

最終報告書

アセチレン（被験物質番号 K-1077）の微生物による分解度試験

財団法人 化学工業安全協会
化学工業安全研究所

陳 述 書

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター久留米研究所

試験委託者 通商産業省

● 試験の表題 アセチレン（被験物質番号 K-1077）の微生物による分解度試験

試験番号 21077

● 上記試験は、「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」（環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和59年3月31日、昭和63年11月18日改正）に定める「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(May 12, 1981)に従って実施したものです。

平成 8 年 6 月 26 日

運営管理者



信頼性保証書

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター久留米研究所

試験委託者 通商産業省

試験の表題 アセチレン（被験物質番号 K-1077）の微生物による
分解度試験

試験番号 21077

上記試験は財団法人化学品検査協会化学品安全センター久留米研究所の
信頼性保証部門が監査及び査察を実施しており、監査又は査察を行った日付
並びに運営管理者及び試験責任者に報告を行った日付は以下の通りです。

監査又は査察日	報告日（運営管理者）	報告日（試験責任者）
平成 8 年 3 月 2 2 日	平成 8 年 3 月 2 2 日	平成 8 年 3 月 2 2 日
平成 8 年 3 月 2 7 日	平成 8 年 4 月 2 日	平成 8 年 4 月 2 日
平成 8 年 4 月 1 1 日	平成 8 年 5 月 1 日	平成 8 年 5 月 1 日
平成 8 年 4 月 2 4 日	平成 8 年 5 月 1 日	平成 8 年 5 月 1 日
平成 8 年 4 月 2 6 日	平成 8 年 5 月 1 日	平成 8 年 5 月 1 日
平成 8 年 5 月 2 8 日	平成 8 年 5 月 2 8 日	平成 8 年 5 月 2 8 日
平成 8 年 6 月 2 6 日	平成 8 年 6 月 2 6 日	平成 8 年 6 月 2 6 日

本最終報告書は、試験の方法が正確に記載されており、内容が試験計画及び
標準操作手順に従い、かつ、生データを正確に反映していることを保証します。

平成 8 年 6 月 26 日

信頼性保証業務責任者



目 次

	頁
要 約	1
1. 表 題	2
2. 試験委託者	2
3. 試験施設	2
4. 試験目的	2
5. 試験方法	2
6. 適用する優良試験所基準	2
7. 試験期間	3
8. 試験関係者	3
9. 最終報告書作成日	3
10. 最終報告書の承認	3
11. 被 験 物 質	4
12. 分解度試験の実施	6
13. 試験条件の確認	1 3
14. 試 験 結 果	1 3
15. 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	1 3
16. 試資料の保管	1 4
17. 備 考	1 4
18. 表及び図の内容	1 5

付表及び付図

要 約

1. 試験の表題

アセチレン（被験物質番号 K-1077）の微生物による分解度試験

2. 分解度試験

2.1 試験条件

- | | |
|-------------|-----------|
| (1) 被験物質濃度 | 1.56 mg/L |
| (2) 活性汚泥濃度 | 1 滴/L |
| (3) 試験液量 | 102 mL |
| (4) 試験液培養温度 | 20 ± 1 °C |
| (5) 試験液培養方法 | 密栓状態で静置 |
| (6) 試験液培養期間 | 28 日間 |

2.2 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）による被験物質の分析

3. 試験結果

- | | | |
|----------------|----|-----|
| (1) BOD による分解度 | 平均 | 0 % |
| (2) GC による分解度 | 平均 | 1 % |

4. 被験物質の安定性

被験物質は保管条件下で安定であることを確認した。

最終報告書

試験番号 21077

- | | |
|----------------|--|
| 1. 表 題 | アセチレン（被験物質番号 K-1077）の微生物による分解度試験 |
| 2. 試験委託者 | 名 称 通商産業省
住 所 （〒100）東京都千代田区霞が関一丁目3番1号 |
| 3. 試験施設 | 名 称 財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター久留米研究所
住 所 （〒830）福岡県久留米市中央町19-14
TEL （0942）34-1500
運営管理者 XXXXXXXXXX |
| 4. 試験目的 | クローズドボトル法により、K-1077の微生物による分解性の程度について知見を得る。 |
| 5. 試験方法 | 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」(July 17, 1992)に定める "Ready Biodegradability : 301D, Closed Bottle Test" に準拠した。 |
| 6. 適用する優良試験所基準 | 「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について」（環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和59年3月31日、昭和63年11月18日改正）に定める「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設に関する基準」（以下「GLP基準」という。）及び「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(May 12, 1981)に適合して行った。 |

7. 試験期間

(1) 試験開始日 平成 8 年 3 月 22 日

(2) 試験液培養開始日 平成 8 年 3 月 27 日

(3) 試験液培養終了日 平成 8 年 4 月 24 日

(4) 試験終了日 平成 8 年 6 月 18 日

8. 試験関係者

試験責任者

試験担当者

試験資料管理部門責任者

9. 最終報告書作成日

平成 8 年 6 月 18 日

作成者

10. 最終報告書の承認

試験責任者

平成 8 年 6 月 18 日

氏名

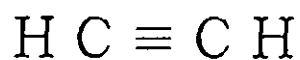
11. 被 験 物 質

本報告書においてK-1077は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

11.1 名 称 アセチレン

11.2 構造式等

構造式



分子式 C_2H_2

分子量 26.04

11.3 純 度^{*1} 98%以上

不純物 窒素

アセトン等

11.4 入手先、商品名及びロット番号^{*1}

(1) 入 手 先

(2) 商 品 名

(3) ロット番号

*1 入手先添付資料による。

11.5 被験物質の確認

赤外吸収スペクトル (Fig. 4 参照)、質量スペクトル (Fig. 5 参照) 及び核磁気共鳴スペクトル (Fig. 6 参照) により構造を確認した。

11.6 保管条件及び保管条件下での安定性

- (1) 保管条件 被験物質は試薬としての入手が困難であったため、原子吸光分光光度計用のアセチレンを522機器室のバルブから分取して使用した。よって、試験中の被験物質は高圧ガス設置施設に静置して保存した。
- (2) 安定性確認 試験液培養開始前及び培養終了後に被験物質の赤外吸収スペクトルを測定した結果、両スペクトルは一致し、保管条件下で安定であることを確認した (Fig. 4 参照)。

12. 分解度試験の実施

12.1 試験の準備

(1) 活性汚泥

採取汚泥	都市下水処理場返送汚泥
採取場所	福岡県久留米市津福下水処理場
採取日	平成 8 年 3 月 27 日

(2) 活性汚泥の準備

上記で採取した汚泥をNo.2ろ紙でろ過し、初めの200mLを廃棄した。さらにろ過したろ液を活性汚泥とした。活性汚泥は使用当日に採取し、使用するまで好気状態に保った。

(3) 活性汚泥の生菌数

9.1×10^4 個/mL

(4) 無機培地の調製

精製水（高杉製薬製 日本薬局方）1 L に対し、クローズドボトル法で定められた溶液 1、2、3 及び 4 を各 1 mL の割合で添加した。

溶液 1 : リン酸二水素カリウム 8.5 g、リン酸水素二カリウム 21.75 g、リン酸水素二ナトリウム・2水和物 33.4 g 及び塩化アンモニウム 0.5 g を精製水に溶解し、1 L に定容した。

溶液 2 : 硫酸マグネシウム・7水和物 22.5 g を精製水に溶解し、1 L に定容した。

溶液 3 : 塩化カルシウム無水物 27.5 g を精製水に溶解し、1 L に定容した。

溶液 4 : 塩化鉄（Ⅲ）・6水和物 0.25 g を精製水に溶解し、1 L に定容した。

(5) 活性汚泥の添加

無機培地 1 L に対し、(2) で調製した活性汚泥を先の鋭ったピペットで 1 滴の割合で添加した。

(6) 基準物質

ドデシル硫酸ナトリウム（東京化成工業製 試薬特級）を用いた。

12.2 試験液の調製

試験容器を25個用い、試験液を下記の方法で調製し、これらの試験液について、12.3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1.56mg/Lになるように被験物質飽和水溶液*²を100μL添加した。

(2) (汚泥+被験物質)系(8個)

試験容器に活性汚泥を含む無機培地を満たし、被験物質濃度が1.56mg/Lになるように被験物質飽和水溶液*²を100μL添加した。

(3) (汚泥+ドデシル硫酸ナトリウム)系(6個)

活性汚泥を含む無機培地でドデシル硫酸ナトリウム3mg/L溶液を調製し、これを試験容器に満たした。

(4) 汚泥ブランク系(9個)

試験容器に活性汚泥を含む無機培地を満たした。

*2 被験物質をガス洗瓶に通して精製水で洗浄した後、精製水約30mLを入れた100mL容真空捕集瓶に満たした。このようにして調製した被験物質飽和水溶液の被験物質濃度は1590mg/Lであった。

12.3 試験液培養装置及び環境条件

- | | |
|-------------|-----------------|
| (1) 試験液培養装置 | インキュベーター(三洋電機製) |
| (2) 試験容器 | 102mL容培養瓶 |
| (3) 試験液培養温度 | 20±1℃ |
| (4) 試験液培養方法 | 密栓状態で静置した。 |
| (5) 試験液培養期間 | 28日間 |
| (6) 実施場所 | 511クーロ室 |

12.4 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 0102-1993, 32.1 の「ウインクラー・アジ化ナトリウム変法」により DO を測定し、生物化学的酸素要求量（BOD）とした。

分析日及び連数

(1) （汚泥＋被験物質）系及び（汚泥＋ドデシル硫酸ナトリウム）系

分析日 5, 15及び28日後

連 数 $n = 2$

(2) 汚泥ブランク系

分析日 試験液培養開始時, 5, 15及び28日後

連 数 $n = 2$

12.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中に残留している被験物質を分析した。

分析連数

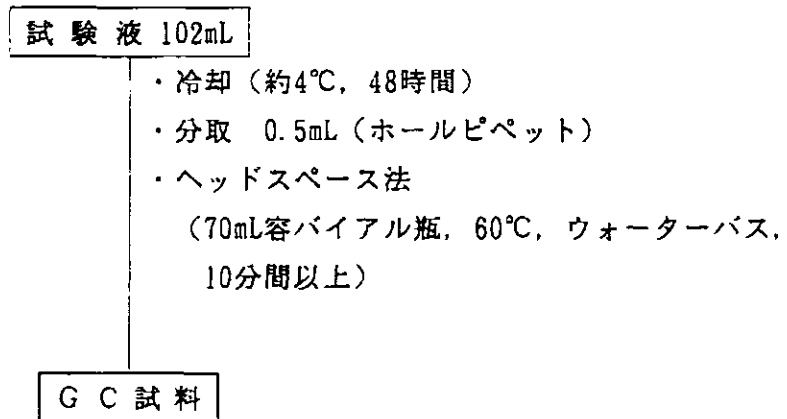
(1) （水＋被験物質）系及び（汚泥＋被験物質）系 $n = 2$

(2) 汚泥ブランク系 $n = 1$

12.5.1 試験液の前処理

試験液培養期間終了後、（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）試料とした。

フロースキーム



12.5.2 定量分析

ガスクロマトグラフィーによる被験物質の分析

前処理を行って得られたGC試料について、下記の定量条件に基づき被験物質を分析した。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定濃度ガス0.0153mg/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（Table-3、Fig. 3 参照）。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して $2000\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ （被験物質濃度 $0.18\mu\text{g/L}$ ）とした。

(1) 定量条件

機	器	ガスクロマトグラフ
		島津製作所製 GC-17A
検	出	器
カ	ラ	ム
		25m×1.2mmφ ガラス製
液	相	G-950 膜厚 25μm
カ	ラ	ム
温	度	50℃
試	料	導
入	部	温
度		150℃
キ	ャ	リ
ヤ	ー	ガ
ス		ス
ヘ	リ	ウ
ム		20mL/min
水	素	60kPa
空	気	50kPa
注	入	量
		1.0mL
感	度	
検	出	器
		レンジ 10°
記	録	計
		レンジ 50mV

(2) 定濃度ガスの調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための定濃度ガスの調製は次のように行った。

気体状態の被験物質をガスタイトシリンジで1 mL [$1.08\text{mg} = 1\text{mL} \times 1.083\text{mg/cm}^3$ (ガス密度, 20°C)] 分取し、1011mL容真空捕集瓶に注入して1.07 mg/Lの被験物質ガスを調製した。これを1mL分取し、70mL容バイアル瓶に注入して0.0153mg/Lの定濃度ガスとした。

(3) 検量線の作成

(2)の定濃度ガスの調製と同様にして0.00383、0.00765及び0.0153mg/Lの定濃度ガスを調製した。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 (Fig. 1 参照)。

12.5.3 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、12.2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12.5.1及び12.5.2に従い、回収試験を行った。また、12.2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 (Table-2、Fig. 2 参照)。

(水 + 被験物質)系回収率	96.4%,	98.1%	平均	97.3%
(汚泥 + 被験物質)系回収率	92.2%,	89.3%	平均	90.7%

12.6 分解度の算出

被験物質の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による分解度

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

BOD x : x 日後の(汚泥+被験物質)系の生物化学的酸素要求量
(測定値) (mgO₂/L)

TOD^{*3} : 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
酸素要求量(計算値) (mgO₂/L)

*3 TODは純度100%として計算した。

(2) GCによる分解度

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

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

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

12.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8202-1985 参考3 規則Bに従った。

13. 試験条件の確認

BODから求めたドデシル硫酸ナトリウムの28日後の分解度は66%であることから、本試験の試験条件が有効であることを確認した。

14. 試験結果

14.1 分解度

	分 解 度 (%)			付 表
	5 日 後	15 日 後	28 日 後	
B O D に よ る 結 果	0	0	0	Table-1
G C に よ る 結 果	—	—	1	Table-3

15. 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。

16. 試資料の保管

16.1 被験物質

被験物質は通常気体状態にあるため、保存が困難である。よって、被験物質は保管しない。

16.2 生データ、資料等

試験により得られた分析結果、測定結果、観察結果、その他試験ノート等最終報告書の作成に用いた生データ、試験計画書、指示書、資料等は最終報告書と共に、試験委託者から通知を受けるまでの期間、当研究所資料保管室に保管する。

17. 備 考

17.1 試験に使用した機器

ガスクロマトグラフ	: 10頁参照
インキュベーター	: 7頁参照

17.2 分析に使用した試薬

溶存酸素測定用

アジ化ナトリウム	: 片山化学工業製	公害分析用
よう化カリウム	: 片山化学工業製	試薬特級
水酸化カリウム	: 和光純薬工業製	試薬特級
硫酸マンガン(Ⅱ)五水和物	: 和光純薬工業製	試薬特級
硫酸	: 和光純薬工業製	試薬特級
N/40チオ硫酸ナトリウム溶液	: 片山化学工業製	容量分析用
水溶性でんぷん	: 和光純薬工業製	試薬一級

無機培地調製用

りん酸二水素カリウム	: 和光純薬工業製	試薬一級
りん酸水素二カリウム	: 和光純薬工業製	試薬一級
りん酸水素二ナトリウム(2水和物)		
	: キシダ化学製	試薬特級
塩化アンモニウム	和光純薬工業製	試薬特級
硫酸マグネシウム・7水和物	: 和光純薬工業製	試薬特級
塩化カルシウム(無水)	: 和光純薬工業製	試薬特級
塩化鉄(Ⅲ)・6水和物	: 昭和化学製	試薬一級