 B 4 3 8 G

本試験は環境庁のG L P規則に従って実施したものである。

2 0 0 0 年 4 月 2 8 日

運営管理者

[Redacted Signature]

[Redacted Stamp]

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： 環境庁

表題： 9,10-アントラキノンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻
害試験

試験番号： 9 B 4 3 8 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

	実施日	運営管理者および 試験責任者への報告日
試験実施状況査察	2000年 4月11日	2000年 4月11日
	2000年 4月14日	2000年 4月14日
試験報告書監査	2000年 4月28日	2000年 4月28日

2000年 4月28日

信頼性保証担当者：

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

試験実施概要

1. 表題： 9,10-アントラキノンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験
2. 試験目的： 被験物質の藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験を72時間行い、50%生長阻害濃度 (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. 201「藻類生長阻害試験」(1984年) に準拠して実施した。
4. 適用GLP： 本試験は環境庁のGLP規則に準拠した。
5. 試験委託者
名称： 環境庁
住所： 〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目2-2
委託担当者： 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 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

8. 試験関係者：

試験責任者

[REDACTED]

[REDACTED]

(2000年 4月28日)

試験担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(2000年 4月28日)

分析担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(2000年 4月28日)

9. 試験期間： 試験開始日 1999年11月16日
試験終了日 2000年 4月28日
暴露期間 2000年 4月11日～2000年 4月14日

10. 保管：

試験に関する下記の記録及び試資料は、試験報告書作成後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) 試験報告書
- 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	10
3.1 試験条件	10
3.2 培地	10
3.3 試験容器, 藻類培養試験装置および機器等	11
3.4 試験濃度の設定	11
3.5 試験液の調製	12
3.6 試験液の分析	12
3.7 試験操作	12
4 結果の算出	13
4.1 生長曲線	13
4.2 生長阻害率の算出	13
4.3 50%生長阻害濃度 (EC50) の算出	14
4.4 最大無作用濃度 (NOEC)	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 生長曲線	15
5.4 50%生長阻害濃度 (EC50) および最大無作用濃度 (NOEC)	15
5.5 温度およびpH	16
Table 1~6	17~21
Figure 1	22
付属資料-1 OECD培地	23~24
付属資料-2 試験液の分析方法	25~31

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題

9, 10-アントラキノンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験

試験番号

9 B 4 3 8 G

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: 9, 10-アントラキノン
- 2) 暴露方式: 止水式, 振とう培養 (100rpm)
- 3) 供試生物: *Selenastrum capricornutum* (ATCC22662)
- 4) 暴露期間: 72時間
- 5) 試験濃度 (設定値):
対照区, 助剤対照区, 0.400 mg/L (分散可能最高濃度のみの限度試験)
(助剤濃度一定: 100 mg/L, テトラドローファン使用)
- 6) 試験液量: 100 mL (OECD培地) / 容器
- 7) 連数: 3 容器 / 濃度区
- 8) 初期細胞濃度: 1×10^4 cells/mL
- 9) 試験温度: 23 ± 2 °C
- 10) 照明: 4000 lux (±20%の変動内, フラスコ液面付近) で連続照明
- 11) 分析法: HPLC法

結 果

1) 試験液中の被験物質濃度

被験物質の測定濃度が開始時において設定値の±20%を超えなかったため、下記の生長障害濃度の算出には設定値を採用した。

2) 生長曲線下面積の比較による障害濃度

50%生長障害濃度 EbC50 (0-72) : >0.400 mg/L

最大無作用濃度 NOECb (0-72) : >0.400 mg/L

3) 生長速度の比較による障害濃度

50%生長障害濃度 ErC50 (24-48) : >0.400 mg/L

最大無作用濃度 NOECr (24-48) : >0.400 mg/L

50%生長障害濃度 ErC50 (24-72) : >0.400 mg/L

最大無作用濃度 NOECr (24-72) : >0.400 mg/L

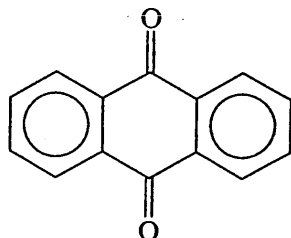
1 被験物質

1.1 名称, 構造式および物理化学的性状

名 称 : 9,10-アントラキノン (ATQ)

CAS No. : 84-65-1

構造式 :



分子式 : $C_{14}H_8O_2$

分子量^{*1} : 208.2

沸点^{*1} : 379~381℃

融点^{*1} : 286℃

水溶解度 : 0.257mg/L (室温) (当社測定値)

比重^{*1} : 1.4 (20℃)

オクタノール/水分配係数 (log P) ^{*1} : 3.39

安定性^{*2} : 通常の取扱条件下で安定, 酸化剤との接触に注意

その他^{*2} : 生分解性良好

*1: Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals, 3rd ed.

ed. by Verschuieren, 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} : 99.4% (GC法)

ロット番号^{*1} : FGB01

供給者 : XXXXXXXXXX

供給量^{*1} : 50 g

入手日 : 1999年9月3日

外観^{*1} : 淡黄色粉体

*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

被験物質は当研究所の冷蔵庫に保管した。

入手した被験物質の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。試験終了後にも赤外吸収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。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安定であったと判断された。

2 供試生物

- 1) 学名: *Selenastrum capricornutum*
- 2) 入手先: American Type Culture Collection
- 3) 入手株番号: ATCC22662株
- 4) 入手日: 1996年6月20日
- 5) 入手後の管理: Gorham培地を用い無菌的に継代培養
- 6) 感受性の確認: 基準物質（重クロム酸カリウム，試薬特級）による72時間50%藻類生長阻害濃度（EbC50）=0.423 mg/L（この値は当研究所における1996年11月以降の EbC50値 0.285～0.486 mg/L，n=5 の範囲内にある。）
- 7) 前培養: 前培養期間；2000年4月7日～2000年4月11日
この間，藻類は対数増殖した。（環境条件は試験と同様）

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式: 止水式，振とう培養（100rpm）
- 2) 暴露期間: 72時間
- 3) 試験液量: 100 mL（OECD培地，3.2参照）／容器
- 4) 連数: 3 容器／濃度区
- 5) 初期細胞濃度: 前培養した藻類 1×10^4 cells/mL
- 6) 試験温度: 23 ± 2 °C
- 7) 照明: 4000 lux（ $\pm 20\%$ の変動内，フラスコ液面付近）で連続照明

3.2 培地

前培養および試験ともに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。成分表を付属資料－1に示した。

3.3 試験容器，藻類培養試験装置および機器等

- 1) 試験容器： 300 mL容ガラス製三角フラスコ（通気性のシリコン栓付）
- 2) 藻類培養試験装置： 伊藤製作所製 AGP-150RL型
- 3) 光学顕微鏡： ニコン製 ECLIPSE TE300型
- 4) 粒子計数装置： シスメックス製 CDA-500型
- 5) 粒子計数装置用電解液： シスメックス製 セルパック
- 6) pH計： 東亜電波工業製 卓上pH計 HM-40V型
- 7) 温度計： Tasco Japan 製 TNA-120型
- 8) 照度計： トプコン製 IM-2D型

3.4 試験濃度の設定

以下の表に示す予備試験（各1連）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， 助剤対照区， 0.400 mg/L（分散可能最高濃度のみの限度試験）

予備試験結果

濃度 (mg/L)	対照区に対する 72時間後の生長率 (%)	助剤対照区に対する 72時間後の生長率 (%)
対照区	100	--
助剤対照区	86	100
0.004	67	78
0.040	89	103
0.400	96	112

3.5 試験液の調製

被験物質を 100 mg 精秤し、テトラヒドロフラン 25000 mgに溶解後、100 μ L採取し、攪拌している培地に添加した。これを 1000 mLに定容し、被験物質濃度 0.4 mg/Lの被験物質溶液を調製した。同時に被験物質を含まない助剤溶液 100 mg/L（テトラヒドロフラン 100 mg/L）を調製した。

この被験物質溶液を 100 mL添加し、被験物質濃度 0.4 mg/Lの試験液とした。対照区は培地のみとし、助剤対照区には助剤のみを含むもの（助剤濃度：100 mg/L）を調製した。

3.6 試験液の分析

暴露開始時（0hr）には各濃度区 3 個の試験容器より試験液を 2.0 mLずつ採取して混合したものを分析試料とした。終了時（72hr）には、各濃度区 3 個の試験容器より試験液を 2.0 mLずつ採取して混合し、藻類を遠心分離（3000rpm, 10分間）後の上澄み液を分析試料とした。

各分析試料 0.75 mLにアセトニトリルを等量加え、混合後、HPLC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

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 ± 2 °Cの培養装置に設置し試験を開始し、24、48および72時間後に細胞濃度を測定した。細胞濃度は各試験容器より試験液 1.0 mL（72hrでは0.5mL）を採取し、粒子計数装置用電解液（セルパック）9.0 mL（72hrでは9.5mL）と混合した後、粒子計数装置（CDA-500）により計測した。

試験液各濃度区におけるpHを、暴露開始時には各濃度区 3 容器とは別に調製した予備 1 容器について測定し、暴露終了時（72hr）には 3 容器のうち 1 容器（No.1）について測定した。暴露期間中、培養装置内の温度、照度を少なくとも 1 日 1 回測定した。

4 結果の算出

4.1 生長曲線

各試験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 生長阻害率の算出

下記の方法（面積法および速度法）で生長阻害率を算出した。

1) 生長曲線下の面積の比較（面積法）による生長阻害率（ I_A ）

生長曲線下の面積は次の式により算出した。

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

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（または助剤対照区）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

2) 生長速度の比較（速度法）による生長阻害率（ I_m ）

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 (または助剤対照区) の平均生長速度

μ_t : 各濃度区における平均生長速度

4.3 50%生長阻害濃度 (EC50) の算出

用いた濃度区が1つ (0.400 mg/Lの限度試験) であり, この濃度区での藻類生長阻害 (IA値および I_m 値, 助剤対照区との比較に基づく) が50%未満の場合, 50%生長阻害濃度 (EC50) は算出できないため, >0.400 mg/Lと表記した。その際, 面積法により求めた場合はEbC50 (0-72), 速度法により求めた場合はErC50 (24-48) またはErC50 (24-72) とした。

4.4 最大無作用濃度 (NOEC)

助剤対照区と比較する区が1濃度区であるため, F検定 ($\alpha=0.05$) を行い等分散性を確認後, Studentの t 検定 ($\alpha=0.05$, 両側) を行い, 助剤対照区と比較して有意差が認められない場合, 最大無作用濃度 (NOEC) は>0.400 mg/Lと表記した。その際, 面積法により求めた場合はNOECb (0-72), 速度法により求めた場合はNOECr (24-48) またはNOECr (24-72) とした。

以上の統計解析には Yukms ソフトウェア Statlight「#3 2群の比較」(Yukms Corp., 東京) を用いた。

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

試験開始時および72時間後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。

開始時における濃度が設定濃度に対して±20%を超える分析結果ではなかったため、以下の各影響濃度の算出には設定値を採用した。

暴露72時間の被験物質濃度は 0.003 mg/Lであり、設定値に対する割合は 1 %であった。被験物質は揮発性が低く、水に難溶のため、濃度減少の主な原因は析出・沈殿または藻体への移行ではないかと思われた。

5.3 生長曲線

暴露期間中の細胞濃度をTable 2および生長曲線を Figure 1に示した。

対照区および助剤対照区における細胞濃度は72時間の培養でそれぞれ平均 301倍、275倍増加し、試験条件下で正常な生長を示した。また、0.400 mg/L区で 300倍の生長を示した。

5.4 50%生長阻害濃度 (EC50) および最大無作用濃度 (NOEC)

各濃度区における生長阻害率を Table 3 に、50%生長阻害濃度 (EC50) および最大無作用濃度 (NOEC) を Table 4 に示した。以上の結果から、以下の結論を得た。

1) 生長曲線下面積の比較による阻害濃度

EbC50 (0-72) : >0.400 mg/L

NOECb (0-72) : >0.400 mg/L

2) 生長速度の比較による阻害濃度

ErC50 (24-48) : >0.400 mg/L

NOECr (24-48) : >0.400 mg/L

ErC50 (24-72) : >0.400 mg/L

NOECr (24-72) : >0.400 mg/L

5.5 温度およびpH

72時間の暴露期間中の培養試験器内の温度を Table 5に、試験液のpHをTable 6に示した。

温度は設定範囲 ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) 内であった。試験液のpHは暴露開始時が 7.9~8.0 であり、試験終了時が 9.5~9.9 であった。炭酸同化が盛んに行われ藻類の生長率が高ければ、pH が1以上増加することがある。今回は、全試験区でpHが1以上増加した。

以 上

Table 1. Measured Concentrations of the Test Substance in Test Water

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)			
	0 Hour	Percent of Nominal	72 Hour	Percent of Nominal
Control	<0.001	--	<0.001	--
Solvent Control.	<0.001	--	<0.001	--
0.400	0.416	104	0.003	1

Table 2. Cell Densities of *Selenastrum capricornutum* during the 72-Hour Exposure

Nominal Concentration mg/L	Vessel No.	Cell Densities (cells/mL)			
		0 Hour	24 Hours	48 Hours	72 Hours
Control	1	10000	71300	448600	3118800
	2	10000	72800	453600	3088800
	3	10000	72000	427600	2828800
	Average	10000	72000	443300	3012100
	SD	0	800	13800	159500
Solvent. cont.	1	10000	76800	486600	2798800
	2	10000	68300	466600	2898800
	3	10000	58500	407600	2548800
	Average	10000	67900	453600	2748800
	SD	0	9200	41100	180300
0. 400	1	10000	66800	480600	3208800
	2	10000	70900	488600	3168800
	3	10000	56300	435600	2628800
	Average	10000	64700	468300	3002100
	SD	0	7500	28600	323900

SD= Standard deviation

Table 3. Percent Growth Inhibition of *Selenastrum capricornutum*

Nominal Conc. (Measured Conc. at 0Hr)		Area under the growth curves		Growth Rate			
mg/L	No.	Area A (0-72h)	Inhibition (%) *1 I A (0-72h)	Rate μ (24-48h)	Inhibition (%) *1 I m (24-48h)	Rate μ (24-72h)	Inhibition (%) *1 I m (24-72h)
Control	1	49303000		0.0766		0.0787	
	2	49099000		0.0762		0.0781	
	3	45336000		0.0742		0.0765	
	Average	47913000	—	0.0757	—	0.0778	—
	SD	2234000		0.0013		0.0011	
Solvent cont.	1	46507000		0.0769		0.0749	
	2	47023000		0.0801		0.0781	
	3	41172000		0.0809		0.0786	
	Average	44901000	—	0.0793	—	0.0772	—
	SD	3239000		0.0021		0.0020	
0.400 (0.416)	1	51043000		0.0822		0.0807	
	2	50854000		0.0804		0.0792	
	3	42751000		0.0853		0.0801	
	Average	48216000	-7.4	0.0826	-4.2	0.0800	-3.6
	SD	4734000		0.0025		0.0008	

*1 Values are the percent inhibition relative to the solvent control.

SD Standard deviation

* Indicates a significant difference ($\alpha=0.05$) from the solvent control.
(There was no sign in this test.)

** Indicates a significant difference ($\alpha=0.01$) from the solvent control.
(There was no sign in this test.)

Table 4. Calculated EC50 and NOEC

Based on I_A (0-72h) value (Areas under growth curve)

Ec50 (0-72) (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	NOECb (0-72) (mg/L)
>0.400	--	>0.400

Based on I_m (24-48h) value (Growth rates)

ErC50 (24-48) (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	NOECr (24-48) (mg/L)
>0.400	--	>0.400

Based on I_m (24-72h) value (Growth rates)

ErC50 (24-72) (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	NOECr (24-72) (mg/L)
>0.400	--	>0.400

The EC50 values and associated 95% confidence limits could not be determined by least squares linear regression analysis because the test was conducted at one concentration level.

The NOEC values were determined by Student's t-test, subsequent to F test for homogeneity of variances. Statistical analyses were performed using Yukms Statlight #3 software (Yukms Corp., Tokyo) and all tests of significance were at $\alpha=0.05$.

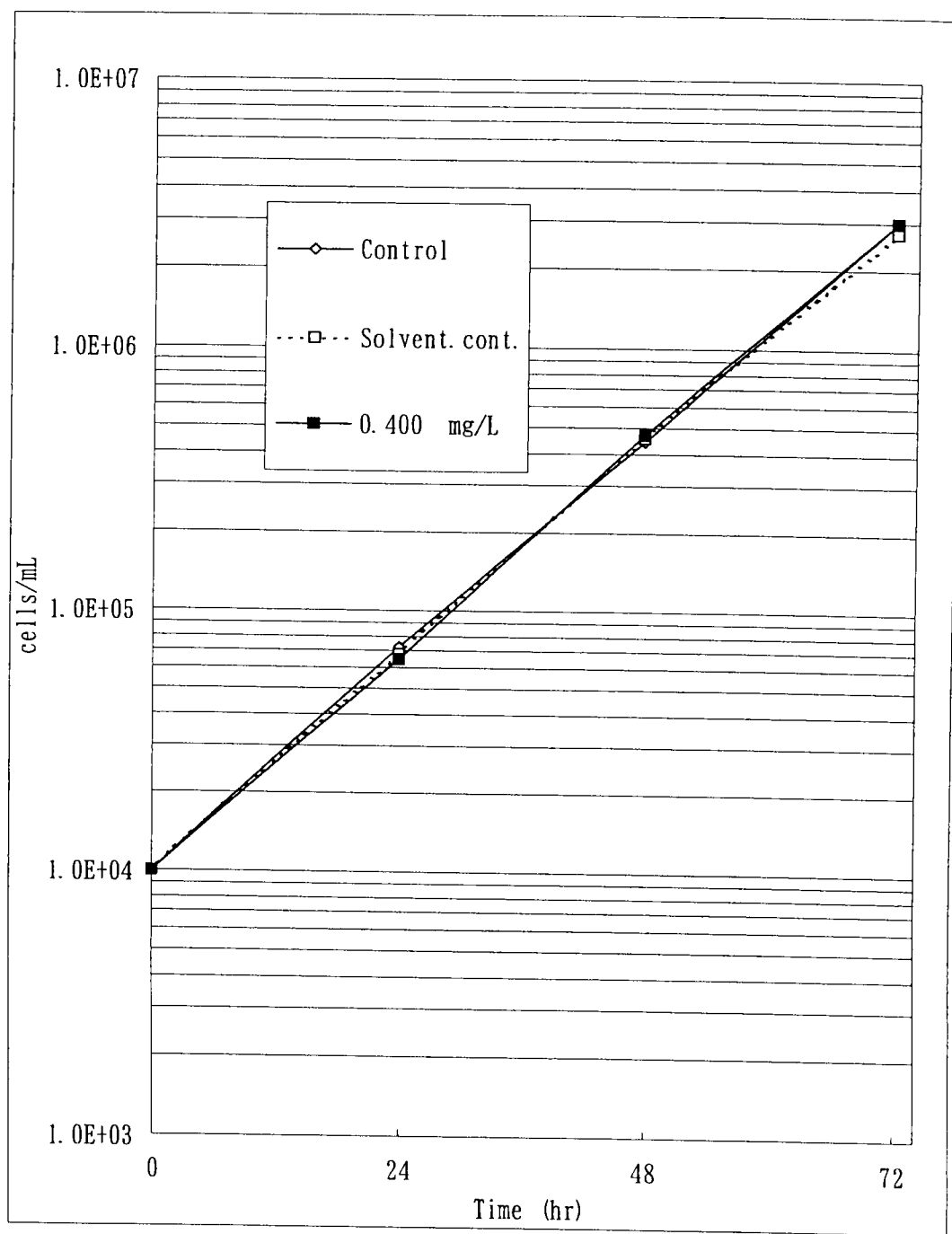
Table 5. Temperature in the Incubation Chamber

Exposure Period (Hours)	Temperature (°C)
0	23. 0
24	24. 3
48	24. 7
72	23. 7

Table 6. pH Values

Nominal Concentration mg/L	pH		
	0 Hour	72 Hour (Vessel No.)	
Control	7. 9	9. 6	(1)
Solvent control	8. 0	9. 9	(1)
0. 400	7. 9	9. 5	(1)

Figure 1 Algal Growth Curve of *Selenastrum capricornutum*
(Mean cell counts vs time during the 72-hour exposure)



Values in legend are given in the nominal concentration.

付属資料－1

OECD培地

Table A-1 OECD medium

<u>Nutrient salts</u>	<u>Concentration (mg/L)</u>
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

付属資料－ 2

試験液の分析方法

試験液の分析方法

1 試験液の分析方法

- 1) 各濃度区 3 個の試験容器より試験液 2.0 mL ずつを採取して 10 mL 容ガラス沈殿管で混合した。

暴露開始時はこれを分析試料とした。

暴露終了時はこれを遠心分離* (3000 rpm, 10 分間) し、藻類を分離した上澄み液を分析試料とした。

* 装置: 日立製 CR 2 1 E

- 2) 各分析試料を HPLC 測定用バイアルに直接 0.75 mL 採取し、アセトニトリルを 0.75 mL 加え混合したものを HPLC 測定試料とした。

標準液 (アセトニトリル溶液) は HPLC 測定用バイアルに直接 0.75 mL 採取し、これに 0.75 mL の水を加え混合したものを用いた。

2 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 測定条件

(装置)

高速液体クロマトグラフ:	日立製作所製 L-7000型 (No. 1)
ワークステーション:	Windows NT 及び D-7000型HPLCシステムマネージャ
パソコン:	COMPAQ PROLINEA 590, ディスプレイ; 171FS
プリンター:	Canon製 LASER SHOT LBP-A404F
ポンプ:	L-7100型 (2台)
カラムオープン:	L-7300型
オートサンプラ:	L-7200型
検出器:	L-7400型
データ処理装置:	D-7000型

(条件)

カラム:	Inertsil ODS-3V, 5 μ m, 4.6 x150 mm (GL Sciences Inc.)
溶離液:	Acetonitrile 80 %, Water 20 %
流速:	1.0 mL/min
測定波長:	251 nm
試料注入量:	20 μ L
カラムオープン温度:	40.0 $^{\circ}$ C

3 検量線

被験物質の 500 mg/L アセトニトリル溶液を調製し、アセトニトリルで順次希釈し、0, 0.010, 0.020, 0.050, 0.100, 0.200, 0.500, 1.00 mg/Lの標準溶液を調製した。この標準溶液を一定量採取し水で等量希釈したものをHPLC測定した。横軸に濃度を (mg/L), 縦軸にピーク面積 (count表示) 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 100 countに設定し、これに相当する試験液中の被験物質濃度 0.001 mg/Lを検出限界とした。

5 添加回収試験

試験液の分析は、「1 試験液の分析方法」に示したように試験液とアセトニトリルを混合する操作だけであるので添加回収試験の必要は無かった。したがって、回収率の補正は行っていない。

Figure A-2-1 Calibration Curve

Input Data		
No	Concentration (mg/L)	Peak Area (count)
1	0	0
2	0.010	995
3	0.020	1964
4	0.050	5088
5	0.100	10282
6	0.200	21298
7	0.500	54260
8	1.00	107263

$$Y = 107,432X$$

$$r = 1.000$$

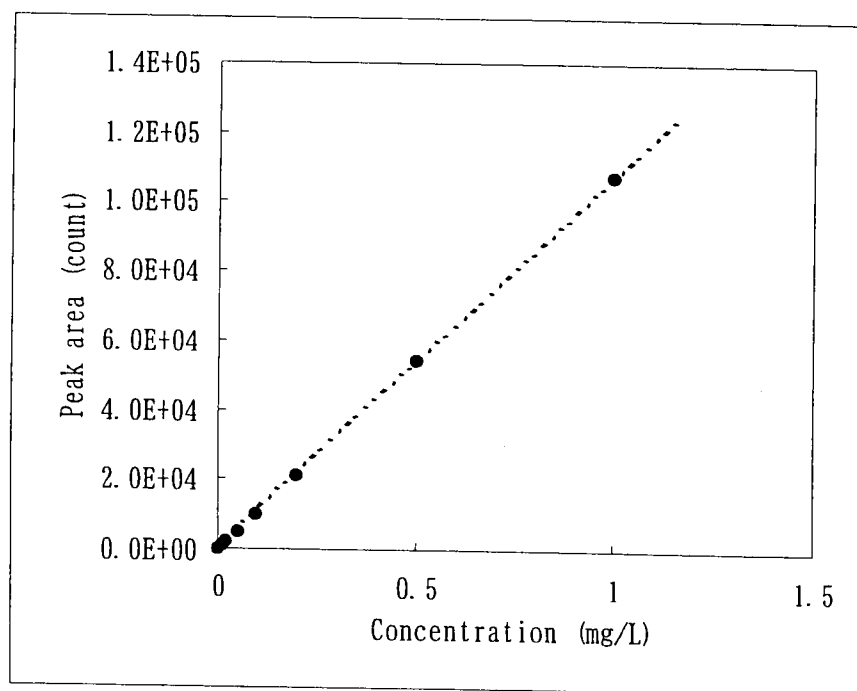
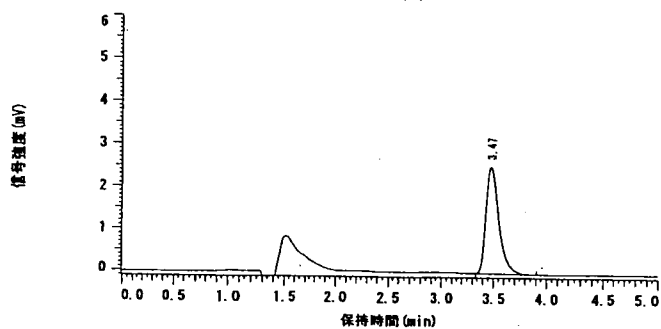


Figure A-2-2 Representative chromatograms

(1) Standard 0.200 mg/L ; 0 hr

分析日時: 00/04/11 12:31 作成日時: 00/04/11 13:09
 データ処理用分析ファイル: ATQ(9B416G) プリケーション: ATQ
 シリアル: 0125 バイタル: 5
 サンプル名: Std. 0.2mg/L_Oday バイタル: UNK
 注入量: 20.0 ul 注入回数: 1
 サンプルロット:

クロマトタイプ: HPLC チャンネル: 1



ピーク定量: 面積

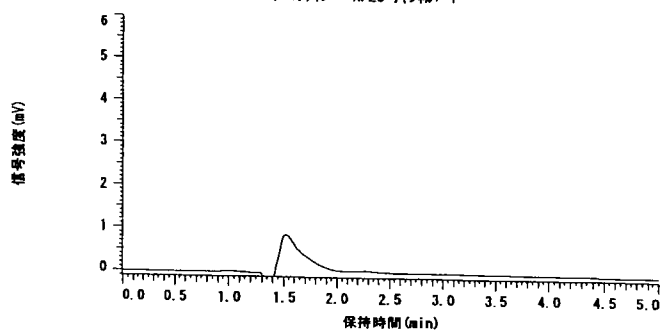
定量計算方法: 面積%

NO	保持時間	高さ	面積	面積%	BC
1	3.47	2532	21283	100.000	BB
		2532	21283	100.000	

(2) Solvent Control ; 0 hr

分析日時: 00/04/11 12:14 作成日時: 00/04/11 13:09
 データ処理用分析ファイル: ATQ(9B416G) プリケーション: ATQ
 シリアル: 0123 バイタル: 3
 サンプル名: Cs_Oday バイタル: UNK
 注入量: 20.0 ul 注入回数: 1
 サンプルロット:

クロマトタイプ: HPLC チャンネル: 1



ピーク定量: 面積

定量計算方法: 面積%

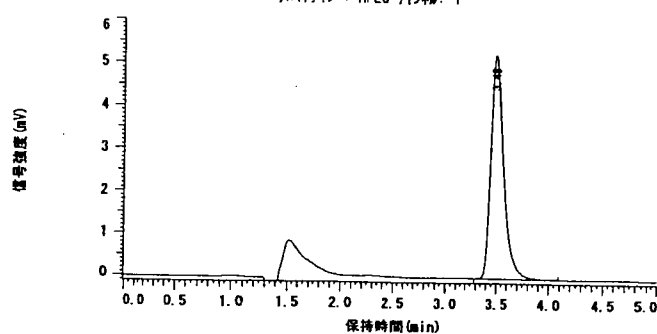
NO	保持時間	高さ	面積	面積%	BC
	0	0	0	0.000	

Figure A-2-2 Continued

(3) 0.400 mg/L nominal ; 0 hr

分析日時: 00/04/11 12:22 作成日時: 00/04/11 13:08
 データ処理用分析ファイル: ATQ(9B416G) マシナリ: ATQ
 シリーズ: 0124 バイタル: 4
 サンプル名: conc. 1_0day バイタル: UNK
 注入量: 20.0 ul 注入回数: 1
 サンプルポイント:

クロマトタイプ: HPLC チャンネル: 1



ピーク定量: 面積

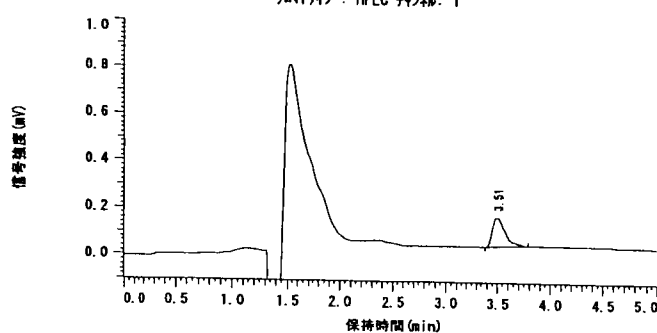
定量計算方法: 面積%

NO	保持時間	高さ	面積	面積%	BC
1	3.48	5232	44272	100.000	MC
		5232	44272	100.000	

(4) Standard 0.010 mg/L ; 72 hr

分析日時: 00/04/14 15:45 作成日時: 00/04/14 16:01
 データ処理用分析ファイル: ATQ(9B416G) マシナリ: ATQ
 シリーズ: 0141 バイタル: 9
 サンプル名: Std. 0.01mg/L バイタル: UNK
 注入量: 20.0 ul 注入回数: 1
 サンプルポイント:

クロマトタイプ: HPLC チャンネル: 1



ピーク定量: 面積

定量計算方法: 面積%

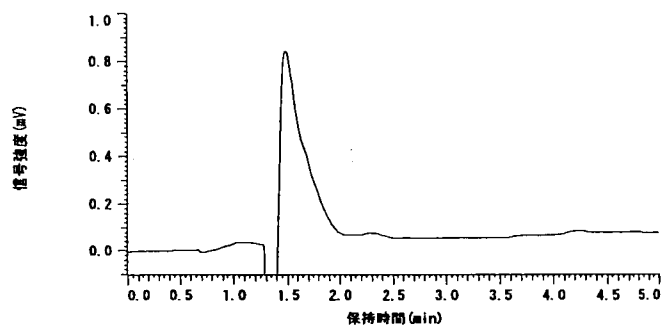
NO	保持時間	高さ	面積	面積%	BC
1	3.51	122	1011	100.000	MC
		122	1011	100.000	

Figure A-2-2 Continued

(5) Solvent Control ; 72 hr

分析日時: 00/04/14 14:37 作成日時: 00/04/14 14:57
 データ処理用分析ファイル: ATO(9B416G) アプリケーション: ATO
 シート: 0135 バイタル: 5
 サンプル名: Cs_72hr バイタル: UNK
 注入量: 20.0 ul 注入回数: 1
 サンプルコメント:

クロマトグラフ: HPLC チャンネル: 1



ピーク定量: 面積

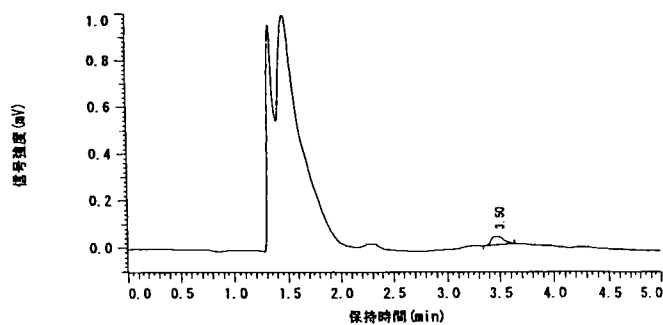
定量計算方法: 面積%

NO	保持時間	高さ	面積	面積%	BC
	0	0	0	0.000	

(6) 0.400 mg/L nominal ; 72 hr

分析日時: 00/04/14 15:09 作成日時: 00/04/14 15:25
 データ処理用分析ファイル: ATO(9B416G) アプリケーション: ATO
 シート: 0139 バイタル: 6
 サンプル名: conc. 1_72hr バイタル: UNK
 注入量: 20.0 ul 注入回数: 1
 サンプルコメント:

クロマトグラフ: HPLC チャンネル: 1



ピーク定量: 面積

定量計算方法: 面積%

NO	保持時間	高さ	面積	面積%	BC
1	3.50	34	286	100.000	MC
		34	286	100.000	