

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) のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する  
急性毒性試験

(試験番号: EFA96001)

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：EFA96001

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)のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

試験施設：住化テクノサービス株式会社

修正内容：

- 1) 16ページ、Table 7のNominal Concentrationを以下の通り修正した。

修正前：60mg/L

修正後：10mg/L

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

項 目	監査日	報告日	
	QAU	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) のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

試験番号： EFA96001

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-メチルプロピオニトリル)のヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する  
急性毒性試験

試験番号： EFA96001

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27日	平成9年1月15日	平成9年1月30日
	平成9年2月27日	平成9年2月27日	平成9年3月3日
	平成9年3月28日	平成9年3月28日	平成9年3月28日
	平成9年4月25日	平成9年4月25日	平成9年4月25日
試験査察	平成9年3月3日	平成9年3月4日	平成9年3月4日
最終報告書	平成9年4月18日	平成9年4月21日	平成9年6月30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 7 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) のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験
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、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「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



(平成 9 年 6 月 30 日)

試験担当者



(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 3 日～平成 9 年 3 月 7 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	10
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	11
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 試験液中の被験物質濃度	11
5.3 半数致死濃度 (LC50)	12
5.4 0%死亡最高濃度および100%死亡最低濃度	12
5.5 毒性症状	12
5.6 試験液の水温、溶存酸素濃度およびpH	12
Table 1～8	13～16
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

## 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) のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

### 試験番号

E F A 9 6 0 0 1

### 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。

被験物質：	2,2'-アゾビス (2-メチルプロパニトリル)
暴露方式：	半止水式 (48 時間で全量換水)
供試生物：	ヒメダカ ( <i>Oryzias latipes</i> )
試験濃度：	対照区、助剤対照区 (助剤濃度：100mg/L) および 10mg/L
暴露期間：	96 時間
試験液量：	5.0 L
生物数：	10 尾／試験区
照明：	16 時間明／8 時間暗 (室内光)
エアレーション：	なし
温度：	24.1～24.4℃

### 結 果

試験の結果、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96時間の半数致死濃度 (LC50) は10mg/L以上であった。

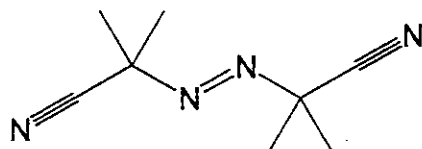


## 1. 被験物質

### 1.1 名称、構造式および物理化学的性状

名 称： 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-3)

構造式：



分子式：  $C_8H_{12}N_4$

分子量： 164.21

### 1.2 供試試料

購入先：

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での安定性

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。暴露終了後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認められな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 : 2.1 cm (1.9~2.3 cm), n=10
- 4) 体 重 : 0.16 g (0.12~0.26 g), n=10
- 5) ロット番号 : K-961113
- 6) 購入先 : 滋賀県南郷水産センター
- 7) 購入日 : 平成 8 年 11 月 13 日

## 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ステープルフードを与えた。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% 未満であった。また、供試魚の基準物質 (硫酸銅 (II) 五水和物 : 試薬特級、Lot No. SKM2884、和光純薬工業 (株) 製) による急性毒性試験の結果、96 時間 LC50 は 5.7 mg/L であった。

## 3. 試験方法

### 3.1 試験条件

- 1) 方式 : 半止水式 (48 時間で全量換水)
- 2) 設定温度 :  $24 \pm 1^\circ\text{C}$
- 3) 暴露期間 : 96 時間
- 4) 生物数 : 10 尾 / 試験区
- 5) 試験液量 : 5.0 L
- 6) 連数 : 1 試験区につき 1 連
- 7) 給餌 : 無給餌
- 8) エアレーション : なし
- 9) 照明 : 16 時間明 / 8 時間暗 (室内光)

### 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、硬度が 63.1mg/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： 5.0L容総ガラス製水槽（内寸約 21×16×23cm）

恒温槽： F R P 製恒温槽（内寸 298.5×78.5×27.0cm、温水・冷水で水温制御）

水温計： 電子温度計（PC-2200 ㈱佐藤計量器製作所製）

pH計： F－15（堀場製作所製）

溶存酸素計： 58型（YSI製）

### 3.4 試験濃度の設定

1.0 および 10mg/L\*で予備試験を実施したところ、10mg/Lにおいても 96 時間の暴露期間中死亡は認められず、対照区同様なんら中毒症状も観察されなかった。このため、本試験では均一分散可能な最大濃度 10mg/Lのみとした。

\*最大助剤濃度(100mg/L)における、均一分散可能な当該被験物質の最大濃度

### 3.5 試験液の調製

電子天秤を用いて被験物質を秤量し、これに溶解助剤としてジメチルホルムアミド（以下助剤と略す）を 10 倍量添加してよく混和後、脱塩素水で 500mLに定容し、均一な試験原液を調製した。この原液を脱塩素水で希釈し、設定濃度 10mg/Lの試験液を調製した。

試験液中の助剤濃度は 100mg/Lとした。調製した試験原液および試験液に白濁や沈殿は認められず、全て透明であった。

### 3.6 試験液の分析

全試験区について暴露開始時（0 時間）および 48 時間の試験液交換前に試験液を採取し、フィルター濾過後、HPLCにより分析した。試験液の分析に際しては、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㈱住化分析センターで実施した。

### 3.7 試験操作

暴露開始時に供試魚と同水槽で馴化した魚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試験区当たり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。また、換水前後にも、pH、溶存酸素濃度、水温を測定した。

暴露開始後、24、48、72および96時間後の死亡個体数および毒性症状の観察は、下記の定義に従って実施した。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。

#### 一般的症例と定義

異常呼吸： 対照区の魚と比較して鰓蓋の動きが異なるもの。

異常遊泳： 明らかに対照区の魚と異なる遊泳をしたもの。動作の緩慢、過敏、痙攣、反転等

遊泳不能： 底部または水面で動いてはいるものの、水中を遊泳することが不可能なもの。横転、仮死を含む。

死亡： 刺激を与えた場合に反応の認められないもの。

### 4. 結果の算出

均一分散可能な被験物質の最大濃度 10mg/Lのみの限度試験としたため、統計手法(Binomial法、Moving average法およびProbit法)による算出はできなかった。

### 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特に認められなかった。

#### 5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時および 48 時間の試験液交換前に測定した試験液中の被験物質濃度は、暴露開始時で 10mg/L (設定値 10mg/L) であり、暴露開始後 48 時間では 9mg/Lであった。これらの実測濃度を幾何平均すると 10mg/Lとなり、設定値に対する割合は 100%であった。このため、以下の濃度は設定値で示す。

[Table 1 (p.13), 付属資料-2]

### 5.3 半数致死濃度 (LC50)

2, 2'-アゾビス (2-メチルプロパニトリル) に96時間暴露したヒメダカの死亡率は10mg/Lにおいても対照区同様0%であった。従って96時間の半数致死濃度 (LC50) は均一分散可能な最大濃度10mg/L以上であった。

[Tables 2 & 3 (p.13 & 14), Figure 1 (p.17)]

### 5.4 0%死亡最高濃度および100%死亡最低濃度

2, 2'-アゾビス (2-メチルプロパニトリル) に96時間暴露したヒメダカの死亡は、均一分散可能な最大濃度10mg/Lにおいて認められなかった。

[Table 4 (p.14), Figure 1 (p.17)]

### 5.5 毒性症状

均一分散可能な最大濃度10mg/Lで96時間暴露したヒメダカは対照区と同様であり、暴露期間中に異常な症状は観察されなかった。

[Table 5 (p.15)]

### 5.6 試験液の水温、溶存酸素濃度およびpH

96時間の暴露期間中の水温は24.1~24.4℃であった。暴露期間中のpHは7.5~7.9であった。暴露期間中の溶存酸素濃度は5.9~8.2mg/Lであり、すべての試験区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: 8.25mg/L)。

[Tables 6, 7 & 8 (p.15 & 16)]

以 上

Table 1. Measured Concentrations of 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile) during a 96-Hour Exposure of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration mg/L	Measured Concentration(mg/L)			Percent of Nominal
	0 Hour new	48 Hour old	Mean	
Control	<1	<1	---	---
Solvent Control	<1	<1	---	---
10	10	9	10	100

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 48-hours exposure period

Table 2. Mortality of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile) under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration mg/L	Cumulative Number of Dead (Percent Mortality)			
	24 Hour	48 Hour	72 Hour	96 Hour
Control	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
Solvent Control	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)

Table 3. Calculated LC50 Values for Orange Killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile) Based on Nominal Concentrations under Semi-Static Test Conditions

Exposure Period (Hour)	LC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	> 10	---	---
48	> 10	---	---
72	> 10	---	---
96	> 10	---	---

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

Exposure Period (Hour)	Highest Concentration in 0% Mortality (mg/L)	Lowest Concentration in 100% Mortality (mg/L)
24	10	>10
48	10	>10
72	10	>10
96	10	>10

Table 5. Symptoms of Toxicity Observed in Orange Killifish (*Oryzias latipes*) Exposed to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile) under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration mg/L	Symptoms			
	24 Hour	48 Hour	72 Hour	96 Hour
Control	A:10	A:10	A:10	A:10
Solvent Control	A:10	A:10	A:10	A:10
10	A:10	A:10	A:10	A:10

A: normal, B: abnormal respiration, C: abnormal swimming, D: inverted

Table 6. pH Values during a 96-Hour Semi-Static Exposure of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile)

Nominal Concentration mg/L		pH				
		0 Hour	24 Hour	48 Hour	72 Hour	96 Hour
Control	new	7.9		7.9		
	old		7.7	7.7	7.5	7.6
Solvent Control	new	7.9		7.9		
	old		7.8	7.8	7.8	7.8
10	new	7.9		7.9		
	old		7.9	7.9	7.9	7.9

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions after 48-hours exposure period



Table 7. Dissolved Oxygen Concentrations during a 96-Hour Semi-Static Exposure of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile)

Nominal Concentration mg/L		Dissolved Oxygen Concentration mg/L				
		0 Hour	24 Hour	48 Hour	72 Hour	96 Hour
Control	new	8.2		7.7		
	old		6.7	5.9	6.2	6.1
Solvent Control	new	8.2		7.7		
	old		6.7	6.2	6.5	6.6
10 <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">11</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">12</span>	new	8.2		7.8		
	old		6.6	6.2	6.8	6.5

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions after 48-hours exposure period

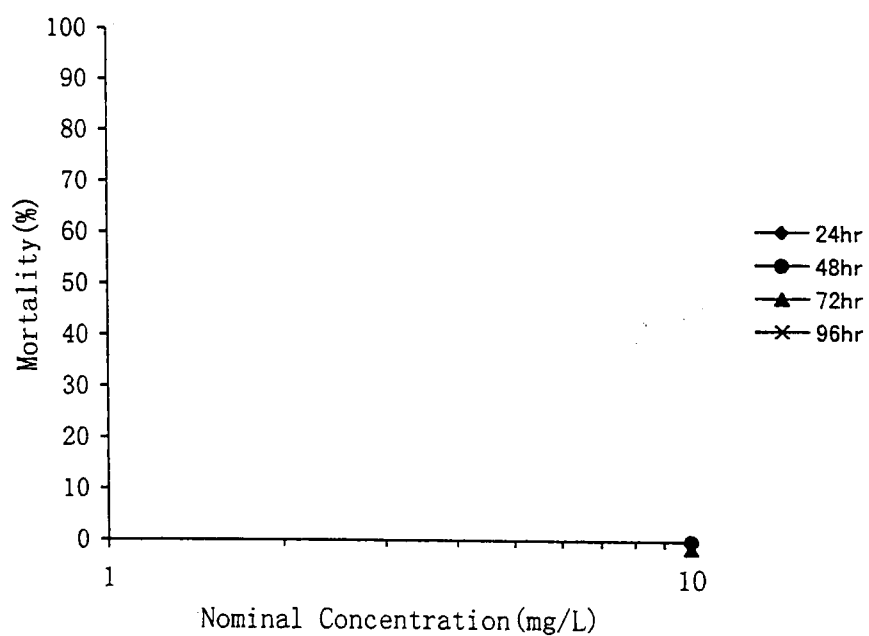
Table 8. Temperature Values during a 96-Hour Semi-Static Exposure of Orange Killifish (*Oryzias latipes*) to 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile)

Nominal Concentration mg/L		Temperature, °C				
		0 Hour	24 Hour	48 Hour	72 Hour	96 Hour
Control	new	24.1		24.2		
	old		24.2	24.4	24.3	24.4
Solvent Control	new	24.2		24.2		
	old		24.2	24.4	24.3	24.3
10	new	24.2		24.1		
	old		24.1	24.2	24.3	24.4

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions after 48-hours exposure period

Figure 1. Concentration-Response Curve of 2,2'-Azobis(2-methylpropanitrile) Mortality in Orange Killifish (*Oryzias latipes*)



## 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
Nickel	<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 15 頁)

## 試験結果報告書

表題： 2,2'-アゾビス(2-メチルプロパニトリル)のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験 (物理・化学系)

(試験番号： EFA96001)

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-メチルプロピオニトリル)のヒメダカ (*Oryzias latipes*)  
に対する急性毒性試験 (物理・化学系)

試験番号 : EFA96001



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)のヒメダカ(*Oryzias latipes*) に対する  
急性毒性試験 (物理・化学系)  
 試験番号: EFA96001

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。

QAU 監査・査察日	運営管理者および 試験責任者への報告日	監査・査察 項目
1997年 3月 3日	1997年 3月 3日	試験計画書
1997年 3月 3日	1997年 3月 3日	試験操作
1997年 3月20日	1997年 3月20日	最終報告書 (草稿)
1997年 3月25日	1997年 3月25日	最終報告書

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

QA責任者

ESOP/QAU/001 RS-11



試験番号：EFA96001

表題： 2,2'-アゾビス(2-メチルプロピオン)のヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験 (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 3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)のヒメダカに対する急性毒性試験(試験番号:EFA96001)」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	株式会社島津製作所製
紫外分光光度計検出器:	SPD-6A	株式会社島津製作所製
自動注入装置:	KMT-60A-II型	株式会社協和精密製作所製
データ処理装置:	C-R4A	株式会社島津製作所製
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、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、蒸留水で希釈し、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	9.867	9.466

## 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 ( $\mu\text{v} \cdot \text{s e c}$ )
1	49.79	4297
2	249.0	22337
3	497.9	44758
4	995.5	92819

$$Y(\text{Peak Area}) = -928.1 + 93.70X(\text{Weight})$$

$$r = 0.9998$$

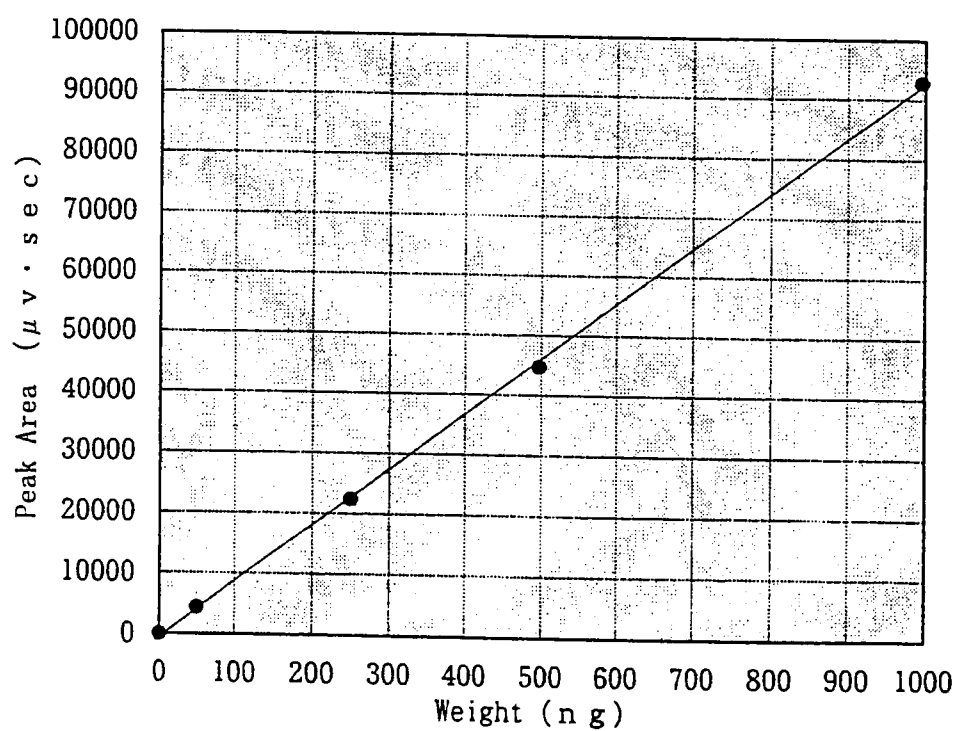


Figure 2 Representative Chromatograms

(1) Standard 9.957 mg/L

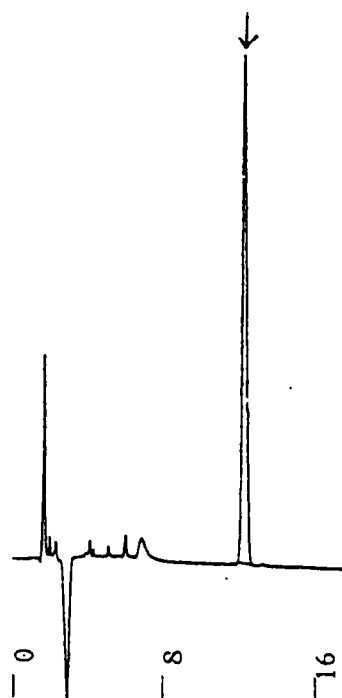
CHROMATOPAC C-R4A

CH=1 REPORT No.=13

クロマト=1:970303.C04

97/03/03

12:34:23



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	12.382	44758	2987			100	
TOTAL			44758	2987			100	

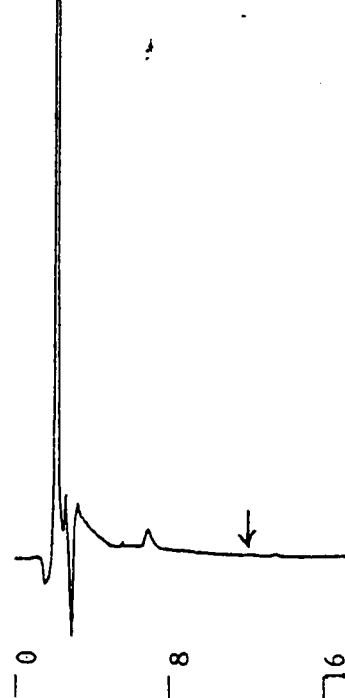
CHROMATOPAC C-R4A

CH=1 REPORT No.=15

クロマト=1:970303.C06

97/03/03

13:15:17



\*\* 定量計算結果 \*\*

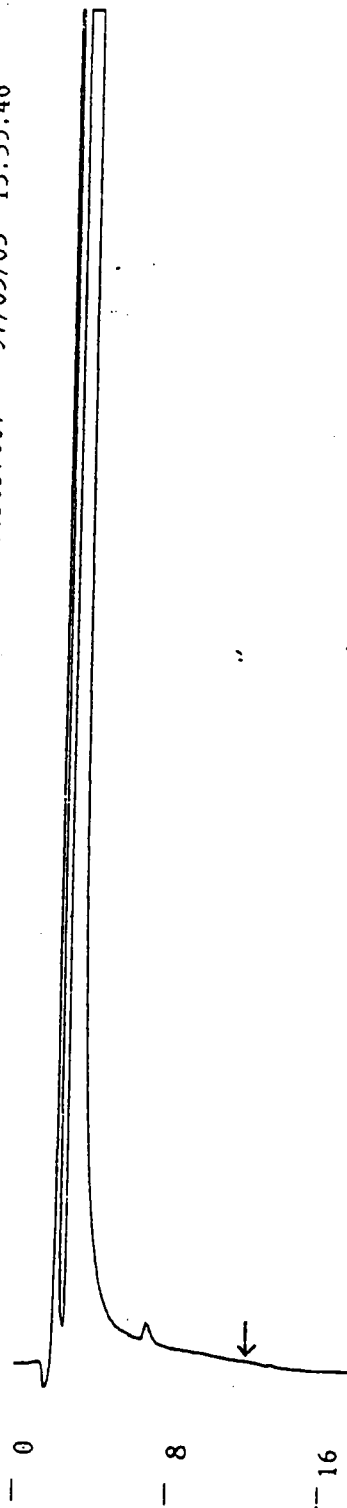
注意 15-有 CALERROR: 1

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	12.382	0	0			0	
TOTAL			0	0			0	

Figure 2 Continued

(3) Solvent Control; Hour 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=16 クロマト=1:970303.C07 97/03/03 13:35:46

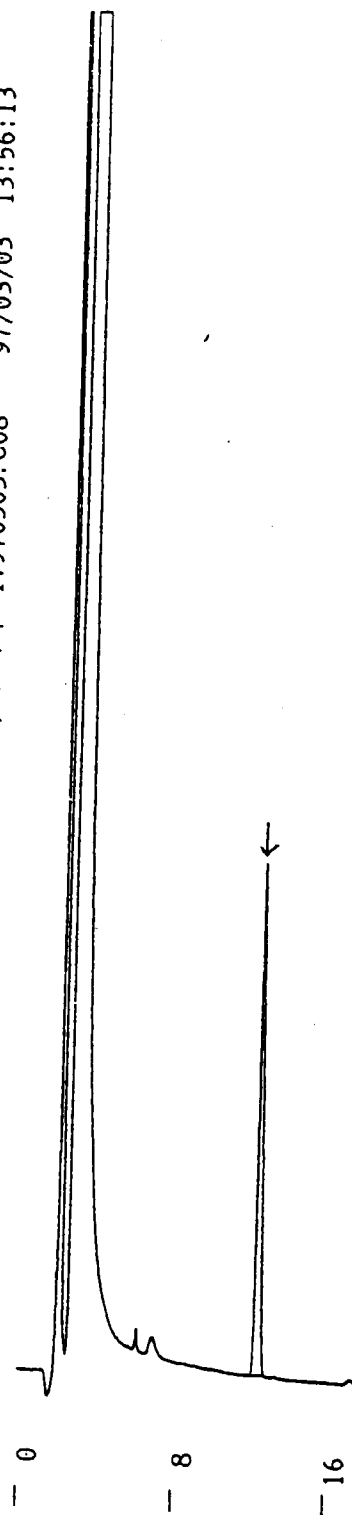


\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 17-有 CALERROR: 1

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

(4) 10 mg/L nominal; Hour 0

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=17 クロマト=1:970303.C08 97/03/03 13:56:13



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	12.457	45301	2998			100	
TOTAL			45301	2998			100	

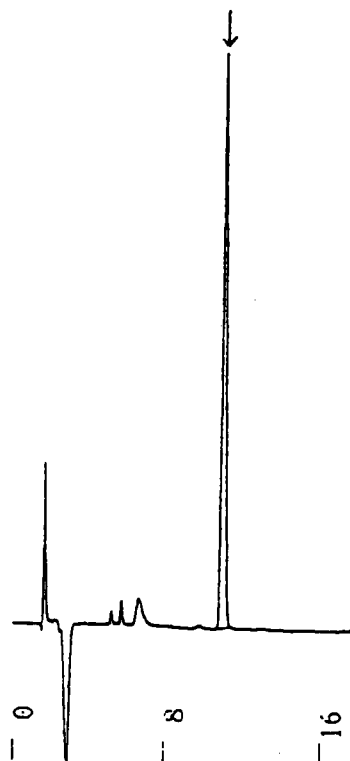


Figure 2 Continued

(5) Standard 9.957 mg/L

(6) Control: Hour 48

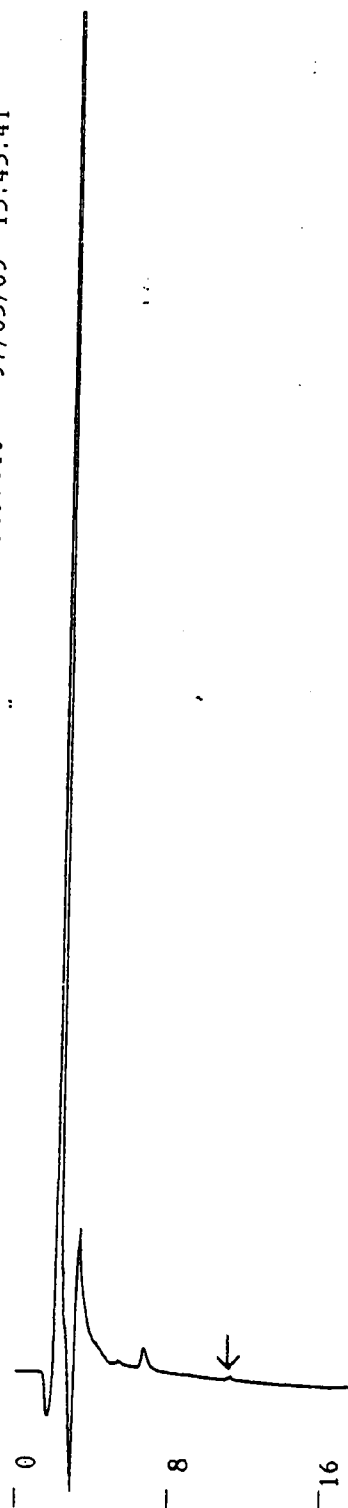
CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=5 クロマト=1:970305.C04 97/03/05 13:02:46



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11.063	44938	3365			100	
TOTAL			44938	3365			100	

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=7 クロマト=1:970305.C06 97/03/05 13:43:41



\*\* 定量計算結果 \*\*

注意 17-有 CALERROR: 1

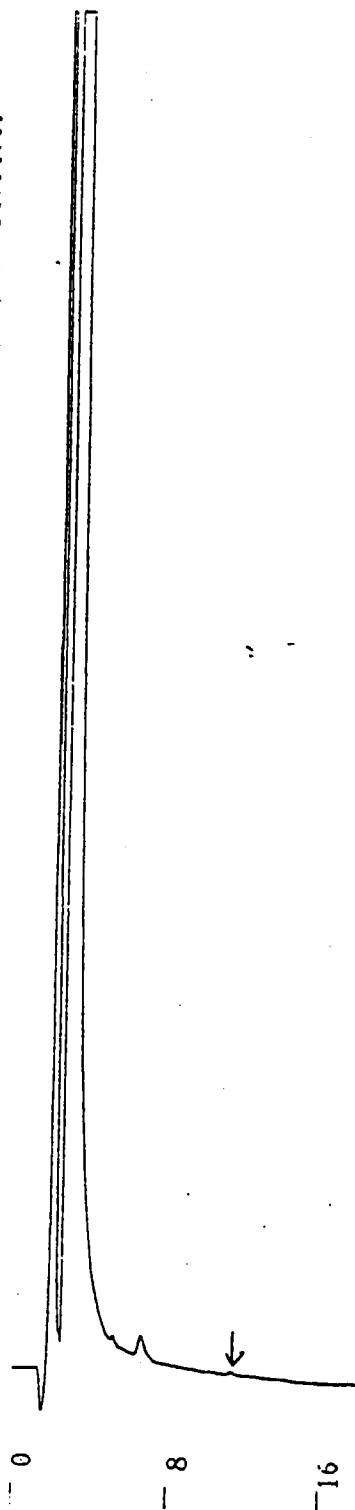
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
			0	0			0	
TOTAL			0	0			0	

Figure 2 Continued

(7) Solvent Control; Hour 48

(8) 10 mg/L nominal; Hour 48

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=8 クロマト=1:970305.C07 97/03/05 14:04:09

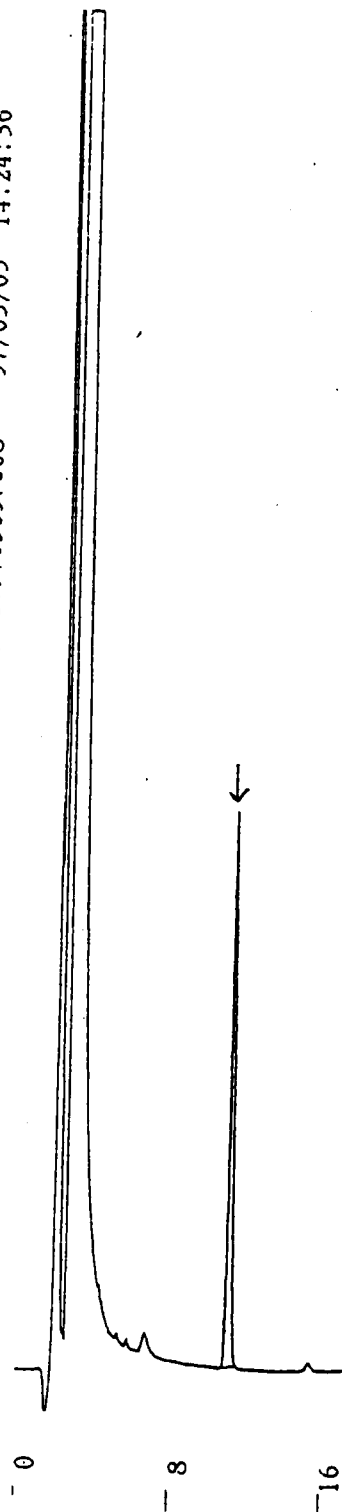


\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 1.7-有 CALERROR: 1

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

TOTAL

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=9 クロマト=1:970305.C08 97/03/05 14:24:36



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	11.132	43380	3249			100	

TOTAL