4.3 考 察

(水+被験物質) 系、(植種原+被験物質) 系共に被験物質はほぼ理論量残留し、28 日後の 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、被験物質は分解されなかったと考えられる。

なお、上記結果及びGC 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。

4.4 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-クロロ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼンの 1-オクタノールと水との間の 分配係数試験 (HPLC 法)

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、環保企発第031121002号、平成18年11月20日 最終改正)に 規定する〈1-オクタノールと水との間の分配係数測定試験〉
- (2) "OECD Guidelines for the Testing of Chemicals"に定める"Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method (Guideline 117, April 13, 2004)"

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) 試験装置 高速液体クロマトグラフ

溶離液:メタノール/精製水(75/25 v/v)

(2) 試験温度 25±1℃

試験結果

(1) 測定結果

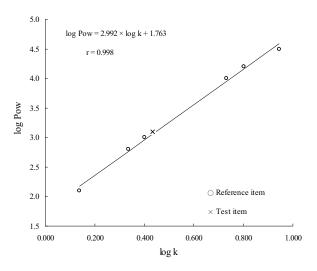
	測定物質名称	t_R	k	log k	log Pow
	チオ尿素 (デッドタイム測定用: to)	1.73	Average $t_0 = 1.73$		73
	フス 水系 (アフーフ 「 A 例	1.73	Average t ₀ = 1.73		
標	ベンゼン	4.10	1.370	0.137	2.1
		4.10	1.370	0.137	2.1
	クロロベンゼン	5.47	2.162	0.335	2.8
準	9 D D (5.47	2.162	0.335	2.8
	ブロモベンゼン	6.08	2.514	0.400	3.0
		6.08	2.514	0.400	3.0
物	ビフェニル	11.07	5.399	0.732	4.0
		11.08	5.405	0.733	4.0
	1.2.4-トリクロロベンゼン	12.67	6.324	0.801	4.2
質	1,2,4-	12.67	6.324	0.801	4.2
	フェナントレン	16.93	8.786	0.944	4.5
		16.95	8.798	0.944	4.5
被験	1-クロロ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼン	6.42	2.711	0.433	3.1
物質		6.42	2.711	0.433	3.1

t₀: Dead time (デッドタイム) (min)

t_R: Retention time (保持時間) (min)

k (保持係数) = $(t_R - t_0) / t_0$

(2) 相関図及び回帰式(相関係数を含む)



(3) 被験物質の分配係数

log Pow				
測知	平均値			
3.1	3.1	3.1		

1. 試験の実施

1.1 測定条件

(1) 試験装置

機 器 高速液体クロマトグラフ

島津製作所製 LC-2010 AHT (紫外可視分光検出器内蔵)

カ ラ ム L-column ODS

(15 cm×4.6 mm I.D., 化学物質評価研究機構製)

カラム温度 25℃

溶 離 液 メタノール/精製水 (75/25 v/v)

流 量 1 mL/min

測 定 波 長 標準物質 210 nm

被験物質 210 nm

注 入 量 10 μL 検出器出力 1 V/AU

(2) 試験温度

25±1℃

1.2 試験操作

(1) 標準物質溶液の調製

標準物質としてベンゼン、クロロベンゼン、ブロモベンゼン、ビフェニル、1,2,4-トリクロロベンゼン及びフェナントレンを使用した。デッドタイムの測定用物質としてチオ尿素を使用した。これら6種の標準物質及びチオ尿素それぞれ約20mgを電子分析天びんではかりとり、メタノールに溶解してそれぞれ約1000mg/Lの溶液を調製した。これらの溶液を混合し、溶離液で希釈して分配係数測定のための標準物質溶液を調製した。各標準物質濃度は以下のとおりとした。

標準	物 質		濃度
名 称	純度 (%)	log Pow 値	(mg/L)
チオ尿素	98.0以上	デッドタイム測定用	約 5
ベンゼン	99.7	2.1	約 10
クロロベンゼン	99.8	2.8	約 10
ブロモベンゼン	98.0以上	3.0	約 10
ビフェニル	98.0以上	4.0	約 5
1,2,4-トリクロロベンゼン	99	4.2	約 10
フェナントレン	98	4.5	約 10

(2) 被験物質溶液の調製

供試試料約 20 mg を電子分析天びんではかりとり、メタノールに溶解して約 1000 mg/L の被験物質原液を調製した。これを溶離液で希釈して約 10 mg/L の被験物質溶液とした。

(3) 標準物質の測定及び回帰直線の作成

調製した標準物質溶液を1.1(1)の試験装置に注入し、標準物質ピークの保持時間を2回測定した。保持時間から、標準物質の保持係数(k)を以下の式に従って算出した。次に標準物質の分配係数及び保持係数の対数値から、最小二乗法により回帰直線を作成した。

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

t_R: 標準物質の保持時間(分)

to: デッドタイム(分) (2回の平均値)

 $\log Pow = a \times \log k + b$

a : 直線回帰式の傾き b : 直線回帰式の切片

(4) 被験物質の測定

調製した被験物質溶液を 1.1(1)の試験装置に注入し、被験物質ピークの保持時間を 2 回 測定した。また、溶媒プランク液を 1 回測定し、被験物質ピーク位置にピークがないことを 確認した。

1.3 分配係数の算出

被験物質ピークの保持時間から保持係数を求め、作成した直線回帰式を用いて被験 物質の分配係数を算出した。算出した分配係数の平均値を被験物質の分配係数とした。 分配係数は対数表示とした。

1.4 数値の取扱い

数値の丸め方は JIS Z 8401:1999 規則 B の方法に従い、小数点以下 1 ケタで表示した。

2. 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。

3. 試験結果

3.1 測定結果

	測定物質名称	t_R	k	log k	log Pow
	チオ尿素 (デッドタイム測定用: t ₀)	1.73 1.73	Average $t_0 = 1.73$		
標	ベンゼン	4.10	1.370	0.137	2.1
		4.10	1.370	0.137	2.1
	クロロベンゼン	5.47	2.162	0.335	2.8
準	7 D D V V V V	5.47	2.162	0.335	2.8
	ブロモベンゼン	6.08	2.514	0.400	3.0
		6.08	2.514	0.400	3.0
物	ビフェニル	11.07	5.399	0.732	4.0
		11.08	5.405	0.733	4.0
	1.2.4-トリクロロベンゼン	12.67	6.324	0.801	4.2
質	1,2,4-1.99 66.00	12.67	6.324	0.801	4.2
	フェナントレン	16.93	8.786	0.944	4.5
	/ 1 / 2 2 2 3 3	16.95	8.798	0.944	4.5
被験	122211212122	6.42	2.711	0.433	3.1
物質	1-クロロ-2-(トリフルオロメチル)ベンゼン	6.42	2.711	0.433	3.1

t₀: Dead time (デッドタイム) (min)

t_R: Retention time (保持時間) (min)

k (保持係数) = (t_R-t₀) / t₀

3.2 測定条件における回帰直線の回帰式

 $\log Pow = 2.992 \times \log k + 1.763$

3.3 被験物質の分配係数

log Pow					
測定値 平均値					
3.1	3.1	3.1			

分配係数計算ソフト [ClogP v4.0 (BioByte Corp.)及び Kowwin v1.67 (U.S. Environmental Protection Agency)] による予備推定値は、それぞれ log Pow=3.54 及び 3.60 であった。

整理番号 K-1502	(3-2851)	分解度試験	分解度試験	分解度試験
2, 6-ジブロモ- <i>p</i> -クレゾール		事業対象年度 平成21年度	契 約 年 月 日	契 約 年 月 日
(2432-14-6)		試験期間 21.12.8~22.2.25	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)・物理化学的性料	‡	試 験 濃 度	試 験 濃 度	試 験 濃 度
	Br /	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
//	ОН	本試験期間 4 週間	本試験期間 週間	本試験期間 週間
	/ On	間 BOD -10, -6, -5 (0)%	間	間
	=	接	接	接
	Br	験 結 直 TOC -10, -11, -9 (0)%	験結点	験 結 a
分子式 C ₇ H ₆ Br ₂ O	分子量 265.93	# i HPLC -3, -7, -3 (0)%	果	上 直 接
純 度* ¹ 96.9%	外 観 微黄色結晶性粉末	14	1女	14
不純物*1(物質名,含有率)	溶解度 (対水, その他)	審査部会 第 101 回	審査部会 第 回	審査部会 第 回
不明成分 3.1%	-	22年12月17日開催	年 月 日開催	年 月 日開催
融 点 —		判 定	判定	判定
沸 点 —	1-オクタノール/水分配係数	備考		備考
比 重 一	log Pow = 3.3 (HPLC 法) *2	1. 回収率 [※] (水 +被験物質)系 100%	・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。	
LD50 -	解離定数	(汚泥+被験物質)系 100%		
IRチャートの有無 旬・無	pKa = 7.20	※試験液を直接分析機器に導入。		
用途 —		2. 実施機関 ・財団法人化学物質評価研究機構		
生産量 (年) 製造及び輸入 ー		- 3. 特記事項		
試 料 購入先 Acros Organi	cs	・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。		
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 溶離液:メタノール/りん酸緩衝液 (pH5.0) (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	性試
試験期間 22.2.24~22.3.9	試験期間 ~ ~ · · · · · · · · · · · · · · · · ·	年 月
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()	
水槽設定濃度 ()	水槽設定濃度()	
分 散 剤 被験物質	分 散 剤 経過	
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	
農 縮 倍 率 脂質含有率 終了後 % 魚種()	農 縮 倍 率 脂質含有率 終了後 % 魚種()	
日後 日後 日後 日後 日後	日後日後日後日後日後	
	水槽濃度 ()	
水槽濃度(水槽濃度()	
第	第 2 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		

2.6-ジブロモ-4-メ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、環保企発第 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 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) 全有機炭素分析法 (TOC) による溶存有機炭素 (DOC) の定量分析
- (3) 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	%	-10	-6	-5	0 (-7) *1
DOC 分解度	%	-10	-11	-9	0 (-10) *1
被験物質分解度 (HPLC)	%	-3	-7	-3	0 (-4) *1

*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、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18.5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12月7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.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 $100 \, \mathrm{mg/L}$ になるように、試験容器に精製水 $300 \, \mathrm{mL}$ 及び供試試料 $30 \, \mathrm{mg}$ 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。 $23 \, \mathrm{時間撹拌後} \, \mathrm{pH} \, \mathrm{e}$ 測定した。

(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 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。23 時間撹拌後 pH を測定した。

(c) (汚泥+アニリン) 系 (1 個, 試験容器 [6])

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、23 時間撹拌後、アニリンの濃度が 100 mg/L となるようにアニリン 29.5 μ L (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、23 時間撹拌した。

(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℃

間

目 28 日間(遮光下)

撹 拌 方 法 マグネチックスターラーによる回転撹拌

(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。

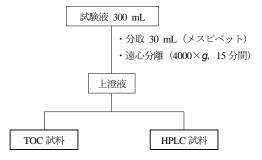
1.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中の溶存有機炭素 (DOC) 及び被験物質について分析した。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、DOCを分析するための全有機炭素分析法(TOC)試料並びに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 定量分析

(1) DOC の定量分析

TOC 試料中の DOC 濃度は、全炭素(TC)濃度から無機炭素(IC)濃度を差し引いて 求めた。TC 濃度及び IC 濃度は TC 標準溶液 80.0 mgC/L 及び IC 標準溶液 40.0 mgC/L と TOC 試料のピーク面積とを比較し比例計算して求めた。なお、TC 標準溶液はフタル酸水素カリ ウムを精製水に溶解し、IC 標準溶液は炭酸水素ナトリウム及び炭酸ナトリウムを精製水に 溶解して調製した。

定量下限濃度はDOC濃度1.0 mgC/Lとした。

定量条件

機器全有機炭素計

島津製作所製 TOC-VCPH

TC 炉温度 680℃

流 量 150 mL/min

注 入 量 50 μL

(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 100 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 3000 μ V・sec (被験物質濃度 0.98 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-10ADvp 紫外可視分光検出器 島津製作所製 SPD-10AVvp カラムオーブン 島津製作所製 CTO-10ACvp 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-10Avp

カ ラ ム Acentis Express C18

(5 cm×2.1 mm I.D., SUPELCO 製)

カラム温度 40℃

溶 離 液 アセトニトリル/超純水 (50/50 v/v)

流 量 0.4 mL/min
 測 定 波 長 220 nm
 注 入 量 1 μL
 検 出器 出力 1 V/AU

(b) 標準溶液の調製

供試試料 $100 \, \mathrm{mg}$ を正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して $10000 \, \mathrm{mg/L}$ の被験物質溶液を調製した。これを精製水で希釈して $100 \, \mathrm{mg/L}$ 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 25.0、50.0 及び 100 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。

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

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

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) DOC 分解度

分解度 (%) =
$$\frac{\text{DOCw - DOCs}}{\text{DOCw}} \times 100$$

DOCs : (汚泥+被験物質) 系における溶存有機炭素の残留量(測定値:mgC)

DOCw: (水+被験物質) 系における溶存有機炭素の残留量(測定値:mgC)

(3) 被験物質分解度

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

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				
	BOD 分解度	5%					
分解度の最大値 と最小値の差	DOC 分解度		20%未満				
	被験物質分解度	4%					
アニリンのBOD	7日後	59%	40%以上				
分 解 度	14 日後	75%	65%以上				
汚泥ブランク系の B O D 値	28 日後	4.9 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	pН
拉美胆 4 /加土	(水 +被験物質)系	被験物質は溶解した。 試験液は無色であった。	[1] 5.4
培養開始時	(汚泥+被験物質) 系	被験物質は溶解した。 試験液は無色であった。	[2] 6.8 [3] 6.8 [4] 6.8
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。	[1] 5.5
石食於「吋	(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。	[2] 7.0 [3] 7.0 [4] 7.0

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		質) 系	理論量	
		[1]	[2]	[3]	[4]		
BOD*2	mg	1.6	-2.9	-1.7	-1.5	28.8	
DOC 残留量及び	mgC	7.9	8.7	8.7	8.6	8.8*3	
残留率	%	90	99	99	98	_	
被験物質残留量及び残留率	mg	27.2	27.9	29.0	28.1	30.0	
(HPLC)	%	91	93	97	94	_	

- *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。
- *3 100 mg/L の被験物質溶液 (n=3) の DOC 実測濃度の平均値より算出した。

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	%	-10	-6	-5	0 (-7) *1	
DOC 分解度	%	-10	-11	-9	0 (-10) *1	
被験物質分解度 (HPLC)	%	-3	-7	-3	0 (-4) *1	

*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、被験物質残留率は(水+被験物質)系で91%、(汚泥+被験物質)系で93%、97%及び94%となり、若干の収支不足が認められた。HPLC クロマトグラム上に変化物ピークが認められなかったこと及びBOD分解度の平均値が0%であったことから、分解や変化以外の要因で収支不足が生じたと考えられた。予備試験において、一部の被験物質が試験容器内に装着する炭酸ガス吸収剤(ソーダライム)へ移行することが確認されていたため、ソーダライム分析を行った結果、3~5%の被験物質が検出され、被験物質残留率と合算した物質収支は94~100%となった(5.1 参照)。

上記の結果より、少量の被験物質が揮発によりソーダライムへ移行したため、被験物質の定量分析において若干の収支不足が生じたと考えられる。また、DOC 分解度が-9~-11%と大きく負の値となったが、(汚泥+被験物質)系よりも(水+被験物質)系の方がソーダライムに移行した被験物質の量が若干多かったこと、並びに DOC 理論量が 8.8 mgC と低いために分析誤差の影響を受けたことが要因であると考えられる。

以上より、少量の被験物質はソーダライムに移行したが、被験物質は微生物により分解されなかったと考えられる。

4.5 結 論

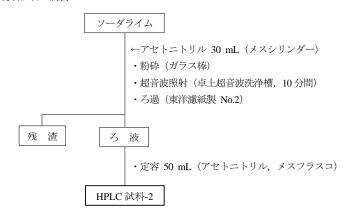
本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

5. 備 考

5.1 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) 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(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》	尼+被験物質	理論量	Reference	
		[1]	[2]	[3]	[4]		
被験物質検出量 及び検出率*4	mg	1.0	0.8	0.9	1.4	30.0	1, 2
(HPLC)	%	3	3	3	5	-	1, 2
物質収支 (被験物質残留 率*5+①)	%	94	96	100	99	-	-

^{*4} 試験液からソーダライムへの移行を厳密に再現できないため、ソーダライムからの回収 試験は実施しなかった。従って、回収率による補正は行わなかった。

2,6-ジブロモ-4-メチルフェノールの 1-オクタノールと水との間の 分配係数試験 (HPLC 法)

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、環保企発第031121002号、平成18年11月20日 最終改正)に 規定する〈1-オクタノールと水との間の分配係数測定試験〉
- (2) "OECD Guidelines for the Testing of Chemicals"に定める"Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method (Guideline 117, April 13, 2004)"

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) 試験装置 高速液体クロマトグラフ

溶離液: メタノール/りん酸緩衝液 (pH5.0) [10 mmol/L りん酸 ニ水素カリウム溶液を 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で

pH5.0 に調整] (75/25 v/v)

(2) 試験温度 25±1℃

^{*5 4.2} 試験液の分析結果の被験物質残留率

試験結果

(1) 測定結果

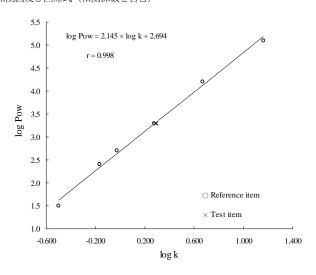
	測定物質名称	t_R	k	log k	log Pow		
	チオ尿素(デッドタイム測定用: t ₀)	1.73	Average $t_0 = 1.73$				
標	フェノール	2.27	0.316	-0.500	1.5		
		2.27	0.316	-0.500	1.5		
	4-クロロフェノール	2.90	0.681	-0.167	2.4		
準	4-9 0 0 7 2 7 - 70	2.90	0.681	-0.167	2.4		
	1-ナフトール	3.35	0.942	-0.026	2.7		
	1-) 2 1-	3.35	0.942	-0.026	2.7		
物	チモール	5.02	1.910	0.281	3.3		
	 	5.00	1.899	0.278	3.3		
	ジフェニルエーテル	9.77	4.664	0.669	4.2		
質		9.77	4.664	0.669	4.2		
	フルオランテン	26.72	14.490	1.161	5.1		
		26.73	14.496	1.161	5.1		
被験	2.6-ジブロモ-4-メチルフェノール	5.10	1.957	0.291	3.3		
物質	2, 0 -シノロモ-4-メブルノエノール	5.08	1.945	0.289	3.3		

t₀: Dead time (デッドタイム) (min)

t_R: Retention time (保持時間) (min)

k (保持係数) = $(t_R - t_0) / t_0$

(2) 相関図及び回帰式(相関係数を含む)



(3) 被験物質の分配係数

log Pow								
測知	測定値							
3.3	3.3	3.3						

1. 試験の実施

被験物質は解離性物質 [pKa=7.20] であることから、非解離型 (遊離酸) として測定するために、解離定数より小さい pH5.0 の緩衝液を含む溶離液を用いて試験を行った。

1.1 測定条件

(1) 試験装置

機	器	高速液体クロマ	・トグラフ
ポン	プ	島津製作所製	LC-20AD _{sp}
紫外可視分分	光検出器	島津製作所製	SPD-20AV
カラムオ・	ーブン	島津製作所製	CTO-20AC
オートサ	ンプラ	島津製作所製	SIL-20AC
システムコント	ローラー	島津製作所製	CBM-20A
デガッ	サー	島津製作所製	DGU-20A ₃
カラ	A	L-column ODS	
		$(15 \text{ cm} \times 4.6 \text{ m})$	m I.D.,化学物質評価研究機構製)
カラム	温度	25°C	

ノム 値 及 25 C

溶 離 液 メタノール/りん酸緩衝液 (pH5.0) [10 mmol/L りん酸二

水素カリウム溶液を 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH5.0

に調整] (75/25 v/v)

流 量 1 mL/min

測 定 波 長 標準物質 210 nm

被験物質 210 nm

注 入 量 10 μL 検出器出力 1 V/AU

(2) 試験温度 25±1℃

1.2 試験操作

(1) 標準物質溶液の調製

標準物質としてフェノール、4クロロフェノール、1-ナフトール、チモール、ジフェニルエーテル及びフルオランテンを使用した。デッドタイムの測定用物質としてチオ尿素を使用した。これら6種の標準物質及びチオ尿素それぞれ約20mgを電子分析天びんではかりとり、メタノールに溶解してそれぞれ約2000mg/Lの溶液を調製した。これらの溶液を混合し、溶離液で希釈して分配係数測定のための標準物質溶液を調製した。各標準物質濃度は次頁のとおりとした。

標準	物質		濃 度
名 称	純度 (%)	log Pow 値	(mg/L)
チオ尿素	98.0以上	デッドタイム測定用	約 10
フェノール	99.0以上	1.5	約 10
4-クロロフェノール	>98.0	2.4	約 20
1-ナフトール	99.0以上	2.7	約 5
チモール	98.0以上	3.3	約 20
ジフェニルエーテル	99.0以上	4.2	約 20
フルオランテン	>98	5.1	約 20

(2) 被験物質溶液の調製

供試試料約 100 mg を電子分析天びんではかりとり、メタノールに溶解して約 1000 mg/L の被験物質原液を調製した。これを溶離液で希釈して約 10 mg/L の被験物質溶液とした。

(3) 標準物質の測定及び回帰直線の作成

調製した標準物質溶液を 1.1(1)の試験装置に注入し、標準物質ピークの保持時間を 2 回測定した。保持時間から、標準物質の保持係数 (k) を以下の式に従って算出した。次に標準物質の分配係数及び保持係数の対数値から、最小二乗法により回帰直線を作成した。

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

t_R: 標準物質の保持時間(分)

to: デッドタイム(分)(2回の平均値)

 $\log Pow = a \times \log k + b$

a : 直線回帰式の傾き

b : 直線回帰式の切片

(4) 被験物質の測定

調製した被験物質溶液を 1.1(1)の試験装置に注入し、被験物質ピークの保持時間を 2 回測定した。また、溶媒ブランク液を 1 回測定し、被験物質ピーク位置にピークがないことを確認した。

1.3 分配係数の算出

被験物質ピークの保持時間から保持係数を求め、作成した直線回帰式を用いて被験 物質の分配係数を算出した。算出した分配係数の平均値を被験物質の分配係数とした。 分配係数は対数表示とした。

1.4 数値の取扱い

数値の丸め方は JIS Z 8401:1999 規則 B の方法に従い、小数点以下 1 ケタで表示した。

2. 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。

3. 試験結果

3.1 測定結果

	測定物質名称	t_R	k	log k	log Pow		
	チオ尿素(デッドタイム測定用: t ₀)	1.73 1.72	Average $t_0 = 1.73$				
標	フェノール	2.27	0.316	-0.500	1.5		
		2.27	0.316	-0.500	1.5		
	4-クロロフェノール	2.90	0.681	-0.167	2.4		
準	4-9 0 0 7 2 7 - 70	2.90	0.681	-0.167	2.4		
	1-ナフトール	3.35	0.942	-0.026	2.7		
	1-7 2 10	3.35	0.942	-0.026	2.7		
物	チモール	5.02	1.910	0.281	3.3		
) - /\(\bullet	5.00	1.899	0.278	3.3		
	ジフェニルエーテル	9.77	4.664	0.669	4.2		
質		9.77	4.664	0.669	4.2		
	フルオランテン	26.72	14.490	1.161	5.1		
		26.73	14.496	1.161	5.1		
被験	2000	5.10	1.957	0.291	3.3		
物質	2,6-ジブロモ-4-メチルフェノール	5.08	1.945	0.289	3.3		

t₀: Dead time (デッドタイム) (min)

t_R: Retention time (保持時間) (min)

k (保持係数) = (t_R-t₀) / t₀

3.2 測定条件における回帰直線の回帰式

 $\log Pow = 2.145 \times \log k + 2.694$

3.3 被験物質の分配係数

	log Pow					
測定値						
3.3	3.3	3.3				

分配係数計算ソフト [ClogP v4.0 (BioByte Corp.)及び Kowwin v1.67 (U.S. Environmental Protection Agency)] による予備推定値は、それぞれ log Pow=3.53 及び 3.84 であった。

整理番号 K-1850 (3-553)	分解度試験分解度試験	分解度試験
2, 5-ビス(1, 1, 3, 3-テトラメチルブタン-1-イル) ヒド	事業対象年度 平成21年度 契約 年 月 日	契 約 年 月 日
ロキノン (903-19-5)	試験期間 21.12.16~22.2.23 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	試 験 濃 度 試 験 濃 度	試 験 濃 度
OH OH	有機物質 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
он	間 BOD 0, 0, -2 (0)% 間	間
分子式 C ₂₂ H ₃₈ O ₂ 分子量 334.54	接	接
純 度*1 97.0% 外 観 うすい褐色の結晶性粉 末	$_{4+}$ GC -1, 4, -1 (1)% $_{4+}$	験結束
不純物(物質名,含有率) 溶解度(対水,その他) 不明 対水	程 果 接 接	果
0.027mg/L	18 19	14
	審査部会 第 1 0 1 回 審査部会 第 回	審査部会 第 回
	22年12月17日開催 年 月 日開催	年 月 日開催
	判定判定	判 定
融 点 129.1℃	備考備考	備考
比 重 一	1. 実施機関・三菱化学メディエンス株式会社	
LD 50 — 安定性 —		
IRチャートの有無 有・無		
用 途*2 写真・印刷等用、ゴム添加剤		
生産量*2 (18年) 製造及び輸入 100~1,000 t 未満		
試 料 提供試料		
経済産業公報発表年月日 年 月 日		

^{*1} GCによる。 *2 化学物質の製造・輸入量に関する実態調査による。

濃	縮度試験		事業	美対象年度	平成 2	1年度		濃	縮度試験				年		月	日	毒	性	市	1
試	験期間		22.	1. 15	~ 2	2. 3	3. 19	試	験期間				~				L1.	年	月	-
		票・揮		直 >5mg/L				-	験装置標	・揮	LC 50 信	直 n	ıg/L()	依			
	槽設定濃厚							-	槽設定濃度)						頼			
_		Ì			分散						·			散	割					_
		被懸	(物質	HCO-40	THI					被關	険物質			12.	714		経過	田		
竺	1 濃度区	0	. 05					母	第1濃度区											
				1mg/L	24pj															
	2 濃度区	0.	005	0.1mg/L	25pj	om			第2濃度区											
第	3 濃度区			BB 11 \\'				穿	第3濃度区			BB / /	>/-		,					
濃	縮倍率		脂質含素	有率 開始前 有率 終了後	5.5% 5.0%	魚種	(コイ)	濃	縮倍率		脂質含石	有率 開始 終了	則 後	%	, , 魚種(()				
		_		13 日後 1	19 日後						日後	日後	日名	後	日後	日後				
第	水槽濃度(μ	g/L)	43.6	+	44.0	44. 0	44. 5	第	水槽濃度()										
1	倍	率	148 136	182 78	186 351	237	263 167	1	倍	率										
	水槽濃度(μ	g/L)	3. 64		3. 34	3. 28	3. 31		水槽濃度()										
第 2			177	208	157	280	223	第 2												
2	倍	率	<154	181	276	307	339		倍	率										
第	水槽濃度()						第	水槽濃度()										
3	倍	率						3	倍	率										
		hoho a	0.1	0.05	100		BB /W			to/co		<i>F</i>				ы /ш				
番	査部会	第 1	01回	22年	12月	17日	開催	番	査部会	第 	□	年	月		日	荆催				
判	定結果							判	定結果											
偱	青 考							備	考											
				第1濃度区 2																
	ばく露期間には	おける濃	縮倍率] 第	亨2濃度区 2	271倍															
[:	実施機関]]	三菱化学	メディエン	ス株式会社																

1.1 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-の分解度試験

a) 試験材料

被験物質

名 称* : 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-

略称: BTMB

構造式** :

OH OH

分子式** : C₂₂H₃₈O₂ 分子量** : 334.54

CAS番号***: 903-19-5 純 度***: 97.0%(GC)

外 観*** : うすい褐色の結晶性粉末

* 試験委託者提供資料による

** 独立行政法人 科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」検索サービス(http://nikkajiweb.jst.go.jp) による

*** 供給元提供資料による

b) 試験方法

試験は,「新規化学物質等に係る試験の方法について<微生物等による化学物質の分解度試験 >」(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,最終改正:平成18年11月20日)に準拠して実施した。

1) 試験条件

(標準活性汚泥)

MLSS : 2700 mg/L

入 手 源 : (財) 化学物質評価研究機構

入手年月日 : 2009年10月19日

(条 件)

温 度 : 25±1℃

期 間 : 28 日間 (BOD測定)

液 量:300 mL

濃 度 : 被験物質 : 100 mg/L (被験物質の分解系

および水中安定性系)

アニリン (対照物質):100 mg/L (分解活性確認系)

標準活性汚泥 : 30 mg/L (被験物質の分解系,

分解活性確認系および

汚泥基礎呼吸系)

(試験の構成および試験物質の添加)

No.1 : 分解活性確認系 (アニリン+汚泥+基礎培養基)

基礎培養基*1 を培養びんに入れ,アニリン*2 を 29.5 μ L (30.0 mg) マイク

ロシリンジで添加し混合後、汚泥を添加した。

No.2 : 汚泥基礎呼吸系 (汚泥+基礎培養基)

基礎培養基*1を培養びんに入れ、汚泥を添加した。

No.3, 4, 5: <u>被験物質の分解系-1, 2, 3</u> (被験物質+汚泥+基礎培養基)

基礎培養基 $^{+1}$ を培養びんに入れ、ガラスカップに秤量した被験物質を $30.0\,\mathrm{mg}$

添加後、汚泥を添加した。

No.6 :水中安定性系(被験物質+精製水)

300 mLの精製水⁴⁸ を培養びんに入れ、ガラスカップに秤量した被験物質を

30.0 mg添加した。

*1:300 mLから汚泥懸濁液添加量 3.3 mLを差し引いた量

*2: 関東化学製 試薬特級 Lot No. 106U1946

*3: JIS K0557 A4 グレードの水

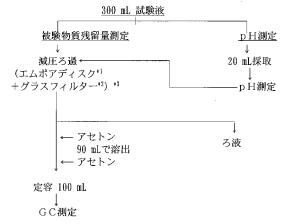
2) 装置

閉鎖系酸素消費量測定装置:大倉電気製 0M-3100A型

c) 分析方法

1) 分析前処理

下記のフローシートに従って、試験液の前処理を行った。



- *1 3M Empore Extraction Disk Octadecyl
- *2 Tovo Roshi ADVANTEC GLASS FIBER GA200
- *3 アセトン 20 mL、精製水 20 mLで コンディショニング

2) 被験物質残留量の測定条件

汚泥基礎呼吸系、被験物質の分解系および水中安定性系の被験物質残留量を下記の装置および 条件により測定した。

被験物質はヒドロキノン骨格(還元型)を有し、酸化されるとキノン体(酸化型)として存在 する。この反応は可逆的であるため、被験物質とキノン体のそれぞれのピークを測定対象とし、 合計ピークから被験物質残留量を算出した。

キノン体および被験物質のリテンションタイムは、それぞれ約 6.5分、約 7.9分であった。

装置: ガスクロマトグラフ 6890 型 (ヒューレット パッカード製) (No. 1)

ガスクロマトグラフ (GC) : HP6890 Series

オートインジェクタ : HP7683 100サンプ ルトレイ

検出器 :水素炎イオン化検出器 (FID)

ワークステーション : ケミステーション

条 件:

カラム : Agilent 製 DB-1HT、15 m × 0.25 mm i.d. × 0.1 μm (膜厚)

オーブン温度 : 100° C (0 min) $\rightarrow 15^{\circ}$ C/min $\rightarrow 300^{\circ}$ C (13. 3 min) キャリアガス. 流量 : ヘリウム. 1.0 mL/min (コンスタントフロー)

検出器ガス、流量 : 水素 40 mL/min, 空気 450 mL/min

検出器温度 : 350℃

メークアップ カ゚ス、流量 : 窒素 40 mL/min

注入口 : スプリット(スプリット比 10:1)

注入口温度 : 300℃ 注入量 $: 1 \mu L$

検量線の濃度と合計ピーク面積の相関は良好であり、検量線の切片は原点を诵過するとみなせ ることから、試験液中の被験物質の定量は 300 mg/L標準溶液で得られるピーク面積との比較で行 った。被験物質の検出限界は、測定対象ピークのうち、最大ピークの最小検出ピーク面積を 4 p A·secに設定したところ、測定対象となる全てのピークに対する最小検出合計ピーク面積は 5 pA· secと算出されたため、これに相当する培養びん中の被験物質量から 0.2 mgとした。

なお、添加回収試験の結果は平均回収率 98%であった。被験物質残留量の測定値は、平均回収 率で補正した。

d) 分解度の算出式

1) BOD分解度

 $分解度(%) = (BODs - BODb) / ThOD \times 100$

BODs:分解活性確認系または被験物質の分解系における酸素消費量 (mg)

BODb:汚泥基礎呼吸系における酸素消費量 (mg)

ThOD:アニリンまたは被験物質の理論的酸素要求量 (mg)

理論的酸素要求量(ThOD)の計算

アニリン: $90.2 \text{ mg} 0_2 / 30.0 \text{ mg}$

アニリンが下記のように無機化されるとして算出した。

 $C_6H_7N + 35/4O_2 \rightarrow 6CO_2 + 7/2H_2O + NO_2$

被験物質:87.5 mgO2/30.0 mg

被験物質が下記のように無機化されるとして算出した。

 $C_{22}H_{38}O_2 + 61/2O_2 \rightarrow 22CO_2 + 19H_2O$

2) 被験物質残留量からの分解度

分解度 (%) = $(1 - Cs/Cc) \times 100$

Cs:被験物質の分解系中の被験物質残留量 (mg) :水中安定性系中の被験物質残留量 (mg)

e) 試験結果

試験結果を以下にまとめた。

1) 標準活性汚泥の分解活性

アニリンのBOD分解度は、14日後に 60%以上(70%)であった。

2) 28日後の結果

測定項目	被馬	験物質の分類	解系	水中安	仕込み
	1	2	3	定性系	理論値
BOD, mg*1	0. 4	-0. 1	-1. 5	0. 0	87. 5
DOC , mg^{*2}	_	_	_	_	_
被験物質,mg	30. 5	29.0	30. 3	30. 1	30. 0

3) 28日後の分解度

分解度	被験物質の分解系			平均值
	1	2	3	
BOD分解度,%	0	0	0 (-2) *3	0
DOC分解度,%*2	_	_	_	_
被験物質残留量からの分解度,%	0 (-1) *3	4	0 (-1) *3	1

- *1 被験物質の分解系の値は汚泥基礎呼吸系の値を差し引いて表示する
- *2 被験物質は難分解性で構造変化を起こさないこと、かつ、難水溶性であることが明らかであるため、溶存有機炭素(DOC)の測定は行わなかった
- *3 分解度が負の値に算出されたため、カッコ内にその計算値を示す

考察

28日後のBOD分解度は平均 0%,被験物質残留量からの分解度は平均 1%であったことから、被験物質は難分解性と判断される。

被験物質の分解系において、ヒドロキノン体とキノン体の存在比が約 9: 1から約 8: 2に変化した。水中安定性系では存在比に変化は見られなかった。この原因として、汚泥存在下で被験物質がより酸化側で平衡化し、互変異性体であるキノン体が増加したものと推察される。しかし、新たな構造変化物は生成していない。

以上より、被験物質は難分解性で構造変化を受けなかったと判断される。

1.2 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1,3,3,-tetramethylbutyl)-の濃縮度試験

a) 試験材料

1) 被験物質

名称*1:

1. 4-Benzenediol. 2. 5-bis (1. 1. 3. 3. -tetramethylbutyl) -

構造式*2:

分子式*2: C₂₂H₃₈O₂

分子量*2:

334. 54

CAS番号*3:

903 - 19 - 5

純度*3:

97.0% (GC)

外観*3:

うすい褐色の結晶性粉末

ロット番号*3: EKEHO

*1:委託者提供資料による。

*2:独立行政法人 科学技術振興機構<u>の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」検索サー</u> ビス (http://nikkajiweb.jst.go.jp) による。

*3:東京化成工業株式会社提供資料による。

2) 供試魚

体重約 5 g, 全長約 8±4 cm のコイ (Cyprinus carpio) を使用した。

3) 試験用水

横浜市水道水を活性炭ろ過およびチオ硫酸ナトリウム添加により脱塩素処理し、試験用水 として使用した。

b) 試験方法

「新規化学物質等に係る試験の方法について<魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験>」(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,最終改正:平成18年11月20日)に準拠して実施した。

ヒメダカに対する 96hr-LC $_{50}$ 値は >5 mg/L であった。濃縮度試験の試験濃度は,この濃度の 1/100 以下(第一濃度区),1/1000 以下(第二濃度区)である 0.05 および 0.005 mg/L に設定した。

濃縮度試験装置は、濃度区を第一濃度区(高濃度区)および第二濃度区(低濃度区)としてそれぞれ1系列、コントロール区を1系列設置し、流水式で魚を飼育した。試験水および供試魚中の被験物質濃度を定期的に測定し、その対比により濃縮倍率を求め魚類への濃縮性を評価した。

c) 分析方法

1) 試験水および供試魚の分析回数

試験水分析は, 魚の投入前 (0日目) および取込開始後 7, 13, 19, 22, 28日目に濃度区から試験水をサンプリングし, 各濃度区1回ずつ分析した。

供試魚分析は、取込開始後 7, 13, 19, 22, 28日目に濃度区から魚を4尾ずつサンプリングし、2尾ずつ2回に分けて分析した。

2) 試験水分析試料の前処理

採取した試験水を下記フロー・シートに従って前処理し、高速液体クロマトグラフ(HPLC)で分析した。

試験水(第一濃度区 100 mL,第二濃度区 1000 mL)

<u>エムポアディスク SDB-XC* 47 mm (予め7セトリル 約 10 mL, 精製水 約 30 mL でコンディショニング</u> したもの) に涌水 (アスピレーターで吸引)

定容液を一定量分取後、等量の精製水を添加し、混和

HPLC測定

*エムポアディスクSDB-XC: 3M Empore Extraction Disk Polystyrenedivinylbenzene

3) 供試魚分析試料の前処理

採取した魚を下記フロー・シートに従って前処理し、HPLCで分析した。

魚体 2 尾 重量測定(約 10 g)

ハサミで細切

ホモジナイズ (約 1 分, 回転速度約 8000 rpm) × 4

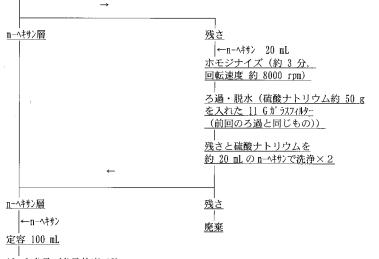
微細化試料を 5 g 採取

脂質含量測定用保存試料 (≥1 g、-20℃の冷凍庫で保管)

←n-ヘキサン 30 mL

ホモジナイズ (約3分, 回転速度 約8000 rpm)

ろ過・脱水(硫酸ナトリウム約 50 g を入れた 11 G ガラスフィルター)



10 mL 分取 (分取比率 10)

濃縮・乾固 (ロータリーエバポレータ (浴温約 45℃))

←窒素吹き付け

←アセトニトリル 5 mL

溶解後,溶解液を一定量分取,等量の精製水を添加し,混和*

HPLC測定

*被験物質濃度が検量線の上限以上の場合、検量線の範囲内の濃度まで溶解液を アセトニトリルで希釈した後、精製水を添加した。 4) 高速液体クロマトグラフ(HPLC) 測定条件

(装置)

高速液体クロマトグラフ:

Agilent 1100 型 カラムスイッチング 装置付 (No. 5)

ワークステーション:

Agilent 1100 シリース ケミステーション

デガッサ:

G1379A型

送液ポンプ:

G1311A型 (クォータナリポンプ)

オートサンプラ:

G1313A型

カラムオーブン:

G1316A型

フォトダイオードアレイ検出器:

G1315B型

(条件)

カラム: ジーエルサイエンス製 Inertsil ODS-3 粒径 2μm 3.0 mm i.d. ×50 mm

カラムオーブン: 50℃ 試料注入量: 30 µL 測定波長: 295 nm

試験水分析

溶離液:

A液 精製水

B液 アセトニトリル

A液 20%, B液 80%

流速:

0.6 mL/min

魚体分析

溶離液:

A液 精製水

B液 アセトニトリル

 0.00 min
 A液
 40%
 B液
 60%

 5.50 min
 A液
 40%
 B液
 60%

 7.00 min
 A液
 5%
 B液
 95%

 12.00 min
 A液
 5%
 B液
 95%

流速:

0.8 mL/min

ポストタイム:

5.00 min

上記測定条件にて標準溶液 (0~1.00 mg/L のアセトニトリル溶液に等量の精製水を添加) のピーク 面積を測定し, 横軸に濃度を, 縦軸にピーク面積 (mAU・sec 表示) をとり, 検量線を作成した。 検量線はほぼ原点を通る直線となり, 相関係数は 0.9991 (試験水分析) および 0.9952 (魚体分析) と良好であった。

試料の分析に当っては、試料測定毎に標準溶液 (0.500 mg/L) の測定を行い、そのピーク 面積比から定量した。

5) 濃縮倍率の算出

無体中の被験物質濃度は、回収率で補正して算出した。濃縮倍率は、魚体中被験物質濃度を、取込開始から各測定時までの試験水中被験物質濃度の平均値で割った値とした。

d) 試験結果

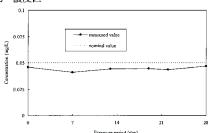
1) 試験水中の被験物質濃度

28日間の取込期間中における試験水中被験物質濃度の平均値および試験水中被験物質濃度の変動を以下に示した。

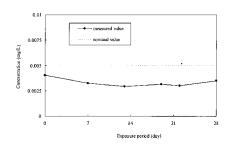
	第一濃度区	第二濃度区
平均試験水中濃度, mg/L	0. 0445	0. 00331
変動係数,%	4. 6	12. 1

試験水中の被験物質濃度の変動

第一濃度区



第二濃度区



2) 濃縮倍率

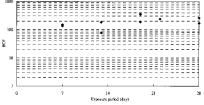
濃縮倍率(BCF)の測定結果を以下に示した。

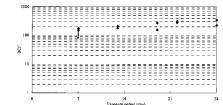
取	以 期 間		7日目	13 日目	19日目	22 日目	28 日目
第一濃度区	濃縮倍率	1	148	182	186	237	263
光 仮反凸	BCFss 234	2	136	78	351	236	167
 第二濃度区	濃縮倍率	1	177	208	157	280	223
	BCFss 271	2	<154	181	276	307	339

濃縮倍率

第一濃度区

第二濃度区





e) 考察

48 時間以上の間隔で連続した 3 回の測定における濃縮倍率 (平均) の変動は 20%以内であり、 28 日間の取込期間において定常状態を確認した。第一、第二濃度区の定常状態における濃縮倍率 (BCF_{SS}) はそれぞれ 234 倍、271 倍であった。

整理番号 K-1851 (5-3720)	分解度試験	分解度試験	分解度試験
4- (3-フェニルプロパン-1-イル) ピリジン	事業対象年度 平成21年度	契約 年 月 日	契約 年 月 日
(2057-49-0)	試験期間 22.1. 21~22.3.18	試験期間 ~	試験期間 ~
	試験装置標・類	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	試 験 濃 度	試 験 濃 度	試 験 濃 度
	有機物質 2.30 mg/L 安息香酸ナトリウム 4.00mg/L 植種液 50 μL/L	被験物質 mg/L 汚 泥 mg/L	被験物質 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
分子式 C ₁₄ H ₁₅ N 分子量 197.28	間 BOD 5, 3 (4)% 接	接接	間 接 試
純 度* ¹ 98.9% 外 観 橙黄色透明液体	験 結 語 直	験	験 結 直
不純物(物質名,含有率) 溶解度(対水,その他) 不明 対水 190mg/L	接接	接	接 接
	審査部会 第 101 回	審査部会 第 回	審査部会 第 回
	22年12月17日開催	年 月 日開催	年 月 日開催
	判定	判定	判定
沸点 322℃1 -オクタノール/水分配係数4.04(計算値)	備考	備考	備考
比 重 1.024g/cm ³	1. 分解度試験の結果、被験物質の一部はヒドロキシル基が付加した		
LD50 - 安定性	構造変化物を生成したと推定された。その他にも構造変化物の存在		
IRチャートの有無 有・無	が示唆されたが構造推定には至ら		
用 途 一	なかった。		
生産量 一	2. 実施機関 ・三菱化学メディエンス株式会社		
試 料 提供試料	一交回1//1-4///		
経済産業公報発表年月日 年 月 日			

^{*1} GC による。

濃縮度試験		事業	対象年度	平成 2	1年度	:	濃	縮度試験				年		=	日			Ŧ	集 性	試	
試験期間		22.	1.7	~ 22.	3.	11	試	験期間			•	~						/	年	月	_
試験装置(標	剽• 揮	LC 50 値	5.7mg/	/L (96hr)	魚種(ヒ	:メダカ)	活	験装置標	・指	軍 LC 50 们	直 m	g/L(h	r) 魚種	£()			依			
水槽設定濃度	度 (μg/	L)					水	槽設定濃度	į (()								頼			
	被験物			分散	剤					皮験物質		分背	女 剤					経	過		_
	1000011		DMSO																		
第1濃度区	0. 5		50ppm				穿	91濃度区													
第2濃度区	0.05	5	50ppm				穿	第2濃度区													
第3濃度区							芽	第3濃度区													
濃縮倍率	脂	質含有	事率 開始前 事率 終了後	fj 4.3% 後 3.8%	魚種	重(コイ)	濃	縮 倍 率		脂質含石	有率 開始i	 前 爰	% % 魚	.種()						
	4	日後				发 28 日後			_	日後		日後	F	後	日後						
水槽濃度(με		. 380	0. 396	0. 399	0.398		第	水槽濃度()												
	率 —	31 50	42 38	35 31	16 31	37 26	1	倍 :	率												
		0432			0. 0419			水槽濃度()												
第		<15	<15	56	92	23	第														
2 倍 3	率	24	<15	26	<16	23	2	倍	率												
水槽濃度()						第	水槽濃度()												
	率 —						3	倍	率												
審査部会	第 1 0	1 同	22年	19日	17	日 開催	寀	査部会 第	第	口	年	 月		 	1/2						
	77 10	1 12		1 2 / 1	1 / 1	-			NJ			71	H	J71.	11圧						
判定結果							判	定結果													
備考							備	考													
[定常状態におり																					
[ばく露期間にお				≦92倍																	
[実施機関] Ξ	三菱化学メラ	ディエンス	ス株式会社																		

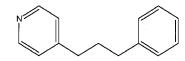
2.1 Pyridine, 4-(3-phenylpropyl)-の分解度試験

a) 試験材料

1) 被験物質

名 称*1 : Pyridine, 4-(3-phenylpropyl)-

構造式*2 :



分子式*2

: $C_{14}H_{15}N$

分子量*2

: 197, 28

CAS番号*2

: 2057-49-0

OND ER . J

2001 43 0

純 度‡3

: 98.9 (GC)

ロット番号*3

: FGJ01

外 観*3

: 橙黄色透明液体

安定性*3

: 通常の取扱い条件においては安定。酸化剤との接触に注意する。

*1 委託者提供資料による

*2 独立行政法人科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」 検索サービス (http://nikkajiweb.jst.go.jp) による

*3 東京化成工業株式会社提供資料による

b) 試験方法

被験物質は水中からの揮発性が高いことから,本試験は OECD Guideline for Testing of Chemicals 301D (1992) "Ready Biodegradability: CLOSED BOTTLE TEST" に準拠して実施した。

1) 試験条件

(植 種)

植 種 源 : 成瀬クリーンセンター 二次放流水

入 手 日 : 2010年 1月22日(BOD測定開始日に採取)

(条 件)

濃 度:被験物質 : 2.30 mg/L

安息香酸ナトリウム(対照物質) : 4.00 mg/L

植種液 : 50 μL/L

液 量:300 mL (ふらんビン容量:300 ± 4.9 mL) 期 間:28日間(BOD測定)

温 度:20 ± 1℃

(試験の構成と被験物質の添加)

No.1 : 植種ブランク系(植種液+無機培地)

無機培地 *1 4 L に植種液 200 μ L を添加した後、12 本のふらんビンに分注し

た。

No.2 : 被験物質の分解系(被験物質+植種液+無機培地)

無機培地* 1 6 L から 138 mL を抜取った。これに被験物質溶液* 2 (100 mg/L) を 138 mL 添加し、植種液 300 μ L を添加した後、18 本 4 のふらんビンに分注し

No.3 : 水中安定性系(被験物質+精製水)

精製水*4 6 L から 138 mL を抜取った。これに被験物質溶液*5 (100 mg/L) を 138 mL 添加した後、18 本*3 のふらんビンに分注した。

No.4 : 分解活性確認系(対照物質+植種液+無機培地)

無機培地" 4 L から 4 mL を抜取った。これに安息香酸ナトリウム" 水溶液(4000 mg/L) を 4 mL 添加し、植種液 200 μ L を添加した後、10 本のふらんビンに 分注した。

- *1:無機培地を酸素飽和させてから使用
- *2:被験物質 20.0 mgに無機培地を加えて200 mLに定容とし、超音波照射して溶解させた
- *3:18本のうち4本は予備
- *4: JIS K0557 A4 グレードの水を酸素飽和させてから使用
- *5:被験物質 20.0 mgに精製水を加えて 200 mLに定容とし、超音波照射して溶解させた
- *6: 関東化学製 試薬特級 Lot No. 804W2276

2) 装置

恒温槽 : TAITEC 製 低温恒温槽 M-210FN 型 (No.1) (暗所条件にて使用)

c) 分析方法

1) 測定項目および測定スケジュール

下記の測定スケジュールおよび連数(ふらんビン)に従って、各項目について測定を行った。

測定スケジュール

<u> </u>	湖西亚口	Γ	出田・ナフ	. > .> > 18	> (-l-)	
試験系	測定項目		世用りる	ふらんビ	ノ (本)	
		0日目	7日目	14 日目	21 日目	28 日目
No.1 植種ブランク系	溶存酸素濃度*1	2	2	2	2	2
IE E Z Z Z Z Z Z	p H*2	. 4		_	_	4
	被験物質残留量	1		_	_	1
No.2 被験物質の分解系	溶存酸素濃度*1	2	2	2	2	2
12.00 13.30 13.71	p H*2	4	_	-	_	2
	被験物質残留量	2	-	_	_	2
No.3 水中安定性系	溶存酸素濃度*1	2	2	2	2	2
N. I S. CEN	p H*2	۷	_	-	-	۷
	被験物質残留量	2	_	_	_	2
No.4 分解活性確認系	溶存酸素濃度*1	2	2	2	2	2
NA VALUE INTERPREDICT	p H*2	۷	_	-	-	2
	被験物質残留量	_	-	_	_	_

*1 装置:溶存酸素計 ワイエスアイ・ナノテック製 5100型 (No.1)

*2 溶存酸素濃度測定後に測定

2) 被験物質残留量測定の前処理

300 mL 試験液

→ 水相を 10 mL 採取 → 遠心分離 (5 分, 3000 G)

上澄み液をLC/MSに注入して被験物質残留量を測定する。

3) 被験物質残留量測定の測定条件

下記の装置および条件で被験物質を定量し、被験物質残留量を求めた。

(装 置) 高速・高分離液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)

SL-HT-MISシステム (No.1)

ワークステーション : Agilent Technologies ChemStation

高速・高分離液体クロマトグラフ(RRLC): Agilent Technologies 1200型

デガッサ : Agilent Technologies G1379B型 送液ポンプ : Agilent Technologies G1312B型 オートサンプラ : Agilent Technologies G1329B型

カラムオーブン : Agilent Technologies G1316B型

質量選択検出器 (MSD) : Agilent Technologies G6130A型

(条 件)

[LC]

カ ラ ム : ジーエルサイエンス製 Inertsil ODS-3、5 μm、2.1 mm i.d. ×150 mm

溶 離 液 : A2液 20 mMギ酸アンモニウム/0.1%ギ酸水溶液

B1液 アセトニトリル

A2液:B1液=30:70

流 速 : 0.4 mL/min 注入 量 : 0.5 μL カラム温度 : 40℃

[MS]

Ionization : MM-ES Fragmentor : 210 V

Nebulizer : N₂ (60 psig)

Drying gas : N_2 (5.0 L/min, 350°C)

Mode : Positive

SIM (Selected Ion Monitoring) 条件:

Quant ion m/z 198. 20 ([M+H] +)

4) 被験物質濃度の定量

検量線の濃度とピーク面積の相関は良好であったことから、試験液中の被験物質の定量は 標

準溶液 (2.30 mg/L) で得られるピーク面積との比較で行った。被験物質の検出限界は、最小検出ピーク面積を 1500 count に設定し、これに相当する培養ビン中の被験物質量から求めた。その結果、28日目における検出限界は 0.003 mg と算出された。

なお、被験物質残留量の測定値は、被験物質の分解系は平均回収率 93%、水中安定性系は平 均回収率 90%で補正した。

d) 分解度の算出式

1) BOD分解度

分解度 $(\%) = BOD/ThOD \times 100$

BOD : 被験物質または対照物質の生物化学的酸素消費量 (mgO_1/mg) ThOD: 被験物質または対照物質の理論的酸素要求量 (mgO_1/mg)

BODの計算

被験物質の分解系および分解活性確認系

BOD $(mgO_2/mg) = [(DOO - DOx) - (DObOa - DObxa)] / C$

水中安定性系

BOD $(mg0_2/mg) = (DO0-DOx)/C$

C :被験物質または対照物質の仕込み濃度 (mg/L)

DO0 : 0 日目の溶存酸素濃度の平均値 (mg()₂/L)

DOx : x 日目の溶存酸素濃度 (mgOz/L)

DObOa: 植種プランク系における0日目の溶存酸素濃度の平均値(mgOz/L)

DObxa:植種プランク系におけるx日目の溶存酸素濃度の平均値(mgOz/L)

理論的酸素要求量 (ThOD) の計算

安息香酸ナトリウム: 1.67 mgO2/mg

安息香酸ナトリウムが下記のように無機化されるとして算出した。 $C_7H_5O_2N$ a + $15/2O_2$ → $7CO_2$ + $5/2H_2O$ + $1/2Na_2O$

被験物質: 2.76 mgO2/mg

被験物質が下記のように無機化されるとして算出した。 $C_{14}H_{15}N+17O_{2}\rightarrow 14CO_{2}+NH_{3}+6H_{2}O$

2) 被験物質残留量からの分解度

分解度(%) = $(1 - C s / C i) \times 100$

Ci:被験物質仕込み量 (mg)

Cs: 28日目の被験物質の分解系中の被験物質量 (mg)

e) 試験結果

試験結果を以下にまとめた。

1) 植種の分解活性

安息香酸ナトリウムのBOD分解度は、14日目に 60%以上(72%および 78%)であった。

2) 28日目の結果

評価項目	被験物質の分解系	水中安定性系	理論値
	1 2	1 2	
BOD, mgO ₂ /mg	0. 13 0. 07	0. 09 0. 09	2. 76
被験物質,mg	0. 521 0. 542	0. 657 0. 638	0.690

3) 28日目の分解度

	被	験物質のタ	}解系
	1	2	平均值
BOD分解度,%	5	3	4
被験物質残留量からの分解度,%	24	21	23

f) 考察

28日目のBOD分解度が平均 4%,被験物質残留量からの分解度が平均 23%であったことから、被験物質は難分解性と判断される。被験物質の一部は、ヒドロキシル基が付加した構造変化物を生成したと推定された。その他にも構造変化物の存在が示唆されたが構造推定には至らなかった。

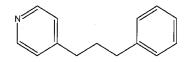
2.2 Pyridine, 4-(3-phenylpropyl)-の濃縮度試験 (PPP)

a) 試験材料

1) 被験物質

名称*! : Pyridine, 4-(3-phenylpropyl)-

構造式*2



分子式*2

: $C_{14}H_{15}N$

分子量*2

: 197. 28

CAS番号*2

: 2057-49-0

опо да - 3

2001 43 0

純 度*8

: 98. 9 (GC)

外 観*3

: 橙黄色透明液体

安定性*3

: 通常の取扱い条件においては安定。酸化剤との接触に注意する。

ロット番号*3

: FGJ01

*! 委託者提供資料による

- *2 独立行政法人科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」検索サービス(http://nikkajiweb.jst.go.jp) による
- *3 東京化成工業株式会社提供資料による

2) 供試魚

体重約 3.5 g, 全長約 8±4cm のコイ (Cyprinus carpio) を使用した。

3) 試験用水

横浜市水道水を活性炭ろ過およびチオ硫酸ナトリウム添加により脱塩素処理し、試験用水 として使用した。

b) 試験方法

「新規化学物質等に係る試験の方法について<魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験>」(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, 最終改正:平成 18 年 11 月 20 日) に準拠して実施した。

ヒメダカに対する 96hr-LC $_{50}$ 値は 5.7~mg/L であった。濃縮度試験の試験濃度は,この濃度の 1/100~以下(第一濃度区)、1/1000~以下(第二濃度区)である 0.0005~および 0.00005~mg/L に設定した。

流水式の濃縮度試験装置を、第一濃度区(高濃度区)および第二濃度区(低濃度区)としてそれぞれ1系列設置し、被験物質を含む水中で魚を飼育した。また、コントロール区として1系列設置し被験物質を含まない水中で魚を飼育した。この間、試験水および魚体中の被験物質濃度を定期的に測定し、その対比により濃縮倍率を求め魚類への濃縮性を評価した。

c) 分析方法

1) 試験水および供試魚の分析回数

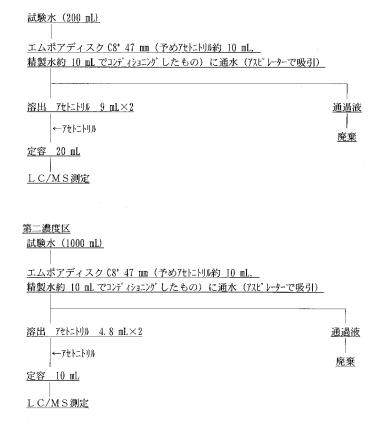
試験水分析は, 魚の投入前(0日目) および取込開始後4, 7, 13, 20, 28日目に濃度区から 試験水をサンプリングし、各濃度区1回ずつ分析した。

供試魚分析は、取込開始後4,7,13,20,28日目に濃度区から魚を4尾ずつサンプリング し、2尾ずつ2回に分けて分析した。

2) 試験水分析試料の前処理

採取した試験水を下記フロー・シートに従って前処理し、高速液体クロマトグラフ質量分析(LC/MS)計で分析した。

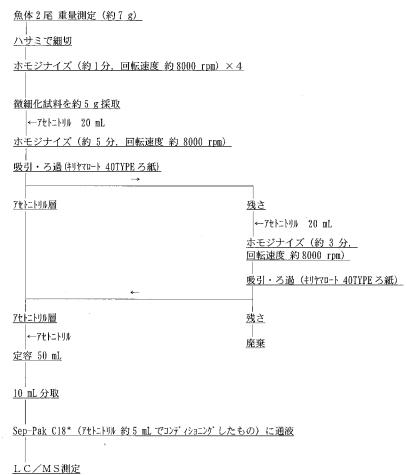
第一濃度区



*: 3M Empore Extraction Disk Octyl

3) 供試魚分析試料の前処理 採取した魚を下記フロー

採取した魚を下記フロー・シートに従って前処理し、LC/MSで分析した。



*: Waters Sep-Pak Plus C18 Cartridge

4) 高速液体クロマトグラフ質量分析(LC/MS)計測定条件

(装置)

高速液体クロマトグラフ質量分析計 Agilent 1100型 No.2

ワークステーション: Agilent 1100 シリーズケミステーション

高速液体クロマトグラフ (HPLC): Agilent Technologies 1100型

デガッサ:

G1379A型

送液ポンプ:

G1312A型(バイナリポンプ)

オートサンプラ:

G1313A型

カラムオーブン:

G1316A型

質量選択検出器 (MSD): G1946D型

(条件)

[HPLC 条件]

カラム:

GLサイエンス製 Inertsil ODS-3 粒径5 μm 3.0 mm i.d.×150 mm

カラムオーブン: 40℃

溶離液:

A1液 20mM+* 酸アンモニウム水溶液; +* 酸=1000:1

B1液 アセトニトリル

0 min A1液 50%, B1液 50% 1 min A1液 50%, B1液 50% 3 min A1液 30%. B1液 70%

流 速:

0.4 mL/min

試料注入量: $10 \mu L$

[MSD 条件]

Ionization: API-ES Fragmentor: 175 V

Nebulizer: N₂ (30 psig)

Drying gas: N₂ (10 L/min, 300°C)

Mode: Positive

SIM (Selected Ion Monitoring) 条件:

Start Time 0 min Stop Time 10 min Post Time 2 min

Quant ion m/z 198. 20 [M+H] +

上記測定条件にて標準溶液 (0~0.0100 mg/L のアセトニトリル溶液) のピーク面積を測定 し、横軸に濃度を、縦軸にピーク面積(count表示)をとり、検量線を作成した。検量線はほ ぼ原点を通る直線となり、相関係数は 0.999 と良好であった。

試料中の被験物質濃度の定量は、試料測定毎に 0.00500 mg/L 標準溶液を測定し、そのピー ク面積との比較で行った。

5) 濃縮倍率の算出

魚体中の被験物質濃度は、回収率で補正して算出した。濃縮倍率は、魚体中被験物質濃度 を、取込開始から各測定時までの試験水中被験物質濃度の平均値で割った値とした。

d) 試験結果

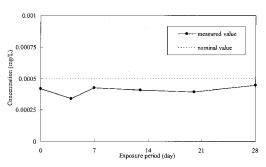
1) 試験水中の被験物質濃度

取込期間中における試験水中被験物質濃度の平均値および試験水中被験物質濃度の変動を 以下に示した。

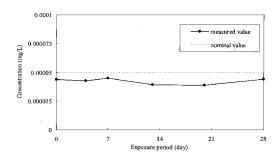
	第一濃度区	第二濃度区
平均試験水中濃度, mg/L	0. 000406	0. 0000423
変動係数,%	9. 1	6. 3

試験水中の被験物質濃度の変動

第一濃度区



第二濃度区



2) 濃縮倍率

濃縮倍率の測定結果を以下に示した。

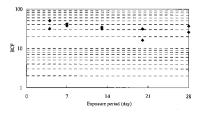
取	込 期	間	4日目	7日目	13 日目	20 日目	28 日目
笠	濃縮倍率	1	31	42	35	16	37
第一濃度区	BCFss 28	2	50	38	31	31	26
每一遍再 反	濃縮倍率	1	<15	<15	56	92	23
第二濃度区	BCF _{SS} ≤9	92 2	24	<15	26	<16	23

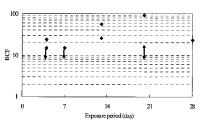
BCFss: 定常状態における濃縮倍率

濃縮倍率

第一濃度区







e) 考察

第一濃度区:48 時間以上の間隔で連続した3回の測定における濃縮倍率(平均)の変動は20%以内であり、取込期間中に定常状態に達していることを確認した。定常状態における濃縮倍率(BCF $_{SS}$)は28倍であった。

第二濃度区:48 時間以上の間隔で連続した3回の測定における濃縮倍率(平均)の変動は20%以内であることを確認できなかったが、取込期間中の濃縮倍率は全て100倍未満であったため、定常状態に達しているとみなした。定常状態における濃縮倍率(BCF_{SS})は \leq 92 倍であった。

以上の結果から、被験物質の魚類への濃縮性は低いと判断される。

			T	T
整理番号 K-1849	(2-285)	分解度試験	分解度試験	分解度試験
2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-	-オクタフルオロペンタノンー1-オ	事業対象年度 平成21年度	契 約 年 月 日	契 約 年 月 日
ール (355-80-6)		試験期間 21.12.25~22.2.26	試験期間 ~	試験期間 ~
		試験装置標・運	試験装置 標 · 揮	試験装置標・揮
構造式(示性式)・物理化学的性料	犬 _ _	試 験 濃 度	試 験 濃 度	試 験 濃 度
F F F		有機物質 10.0 mg/L 安息香酸ナトリウム 4.00mg/L 植種液 50 μL/L	被験物質 mg/L 汚 泥 mg/L	被験物質 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
F É	ĖĖ \ OΗ	間 BOD -6, -6 (0)%	間	間
分子式 C ₅ H ₄ F ₈	分子量 232.07	接	接 接	接
純 度*1 99.6%	外 観 無色透明液体	験 結 a GC -4, -7 (0)%	験結点	験結
不純物(物質名,含有率) 不明	溶解度(対水,その他) 対水 >10000mg/L	接 接	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	接接
		審査部会 第 101 回	審査部会 第 回	審査部会第回
		22年12月17日開催	年 月 日開催	年 月 日開催
		判定	判定	判定
沸 点 140℃	1-オクタノール/水分配係数	備考	備考	備考
比 重 1.6647g/cm ³		1. 実施機関 ・三菱化学メディエンス株式会社		
LD50 —	安定性	・二変化子グリイエング体式云仏		
IRチャートの有無 有・無				
用 途*2 中間物、工業用溶剤、	金料用			
生産量**2 (18年) 100~1,000	t 未満			
試 料 提供試料				
経済産業公報発表年月日	年 月 日			
11 00) = L 7 10 / 10 WHATE TO #11				

^{*1} GCによる。 *2化学物質の製造・輸入量に関する実態調査による。

								1									
濃縮度	試験		事業	対象年度	平成 2	2 1 年度	ŧ	濃	と縮度試験				年		月	月	毒性
試験期	間	2	1.	12.18	3 ~ 2	2.	3.16	結	(験期間				\sim				年 月 依
試験装	置(標)· 揮 I	_C 50 佢	直 >100mg/	/L(96hr	·)魚種(ヒメダカ)	討	大験装置 標	票・揖	I LC 50 化	直 n	ng/L(l	ır)魚	種()	
水槽設	定濃度	(mg/L)					水	、 槽設定濃度	芰 ()						賴
					分散	有								散 衤	削		
		被験物	質	2ーメトキシエタ ノール						被	験物質						経過
第1濃	度区	1		24ppm				复	第1濃度区								
第2濃	農度区	0. 1		25ppm				复	第2濃度区								
第3濃	度区							复	第3濃度区								
濃縮	倍 率	脂	質含有	有率 開始前 解子後	5.0% 5.1%	(魚和	重(コイ)	濃	と 縮 倍 率		脂質含素	有率 開始	前 後	%	魚種()	
		_	日後	 	14 日後	-	後 28 日後			_	日後	日後	日後	į į	日後	日後	
永槽》 第	濃度(mg		961	0. 956 <3	0.969	0.969	0.978	第)							
1 信	音 幸	巡	<3	<3	<3	<3	<3	1	倍	率							
水槽液	濃度(mg/	/L) 0.	0896	0.0918	0.0917	0. 092	6 0.0935	<i>h-h-</i>	水槽濃度()							
第 信	辛 幸	三	29	<28	<28	<28	<27	第 2		率							
)	29	<28	<28	<28	<27		水槽濃度()							
第								第									
3 信	音 幸	×						3	倍	率							
審査部	3会 第	第 1 0 1	口	22年	12月	17	日開催	審	香部会	第	口	年	月		日月	昇催	
判定結	果							判	定結果								
備考	等							備	青 考								
[定常状	犬態におけ	る濃縮倍率	第	51濃度区 〈	〈3倍												
	통期間にお	ける濃縮倍	率]第	32濃度区 〈	〈29倍												
[ばく露			ィエン														l

3.1 1-Pentanol, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-octafluoro-の分解度試験

a) 試験材料

1) 被験物質

名 称*1

: 1-Pentanol, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-octafluoro-

略称

: OFP

構造式*2

分子式*2

: C5H4F80

分子量*2

: 232, 07

CAS番号*2

: 355-80-6

練 度*3

: 99.6 (GC)

ロット番号*3

: M4NNA

沸 点*3

: 140℃

外 観*3

: 無色透明液体

安定性*3

: 通常の取扱い条件においては安定

*1 委託者提供資料による

*2 独立行政法人科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」

検索サービス (http://nikkajiweb.jst.go.jp) による

*3 東京化成工業株式会社提供資料による

b) 試験方法

被験物質は水中からの揮発性が高いことから、本試験は OECD Guideline for Testing of Chemicals 301D (1992) "Ready Biodegradability: CLOSED BOTTLE TEST" に準拠して実施し た。

1) 試験条件

(植 種)

植 種 源 : 成瀬クリーンセンター 二次放流水

入 手 日 : 2010年 1月 6日(BOD測定開始日に採取)

(条 件)

濃 度:被験物質

: 10.0 mg/L

安息香酸ナトリウム(対照物質) : 4.00 mg/L

35

植種液 : 50 μ L/L

液 量:300 mL(ふらんビン容量:300 ± 2.9 mL)

期 間:28日間(BOD測定)

温度:20±1℃

(試験の構成と被験物質の添加)

No.1 : 植種ブランク系(植種液+無機培地)

無機培地 *1 4 L に植種液 200 μ L を添加した後、12 本のふらんビンに分注し

No.2 : 被験物質の分解系(被験物質+植種液+無機培地)

無機培地*1 6 L に植種液 300 μL を添加し、18 本*2 のふらんビンに分注した 後, 各ふらんビンに被験物質をマイクロシリンジで 1.80 μL(3.01 mg*3)添加

した。

No.3 : 水中安定性系(被験物質+精製水)

精製水*4 6 L を 18 本*2 のふらんビンに分注し、各ふらんビンに被験物質をマ

イクロシリンジで 1.80 μL(3.01 mg⁺³)添加した。

No.4 : 分解活性確認系(対照物質+植種液+無機培地)

無機培地*141に植種液 200 μLを添加し、安息香酸ナトリウム*5水溶液 (4000

mg/L) を 4 mL 添加した後、10 本のふらんビンに分注した。

*1:無機培地を酸素飽和させてから使用

*2:18本のうち 4本は予備

*3:比重を1.6699(供給元提供資料)として算出

*4: JIS K0557 A4 グレードの水を酸素飽和させてから使用

*5: 関東化学製 試薬特級 Lot No. 804W2276

2) 装置

恒温槽

: TAITEC 製 低温恒温槽 M-210FN 型 (No.1) (暗所条件にて使用)

c) 分析方法

1) 測定項目および測定スケジュール

下記の測定スケジュールおよび連数(ふらんビン)に従って,各項目について測定を行った。

測定スケジュール

試験系	測定項目		使用する	ふらんビ	ン (本)	
		0日目	7日目	14 日目	21 日目	28 日目
No.1 植種ブランク系	溶存酸素濃度*1	2	2	2	2	
	p H*2	Z	-	-		2
	被験物質残留量	1	_	-	-	• 1
No.2 被験物質の分解系	溶存酸素濃度*1	2	2	2	2	
10,40, 10,50, 00,00 mm	p H*2	2	_	-	_	2
	被験物質残留量	2	-	-	-	2
№3 水中安定性系	溶存酸素濃度*1	2	2	2	2	
水	p H*2	Z	_	-	_	2
	被験物質残留量	2	_		_	2
No.4 分解活性確認系	溶存酸素濃度*1	9	2	2	2	0
77万十1日江北海岭水	р Н ^{*2}	2	_	, -		2
	被験物質残留量	-	_	_	_	_

*1 装置:溶存酸素計 ワイエスアイ・ナノテック製 5100型 (No.1)

*2 溶存酸素濃度測定後に測定

2) 被験物質残留量測定の前処理

300 □L 試験液 ↓

ふらんピンの水封水を捨て、カラーにピペットで 5 mL のクロロホルムをのせる。

被験物質が揮発しないようにふらんビンの栓をわずかに持ち上げ、ふらんビン中に少量ずつクロロホルムを流し込む。

全量をビーカーへ移し、ふらんビンを 40 mL のクロロホルムで洗い込んだ後、マグ ネティッウスターテーで攪拌しながら塩化ナトリウム 100 g を加える。

クロロホルムが揮発しないようにラップでビーカーの口を覆い, 5分間攪拌する。

全量を分液ロートに移し、有機相と水相を分液する。



クロロホルムで 100 皿 に定容とする。

GCに注入して被験物質残留量を測定する。

3) 被験物質残留量測定の測定条件

下記の装置および条件で被験物質を定量し、被験物質残留量を求めた。

(装 置)

ガスクロマトグラフ(GC)

GC: ヒューレット・パッカード製 6890N型 (No.1)

FID付

(条 件)

カ ラ ム : J&W製 DB-5、30 m × 0.25 mm i.d.× 1.0 μm (膜厚)

温 度 : カラム 40℃ (3 min) →20℃/min→200℃ (0 min)

注入口 280℃, 検出器 300℃

キャリアガス : ヘリウム

検出器ガス : 水素 40 mL/min, 空気 450 mL/min

メークアップ ガス : ヘリウム 45 mL/min

カラム流量 : 1.5 mL/min (コンスタントフローモード) 注入口モート : スプリット (スプリット比 5:1)

注 入 量: 4 μ L

4) 被験物質濃度の定量

検量線の濃度とピーク面積の相関は良好であったことから,試験液中の被験物質の定量は 標準溶液 (30.1 mg/L) で得られるピーク面積との比較で行った。被験物質の検出限界は,最小検出ピーク面積を 1 pA・sec に設定し,これに相当する培養ビン中の被験物質量から,0.03 mg とした。

なお、被験物質残留量の測定値は、被験物質の分解系は平均回収率 91%、水中安定性系は平均回収率 100%で補正した。

d) 分解度の算出式

1) BOD分解度

分解度(%)=BOD/ThOD×100

BOD : 被験物質または対照物質の生物化学的酸素消費量 (mg02/mg) ThOD: 被験物質または対照物質の理論的酸素要求量 (mg02/mg)

BODの計算

被験物質の分解系および分解活性確認系

BOD (mg02/mg) = [(DO0-DOx) - (DOb0a-DObxa)]/C

水中安定性系

BOD (mg02/mg) = (DO0-DOx)/C

C :被験物質または対照物質の仕込み濃度 (mg/L)

DO0 : 0 日目の溶存酸素濃度の平均値 (mg02/L)

DOx : x 日目の溶存酸素濃度 (mg02/L)

DOb0a:植種プランク系における0日目の溶存酸素濃度の平均値(mg02/L)

DObxa:植種プランク系におけるx日目の溶存酸素濃度の平均値(mg02/L)

理論的酸素要求量(ThOD)の計算

安息香酸ナトリウム: 1.67 mg02/mg

安息香酸ナトリウムが下記のように無機化されるとして算出した。 C7H5O2Na + 15/2O2 → 7CO2 + 5/2H2O + 1/2Na2O

被験物質: 0.483 mg02/mg

被験物質が下記のように無機化されるとして算出した。 C5H4OF8+ 7/2O2 + 2H2O → 5CO2 + 8HF

2) 被験物質残留量からの分解度

分解度 (%) = $(1 - C \text{ s} / C \text{ i}) \times 100$

Ci:被験物質仕込み量(mg)

Cs : 28日目の被験物質の分解系中の被験物質量 (mg)

ただし、水中安定性系の被験物質残留量が仕込み量の 90%未満であったため、上記の式より得られた結果は消失率とした。

e) 試験結果

試験結果を以下にまとめた。

1) 植種の分解活性

安息香酸ナトリウムのBOD分解度は、14日目に 60%以上(ともに 88%)であった。

2) 28日目の結果

評価項目	被験物質	の分解系	水中安	定性系	理論値
	1	2	1	2	
BOD, mg02/mg	-0. 03	-0. 03	0. 01	0. 01	0. 483
被験物質,mg	3. 13	3. 21	2.80	2. 33	3. 01

3) 28日目の分解度

分 解 度	被験物質の分解系			水中安定性系		
	1	2	平均值	1	2	平均値
BOD分解度,%	0 (-6) *1	0 (-6) *1	0			
被験物質の消失率*2, %	0 (-4) *1	0 (-7) *1	0	7	23	15

- *1 分解度が負の値に算出されたため、カッコ内にその計算値を示す
- *2 水中安定性系の値が仕込み理論量の 90%未満となったため、消失率を示す

f) 考察

被験物質の分解系において、28日目のBOD分解度がともに 0%、被験物質の消失率がともに 0%であったことから、被験物質は難分解性で構造変化を受けなかったと判断される。

3.2 1-Pentanol, 2.2.3.3.4.4.5.5-octafluoro-の濃縮度試験

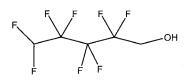
a) 試験材料

1) 被験物質

名 称*1

: 1-Pentanol, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-octafluoro-

構造式*2



分子式*2

: C5H4F2O

分子量*2

: 232. 07

CAS番号*2

: 355-80-6

純 度*3

: 99.6 (GC)

ロット番号*3

: M4NNA

沸 点*3

: 140°C

UP AIN

外 観*3

: 無色透明液体

安定性*8

: 通常の取扱い条件においては安定

- *1 委託者提供資料による
- *2 独立行政法人科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」 検索サービス (http://nikkajiweb.jst.go.jp) による
- *3 東京化成工業株式会社提供資料による

2) 供試魚

体重約 4 g, 全長約 8±4 cm のコイ (Cyprinus carpio) を使用した。

3) 試験用水

横浜市水道水を活性炭ろ過およびチオ硫酸ナトリウム添加により脱塩素処理し、試験用水 として使用した。

b) 試験方法

「新規化学物質等に係る試験の方法について<魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験>」(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,最終改正:平成 18 年 11 月 20 日) に準拠して実施した。

ヒメダカに対する 96hr-LC $_{50}$ 値は >100 mg/L であった。濃縮度試験の試験濃度は、この濃度の 1/100 以下(第一濃度区)、1/1000 以下(第二濃度区)である 1 および 0.1 mg/L に設定した。

流水式の濃縮度試験装置を,第一濃度区(高濃度区)および第二濃度区(低濃度区)としてそれぞれ1系列設置し、被験物質を含む水中で魚を飼育した。また、コントロール区として1系列設置し被験物質を含まない水中で魚を飼育した。この間、試験水および魚体中の被験物質濃度を定期的に測定し、その対比により濃縮倍率を求め魚類への濃縮性を評価した。

c) 分析方法

1) 試験水および供試魚の分析回数

試験水分析は, 魚の投入前(0日目) および取込開始後4, 7, 14, 21, 28日目に濃度区から 試験水をサンプリングし, 各濃度区1回ずつ分析した。

供試魚分析は、取込開始後4, 7, 14, 21, 28日目に濃度区から魚を4尾ずつサンプリング し、2尾ずつ2回に分けて分析した。

2) 試験水分析試料の前処理

採取した試験水を下記フロー・シートに従って前処理し、高速液体クロマトグラフ質量分析(LC/MS)計で分析した。

第一濃度区

Ţ

試験水をオートサンプラ用バイアルに採取

LC/MS測定

第二濃度区

試験水 100 mL

<u>エムポアディスク C18*47 mm (予め HPLC 用アセトニトリル約 5 mL.</u> 精製水約 5 mL でコンディショニングしたもの) に通水 (アスピレーターで吸引)

溶出 HPLC 用アセトニトリル 4.8 mL×2

通過液

←HPLC 用アセトニトリル

廃棄

定容 10 皿

LC/MS測定

* エムポアディスク C18:3M Empore Extraction Disk Octadecyl

3) 供試魚分析試料の前処理

採取した魚を下記フロー・シートに従って前処理し、LC/MSで分析した。

魚体2尾 重量測定(約8g)

ハサミで細切

ホモジナイズ (約2分, 回転速度 約8000 rpm) ×3

微細化試料を2g採取

脂質含量測定用保存試料(≥1 g, -20℃の冷凍庫で保管)

←アセトニトリル 40 mL

ホモジナイズ (約3分, 回転速度 約8000 rpm)

吸引・ろ過 (キリヤマロート 40TYPE S-60 ろ紙)

アセトニトリル層

←7セトニトリル 40 mL

ホモジナイズ (約3分, 回転速度 約8000 rpm)

<u>吸引・ろ過(キリヤマロート 40TYPE S-60 ろ紙)</u>

アセトニトリル層

←アセトニトリル

残さ | |廃棄

残さ

定容 100 mL

約 10 mL 分取

<u>メンプレンフィルター 0.22 μm*に通液</u>

L C/MS測定

* メンプ・レンフィルター 0.22 μm: Millex-GV 0.22μm Filter Unit

4) 高速液体クロマトグラフ質量分析(LC/MS)計測定条件

(装置)以下2台のLC/MSを使用した。

高速液体クロマトグラフ質量分析計 Agilent 1100型 No.3

ワークステーション: Agilent 1100 シリーズケミステーション

高速液体クロマトグラフ (HPLC): Agilent Technologies 1100型

デガッサ:

G1379A型

送液ポンプ:

G 1 3 1 2 A型 (パイナリポンプ)

オートサンプラ: G1313A型

カラムオーブン:

G1316A型

質量選択検出器 (MSD): G1946D型

高速・高分離液体クロマトグラフ質量分析計 SL-HT システム No.1

ワークステーション: Agilent 1200 シリーズケミステーション

高速・高分離液体クロマトグラフ: Agilent Technologies 1200型

デガッサ:

G1379B型

送液ポンプ:

G1312B型 (パイナリポンプ)

オートサンプラ:

G1367C型

カラムオーブン: G1316B型

質量選択検出器 (MSD): G6140A型

(条件)

[HPLC 条件]

GLサイエンス製 Inertsil ODS-3、5 μm、3.0 mm i.d.×150 mm

カラムオーブン: 40℃

カラム: 溶離液:

A液 20 mM ギ酸アンモニウム水溶液:ギ酸=1000:1 (v/v)

B液 アセトニトリル*

A液 50%, B液 50%

流 速:

0.4 mL/min

試料注入量:

Agilent 1100型 No.3:5 μL

SL-HTシステム No.1:10 μL

[MSD 条件]

Ionization: API-ES

Fragmentor: 75 V

Nebulizer: N2 (30 psig)

Drying gas: N2 (11 L/min, 300℃)

Mode:

Negative SIM (Selected Ion Monitoring) 条件:

Quant ion

m/z 277.20 [M+HC00]

* アヤトニトリル:

HPLCグレード

上記測定条件にて標準溶液 (0~2.00 mg/L) のピーク面積を測定し、横軸に濃度を、縦軸 にピーク面積(count 表示)をとり、検量線を作成した。検量線はほぼ原点を通る直線となり、

相関係数は Agilent 1100型 No.3 では 1,0000、SL-HT システム No.1 では 1,0000 となり、いずれも 良好であった。

試料中の被験物質濃度の定量は、試料測定毎に 1.00 mg/L 標準溶液を測定し、そのピーク 面積との比較で行った。

5) 濃縮倍率の算出

魚体中の被験物質濃度は、回収率で補正して算出した。濃縮倍率は、魚体中被験物質濃度 を、取込開始から各測定時までの試験水中被験物質濃度の平均値で割った値とした。

d) 試験結果

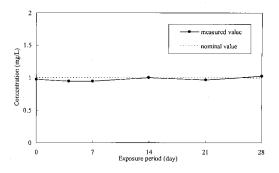
1) 試験水中の被験物質濃度

28日間の取込期間中における試験水中被験物質濃度の平均値および試験水中被験物質濃度 の変動を以下に示した。

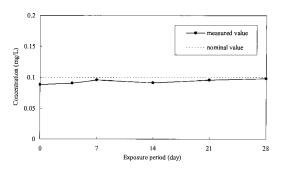
	第一濃度区	第二濃度区
平均試験水中濃度,mg/L	0. 978	0. 0935
変動係数,%	3. 2	4. 0

試験水中の被験物質濃度の変動

第一濃度区



第二濃度区



2) 濃縮倍率

濃縮倍率(BCF)の測定結果を以下に示した。

	取 込 期 間		4日目	7日目	14 日目	21 日目	28 日目
第一濃度区	濃縮倍率	1	<3	<3	<3	<3	<3
	BCF _{ss} <3	2	<3	<3	<3	<3	<3
第二濃度区	濃縮倍率	1	<29	<28	<28	<28	<27
	BCFss <29	2	<29	<28	<28	<28	<27

e) 考察

48 時間以上の間隔で連続した3回の測定における濃縮倍率(平均)の変動は、両濃度区とも20%以内であることを確認できなかったが、取込期間中の濃縮倍率は全て100 倍未満であったため、定常状態に達しているとみなした。定常状態における濃縮倍率(BCFss)は第一濃度区が〈3倍、第二濃度区が〈29倍であった。

以上の結果から、被験物質の魚類への濃縮性は低いと判断される。