



## 最 終 報 告 書

2-クロロ-4-ニトロアニリン（被験物質番号 K-246B）の1-オクタノールと水との間の  
分配係数試験（HPLC法）

（試験番号：805506）

2006 年 12 月 26 日

財団法人化学物質評価研究機構

化学物質評価研究機構

## 陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構  
久留米事業所

試験委託者 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 2-クロロ-4-ニトロアニリン (被験物質番号 K-246B) の1-オクタノール  
と水との間の分配係数試験 (HPLC法)

試験番号 805506

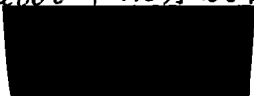

上記試験は以下のGLPに従って実施したものです。

- (1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」 (平成15年11月21日、薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号、平成17年4月1日 一部改正) に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」 (November 26, 1997)

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認しています。

2006年12月26日

試験責任者

## 信 頼 性 保 証 書

財団法人 化学物質評価研究機構  
久留米事業所

試験委託者 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 2-クロロ-4-ニトロアニリン（被験物質番号 K-246B）の1-オクタノール  
と水との間の分配係数試験（HPLC法）

試験番号 805506

本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証します。

なお、監査又は査察の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告しました。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2006 年 12 月 6 日	2006 年 12 月 6 日
試験計画書	2006 年 12 月 7 日	2006 年 12 月 7 日
試験操作時	2006 年 12 月 12 日	2006 年 12 月 13 日
生データ、最終報告書草案	2006 年 12 月 22 日	2006 年 12 月 22 日
最終報告書	2006 年 12 月 26 日	2006 年 12 月 26 日

2006 年 12 月 26 日

信頼性保証部門責任者

## 目 次

	頁
表 題 .....	1
試験委託者 .....	1
試験施設 .....	1
試験目的 .....	1
試験法 .....	1
適用 GLP .....	1
試験日程 .....	2
試資料の保管 .....	2
試験関係者 .....	2
最終報告書の承認 .....	2
要 約 .....	3
1. 被 験 物 質 .....	5
2. 試験の実施 .....	7
3. 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 .....	9
4. 試験結果 .....	10
5. 備 考 .....	11

## Table

Table-1	Calculation table for partition coefficient by HPLC method
---------	--

## Figures

Fig.1	Calibration curve for partition coefficient by HPLC method
Fig.2	Chromatograms of HPLC analysis for partition coefficient by HPLC method
Fig.3	UV-VIS spectrum of test item
Fig.4-1	IR spectrum of test item measured before experimental start
Fig.4-2	IR spectrum of test item measured after experimental completion

表 題	2-クロロ-4-ニトロアニリン（被験物質番号 K-246B）の1-オクタノールと水との間の分配係数試験（HPLC法）
試験委託者	独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構 （〒212-8554）神奈川県川崎市幸区大宮町1310番
試験施設	財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所 （〒839-0801）福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号
試験目的	K-246Bの1-オクタノールと水との間の分配係数について知見を得る。
試験法	<p>本試験は「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成15年11月21日、薬食発第1121002号、平成15・11・13製局第2号、環保企発第031121002号、平成17年4月1日 一部改正）〈1-オクタノールと水との間の分配係数測定試験〉に規定する以下の試験法に従って行った。</p> <p>「OECD Guidelines for the Testing of Chemicals」に定める "Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method (Guideline 117, April 13, 2004)"</p>
適用 GLP	<p>本試験は以下の基準を適用した。</p> <p>(1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成15年11月21日、薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号、平成17年4月1日 一部改正）に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」</p> <p>(2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)</p>

## 試験日程

試験開始日	2006年12月7日
実験開始日	2006年12月12日
実験終了日	2006年12月12日
試験終了日	2006年12月26日

## 試資料の保管

## (1) 被験物質

同一ロットの供試試料が分解度試験（試験番号：205121）終了後すでに保管されているため、本試験終了後には保管しない。

## (2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、試験委託書、その他必要な資料等は最終報告書と共に、試験委託者から通知を受けるまでの期間、久留米事業所資料保管室に保管する。

## 試験関係者

試験責任者

\_\_\_\_\_  
所属 試験第三課

試験担当者

(分配係数試験の実施)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## 最終報告書の承認

2006年12月26日

試験責任者

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## 要 約

## 試験の表題

2-クロロ-4-ニトロアニリン（被験物質番号 K-246B）の1-オクタノールと水との間の分配係数試験（HPLC法）

## 試験条件

## (1) 試験装置

高速液体クロマトグラフ

溶離液：メタノール／りん酸緩衝液（pH8.0）<sup>\*1</sup>（1/1 V/V）

\*1 10mmol/Lりん酸二水素カリウム溶液を0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH8.0に調整した。

## (2) 試験温度

25±1℃

## 試験結果

## (1) 測定結果

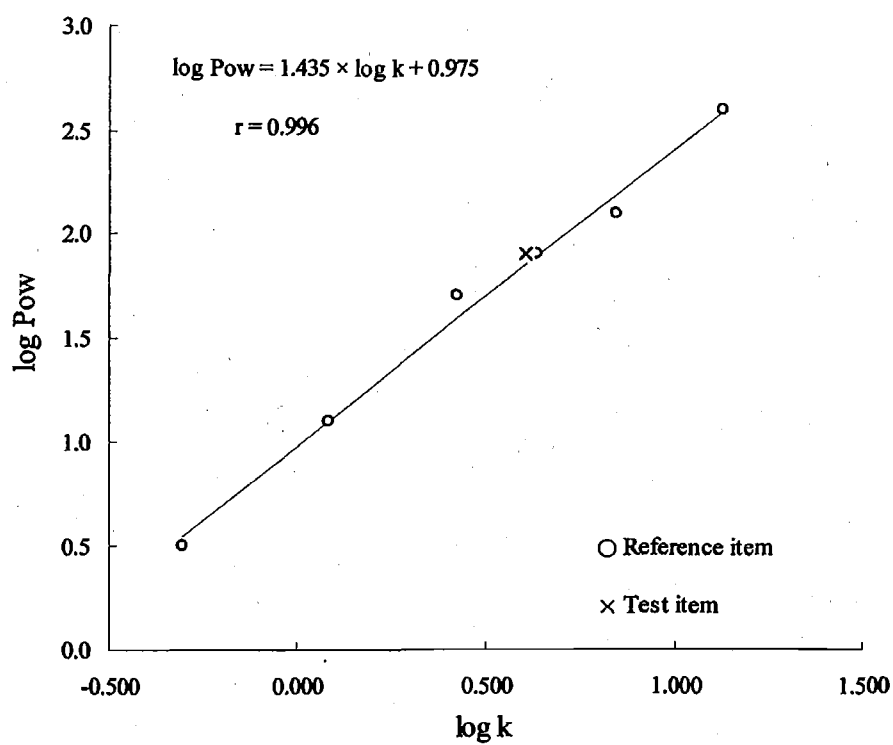
	測定物質名称	tr	k	log k	log Pow
標準物質	(デッドタイム測定用:to)	1.98	Average to = 1.98		
	チオ尿素	1.98			
	4-アセチルピリジン	2.97	0.500	-0.301	0.5
		2.97	0.500	-0.301	0.5
	ベンジルアルコール	4.38	1.212	0.084	1.1
		4.38	1.212	0.084	1.1
	アセトフェノン	7.30	2.687	0.429	1.7
		7.30	2.687	0.429	1.7
	ニトロベンゼン	10.55	4.328	0.636	1.9
		10.55	4.328	0.636	1.9
	アニソール	15.85	7.005	0.845	2.1
		15.82	6.990	0.844	2.1
	安息香酸エチル	28.60	13.444	1.129	2.6
		28.53	13.409	1.127	2.6
被験物質	2-クロロ-4-ニトロアニリン	10.05	4.076	0.610	1.9
		10.05	4.076	0.610	1.9

to : Dead time (デッドタイム) (min)

tr : Retention time (保持時間) (min)

k (保持係数) = (tr - to) / to

## (2) 相関図及び回帰式 (相関係数を含む)



## (3) 被験物質の分配係数

log Pow		
測定値		平均値
1.9	1.9	1.9



## 1. 被験物質

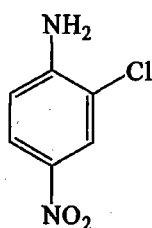
本報告書においてK-246Bは、次の名称等を有するものとする。

## 1.1 名 称

2-クロロ4-ニトロアニリン

## 1.2 構造式等

構 造 式



分 子 式       $C_6H_5ClN_2O_2$

分 子 量      172.57

CAS番号      121-87-9

1.3 供給者、商品名及びロット番号<sup>\*2</sup>

供 給 者	████████████████████
商 品 名	2-クロロ4-ニトロアニリン
ロット番号	████████████████

1.4 純 度<sup>\*2</sup>

被 験 物 質	99.7% (毛管カラムGCによる)
不 純 物	水分 0.1%
	残り0.2%は不明

被験物質は純度100%として取り扱った。

\*2 供給者添付資料による。

### 1.5 被験物質の確認

独立行政法人 産業技術総合研究所の有機化合物スペクトルデータベースに記載の赤外吸収スペクトルと久留米事業所において測定したスペクトルが一致することを確認した (Fig.4参照)。

### 1.6 保管条件及び保管条件下での安定性確認

保 管 条 件	冷暗所保存
安定性確認	実験開始前及び終了後に被験物質の赤外吸収スペクトルを測定した結果、両スペクトルは一致し、保管条件下で安定であることを確認した (Fig.4参照)。

## 2. 試験の実施

被験物質は解離性物質 ( $pK_a = -0.94$ ) <sup>\*3</sup>とえられることから、非解離型（遊離塩基）として測定するために、解離定数より1以上大きいpH8.0の緩衝液を溶離液に用いて試験を行った。

<sup>\*3</sup> The Physical Properties Database (Syracuse Research Corporation) による。

### 2.1 測定条件

#### (1) 試験装置

機 器	高速液体クロマトグラフ 島津製作所製 LC-2010A
カ ラ ム	L-column ODS (化学物質評価研究機構製) 15cm×2.1mmI.D.
カ ラ ム 温 度	25℃
溶 離 液	メタノール／りん酸緩衝液 (pH8.0) <sup>*1</sup> (1/1 V/V)
流 量	0.2mL/min
測 定 波 長	標準物質 210nm 被験物質 210nm (Fig.3参照)
注 入 量	2μL
検 出 器 出 力	1V/AU

<sup>\*1</sup> 10mmol/Lりん酸二水素カリウム溶液を0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH8.0に調整した。

#### (2) 試験温度

25±1℃

## 2.2 試験操作

### (1) 標準物質溶液の調製

標準物質として4-アセチルピリジン、ベンジルアルコール、アセトフェノン、ニトロベンゼン、アニソール及び安息香酸エチルを使用した。デッドタイムの測定用物質としてチオ尿素を使用した。これら6種の標準物質及びデッドタイム測定用のチオ尿素それぞれ約100mgをはかりとり、メタノールに溶解してそれぞれ約1000mg/Lの溶液を調製した。これらの溶液を混合し、メタノール／りん酸緩衝液 (pH8.0) <sup>1</sup> (1/1 V/V) で希釈して分配係数測定のための標準物質溶液を調製した。各標準物質溶液濃度は以下のとおりとした。

標準物質			濃度 (mg/L)
名称	純度 (%)	log Pow値	
チオ尿素	98.0以上	デッドタイム測定用	約10
4-アセチルピリジン	98.0以上	0.5	約10
ベンジルアルコール	99.8	1.1	約10
アセトフェノン	98.5以上	1.7	約10
ニトロベンゼン	99+	1.9	約10
アニソール	99.0以上	2.1	約10
安息香酸エチル	98.0以上	2.6	約20

### (2) 被験物質溶液の調製

供試試料約100mgをはかりとり、メタノールに溶解して約1000mg/Lの被験物質原液を調製した。これをメタノール／りん酸緩衝液 (pH8.0) <sup>1</sup> (1/1 V/V) で希釈して約10mg/Lの被験物質溶液とした。

### (3) 回帰直線の作成

2.1の測定条件に従って標準物質溶液を2回測定してデッドタイム測定用物質及び標準物質の保持時間を求め、標準物質の保持係数(k)を以下の式に従って算出した。

標準物質の分配係数及び保持係数の対数値から、最小二乗法により回帰直線を作成した(Table-1、Fig.1, 2参照)。

$$k = \frac{t_r - t_0}{t_0}$$

$t_r$  : 標準物質の保持時間 (分)

$t_0$  : デッドタイム (分) (2回の平均値)

$$\log \text{Pow} = a \times \log k + b$$

### (4) 被験物質の測定

2.2(2)で調製した被験物質溶液を2.1(1)の試験装置に注入し、被験物質ピークの保持時間を2回測定した。

### 2.3 分配係数の算出

被験物質ピークの保持時間から保持係数を求め、2.2(3)に従って作成した直線回帰式を用いて算出し、平均値を被験物質の分配係数とした。

分配係数は対数表示とした。

### 2.4 数値の取扱い

数値の丸め方はJIS Z 8401 : 1999 規則Bの方法に従い、小数点以下1ケタで表示した。

## 3. 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

当該要因はなかった。

## 4. 試験結果

## 4.1 測定結果

	測定物質名称	tr	k	log k	log Pow
標準物質	(デッドタイム測定用:to)	1.98	Average to = 1.98		
	チオ尿素	1.98			
	4-アセチルピリジン	2.97	0.500	-0.301	0.5
		2.97	0.500	-0.301	0.5
	ベンジルアルコール	4.38	1.212	0.084	1.1
		4.38	1.212	0.084	1.1
	アセトフェノン	7.30	2.687	0.429	1.7
		7.30	2.687	0.429	1.7
	ニトロベンゼン	10.55	4.328	0.636	1.9
		10.55	4.328	0.636	1.9
	アニソール	15.85	7.005	0.845	2.1
		15.82	6.990	0.844	2.1
被験物質	2-クロロ-4-ニトロアニリン	28.60	13.444	1.129	2.6
		28.53	13.409	1.127	2.6
被験物質	2-クロロ-4-ニトロアニリン	10.05	4.076	0.610	1.9
		10.05	4.076	0.610	1.9

to : Dead time (デッドタイム) (min)

tr : Retention time (保持時間) (min)

k (保持係数) = (tr - to) / to

## 4.2 測定条件における回帰直線の回帰式

$$\log \text{Pow} = 1.435 \times \log k + 0.975$$

## 4.3 被験物質の分配係数

log Pow		
測定値		平均値
1.9	1.9	1.9

分配係数計算ソフト (Kowwin<sup>\*4</sup>) による予備推定値は、log Pow=2.12であった。

\*4 Kowwin v1.67 (U.S. Environmental Protection Agency)

## 5. 備 考

## 試験に使用した主要な装置・機器及び試薬

## 装置・機器

高速液体クロマトグラフ	:	7頁参照	
フーリエ変換赤外分光光度計	:	島津製作所製	IRPrestige-21
pHメーター	:	東亜電波工業製	HM-60S
紫外可視分光光度計	:	日本分光製	V-660
天びん	:	メトラー製	AE200

## 試 薬

メタノール	:	和光純薬工業製	HPLC用
精製水	:	高杉製薬製	日本薬局方
りん酸二水素カリウム	:	和光純薬工業製	試薬特級
0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液	:	和光純薬工業製	容量分析用

## (標準物質)

チオ尿素	:	和光純薬工業製	試薬特級
4-アセチルピリジン	:	和光純薬工業製	試薬一級
ベンジルアルコール	:	アルドリッチ製	
アセトフェノン	:	和光純薬工業製	試薬特級
ニトロベンゼン	:	アルドリッチ製	
アニソール	:	和光純薬工業製	試薬特級
安息香酸エチル	:	和光純薬工業製	試薬特級