

## 複 写 証 明 書

住化テクノサービス株式会社

試験表題: 4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験

試験番号: 0809EDI

試験責任者: 



試験委託者: 環境省

〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目2番2号

これは、上記試験の最終報告書(正本)から正確に

複写されたものであることを証明します。

2009 年 3 月 25 日

試験責任者:  

環境省 殿

## 最 終 報 告 書

表題：4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験

試験番号：0809EDI

試験終了日：2009 年 3 月 25 日

試験施設名：住化テクノサービス株式会社

所在地：〒665-0051 兵庫県宝塚市高司四丁目 2 番 1 号

## 陳 述 書

試験委託者：環境省

〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目2番2号

表題：4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験

試験番号：0809EDI

上記試験は、下記の GLP 基準に準拠して実施したものである。

- (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)
- (2) 「OECD Principles on Good Laboratory Practice」(as revised in 1997) ENV/MC/CHEM (98)17

2009 年 3 月 25 日

試験責任者：

住化テクノサービス株式会社

## 信頼性保証書

試験表題: 4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験

試験番号: 0809EDI

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・監査を受けている。

査察・監査項目	査察・監査日	報告日	
	QAU	試験責任者	運営管理者
試験計画書	2008年11月6日	2008年11月6日	2008年11月10日
試験計画書変更書(1)	2008年11月11日	2008年11月12日	2008年11月12日
試験計画書変更書(2)	2008年12月11日	2008年12月12日	2008年12月12日
試験計画書変更書(3)	2009年1月6日	2009年1月7日	2009年1月7日
試験 (試験原液調製) (試験液調製・暴露)	2009年1月19日	2009年1月20日	2009年1月20日
	2009年1月20日	2009年1月20日	2009年1月20日
最終報告書 草稿 最終版	2009年3月10日		
	2009年3月25日	2009年3月25日	2009年3月25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。

2009年3月25日

住化テクノサービス株式会社

信頼性保証責任者





## 試験日程および試験従事者

試験番号: 0809EDI

表題: 4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験

### 試験日程:

試験開始日: 2008 年 11 月 6 日

試験終了日: 2009 年 3 月 25 日

### 実験実施日:

予備試験期間: 2008 年 11 月 11 日～2008 年 12 月 4 日

本試験期間: 2009 年 1 月 19 日～2009 年 1 月 22 日

### 試験従事者:

試験責任者:

所属: 環境科学センター 環境生態部 環境生態チーム

試験担当者:

所属: 環境科学センター 環境生態部 環境生態チーム

## 目 次

	頁
1. 要約 .....	6
2. 緒言 .....	6
3. 試験材料および試験方法 .....	6
3.1. 被験物質 .....	6
3.2. 供試生物 .....	7
3.3. 希釈水 .....	8
3.4. 試験条件 .....	8
3.5. 試験に使用した機器など .....	9
3.6. 試験濃度の設定 .....	9
3.7. 試験液の調製 .....	9
3.8. 試験液中の被験物質濃度の測定 .....	9
3.9. 試験操作 .....	10
3.10. 結果の算出 .....	10
4. 試験結果および考察 .....	11
4.1. 試験結果の信頼性に影響を及ぼしたと思われる諸要因 .....	11
4.2. 被験物質の同一性および安定性の確認 .....	11
4.3. 試験液中の被験物質濃度 .....	11
4.4. 中毒症状および EC50 .....	11
4.5. 試験液の水質 .....	11
5. 記録および資料の保管 .....	12
表 1. 4-クロロ-2-ニトロアニリンの試験液中濃度 .....	13
表 2. 4-クロロ-2-ニトロアニリンに暴露されたオオミジンコの中毒症状および累積遊泳阻害数(率) .....	13
表 3. 4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコに対する EC50 .....	14
表 4. 試験液の DO .....	14
表 5. 試験液の水温 .....	15
表 6. 試験液の pH .....	15
図 1. 4-クロロ-2-ニトロアニリンに暴露されたオオミジンコの濃度－遊泳阻害率曲線 .....	16
付属資料-1. 人工調製水(Elendt M4)の組成表 .....	17
付属資料-2. 予備試験-1 および-2 の結果 .....	18
付属資料-3. 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの定量法 .....	19
付属資料-4. 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験 .....	34
付属資料-5. 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性試験 .....	53

## 1. 要約

4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する24および48時間後の半数遊泳阻害濃度(EC50)は、測定濃度の平均値を基に求めた結果、それぞれ6.3および4.2 mg a.i./Lであった。

試験液中の被験物質濃度を暴露開始時および終了時に測定し、その平均値は設定濃度に対して100～106%であった。

## 2. 緒言

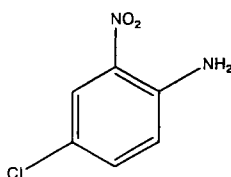
下記の試験法指針に準拠して被験物質のオオミジンコに対する急性遊泳阻害試験を行い、EC50を求めた。

- (1) 「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)の別添「藻類生長阻害試験、ミジンコ急性遊泳阻害試験及び魚類急性毒性試験」に定めるV. ミジンコ急性遊泳阻害試験
- (2) 「OECD Guidelines for the Testing of Chemicals」 No.202 *Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test (Adopted: 13 April 2004) (以下、OECDガイドラインと称す)

## 3. 試験材料および試験方法

### 3.1. 被験物質

- |                        |                 |
|------------------------|-----------------|
| (1) 名称:                | 4-クロロ-2-ニトロアニリン |
| (2) 別名 <sup>*1</sup> : | —               |
| (3) CAS 番号:            | 89-63-4         |
| (4) 構造式:               |                 |



- |                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| (5) 分子式:                          | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |
| (6) 分子量:                          | 172.57  |
| (7) 純度(%) <sup>*1</sup> :         | 99.9  |
| (8) ロット番号 <sup>*1</sup> :         | GJ01  |
| (9) 不純物の名称および含有率 <sup>*1</sup> :  | 不明  |
| (10) 蒸気圧 <sup>*1</sup> :          | 不明  |
| (11) 水溶解度 <sup>*1</sup> :         | 不明  |
| (12) オクタノール/水分配係数 <sup>*1</sup> : | 不明  |
| (13) 融点(°C) <sup>*1</sup> :       | 118   |

- (14) 沸点(°C)<sup>\*1</sup>: 不明
- (15) 常温における性状<sup>\*1</sup>: 橙色結晶性粉末
- (16) 安定性<sup>\*1</sup>: 不明
- (17) 溶媒に対する溶解度等<sup>\*1</sup>: エーテル、酢酸に可溶、メタノールに微溶
- (18) 有効期限: 受領日(2008年11月4日)より3年
- (19) 保管条件: 冷蔵庫
- (20) 同一性の確認<sup>\*2</sup>: 入手した被験物質のIRスペクトルを測定し、既存のスペクトルと一致することを確認
- (21) 安定性の確認<sup>\*2</sup>: 上記(20)で得たIRスペクトルと実験終了後に測定したIRスペクトルの比較により、保管中の安定性を確認
- (22) 製造元: XXXXXXXXXX

\*1: 製造元提供資料による

\*2: IRスペクトルの測定は広栄テクノ株式会社に委託した

### 3.2. 供試生物

- (1) 生物名: オオミジンコ(*Daphnia magna*)
- (2) 供試齢: 生後24時間齢未満の雌の幼体
- (3) 入手先: 独立行政法人 国立環境研究所(元環境庁国立環境研究所)
- (4) 入手年月日: 1996年10月28日
- (5) 入手後の管理: 継代飼育
- (6) 感受性の確認: 対照物質(重クロム酸カリウム、試薬特級、ロット番号: 903W2092、関東化学(株)製)による48時間EC50は0.89 mg/L(試験番号 08K1EDI、試験終了日2008年9月5日)であった。原則として6ヶ月毎に確認試験を実施しており、そのバックグラウンドデータ(2001年7月～2008年3月)は以下の通りである。  
48時間EC50の平均値±SD = 0.78±0.12 mg/L (n=14)
- (7) 親の馴化期間: 2009年1月6日～2009年1月20日(14日齢)  
馴化期間中、親の死亡率は0%であり、休眠卵の発生等の異常は認められず、良好な繁殖状態であった。



## (8) 親の馴化条件:

- ・飼育水: 人工調製水 Elendt M4(3.3.参照)
- ・飼育密度: 20 頭/L 飼育水(ただし、成熟個体の場合は 12 頭/L)
- ・換水頻度: 原則として週 3 回
- ・水温:  $20 \pm 1^\circ\text{C}$
- ・照明: 室内光、16 時間明/8 時間暗
- ・餌: 単細胞緑藻 *Chlorella vulgaris*(市販の生クロレラ濃縮液)  
および"YCT"(イースト、乾燥アルファルファおよび魚類餌料テトラミン®の混合懸濁液)
- ・給餌量: 原則として、ミジンコ 1 頭当たり 0.1~0.2 mgC(有機炭素含量)/日  
ただし、繁殖状態を考慮し適宜調整した。

## 3.3. 希釈水

OECD ガイドラインに記載の人工調製水(Elendt M4)を充分通気し、試験水温に調整した後、希釈水として使用した。暴露開始時の希釈水の水質を以下に、組成表を付属資料-1.に示した。

- ・溶存酸素濃度(DO): 8.8 mg/L
- ・水温:  $19.7^\circ\text{C}$
- ・pH: 8.2
- ・総硬度: 250 mg/L( $\text{CaCO}_3$ 換算)

## 3.4. 試験条件

- (1) 暴露方式: 止水式
- (2) 暴露期間: 48 時間
- (3) 試験容器: 100 mL 容ガラス製ビーカー  
試験容器にはゴミの侵入や試験液の蒸散を防ぐ目的で蓋をした
- (4) 試験液量: 100 mL/試験容器
- (5) 連数: 4 連/試験区
- (6) 供試生物数: 20 頭/試験区(5 頭/容器×4 連)
- (7) DO: 暴露期間を通して 3 mg/L 以上
- (8) 水温:  $20 \pm 1^\circ\text{C}$
- (9) pH: 調整せず
- (10) 照明: 室内光(685~997 lux)、16 時間明/8 時間暗
- (11) 給餌: なし
- (12) 通気: なし

### 3.5. 試験に使用した機器など

- (1) 恒温槽: 塩ビ製恒温槽(温水・冷水で水温制御)
- (2) 電子天秤: AEX-200B 型(株)島津製作所製)
- (3) 溶存酸素計: 58 型(YSI Inc.製)
- (4) 水温計: CT-460WR 型(株)カスタム製)
- (5) pH 計: F-22 型(株)堀場製作所製)
- (6) 総硬度測定キット: HA-DT 型(HACH COMPANY 製)
- (7) 連続温度記録計: TR-71S 型(株)ティアンドデイ製)
- (8) 実体顕微鏡: SZH 型(オリンパス(株)製)
- (9) 照度計: T-10 型(コニカミノルタ・センシング(株)製)

### 3.6. 試験濃度の設定

本試験に先立ち実施した予備試験-1 および-2 の結果を付属資料-2.に示した。試験条件は本試験と同様(3.4.参照)、ただしその時点では水中安定性が不明だったため半止水式とし、その後実施した水中安定性試験の結果(付属資料-5.参照)に基づき、本試験では止水式を採用することとした。また予備試験-1 では溶解助剤として *N,N*-ジメチルホルムアミドを使用した(助剤濃度: 100  $\mu$ L/L)、助剤なしでも溶解することが判明したため(3.7.参照)、助剤を用いない予備試験-2を実施した。

予備試験の結果を基に、本試験の設定濃度は公比 2.0 として 0.50, 1.0, 2.0, 4.0 および 8.0 mg a.i./L の 5 濃度段階とした。対照には被験物質を加えない希釈水のための無処理対照区を設けた。

### 3.7. 試験液の調製

被験物質の溶解に時間を要するため、暴露開始前日に被験物質 0.0100 g<sup>\*</sup>を秤量し、希釈水で 200 mL に定容後、20°Cで一晩スターラー攪拌して試験原液を調製した。この試験原液から各設定濃度に必要な量を採取し、希釈水で 500 mL に定容して試験液を調製した。

(\*: 有効成分として 0.0100 g)

### 3.8. 試験液中の被験物質濃度の測定

試験液中の被験物質濃度は、全試験区について暴露開始時および終了時に測定した。暴露開始時には一括調製した試験液の一部を、終了時には試験区毎に全連の中層から試験液を等量採取して混合し、高速液体クロマトグラフ(HPLC)による分析に供した(n=1)。実際の分析は広栄テクノ株式会社へ委託した。分析法の詳細(分析条件、検量線等)を付属資料-3.に、バリデーション試験の結果を付属資料-4.に示した。

### 3.9. 試験操作

調製した試験液は1試験区につき4個の試験容器に100 mLずつ分注した後、恒温槽に配置した。これらの試験容器の中にガラスピペットを用いて供試ミジンコを5頭ずつ放泳し、その時点を暴露開始とした。その際、試験液量に対してピペット内の飼育水は全量で1%以内を目安とした。

暴露開始 24 および 48 時間後にミジンコの遊泳阻害数および無処理対照区との比較により観察された中毒症状について観察を行った。「試験容器を軽く振とうした後、15 秒間全く水中を遊泳しない場合」遊泳阻害と判定した。また同時に、試験液の外観を記録した。

DO および pH は、全試験区について暴露開始時および終了時に測定した。暴露開始時には試験容器に分注した残りの試験液について、終了時には各試験区の1連について測定した。水温は毎日測定し、また暴露期間中の変動を監視するため、無処理対照区の1容器について連続的に測定した。

### 3.10. 結果の算出

被験物質濃度の平均値( $\overline{MC}$ )は以下の式により算出した。

$$\overline{MC} = (A - B) / \{\ln(A) - \ln(B)\}$$

A: 暴露開始時の測定濃度

B: 暴露終了時の測定濃度

ln: 自然対数

各試験区でのミジンコの遊泳阻害数と供試生物数(20 頭)から遊泳阻害率(%)を求め、次の基準で EC50 を決定した。Probit 法、Moving average 法または Binomial 法を採用する場合は、コンピュータープログラム(StatLight<sup>#8</sup> 回帰分析、ver. 2.00、ユックムス株)を用いる。

遊泳阻害率	算出方法	基準
≥50%	Probit	0%と100%以外の遊泳阻害率が2点以上存在した場合 (50%の上下にそれぞれ1点以上存在することが望ましい)
	Moving average	0%と100%以外の遊泳阻害率が1点のみ存在した場合や、 遊泳阻害率の逆転が見られた場合
	Binomial	ある濃度まで0%で、次の濃度で100%となった場合
	Doudoroff	上記のいずれも不適切と判断された場合
<50%	—	試験最高濃度より大(>)とする

#### 4. 試験結果および考察

##### 4.1. 試験結果の信頼性に影響を及ぼしたと思われる諸要因

試験計画書および SOP からの逸脱等、試験結果の信頼性に影響を及ぼしたと思われる要因は認められなかった。

##### 4.2. 被験物質の同一性および安定性の確認

被験物質の同一性および保管期間中の安定性を IR スペクトルにより確認した結果、入手した被験物質のスペクトルと既存のスペクトルは同一であり、また実験開始前と終了後のスペクトルに変化がなかったことから、保管期間中安定であったと判断された。

##### 4.3. 試験液中の被験物質濃度

暴露期間中の試験液中の被験物質濃度を表 1.に示した。

被験物質濃度の設定値に対する割合は、暴露開始時および終了時で、それぞれ 100～110%および 100～106%であった。設定値に対する平均測定濃度の割合は 100～106%であった。また、無処理対照区では定量限界(0.050 mg a.i./L)未満であった。

##### 4.4. 中毒症状および EC50

各観察時間における中毒症状および遊泳阻害数(率)を表 2.に、濃度－遊泳阻害率曲線を図 1.に示した。

中毒症状は、暴露 24 および 48 時間で、それぞれ 2.0 および 1.0 mg a.i./L 区以上において自発的遊泳減少が見られた。

暴露期間中の無処理対照区の遊泳阻害率は 0%で生物に異常は見られず、また水面に浮いたミジンコは認められなかったため、試験の有効性基準(対照区の遊泳阻害率 $\leq$ 10%)を満たした。

48 時間 EC50 は 4.2 mg a.i./L であった(表 3.)。

##### 4.5. 試験液の水質

暴露期間中の試験液の DO を表 4.、水温を表 5.、pH を表 6.に示した。

DO は 8.3～8.8 mg/L で、試験の有効性基準( $\geq$ 3 mg/L)を満たした。水温は 19.7～19.8℃、pH は 8.0～8.2 であった。また、暴露期間中の水温変動を連続測定した結果、 $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ の範囲内で維持されていたことを確認した。

試験液の外観は、全試験区とも、試験液調製直後、暴露開始 24 および 48 時間後のいずれにおいても透明で、沈殿等は認められなかった。

## 5. 記録および資料の保管

試験に関する下記の記録および資料は、最終報告書作成後 10 年間、当社試験資料保管施設に保管する。その後の保管については別途、試験委託者と協議の上定める。

- (1) 試験計画書、同変更の記録
- (2) 生データ
- (3) 最終報告書
- (4) 信頼性保証部門の査察または監査の記録
- (5) その他関連する資料

以 上

表 1. 4-クロロ-2-ニトロアニリンの試験液中濃度

設定濃度 (mg a.i./L)	測定濃度 (mg a.i./L)		
	0 時間	48 時間	平均値
無処理対照区	<0.050	<0.050	—
0.50	0.54 [108]	0.53 [106]	0.53 [106]
1.0	1.1 [110]	1.0 [100]	1.0 [100]
2.0	2.0 [100]	2.1 [105]	2.0 [100]
4.0	4.3 [108]	4.2 [105]	4.2 [105]
8.0	8.4 [105]	8.3 [104]	8.3 [104]

[ ]: 設定に対する割合 (%)

表 2. 4-クロロ-2-ニトロアニリンに暴露されたオオミジンコの中毒症状および累積遊泳阻害数(率)

設定濃度 (mg a.i./L)	累積遊泳阻害数および遊泳阻害率 (%)		中毒症状	
	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
無処理対照区	0 ( 0)	0 ( 0)	異常なし	異常なし
0.50 [0.53]	0 ( 0)	0 ( 0)	A	A
1.0 [1.0]	0 ( 0)	0 ( 0)	A	A,B
2.0 [2.0]	0 ( 0)	0 ( 0)	A,B	B
4.0 [4.2]	0 ( 0)	10 ( 50)	B	B,C
8.0 [8.3]	20 (100)	20 (100)	C	C

[ ]: 平均測定濃度

A: 無処理対照区と同様

B: 異常遊泳(自発的遊泳減少)

C: 遊泳阻害(試験容器を軽く振とうした後、15 秒間全く水中を遊泳しない状態)

表 3. 4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコに対する EC50

暴露時間	EC50 (mg a.i./L)	95%信頼限界 (mg a.i./L)	算出方法
24	6.3	4.2~8.3	Binomial
48	4.2	3.5~5.0	Moving average

表 4. 試験液の DO

設定濃度 (mg a.i./L)	DO(mg/L)	
	0 時間	48 時間
無処理対照区	8.8	8.3
0.50 [0.53]	8.8	8.4
1.0 [1.0]	8.8	8.4
2.0 [2.0]	8.8	8.3
4.0 [4.2]	8.8	8.3
8.0 [8.3]	8.8	8.3

[ ]: 平均測定濃度

表 5. 試験液の水温

設定濃度 (mg a.i./L)	水温(°C)		
	0 時間	24 時間	48 時間
無処理対照区	19.7	19.8	19.7
0.50 [0.53]	19.7	19.8	19.7
1.0 [1.0]	19.7	19.8	19.7
2.0 [2.0]	19.7	19.7	19.7
4.0 [4.2]	19.7	19.7	19.7
8.0 [8.3]	19.7	19.7	19.7

[ ]: 平均測定濃度

表 6. 試験液の pH

設定濃度 (mg a.i./L)	pH	
	0 時間	48 時間
無処理対照区	8.2	8.1
0.50 [0.53]	8.2	8.1
1.0 [1.0]	8.1	8.1
2.0 [2.0]	8.1	8.0
4.0 [4.2]	8.0	8.0
8.0 [8.3]	8.0	8.0

[ ]: 平均測定濃度



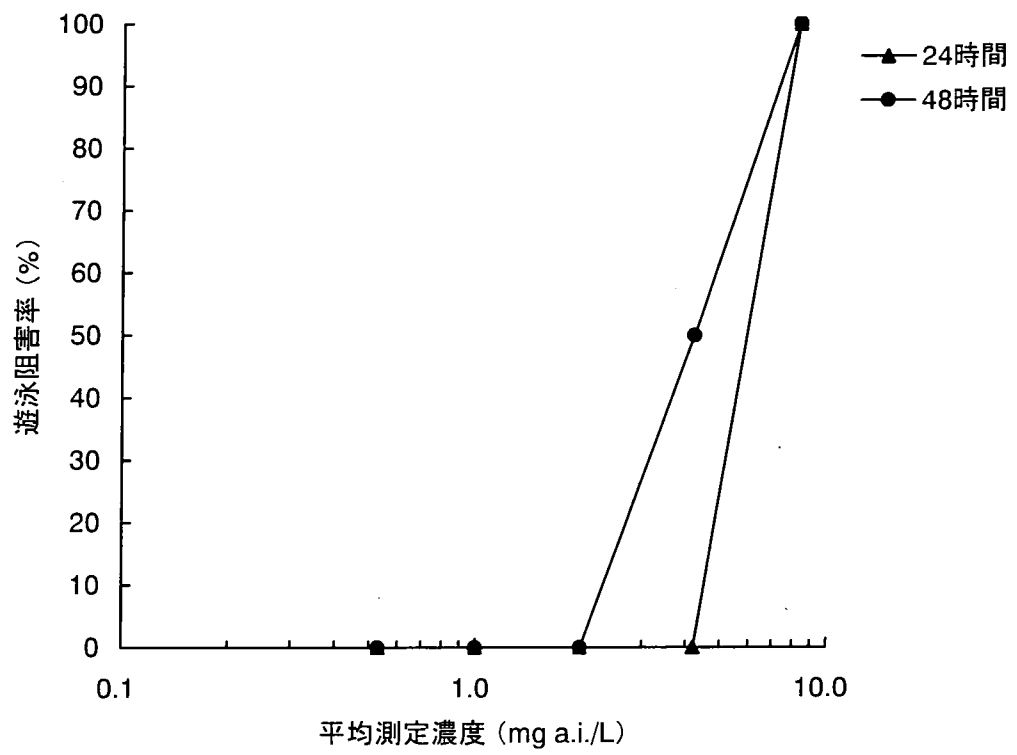


図 1. 4-クロロ-2-ニトロアニリンに暴露されたオオミジンコの濃度－遊泳阻害率曲線

付属資料-1. 人工調製水(Elendt M4)の組成表

組成	濃度 (mg/L)
$\text{H}_3\text{BO}_3$	2.8595
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.3605
$\text{LiCl}$	0.306
$\text{RbCl}$	0.071
$\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.152
$\text{NaBr}$	0.016
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.063
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.01675
$\text{ZnCl}_2$	0.013
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.010
$\text{KI}$	0.00325
$\text{Na}_2\text{SeO}_3$	0.00219
$\text{NH}_4\text{VO}_3$	0.000575
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2.5
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.9955
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	293.8
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	123.3
$\text{KCl}$	5.8
$\text{NaHCO}_3$	64.8
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	10.0
$\text{NaNO}_3$	0.274
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.143
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0.184
Thiamine hydrochloride	0.075
Cyanocobalamine	0.0010
Biotine	0.00075

## 付属資料-2. 予備試験-1 および-2 の結果

## 【予備試験-1】

設定濃度 (mg a.i./L)	累積遊泳阻害数および遊泳阻害率(%)		中毒症状	
	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
無処理対照区	0 ( 0)	0 ( 0)	異常なし	異常なし
助剤対照区	0 ( 0)	0 ( 0)	異常なし	異常なし
0.10	0 ( 0)	0 ( 0)	A	A
1.0	0 ( 0)	0 ( 0)	A	A,B
10	20 (100)	20 (100)	C	C

A: 助剤対照区と同様

B: 異常遊泳(自発的遊泳減少)

C: 遊泳阻害

## 【予備試験-2】

設定濃度 (mg a.i./L)	累積遊泳阻害数および遊泳阻害率(%)		中毒症状	
	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
無処理対照区	0 ( 0)	0 ( 0)	異常なし	異常なし
0.10	0 ( 0)	0 ( 0)	A	A
1.0	0 ( 0)	0 ( 0)	A	A,B
5.0	9 ( 45)	15 ( 75)	B,C	B,C
10	20 (100)	20 (100)	C	C

A: 無処理対照区と同様

B: 異常遊泳(自発的遊泳減少)

C: 遊泳阻害

付属資料-3. 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの定量法

試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの定量法

## 陳 述 書

1. 試験名:4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験(物理化学系)

2. 試験番号:T08007-C

上記試験は、「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」(薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号)(化学物質GLP)に従って実施したものであります。

広栄テクノ株式会社

試験責任者

2009年3月12日

受領年月日	2009.3.16
受領者	

変更届番号：T08007-C-1

## 最終報告書変更届

試験番号：T08007-C  
変更届番号：T08007-C-1表題：4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験(物理化学系)1. 変更箇所  
4/10 ページ 9. 結果2. 変更内容  
(変更前)

試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度測定結果を表 1 に、クロマトグラムの一例を図 3~8 に示した。なお、定量限界は検量線の最小濃度である 0.0250mg a.i./L とした。

表 1 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度測定結果(0 時間及び 48 時間)

試験液	無処理 対照区	0.50mg a.i. /L 区	1.0mg a.i. /L 区	2.0mg a.i. /L 区	4.0mg a.i. /L 区	8.0mg a.i. /L 区
0 時間(mg a.i./L)	<0.0250	0.536	1.06	2.03	4.28	8.40
48 時間(mg a.i./L)	<0.0250	0.526	1.04	2.09	4.20	8.32

(変更後)

試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度測定結果を表 1 に、クロマトグラムの一例を図 3~8 に示した。  
~~本試験結果は、試験 No. T08007 の試験結果と一致する。~~

表 1 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度測定結果(0 時間及び 48 時間)

試験液	無処理 対照区	0.50mg a.i. /L 区	1.0mg a.i. /L 区	2.0mg a.i. /L 区	4.0mg a.i. /L 区	8.0mg a.i. /L 区
0 時間(mg a.i./L)	<del>&lt;0.0250</del>	0.536	1.06	2.03	4.28	8.40
48 時間(mg a.i./L)	<del>&lt;0.0250</del>	0.526	1.04	2.09	4.20	8.32

3. 変更理由

定量限界は、バリデーション試験(試験 No. T08007)で保証された数値に訂正した。

試験責任者

2009 年 3 月 12 日

KOEI TECHNO

## 最終報告書

4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する  
急性遊泳阻害試験(物理化学系)

試験番号:T08007-C

報告年月日:2009年 2月 16日

試験委託者:住化テクノサービス株式会社

試験施設:広栄テクノ株式会社

KOEI TECHNO

## 信頼性保証報告書

## 1. 試験の種類

4-クロロ-2-ニトロアニリンの材料(Daphnia magna)に対する急性遊泳阻害試験(物理化学系)

## 2. 試験No.

T08007-C

## 3. 被験物質の名称

4-クロロ-2-ニトロアニリン

本試験は、「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日付け:薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環企発第031121004号)(化学物質GLP)に従って適正に行われており、最終報告書には、試験で使用方法および手順が正確に記載され、報告結果は、試験の生データを正確に反映していることを保証する。

なお、当施設で定めた信頼性保証業務標準手順書による監査・査察の状況は下記の通りである。

## 記

対 象	実 施 年 月 日	監 査 ・ 査 察 報 告 年 月 日
試験施設査察(実験前査察)	2009年 1月20日	2009年 1月20日
試験の実施状況		
監査及び査察(実験操作日)	2009年 1月20日	2009年 1月20日
	2009年 1月22日	2009年 1月22日
最終報告書監査	2009年 2月16日	2009年 2月16日
最終報告書監査(再)*	2009年 3月12日	2009年 3月12日

\*最終報告書変更届(No. T08007-C-1、2009.3.12付)による再監査。

2009年 3月 12日

信頼性保証業務担当者  
所属 広栄テクノ株式会社  
職 信頼性保証チームメンバー

氏名



試験 No.T08007-C

表題:4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験  
(物理化学系)

試験施設 名称: 広栄テクノ株式会社  
所在地: 〒536-0011 大阪市城東区放出西2丁目12番13号

試験委託者 名称: 住化テクノサービス株式会社  
所在地: 〒665-0051 兵庫県宝塚市高司4丁目2番1号

試験開始日: 2009年1月20日

試験終了日: 2009年2月16日

試験責任者 氏名: [REDACTED] 2009年2月16日  
所属: 検査試験チーム

試験担当者 氏名: [REDACTED]  
所属: 検査試験チーム

試験 No.T08007-C

## 1. 試験目的

生態影響試験「4-クロロ-2-ニトロアニリンのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験」に供した試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度を測定した。

## 2. 採用した試験方法

測定は、「生態影響試験における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験(試験番号:T08007)」に従って行った。

## 3. 被験物質

名称 : 4-クロロ-2-ニトロアニリン  
略称 : CNA  
Lot No. : GJ01  
純度 : 99.9%  
製造者 : XXXXXXXXXX

## 4. 実験実施期間

2009 年 1 月 20 日 ~ 2009 年 1 月 22 日

## 5. 試験系に関する必要な事項

機器の使用については、各機器の標準操作手順書に従って操作した。  
試験方法については、本報告書の 7. に記載した。

## 6. 試験系の環境条件

室温(20~25℃)で行った。

## 7. 試験方法

## 7-1 液体クロマトグラフ(HPLC)条件

装置 : 日立製作所製 L-7000システム  
データ処理装置 : 日立製作所製 D-7000  
カラム : L-column ODS(5 $\mu$ m, 4.6mmI.D×150mm)(財団法人 化学物質評価研究機構)  
カラム温度 : 40℃  
移動相 : 超純水:アセトリル=50:50  
流量 : 1.0mL/min  
波長 : UV230nm  
感度 : 1AU/V  
注入量 : 100.0 $\mu$ L

試験 No.T08007-C

## 7-2 検量線の作成法(0 時間及び 48 時間)

被験物質 12.54mg(純度補正すると 12.53mg)を 1000mL メスフラスコに精密に秤量し、超純水を加えて溶解させて定容とし、12.5mg a.i./L の標準液原液を調製した。標準液原液 5mL を 50mL メスフラスコにとり、超純水を加えて定容とし、1.25mg a.i./L の標準液原液希釈液を調製した。標準液原液希釈液を超純水で適宜希釈し、0.0250、0.0375、0.0500、0.0625 及び 0.0750mg a.i./L の標準液を調製した。標準液(0.0250、0.0375、0.0500、0.0625 及び 0.0750mg a.i./L)の 100.0 $\mu$ L を 7-1 HPLC 条件で試験を行い、標準液の濃度を横軸に、4-クロロ-2-ニトロアニリンのピーク面積を縦軸にとり検量線を作成し、最小自乗法により回帰直線式を求めた。

## 7-3 分析試料の測定法

4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度が 0.05mg a.i./L 相当量になるように希釈したものを分析試料溶液とした。分析試料溶液の 100.0 $\mu$ L につき 7-1 HPLC 条件で試験を行い、4-クロロ-2-ニトロアニリンのピーク面積を測定した。以下に分析試料溶液の調製法を記した。

## ・無処理対照区

分析試料を分析試料溶液とした(n=1)。

## ・0.50mg a.i./L 区

分析試料 1mL を 10mL メスフラスコに量り、超純水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=1)。

## ・1.0mg a.i./L 区

分析試料 1mL を 20mL メスフラスコに量り、超純水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=1)。

## ・2.0mg a.i./L 区

分析試料 1mL を 50mL メスフラスコに量り、超純水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=1)。

## ・4.0mg a.i./L 区

分析試料 1mL を 100mL メスフラスコに量り、超純水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=1)。

## ・8.0mg a.i./L 区

分析試料 1mL を 200mL メスフラスコに量り、超純水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=1)。

得られた 4-クロロ-2-ニトロアニリンのピーク面積から 7-2 で示す方法で求めた回帰直線式を用いて、分析試料溶液の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度を求めた。生態影響試験に供した試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度は、次式により算出した。

4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度(mg a.i./L)=

分析試料溶液の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度(測定値:mg a.i./L)×希釈倍率

試験 No.T08007-C

## 8. 試験計画書からの逸脱及び試験の成績に影響を及ぼしたと思われる環境要因

試験計画書からの逸脱及び試験の成績に影響を及ぼしたと思われる環境要因はなかった。

## 9. 結果

0 時間における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの定量に用いた検量線及び標準液のクロマトグラムの例を図 1,2 に示した。

試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度測定結果を表 1 に、クロマトグラムの一例を図 3～8 に示した。なお、定量限界はバリデーション試験(試験番号:T08007)の模擬試料の最低濃度である 0.0500mg a.i./L とした。

表 1 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度測定結果(0 時間及び 48 時間)

試験液	無処理 対照区	0.50mg a.i. /L 区	1.0mg a.i. /L 区	2.0mg a.i. /L 区	4.0mg a.i. /L 区	8.0mg a.i. /L 区
0 時間(mg a.i./L)	<0.0500	0.536	1.06	2.03	4.28	8.40
48 時間(mg a.i./L)	<0.0500	0.526	1.04	2.09	4.20	8.32

## 10. データの解析に使用した統計学的方法等

- ・数値の丸め方は四捨五入とした。
- ・試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリン測定値の報告は、四捨五入により有効桁数 3 桁に丸めた。

## 11. 保管すべき記録及び資料

以下のものについて、当試資料保管施設にて 10 年間保管する。10 年後の対応については試験委託者と協議して決定する。なお、残った試験液については、測定データに異常が無いことを確認した後、廃棄処分した。

試験計画書  
主計画表  
最終報告書  
分析に関するすべての生データ  
試料受領関係を含む当該試験に関する文書  
監査・査察報告書  
その他必要な書類

試験 No.T08007-C

12. 準拠したGLP

上記試験は、「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」(薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号)(化学物質GLP)に基づき実施した。

以 上

試験 No.T08007-C

4-クロロ-2-ニトロアニリン 標準液濃度(mg a.i./L)	AREA
0.0250	14879
0.0375	22854
0.0500	30517
0.0625	37845
0.0750	45561

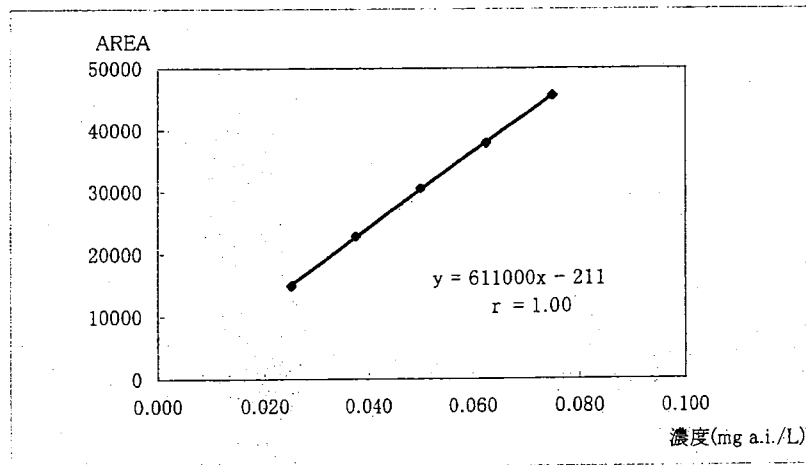


図1 HPLCによる4-クロロ-2-ニトロアニリンの検量線(例)

試験 No.T08007-C

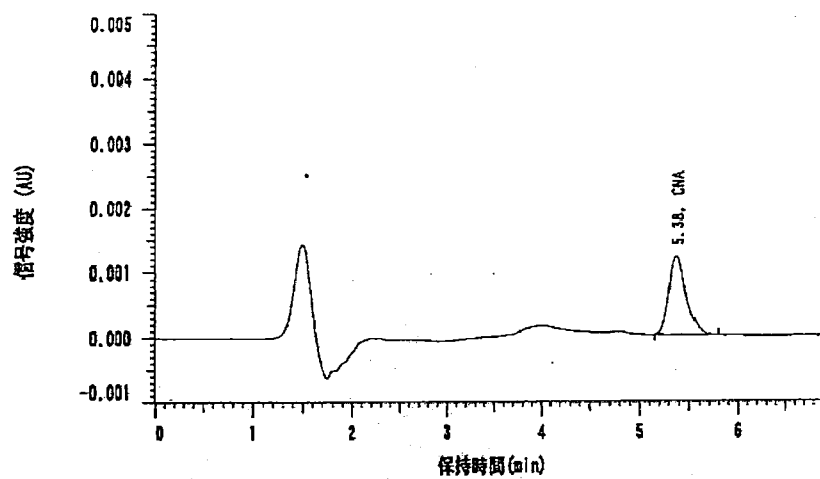


図 2 4-クロロ-2-ニトロアニリン標準液 (0.0250mg a.i./L)のクロマトグラム(例)

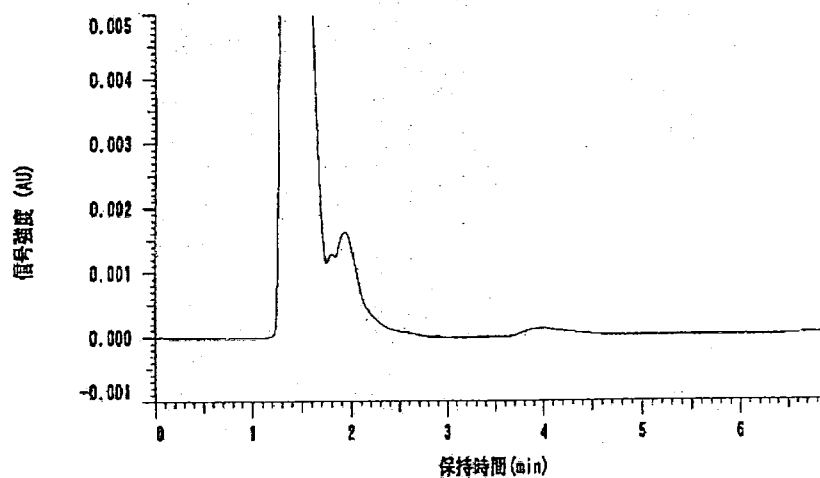


図 3 無処理対照区のクロマトグラム(例)

試験 No.T08007-C

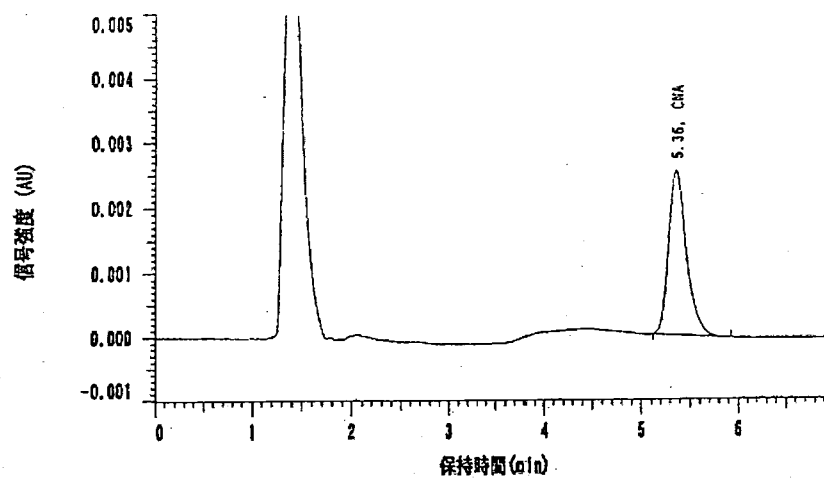


図 4 0.50mg a.i./L 区のクロマトグラム(例)

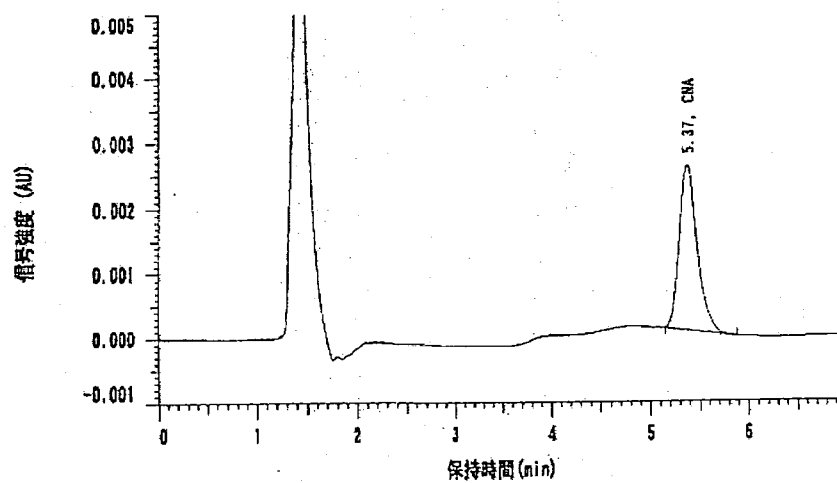


図 5 1.0mg a.i./L 区のクロマトグラム(例)



試験 No.T08007-C

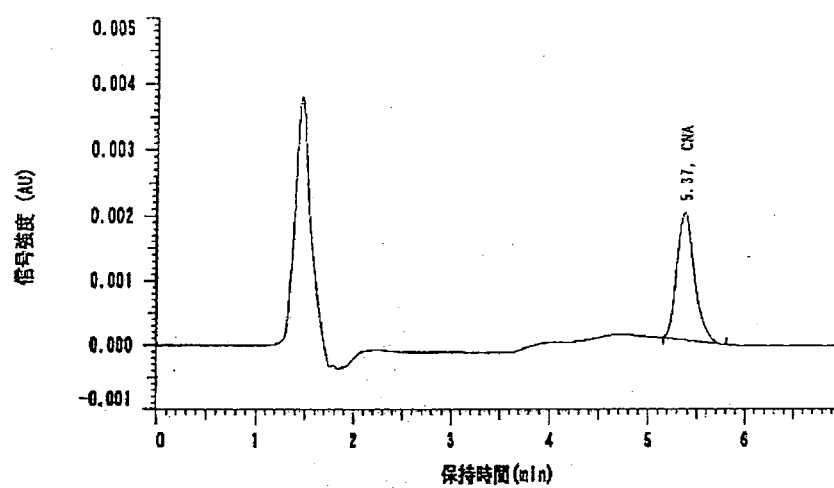


図 6 2.0mg a.i./L 区のクロマトグラム(例)

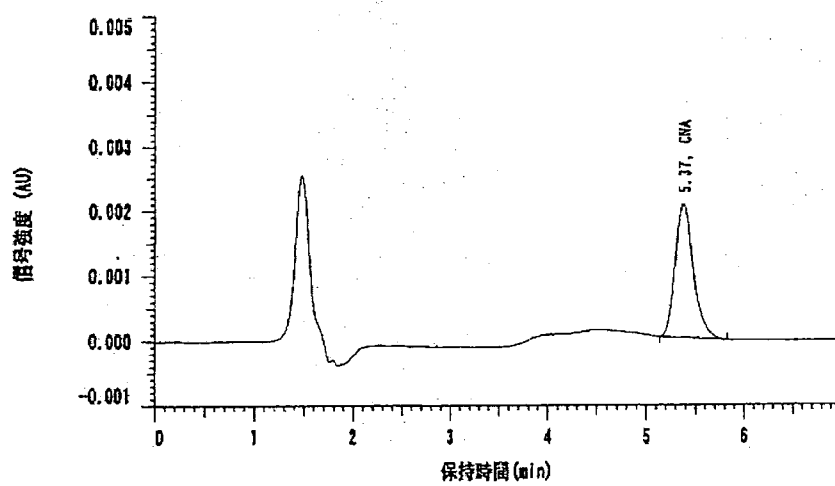


図 7 4.0mg a.i./L 区のクロマトグラム(例)

試験 No.T08007-C

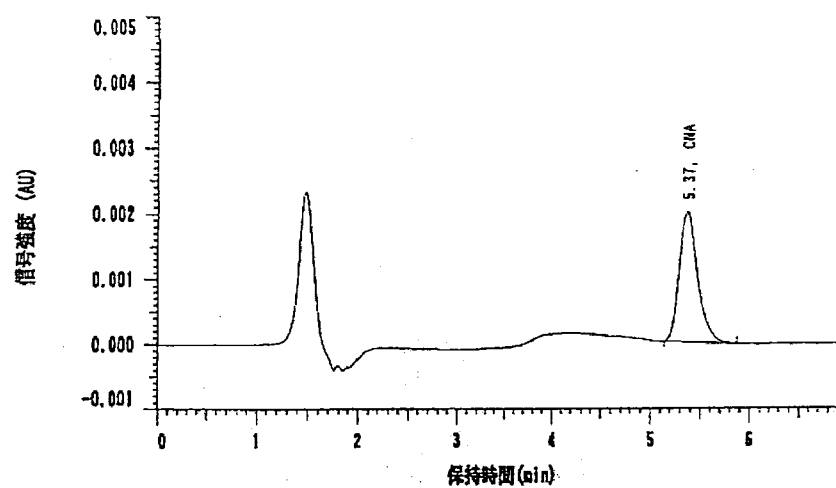


図 8 8.0mg a.i./L 区のクロマトグラム(例)

付属資料-4. 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験

試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験

試験 No.T08007

## 陳 述 書

1. 試験名 : 生態影響試験における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験

2. 試験番号:T08007

上記試験は、「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」(薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号)(化学物質GLP)に従って実施したものです。

広栄テクノ株式会社

試験責任者

2009年 3月 12日

KOEI TECHNO

受領年月日	2009.3.16
受領者	

変更届番号：T08007-1

## 最終報告書変更届

試験番号：T08007

変更届番号：T08007-1

ページ番号：1/3

表題：生態影響試験における試験液中の4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験

## 1. 変更箇所

- ①1/11 ページ 8.被験物質
- ②3/11 ページ 11.分析法バリデーションの実施方法(被験物質の採取量は純度にて換算した。)  
11-6 真度検討用模擬試料の調製法
- ③3/11 ページ 11.分析法バリデーションの実施方法(被験物質の採取量は純度にて換算した。)  
11-7 真度検討用分析試料溶液の調製法
- ④6/11 ページ 添付資料 1 4-クロロ-2-ニトロアニリン 直線性の確認及び測定結果

## 2. 変更内容

(変更前)

- ① 別 名：CNA

- ②・50mg a.i./L 模擬試料

被験物質 25.10mg を 500mL メスフラスコに量りとり、試験水を加えて溶解させメスアップした。  
この溶液 9.97mL を 10mL メスフラスコに量りとり、試験水にてメスアップし、50.0mg a.i./L 模擬試料を調製した(n=1)。

- ・0.05mg a.i./L 模擬試料

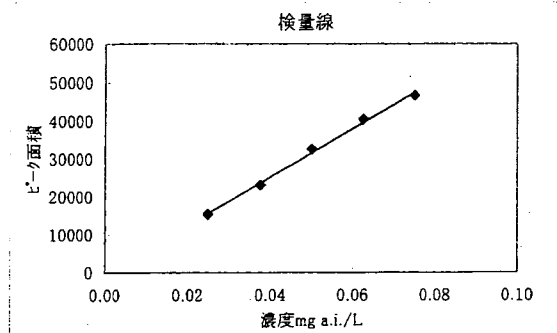
被験物質 10.21mg を 1000mL メスフラスコに量りとり、試験水を加えて溶解させメスアップした。  
この溶液 0.98mL を 200mL メスフラスコに量りとり、試験水にてメスアップし、0.0500mg a.i./L 模擬試料を調製した(n=1)。

- ③なお、定量限界は模擬試料の最低濃度(0.05mg a.i./L)とした。

変更届番号：T08007-1

ページ番号：2/3

④



a= 639000  
b= -216

&lt;検量線の直線性&gt;

r= 1.00 ≥ 0.99

(変更後)

① ~~検量線~~ : CNA

②・50mg a.i./L 模擬試料

被験物質 25.10mg ~~検量線に用いた濃度~~を 500mL メスフラスコに量りとり、試験水を加えて溶解させメスアップした。この溶液 9.97mL を 10mL メスフラスコに量りとり、試験水にてメスアップし、50.0mg a.i./L 模擬試料を調製した(n=1)。

・0.05mg a.i./L 模擬試料

被験物質 10.21mg ~~検量線に用いた濃度~~を 1000mL メスフラスコに量りとり、試験水を加えて溶解させメスアップした。この溶液 0.98mL を 200mL メスフラスコに量りとり、試験水にてメスアップし、0.0500mg a.i./L 模擬試料を調製した(n=1)。

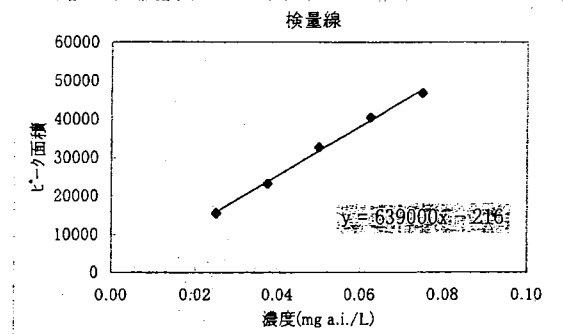
③なお、定量限界は模擬試料の最低濃度 ~~(0.0500mg a.i./L)~~とした。

KOEI TECHNO

変更届番号：T08007-1

ページ番号:3/3

④



&lt;検量線の直線性&gt;

 $r = 1.00 \geq 0.99$ 

## 3. 変更理由

- ①誤記訂正。
- ②記入もれ追記。
- ③有効数字 3 桁のため誤記訂正した。
- ④グラフ上に数式を掲載した。横軸の名称を誤記訂正した。

試験責任者

2009年 3月 12日

試験 No.T08007

## 最終報告書

生態影響試験における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験

試験番号:T08007

報告年月日:2009 年 1 月 16 日

試験委託者:住化テクノサービス株式会社

試験施設:広栄テクノ株式会社

KOEI TECHNO



## 信頼性保証報告書

## 1. 試験の種類

生態影響試験における試験液中の4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験

## 2. 試験No.

T08007

## 3. 被験物質の名称

4-クロロ-2-ニトロアニリン

本試験は、「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日付け：薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号）（化学物質GLP）に従って適正に行われており、最終報告書には、試験で使用方法および手順が正確に記載され、報告結果は、試験の生データを正確に反映していることを保証する。

なお、当施設で定めた信頼性保証業務標準手順書による監査・査察の状況は下記の通りである。

## 記

対 象	実 施 年 月 日	監 査 ・ 査 察 報 告 年 月 日
試験施設査察（実験前査察）	2008年12月 1日	2008年12月 3日
試験の実施状況		
監査及び査察（実験操作日）	2008年12月 3日	2008年12月 3日
最終報告書監査	2009年 1月16日	2009年 1月16日
最終報告書監査（再）*	2009年 3月12日	2009年 3月12日

\* 最終報告書変更届（No. T08007-1、2009.3.12 付）による再監査。

2009年 3月 12日

信頼性保証業務担当者  
所属 広栄テクノ株式会社  
職 信頼性保証チームメンバー

氏名

試験 No.T08007

## 目 次

1. 表題
2. 試験目的
3. 試験委託者の名称及び所在地
4. 試験施設の名称及び所在地
5. 試験関係者の氏名及び所属
6. 試験番号
7. 試験期間
8. 被験物質
9. 主な試薬等
10. 主な機器
11. 分析法バリデーションの実施方法
12. 測定値の算出法及び数値の取扱い
13. 結果及び考察
14. 試験関係資料の保管
15. 試験の成績に影響を及ぼしたと思われる環境要因
16. データの解析に使用した統計処理計算方法
17. 準拠したGLP
18. 最終報告書の作成

試験 No.T08007

## 1. 表題

生態影響試験における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの分析法バリデーション試験

## 2. 試験目的

本試験は、生態影響試験における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリン分析法の信頼性を確保することを目的とした。

## 3. 試験委託者の名称及び所在地

名 称:住化テクノサービス株式会社

所在地:兵庫県宝塚市高司 4 丁目 2 番 1 号

## 4. 試験施設の名称及び所在地

名 称:広栄テクノ株式会社

所在地:大阪市城東区放出西 2 丁目 12 番 13 号

## 5. 試験関係者の氏名及び所属

試験責任者:

試験担当者:

## 6. 試験番号

T08007

## 7. 試験期間

試験開始日 2008 年 12 月 3 日

実験開始日 2008 年 12 月 3 日

実験終了日 2008 年 12 月 4 日

試験終了日 2009 年 1 月 16 日

## 8. 被験物質

名 称 : 4-クロロ-2-ニトロアニリン

略 称 : CNA

Lot No. : GJ01

純 度 : 99.9%

製造者 :

試験 No.T08007

## 9.主な試薬等

試薬名	等級	メーカー
アセトニトリル	HPLC 用	ナカライテスク
水	超純水	純水製造装置により製造
試験水	脱塩素水	試験委託者より提供

## 10.主な機器

機器名	型式	メーカー
液体クロマトグラフ(以下「HPLC」と記す)	L-7000システム	日立製作所
データ処理装置	D-7000	日立製作所
超純水製造装置	Milli-Q SPシステム	日本ミリポア
電子天秤	AX205	オタマ・トレード

## 11. 分析法バリデーションの実施方法(被験物質の採取量は純度にて換算した。)

## 11-1 検討項目

## (1)検量線の直線性

5 濃度の標準液より検量線(n=1)を作成し、その直線性(相関係数:r)を検討した。

## (2)再現性

標準液(0.05mg a.i./L)を調製(n=1)し、繰り返し 6 回測定し、再現性(CV 値)を検討した。

## (3)真度

模擬試料(0.05mg a.i./L 及び 50mg a.i./L)(n=1)から分析試料溶液を調製(n=3)した。これを HPLC にて測定(n=1)し、真度を検討した。

## (4)標準液の安定性

標準液(0.05mg a.i./L)を室温下 24 時間放置した後、再度測定を行い(n=1)、安定性を検討した。

## 11-2 判断基準

## (1)検量線の直線性

検量線の直線性(相関係数:r)は、0.99 以上とした。

## (2)再現性

再現性(CV 値)は、5%以下とした。

## (3)真度

真度は、95%以上とした。

## (4)標準液の安定性

「再現性で求めた面積測定値の平均 $-3\sigma$  < 24 時間後の面積測定値 < 再現性で求めた面積測定値の平均 $+3\sigma$ 」の場合安定とした。

試験 No.T08007

## 11-3 HPLC 条件

装置 : 日立製作所製 L-7000システム  
 データ処理装置 : 日立製作所製 D-7000  
 カラム : L-column ODS(5  $\mu$ m, 4.6mm I.D  $\times$  150mm)(財団法人化学物質評価研究機構製)  
 カラム温度 : 40℃  
 移動相 : 水:アセトリル=50:50  
 流量 : 1.0mL/min  
 波長 : UV230nm  
 感度 : 1AU/V  
 注入量 : 100.0  $\mu$ L

## 11-4 検量線の作成法

被験物質 12.51mg(純度補正值=12.50mg)を 1000mLメスフラスコに量りとり、水を加えて溶解させ 12.5mg a.i./L の標準液原液を調製した。この標準液原液を水で適宜希釈し、0.0250、0.0375、0.0500、0.0625 及び 0.0750mg a.i./L の標準液を調製した(n=1)。この各標準液(0.0250、0.0375、0.0500、0.0625 及び 0.0750mg a.i./L)の 100.0  $\mu$ L につき、11-3 HPLC 条件で試験を行い、それぞれの濃度を横軸に、被験物質のピーク面積を縦軸にとり検量線を作成し、最小自乗法により回帰直線式を求めた。

## 11-5 再現性検討用標準液の調製法

11-4 検量線の作成の際に調製した 0.0500mg a.i./L 標準液を用いた。

## 11-6 真度検討用模擬試料の調製法

・50mg a.i./L 模擬試料

被験物質 25.10mg(純度補正值=25.07mg)を 500mLメスフラスコに量りとり、試験水を加えて溶解させメスアップした。この溶液 9.97mL を 10mLメスフラスコに量りとり、試験水にてメスアップし、50.0mg a.i./L 模擬試料を調製した(n=1)。

・0.05mg a.i./L 模擬試料

被験物質 10.21mg(純度補正值=10.20mg)を 1000mLメスフラスコに量りとり、試験水を加えて溶解させメスアップした。この溶液 0.98mL を 200mLメスフラスコに量りとり、試験水にてメスアップし、0.0500mg a.i./L 模擬試料を調製した(n=1)。

## 11-7 真度検討用分析試料溶液の調製法

11-6で調製した模擬試料の 0.05mg a.i./L 相当量になるように希釈したものを分析試料溶液とし、その 100.0  $\mu$ L につき 11-3 HPLC 条件で試験を行い、それぞれの 4-クロロ-2-ニトロアニリンのピーク面積を測定した(n=1)。以下にその分析試料溶液の調製法を記した。

・50mg a.i./L 模擬試料のコントロール

1000mLメスフラスコに試験水 1mL を正確に量り、水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=1)。

・0.05mg a.i./L 模擬試料のコントロール

試験水を分析試料溶液とした(n=1)。

・50mg a.i./L 模擬試料

1000mLメスフラスコに50mg a.i./L 模擬試料 1mL を正確に量り、水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=3)。

・0.05mg a.i./L 模擬試料

模擬試料を分析試料溶液とした(n=3)。

なお、定量限界は模擬試料の最低濃度(0.0500mg a.i./L)とした。

試験 No.T08007

## 12. 測定値の算出法及び数値の取扱い

ピークの同定は保持時間により行い、被験物質の濃度 B(mg a.i./L)は、次式より算出した。

被験物質の濃度 B(mg a.i./L)=分析試料溶液の被験物質濃度 (測定値:mg a.i./L)×希釈倍率

真度(%)は、次式により算出した。

$$\text{真度}(\%) = (B/A) \times 100$$

ここに、A:模擬試料中の被験物質設定濃度(mg a.i./L)

- ・模擬試料中の被験物質設定濃度、分析試料溶液の被験物質濃度及び被験物質の濃度 B は、有効数字 3 桁に丸め、真度は整数に丸めた。
- ・相関係数 r は小数点以下 2 桁に丸め、CV 値は整数に丸めた。
- ・数値の丸め方は四捨五入とした。

## 13. 結果及び考察

## 13-1 検量線の直線性

5 濃度の標準液を 11-3 HPLC 条件で試験を行い、検量線(n=1)を作成した。得られた結果及び検量線を添付資料 1、クロマトを添付資料 2-1~2-3 に示した。

検量線の直線性(相関係数:r)は、0.0250~0.0750mg a.i./L の濃度範囲において 1.00 と良好な直線性を示した。

## 13-2 再現性

標準液(0.05mg a.i./L)を調製(n=1)し、11-3 HPLC 条件で繰り返し 6 回測定し、ピーク面積から再現性(CV 値)を検討した。結果を添付資料 3(表 1)に示した。

標準液の再現性(CV 値)は、0%と判断基準を満たした。

## 13-3 真度

真度検討用模擬試料(0.05 及び 50mg a.i./L)から分析試料溶液を調製(n=3)後、11-3 HPLC 条件で試験を行い、被験物質の濃度 B から真度を検討した。結果を添付資料 3(表 2)、クロマトの一例を添付資料 4 に示した。

被験物質の真度は、模擬試料(0.05mg a.i./L); 平均 101%及び模擬試料(50mg a.i./L); 平均 100%であり、いずれの濃度においても判断基準を満たした。

## 13-4 標準液の安定性

標準液(0.05mg a.i./L)を室温下 24 時間放置した後、11-3 HPLC 条件で試験を行い、安定性を検討した。結果を添付資料 3 に示した。

「再現性で求めた面積測定値の平均-3σ<24 時間後の面積測定値<再現性で求めた面積測定値の平均+3σ」の判断基準を満たしていたため、24 時間安定と考える。

試験 No.T08007

## 14. 試験関係資料の保管

試験関係資料(試験計画書、最終報告書、生データ、その他記録類等)は、当試験資料保管施設にて 10 年間保管する。10 年後の対応については試験委託者と協議して決定する。

## 15. 試験の成績に影響を及ぼしたと思われる環境要因

無し

## 16. データの解析に使用した統計処理計算方法

数値の平均は算術平均による。

## 17. 準拠した GLP

上記試験は、「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」(薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号)(化学物質 GLP)に基づき実施した。

## 18. 最終報告書の作成

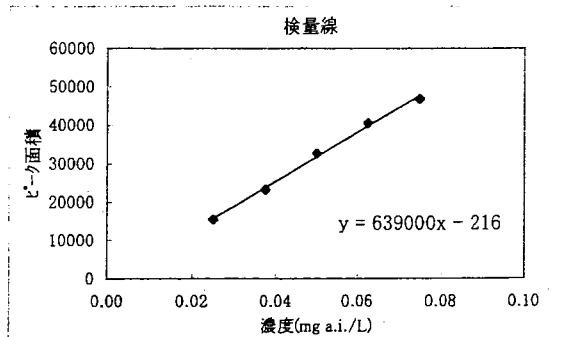
2009 年 1 月 16 日

試験責任者:



試験 No.T08007

添付資料 1 4-クロロ-2-ニトロアニリン 直線性の確認及び測定結果



&lt;検量線の直線性&gt;

 $r = 1.00 \geq 0.99$ 

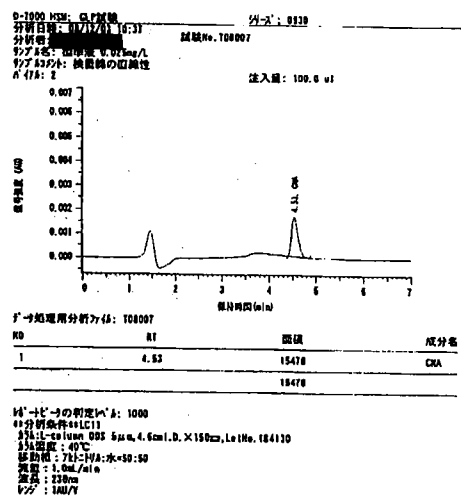
&lt;検量線&gt;

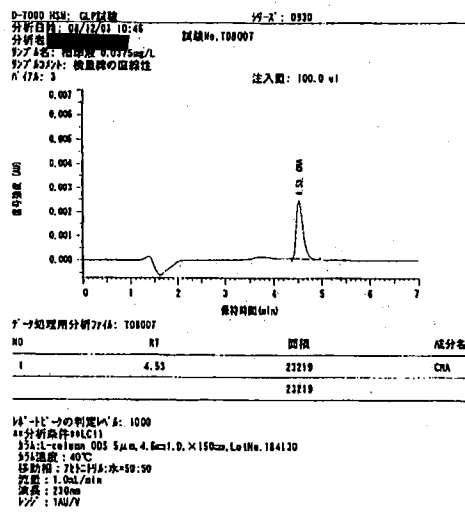
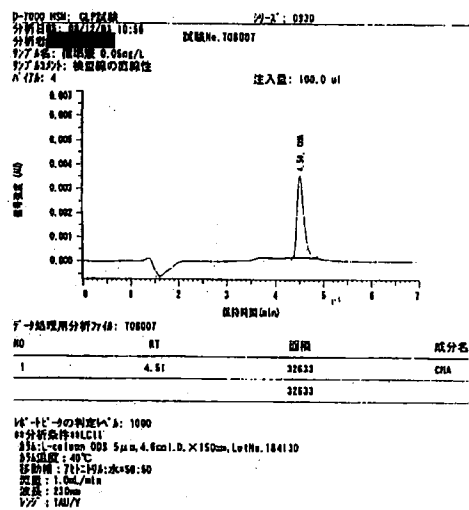
標準液	濃度	AREA
	4-クロロ-2-ニトロ アニリン (mg a.i./L)	4-クロロ-2-ニトロ アニリン
①	0.0250	15478
②	0.0375	23219
③	0.0500	32633
④	0.0625	40446
⑤	0.0750	46772

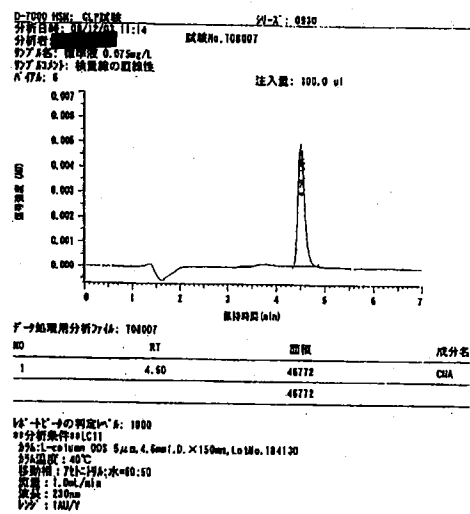
&lt;分析試料溶液&gt;

分析試料溶液	AREA	濃度
	4-クロロ-2-ニトロ アニリン	4-クロロ-2-ニトロ アニリン (mg a.i./L)
50mg a.i./L n=1	32173	0.0507
50mg a.i./L n=2	31845	0.0502
50mg a.i./L n=3	31743	0.0500
0.05mg a.i./L n=1	31771	0.0501
0.05mg a.i./L n=2	32081	0.0505
0.05mg a.i./L n=3	31926	0.0503

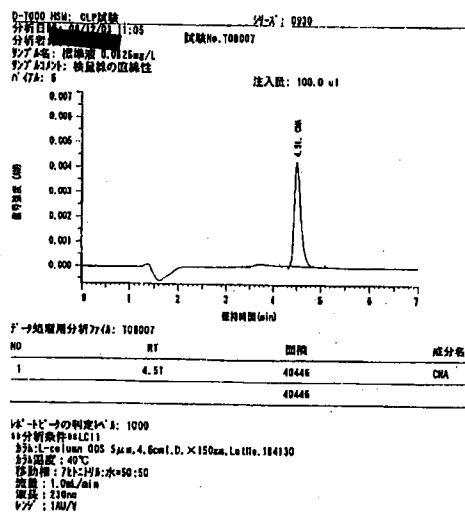








NO	RT	面积	成分名
1	4.60	46772	CMA
		46772	



NO	RT	時間	成分名
1	4.51	49446	ORA
		49446	

試験 No.T08007

## 添付資料 3 再現性、真度及び安定性

表1 再現性及び標準液の安定性

4-クロロ-2-ニトロアニリン 0.0500mg a.i./L 標準液		AREA	平均	$\sigma$	CV値(%)
4-クロロ-2-ニトロアニリン		4-クロロ-2-ニトロアニリン			
6回連続注入	1	32216	32200	144	0
	2	32394			
	3	31955			
	4	32271			
	5	32172			
	6	32194			
24時間後		32051	—	—	—

CV値(%)= 0 ≤ 5%

安定性: 再現性で求めた AREAの平均-3 $\sigma$  = 31768 < 24時間後の AREA = 32051 < 再現性で求めた AREAの平均+3 $\sigma$  = 32632

表2 真度

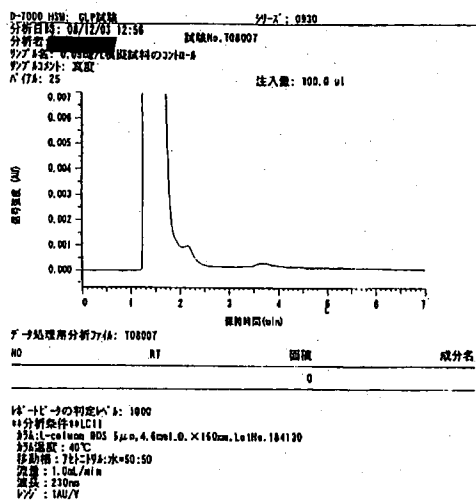
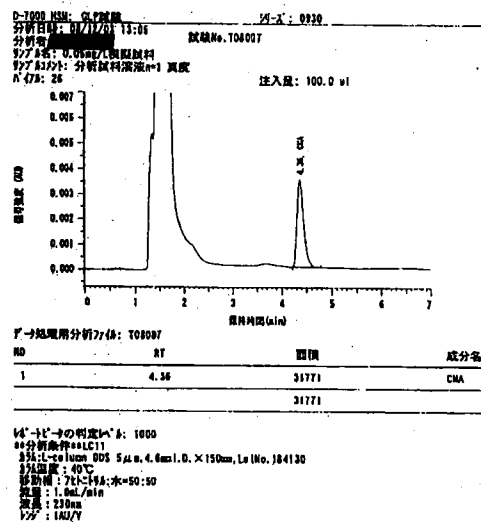
模擬試料	設定濃度 (mg a.i./L) A	分析試料溶液の 被験物質 濃度(mg a.i./L)	被験物質の 濃度 (mg a.i./L) B	真度	
				(%) C	(%) D
50mg a.i./L n=1	50.0	0.0507	50.7	101	100
50mg a.i./L n=2	50.0	0.0502	50.2	100	
50mg a.i./L n=3	50.0	0.0500	50.0	100	
0.05mg a.i./L n=1	0.0500	0.0501	0.0501	100	101
0.05mg a.i./L n=2	0.0500	0.0505	0.0505	101	
0.05mg a.i./L n=3	0.0500	0.0503	0.0503	101	

A:設定濃度(mg a.i./L)=模擬試料中の被験物質設定濃度

B:被験物質の濃度(mg a.i./L)=分析試料溶液の被験物質濃度(mg a.i./L)×希釈倍率(50mg a.i./L:1000倍,0.05mg a.i./L:1倍)

C:真度(%)=(B/A)×100

D:平均真度(%)



付属資料-5. 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性試験

試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性試験

試験 No.T08007-G

## 陳 述 書

1. 試験名 : 生態影響試験(メダカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験)における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性試験

2. 試験番号:T08007-G

上記試験は、「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」(薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号)(化学物質GLP)に従って実施したものです。

広栄テクノ株式会社

試験責任者

2009年3月12日

KOEI TECHNO

受領年月日	2009.3.16
受領者	

変更届番号：T08007-G-1

## 最終報告書変更届

試験番号：T08007-G  
 変更届番号：T08007-G-1  
 ページ番号：1/3

表題：生態影響試験(メダカ(*Oryzias latipes*))に対する急性毒性試験)における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性試験

## 1. 変更箇所

- ①1/6 ページ 8.被験物質  
 ②2/6 ページ 11.試験方法  
 ③3/6 ページ 12.結果  
 ④4/6 ページ 添付資料 1 検量線の一例

## 2. 変更内容

(変更前)

① 別 名：CNA

② 11-2 検量線の作成(被験物質は純度補正した量を量り取った。)

③ 試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度測定結果を表 1、無処理対照区、0.5mg a.i./L 区及び 10mg a.i./L 区の液体クロマトグラムの一例を添付資料 3、4 及び 5 に示した。

0 時間における試験液中の被験物質の定量に用いた検量線及び標準液の液体クロマトグラムの一例を添付資料 1 及び 2 に示した。

表 1 4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度測定結果

試験液	4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度 <sup>*1</sup> (mg a.i./L)			
	0 時間	24 時間	48 時間	96 時間
無処理対照区	<0.025	— <sup>*2</sup>	— <sup>*2</sup>	— <sup>*2</sup>
0.5mg a.i./L 区	0.506	0.488	0.498	0.476
10mg a.i./L 区	9.96	9.74	10.1	9.72

\*1 不検出は&lt;0.025 mg a.i./L とした。

\*2 測定しなかった。

受領年月日	2008.3.16
受領者	

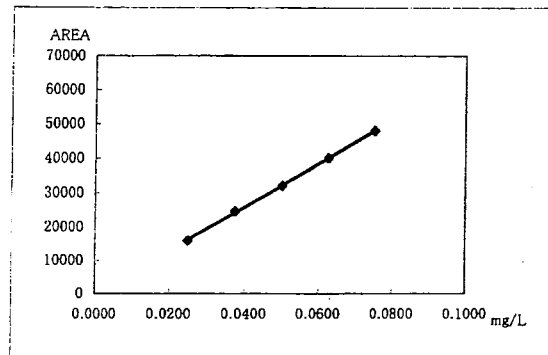
KOEI TECHNO



変更届番号：T08007-G-1

ページ番号:2/3

④



a= 639000

b= 132

R= 1.00

(変更後)

① 略称：CNA

② 11-2 検量線の作成(被験物質の採取量は純度にて換算した。)

③ 試験液中の4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度測定結果を表1、無処理対照区、0.5mg a.i./L区及び10mg a.i./L区の液体クロマトグラムの一例を添付資料3、4及び5に示した。

0時間における試験液中の被験物質の定量に用いた検量線及び標準液の液体クロマトグラムの一例を添付資料1及び2に示した。なお、定量限界はカリブレーション試験(試験番号:T08007)の模擬試料の最低濃度である0.0500mg a.i./Lとした。

表1 4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度測定結果

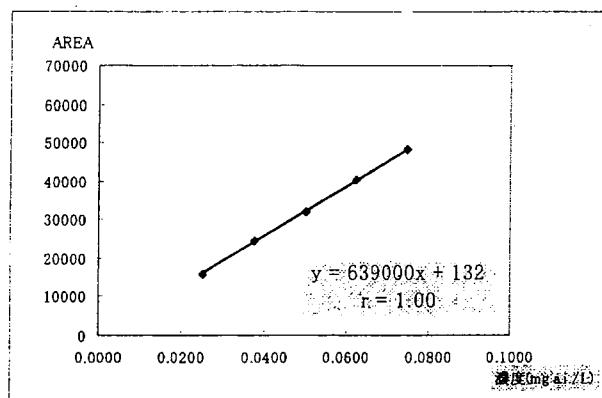
試験液	4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度(mg a.i./L)			
	0時間	24時間	48時間	96時間
無処理対照区	<0.0500	-*1	-*1	-*1
0.5mg a.i./L区	0.506	0.488	0.498	0.476
10mg a.i./L区	9.96	9.74	10.1	9.72

\*1 測定しなかった。

変更届番号：T08007-G-1

ページ番号:3/3

④



## 3. 変更理由

- ①誤記訂正。
- ②誤記訂正。
- ③定量限界をバリデーション試験(試験番号:T08007)で保証された数値に訂正した。
- ④グラフ上に数式と相関係数(Rからrに訂正)を掲載した。グラフの横軸に「濃度」を追記した。

試験責任者

2009年3月12日

試験 No.T08007-G

## 最終報告書

生態影響試験(メダカ(*Oryzias latipes*))に対する急性毒性試験)における試験液中の  
4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性試験

試験番号:T08007-G

報告年月日:2009年1月16日

試験委託者:住化テクノサービス株式会社

試験施設:広栄テクノ株式会社

KOEI TECHNO

## 信頼性保証報告書

## 1. 試験の種類

生態影響試験(メダ *Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験)における試験液中の  
4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性試験

## 2. 試験No.

T08007-G

## 3. 被験物質の名称

4-クロロ-2-ニトロアニリン

本試験は、「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日付け:薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号)(化学物質GLP)に従って適正に行われており、最終報告書には、試験で使用方法および手順が正確に記載され、報告結果は、試験の生データを正確に反映していることを保証する。

なお、当施設で定めた信頼性保証業務標準手順書による監査・査察の状況は下記の通りである。

## 記

対 象	実 施 年 月 日	監 査 ・ 査 察 報 告 年 月 日
試験施設査察(実験前査察)	2008年12月 1日	2008年12月 5日
試験の実施状況		
監査及び査察(実験操作日)	2008年12月 8日	2008年12月 8日
	2008年12月12日	2008年12月12日
最終報告書監査	2009年 1月16日	2009年 1月16日
最終報告書監査(再)*	2009年 3月12日	2009年 3月12日

\*最終報告書変更届(No. T08007-G-1、2009.3.12付)による再監査。

2009年 3月12日

信頼性保証業務担当者  
所属 広栄テクノ株式会社  
職 信頼性保証チームメンバー

氏名

試験 No.T08007-G

## 目 次

1. 表題
2. 試験目的
3. 試験委託者の名称及び所在地
4. 試験施設の名称及び所在地
5. 試験関係者の氏名及び所属
6. 試験番号
7. 試験期間
8. 被験物質
9. 主な試薬等
10. 主な機器
11. 試験方法
12. 結果
13. 試験関係資料の保管
14. 試験の成績に影響を及ぼしたと思われる環境要因
15. データの解析に使用した統計処理計算方法
16. 準拠したGLP
17. 最終報告書の作成

試験 No.T08007-G

## 1. 表題

生態影響試験(タカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験)における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性試験

## 2. 試験目的

本試験は、生態影響試験(タカ(*Oryzias latipes*)に対する急性毒性試験)における試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの水中安定性を確認することを目的とした。

## 3. 試験委託者の名称及び所在地

名称:住化テクノサービス株式会社

所在地:兵庫県宝塚市高司 4 丁目 2 番 1 号

## 4. 試験施設の名称及び所在地

名称:広栄テクノ株式会社

所在地:大阪市城東区放出西 2 丁目 12 番 13 号

## 5. 試験関係者の氏名及び所属

試験責任者

試験担当者

## 6. 試験番号

T08007-G

## 7. 試験期間

試験開始日	2008 年 12 月 5 日
実験開始日	2008 年 12 月 8 日
実験終了日	2008 年 12 月 12 日
試験終了日	2009 年 1 月 16 日

## 8. 被験物質

名称: 4-クロロ-2-ニトロアニリン

略称: CNA

Lot No.: GJ01

純度: 99.9%

製造者:

試験 No.T08007-G

## 9. 主な試薬等

試薬名	等級	メーカー
アセトニトリル	HPLC 用	ナカライテスク
水	超純水	純水製造装置により製造
試験水	脱塩素水	試験委託者より提供

## 10. 主な機器

機器名	型式	メーカー
液体クロマトグラフ(以下「HPLC」と記す)	L-7000システム	日立製作所
データ処理装置	D-7000	日立製作所
超純水製造装置	Milli-Q SPシステム	日本ミロア
電子天秤	AX205	オラー・トレド

## 11. 試験方法

## 11-1 HPLC 条件

装置	: 日立製作所製 L-7000システム
データ処理装置	: 日立製作所製 D-7000
カラム	: L-column ODS(5 $\mu$ m, 4.6mm I.D $\times$ 150mm)(財団法人化学物質評価研究機構製)
カラム温度	: 40℃
移動相	: 水:アセトニトリル=50:50
流量	: 1.0mL/min
波長	: UV230nm
感度	: 1AU/V
注入量	: 100.0 $\mu$ L

## 11-2 検量線の作成(被験物質の採取量は純度にて換算した。)

被験物質 12.51mg(純度補正值=12.50mg)を 1000mLメスフラスコに量りとり、水を加えて溶解させ 12.5mg a.i./L の標準液原液を調製した。この標準液原液を水で適宜希釈し、0.0250、0.0375、0.0500、0.0625 及び 0.0750mg a.i./L の標準液を調製した(n=1)。この各標準液(0.0250、0.0375、0.0500、0.0625 及び 0.0750mg a.i./L)の 100.0  $\mu$ L につき、11-1 HPLC 条件で測定を行い(n=1)、それぞれの濃度を横軸に、被験物質のピーク面積を縦軸にとり検量線を作成し、最小二乗法により回帰直線式を求めた。

## 11-3 分析試料の測定

被験物質濃度が 0.05mg a.i./L 相当量になるように下記調製法に基づき希釈したものを分析試料溶液とした。分析試料溶液 100.0  $\mu$ L につき 11-1 HPLC 条件で試験を行い(n=1)、被験物質のピーク面積を測定し、回帰直線式より分析試料溶液の被験物質濃度(mg a.i./L)を算出した。

## ・無処理対照区

分析試料を分析試料溶液とした(n=1)。

## ・0.5mg a.i./L 区

分析試料 1mL を 10mLメスフラスコに正確に量り、水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=1)。

## ・10mg a.i./L 区

分析試料 1mL を 200mLメスフラスコに正確に量り、水を加えてメスアップし、分析試料溶液とした(n=1)。

試験 No.T08007-G

分析試料中の被験物質の濃度(mg a.i./L)は、次式により算出した。

被験物質の濃度(mg a.i./L)＝分析試料溶液の被験物質濃度(mg a.i./L)×希釈倍率

被験物質の濃度は、四捨五入により有効桁数 3 桁に丸めた。

## 12. 結果

試験液中の 4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度測定結果を表 1、無処理対照区、0.5mg a.i./L 区及び 10mg a.i./L 区の液体クロマトグラムの一例を添付資料 3、4 及び 5 に示した。

0 時間における試験液中の被験物質の定量に用いた検量線及び標準液の液体クロマトグラムの一例を添付資料 1 及び 2 に示した。なお、定量限界はバリデーション試験(試験番号:T08007)の模擬試料の最低濃度である 0.0500mg a.i./L とした。

表 1 4-クロロ-2-ニトロアニリンの濃度測定結果

試験液	4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度(mg a.i./L)			
	0 時間	24 時間	48 時間	96 時間
無処理対照区	<0.0500	—*1	—*1	—*1
0.5mg a.i./L 区	0.506	0.488	0.498	0.476
10mg a.i./L 区	9.96	9.74	10.1	9.72

\*1 測定しなかった。

## 13. 試験関係資料の保管

試験関係資料(試験計画書、最終報告書、生データ、その他記録類等)は、当試験資料保管施設にて 10 年間保管する。10 年後の対応については試験委託者と協議して決定する。

## 14. 試験の成績に影響を及ぼしたと思われる環境要因

無し

## 15. データの解析に使用した統計処理計算方法

数値の丸め方は四捨五入とした。

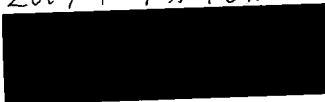
## 16. 準拠した GLP

上記試験は、「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」(薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号)(化学物質 GLP)に基づき実施した。

## 17. 最終報告書の作成

2009 年 1 月 16 日

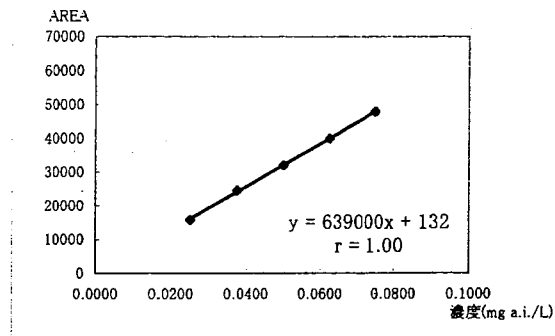
試験責任者:





試験 No.T08007-G

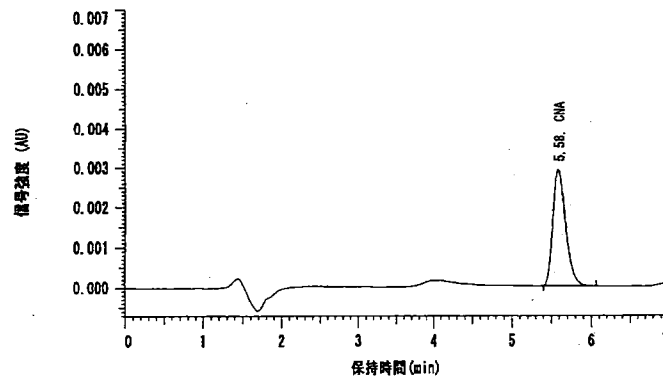
## 添付資料 1 検量線の一例



## 【検量線】

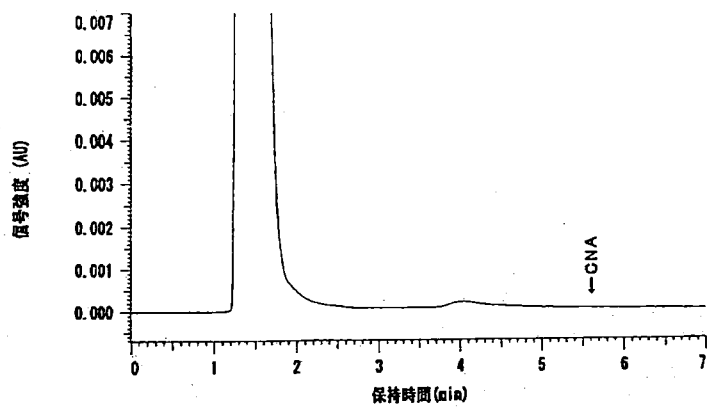
4-クロロ-2-ニトロアニリン 標準液濃度 (mg a.i./L)	AREA
0.0250	15819
0.0375	24562
0.0500	31996
0.0625	40126
0.0750	47997

## 添付資料 2 標準液の液体クロマトグラムの一例

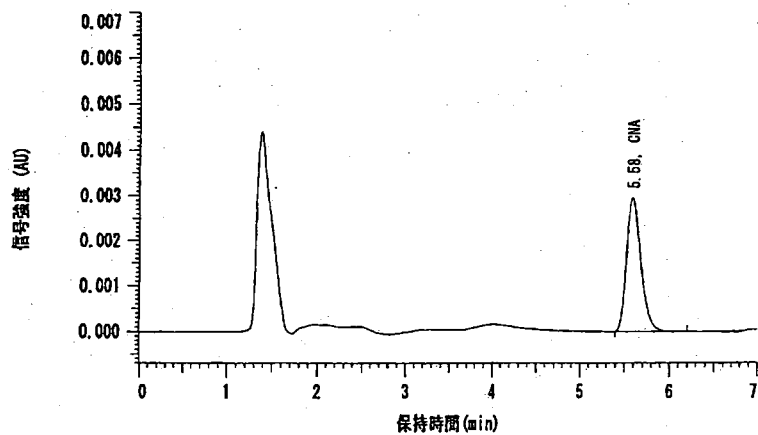


試験 No.T08007-G

添付資料 3 無処理対照区の液体クロマトグラムの一例

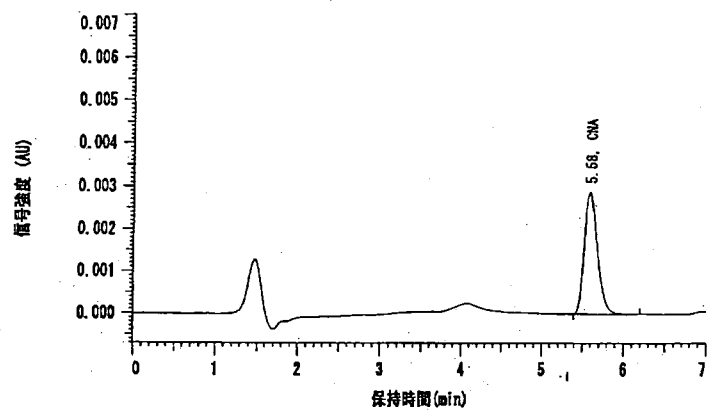


添付資料 4 0.5mg a.i./L 区の液体クロマトグラムの一例



試験 No. T08007-G

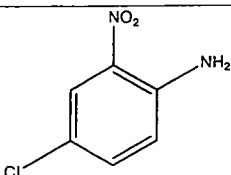
添付資料 5 10mg a.i./L 区の液体クロマトグラムの一例



[様式 8]

ミジンコ急性遊泳阻害試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称	4-クロロ-2-ニトロアニリン		
別 名	—		
C A S 番 号	89-63-4		
構造式又は示性式 (いずれも不明な場合は、 その製法の概要)			
分 子 量	172.57		
試験に供した新規 化学物質の純度(%)	99.9		
試験に供した新規 化学物質のロット番号	GJ01		
不 純 物 の 名 称 及 び 含 有 率	不明		
蒸 気 圧	不明		
対 水 溶 解 度	不明		
1-オクタノール/水分配係数	不明		
融 点	118°C		
沸 点	不明		
常 温 に お け る 性 状	橙色結晶性粉末		
安 定 性	不明		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	エーテル	可溶	—
	酢酸	可溶	—
	メタノール	微溶	—

## 2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項 目	方 法
分析方法	<p>被験物質濃度が 0.05 mg a.i./L 相当量となるように試験液を超純水で希釈したものを HPLC に注入し、被験物質を定量した。以下の式により被験物質濃度を算出した。</p> <p>濃度 (mg a.i./L) = 分析試料溶液の 4-クロロ-2-ニトロアニリン濃度 × 希釈倍率</p> <p>サンプリング: 全試験区  頻度: 暴露開始時および終了時  サンプリング量: 20 mL  サンプリング法: 試験液を攪拌することなく中層から採取  (暴露終了時は 4 連の各試験容器から等量採取し混和後、20 mL を採取)</p>
前処理法	必要に応じて超純水にて希釈した。
定量条件	<p>装置(HPLC): L-7000システム 日立製作所製  データ処理装置: D-7000 日立製作所製  カラム: L-column ODS (5 μm, 4.6 mm I.D × 150 mm)  カラム温度: 40°C  移動相: 超純水: アセトニトリル = 50:50  流量: 1.0 mL/min  波長: UV 230 nm  感度: 1 AU/V  注入量: 100.0 μL  定量限界: 0.050 mg a.i./L  平均回収率: 0.05 mg a.i./L (101%)、50 mg a.i./L (100%)</p>

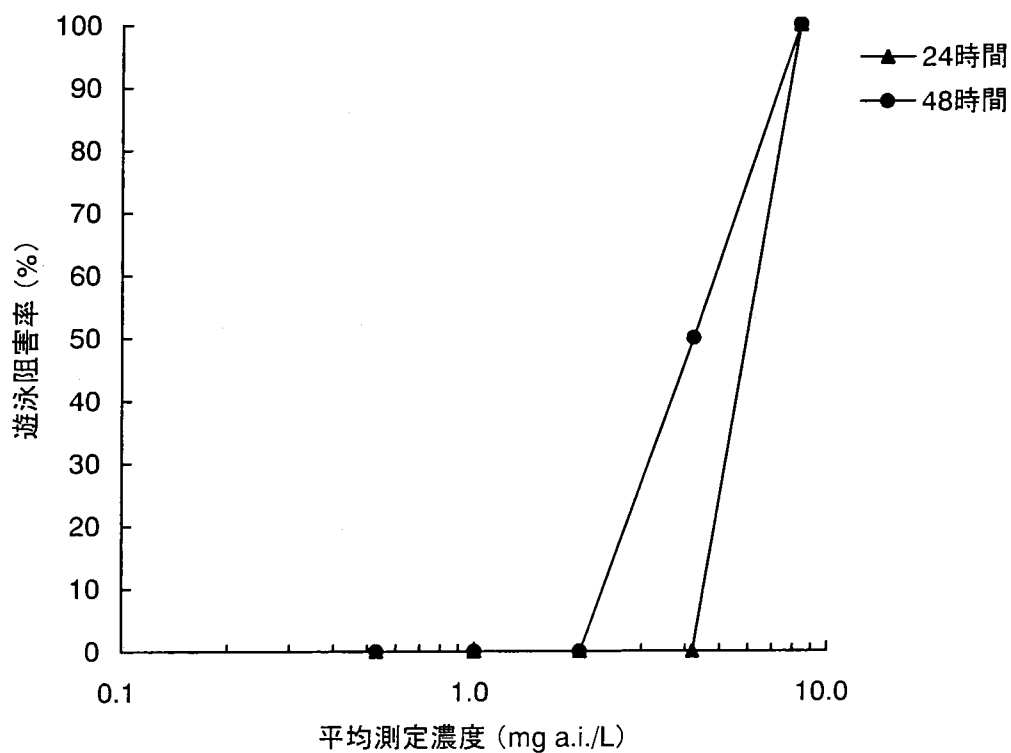
### 3. 試験材料及び方法

項目		内容	
試験生物	種(和名・系統・時間齢)	オオミジンコ( <i>Daphnia magna</i> ) 24 時間未満齢	
	入手先	独立行政法人 国立環境研究所 (元環境庁国立環境研究所)	
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)	48 時間 EC50=0.89 mg/L 重クロム酸カリウム(関東化学(株)製、試薬特級)	
飼育	飼育水の種類	人工調製水 Elendt M4	
	環境条件(水温、明暗周期)	水温: 20±1℃ 明暗周期: 16 時間明／8 時間暗(室内光)	
試験条件	試験容器		100 mL 容ガラス製ビーカー
	試験用水	種類	人工調製水 Elendt M4
		硬度	250 mg/L(CaCO <sub>3</sub> 換算)
		pH	8.2
	暴露期間		本試験: 2009 年 1 月 20 日～2009 年 1 月 22 日
	試験濃度(設定値)		0.50, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg a.i./L(公比 2.0)
	供試数		20 頭／試験区(5 頭/容器×4 連)
	連数	試験濃度区	4 連
		対照区	4 連
	試験溶液量		100 mL／試験容器
	助剤	助剤の有無	無
		種類	—
		濃度	—
		助剤対照区の連数	—
	試験方式		止水式
	換水又は流水条件		—
	水温		19.7～19.8℃(実測値)
	溶存酸素濃度(DO)		8.3～8.8 mg/L(実測値)
	明暗周期		16 時間明／8 時間暗 室内光(685～997 lux、実測値)
結果の算出 方法	EC <sub>50</sub>	Moving average 法	

#### 4. 試験結果及び考察

項 目	内 容
毒性値	48 時間 $EC_{50} = 4.2 \text{ mg a.i./L}$
試験濃度	実測値
考察及び 特記事項	<ul style="list-style-type: none"> <li>被験物質の溶解に時間を要するため、20℃で一晩スターラー攪拌して試験原液を調製した。</li> <li>試験液中の被験物質濃度は測定濃度の平均値を採用した。</li> <li>試験の有効性については基準値を満たしており、本試験はガイドラインに準じて適切に行われたと判断した。</li> </ul>

#### 5. ミジンコの濃度－遊泳阻害率曲線



6. その他

試験実施施設	名 称	住化テクノサービス株式会社
	所 在 地	〒665-0051 兵庫県宝塚市高司四丁目 2 番 1 号 電話 0797(74)2100 FAX 0797(74)2715
試験責任者	職 氏 名	■■■■■
	経 験 年 数	9 年
試験番号	0809EDI	
試験期間	2008 年 11 月 6 日から 2009 年 3 月 25 日	

作成責任者	所 属	住化テクノサービス株式会社 環境科学センター 環境生態部 環境生態チーム
	氏 名	■■■■■