

最 終 報 告 書

2-シアノ-4-ニトロアニリン [2-アミノ-5-ニトロベンゾニトリル (被験物質番号
K-1558) にて試験実施] の1-オクタノールと水との間の分配係数試験

(試験番号：81558K)

化学物質環境研究所

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 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 2-シアノ-4-ニトロアニリン [2-アミノ-5-ニトロベンゾニトリル (被
験物質番号 K-1558) にて試験実施] の1-オクタノールと水との間の
分配係数試験

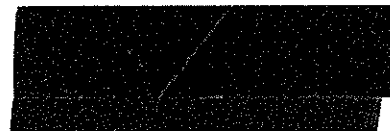
試験番号 81558K

上記試験は、「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省令第4条に規定する試験施設に関する基準」(環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和59年3月31日、平成12年3月1日改正)及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)に従って実施したものです。

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。

2001 年 9 月 17 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 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 2-シアノ-4-ニトロアニリン [2-アミノ-5-ニトロベンゾニトリル (被
験物質番号 K-1558) にて試験実施] の1-オクタノールと水との間の
分配係数試験

試験番号 81558K

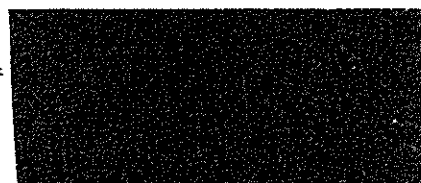
上記試験は財団法人化学物質評価研究機構久留米事業所の信頼性保証部門が監査及び査察を実施しており、監査又は査察を行った内容、日付並びに試験責任者及び運営管理者に報告を行った日付は以下の通りです。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日 (試験責任者)	報告日 (運営管理者)
試 験 計 画 書	2001 年 6 月 18 日	2001 年 6 月 18 日	2001 年 6 月 18 日
	2001 年 9 月 17 日	2001 年 9 月 17 日	2001 年 9 月 17 日
試 験 実 施 状 況	2001 年 6 月 20 日	2001 年 6 月 22 日	2001 年 6 月 22 日
生データ及び最終報告書	2001 年 9 月 17 日	2001 年 9 月 17 日	2001 年 9 月 17 日

本最終報告書は、試験の方法が正確に記載されており、内容が試験計画及び標準操作手順に従い、かつ、生データを正確に反映していることを保証します。

2001 年 9 月 17 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 G L P	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	4
2. 分配係数試験の実施	6
3. 試 験 結 果	11
4. 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. 備 考	12

表 題 2-シアノ-4-ニトロアニリン [2-アミノ-5-ニトロベンゾニトリル
(被験物質番号 K-1558) にて試験実施] の1-オクタノールと水と
の間の分配係数試験

試験委託者 新エネルギー・産業技術総合開発機構
(〒170-6028) 東京都豊島区東池袋三丁目1番1号

試験施設 財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所
(〒830-0023) 福岡県久留米市中央町 19-14

試験目的 K-1558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 「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律の運用について」
(昭和62年3月24日、薬発第291号・62基局第171号) において規定
されている「化学物質の分配係数(1-オクタノール/水)測定方
法の解説」及び「OECD Guideline for Testing of Chemicals」に
定める“Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask
Method (Guideline 107, July 27, 1995)”に準拠した。

適用 G L P (1) 化学物質GLP

「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省令第4条に規定する試験施設に関する基
準」(環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和59年3月
31日、平成12年3月1日改正)を適用した。

(2) OECD-GLP

「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November
26, 1997)を適用した。

試 験 日 程

試 験 開 始 日	2001年 6月18日
実 験 開 始 日	2001年 6月20日
実 験 終 了 日	2001年 6月20日
試 験 終 了 日	2001年 9月17日

試資料の保管

(1) 被験物質


被験物質約5gを保管用容器に入れ密栓後、安定に保存しうる期間、久留米事業所試料保管室に保管する。

(2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、試験依頼書、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 試験第一課

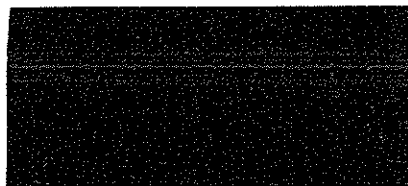
 試 験 担 当 者
 (分配係数試験の実施)



最終報告書の承認

2001年 9 月 17 日

試 験 責 任 者



要 約

試験の表題

2-シアノ-4-ニトロアニリン [2-アミノ-5-ニトロベンゾニトリル (被験物質番号 K-1558) にて試験実施] の1-オクタノールと水との間の分配係数試験

試験条件

(1) 被験物質添加量 5.02mg

(2) 測定条件

(単位 mL)

	測定条件-1	測定条件-2	測定条件-3
水飽和1-オクタノール	—	5	15
1-オクタノール飽和水	30	25	15
被 験 物 質 溶 液	5	5	5

(3) 試験温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$

(4) 回転数及び時間 20回/分, 5分間

(5) 連 数 $n=2$

(6) 分 析 方 法 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

試験結果

	測定値 (log Pow)		全平均
	a	b	
測定条件-1	1.61 (6.6)	1.61 (6.4)	1.60
測定条件-2	1.58 (6.4)	1.61 (6.4)	
測定条件-3	1.59 (6.3)	1.60 (6.3)	

() 内に水層のpHを示した。

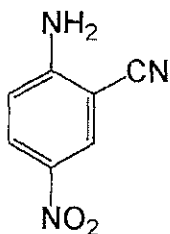
1. 被 験 物 質

本報告書においてK-1558は、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称 2-アミノ-5-ニトロベンゾニトリル

1.2 構造式等

構造式

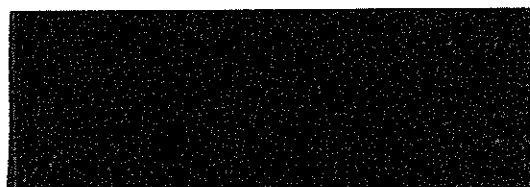


分子式 $C_7H_5N_3O_2$

分子量 163.13

1.3 入手先、商品名、等級及びロット番号^{*1}

- (1) 入 手 先
- (2) 商 品 名
- (3) 等 級
- (4) ロット番号



^{*1} 入手先添付資料による。

1.4 純 度^{*1}

被 験 物 質 99.8%(GC法)

被験物質は純度100%として取り扱った。

1.5 被験物質の確認

赤外吸収スペクトルにより構造を確認した (Fig. 8参照)。

1.6 溶媒への溶解性

対水 78mg/L ($20 \pm 1^\circ\text{C}$)

対1-オクタノール 1000mg/L以上 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)

1.7 保管条件及び保管条件下での安定性

(1) 保管条件 冷蔵保存

(2) 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. 8参照)。

2. 分配係数試験の実施

2.1 試験装置、溶媒及び環境条件

(1) 試験装置

回 転 振 と う 機	旭テクネイオン製
回 転 数 及 び 時 間	回転数 20回/分, 時間 5分間
平 衡 容 器	全容量 37mL共栓付ガラス製遠心管
遠 心 分 離 機	佐久間製作所製 型RSL-05 1000×g, 20分間 (25±1℃)

(2) 溶 媒

1-オクタノール	ナカライテスク製 分配係数測定用 ロット番号 MOK6629
精製水	高杉製薬製 日本薬局方（蒸留後、イオン交換樹脂 を通して精製処理したもの） ロット番号 A120

(3) 環境条件

実 施 場 所	441恒温室
試 験 温 度	25±1℃

2.2 溶媒の調製

1-オクタノールと精製水とをガラス製容器で24時間以上振とうした後、分離し、それぞれの飽和溶媒として使用した。水飽和1-オクタノール中の水分濃度をカールフッシャー水分計を用いて測定し、1-オクタノール飽和水中の1-オクタノール濃度をガスクロマトグラフを用いて測定し、各濃度が基準値を満足することを確認した。なお、1-オクタノール飽和水の使用時のpHは6.7であった。

2.3 被験物質溶液の調製

被験物質約100mgをはかりとり、水飽和1-オクタノールに溶解して被験物質溶液を調製し、被験物質濃度を測定した。被験物質の測定濃度は1000mg/L (6.16 mmol/L) であった (Fig. 4参照)。

2.4 試験溶液の調製及び被験物質の添加

下表に従って測定条件ごとに、2.2で調製した水飽和1-オクタノール及び1-オクタノール飽和水と2.3で調製した被験物質溶液 (被験物質添加量 5.02mg) を平衡容器に添加した。測定は2連で実施した。

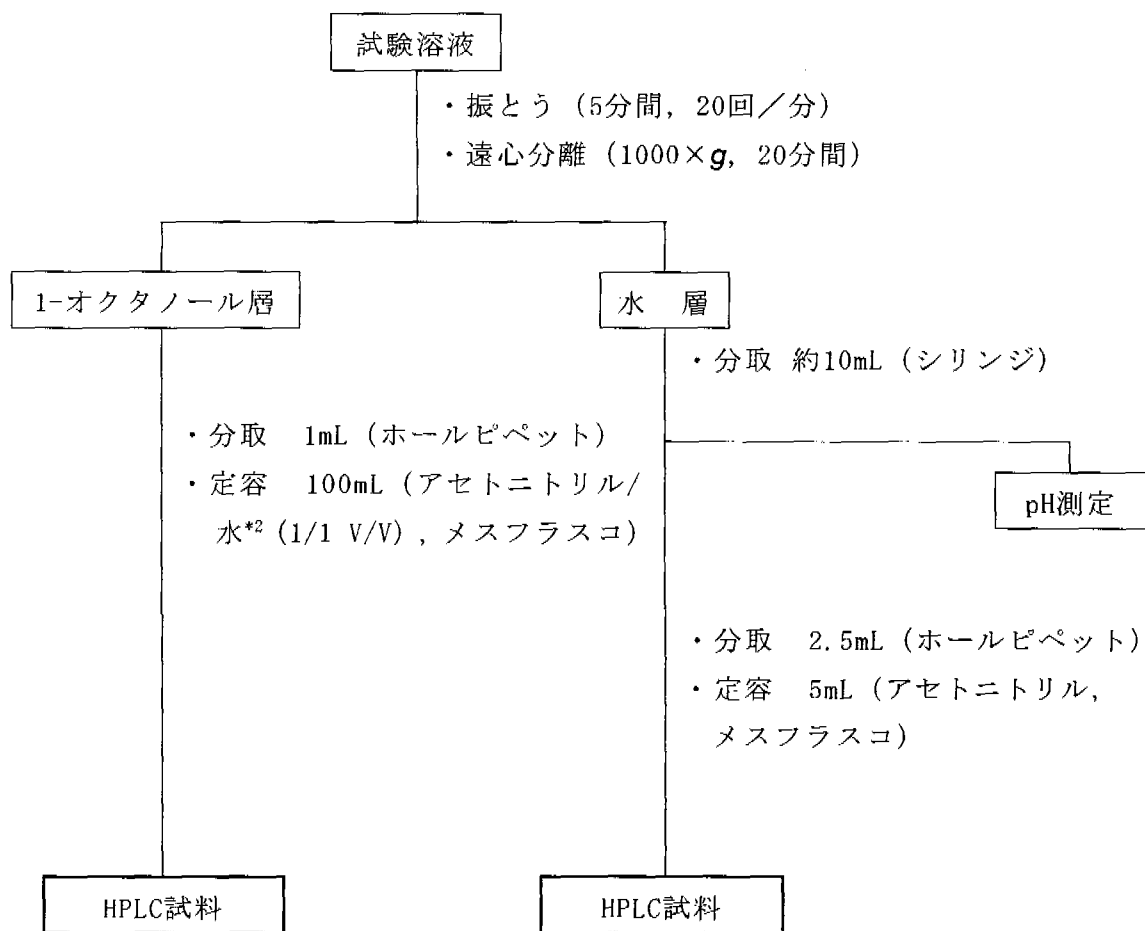
(単位 mL)

	測定条件-1	測定条件-2	測定条件-3
水飽和1-オクタノール	—	5	15
1-オクタノール飽和水	30	25	15
被 験 物 質 溶 液	5	5	5

2.5 試験操作

2.4に基づき調製した試験溶液を以下のフロースキームに従って分配し、1-オクタノール層と水層に分離し、それぞれ前処理を行い、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）試料とした。また、試験時の温度及び水層のpHを測定した。

フロースキーム



*2 水道水を超純水製造システムを用いて処理した水。

2.6 被験物質の定量分析

前処理を行って得られたHPLC試料について、下記の定量条件に基づき高速液体クロマトグラフィーにより定量分析を行った。HPLC試料中の被験物質の濃度は標準溶液及びHPLC試料のクロマトグラム上で得られたピーク面積とを比較し、比例計算して求めた (Table-1, 2, Fig. 3, 6参照)。

ピーク面積の定量下限はノイズレベルを考慮して、 $30000\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ (被験物質濃度 0.30mg/L) とした (Fig. 1参照)。

(1) 定量条件

機 器	高速液体クロマトグラフ
ポンプ	島津製作所製 LC-10ADvp
検出器	島津製作所製 SPD-10AVvp
カラムオーブン	島津製作所製 CTO-10ACvp
カラム	L-column ODS 15cm×4.6mm I.D. ステンレス製
カラム温度	40℃
溶 離 液	アセトニトリル／水*2 (6/4 V/V)
流 量	1.0mL/min
測 定 波 長	336nm (Fig. 7参照)
注 入 量	10 μL
検出器出力	2.0V/AU

(2) 標準溶液の調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための標準溶液の調製は次のように行った。

被験物質100mgを正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して1000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリル／水*2 (1/1 V/V) で希釈して7.50mg/Lの標準溶液とした。

(3) 検量線の作成

(2)の標準溶液の調製と同様にして、3.75、7.50及び15.0mg/Lの標準溶液を調製した。これらを(1)の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのクロマトグラム上のピーク面積と濃度により検量線を作成した (Fig. 1参照)。

2.7 ブランク試験

2.5及び2.6の操作に準じて被験物質を加えないブランク試験を測定条件-3で行った。この結果、ブランク試験においてクロマトグラム上、被験物質ピーク位置にピークが認められなかった（Fig. 2, 5参照）。

2.8 分配係数の算出

水層中の被験物質濃度及び1-オクタノール層中の被験物質濃度より、以下の式に従って被験物質の分配係数を算出した。

$$P = \log P_{ow}$$

$$P_{ow} = \frac{C_o}{C_w}$$

C_o : 1-オクタノール層中の被験物質濃度 (mg/L)

C_w : 水層中の被験物質濃度 (mg/L)

計算結果は有効数字3ケタに丸めて表示した。

2.9 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 : 1999 規則Bの方法に従った。

3. 試験結果

分配係数及び水層のpHは次のとおりであった。

3.1 分配係数測定結果

(Table-4参照)

		$P_{ow} = \frac{C_o}{C_w}$	$P = \log P_{ow}$		
			測定値	平均値	全平均
測定条件-1	a	4.05×10	1.61	1.61	1.60 標準偏差 =0.01 最大差 =0.03
	b	4.08×10	1.61		
測定条件-2	a	3.81×10	1.58	1.60	
	b	4.11×10	1.61		
測定条件-3	a	3.92×10	1.59	1.60	
	b	3.98×10	1.60		

3.2 水層のpH測定結果

	測定値	
	試料a	試料b
測定条件-1	6.6	6.4
測定条件-2	6.4	6.4
測定条件-3	6.3	6.3

3.3 考察

被験物質は解離基を持つが、分光光度法、滴定法及び電気伝導法を用いて解離定数を測定したところ、解離性は認められなかった。よって、被験物質は分配係数測定条件下では非解離の状態で存在していると考えられる。従って、被験物質は分配係数試験の適用が可能な化合物と考えられる。