

# 最 終 報 告 書

臭化メタン（臭化メチル）（被験物質番号 K-171）の  
微生物による分解度試験

財団法人 化学品検査協会  
化学品安全センター九州試験所

## 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. 試験期間	2
7. 試験関係者	3
8. 最終報告書の承認	3
9. 被験物質	4
10. 分解度試験の実施	6
11. 試験結果	13
12. 考 察	14
13. 試資料の保管	15
14 備 考	15
15. 表及び図の内容	16
付 表	
付 図	

## 要 約

### 1. 試験の表題

臭化メタン（臭化メチル）（被験物質番号 K-171）の微生物による分解度試験

### 2. 分解度試験

Closed Bottle試験に準ずる。

#### 2.1 試験条件

- (1) 被験物質濃度 - 5.01 及び 10.0 mg/l
- (2) 活性汚泥濃度      1 滴/l
- (3) 試験液量      125 ml
- (4) 試験液培養温度    20±1 °C
- (5) 試験液培養期間    28 日間

#### 2.2 測定及び分析

生物化学的酸素要求量（BOD）の測定

### 3. 試験結果

BODによる分解度      17 及び 15%

### 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 20171

1. 表 題 臭化メタン（臭化メチル）（被験物質番号 K-171）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九州試験所

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 被験物質K-171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化学品テストガイドライン 301D Closed Bottle試験に準ずる。

6. 試験期間

(1) 試験開始日 昭和63年 1月27日

(2) 試験実施期間

試験液培養開始日 昭和63年 1月27日

試験液培養終了日 昭和63年 2月24日

(3) 試験終了日 昭和63年 3月17日

The map shows the northern Adriatic coastline, with Italy to the west and Slovenia to the east. Sampling stations are marked with numbers 1 through 10. Station 1 is near the Italian coast, while stations 2-10 are further east, closer to the Slovenian coast. The map includes latitude lines (45°N, 46°N) and longitude lines (13°E, 14°E).

\_\_\_\_\_

[REDACTED]  
[REDACTED]

\_\_\_\_\_

昭和63年 3月17日

[REDACTED]

昭和63年3月17日

氏 名

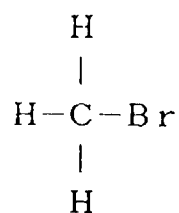
## 9. 被験物質

本報告書において被験物質K-171は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

9.1 名 称 臭化メタン（臭化メチル）

9.2 構造式等

構造式



分子式  $\text{CH}_3\text{Br}$

分子量 94.94

9.3 純 度<sup>\*1</sup> 99%

\*1 添付資料による。

9.4 入手先及びロット番号

(1) 入 手 先

(2) ロット番号 AZ01及び

AZ03（溶解性及び分配係数測定に使用した。純度99%）

## 9.5 同 定

赤外吸収スペクトル及び質量スペクトルにより構造を確認した。

## 9.6 物理化学的性状

外 観	無色透明液体 (0℃において)	
融 点 <sup>*2</sup>	-93.7℃	
沸 点 <sup>*2</sup>	3.56℃	
蒸 気 圧 <sup>*2</sup>	1140.8 mmHg (15.6℃)	
蒸気密度 <sup>*2</sup>	3.999 g/ℓ (20℃)	
溶 解 性	水	18 g/ℓ (20℃)
	ヘキサン	100 g/ℓ以上 (0℃)
	クロロホルム	100 g/ℓ以上 (0℃)
	酢酸エチル	100 g/ℓ以上 (0℃)
	メタノール	100 g/ℓ以上 (0℃)

赤外吸収スペクトル (図-6参照)

質量スペクトル (図-7参照)

\*2 化学防災指針3 (丸善株式会社発行) による。

## 9.7 保管条件及び保管条件下での安定性

(1) 保 管 条 件 -25℃

(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 (図-6参照)、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。

## 10. 分解度試験の実施

### 10.1 試験の準備

#### (1) 活性汚泥

使用汚泥	福岡県内下水処理場返送汚泥
採取日	昭和63年 1月27日
採取日の天候	晴れ
準備	上記汚泥をろ紙 (No.2) でろ過し、初めの200 mlを廃棄した。ろ液の残りを曝気して植種した。
濃度	無機栄養塩溶液 1 l 中に先の鋭ったピペットで1滴加えたものを使用した。
生菌数	$19.5 \times 10^4$ 個/ml

#### (2) 無機栄養塩溶液の調製

精製水（高杉製薬製 日本薬局方）1 l に対し、Closed Bottle 試験で定められた溶液 1, 2, 3 及び 4 各 1 ml の割合で添加した。

#### (3) 基準物質

アニリン（昭和化学製 試薬特級 ロット番号 268333 ）を用いた。

#### (4) 試験容器

125 ml 用バイアルびんを用い、テフロンシリコンセプタム及びアルミシールで密栓をした。

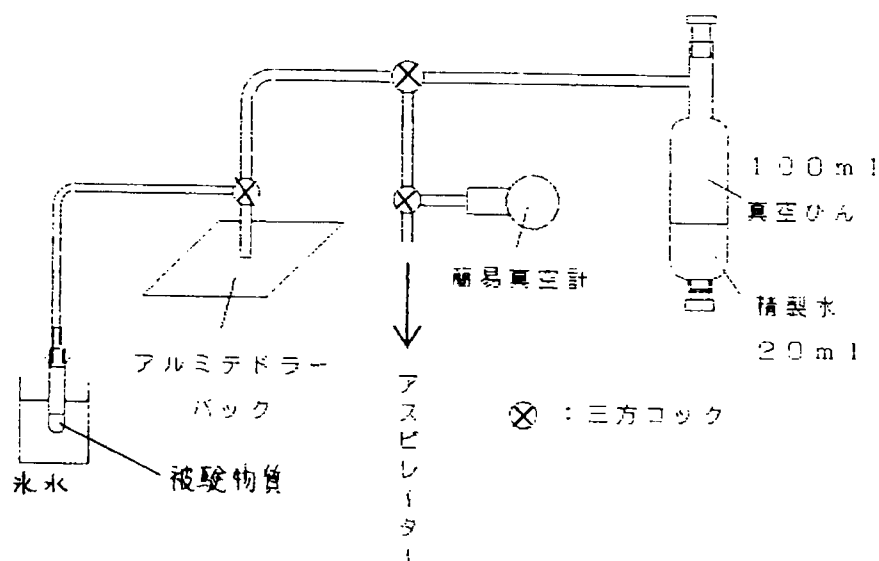


## 10.2 被験物質飽和溶液の調製

被験物質は室温で気体のため、下記のように飽和溶液を調製し、添加に供した。

### (1) 飽和溶液の調製

真空捕集びんに精製水20mlを入れ、下図のような装置を組み、20℃に保つ。約70mmHgまで減圧にした後、被験物質を温水（約20℃）で温め、系全体に満たし、大気圧と等しくする。この操作を再度行い、真空捕集びんを手で2分間振とう後、1時間静置し、再び手で2分間振とうした。



### (2) 飽和溶液の濃度測定

(1) で調製した飽和溶液 0.1mlを、エタノールを満した 125mlのバイアルびん中に注入し、密栓後、10.5 (2)の定量条件に基づきガスクロマトグラフによる分析を行った（図-3、表-3参照）。

この結果、飽和溶液は 17910  $\mu\text{g/ml}$ であった。

### 10.3 試験液の調製

被験物質の揮発性を考慮して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、10.4の条件で培養を行った。

#### (1) 酸素測定用ブランク

試験容器に無機栄養塩溶液を入れた。

#### (2) 汚泥ブランク

試験容器に活性汚泥を含む無機栄養塩溶液を入れた。

#### (3) 汚泥+被験物質

試験容器に活性汚泥を含む無機栄養塩溶液を入れ、10.2で示した被験物質飽和溶液 17910 $\mu$ g/mlを 0.035及び0.07ml注入して、被験物質濃度5.01及び10.0mg/lに調製した。

#### (4) 水+被験物質

試験容器にエアレーションした精製水を入れ、10.2で示した被験物質飽和溶液 17910 $\mu$ g/mlを0.07ml注入して、被験物質濃度10.0mg/lに調製した。

#### (5) 汚泥+アニリン

試験容器に活性汚泥を含む無機栄養塩溶液を入れ、アニリンを2mg/lになるように添加した。

### 10.4 環境条件

試験液培養装置	インキュベーター（サンヨー電気製）
試験液培養温度	20 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C
試験液培養期間	28日間
試験液培養方法	暗所に密栓状態で静置

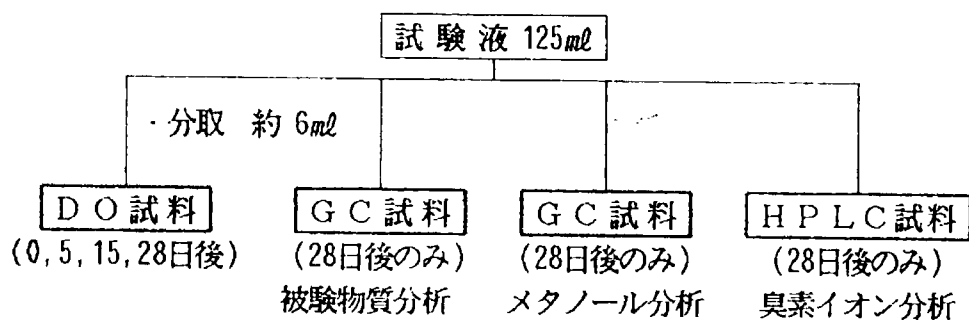
## 10.5 試験液の測定

### (1) 試験液の前処理

酸素測定用ブランク、汚泥ブランク、(汚泥+被験物質)系及び(汚泥+アニリン)系の各試験液について下記のフロースキームに従って前処理操作を行い、溶存酸素を測定するためのDOメーター(DO)試料とした。

28日後の10.0mg/lの(汚泥+被験物質)系及び(水+被験物質)系については、被験物質及びメタノールを分析するためのガスクロマトグラフ(GC)試料、さらに臭素イオンを分析するための高速液体クロマトグラフ(HPLC)試料とした。

フロースキーム



### (2) 溶存酸素測定

0, 5, 15及び28日後にインキュベーターから試験容器を取出し、酸素電極法により溶存酸素を測定した(表-2、図-2参照)。

(3) ガスクロマトグラフによる被験物質の分析

28日後、被験物質濃度10.0mg/lの（汚泥+被験物質）系及び（水+被験物質）系の各試験液について下記定量条件に基づき被験物質を分析した。試料中の被験物質の濃度は、データ処理装置で得られた標準20.0mgのピーク高さと試料のピーク高さとを比較し、比例計算して求めた（表-4、図-4参照）。

ピーク高さの測定限界はノイズレベルを考慮して2mm（被験物質 0.8mg）とした。

(a) 定量条件

機	器	日立製作所製 型163
検	出	器 水素炎イオン化検出器（FID）
カ	ラ	ム 1m×3mmφ、ガラス製
液	相	n-オクタン
担	体	ポラシルC
カ	ラ	ム 温度 50℃
キャ	リ	ヤーガス 窒素
流	量	40ml/分
注	入	量 標準ガス 0.1ml
		試験液 2μl

(b) 検量線の作成

気体状態の被験物質の一定量を真空捕集びんへ注入して、標準ガスを調製した。この標準ガス 0.1mlを前記の定量条件に従ってGC分析を行い、それぞれのピーク高さと絶対量とに基づき検量線を作成した（図-5参照）。

標準ガスの調製法は下記のとおりである。

被験物質 容 量 ( ml )	被験物質 <sup>*3</sup> 重 量 ( mg )	真空捕集 びん容量 ( l )	標準ガス 濃 度 ( mg/l )	0.1ml中 の絶対量 ( mg )
0.0255	0.102	1.025	0.099	9.9
0.0515	0.206	1.028	0.200	20.0
0.105	0.420	1.037	0.405	40.5

\*3 被験物質重量 = 被験物質容量 × 蒸気密度 ( 3.999mg/ml )

(4) ガスクロマトグラフによる変化物（メタノール）の分析

28日後、被験物質濃度 $10.0\text{mg/l}$ の（汚泥＋被験物質）系及び（水＋被験物質）系の各試験液について下記定量条件に基づきメタノールを分析した。試料中のメタノールの濃度は、データ処理装置で得られた標準溶液 $2\text{mg/l}$ のピーク高さとし、試料のピーク高さとを比較し、比例計算して求めた（表－5、図－6参照）。

ピーク高さの測定限界はノイズレベルを考慮して $50\mu\text{V}$ （メタノール濃度 $0.08\text{mg/l}$ ）とした。

(a) 定量条件

機	器	島津製作所製 GC-9A
検	出	器
カ	ラ	水素炎イオン化検出器（FID）
ム		メガボア GS-Q
		$30\text{m} \times 0.53\text{mm}\phi$ ，ガラス製
カ	ラ	ム
温	度	$70^{\circ}\text{C}$
キャ	リ	ヤーガス
		ヘリウム
流	量	$20\text{ml/分}$
注	入	量
		$3\mu\text{l}$

(b) 検量線の作成

メタノール  $100\text{mg}$ を精製水に溶解し、 $100\text{ml}$ に定容して $1000\text{mg/l}$ の標準原液を調製した。これを精製水で希釈して  $0.5$ 、 $1$  及び  $2\text{mg/l}$ の標準溶液とした。この標準溶液を前記の定量条件に従ってGC分析を行い、それぞれのピーク高さと濃度とに基づき検量線を作成した（図－7参照）。

(5) 高速液体クロマトグラフによる変化物（臭素イオン）の分析

28日後、被験物質濃度 $10.0\text{mg/l}$ の（汚泥+被験物質）系及び（水+被験物質）系の各試験液について下記定量条件に基づき臭素イオンを分析した。試料中の臭素イオンの濃度は、データ処理装置で得られた標準溶液 $1.34$ 及び $3.36\text{mg/l}$ のピーク高さと濃度より回帰式を求め、試験液のピーク高さを代入して求めた（表-6、図-8参照）。

ピーク高さの測定限界はノイズレベルを考慮して $3\text{mm}$ （臭素イオン濃度 $0.1\text{mg/l}$ ）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-3A
検出器		日本分光工業製 UVIDE C-100-II
カラム		ERC-NH-1161 10cm×6mmφ, ステンレス製
溶離液		アセトニトリル/精製水(2/8 V/V) 40 mmol/l 1-ペンタンスルホン酸ナトリウム及び 0.05%りん酸含有
測定波長		195 nm (図-10参照)
注入量		50 μl

(b) 検量線の作成

臭化カリウム  $100\text{mg}$ を精製水に溶解し、 $100\text{ml}$ に定容して臭素イオンとして  $671\text{mg/l}$ の標準原液を調製した。これを精製水で希釈して $0.67$ 、 $1.34$ 及び $2.01\text{mg/l}$ の標準溶液とした。この標準溶液を前記の定量条件に従ってHPLC分析を行い、それぞれのピーク高さと濃度とに基づき検量線を作成した（図-9参照）。

#### 10.6 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た。

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

BOD<sub>x</sub> : 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) (mg/l)

TOD<sup>\*4</sup> : 被験物質が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) (mg/l)

\*4 純度100%として計算した。

#### 10.7 数値の取扱い

数値を平均する場合、平均は算術平均とした。数値の丸め方は JIS Z 8401-1961に従った。

### 11. 試験結果

#### 11.1 分解度

BODによる分解度は下表のとおりであった。

	被験物質濃度 (mg/l)	5日後	15日後	28日後
分解度 (%)	5.01	7	24	17
	10.0	6	18	15

## 11.2 被験物質の残留率

28日後、被験物質濃度10.0mg/lの試料についてGC法により、被験物質の残留率を測定した（表-4，図-4参照）。結果は下表のとおりであった。

単位：％		
	残 留 率	平均残留率
汚泥＋被験物質-1	71.7	67
汚泥＋被験物質-2	62.6	
水＋被験物質-1	58.0	60
水＋被験物質-2	62.0	

## 11.3 試験条件の確認

BODから求めたアニリンの28日後の分解度は83%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。

## 12. 考 察

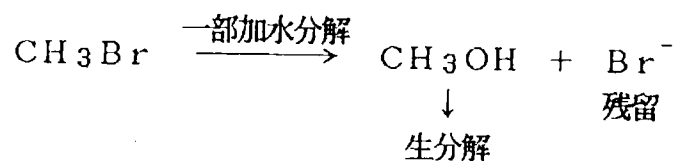
被験物質は常温、常圧で気体のため、閉鎖系酸素消費量測定装置による分解度試験の実施は不可能と判断して、OECD化学品テストガイドライン 301D Closed Bottle 法に準ずる分解度試験を実施した。

28日後の被験物質残留率、メタノール生成率及び臭素イオン生成率は、下表のとおりであった。

単位：％				
	BODによる 分 解 度	被 験 物 質 残 留 率	メタノール 生 成 率	臭素イオン 生 成 率
(汚泥＋被験物質)系	15	71.7	n.d.	29.5
		62.6	n.d.	29.7
(水＋被験物質)系	—	58.0	28.9	27.1
		62.0	24.7	27.1

(汚泥＋被験物質)系で、メタノールは検出されなかったが、これは生成したメタノールが汚泥により生分解されたと思われる。





以上より、被験物質は水中で28日後、約30～40%が加水分解され、メタノール及び臭素イオンを生成する。（汚泥＋被験物質）系では、生成したメタノールは生分解されるが被験物質の約70%は安定に残留していることがわかった。

### 13. 試資料の保管

#### 13.1 被験物質

被験物質約25mlを、「新規化学物質に係る試験の項目等を定める命令第3条に規定する試験施設に関する基準」（以下「試験施設基準」という。）第32条に定める期間、当試験所試料保管室に保管する。

#### 13.2 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、調査表、資料等は最終報告書と共に、「試験施設基準」第32条に定める期間、当試験所資料保管室に保管する。

### 14. 備 考

#### 14.1 試験に使用した機器及び装置

DOメーター	：	飯島精密工業製
バイアルびん	：	ガスクロ工業製
シリコンテフロンセプタム	：	ガスクロ工業製
アルミシール	：	ガスクロ工業製
真空捕集びん（100ml）	：	草野科学器械製
真空捕集びん（1.0）	：	ガスクロ工業製

#### 14.2 分析に使用した試薬

エタノール	：	半井化学薬品製 試薬一級
-------	---	--------------