

環境庁殿

## 試 験 報 告 書

ホルムアミドのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

(試験番号: NO 1998-生08)

1999年3月30日作成

株式会社クレス分析センター

## 陳 述 書

株式会社クレハ分析センター

試験委託者： 環境庁

表題： ホルムアミドのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

試験番号： NO 1 9 9 8 - 生 0 8

上記試験は環境庁のGLP規則に従って実施したものである。

1 9 9 9 年 3 月 3 0 日

運営管理者



# 信 頼 性 保 証 証 明

株式会社クレハ分析センター

試験委託者： 環境庁

表題： ホルムアミドのヒメダカ (*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

試験番号： NO1998-生08

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      | 運営管理者への<br>報告日 | 試験責任者への<br>報告日 |
|----------|------------|----------------|----------------|
| 試験実施状況査察 | 1999年1月18日 | 1999年1月18日     | 1999年1月18日     |
|          | 1999年1月22日 | 1999年1月22日     | 1999年1月22日     |
| 試験報告書監査  | 1999年3月26日 | 1999年3月26日     | 1999年3月26日     |

1999年3月30日

信頼性保証業務担当者：



## 試 験 実 施 概 要

1. 表題: ホルムアミドのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験
2. 試験目的: ホルムアミドについて、ヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験を行い、96時間の半数致死濃度 (LC50) 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. 203「魚類毒性試験」(1992年)に準拠した。
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 東京都千代田区霞ヶ関一丁目2-2  
委託責任者: 環境庁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 [REDACTED]
6. 試験受託者:  
名称: 株式会社クレハ分析センター  
所在地: 〒974-8686 福島県いわき市錦町落合16番地
7. 試験施設:  
名称: 株式会社クレハ分析センター  
所在地: 〒974-8686 福島県いわき市錦町落合16番地

8. 試験関係者:

|             |            |               |
|-------------|------------|---------------|
| 試験責任者 (生物)  | [REDACTED] | (1999年 3月30日) |
| 試験責任者 (理化学) | [REDACTED] | (1999年 3月30日) |
| 試験担当者 (生物)  | [REDACTED] | (1999年 3月30日) |
| 試験担当者 (生物)  | [REDACTED] | (1999年 3月30日) |
| 試験担当者 (生物)  | [REDACTED] | (1999年 3月30日) |
| 試験担当者 (生物)  | [REDACTED] | (1999年 3月30日) |
| 試験担当者 (理化学) | [REDACTED] | (1999年 3月30日) |

9. 試験期間: 試験開始日 1999年 1月 4日  
試験終了日 1999年 3月30日  
暴露期間 1999年 1月18日～  
1999年 1月22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、株式会社クレハ分析センターの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上決定する。

## 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での安定性      | 8     |
| 2 供試生物                        | 9     |
| 3 試験方法                        | 9     |
| 3.1 試験条件                      | 9     |
| 3.2 希釈水                       | 9     |
| 3.3 試験装置、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                    | 10    |
| 3.6 試験液の分析                    | 10    |
| 3.7 試験操作                      | 10    |
| 4 結果の算出                       | 10    |
| 5 結果および考察                     | 11    |
| 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 | 11    |
| 5.2 試験水中の被験物質濃度               | 11    |
| 5.3 96時間の半数致死濃度(LC50)         | 11    |
| 5.4 0%死亡最高濃度および100%死亡最低濃度     | 11    |
| 5.5 毒性症状                      | 11    |
| 5.6 試験水の水温、溶存酸素濃度およびpH        | 11    |
| Table 1～8                     | 12～14 |
| 付属試料－1 希釈水の水質                 |       |
| 付属試料－2 試験液の分析方法               |       |

## 要 旨

試験委託者 環境庁

表 題: ホルムアミドのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験

試験番号: NO1998-生08

試験方法: 本試験は、OECD化学品テストガイドラインNo. 203「魚類毒性試験」(1992年)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質: ホルムアミド
- 2) 方式: 半止水式(48時間毎に換水)
- 3) 供試生物: ヒメダカ(*Oryzias latipes*)
- 4) 試験濃度: 対照区及び100mg/L
- 5) 暴露期間: 96時間
- 6) 試験液量: 3.0L
- 7) 生物数: 10尾/濃度区
- 8) 照明: 16時間明/8時間暗
- 9) エアレーション: なし
- 10) 温度:  $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 11) 試験水中の被験物質の分析: HPLC法(開始時、換水前)

## 結果

- 1) 96時間の半数致死濃度(LC50): 100mg/L以上
- 2) 0%死亡最高濃度: 100mg/L
- 3) 100%死亡最低濃度: 求められなかった。

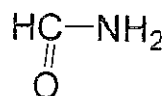
## 1 被験物質

### 1. 1 名称、構造式および物理化学的性状

名称：ホルムアミド

(CAS：75-12-7)

構造式：



分子式：HCONH<sub>2</sub>

分子量：45.04

安定性：安定

1-オクタノール/水分配係数(logP)：-1.51

水への溶解度：水に可溶

蒸気圧：1 mmHg (21℃)

### 1. 2 供試試料

購入先：

入手先：

入手日：1998年11月20日

ロット番号：ACH6014

外観：無色透明の液体

純度及び不純物：99.6%

### 1. 3 被験物質の確認および保管条件下での安定性

被験物質は当施設の冷蔵庫に保管した。

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認められなかったことより被験物質は当施設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

試験に使用したヒメダカ (*Oryzias latipes*) を下記に示した。供試魚の体長（被鱗体長）は  $2.0 \pm 0.5$  cm であった。

- 1) 一般名： ヒメダカ
- 2) 学名： *Oryzias latipes*
- 3) 体長： 2.2 cm (2.1 ~ 2.4 cm) 、 n = 10
- 4) 体重： 0.19 g (0.15 ~ 0.22 g) 、 n = 10
- 5) ロット番号： F J 9 8 A 5
- 6) 購入先： 自家繁殖

### 馴化

試験条件と同条件（水質、温度等）で12日間以上、飼育馴化した。餌は市販のテトラミンを与えた。暴露開始の24時間前からは給餌しなかった。

試験には健康で肉眼的に正常な個体を使用した。暴露開始前7日間の死亡率は5%以下であった。また、供試魚の基準物質（硫酸銅（Ⅱ）五水和物、試薬特級）による急性毒性試験の結果は96時間LC50は  $0.18 \text{ mg/L}$ （無水物換算）であった。

## 3 試験方法

### 3.1 試験条件

- 1) 方式： 半止水式（48時間毎に換水）
- 2) 温度：  $24 \pm 1$  °C
- 3) 曝露期間： 96時間
- 4) 生物数： 10尾／濃度区
- 5) 試験液量： 3.0 L
- 6) 連数： 1濃度区につき1連
- 7) 給餌： 無給餌
- 8) エアレーション： 無し
- 9) 照明： 16時間明／8時間暗

### 3.2 希釈水

脱塩素水（呉羽化学工業株式会社錦工場内の工業用水（塩素処理を行い飲料水グレードのもの）を活性炭処理で残留塩素等を除去した後、空気による曝気処理を行ったもの）を使用した。希釈水の主な水質として、硬度が  $24 \text{ mg/L}$ （ $\text{CaCO}_3$ 換算）、pHが7.8であった（暴露開始時）。

また、1999年2月2日の希釈水の分析結果を〔付属資料－1〕に示した。

### 3. 3 試験装置、試験容器および恒温槽等

試験容器： 3 L 容ガラス製ビーカー

恒温槽： アドバンテック東洋 恒温器 ラボサーモ (LH-2000)

水温計： 水銀温度計

pH計： 東亜電波工業 (HM-30V)

溶存酸素計： 飯島電子工業 (B-505)

### 3. 4 試験濃度の設定

予備試験の結果を基に、100 mg/Lの濃度区および対照区を設定した。

### 3. 5 試験液の調製

3 Lメスフラスコにホルムアミド300 mg量りとり、希釈水で定容し試験液とした。

### 3. 6 試験液の分析

開始時および48時間後に各試験水槽より試験水10 mLを採取し、HPLCにより分析した。試験水の分析に際しては、試料測定毎に標準溶液の測定を行い、そのピーク高さから定量した。詳細は付属資料-2に示した。

### 3. 7 試験操作

暴露開始時に供試魚と同水槽で馴養した魚10尾の重量および被鱗体長を測定した。暴露期間中給餌は行わなかった。

各試験水槽の試験液のpH、溶存酸素濃度、水温を測定後、試験水槽中に供試魚を1濃度区当り10尾投入した。pH、溶存酸素濃度、水温は暴露期間中毎日1回測定した。

暴露開始後、24, 48, 72および96時間後に死亡個体数を記録するとともに観察された毒性の徴候あるいは異常(例：外部刺激への反応異常、平衡感覚喪失、遊泳異常、呼吸機能の異常、体色変化、背曲がり、出血等)を記録した。

死亡個体を発見した場合、水質の悪化が起こらないよう速やかに取り除いた。

\*：ステンレス製ピンセットの先で尾部に軽く触れ反応がない個体を死亡とみなした。

## 4 結果の算出

最高濃度区においても死亡は認められないことから、半数致死濃度(LC50)は最高試験濃度以上とした。

## 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  
認められなかった。

### 5. 2 試験水中の被験物質濃度

暴露開始時および48時間後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102 mg/L（設定値100 mg/L）、48時間後の濃度は101 mg/L（設定値100 mg/L）であり、幾何平均濃度は101 mg/Lとなり、設定濃度に対する割合は101%であった。

[Table 1 (p.12)、付属資料一2]

### 5. 3 96時間の半数致死濃度(LC50)

ホルムアミドに96時間暴露したヒメダカの死亡率は100 mg/L濃度区で0%（測定濃度101 mg/L）であった。

対照区の死亡率は0%であった。ホルムアミドの測定濃度に基づく96時間の半数致死濃度(LC50)は100 mg/L以上であった。

[Table 2,3 (p.12)]

### 5. 4 0%死亡最高濃度および100%死亡最低濃度

ホルムアミドに96時間暴露したヒメダカの0%死亡最高濃度は100 mg/Lであり、100%死亡最低濃度は求められなかった。

[Table 4 (p.13)]

### 5. 5 毒性症状

毒性症状として100 mg/L区、対照区共に試験期間中に異常な症状は観察されなかった。

[Table 5 (p.13)]

### 5. 6 試験水の水温、溶存酸素濃度およびpH

96時間の暴露期間中の水温は $24 \pm 1$ ℃の範囲内であった。暴露期間中のpHは7.2～7.8であった。暴露期間中の溶存酸素濃度は5.1～8.5 mg/Lであり、すべての試験水槽で飽和溶存酸素濃度の60%以上であった。

(24.0℃の飽和溶存酸素濃度：8.25 mg/L)

[Table 6,7,8 (p.13,14)]

以上

Table 1. Measured Concentration of Formamide During a 96-Hour Exposure Test Condition

| Nominal<br>Concentration<br>mg/L | Measured Concentration (mg/L) |                |                   | Percent<br>of<br>Nominal |
|----------------------------------|-------------------------------|----------------|-------------------|--------------------------|
|                                  | 0 Hour<br>new                 | 48 Hour<br>old | Geometric<br>Mean |                          |
| Control                          | —                             | —              | —                 | —                        |
| 100                              | 102                           | 101            | 101               | 101                      |

new: freshly prepared test solution

old: test solution after 48 hours exposure period

Table 2. Mortality of Orange killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to Formamide under Semi-Static Test Conditions

| Nominal<br>Concentration<br>mg/L | Cumulative Number of Dead (Percent Mortality) |         |         |         |
|----------------------------------|---|---------|---------|---------|
|                                  | 24 Hour                                       | 48 Hour | 72 Hour | 96 Hour |
| Control                          | 0   | 0       | 0       | 0       |
| 100                              | 0   | 0       | 0       | 0       |

Table 3. Calculated LC50 Values for Orange killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to Formamide Based on Measured Concentrations under Semi-Static Test Conditions

| Exposed<br>Period<br>(Hour) | LC50<br>(mg/L) | 95%                        | Statistical Method |
|-----------------------------|----------------|----------------------------|--------------------|
|                             |                | Confidence Limit<br>(mg/L) |                    |
| 24                          | > 100          | —                          | —                  |
| 48                          | > 100          | —                          | —                  |
| 72                          | > 100          | —                          | —                  |
| 96                          | > 100          | —                          | —                  |

Table 4. Observation of Highest Concentration in 0% Mortality and Lowest Concentration in 100% Mortality Values

| Exposed Period (Hour) | Highest Concentration in 0% Mortality (mg/L) | Lowest Concentration in 100% Mortality (mg/L) |
|-----------------------|--|---|
| 24                    | 100  | -   |
| 48                    | 100  | -   |
| 72                    | 100  | -   |
| 96                    | 100  | -   |

Table 5. Symptom of Toxicity Observed in Orange killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to Formamide under Semi-Static Test Conditions

| Nominal Concentration (mg/L) | Symptom |         |         |         |
|------------------------------|---------|---------|---------|---------|
|                              | 24 Hour | 48 Hour | 72 Hour | 96 Hour |
| Control                      | Normal  | Normal  | Normal  | Normal  |
| 100                          | Normal  | Normal  | Normal  | Normal  |

Table 6. pH Values During a 96-Hour Semi-Static Exposure of Orange killifish (*Oryzias latipes*) to Formamide

| Nominal Concentration (mg/L) |     | pH     |         |         |         |         |
|------------------------------|-----|--------|---------|---------|---------|---------|
|                              |     | 0 Hour | 24 Hour | 48 Hour | 72 Hour | 96 Hour |
| Control                      | New | 7.8    |         | 7.8     |         |         |
|                              | Old |        | 7.3     | 7.2     | 7.3     | 7.3     |
| 100                          | New | 7.7    |         | 7.8     |         |         |
|                              | Old |        | 7.3     | 7.2     | 7.3     | 7.2     |

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 24-48 hours exposure period

Table 7. Dissolved Oxygen Concentration During a 96-Hour Semi-Static Exposure of Orange killifish (*Oryzias latipes*) to Formamide

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/L) |     | Dissolved Oxygen Concentration (mg/L) |         |         |         |         |
|------------------------------------|-----|---------------------------------------|---------|---------|---------|---------|
|                                    |     | 0 Hour                                | 24 Hour | 48 Hour | 72 Hour | 96 Hour |
| Control                            | New | 8.3                                   |         | 8.5     |         |         |
|                                    | Old |                                       | 6.3     | 5.3     | 6.1     | 5.7     |
| 100                                | New | 8.4                                   |         | 8.2     |         |         |
|                                    | Old |                                       | 6.2     | 5.1     | 6.2     | 5.5     |

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 24-48 hours exposure period

Table 8. Temperature During a 96-Hour Semi-Static Exposure of Orange killifish (*Oryzias latipes*) to Formamide

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/L) |     | Temperature (°C) |         |         |         |         |
|------------------------------------|-----|------------------|---------|---------|---------|---------|
|                                    |     | 0 Hour           | 24 Hour | 48 Hour | 72 Hour | 96 Hour |
| Control                            | New | 23.9             |         | 23.9    |         |         |
|                                    | Old |                  | 24.0    | 23.9    | 24.0    | 23.9    |
| 100                                | New | 23.9             |         | 23.8    |         |         |
|                                    | Old |                  | 24.0    | 23.9    | 23.9    | 24.0    |

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 24-48 hours exposure period

付属試料－ 1

希釈水の水質

(全 1 頁)

## Water Quality of Dilute Water

| Parameter                              | Concentration |      |
|--|---------------|------|
| Coliform group bacteria                | N. D.         |      |
| pH                                     | 8.1           | -    |
| BOD                                    | <0.5          | mg/L |
| COD                                    | <0.5          | mg/L |
| Mercury                                | <0.0005       | mg/L |
| Copper                                 | <0.01         | mg/L |
| Cadmium                                | <0.002        | mg/L |
| Zinc                                   | <0.01         | mg/L |
| Lead                                   | <0.005        | mg/L |
| Aluminium                              | <0.02         | mg/L |
| Nickel                                 | <0.005        | mg/L |
| Chromium                               | <0.05         | mg/L |
| Manganese                              | <0.02         | mg/L |
| Tin                                    | <0.1          | mg/L |
| Iron                                   | <0.1          | mg/L |
| Cyanide                                | <0.1          | mg/L |
| Free Chlorine                          | <0.05         | mg/L |
| Bromide ion                            | <0.2          | mg/L |
| Fluoride                               | 0.04          | mg/L |
| Sulfide ion                            | <0.5          | mg/L |
| Ammonium ion                           | <0.03         | mg/L |
| Arsenic                                | <0.005        | mg/L |
| Selenium                               | <0.005        | mg/L |
| Evaporation residue                    | 61            | mg/L |
| Electric conductivity                  | 7.4           | mS/m |
| Total hardness (as CaCO <sub>3</sub> ) | 25.8          | mg/L |
| Alkalinity                             | 29.5          | mg/L |
| Sodium                                 | 5.6           | mg/L |
| Potassium                              | 1.1           | mg/L |
| Calcium                                | 8.1           | mg/L |
| Magnesium                              | 1.8           | mg/L |
| Total organophosphorous pesticide      | <0.003        | mg/L |
| Herbicide Simazine                     | <0.0003       | mg/L |
| Herbicide Thiobencarb                  | <0.002        | mg/L |
| Fungicide Thiuram                      | <0.0006       | mg/L |

Sampling Date : 1999.02.02



## 付属試料－２

### 試験液の分析方法

(全１５頁)

## ホルムアミドの分析法

(株)クレハ分析センター

## 1. 試料 : 試験液

## 化学名及び化学式

ホルムアミド

分子式

化学式

分子量

:  $\text{H}_3\text{CON}$   
 :  $\text{HCONH}_2$   
 : 45.04

## 物理的・化学的性質

性状

: 水に可溶  
 : 無色透明の液体

## 2. 分析法

## 1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ : L-6000 日立製作所  
 検出器 (UV) : L-4000又はL-4200 日立製作所  
 インテグレーター : D-2000又はD-2500 日立製作所  
 メスフラスコ : 100ml  
 マイクロピペッター : 250、500、1000  $\mu\text{l}$   
 マイクロシリンジ : 50  $\mu\text{l}$

## 2) 試薬

アセトニトリル : 試薬 高速液体クロマトグラフ用 和光純薬 (株)  
 水 : 超純水 Milli-RX12  $\alpha$  Millipore  
 りん酸 : 試薬 特級  
 ホルムアミド : 試薬 特級

## 3) ホルムアミド標準原液 (1000mg/ml)

ホルムアミド標準品の約0.1gを正秤し、容量100mlのメスフラスコに秤とり、水を標線まで加える。

## 4) 高速液体クロマトグラフの操作条件

カラム : Shim pack LCL-ODS 島津製作所  
 150mm  $\times$  6mm ID  
 溶離液 : アセトニトリル:水 (25:75)  
 +りん酸 (1lに対して0.7ml添加)  
 流量 : 1.0ml/min  
 検出器 : UV (210nm)  
 注入量 : 50  $\mu\text{l}$

## 5) 検量線の作製

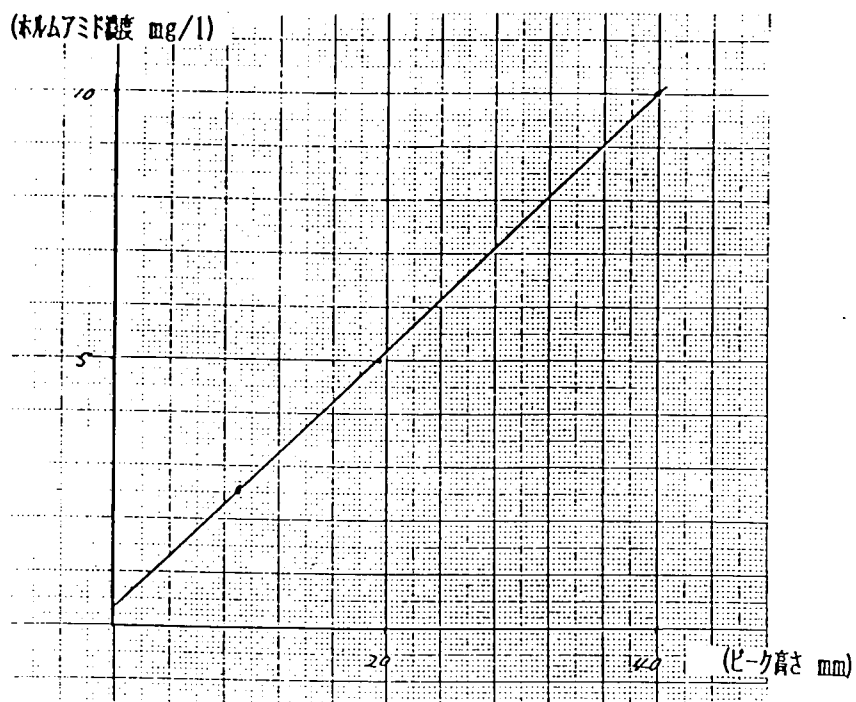
ホルムアミド標準原液に水を加えて希釈し、2.5、5、10mg/lの標準液を調整する。この液50  $\mu\text{l}$ を上記条件の高速液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムをかせ、ピーク高さをノギス (mm) ではかりとる。  
 濃度を縦軸に、横軸にピークの高さをとり検量線を作成する。

## ①. 検量線作成

表-1 Input Data

| No. | 標準溶液濃度 (mg/l) | ピーク高さ (mm) |
|-----|---------------|------------|
| 1   | 2.515         | 9.47       |
| 2   | 5.030         | 19.68      |
| 3   | 10.060        | 39.94      |

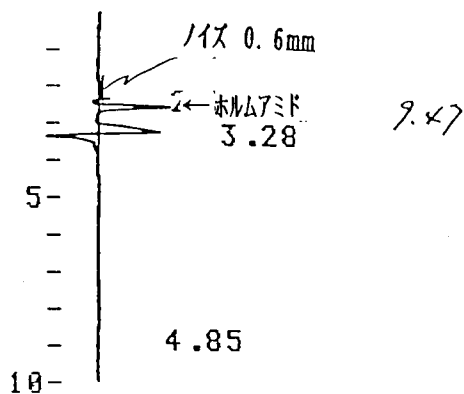
図-1 検量線



②. 検出下限値の計算

図-2 クロマトグラム

CH. 1 C.S 5.00 ATT 4 OFFS 0 01/04/99 13:46



- ・ホルムアミド濃度 2.515 mg/l
- ・ホルムアミドのピーク高さ 9.47 mm
- ・ノイズの高さ 0.6 mm

< 計 算 式 >

(S/N=2) としたとき

$$\frac{2 \times 0.6}{9.47} \times 2.515 = 0.3 \text{ (mg/l)}$$

試料液を直接注入できるので  
定量下限値は、0.3 (mg/l) となる。

計算により、定量下限値 0.3 mg/l、  
よって、定量下限値未満の表示NDは、0.3 mg/l 未満を示す。

6) 分析操作 (例 1000mg/l)

10ml 共栓フラスコに水約5ml をとり、これに、試料溶液の100 $\mu$ l をマイクロピペッターではかりとり、水を標線まで加える。  
この液を50 $\mu$ l を前記条件の高速液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムをかせ、ホルムアミドの保持時間に相当するピークの高さをノギスではかり、検量線より濃度を求める。

尚、検量線は測定日毎に調整し、試料溶液濃度は10mg/l 前後になるように調整することにした。又、傾向的な日内変動(約1割程度の感度変化)が見られるため、検量線調整時に3回程度同じ試験液を注入し確認すると共に、各依頼件毎に検量線を作成後、測定することにした。

2. 添加回収率試験

ホルムアミドの標準原液に水を加えて希釈し、約1~1000mg/l の試験溶液4種類を下記の様に調整し、繰り返し測定を行った結果、若干ばらつきの大きい時があることがわかったが各試験液共に異常値(設定値 $\pm$ 20%)内であることから、測定は可能と考えられる。(各試験試料はn=2で測定した)

表-2 添加回収率試験の測定結果

| No | 試料濃度 (mg/l) | 測定値 (mg/l)       | 回収率 (%)        | 平均回収率 (%) |
|----|-------------|------------------|----------------|-----------|
| 1  | 1006        | 1012.7<br>1099.4 | 100.7<br>109.3 | 105.0     |
| 2  | 100.6       | 104.6<br>98.8    | 104.0<br>98.2  | 101.1     |
| 3  | 10.06       | 10.7<br>10.2     | 106.3<br>101.4 | 103.9     |
| 4  | 1.006       | 1.1<br>1.1       | 109.3<br>109.3 | 109.3     |

3. 保存安定性試験

ホルムアミドの標準原液に水を加えて希釈し、約1~1000mg/l の試験溶液4種類を下記の様に調整した。この試験溶液を4℃の冷暗所に保存した時の3日間後の経時測定により保存安定性を求めた結果、いずれの濃度においても顕著な濃度変化は見られなかった。(各試験試料はn=2で測定した)

表-3 保存安定性試験の測定結果

| No | 試料濃度 (mg/l) | 3日後の経時変化濃度 (mg/l) |                  |                  |                |        |
|----|-------------|-------------------|------------------|------------------|----------------|--------|
|    |             | 調整時               | 1日目              | 2日目              | 3日目            | 平均     |
| 1  | 1006        | 1012.7<br>1099.4  | 1021.9<br>1002.3 | 1035.4<br>1031.6 | 935.0<br>966.7 | 1013.2 |
| 2  | 100.6       | 104.6<br>98.8     | 100.4<br>97.0    | 103.3<br>110.1   | 98.0<br>100.0  | 101.5  |
| 3  | 10.06       | 10.7<br>10.2      | 10.2<br>10.1     | 10.2<br>10.4     | 9.43<br>9.72   | 10.2   |
| 4  | 1.006       | 1.1<br>1.1        | 0.83<br>0.96     | 0.94<br>0.88     | 1.1<br>1.2     | 1.03   |

しかし、ばらつきが若干大きいことがわかったので分析はn=2の平均値を用いることにした。それで、上記データがすべてばらつきと考え、n=2の平均値を用いて算出した場合(表-4)、この方法でのばらつきは、10mg/l 以上は CV=5%以内で問題ないと

思われるが1mg/lは CV=14%程度でばらちが大きいため異常値（設定値±20%）となった場合はnの数を増やす又は、検量線を再確認することにした。

表-4 保存安定性試験の測定結果（n=2の平均値とそのばらつき）

| No | 試料濃度<br>(mg/l) | 3日後の経時変化濃度 (mg/l) |        |        |       |   |
|----|----------------|-------------------|--------|--------|-------|---|
|    |                | 調整時               | 1日目    | 2日目    | 3日目   | 平均  |
| 1  | 1006           | 1056.1            | 1012.1 | 1033.5 | 950.8 | 1013.2<br>$\delta_{n-1}$ 45.3<br>CV % 4.5 |
| 2  | 100.6          | 101.7             | 98.7   | 106.7  | 99.0  | 101.5<br>$\delta_{n-1}$ 3.7<br>CV % 3.6   |
| 3  | 10.06          | 10.5              | 10.2   | 10.3   | 9.72  | 10.2<br>$\delta_{n-1}$ 0.33<br>CV % 3.3   |
| 4  | 1.006          | 1.1               | 0.90   | 0.92   | 1.2   | 1.03<br>$\delta_{n-1}$ 0.14<br>CV % 14    |

図-3 標準溶液の液体クロマトグラム (検量線作成用)

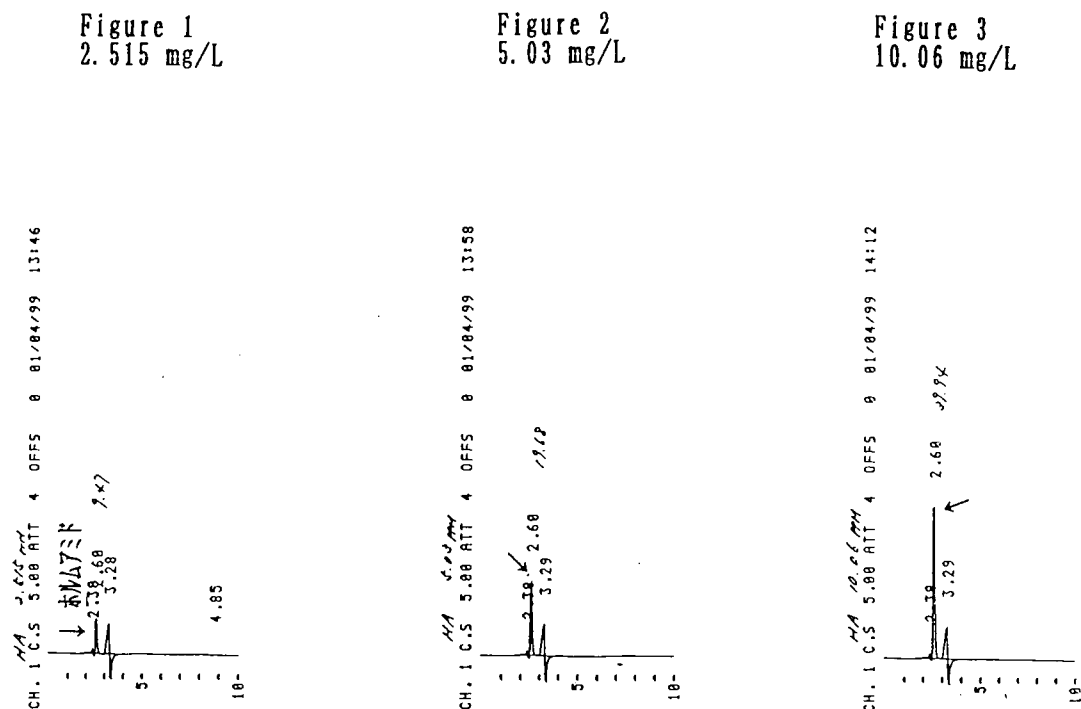


図-4 添加回収率試験の液体クロマトグラム

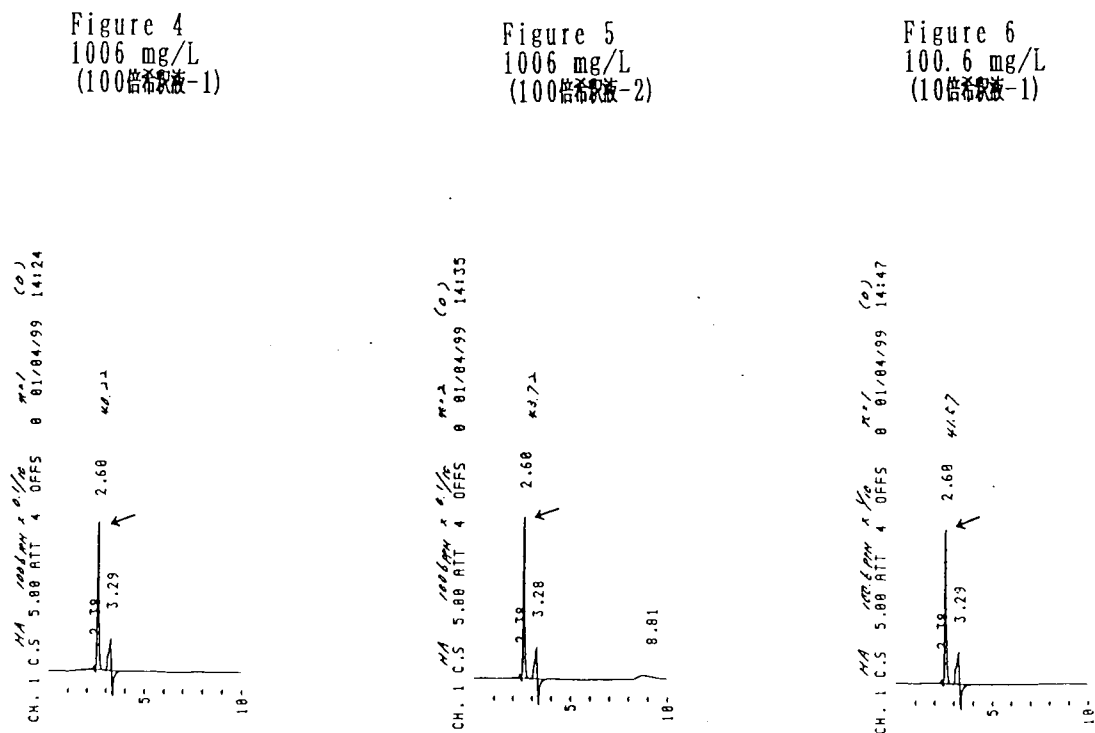


Figure 7  
100.6 mg/L  
(10倍稀释-2)

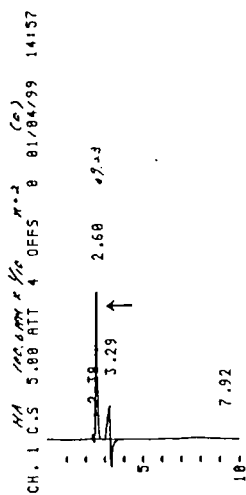


Figure 8  
10.06 mg/L  
(n-1)

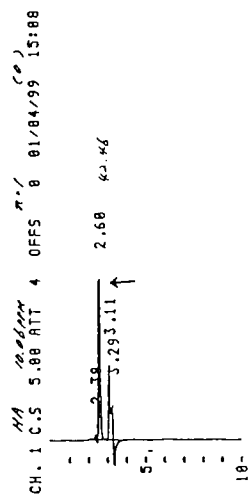


Figure 9  
10.06 mg/L  
(n-2)

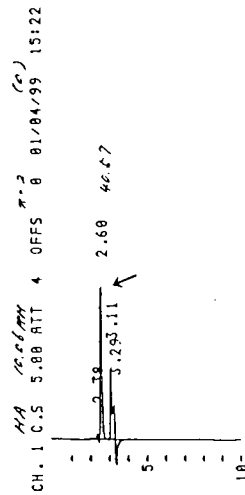


Figure 10  
1.006 mg/L  
(n-1)

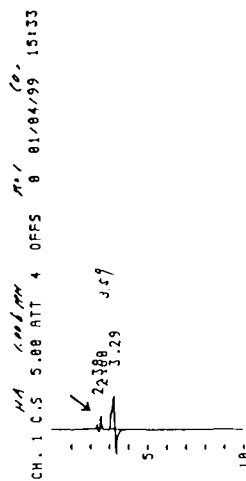


Figure 11  
1.006 mg/L  
(n-2)

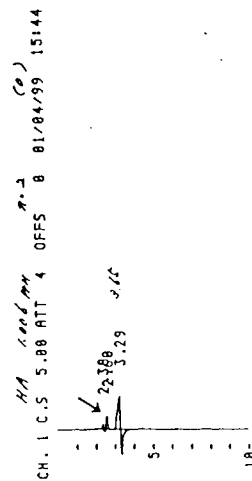


図-5 保存安定性試験の液体クロマトグラム

Figure 12  
標準溶液  
2.905 mg/L

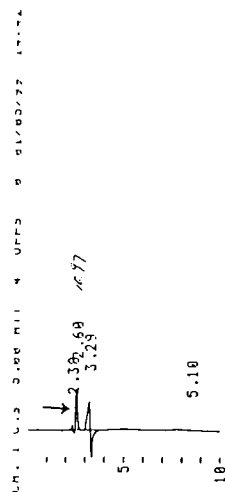


Figure 13  
標準溶液  
5.81 mg/L

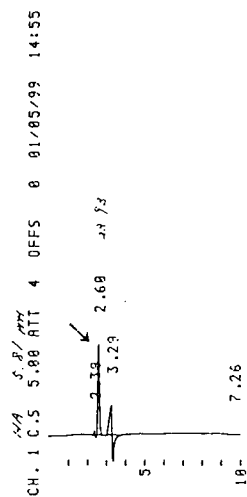


Figure 14  
標準溶液  
11.62 mg/L

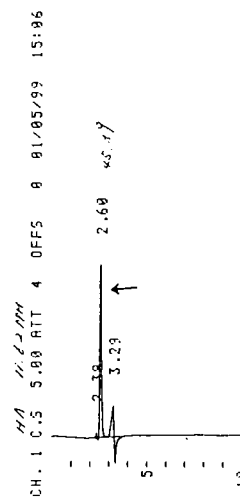


Figure 15  
1006 mg/L (1日後)  
(100倍希釈液-1)

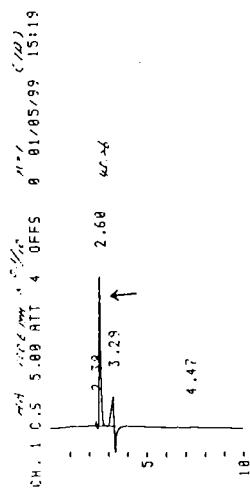


Figure 16  
1006 mg/L (1日後)  
(100倍希釈液-2)

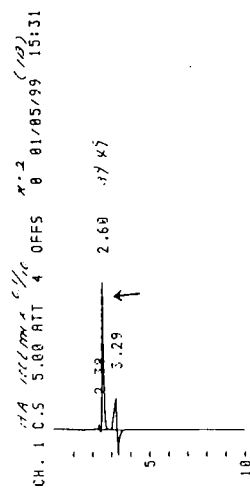
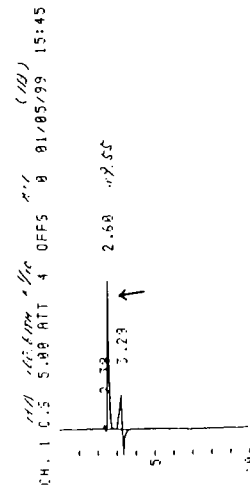


Figure 17  
100.6 mg/L (1日後)  
(10倍希釈液-1)





CH. 1 C.S. 5.80 ATT 4 OFFS 0 81/05/99 15:57

(10)

6.48  
5.  
3.29  
2.68

←

CH. 1 C.S. 5.00 ATT 4 OFFS 0 01/05/99 16:09  
 (10)

2.60 44.37

*14A* *SC 100* *(10)*  
CH. 1 C.S. 5.00 ATT 4 OFFS 0 01/05/99 16:21  
  
2.70  
3.23.10  
4.40

CH. 1 0.5 5.00 ATT 4 OFFS 0 01/05/99 16:32 (111)

2.289 3.29

CH. 1 C.5 5.00 ATT 4 OFF5 0 01/05/99 16:46  
HA 2.111mV X-1  
(10)

22.38A  
5.29

5 -  
10 -

Figure 23  
標準溶液  
2.955 mg/L

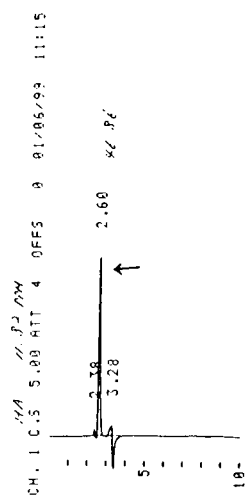


Figure 24  
標準溶液  
5.91 mg/L

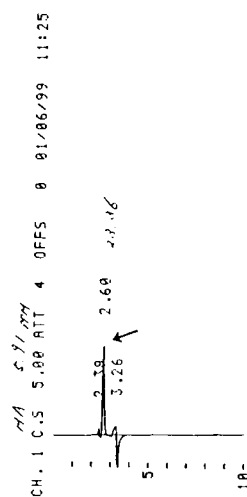


Figure 25  
標準溶液  
11.82 mg/L

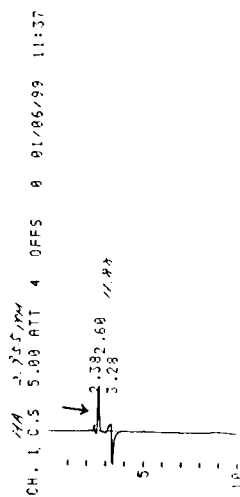


Figure 26  
1006 mg/L (2日後)  
(100倍希釈液-1)

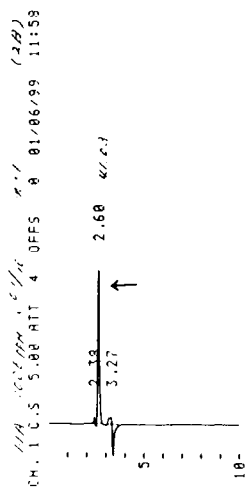


Figure 27  
1006 mg/L (2日後)  
(100倍希釈液-2)

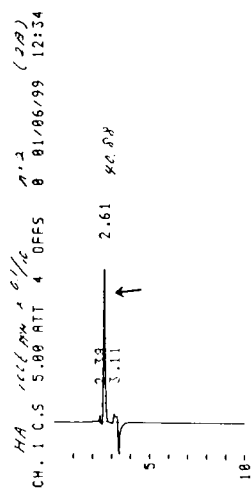


Figure 28  
100.6 mg/L (2日後)  
(10倍希釈液-1)

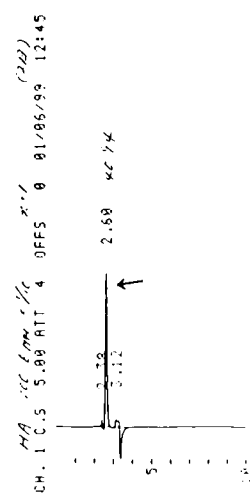


Figure 29  
100.6 mg/L (2日後)  
(10倍希釈液-2)

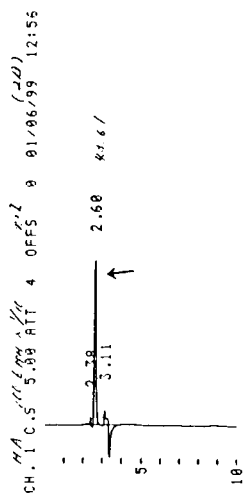


Figure 30  
10.06 mg/L (2日後)  
(n-1)

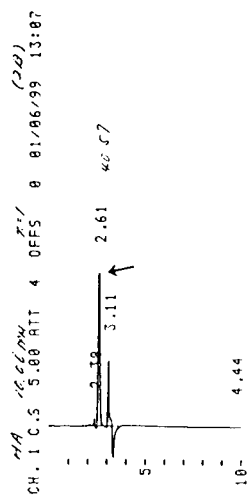


Figure 31  
10.06 mg/L (2日後)  
(n-2)

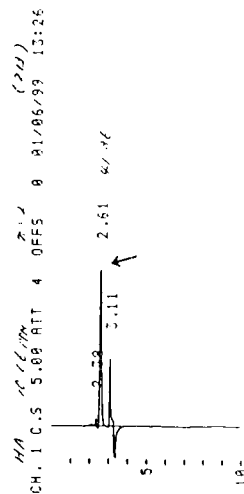


Figure 32  
1.006 mg/L (2日後)  
(n-1)

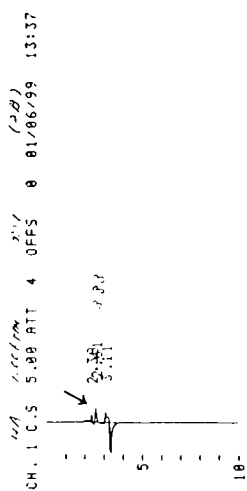


Figure 33  
1.006 mg/L (2日後)  
(n-2)

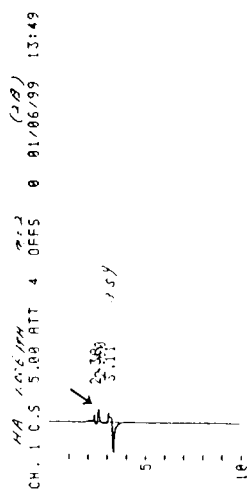


Figure 34  
標準溶液  
2.725 mg/L

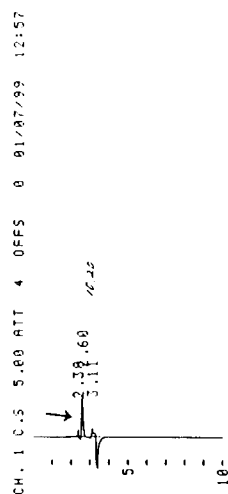


Figure 35  
標準溶液  
5.46 mg/L

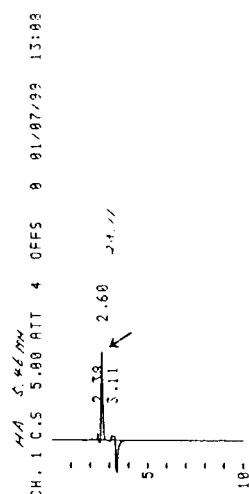


Figure 36  
標準溶液  
10.92 mg/L

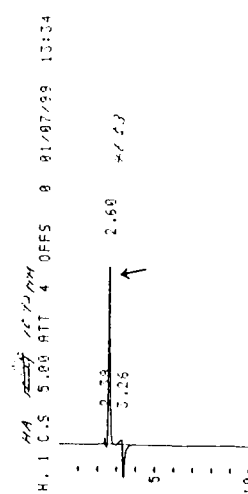


Figure 37  
1006 mg/L (3日後)  
(100倍希釈液-1)

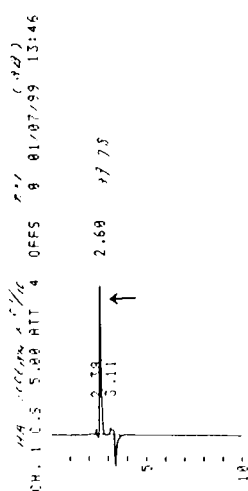


Figure 38  
1006 mg/L (3日後)  
(100倍希釈液-2)

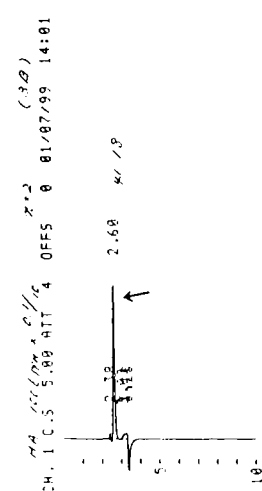


Figure 39  
100.6 mg/L (3日後)  
(10倍希釈液-1)

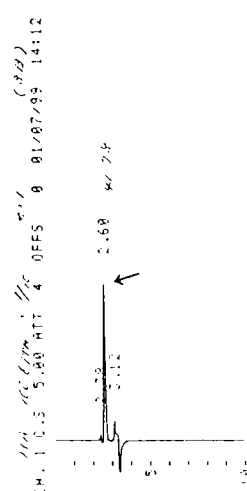


Figure 40  
100.6 mg/L (3日後)  
(10倍希釈液-2)

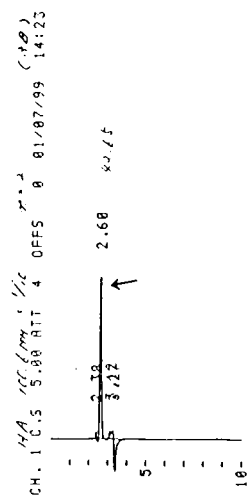


Figure 41  
10.06 mg/L (3日後)  
(n-1)

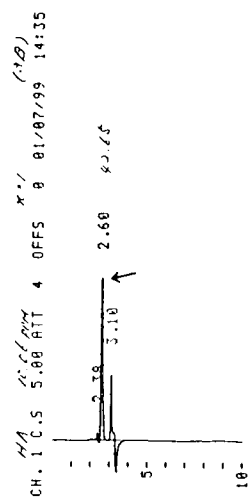


Figure 42  
10.06 mg/L (3日後)  
(n-2)

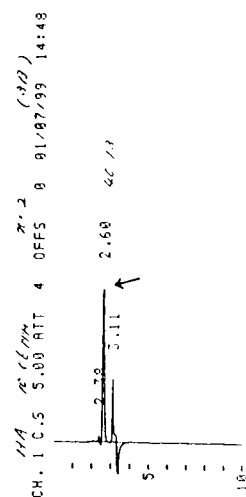


Figure 43  
1.006 mg/L (3日後)  
(n-1)

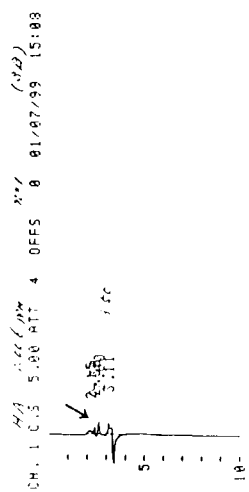
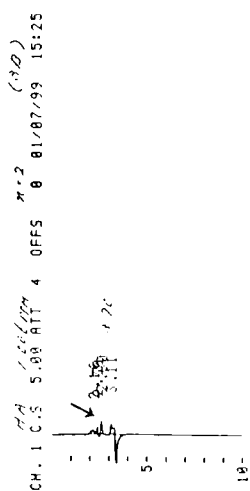


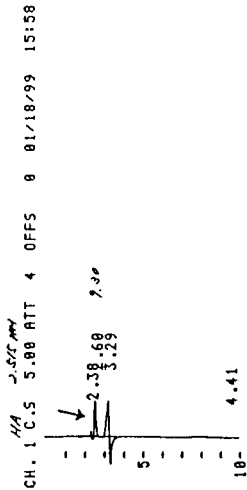
Figure 44  
1.006 mg/L (3日後)  
(n-2)



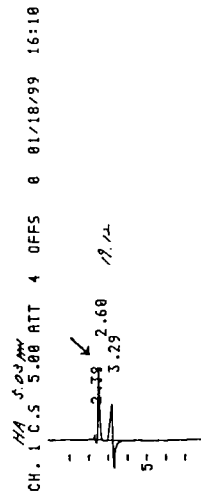
試験結果の液体クロマトグラム

試料名：ホルムアミドのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験  
(試験番号：NO1998生-08)

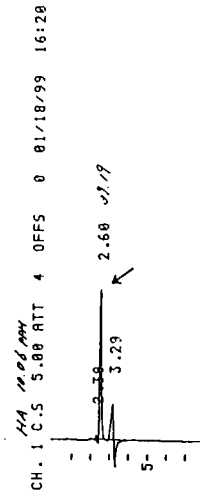
暴露開始時  
Figure 45  
標準液 2.515 mg/L



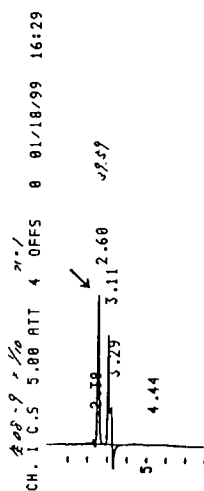
暴露開始時  
Figure 46  
標準液 5.03 mg/L



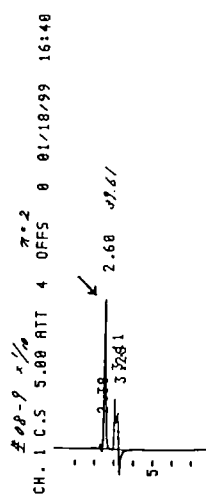
暴露開始時  
Figure 47  
標準液 10.06 mg/L



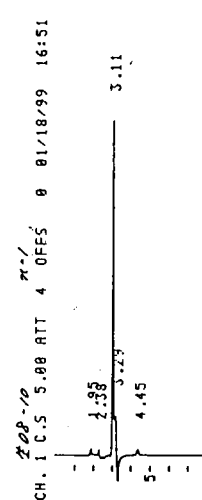
暴露開始時  
Figure 48  
100 mg/L  
生-08-9-1  
(10倍希釈液)



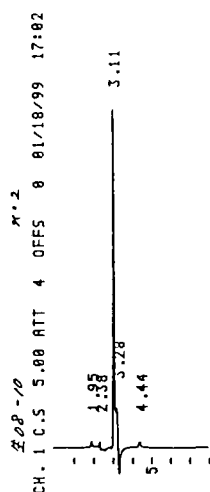
暴露開始時  
Figure 49  
100 mg/L  
生-08-9-2  
(10倍希釈液)



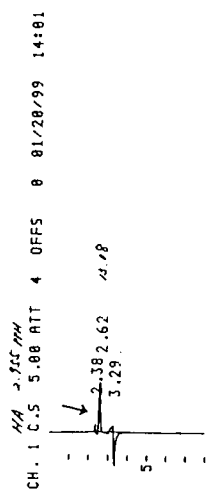
暴露開始時  
Figure 50  
Control  
生-08-10-1



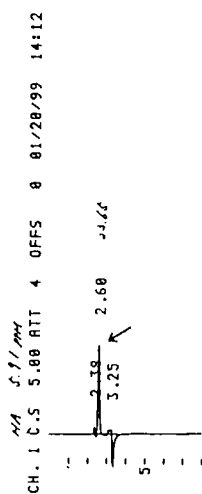
暴露開始時  
Figure 51  
Control  
4-08-10-2



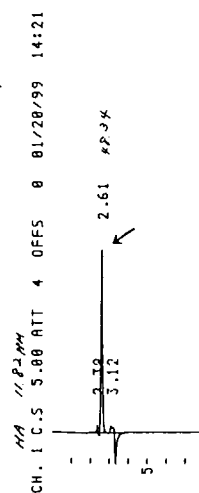
暴露 (48時間換水前)  
Figure 52  
標準溶液 2.955 mg/L



暴露 (48時間換水前)  
Figure 53  
標準溶液 5.91 mg/L

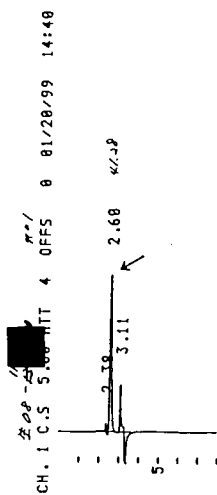


暴露 (48時間換水前)  
Figure 54  
標準溶液 11.82 mg/L



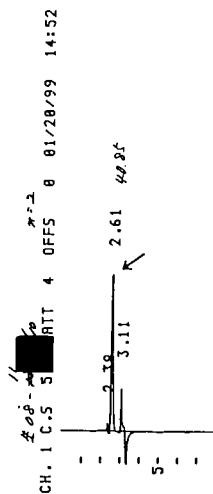
暴露 (48時間換水前)

Figure 55  
100 mg/L  
生-08-11-1  
(10倍希釈液)



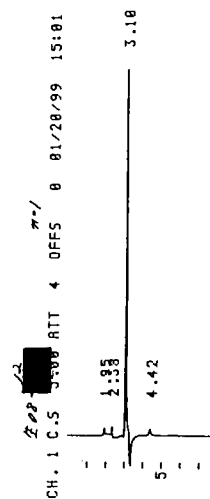
暴露 (48時間換水前)

Figure 56  
100 mg/L  
生-08-11-2  
(10倍希釈液)



暴露 (48時間換水前)

Figure 57  
Control  
生-08-12-1



暴露 (48時間換水前)

Figure 58  
Control  
生-08-12-2

