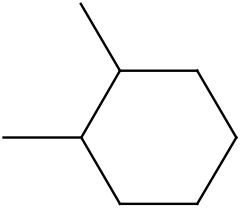


## 既存化学物質の分解性及び蓄積性に関する情報

(平成22年12月17日開催)

官報公示 整理番号	CAS No.	物質名称	頁
3-2227	583-57-3	1, 2-ジメチルシクロヘキサン	1
3-11 3-22	98-06-6	<i>tert</i> -ブチルベンゼン	7
4-80	571-58-4	1, 4-ジメチルナフタレン	15
3-521 3-526	128-39-2	2, 6-ジ- <i>tert</i> -ブチルフェノール	21
3-53	88-16-4	1-クロロ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼン	31
3-2851	2432-14-6	2, 6-ジブromo- <i>p</i> -クレゾール	40
3-553	903-19-5	2, 5-ビス(1, 1, 3, 3-テトラメチルブタン-1-イル)ヒドロキノン	49
5-3720	2057-49-0	4-(3-フェニルプロパン-1-イル)ピリジン	57
2-285	355-80-6	2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-オクタフルオロペンタン-1-オール	66

整理番号 K-1845 (3-2227)		分解度試験		分解度試験		分解度試験				
1,2-ジメチルシクロヘキサン (異性体混合物)		事業対象年度 平成21年度		契約 年 月 日		契約 年 月 日				
(583-57-3)		試験期間 21.10.27~21.12.25		試験期間 . . ~ . .		試験期間 . . ~ . .				
		試験装置 標・㊦		試験装置 標・揮		試験装置 標・揮				
構造式 (示性式) ・ 物理化学的性状   $cis$ 体 85% $trans$ 体 15%  分子式 $C_8H_{16}$ 分子量 112.21		試験濃度		試験濃度		試験濃度				
		被験物質 100 mg/L		被験物質 mg/L		被験物質 mg/L				
		汚泥 30 mg/L		汚泥 mg/L		汚泥 mg/L				
		本試験期間 4 週間		本試験期間 週間		本試験期間 週間				
		試験結果	間接	BOD -2, 0, -4 (0)%	試験結果	間接		試験結果	間接	
直接	GC 3, 2, 1 (2)%		直接			直接				
純度*1 99.7%	外観 無色透明液体									
不純物*1 (物質名, 含有率) 残り 0.3%については不明	溶解度 (対水, その他) 水: 6mg/L (25°C)	審査部会 第101回 22年12月17日開催		審査部会 第 回 年 月 日開催		審査部会 第 回 年 月 日開催				
融点 -49.8 °C		判定		判定		判定				
沸点 129.8°C	1-オクタノール/水分配係数 $\log Kow = 4.01^{*2}$	備考 1. 回収率 (水+被験物質)系 88.7% (汚泥+被験物質)系 87.9%  2. 実施機関 ・財団法人化学物質評価研究機構  3. 特記事項 ・分解度の平均値が負の値に算出されたため、0と表記した。 ・28日後の水系保持率 被験物質残留率 100%		備考		備考				
比重 0.7963g/cm3										
LD50 -	安定性							-		
IRチャートの有無 ㊦・無										
用途 -										
生産量 (年) 製造及び輸入 -										
試料 購入先 東京化成工業株式会社										
経済産業公報発表年月日	年 月 日									

\*1 東京化成工業添付資料による。

\*2 Kowwin v 1.67 による計算値。

## 1,2-ジメチルシクロヘキサン（異性体混合物）の微生物による分解度試験

## 要 約

## 試 験 法

本試験は以下の試験法に従って行った。

- (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、環企発第 031121002 号、平成 18 年 11 月 20 日 最終改正）に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉
- (2) "OECD Guidelines for Testing of Chemicals"に定める"Ready Biodegradability: Modified MITI Test (I) (Guideline 301C, July 17, 1992)"

## GLP 基準

本試験は以下の基準を適用した。

- (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、環企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正）に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) "OECD Principles of Good Laboratory Practice" (November 26, 1997)

## 試験条件

- |             |                     |
|-------------|---------------------|
| (1) 被験物質濃度  | 100 mg/L            |
| (2) 活性汚泥濃度  | 30 mg/L (懸濁物質濃度として) |
| (3) 試験液量    | 300 mL              |
| (4) 試験液培養温度 | 25±1℃               |
| (5) 試験液培養期間 | 28 日間 (遮光下)         |

## 分解度算出のための測定及び分析

- (1) 閉鎖系酸素消費量測定装置による生物化学的酸素消費量 (BOD) の測定
- (2) ガスクロマトグラフィー (GC) による被験物質の定量分析

## 試験結果

		(汚泥+被験物質) 系			
		[2]	[3]	[4]	平均
BOD 分解度	%	-2	0	-4	0 (-2) *1
被験物質分解度 (GC)	%	3	2	1	2

\*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を 0 としカッコ内にその計算値を示した。

## 結 論

本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

## 1. 分解度試験の実施

## 1.1 試験の準備

## (1) 活性汚泥

試験法(1)に従い、財団法人化学物質評価研究機構において採集、調製及び管理を行った活性汚泥（採集時期及び使用開始日は下記参照）を使用した。使用に際しては、合成下水（グルコース、ペプトン、リン酸二水素カリウムを精製水に溶解し、pHを7.0±1.0に調整したもの）を添加して19時間後のものを用いた。

採集時期 2009年9月

使用開始日 2009年10月5日

## (2) 活性汚泥の懸濁物質濃度の測定

活性汚泥の添加量を決定するために、懸濁物質濃度を測定した。

測定方法 JIS K 0102-2008 の14.1 に準じて行った。

測定実施日 2009年10月26日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は3160 mg/Lであった。

## (3) 基礎培養基の調製

JIS K 0102-2008 の21.1に定められた組成のA液、B液、C液及びD液それぞれ3 mLに精製水（高杉製薬製 日本薬局方）を加えて1 Lとする割合で3 L調製し、pHを7.0に調整した。

## (4) 対照物質

アニリン（和光純薬工業製 試薬特級 ロット番号KWQ3949）を用いて活性汚泥が十分な活性度を有することを確認した。

## 1.2 試験液の調製

試験容器を6個用意し、試験液を下記の方法で調製した。これらの試験液について、1.3の条件で培養を行った。

## (1) 被験物質及びアニリンの添加

## (a) (水+被験物質)系 (1個, 試験容器 [1])

被験物質濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に精製水300 mL及び供試試料38.0 µL（被験物質30.1 mg）を入れた。供試試料はマイクロシリンジで分取して添加した。

## (b) (汚泥+被験物質)系 (3個, 試験容器 [2] [3] [4])

被験物質濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.85 mL)を差し引いた量]及び供試試料38.0 µL（被験物質30.1 mg）を入れた。供試試料はマイクロシリンジで分取して添加した。

## (c) (汚泥+アニリン)系 (1個, 試験容器 [6])

アニリンの濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.85 mL)を差し引いた量]及びアニリン29.5 µL (30 mg)を入れた。アニリンはマイクロシリンジで分取して添加した。

## (d) 汚泥ブランク系 (1個, 試験容器 [5])

試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.85 mL)を差し引いた量]を入れた。

## (2) 活性汚泥の接種

(b)、(c)及び(d)の試験液に懸濁物質濃度として30 mg/Lになるように活性汚泥を添加した。

なお、(b)の試験液については被験物質を添加する前に活性汚泥を添加した。

## 1.3 試験液培養装置及び培養条件

## (1) 試験液培養装置

閉鎖系酸素消費量測定装置

恒温槽及び測定ユニット 旭テクネイオン製

データ処理装置 旭テクネイオン製

試験容器 以下の300 mL用培養瓶を用いた。

## 1.2 試験液の調製における

(a)、(b)及び(d) : 揮発性物質用改良型培養瓶

(c) : 改良型培養瓶

炭酸ガス吸収剤 ソーダライム, No.1 (和光純薬工業製 二酸化炭素吸収用)

1.2 試験液の調製における(a)、(b)及び(d)の試験容器と測定ユニットの接続にはコック付きのチューブを使用した。

## (2) 培養条件

温度 25±1℃

期間 28日間(遮光下)

撈拌方法 マグネチックスターラーによる回転撈拌

## (3) 実施場所

機器室1A

## 1.4 観察、測定等

## (1) 観察

培養期間中、試験液の状況を毎日目視観察した。

## (2) 生物化学的酸素消費量 (BOD) の測定

培養期間中、試験液のBODの変化を連続的に閉鎖系酸素消費量測定装置で測定した。

また、閉鎖系酸素消費量測定装置の恒温槽内の温度を毎日記録した。

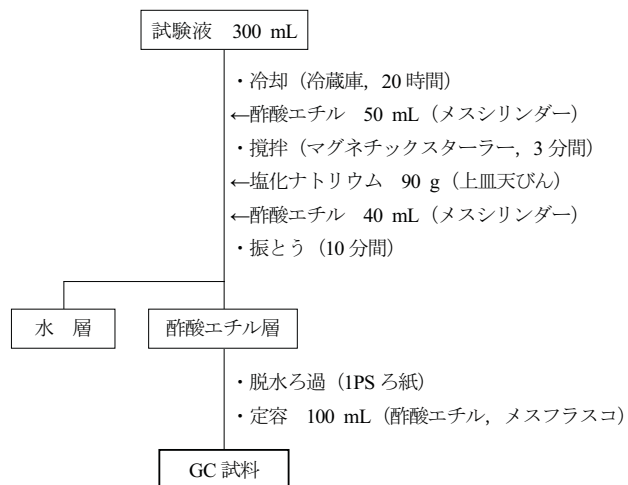
## 1.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中の被験物質について分析した。なお、予備検討の結果より、被験物質は揮発性を有すると考えられた。そこで、溶存有機炭素 (DOC) については、その分析用試料を調製するための前処理操作において被験物質の揮発による損失が考えられたため、分析は行わなかった。また、試験液のpH測定についても実施しなかった。

## 1.5.1 試験液の前処理

(水+被験物質)系、(汚泥+被験物質)系及び汚泥ブランク系の試験液について以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、被験物質を分析するためのガスクロマトグラフィー (GC) 試料を調製した。なお、抽出操作で用いた酢酸エチル及び分液ロートはあらかじめ冷却したものをを用いた。

フロースキーム



## 1.5.2 被験物質の定量分析

被験物質はクロマトグラム上において2本のピーク (*cis* 体及び *trans* 体) として検出されたため、これらを分析対象とした。GC 試料中の被験物質の濃度は、クロマトグラム上で得られた標準溶液 301 mg/L のピークの総面積と GC 試料のピークの総面積とを比較し、比例計算して求めた。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して 10000  $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$  (被験物質濃度 2.1 mg/L) とした。

## (1) 定量条件

機 器	ガスクロマトグラフ
検 出 器	Agilent Technologies 製 Agilent 7890A
カ ラ ム	水素炎イオン化検出器 (FID)
	HP-5 膜厚 0.25 $\mu\text{m}$ (Agilent Technologies 製)
	30 m $\times$ 0.32 mm I.D. フェーズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	40 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) $\rightarrow$ 120 $^{\circ}\text{C}$ (2 min)
昇 温 速 度	10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$
試料導入部温度	200 $^{\circ}\text{C}$
キャリアガス	ヘリウム
カ ラ ム 流 量	1.2 mL/min
水 素	40 mL/min
空 気	500 mL/min
注 入 量	1 $\mu\text{L}$
導 入 モ ー ド	スプリット
スプリット比	5:1
検 出 器 温 度	200 $^{\circ}\text{C}$
検 出 器 感 度	レンジ 2 $^{\circ}$

## (2) 標準溶液の調製

供試試料 38.0  $\mu\text{L}$  (被験物質 30.1 mg) を分取し、酢酸エチルに溶解して 1000 mg/L の被験物質溶液を調製した。これを酢酸エチルで希釈して 301 mg/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 75.4、151 及び 301 mg/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の総面積と濃度により検量線を作成した。

## 1.5.3 回収試験及びブランク試験

前述した前処理における試験液からの被験物質の回収率を求めるため、1.2 に準じて調製した（水＋被験物質）系及び（汚泥＋被験物質）系の試験液について 1.5.1 及び 1.5.2 に従い、回収試験を行った。また、1.2 に準じて調製した汚泥ブランク系の試験液について回収試験と同じ操作によりブランク試験を行った。回収試験については各 2 点、ブランク試験については 1 点測定した。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はピークは認められなかった。分析操作における各 2 点の回収率及び平均回収率は下記のとおりであり、平均回収率を試験液中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした。

（水＋被験物質）系回収率	88.4%、 89.0%	平均	88.7%
（汚泥＋被験物質）系回収率	87.6%、 88.3%	平均	87.9%

## 1.6 分解度の算出法

分解度は下記の式に基づき算出し、小数点以下 1 ケタ目を丸めて整数位で表示した。

## (1) BOD 分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{BOD} - \text{B}}{\text{TOD}} \times 100$$

BOD : (汚泥＋被験物質) 系の生物化学的酸素消費量 (測定値: mg)

B : 汚泥ブランク系の生物化学的酸素消費量 (測定値: mg)

TOD : 被験物質が完全に酸化された場合に必要とされる理論的酸素消費量  
(計算値: mg)

## (2) 被験物質分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{Sw} - \text{Ss}}{\text{Sw}} \times 100$$

Ss : (汚泥＋被験物質) 系における被験物質の残留量 (測定値: mg)

Sw : (水＋被験物質) 系における被験物質の残留量 (測定値: mg)

## 1.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401:1999 規則 B に従った。

## 2. 試験条件の確認

試験の有効性の基準値と本試験における値を下表に示す。本試験における値はいずれも基準値を満たしたことから、本試験は有効であった。

		本試験における値	基準値
分解度の最大値と最小値の差	BOD 分解度	4%	20%未満
	被験物質分解度	2%	
アニリンの BOD 分解度	7 日後	55%	40%以上
	14 日後	72%	65%以上
汚泥ブランク系の BOD 値	28 日後	7.1 mg	18 mg 未満 (60 mg/L 未満)

## 3. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

当該要因はなかった。

## 4. 試験結果

## 4.1 試験液の状況

試験液の状況は下記のとおりであった。

また、被験物質は揮発性物質と考えられたため、培養終了後の（水＋被験物質）系及び（汚泥＋被験物質）系の試験液の pH 測定は行わなかった。

	試験液	状況	pH
培養開始時	（水＋被験物質）系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
	（汚泥＋被験物質）系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
培養終了時	（水＋被験物質）系	不溶物は認められなかった。 試験液は無色であった。	-
	（汚泥＋被験物質）系	汚泥以外の不溶物は認められなかった。 汚泥の増殖は認められなかった。 試験液は無色であった。	-

## 4.2 試験液の分析結果

28 日後の分析結果は下記のとおりであった。

		(水＋被験物質)系	(汚泥＋被験物質)系			理論量
		[1]	[2]	[3]	[4]	
BOD <sup>*2</sup>	mg	0.8	-2.4	-0.5	-4.1	102.9
被験物質残留量及び残留率 (GC)	mg <sup>*3</sup>	30.1	29.3	29.6	29.8	30.1
	%	100	97	98	99	-

\*2 (汚泥＋被験物質) 系は、汚泥ブランク系の値を差し引いて表示した。

\*3 クロマトグラム上のピークの総面積を用いて算出した。

## 4.3 分解度

28 日後の分解度は下記のとおりであった。

		(汚泥＋被験物質)系			
		[2]	[3]	[4]	平均
BOD 分解度	%	-2	0	-4	0 (-2) <sup>*1</sup>
被験物質分解度 (GC)	%	3	2	1	2

\*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を 0 としカッコ内にその計算値を示した。

## 4.4 考 察

GC分析において、被験物質はクロマトグラム上に2本のピーク（ピークの帰属は供給者情報による）として検出された。そこで、ピーク毎の分解度を算出したところ、いずれのピークについても分解度は1~3%であった（下表参照）。この結果及びBOD分解度が平均0%であったことから、本試験条件下において、被験物質の全成分が微生物により分解されなかったと考えられる。

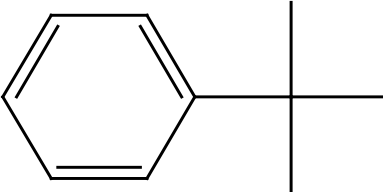
なお、上記の結果及びクロマトグラム上に被験物質以外のピークは認められなかったことから、変化物は生成しなかったと判断されたため分析対象としなかった。

被験物質のピーク毎の分解度

		(汚泥+被験物質)系			
		[2]	[3]	[4]	平均
ピーク1 ( <i>trans</i> 体)	%	3	2	1	2
ピーク2 ( <i>cis</i> 体)	%	3	2	1	2

## 4.5 結 論

本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

整理番号 K-1846 (3-0011, 3-0022)	分解度試験	分解度試験	分解度試験
tert-ブチルベンゼン	事業対象年度 平成21年度	契約 年 月 日	契約 年 月 日
(98-06-6)	試験期間 21.10.26~22.3.2	試験期間 . . ~ . .	試験期間 . . ~ . .
	試験装置 標・㊦	試験装置 標・揮	試験装置 標・揮
構造式(示性式)・物理化学的性状    分子式 C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> 分子量 134.22	試験濃度	試験濃度	試験濃度
	被験物質 100 mg/L	被験物質 mg/L	被験物質 mg/L
	汚泥 30 mg/L	汚泥 mg/L	汚泥 mg/L
	本試験期間 4 週間	本試験期間 週間	本試験期間 週間
	試験結果 間接 BOD -4, -2, -1 (0)%	試験結果 間接	試験結果 間接
	試験結果 直接 GC 25, 29, 28 (27)%	試験結果 直接	試験結果 直接
純度*1 99.8%	外観 無色透明液体		
不純物*1 (物質名, 含有率) 不明成分 0.2%	溶解度(対水, その他) 水: 29.5mg/L (25℃)	審査部会 第101回 22年12月17日開催	審査部会 第 回 年 月 日開催
融点 -58.1℃		判定	判定
沸点 168.5℃	1-オクタノール/水分配係数 log Kow = 3.90*2	備考 1. 回収率 (水+被験物質)系 95.8% (汚泥+被験物質)系 93.5% 2. 実施機関 ・財団法人化学物質評価研究機構 3. 特記事項 ・分解度の平均値が負の値に算出されたため、0と表記した。 ・28日後の水系保持率 被験物質残留率 72%	
比重 0.8669		備考 ・一部の被験物質は試験液から炭酸ガス吸収剤に移行した。 ・密閉系の残留率(非GLP) (水+被験物質)系 99%	
LD50 -	安定性 -		
IRチャートの有無 ㊦・無			
用途*3 中間物、溶剤、洗浄剤			
生産量*3 (18年) 製造及び輸入 100,000~1,000,000 t 未満			
試料 購入先 Acros Organics			
経済産業公報発表年月日 年 月 日			

\*1 Acros Organics 添付資料による。

\*2 Kowwin v 1.67 による計算値。

\*3 化学物質の製造・輸入量に関する実態調査による。



## tert-ブチルベンゼンの微生物による分解度試験

## 要 約

## 試 験 法

本試験は以下の試験法に従って行った。

- (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、環企発第 031121002 号、平成 18 年 11 月 20 日 最終改正) に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉
- (2) "OECD Guidelines for Testing of Chemicals"に定める"Ready Biodegradability: Modified MITI Test ( I )(Guideline 301C, July 17, 1992)"

## GLP 基準

本試験は以下の基準を適用した。

- (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、環企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正) に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) "OECD Principles of Good Laboratory Practice" (November 26, 1997)

## 試 験 条 件

- |             |                     |
|-------------|---------------------|
| (1) 被験物質濃度  | 100 mg/L            |
| (2) 活性汚泥濃度  | 30 mg/L (懸濁物質濃度として) |
| (3) 試 験 液 量 | 300 mL              |
| (4) 試験液培養温度 | 25±1℃               |
| (5) 試験液培養期間 | 28 日間 (遮光下)         |

## 分解度 (減少率) 算出のための測定及び分析

- (1) 閉鎖系酸素消費量測定装置による生物化学的酸素消費量 (BOD) の測定
- (2) ガスクロマトグラフィー (GC) による被験物質の定量分析

## 試 験 結 果

		(汚泥+被験物質) 系			
		[1]	[2]	[3]	平 均
BOD 分解度	%	-4	-2	-1	0 (-2) *1
被験物質減少率*2 (GC)	%	25	29	28	27

\*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を 0 としカッコ内にその計算値を示した。

\*2 (水+被験物質) 系における被験物質残留率が 90%未満 (72%) となったため、被験物質分解度 (被験物質の直接分析による分解度) は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

## 結 論

本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

## 1. 分解度試験の実施

## 1.1 試験の準備

## (1) 活性汚泥

試験法(1)に従い、財団法人化学物質評価研究機構において採集、調製及び管理を行った活性汚泥（採集時期及び使用開始日は下記参照）を使用した。使用に際しては、合成下水（グルコース、ペプトン、リン酸二水素カリウムを精製水に溶解し、pHを7.0±1.0に調整したもの）を添加して21.5時間後のものを用いた。

採集時期 2009年9月

使用開始日 2009年10月5日

## (2) 活性汚泥の懸濁物質濃度の測定

活性汚泥の添加量を決定するために、懸濁物質濃度を測定した。

測定方法 JIS K 0102-2008 の14.1 に準じて行った。

測定実施日 2009年11月24日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は3320 mg/Lであった。

## (3) 基礎培養基の調製

JIS K 0102-2008 の21.1に定められた組成のA液、B液、C液及びD液それぞれ3 mLに精製水（高杉製薬製 日本薬局方）を加えて1 Lとする割合で3 L調製し、pHを7.0に調整した。

## (4) 対照物質

アニリン（和光純薬工業製 試薬特級 ロット番号KWQ3949）を用いて活性汚泥が十分な活性度を有することを確認した。

## 1.2 試験液の調製

試験容器を6個用意し、試験液を下記の方法で調製した。これらの試験液について、1.3の条件で培養を行った。

## (1) 被験物質及びアニリンの添加

## (a) (水+被験物質)系 (1個, 試験容器 [4])

被験物質濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に精製水300 mL及び供試試料35.0 µL（被験物質30.3 mg）を入れた。供試試料はマイクロシリンジで分取して添加した。

## (b) (汚泥+被験物質)系 (3個, 試験容器 [1] [2] [3])

被験物質濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.71 mL)を差し引いた量]及び供試試料35.0 µL（被験物質30.3 mg）を入れた。供試試料はマイクロシリンジで分取して添加した。

## (c) (汚泥+アニリン)系 (1個, 試験容器 [6])

アニリンの濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.71 mL)を差し引いた量]及びアニリン29.5 µL (30 mg)を入れた。アニリンはマイクロシリンジで分取して添加した。

## (d) 汚泥ブランク系 (1個, 試験容器 [5])

試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.71 mL)を差し引いた量]を入れた。

## (2) 活性汚泥の接種

(b)、(c)及び(d)の試験液に懸濁物質濃度として30 mg/Lになるように活性汚泥を添加した。

なお、(b)の試験液については被験物質を添加する前に活性汚泥を添加した。

## 1.3 試験液培養装置及び培養条件

## (1) 試験液培養装置

閉鎖系酸素消費量測定装置

恒温槽及び測定ユニット 旭テクネイオン製

データ処理装置 旭テクネイオン製

試験容器 以下の300 mL用培養瓶を用いた。

## 1.2 試験液の調製における

(a)、(b)及び(d) : 揮発性物質用改良型培養瓶

(c) : 改良型培養瓶

炭酸ガス吸収剤 ソーダライム, No.1 (和光純薬工業製 二酸化炭素吸収用)

1.2 試験液の調製における(a)、(b)及び(d)の試験容器と測定ユニットの接続にはコック付きのチューブを使用した。

## (2) 培養条件

温度 25±1℃

期間 28日間(遮光下)

撈拌方法 マグネチックスターラーによる回転撈拌

## (3) 実施場所

機器室1A

## 1.4 観察、測定等

## (1) 観察

培養期間中、試験液の状況を毎日目視観察した。

## (2) 生物化学的酸素消費量 (BOD) の測定

培養期間中、試験液のBODの変化を連続的に閉鎖系酸素消費量測定装置で測定した。

また、閉鎖系酸素消費量測定装置の恒温槽内の温度を毎日記録した。

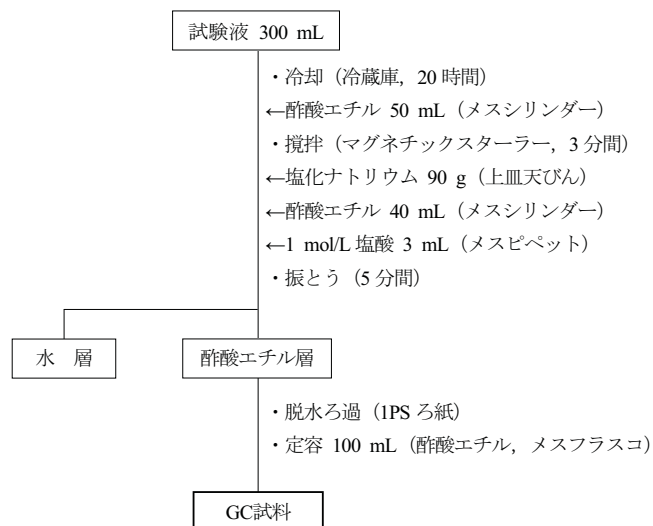
## 1.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中の被験物質について分析した。なお、予備検討の結果より、被験物質は揮発性を有すると考えられた。そこで、溶存有機炭素 (DOC) については、その分析用試料を調製するための前処理操作において被験物質の揮発による損失が考えられたため、分析は行わなかった。また、試験液のpH測定についても実施しなかった。

## 1.5.1 試験液の前処理

(水+被験物質)系、(汚泥+被験物質)系及び汚泥ブランク系の試験液について以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、被験物質を分析するためのガスクロマトグラフィー (GC) 試料を調製した。

フロースキーム



## 1.5.2 被験物質の定量分析

GC 試料中の被験物質の濃度は、クロマトグラム上で得られた標準溶液 303 mg/L のピーク面積と GC 試料のピーク面積とを比較し、比例計算して求めた。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して  $2900 \mu\text{V} \cdot \text{sec}$  (被験物質濃度 2.9 mg/L) とした。

## (1) 定量条件

機 器	ガスクロマトグラフ
	Agilent Technologies 製 Agilent 7890A
検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
カ ラ ム	NEUTRA BOND-1 膜厚 1.5 $\mu\text{m}$ (GLサイエンス製) 60 m $\times$ 0.25 mm I.D. フェーズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	120 $^{\circ}\text{C}$ (0 min) $\rightarrow$ 220 $^{\circ}\text{C}$ (0 min)
昇 温 速 度	10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$
試料導入部温度	240 $^{\circ}\text{C}$
キャリアガス	ヘリウム
カ ラ ム 流 量	1.5 mL/min
水 素	40 mL/min
空 気	400 mL/min
注 入 量	1 $\mu\text{L}$
導 入 モ ー ド	スプリット
スプリット比	20:1
検 出 器 温 度	250 $^{\circ}\text{C}$
検 出 器 感 度	レンジ 2 $^{\circ}$

## (2) 標準溶液の調製

供試試料 35.0  $\mu\text{L}$  (被験物質 30.3 mg) を分取し、酢酸エチルに溶解して 1010 mg/L の被験物質溶液を調製した。これを酢酸エチルで希釈して 303 mg/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 75.8、152 及び 303 mg/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。

## 1.5.3 回収試験及びブランク試験

前述した前処理における試験液からの被験物質の回収率を求めため、1.2 に準じて調製した(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系の試験液について1.5.1 及び1.5.2 に従い、回収試験を行った。また、1.2 に準じて調製した汚泥ブランク系の試験液について回収試験と同じ操作によりブランク試験を行った。回収試験については各2点、ブランク試験については1点測定した。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はピークは認められなかった。分析操作における各2点の回収率及び平均回収率は下記のとおりであり、平均回収率を試験液中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした。

(水+被験物質)系回収率	97.5%, 94.1%	平均	95.8%
(汚泥+被験物質)系回収率	93.6%, 93.4%	平均	93.5%

## 1.6 分解度の算出法

分解度は下記の式に基づき算出し、小数点以下1ケタ目を丸めて整数位で表示した。

なお、(水+被験物質)系における被験物質残留率が90%未満(72%)となったため、被験物質分解度(被験物質の直接分析による分解度)は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

## (1) BOD分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{BOD} - \text{B}}{\text{TOD}} \times 100$$

BOD : (汚泥+被験物質)系の生物化学的酸素消費量(測定値:mg)

B : 汚泥ブランク系の生物化学的酸素消費量(測定値:mg)

TOD : 被験物質が完全に酸化された場合に必要とされる理論的酸素消費量  
(計算値:mg)

## (2) 被験物質減少率

$$\text{減少率 (\%)} = \frac{\text{Sw} - \text{Ss}}{\text{Sw}} \times 100$$

Ss : (汚泥+被験物質)系における被験物質の残留量(測定値:mg)

Sw : 被験物質の添加量(mg)

## 1.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401:1999 規則Bに従った。

## 2. 試験条件の確認

試験の有効性の基準値と本試験における値を下表に示す。本試験における値はいずれも基準値を満たしたことから、本試験は有効であった。

		本試験における値	基準値
分解度(減少率)の最大値と最小値の差	BOD 分解度	3%	20%未満
	被験物質減少率	4%	
アニリンのBOD分解度	7日後	62%	40%以上
	14日後	79%	65%以上
汚泥ブランク系のBOD値	28日後	8.8 mg	18 mg 未満 (60 mg/L 未満)

## 3. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

当該要因はなかった。

## 4. 試験結果

## 4.1 試験液の状況

試験液の状況は下記のとおりであった。

また、被験物質は揮発性物質と考えられたため、培養終了後の(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系の試験液のpH測定は行わなかった。

	試験液	状況	pH
培養開始時	(水+被験物質)系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
	(汚泥+被験物質)系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
培養終了時	(水+被験物質)系	不溶物は認められなかった。 試験液は無色であった。	-
	(汚泥+被験物質)系	汚泥以外の不溶物は認められなかった。 汚泥の増殖は認められなかった。 試験液は無色であった。	-

## 4.2 試験液の分析結果

28日後の分析結果は下記のとおりであった。

		(水+被験物質)系	(汚泥+被験物質)系			理論量
		[4]	[1]	[2]	[3]	
BOD <sup>*3</sup>	mg	0.5	-4.2	-1.5	-1.3	97.6
被験物質残留量及び残留率(GC)	mg	21.8	22.8	21.6	21.7	30.3
	%	72	75	71	72	-

\*3 (汚泥+被験物質)系は、汚泥ブランク系の値を差し引いて表示した。

## 4.3 分解度

28日後の分解度は下記のとおりであった。

なお、(水+被験物質)系における被験物質残留率が90%未満(72%)となったため、被験物質分解度(被験物質の直接分析による分解度)は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

		(汚泥+被験物質)系			
		[1]	[2]	[3]	平均
BOD分解度	%	-4	-2	-1	0 (-2) *1
被験物質減少率 (GC)	%	25	29	28	27

\*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を0としカッコ内にその計算値を示した。

## 4.4 考 察

## (1) 試験法及び試験容器の選定理由について

被験物質の類似物質であるエチルベンゼン [K-937、官報公示整理番号 (3)-28] 及びジエチルベンゼン [K-857、官報公示整理番号 (3)-13] は揮発性物質用改良型培養瓶を使用して化審法テストガイドラインに準拠した分解度試験を実施し、28日後の(水+被験物質)系の被験物質残留率がいずれも94%以上であった。また、気相と液相の分配を示すパラメーターであるヘンリー定数(計算値)について、被験物質と類似物質を比較したところ、被験物質のヘンリー定数はエチルベンゼンとジエチルベンゼンに近い数値であったため、類似物質と同じ試験法及び試験容器を選択した(下表参照)。

	ヘンリー定数*4 ( $\text{atm} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$ )
被験物質	$1.39 \times 10^{-2}$
エチルベンゼン	$7.89 \times 10^{-3}$
ジエチルベンゼン	$1.16 \times 10^{-2}$

\*4 EPI suite (Version 3.20) を用いた計算値

## (2) 試験結果について

BOD分解度の平均値は0% (-2%) \*1であり、培養終了時の試験液において汚泥の増殖は認められなかったことから、被験物質は微生物により分解されなかったと考えられた。しかしながら、被験物質残留率は(水+被験物質)系において72%、(汚泥+被験物質)系において75%、71%及び72%であり、25~29%の収支不足が認められたことから、生分解以外の要因による収支不足が生じたと考えられた。

## (3) 収支不足の要因について

(2)で挙げた収支不足の要因を明らかにするため、下記の(a)~(c)の追加検討を実施した。その結果より、被験物質は培養期間中に揮発の影響を受け、一部はソーダライムへ移行し、一部は試験系外にロスした可能性があることが明らかとなった。(1)で記載したとおり、類似物質より試験法及び試験容器を選択して本試験を実施したが、被験物質との構造の違いや、比重等の物理化学的性状の違いが試験液中の保持率の差に影響したものと考えられる。

## (a) GC及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による変化物の検出確認

被験物質分析条件では検出されない変化物の有無を確認するため、GC及びHPLCにより変化物の検出確認を行ったが、すべての試験液において変化物は検出されなかった(5.1項参照)。

## (b) ソーダライムへの被験物質の移行確認

炭酸ガス吸収剤として使用したソーダライムへの被験物質の移行を確認するため、ソーダライム分析を行ったところ、(水+被験物質)系において2%、(汚泥+被験物質)系において0%、3%及び1%の被験物質が検出され、若干量の被験物質がソーダライムへ移行していることが確認された(5.2項参照)。

## (c) 被験物質の揮発による損失確認

本試験の試験液とは別途に、ソーダライムを装着しない(水+被験物質)系の試験液2点[揮発性物質用改良型培養瓶(本試験と同じ培養瓶)及び密閉瓶(完全に密閉した培養瓶)]を28日間培養し、培養終了後に被験物質分析を実施した。その結果、揮発性物質用改良型培養瓶での被験物質残留率は83%、密閉瓶では被験物質残留率は99%であり、密閉した場合に被験物質が試験液中に良好に保持されていることが確認された(5.3項参照)。

## (4) ま と め

(2)及び(3)より、被験物質の一部は揮発して試験液中に保持されなかったと考えられるが、被験物質の70%以上が試験液中に保持されていること並びに(水+被験物質)系と(汚泥+被験物質)系の被験物質残留率に差がないことから、揮発の影響はあったものの、被験物質は微生物により分解されなかったと評価することは可能であると考えられる。

## 4.5 結 論

本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

## 5. 備 考

## 5.1 変化物の有無の確認

1.5.1において前処理を行って得られた GC 試料について、GC 及び HPLC で分析を行い、変化物の検出確認を行った。

## (1) 分析試料の調製

1.5.1において前処理を行って得られた GC 試料を GC 及び HPLC で分析試料として使用した。

## (2) 分析条件

## (a) GC 分析条件

機 器	ガスクロマトグラフ
	Agilent Technologies 製 Agilent 7890A
検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
カ ラ ム	NEUTRA BOND-1 膜厚 1.5 μm (GL サイエンス製)
	60 m×0.25 mm I.D. フェーズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	120°C (0 min) → 300°C (10 min)
昇 温 速 度	10°C/min
試料導入部温度	240°C
キャリアガス	ヘリウム
カ ラ ム 流 量	1.5 mL/min
水 素	40 mL/min
空 気	400 mL/min
注 入 量	1 μL
導 入 モ ー ド	スプリット
スプリット比	20:1
検 出 器 温 度	300°C
検 出 器 感 度	レンジ 2 <sup>0</sup>

## (b) HPLC 分析条件

機 器	高速液体クロマトグラフ		
	島津製作所製 LC-2010A (紫外可視分光検出器内蔵)		
カ ラ ム	L-column ODS (15 cm×2.1 mm I.D., 化学物質評価研究機構製)		
カ ラ ム 温 度	40°C		
溶 離 液	A: アセトニトリル/りん酸 (1000/1 v/v) B: 超純水/りん酸 (1000/1 v/v)		
	グラジエント条件		
	時間 (min)	A (%)	B (%)
	0.0	10	90
	18.0	100	0
	35.0	100	0
流 量	0.2 mL/min		
測 定 波 長	250 nm		
注 入 量	1 μL		
検 出 器 出 力	2 V/AU		

## (3) 被験物質溶液の調製

1.5.2(2)に従って調製した標準溶液を被験物質溶液とした。

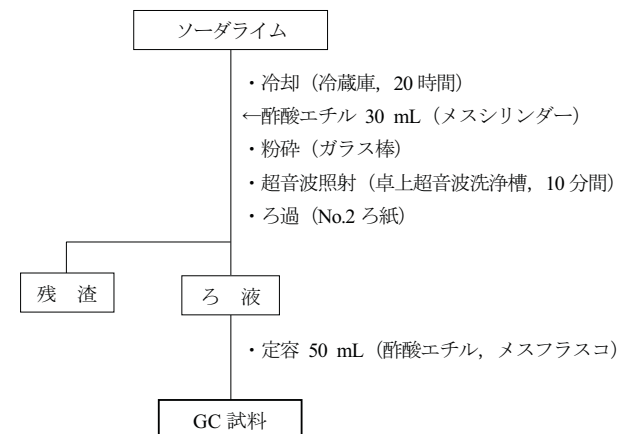
## (4) 結 果

(水+被験物質)系、(汚泥+被験物質)系共に、GC クロマトグラム上及び HPLC クロマトグラム上に変化物由来と考えられるピークは検出されなかった。

## 5.2 ソーダライム中の被験物質分析

試験液における被験物質残留率が低い値となった原因を調査するために、ソーダライムについて前処理操作を行い分析に供した。

## (1) 分析試料の調製



## (2) 被験物質の定量分析

(1)で前処理を行って得られた GC 試料について 1.5.2(1)に示す定量条件に従って被験物質を分析した。

## (3) 分析結果

分析結果は下記のとおりであった。

		(水+被験物質)系		(汚泥+被験物質)系		理論量
		[4]	[1]	[2]	[3]	
被験物質検出量及び検出率 (GC)	mg	0.7	0	1.0	0.2	30.3
	%	2	0	3	1	-

## 5.3 参考試験

被験物質の揮発性を確認するため、別途培養を行った（水+被験物質）系の試験液について、培養期間終了後に試験液中の被験物質を分析した。

## 5.3.1 試験条件

試験液培養温度	25±2℃
試験液培養期間	28日間（遮光下）（2009.12.28～2010.1.25）
攪拌方法	マグネチックスターラーによる回転攪拌

## 5.3.2 試験液の調製

1.2 に示す調製法に従って、（水+被験物質）系の試験液を2点調製した。なお、試験容器は揮発性物質用改良型培養瓶と密閉瓶各1点とし、ソーダライムは装着しなかった。

## 5.3.3 試験液の前処理

培養期間終了後、1.5.1 に従って前処理操作を行い、被験物質を分析するためのGC試料を調製した。

## 5.3.4 被験物質の定量分析

## (1) 定量条件

1.5.2(1)の定量条件に従って被験物質を分析した。

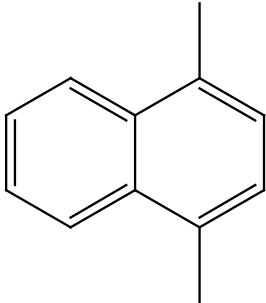
## (2) 標準溶液の調製

1.5.2(2)に従って標準溶液を調製した。

## 5.3.5 分析結果

28日後の分析結果は下記のとおりであった。

		(水+被験物質)系		理論量
		1 (揮発性物質用 改良型培養瓶)	2 (密閉瓶)	
被験物質残留量 及び残留率 (GC)	mg	25.0	30.0	30.3
	%	83	99	-

整理番号 K-1847 (4-0080)	分解度試験	分解度試験	分解度試験
1,4-ジメチルナフタレン	事業対象年度 平成21年度	契約 年 月 日	契約 年 月 日
(571-58-4)	試験期間 21.11.4 ~ 22.2.9	試験期間 . . . ~ . . .	試験期間 . . . ~ . . .
	試験装置 (標) ・ 揮	試験装置 標 ・ 揮	試験装置 標 ・ 揮
構造式 (示性式) ・ 物理化学的性状    分子式 C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> 分子量 156.22	試験濃度	試験濃度	試験濃度
	被験物質 100 mg/L	被験物質 mg/L	被験物質 mg/L
	汚泥 30 mg/L	汚泥 mg/L	汚泥 mg/L
	本試験期間 4 週間	本試験期間 週間	本試験期間 週間
	試験結果 間接 BOD -5, -6, -4 (0)% 直接 HPLC 2, 4, 1 (2)%	試験結果 間接 直接	試験結果 間接 直接
純度*1 98.2%	外観 微黄色透明液体		
不純物*1 (物質名, 含有率) 残り 1.8%については不明	溶解度 (対水, その他) -	審査部会 第 101 回 22年12月17日開催	審査部会 第 回 年 月 日開催
融点 -		判定	判定
沸点 -	1-オクタノール/水分配係数 log Kow = 4.26*2	備考 1. 回収率 (水+被験物質)系 97.3% (汚泥+被験物質)系 98.2%	備考
比重 -		2. 実施機関 ・財団法人化学物質評価研究機構	
LD50 -	安定性 -	3. 特記事項 ・分解度の平均値が負の値に算出されたため、0と表記した。 ・一部の被験物質は試験液から炭酸ガス吸収剤に移行した。	
IRチャートの有無 (有) ・ 無			
用途*3 中間物、溶媒、プロセス調節剤、着色剤、繊維剤			
生産量*3 (19年) 製造及び輸入 1,000~10,000 t 未満			
試料 購入先 東京化成工業株式会社			
経済産業公報発表年月日 年 月 日			

\*1 東京化成工業添付資料による。 \*2 Kowwin v 1.67 による計算値。 \*3 化学物質の製造・輸入量に関する実態調査による。



## 1,4-ジメチルナフタレンの微生物による分解度試験

## 要 約

## 試 験 法

本試験は以下の試験法に従って行った。

- (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、環企発第 031121002 号、平成 18 年 11 月 20 日 最終改正) に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉
- (2) "OECD Guidelines for Testing of Chemicals"に定める"Ready Biodegradability: Modified MITI Test (I) (Guideline 301C, July 17, 1992)"

## GLP 基準

本試験は以下の基準を適用した。

- (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、環企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正) に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) "OECD Principles of Good Laboratory Practice" (November 26, 1997)

## 試 験 条 件

- |             |                     |
|-------------|---------------------|
| (1) 被験物質濃度  | 100 mg/L            |
| (2) 活性汚泥濃度  | 30 mg/L (懸濁物質濃度として) |
| (3) 試 験 液 量 | 300 mL              |
| (4) 試験液培養温度 | 25±1℃               |
| (5) 試験液培養期間 | 28 日間 (遮光下)         |

## 分解度算出のための測定及び分析

- (1) 閉鎖系酸素消費量測定装置による生物化学的酸素消費量 (BOD) の測定
- (2) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による被験物質の定量分析

## 試 験 結 果

		(汚泥+被験物質) 系			
		[2]	[3]	[4]	平 均
BOD 分解度	%	-5	-6	-4	0 (-5) *1
被験物質分解度 (HPLC)	%	2	4	1	2

\*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を 0 としカッコ内にその計算値を示した。

## 結 論

本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

## 1. 分解度試験の実施

## 1.1 試験の準備

## (1) 活性汚泥

試験法(1)に従い、財団法人化学物質評価研究機構において採集、調製及び管理を行った活性汚泥（採集時期及び使用開始日は下記参照）を使用した。使用に際しては、合成下水（グルコース、ペプトン、リン酸二水素カリウムを精製水に溶解し、pHを7.0±1.0に調整したもの）を添加して18時間後のものを用いた。

採集時期 2009年9月

使用開始日 2009年10月5日

## (2) 活性汚泥の懸濁物質濃度の測定

活性汚泥の添加量を決定するために、懸濁物質濃度を測定した。

測定方法 JIS K 0102-2008 の14.1 に準じて行った。

測定実施日 2009年11月4日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は3730 mg/Lであった。

## (3) 基礎培養基の調製

JIS K 0102-2008 の21.1に定められた組成のA液、B液、C液及びD液それぞれ3 mLに精製水（高杉製薬製 日本薬局方）を加えて1 Lとする割合で5 L調製し、pHを7.0に調整した。

## (4) 対照物質

アニリン（和光純薬工業製 試薬特級 ロット番号KWG 3949）を用いて活性汚泥が十分な活性度を有することを確認した。

## 1.2 試験液の調製

試験容器を6個用意し、試験液を下記の方法で調製した。これらの試験液について、1.3の条件で培養を行った。

## (1) 被験物質及びアニリンの添加

## (a) (水+被験物質)系 (1個, 試験容器 [1])

被験物質濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に精製水300 mL及び供試試料30.0 µL（被験物質30.5 mg）を入れた。供試試料はマイクロシリンジで分取して添加した。

## (b) (汚泥+被験物質)系 (3個, 試験容器 [2] [3] [4])

被験物質濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.41 mL)を差し引いた量]及び供試試料30.0 µL（被験物質30.5 mg）を入れた。供試試料はマイクロシリンジで分取して添加した。

## (c) (汚泥+アニリン)系 (1個, 試験容器 [6])

アニリンの濃度が100 mg/Lになるように、試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.41 mL)を差し引いた量]及びアニリン29.5 µL (30 mg)を入れた。アニリンはマイクロシリンジで分取して添加した。

## (d) 汚泥ブランク系 (1個, 試験容器 [5])

試験容器に基礎培養基[300 mLから活性汚泥添加量(2.41 mL)を差し引いた量]を入れた。

## (2) 活性汚泥の接種

(b)、(c)及び(d)の試験液に懸濁物質濃度として30 mg/Lになるように活性汚泥を添加した。

## 1.3 試験液培養装置及び培養条件

## (1) 試験液培養装置

閉鎖系酸素消費量測定装置

恒温槽及び測定ユニット 旭テクネイオン製

データ処理装置 旭テクネイオン製

試験容器

300 mL用培養瓶（改良型培養瓶）

炭酸ガス吸収剤

ソーダライム, No.1（和光純薬工業製 二酸化炭素吸収用）

## (2) 培養条件

温度 25±1℃

期間 28日間（遮光下）

撈拌方法

マグネチックスターラーによる回転撈拌

## (3) 実施場所

機器室1A

## 1.4 観察、測定等

## (1) 観察

培養期間中、試験液の状況を毎日目視観察した。

## (2) 生物化学的酸素消費量（BOD）の測定

培養期間中、試験液のBODの変化を連続的に閉鎖系酸素消費量測定装置で測定した。また、閉鎖系酸素消費量測定装置の恒温槽内の温度を毎日記録した。

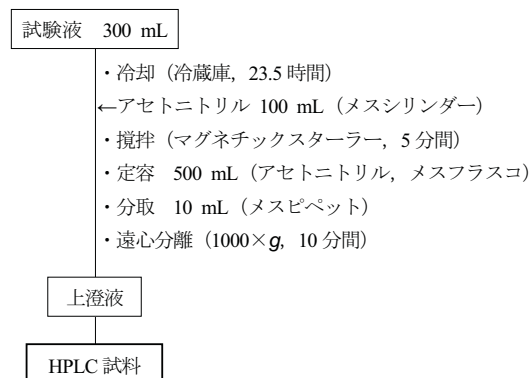
## 1.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中の被験物質について分析した。また、本試験に先立って実施した予備試験の結果より、被験物質は試験液に溶解しないことが明らかなため、試験液中の溶存有機炭素（DOC）の分析は行わなかった。なお、被験物質は揮発性の可能性があるため、試験液のpHは測定しなかった。

## 1.5.1 試験液の前処理

(水+被験物質)系、(汚泥+被験物質)系及び汚泥ブランク系の試験液について以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、被験物質を分析するための高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 試料を調製した。

フロースキーム



## 1.5.2 被験物質の定量分析

HPLC 試料中の被験物質の濃度は、クロマトグラム上で得られた標準溶液 60.9 mg/L のピーク面積と HPLC 試料のピーク面積とを比較し、比例計算して求めた。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して 14000  $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$  (被験物質濃度 0.57 mg/L) とした。

## (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
紫外可視分光検出器	島津製作所製 SPD-10AVvp
カラムオープン	島津製作所製 CTO-10ACvp
オートインジェクター	島津製作所製 SIL-10ADvp
システムコントローラー	島津製作所製 SCL-10AVvp
デガッサー	島津製作所製 DGU-14AM
カラム	L-column ODS (15 cm×2.1 mm I.D., 化学物質評価研究機構製)
カラム温度	40°C
溶 離 液	A (70%) : アセトニトリル B (30%) : 超純水
流 量	0.2 mL/min
測 定 波 長	227 nm
注 入 量	1 $\mu\text{L}$
検 出 器 出 力	0.5 V/AU

## (2) 標準溶液の調製

供試試料 30.0  $\mu\text{L}$  (被験物質 30.5 mg) を分取し、アセトニトリルに溶解して 1020 mg/L の被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリル/精製水 (2/3 v/v) で希釈して 60.9 mg/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 15.2、30.5 及び 60.9 mg/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。

## 1.5.3 回収試験及びブランク試験

前述した前処理における試験液からの被験物質の回収率を求めるため、1.2に準じて調製した(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系の試験液について1.5.1及び1.5.2に従い、回収試験を行った。また、1.2に準じて調製した汚泥ブランク系の試験液について回収試験と同じ操作によりブランク試験を行った。回収試験については各2点、ブランク試験については1点測定した。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はピークは認められなかった。分析操作における各2点の回収率及び平均回収率は下記のとおりであり、平均回収率を試験液中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした。

(水+被験物質)系回収率	97.4%	97.3%	平均 97.3%
(汚泥+被験物質)系回収率	98.1%	98.3%	平均 98.2%

## 1.6 分解度の算出法

分解度は下記の式に基づき算出し、小数点以下1ケタ目を丸めて整数位で表示した。

## (1) BOD 分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{BOD} - \text{B}}{\text{TOD}} \times 100$$

BOD : (汚泥+被験物質)系の生物化学的酸素消費量 (測定値: mg)

B : 汚泥ブランク系の生物化学的酸素消費量 (測定値: mg)

TOD : 被験物質が完全に酸化された場合に必要とされる理論的酸素消費量  
(計算値: mg)

## (2) 被験物質分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{Sw} - \text{Ss}}{\text{Sw}} \times 100$$

Ss : (汚泥+被験物質)系における被験物質の残留量 (測定値: mg)

Sw : (水+被験物質)系における被験物質の残留量 (測定値: mg)

## 1.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 : 1999 規則 B に従った。

## 2. 試験条件の確認

試験の有効性の基準値と本試験における値を下表に示す。本試験における値はいずれも基準値を満たしたことから、本試験は有効であった。

		本試験における値	基準値
分解度の最大値と最小値の差	BOD 分解度	2%	20%未満
	被験物質分解度	3%	
アニリンのBOD分解度	7日後	54%	40%以上
	14日後	69%	65%以上
汚泥ブランク系のBOD値	28日後	11.7 mg	18 mg 未満 (60 mg/L 未満)

## 3. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

当該要因はなかった。

## 4. 試験結果

## 4.1 試験液の状況

試験液の状況は下記のとおりであった。

なお、被験物質は試験液培養中に揮発による損失は生じないが、pH 測定時に若干の損失予備検討において確認された。よって、培養終了後の（水＋被験物質）系及び（汚泥＋被験物質）系の試験液の pH は測定しなかった。

	試験液	状況	pH
培養開始時	（水＋被験物質）系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
	（汚泥＋被験物質）系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
培養終了時	（水＋被験物質）系	不溶物が認められた。 試験液は無色であった。	-
	（汚泥＋被験物質）系	汚泥以外の不溶物が認められた。 汚泥の増殖は認められなかった。 試験液は無色であった。	-

## 4.2 試験液の分析結果

28日後の分析結果は下記のとおりであった。

		(汚泥＋被験物質) 系				理論量
		(水＋被験物質) 系	[1]	[2]	[3]	
BOD <sup>*2</sup>	mg	0.1	-4.9	-5.2	-3.5	93.7
被験物質残留量及び残留率 (HPLC)	mg	29.1	28.6	27.8	28.9	30.5
	%	95	94	91	95	-

\*2 (汚泥＋被験物質) 系は、汚泥ブランク系の値を差し引いて表示した。

## 4.3 分解度

28日後の分解度は下記のとおりであった。

		(汚泥＋被験物質) 系			
		[2]	[3]	[4]	平均
BOD 分解度	%	-5	-6	-4	0 (-5) *1
被験物質分解度 (HPLC)	%	2	4	1	2

\*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を 0 としカッコ内にその計算値を示した。

## 4.4 考察

被験物質の定量分析の結果、残留率は 91～95%と若干低い値であった。培養終了時の試験液において汚泥の増殖は認められず BOD 分解度は 0%であったことから、被験物質残留率の低下は微生物による分解を示すものではないと考えられた。また、HPLC クロマトグラム上に変化物ピークは検出されなかったことから、収支不足の原因として、試験容器内に装着した炭酸ガス吸収剤（ソーダライム）への被験物質の移行が考えられた。そこで、ソーダライムを分析した結果、被験物質が検出された (5.1 項参照)。したがって、被験物質の揮発性により、一部の被験物質がソーダライムへと移行したと考えられる。被験物質分析における残留率とソーダライム分析における検出率を合計した被験物質の物質収支は不足しているが、この原因としてソーダライムから被験物質を完全に回収することは困難であったことが考えられる。

## 4.5 結論

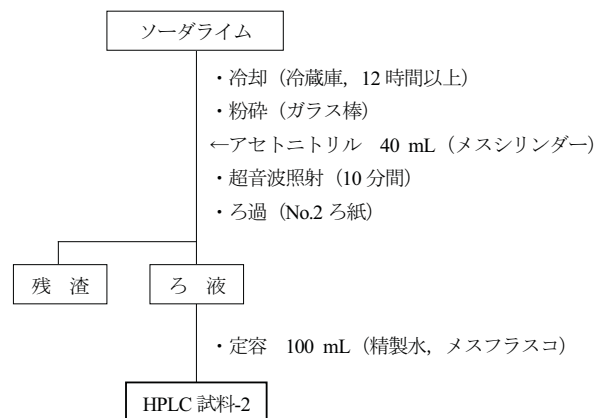
本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

## 5. 備 考

## 5.1 炭酸ガス吸収剤（ソーダライム）中の被験物質分析

試験液における被験物質残留率が低い値となった原因を調査するために、ソーダライムについて前処理操作を行い分析に供した。

## (1) 分析試料の調製



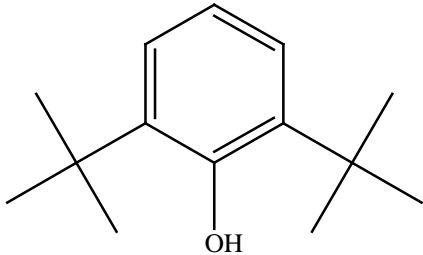
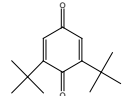
## (2) 高速液体クロマトグラフィーによる被験物質の定量分析

(1)で前処理を行って得られた HPLC 試料-2 について、1.5.2 に示す定量条件に従って被験物質を分析した。

## (3) 分析結果

分析結果は下記のとおりであった。

		(水+被験物質)系	(汚泥+被験物質)系				理論量
		[1]	[2]	[3]	[4]		
被験物質検出量及び検出率 (HPLC, ソーダライム)	mg	0.3	0.2	0.6	0.3	30.5	
	%	1	1	2	1	-	

整理番号 K-1848 (3-0521, 3-0526)	分解度試験	分解度試験	分解度試験
2,6-ジ-tert-ブチルフェノール	事業対象年度 平成21年度	契約 年 月 日	契約 年 月 日
(128-39-2)	試験期間 21.11.6~22.1.12	試験期間 . . . ~ . . .	試験期間 . . . ~ . . .
	試験装置 (標) ・ 揮	試験装置 標 ・ 揮	試験装置 標 ・ 揮
構造式 (示性式) ・ 物理化学的性状   分子式 C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O 分子量 206.32	試験濃度	試験濃度	試験濃度
	被験物質 100 mg/L	被験物質 mg/L	被験物質 mg/L
	汚泥 30 mg/L	汚泥 mg/L	汚泥 mg/L
	本試験期間 4 週間	本試験期間 週間	本試験期間 週間
	試験結果 間接 BOD -2, -4, -4 (0)% 直接 HPLC 12, 10, 11 (11)%	試験結果 間接 直接	試験結果 間接 直接
純度*1 99.9% 外観 白色固体	審査部会 第101回 22年12月17日開催	審査部会 第 回 年 月 日開催	審査部会 第 回 年 月 日開催
不純物*1 (物質名, 含有率) 残り 0.1%については不明	融点 38.0℃	判定	判定
溶解度 (対水, その他) 水: 4.11mg/L (25℃)	沸点 259.3℃ (大気圧)	備考	より分解されなかった。
log Pow = 4.9 (HPLC法)*2 log Kow = 4.48*3	比重 0.91g/cm3	1. 回収率 (水+被験物質)系 97.4% (汚泥+被験物質)系 94.8%	・炭酸ガス吸収剤非装着系の残留率 (非GLP) (水+被験物質)系 95% (汚泥+被験物質)系 100%
LD50 -	解離定数 pKa = 12.55	2. 実施機関 ・財団法人化学物質評価研究機構	・一部の被験物質は炭酸ガス吸収剤の影響により変化し、2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンを生成した。 (log Kow = 4.01*3) を生成した。また、一部の被験物質は試験液から炭酸ガス吸収剤に移行して構造不明の変化物を生じた。残りの被験物質と生成した2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンは微生物に
IRチャートの有無 (有) ・ 無	用途*4 中間物、溶媒、写真・印刷等用	3. 特記事項 ・分解度の平均値が負の値に算出されたため、0と表記した。	2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンの構造式  ・HPLC クロマトグラム上の保持時間から、2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンは被験物質より極性が高かった。また、炭酸ガス吸収剤の影響により変化した。したがって後続試験は被験物質で実施した。
生産量*4 (19年) 製造及び輸入 100,000~1,000,000 t 未満	試験料 購入先 東京化成工業株式会社		
経済産業公報発表年月日 年 月 日			

\*1 東京化成工業添付資料による。

\*2 溶離液:メタノール/りん酸緩衝液 (pH5.0) (75/25 v/v)

\*3 Kowwin v 1.67 による計算値。

\*4 化学物質の製造・輸入量に関する実態調査による。

## 2,6-ジ-tert-ブチルフェノールの微生物による分解度試験

## 要 約

## 試 験 法

本試験は以下の試験法に従って行った。

- (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、環企発第 031121002 号、平成 18 年 11 月 20 日 最終改正) に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉
- (2) "OECD Guidelines for Testing of Chemicals"に定める"Ready Biodegradability: Modified MITI Test (I) (Guideline 301C, July 17, 1992)"

## GLP 基準

本試験は以下の基準を適用した。

- (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、環企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正) に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) "OECD Principles of Good Laboratory Practice" (November 26, 1997)

## 試 験 条 件

- |             |                     |
|-------------|---------------------|
| (1) 被験物質濃度  | 100 mg/L            |
| (2) 活性汚泥濃度  | 30 mg/L (懸濁物質濃度として) |
| (3) 試 験 液 量 | 300 mL              |
| (4) 試験液培養温度 | 25±1℃               |
| (5) 試験液培養期間 | 28 日間 (遮光下)         |

## 分解度 (減少率) 算出のための測定及び分析

- (1) 閉鎖系酸素消費量測定装置による生物化学的酸素消費量 (BOD) の測定
- (2) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による被験物質の定量分析

## その他の分析

液体クロマトグラフィー—質量分析法 (LC-MS) による変化物の定性分析

## 試 験 結 果

		(汚泥+被験物質) 系			
		[2]	[3]	[4]	平 均
BOD 分解度	%	-2	-4	-4	0 (-3) *1
被験物質減少率*2 (HPLC)	%	12	10	11	11

\*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を 0 としカッコ内にその計算値を示した。

\*2 (水+被験物質) 系における被験物質残留率が 90% 未満 (87%) となったため、被験物質分解度 (被験物質の直接分析による分解度) は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

## 結 論

本試験条件下において、被験物質の一部は炭酸ガス吸収剤の影響により変化して 2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンを生じた。また、被験物質の一部は試験液から炭酸ガス吸収剤に移行して構造式不明の変化物を生じた。残りの被験物質と生成した 2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンは微生物により分解されなかった。

## 1. 分解度試験の実施

## 1.1 試験の準備

## (1) 活性汚泥

試験法(1)に従い、財団法人化学物質評価研究機構において採集、調製及び管理を行った活性汚泥（採集時期及び使用開始日は下記参照）を使用した。使用に際しては、合成下水（グルコース、ペプトン、りん酸二水素カリウムを精製水に溶解し、pHを7.0±1.0に調整したもの）を添加して19時間後のものを用いた。

採集時期 2009年9月

使用開始日 2009年10月5日

## (2) 活性汚泥の懸濁物質濃度の測定

活性汚泥の添加量を決定するために、懸濁物質濃度を測定した。

測定方法 JIS K 0102-2008 の 14.1 に準じて行った。

測定実施日 2009年11月9日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は3510 mg/Lであった。

## (3) 基礎培養基の調製

JIS K 0102-2008 の 21.1 に定められた組成の A 液、B 液、C 液及び D 液それぞれ 3 mL に精製水（高杉製薬製 日本薬局方）を加えて 1 L とする割合で 5 L 調製し、pH を 7.0 に調整した。

## (4) 対照物質

アニリン（和光純薬工業製 試薬特級 ロット番号 KWQ3949）を用いて活性汚泥が十分な活性度を有することを確認した。

## 1.2 試験液の調製

試験容器を 6 個用意し、試験液を下記の方法で調製した。これらの試験液について、1.3 の条件で培養を行った。

## (1) 被験物質及びアニリンの添加

## (a) （水＋被験物質）系（1 個、試験容器 [1]）

被験物質濃度が 100 mg/L になるように、試験容器に精製水 300 mL 及び供試試料 30 mg を入れた。供試試料は電子分析天びんで正確にはかりとり添加した。

## (b) （汚泥＋被験物質）系（3 個、試験容器 [2] [3] [4]）

被験物質濃度が 100 mg/L になるように、試験容器に基礎培養基 [300 mL から活性汚泥添加量 (2.56 mL) を差し引いた量] 及び供試試料 30 mg を入れた。供試試料は電子分析天びんで正確にはかりとり添加した。

## (c) （汚泥＋アニリン）系（1 個、試験容器 [6]）

アニリンの濃度が 100 mg/L になるように、試験容器に基礎培養基 [300 mL から活性汚泥添加量 (2.56 mL) を差し引いた量] 及びアニリン 29.5 µL (30 mg) を入れた。アニリンはマイクロシリンジで分取して添加した。

## (d) 汚泥ブランク系（1 個、試験容器 [5]）

試験容器に基礎培養基 [300 mL から活性汚泥添加量 (2.56 mL) を差し引いた量] を入れた。

## (2) 活性汚泥の接種

(b)、(c)及び(d)の試験液に懸濁物質濃度として30mg/Lになるように活性汚泥を添加した。

## 1.3 試験液培養装置及び培養条件

## (1) 試験液培養装置

閉鎖系酸素消費量測定装置

恒温槽及び測定ユニット 旭テクネイオン製

データ処理装置 旭テクネイオン製

試験容器 300 mL 用培養瓶（改良型培養瓶）

炭酸ガス吸収剤 ソーダライム，No.1（和光純薬工業製 二酸化炭素吸収用）

## (2) 培養条件

温度 25±1℃

期間 28 日間（遮光下）

撈拌方法 マグネチックスターラーによる回転撈拌

## (3) 実施場所

機器室 1A

## 1.4 観察、測定等

## (1) 観察

培養期間中、試験液の状況を毎日目視観察した。

## (2) 生物化学的酸素消費量（BOD）の測定

培養期間中、試験液の BOD の変化を連続的に閉鎖系酸素消費量測定装置で測定した。また、閉鎖系酸素消費量測定装置の恒温槽内の温度を毎日記録した。

## 1.5 試験液の分析

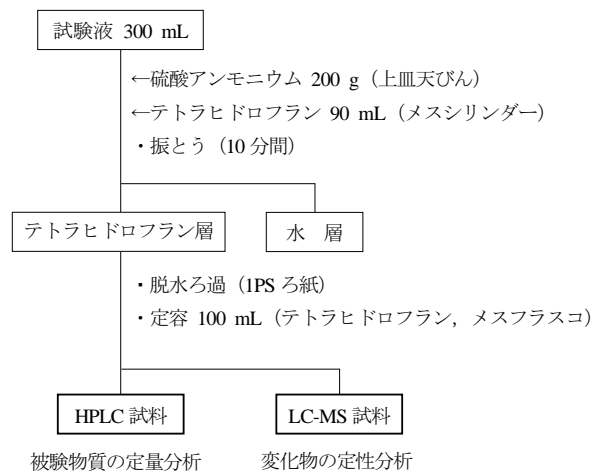
培養期間終了後、試験液中の被験物質について定量分析し、予備試験の結果から生成が予想された定量困難な変化物について定性分析を行った。また、本試験に先立って実施した予備試験の結果より、被験物質は試験液に溶解しないことが明らかのため、試験液中の溶存有機炭素（DOC）の分析は行わなかった。なお、（水＋被験物質）系及び（汚泥＋被験物質）系の試験液の pH を測定した。



## 1.5.1 試験液の前処理

(水+被験物質)系、(汚泥+被験物質)系及び汚泥ブランク系の試験液について以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、被験物質を定量分析するための高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 試料並びに変化物を定性分析するための液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS) 試料を調製した。

フロースキーム



## 1.5.2 定量及び定性分析

## (1) 被験物質の定量分析

HPLC 試料中の被験物質の濃度は、クロマトグラム上で得られた標準溶液 300 mg/L のピーク面積と HPLC 試料のピーク面積とを比較し、比例計算して求めた。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して  $6500 \mu\text{V} \cdot \text{sec}$  (被験物質濃度 2.9 mg/L) とした。

## (a) 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-20AD
紫外可視分光検出器	島津製作所製 SPD-20AV
カラムオープン	島津製作所製 CTO-20AC
オートインジェクター	島津製作所製 SIL-20AHR
システムコントローラー	島津製作所製 SCL-10AVP
デガッサー	島津製作所製 DGU-20A3
カラム	L-column ODS (15 cm×2.1 mm I.D., 化学物質評価研究機構製)
カラム温度	40℃
溶離液	テトラヒドロフラン/超純水 (55/45 v/v)
流量	0.2 mL/min
測定波長	271 nm
注入量	2 $\mu\text{L}$
検出器出力	1 V/AU

## (b) 標準溶液の調製

供試試料 100 mg を正確にはかりとり、テトラヒドロフランに溶解して 1000 mg/L の被験物質溶液を調製した。これをテトラヒドロフランで希釈して 300 mg/L の標準溶液とした。

## (c) 検量線の作成

(b)の標準溶液の調製と同様にして 75.0、150 及び 300 mg/L の標準溶液を調製した。これらを(a)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。

## (2) 変化物の定性分析

LC-MS 試料について、変化物の定性分析を行った。また、被験物質溶液について同様に分析を行った。

## (a) 分析条件

機 器	液体クロマトグラフ質量分析計
液体クロマトグラフ	Waters 製 Alliance2695
質量分析計	Waters 製 ZQ2000
多波長検出器	Waters 製 2996PDA
ポンプ (ポストカラム)	島津製作所製 LC-20AD
<u>液体クロマトグラフ条件</u>	
カ ラ ム	L-column ODS (15 cm×2.1 mm I.D., 化学物質評価研究機構製)
カ ラ ム 温 度	40°C
溶 離 液	A: テトラヒドロフラン B: 超純水
	グラジエント条件
	時間 (min)      A (%)      B (%)
	0.0              40          60
	1.0              40          60
	11.0             100         0
	16.0             100         0
流 量	0.2 mL/min
注 入 量	10 µL
測 定 波 長	265~300 nm
ポストカラム	
溶 液	20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液/メタノール (1/1 v/v)
流 量	0.1 mL/min
<u>質量分析計条件</u>	
イオン化法	エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)
検出イオン	負イオン
検出法	スキャン
走査質量範囲 (m/z)	150~1000
イオン源温度	120°C
脱溶媒システム温度	400°C
コーン電圧	40 V

## (b) 被験物質溶液の調製

1.5.2(1)(b)で調製した標準溶液を 300 mg/L の被験物質溶液とした。

## 1.5.3 回収試験及びブランク試験

前述した前処理における試験液からの被験物質の回収率を求めるため、1.2 に準じて調製した (水+被験物質) 系及び (汚泥+被験物質) 系の試験液について 1.5.1 及び 1.5.2(1) に従い、回収試験を行った。また、1.2 に準じて調製した汚泥ブランク系の試験液について回収試験と同じ操作によりブランク試験を行った。回収試験については各 2 点、ブランク試験については 1 点測定した。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はピークは認められなかった。分析操作における各 2 点の回収率及び平均回収率は下記のとおりであり、平均回収率を試験液中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした。

(水 + 被験物質) 系回収率	96.7%	98.1%	平均	97.4%
(汚泥 + 被験物質) 系回収率	94.9%	94.7%	平均	94.8%

## 1.6 分解度の算出法

分解度は下記の式に基づき算出し、小数点以下 1 ケタ目を丸めて整数位で表示した。なお、(水+被験物質) 系における被験物質残留率が 90% 未満 (87%) となったため、被験物質分解度 (被験物質の直接分析による分解度) は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

## (1) BOD 分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{BOD} - \text{B}}{\text{TOD}} \times 100$$

BOD : (汚泥+被験物質) 系の生物化学的酸素消費量 (測定値 : mg)

B : 汚泥ブランク系の生物化学的酸素消費量 (測定値 : mg)

TOD : 被験物質が完全に酸化された場合に必要とされる理論的酸素消費量  
(計算値 : mg)

## (2) 被験物質減少率

$$\text{減少率 (\%)} = \frac{\text{Sw} - \text{Ss}}{\text{Sw}} \times 100$$

Ss : (汚泥+被験物質) 系における被験物質の残留量 (測定値 : mg)

Sw : 被験物質の添加量 (mg)

## 1.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 : 1999 規則 B に従った。

## 2. 試験条件の確認

試験の有効性の基準値と本試験における値を下表に示す。本試験における値はいずれも基準値を満たしたことから、本試験は有効であった。

		本試験における値	基準値
分解度 (減少率) の最大値と最小値の差	BOD 分解度	2%	20%未満
	被験物質減少率	2%	
アニリンのBOD分解度	7日後	65%	40%以上
	14日後	70%	65%以上
汚泥ブランク系のBOD値	28日後	6.9 mg	18 mg 未満 (60 mg/L 未満)

## 3. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

当該要因はなかった。

## 4. 試験結果

## 4.1 試験液の状況

試験液の状況は下記のとおりであった。

	試験液	状況	pH
培養開始時	(水 + 被験物質)系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
	(汚泥 + 被験物質)系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
培養終了時	(水 + 被験物質)系	不溶物が認められた。 試験液は無色であった。 炭酸ガス吸収剤に褐色の着色が認められた。	[1] 8.7
	(汚泥 + 被験物質)系	汚泥以外の不溶物が認められた。 汚泥の増殖は認められなかった。 試験液は無色であった。 炭酸ガス吸収剤に褐色の着色が認められた。	[2] 7.3 [3] 7.3 [4] 7.3

## 4.2 試験液の分析結果

28日後の分析結果は下記のとおりであった。

		(水+被験物質)系	(汚泥+被験物質)系				理論量
		[1]	[2]	[3]	[4]		
BOD <sup>*3</sup>	mg	1.8	-2.0	-3.4	-3.7	88.5	
被験物質残留量及び残留率 (HPLC)	mg	26.2	26.3	26.9	26.6	30.0	
	%	87	88	90	89	-	
変化物の検出・不検出 (LC-MS)	-	検出 (1成分)				-	

\*3 (汚泥+被験物質)系は、汚泥ブランク系の値を差し引いて表示した。

## 4.3 分解度

28日後の分解度は下記のとおりであった。

なお、(水+被験物質)系における被験物質残留率が90%未満(87%)となったため、被験物質分解度(被験物質の直接分析による分解度)は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

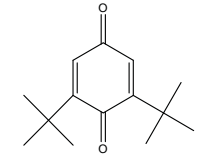
		(汚泥+被験物質)系			
		[2]	[3]	[4]	平均
BOD分解度	%	-2	-4	-4	0 (-3) *1
被験物質減少率 (HPLC)	%	12	10	11	11

\*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を0としカッコ内にその計算値を示した。

## 4.4 変化物の定性分析結果

LC-MS [フォトダイオードアレイ (PDA) 同時検出] による定性分析の結果、(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系におけるPDAクロマトグラム( $\lambda=265\sim 300$  nm)上の保持時間11.2分付近に変化物と思われるピークが1本検出された。そこで、このピークが溶出していると考えられたトータルイオンカレント (TIC) クロマトグラム上の領域Aのマススペクトルの解析を行った結果、 $m/z = 237$ が有意なイオンとして検出され、被験物質が酸化された2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンと推定された(下表参照)。TICクロマトグラム及びPDAクロマトグラム上にはその他の変化物は認められなかった。

LC-MS分析で検出された変化物

変化物	保持時間 <sup>*4</sup> (分)	検出イオン及び帰属	推定分子量	推定構造式
A	11.2	237 [M+H <sub>2</sub> O-H]	220	

\*4 LC-MS分析におけるPDAクロマトグラム上の保持時間

## 4.5 考 察

## (1) BOD 分解度について

BOD 分解度は平均 0% (-3%)<sup>\*)</sup>であったことから、被験物質の微生物による分解性は認められなかった。

## (2) 被験物質残留率について

HPLC による被験物質の定量分析結果、(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系における被験物質残留率は 87~90%であり、約 10%の収支不足が生じた。なお、(水+被験物質)系においては HPLC クロマトグラム上に変化物(変化物 A とする)と考えられるピークが 1 本検出されたが、(汚泥+被験物質)系では検出されなかった。したがって、被験物質は非生物学的な作用により変化を生じたと考えられる。

## (3) LC-MS による変化物の定性分析結果について

(2)より変化物の生成が考えられたため、LC-MS (PDA 同時検出)による変化物の定性分析を行った。その結果、(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系ともに、PDA クロマトグラム上に変化物 A と考えられるピークが 1 本検出された。PDA 検出器の測定波長が被験物質分析時の測定波長を網羅していること及び PDA クロマトグラム上には被験物質ピーク、ブランクピーク及び変化物 A と考えられるピークのみが検出され、その他に変化物と考えられるピークは検出されなかったことから、保持時間 11.2 分付近のピークは被験物質分析における(水+被験物質)系で検出された変化物 A と考えられるピークと同一のものであると判断された。HPLC 分析では変化物 A は(水+被験物質)系のみ検出され、(汚泥+被験物質)系では検出されなかったが、LC-MS 分析では(水+被験物質)系のみならず、(汚泥+被験物質)系からも変化物 A が検出された原因として、PDA 検出器の波長範囲は 265~300 nm と幅を有しており、被験物質の定量分析条件よりも変化物 A の検出に適した条件であったためと考えられた。変化物 A が溶出していると考えられた TIC クロマトグラム上の領域 A のマススペクトル解析を行った結果、 $m/z = 237$  のイオンが検出され、2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンと推定された(4.4 参照)。

## (4) 炭酸ガス吸収剤(ソーダライム)の着色成分について

(3)より試験液中には 2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノン以外の変化物は認められなかったが、試験容器内に装着している炭酸ガス吸収剤に着色が認められており、その他の変化物の生成が疑われたため、炭酸ガス吸収剤中の被験物質の定量分析及び変化物の定性分析を実施した(4.1 及び 5.1 参照)。その結果、炭酸ガス吸収剤から被験物質は検出されなかったが、変化物 B (構造式不明)が検出された。したがって、培養期間中に一部の被験物質は炭酸ガス吸収剤に移行し、接触して変化したと考えられる。なお、炭酸ガス吸収剤から検出された変化物 B は微生物と接触していないため、微生物による分解については不明である。

## (5) 炭酸ガス吸収剤の影響について

(2)、(3)及び(4)より、本試験条件下において、被験物質が変化したことが示唆された。しかし、予備検討の結果より、試験容器内に炭酸ガス吸収剤を装着しない試験液において、被験物質はほぼ理論量残留し、変化物の生成は認められなかった(5.2 参照)。したがって、本試験条件下における被験物質の変化は炭酸ガス吸収剤の影響によるものであり、炭酸ガス吸収剤が存在しなければ変化しないと考えられる。

## (6) ま と め

(2)及び(3)より、本試験条件下において、被験物質の一部は変化して 2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンを生成した。また、(4)より、被験物質の一部は試験液から炭酸ガス吸収剤であるソーダライムに移行して構造式不明の変化物 B を生じた。(5)より、(2)、(3)及び(4)で認められた被験物質の変化は炭酸ガス吸収剤の影響によるものと判断された。(1)より、残りの被験物質と生成した 2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンは微生物により分解されなかったと考えられる。

## 4.6 結 論

本試験条件下において、被験物質の一部は炭酸ガス吸収剤の影響により変化して 2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンを生成した。また、被験物質の一部は試験液から炭酸ガス吸収剤に移行して構造式不明の変化物を生じた。残りの被験物質と生成した 2,6-ジ-tert-ブチル-p-ベンゾキノンは微生物により分解されなかった。

## 5. 備 考

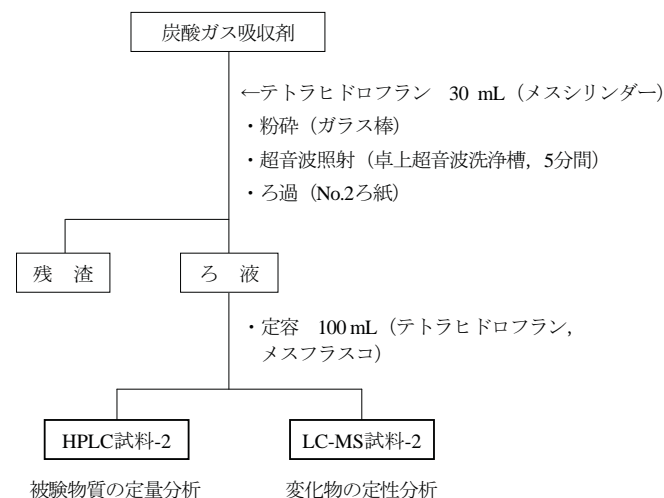
## 5.1 炭酸ガス吸収剤(ソーダライム)中の被験物質の定量分析及び変化物の定性分析

本試験における被験物質の収支不足、また、炭酸ガス吸収剤が褐色に着色した原因を調査するために、炭酸ガス吸収剤について前処理操作を行い分析に供した。

## (1) 分析試料の調製

(水+被験物質)系、(汚泥+被験物質)系及び汚泥ブランク系の試験容器内に装着した炭酸ガス吸収剤について以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、被験物質を定量分析するための HPLC 試料並びに変化物を定性分析するための LC-MS 試料を調製した。

フロースキーム



## (2) 高速液体クロマトグラフィーによる被験物質の定量分析

(1)で前処理を行って得られた HPLC 試料-2 について、1.5.2(1)(a)に示す定量条件に従って被験物質を分析した。その結果、(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系いずれからも被験物質は検出されなかった(下表参照)。

炭酸ガス吸収剤中の被験物質の検出量及び検出率

		(水+被験物質)系				理論量
		[1]	[2]	[3]	[4]	
被験物質検出量及び検出率 (HPLC)	mg	0	0	0	0	30.0
	%	0	0	0	0	-

## (3) 液体クロマトグラフィー質量分析法による変化物の定性分析

(1)で前処理を行って得られた LC-MS 試料-2 について、1.5.2(2)(a)に示す分析条件に従って変化物の定性分析を行った。その結果、(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系における PDA クロマトグラム上の保持時間 13.7 分付近に変化物と考えられるピークが 1 本検出された。このピークについてマスマスペクトルの解析を行ったところ、 $m/z = 408$  及び 423 のイオンが検出されたが、構造式の推定には至らなかった(下表参照)。

炭酸ガス吸収剤から検出された変化物

変化物	保持時間 <sup>a</sup> (分)	検出イオン及び帰属	推定分子量	推定構造式
B	13.7	408 (不明) 423 (不明)	不明	不明

## 5.2 炭酸ガス吸収剤の影響確認(予備検討)

炭酸ガス吸収剤の被験物質への影響を確認するために、以下の検討を行った。

## (1) 試験液の調製及び培養条件

1.2に準じて(水+被験物質)系、(汚泥+被験物質)系及び汚泥ブランク系を各 1 点調製した。いずれの系も試験容器内に炭酸ガス吸収剤を装着しなかった。

環境条件

試験液培養温度	約 25°C
試験液培養期間	2009 年 9 月 1 日～2009 年 9 月 29 日 (28 日間, 遮光下)
攪拌方法	マグネチックスターラーによる回転攪拌
実施場所	環境調節室

## (2) 試験液の前処理及び被験物質の定量分析条件

培養期間終了後、各試験液について 1.5.1 のフロースキームに従い、被験物質を定量分析するための HPLC 試料を調製し、1.5.2(1)に従って分析を行った。

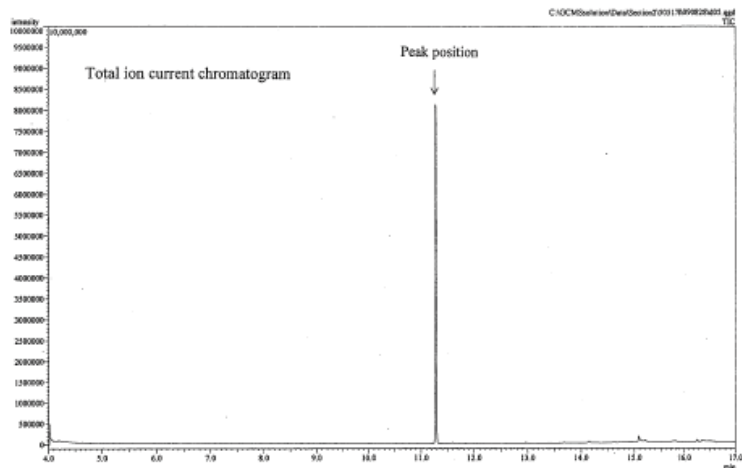
## (3) 試験結果

被験物質は(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系ともにほぼ理論量残留しており、HPLC クロマトグラム上に変化物と考えられるピークは認められなかった(下表参照)。

試験液中の被験物質の残留量及び残留率

		(水+被験物質)系	(汚泥+被験物質)系	理論量
被験物質残留量及び残留率 (HPLC)	mg	28.5	30.1	30.0
	%	95	100	-

Operating date : Aug. 28, 2009  
 File name : C:\GCMSolution\Data\Section2\505178\090828\405.qgd  
 Sample name : Standard solution 10.0 mg/L



Peak No. 1 R-Time: 11.28 (Scan# 874)  
 MassPeak: 208 BasePeak: 191 (0.6835)  
 RawMode: Averaged 11.25-11.32 (871-879)

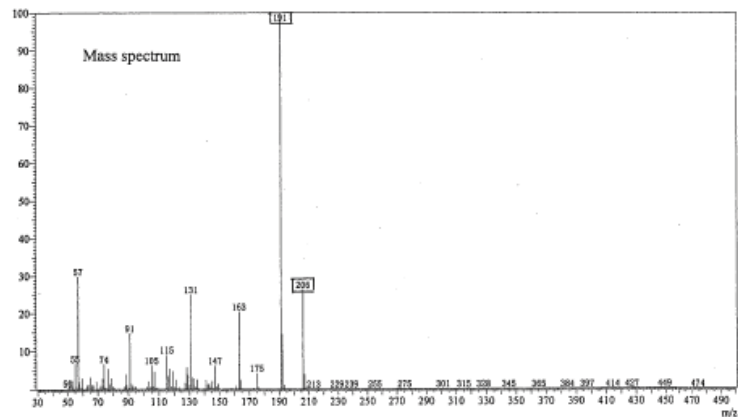


Fig. 2-1 Mass spectrum of test item measured in Kurume Laboratory, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan.

Sample : Standard solution 10.0 mg/L  
 Operating date : Aug. 28, 2009  
 File name : C:\GCMSolution\Data\Section2\505178\090828\405.qgd

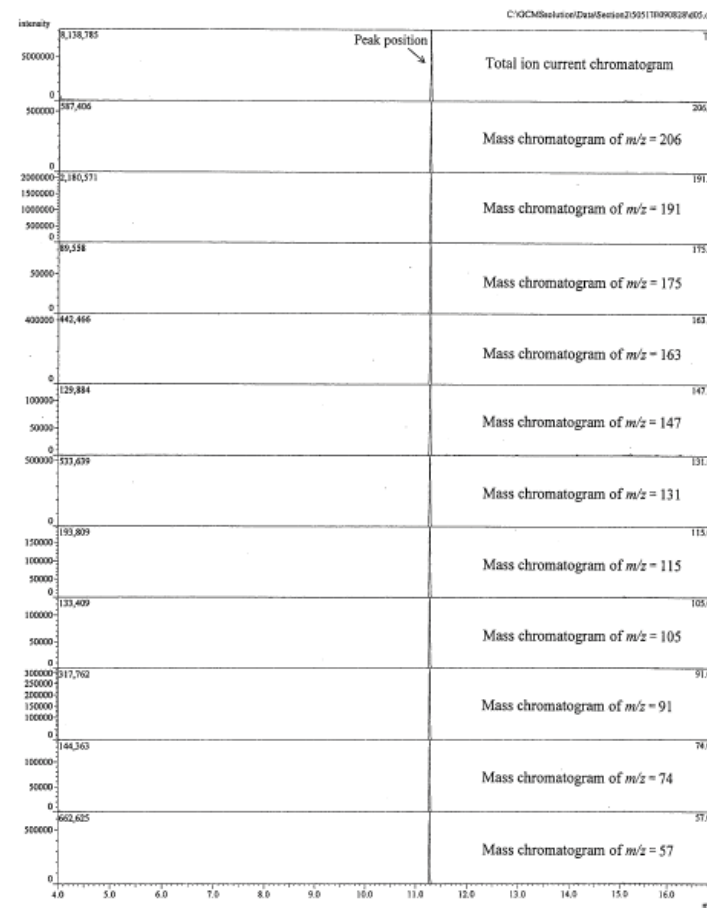
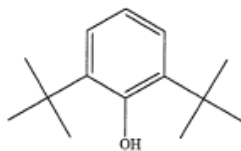
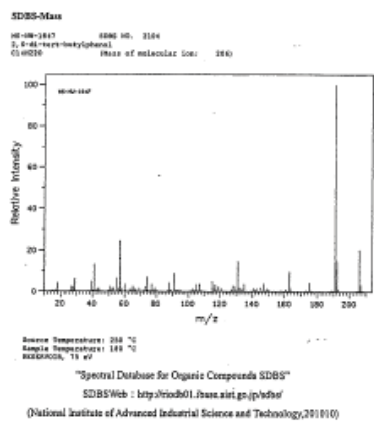


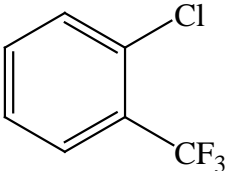
Fig. 2-2 Mass spectrum of test item measured in Kurume Laboratory, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan.



Molecular weight 206

<i>m/z</i>	Fragment ion
206	[M] <sup>++</sup>
191	[M-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>
175	[M-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ] <sup>+</sup>
163	[M-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ] <sup>+</sup>
147	[C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> O] <sup>+</sup>
131	[C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ] <sup>+</sup>
115	[C <sub>8</sub> H <sub>3</sub> O] <sup>+</sup>
105	[C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> O] <sup>+</sup>
91	[C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> O] <sup>+</sup>
74	[C <sub>6</sub> H <sub>2</sub> ] <sup>++</sup>
57	[C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ] <sup>+</sup>

Fig. 2-3 Mass spectrum of test item (main presumed products) measured in Kurume Laboratory, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan.

整理番号 K-560A (3-0053)	分解度試験	分解度試験	分解度試験										
1-クロロ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼン	事業対象年度 平成21年度	契約 年 月 日	契約 年 月 日										
(88-16-4)	試験期間 21.11.17~22.1.12	試験期間 . . ~ . .	試験期間 . . ~ . .										
	試験装置 Closed bottle	試験装置 標・揮	試験装置 標・揮										
構造式(示性式)・物理化学的性状    分子式 C <sub>7</sub> H <sub>4</sub> ClF <sub>3</sub> 分子量 180.55	試験濃度	試験濃度	試験濃度										
	被験物質 4.1 mg/L	被験物質 mg/L	被験物質 mg/L										
	都市下水処理場二次放流水 1滴/L	汚泥 mg/L	汚泥 mg/L										
	本試験期間 4 週間	本試験期間 週間	本試験期間 週間										
	試験結果 間接 BOD 4, -4 (0%) 直接 GC -1, 2 (0%)	試験結果 間接 直接	試験結果 間接 直接										
純度*1 98.7% (GC) 外観 無色透明液体	審査部会 第101回 22年12月17日開催	審査部会 第 回 年 月 日開催	審査部会 第 回 年 月 日開催										
不純物*1 (物質名, 含有率) 不明成分 1.3%	溶解度(対水, その他) -	判定	判定										
融点 -	1-オクタノール/水分配係数 log Pow = 3.1 (HPLC法)*2	備考 1. 回収率 (水+被験物質)系 101% (植種源+被験物質)系 101%	備考										
沸点 -	解離定数 解離基なし	2. 実施機関 ・財団法人化学物質評価研究機構											
比重 -		3. 特記事項 ・BOD分解度(平均値)											
LD50 -													
IRチャートの有無 (有)・無													
用途													
生産量(年) 製造及び輸入 -													
試料 購入先 株式会社ワコーケミカル													
経済産業公報発表年月日 年 月 日													
		<table border="1"> <tr> <td></td> <td>7日後</td> <td>14日後</td> <td>21日後</td> <td>28日後</td> </tr> <tr> <td>分解度(%)</td> <td>4</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>0</td> </tr> </table>		7日後	14日後	21日後	28日後	分解度(%)	4	1	2	0	
	7日後	14日後	21日後	28日後									
分解度(%)	4	1	2	0									

\*1 ワコーケミカル添付資料による。 \*2 溶離液:メタノール/精製水(75/25 v/v)



濃縮度試験					事業対象年度 平成21年度					濃縮度試験					毒性試験					
試験期間					21.10.30 ~ 21.11.17					試験期間					年月日					
試験装置 標・揮		LC50値			mg/L( hr)魚種( )			試験装置 標・揮		LC50値			mg/L( hr)魚種( )			依 頼				
水槽設定濃度 ( )					水槽設定濃度 ( )					経過										
被験物質		分散剤			被験物質		分散剤													
第1濃度区					第1濃度区															
第2濃度区					第2濃度区															
第3濃度区					第3濃度区															
濃縮倍率		脂質含有率			開始前		% 魚種( )				濃縮倍率		脂質含有率			開始前		% 魚種( )		
		終了後			%								終了後			%				
		日後			日後		日後				日後		日後			日後		日後		
第1	水槽濃度 ( )					第1		水槽濃度 ( )												
	倍率					第1		倍率												
第2	水槽濃度 ( )					第2		水槽濃度 ( )												
	倍率					第2		倍率												
第3	水槽濃度 ( )					第3		水槽濃度 ( )												
	倍率					第3		倍率												
審査部会 第101回 22年 12月 17日 開催					審査部会 第 回 年 月 日 開催															
判定結果					判定結果															
備考					備考															
分配係数から類推																				
[実施機関] 財団法人化学物質評価研究機構																				

## 1-クロロ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼンの微生物による分解度試験

## 要 約

## 試 験 法

本試験は以下の試験法に従って行った。

"OECD Guidelines for Testing of Chemicals"に定める"Ready Biodegradability: Closed Bottle Test (Guideline 301D, July 17, 1992)"

## GLP 基準

本試験は以下の基準を適用した。

- (1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成 15 年 11 月 21 日、薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正）に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) "OECD Principles of Good Laboratory Practice" (November 26, 1997)

## 試 験 条 件

- |               |            |
|---------------|------------|
| (1) 被験物質濃度    | 4.1 mg/L   |
| (2) 植 種 源 濃 度 | 1 滴/L      |
| (3) 試 験 液 量   | 100 mL     |
| (4) 試験液培養温度   | 20±1℃      |
| (5) 試験液培養方法   | 密栓状態で連続攪拌  |
| (6) 試験液培養期間   | 28 日間（遮光下） |

## 分解度算出のための測定及び分析

- (1) 溶存酸素 (DO) の測定
- (2) ガスクロマトグラフィー (GC) による被験物質の定量分析

## 試 験 結 果

		(植種源+被験物質)系		平均値
		1	2	
BOD 分解度	%	4	-4	0
被験物質分解度 (GC)	%	-1	2	0

## 結 論

本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

## 1. 分解度試験の実施

## 1.1 試験の準備

## (1) 植種元の採取

採取植種元	都市下水処理場二次放流水
採取場所	福岡県久留米市中央浄化センター
採取日	2009年11月18日

## (2) 植種元の準備

上記で採取した植種元を No.2 ろ紙でろ過し、ろ液を植種元とした。植種元は使用するまで好気状態に保った。

## (3) 無機培地の調製

試験法に定められた組成の A 液、B 液、C 液及び D 液それぞれ 1 mL に精製水（高杉製薬製 日本薬局方）を加えて 1 L とする割合で 5 L 混合した。

## (4) 植種元の添加

無機培地 1 L に対し、(2) で調製した植種元を先の尖ったピペットで 1 滴の割合で添加した。

## (5) 対照物質

安息香酸ナトリウム（Aldrich 製 ロット番号 11007MB）を用いた。

## 1.2 試験液の調製

試験容器を 35 個用意し、試験液を下記の方法で調製した。これらの試験液について、1.3 の条件で培養を行った。

## (1) (水+被験物質) 系 (2 個)

試験容器に精製水を満たし、被験物質濃度が 4.1 mg/L になるように供試試料をマイクロシリンジで 0.30 µL (被験物質 0.41 mg) 分取して添加した。

## (2) (植種元+被験物質) 系 (12 個)

試験容器に植種元を含む無機培地を満たし、被験物質濃度が 4.1 mg/L になるように供試試料をマイクロシリンジで 0.30 µL (被験物質 0.41 mg) 分取して添加した。

## (3) (植種元+安息香酸ナトリウム) 系 (10 個)

植種元を含む無機培地で安息香酸ナトリウム 3.00 mg/L 溶液を調製し、これを試験容器に満たした。

## (4) 植種元ブランク系 (11 個)

試験容器に植種元を含む無機培地を満たした。

## 1.3 試験液培養装置及び培養条件

## (1) 試験液培養装置

試験液培養装置	インキュベーター（三洋電機製 MIR-553）
試験容器	100 mL 容培養瓶

## (2) 培養条件

温度	20±1℃
----	-------

試験液培養方法及びその選択理由

培養方法	密栓状態で連続撹拌した。
------	--------------

選択理由	被験物質は試験液に溶解しないため。
------	-------------------

期間	28 日間（遮光下）
----	------------

実施場所	機器室 1A
------	--------

## (3) 観察

培養期間中、試験液の状況を毎日目視観察した。

## 1.4 溶存酸素 (DO) の測定

(水+被験物質) 系を除く各試験液について JIS K 0102-2008 の 32.1 により DO を測定し、生物化学的酸素消費量 (BOD) を算出した。

分析日及び連数

(植種元+被験物質) 系

分析日	試験液培養開始時、7、14、21 及び 28 日後
-----	---------------------------

連数	n=2
----	-----

(植種元+安息香酸ナトリウム) 系

分析日	試験液培養開始時、7、14、21 及び 28 日後
-----	---------------------------

連数	n=2
----	-----

植種元ブランク系

分析日	試験液培養開始時、7、14、21 及び 28 日後
-----	---------------------------

連数	n=2
----	-----

## 1.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中の被験物質について分析した。

分析連数

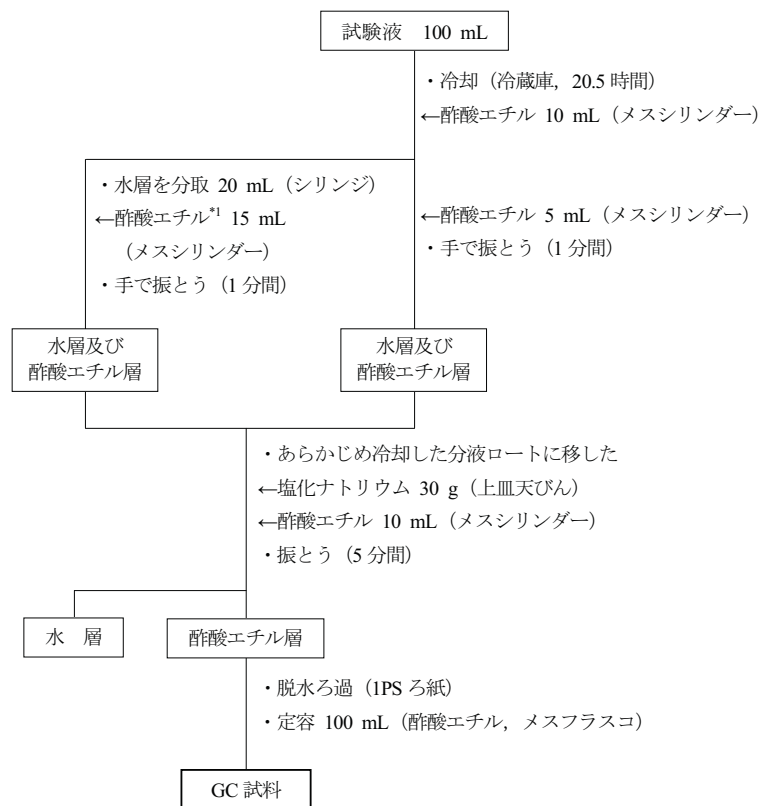
(水+被験物質) 系及び (植種元+被験物質) 系	n=2
---------------------------	-----

植種元ブランク系	n=1
----------	-----

## 1.5.1 試験液の前処理

(水+被験物質)系、(植種源+被験物質)系及び植種源ブランク系の試験液について以下のフロースキームに従って前処理操作を行い、被験物質を分析するためのガスクロマトグラフィー (GC) 試料を調製した。なお、抽出操作に使用する酢酸エチルはあらかじめ冷却したものをを用いた。

フロースキーム



\*1 冷却した 100 mL 容培養瓶にあらかじめ酢酸エチルを 15 mL 添加しておいた。

## 1.5.2 被験物質の定量分析

GC 試料中の被験物質の濃度は、クロマトグラム上で得られた標準溶液 4.14 mg/L のピーク面積と GC 試料のピーク面積とを比較し、比例計算して求めた。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して 200  $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$  (被験物質濃度 0.039 mg/L) とした。

## (1) 定量条件

機 器	ガスクロマトグラフ
検 出 器	Agilent Technologies 製 Agilent7890A
カ ラ ム	水素炎イオン化検出器 (FID)
	DB-1 膜厚 1 $\mu\text{m}$ (Agilent Technologies 製)
	30 m $\times$ 0.32 mm I.D. フェーズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	80 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) $\rightarrow$ 150 $^{\circ}\text{C}$ (0 min)
昇 温 速 度	10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$
試料導入部温度	250 $^{\circ}\text{C}$
キャリアガス	ヘリウム
カラム流量	1.6 mL/min
水 素	40 mL/min
空 気	400 mL/min
注 入 量	1 $\mu\text{L}$
導 入 モ ー ド	スプリット
スプリット比	2 : 1
検 出 器 温 度	250 $^{\circ}\text{C}$
検 出 器 感 度	レンジ 2 $^{\circ}$

## (2) 標準溶液の調製

供試試料 30.0  $\mu\text{L}$  (41.4 mg) を分取し、酢酸エチルに溶解して 827 mg/L の被験物質溶液を調製した。これを酢酸エチルで希釈して 4.14 mg/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 1.03、2.07 及び 4.14 mg/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。

## 1.5.3 回収試験及びブランク試験

前述した前処理における試験液からの被験物質の回収率を求めため、1.2 に準じて調製した（水＋被験物質）系及び（植種源＋被験物質）系の試験液について 1.5.1 及び 1.5.2 に従い、回収試験を行った。また、1.2 に準じて調製した植種源ブランク系の試験液について回収試験と同じ操作によりブランク試験を行った。回収試験については各 2 点、ブランク試験については 1 点測定した。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はピークは認められなかった。分析操作における各 2 点の回収率及び平均回収率は下記のとおりであり、平均回収率を試験液中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした。

（水＋被験物質）系回収率	100%, 103%	平均	101%
（植種源＋被験物質）系回収率	103%, 99.5%	平均	101%

## 1.6 分解度の算出法

分解度は下記の式に基づき算出し、小数点以下 1 ケタ目を丸めて整数位で表示した。

## (1) BOD 分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{BOD}_x}{\text{TOD}} \times 100$$

BOD<sub>x</sub> : x 日後の（植種源＋被験物質）系の生物化学的酸素消費量（測定値：mgO<sub>2</sub>/L）

TOD : 被験物質が完全に酸化された場合に必要とされる理論的酸素消費量  
（計算値：mgO<sub>2</sub>/L）

$$\text{BOD}_x = (m_{b(0)} - m_{b(x)}) - (m_{b(0)} - m_{b(x)})$$

m<sub>b(x)</sub> : 植種源ブランク系における X 日後の溶存酸素濃度の平均値（mgO<sub>2</sub>/L）

m<sub>(x)</sub> : （植種源＋被験物質）系における X 日後の試験液ごとの溶存酸素濃度  
（mgO<sub>2</sub>/L）

## (2) 被験物質分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{S_w - S_s}{S_w} \times 100$$

S<sub>s</sub> : （植種源＋被験物質）系における被験物質の残留量（測定値：mg）

S<sub>w</sub> : （水＋被験物質）系における被験物質の残留量の平均値（測定値：mg）

## 1.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401：1999 規則 B に従った。

## 2. 試験条件の確認

試験の有効性の基準値と本試験における値を下表に示す。本試験における値はいずれも基準値を満たしていることから、本試験は有効であった。

	本試験における値	基準値
被験物質分解度の最大値と最小値の差	3%	20%未満
BOD から求めた安息香酸ナトリウムの 14 日後の分解度	66%, 76%	60%以上
28 日後の植種源ブランクの酸素消費量*2	0.61 mgO <sub>2</sub> /L	1.5 mgO <sub>2</sub> /L 以下
容器中の残留酸素濃度	4.30 mgO <sub>2</sub> /L 以上	0.5 mgO <sub>2</sub> /L 以上

\*2 算出法：（0 日後の平均溶存酸素濃度）－（28 日後の溶存酸素濃度の低い方）

## 3. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

当該要因はなかった。

## 4. 試験結果

## 4.1 試験液の分析結果

28 日後の分析結果は下記のとおりであった。

		（水＋被験物質）系		（植種源＋被験物質）系		理論量
		1	2	1	2	
BOD*3	mgO <sub>2</sub> /L	-	-	0.24	-0.22	5.81
被験物質残留量及び残留率 (GC)	mg	0.41	0.41	0.41	0.40	0.41
	%	99	99	100	97	-

\*3 植種源ブランク系の生物化学的酸素消費量を差し引いた値。

## 4.2 分解度

分解度は下記のとおりであった。

		（植種源＋被験物質）系 [ ] 内は平均値			
		7 日後	14 日後	21 日後	28 日後
BOD 分解度	%	6	2	4	4
		2	-1	1	-4
		[4]	[1]	[2]	[0]
被験物質分解度 (GC)	%	-	-	-	-1
		-	-	-	2
					[0]