

最 終 報 告 書

モノメチルアミン（被験物質番号 K-878）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

陳 述 書

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

試験委託者 通商産業省

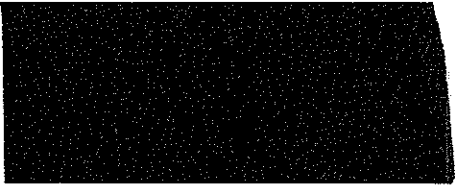
試験の表題 モノメチルアミン（被験物質番号 K-878）の微生物による分解度試験

試験番号 20878

上記試験は、昭和59年3月31日付、環保業第39号、薬発第229号及び59基局第85号による「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」に従って実施したものです。

昭和63年9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九州試験所

試験委託者 通商産業省

試験の表題 モノメチルアミン（被験物質番号 K-878）の微生物による
分解度試験

試験番号 20878

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九州試験所の
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）
昭和63年 7月14日	昭和63年 7月14日	昭和63年 7月14日
昭和63年 7月19日	昭和63年 7月22日	昭和63年 7月19日
昭和63年 8月 2日	昭和63年 8月 4日	昭和63年 8月 4日
昭和63年 8月 3日	昭和63年 8月 4日	昭和63年 8月 4日
昭和63年 9月26日	昭和63年 9月26日	昭和63年 9月26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。

昭和63年 9月26日
信頼性保証業務担当者

昭和63年 9月26日
信頼性保証責任者

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. 試験期間	3
7. 試験関係者	3
8. 最終報告書作成日	3
9. 最終報告書の承認	3
10. 被験物質	4
11. 活性汚泥の調製	6
12. 分解度試験の実施	7
13. 試験条件の確認	16
14. 試験結果	16
15. 考 察	17
16. 試資料の保管	18
17. 備 考	18
18. 表及び図の内容	19
付 表	
付 図	

要 約

1. 試験の表題 モノメチルアミン（被験物質番号 K-878）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 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 °C
- (5) 試験液培養期間 14 日間

2.2 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要求量（BOD）の測定
- (2) 全有機炭素分析法（TOC）による溶存有機炭素の分析
- (3) 高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による被験物質の分析
- (4) 吸光光度法（VIS）によるアンモニア態窒素の分析

3. 試験結果

- | | | | |
|----------------------------------|-------|-------|------|
| (1) BODによる分解度 (NO ₂) | 42%, | 43%, | 44% |
| (NH ₃) | 84%, | 87%, | 88% |
| (2) TOCによる分解度 | 97%, | 95%, | 94% |
| (3) HPLCによる分解度 | 100%, | 100%, | 100% |

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 20878

1. 表 題 モノメチルアミン（被験物質番号 K-878）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-878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 「新規化学物質に係る試験の方法について」（環保業第5号、薬発第615号、49基局第392号 昭和49年7月13日）に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉による。

6. 試験期間

(1) 試験開始日 昭和63年 7月14日

(2) 試験実施期間

活性汚泥使用開始日 昭和63年 5月18日

試験液培養開始日 昭和63年 7月19日

試験液培養終了日 昭和63年 8月 2日

(3) 試験終了日 昭和63年 9月12日

7. 試験関係者

試験責任者

試験担当者

活性汚泥管理責任者

試資料管理責任者

8. 最終報告書作成日

昭和63年 9月12日

作成者

9. 最終報告書の承認

昭和63年 9月12日

試験責任者

氏名

10. 被験物質

本報告書において被験物質K-878は、次の名称を有するものとする。

10.1 名 称 モノメチルアミン

(被験物質はモノメチルアミンであるが、試験の実施は塩酸モノメチルアミンにて行った(備考参照)。従って、本項目における構造式等は塩酸モノメチルアミンについて述べた。)

10.2 構造式等

構造式 $\text{CH}_3\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$

分子式 CH_6NCl

分子量 67.52

10.3 純 度^{*1} 99.0%以上

*1 添付資料による。

10.4 入手先及びロット番号

(1) 入 手 先

(2) ロット番号

10.5 同 定

ALDRICH LIBRARY に記載の赤外吸収スペクトルと当試験所の当該測定スペクトルとが一致することを確認した。

10.6 物理化学的性状

外 観 白色固体

融 点^{*2} 225 ～ 226℃

沸 点^{*2} 225 ～ 230℃/15mmHg

溶解性 (モノメチルアミン濃度として表示した。)

水 100 g/ℓ以上

ヘキサン 100mg/ℓ以下

クロロホルム 100mg/ℓ以下

酢酸エチル 100mg/ℓ以下

メタノール 100 g/ℓ以上

赤外吸収スペクトル (図-5参照)

質量スペクトル (図-6参照)

核磁気共鳴スペクトル (図-7参照)

^{*2} 共立出版化学大辞典による。

10.7 保管条件及び保管条件下での安定性

(1) 保 管 条 件 冷暗所

(2) 安定性確認 試験液培養開始前及び培養終了後に塩酸モノメチルアミンの赤外吸収スペクトルを測定した結果(図-5参照)、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。

11. 活性汚泥の調製

11.1 汚泥の採集場所及び時期

(1) 場 所 下記の全国10ヵ所から採集した。

伏古川処理場（北海道札幌市）	深芝処理場（茨城県鹿島郡）
中浜処理場（大阪府大阪市）	落合処理場（東京都新宿区）
北上川（宮城県石巻市）	信濃川（新潟県西蒲原郡）
吉野川（徳島県徳島市）	琵琶湖（滋賀県大津市）
広島湾（広島県広島市）	洞海湾（福岡県北九州市）

(2) 時 期 昭和63年 3月

11.2 採集方法

(1) 都 市 下 水 下水処理場の返送汚泥

(2) 河川、湖沼及び海 表層水及び大気と接触している波打際の表土

11.3 新旧汚泥の混合

上記で採集してきた各地の汚泥のろ液をそれぞれ 500ml と、それまで試験に供していた旧活性汚泥のろ液 5l とを混合して 10l とし、pH を 7.0 ± 1.0 に調整して培養槽でばっ気^{*3}した。

^{*3} ばっ気

屋外空気をプレフィルターに通し、ばっ気に用いた。

11.4 培 養

培養槽へのばっ気を約30分間止めた後、全量の約 1/3 量の上澄液を除去し、これと等量の 0.1% 合成下水^{*4}を加えて再びばっ気した。この操作を毎日1回繰り返し、培養して活性汚泥とした。培養温度は $25 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。

^{*4} 0.1% 合成下水

グルコース、ペプトン、りん酸一カリウムをそれぞれ 0.1(W/V) % になるように脱塩素水に溶解し、水酸化ナトリウムで pH を 7.0 ± 1.0 に調整したものをを用いた。

11.5 管理及び使用

培養中、上澄液の外観及び活性汚泥の生成状態を観察するとともに、活性汚泥の沈でん性、pH、温度及び溶存酸素濃度を測定し記録した。活性汚泥の生物相は適宜光学顕微鏡を用いて観察し、異常のないことを確認した上で試験に供した。

11.6 活性汚泥の活性度の点検

標準物質を用いて活性汚泥使用開始時に活性度を点検した。また、旧活性汚泥との関連性に留意した。

12. 分解度試験の実施

12.1 試験の準備

(1) 活性汚泥の懸濁物質濃度の測定

測定方法 JIS K 0102-1986 の14.1に準じて行った。

測定実施日 昭和63年 7月18日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は6300mg/lであった。

(2) 基礎培養基の調製

JIS K 0102-1986 の21. で定められたA液、B液、C液及びD液それぞれ3mlに精製水（高杉製薬製 日本薬局方）を加えて1lとする割合で混合し、pHを7.0に調整した。

(3) 標準物質

アニリン（昭和化学製 試薬特級 ロット番号 298324）を用いた。

12.2 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、12.3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)

試験容器に精製水 300mlを入れ、被験物質が 100mg/lになるように添加した。

(b) (汚泥+被験物質)系(3個)

試験容器に基礎培養基 300mlを入れ、被験物質が 100mg/lになるように添加した。

(c) (汚泥+アニリン)系(1個)

試験容器に基礎培養基 300mlを入れ、アニリンを 100mg/lになるように添加した。

(d) 汚泥ブランク系(1個)

試験容器に基礎培養基 300mlを入れた。

(2) 活性汚泥の接種

(b), (c) 及び(d) の試験容器に11. の条件で調製した活性汚泥を懸濁物質濃度として30mg/lになるように接種した。

12.3 試験液培養装置及び環境条件

(1) 試験液培養装置

閉鎖系酸素消費量測定装置(大倉電気製 クーロメーター)

試験容器 300ml用培養ビン

炭酸ガス吸収剤 ソーダライム, No.1 (和光純薬工業製 試薬一級)

攪拌方法 マグネチックスターラーによる回転攪拌

(2) 環境条件

試験液培養温度 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$

試験液培養期間 14日間

実施場所 第11機器室

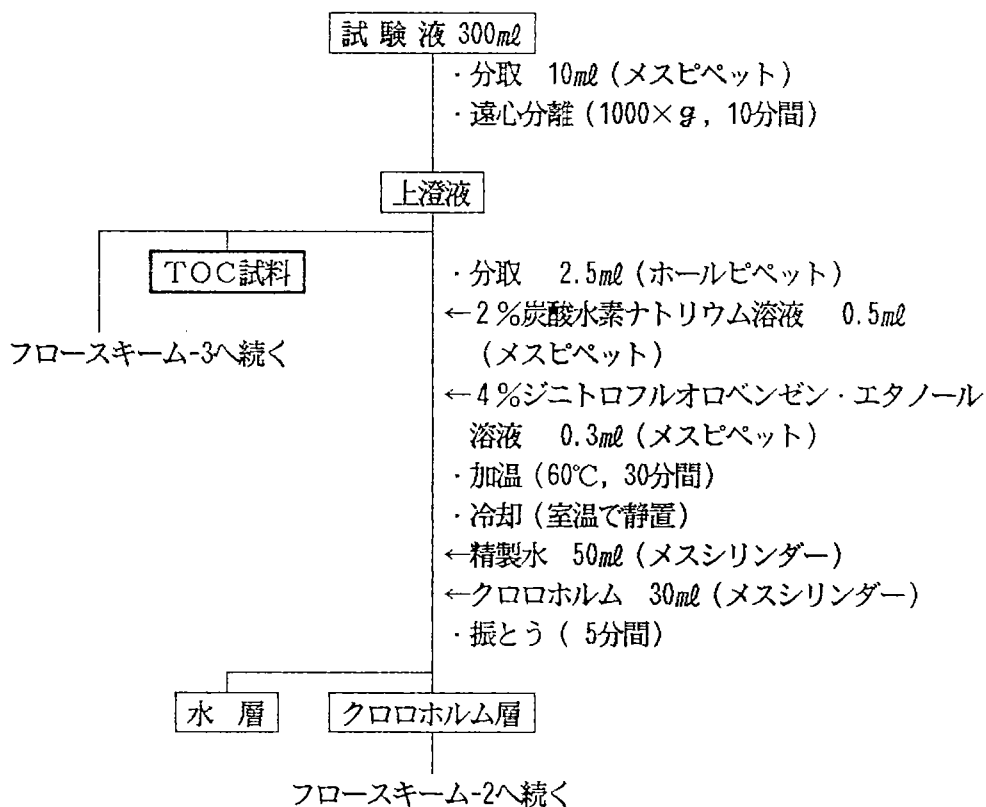
12.4 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中に残留している溶存有機炭素、被験物質及びアンモニア態窒素を分析した。

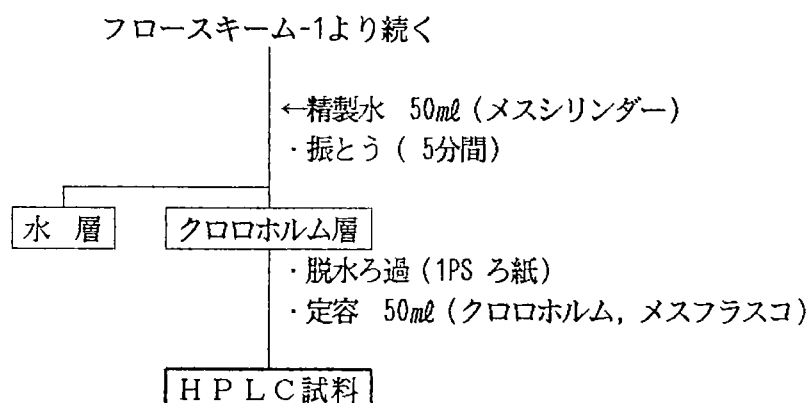
12.4.1 試験液の前処理

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下記のフロースキームに従って前処理操作を行い、溶存有機炭素を分析するための全有機炭素分析法(TOC)試料とし、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)試料及びアンモニア態窒素を分析するための吸光光度法(VIS)試料とした。

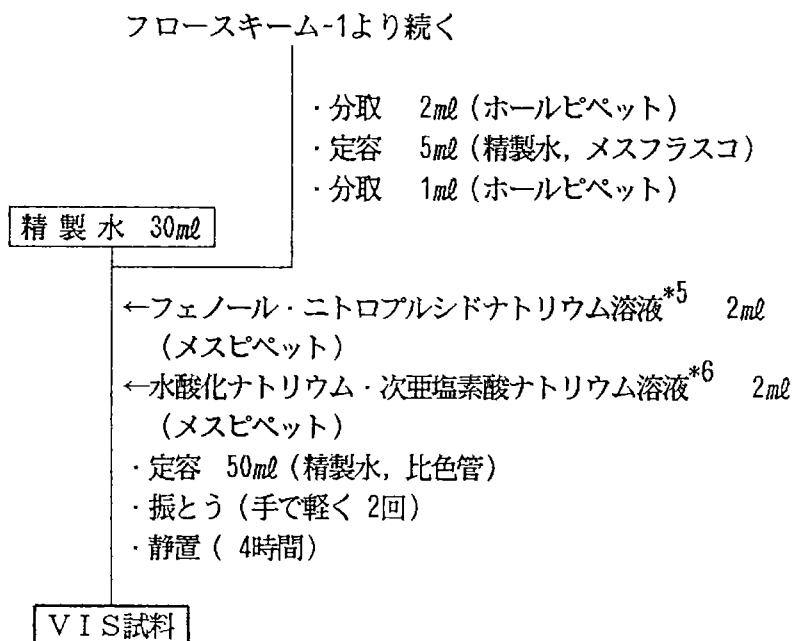
フロースキーム-1



フロースキーム-2



フロースキーム-3



*5 フェノール12.5g、ニトロプルシドナトリウム62.5mgを精製水に溶解させ、500mlに定容した。

*6 水酸化ナトリウム1.25g、次亜塩素酸ナトリウム 0.4mlを精製水に溶解させ、50mlに定容した。

12.4.2 定量分析

(1) 全有機炭素分析法による溶存有機炭素の分析

前処理を行って得られたTOC試料について下記定量条件に基づき溶存有機炭素を分析した。

試験液の溶存有機炭素濃度は、全有機炭素計内のデータ処理装置により、TOC標準溶液80.0mgC/lのピーク面積を測定して検量線を設定し、TOC試料のDOCを測定した（表-2参照）。なお、TOC標準溶液はフタル酸水素カリウムを精製水に溶解して調製した。

ピーク面積の測定限界はノイズレベルを考慮して 350 digit（溶存有機炭素濃度 1.2mgC/l）とした。

分析機器の定量条件

機 器	島津製作所製 TOC-500
T C 炉 温 度	680 °C
流 量	150 ml/分
注 入 量	10 µl

(2) 高速液体クロマトグラフィーによる被験物質の分析

被験物質は直接分析することが困難であったため、誘導体化（ジニトロフェニル化）して得られた物質（2, 4-ジニトロ-N-メチルアニリン；図-6-2参照）を分析することにより、被験物質の分析に代えた。なお、便宜上、標準溶液の濃度は被験物質濃度で表示した。

前処理を行って得られたHPLC試料について下記定量条件に基づき誘導体化物を分析した。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 5.0mg/lのピーク高さとはHPLC試料のピーク高さとを比較し、比例計算して求めた（表-3、図-2参照）。

ピーク高さの測定限界はノイズレベルを考慮して2mm（被験物質濃度 0.06mg/l）とした。

(a) 分析機器の定量条件

機 器	高速液体クロマトグラフ
ポ ン プ	アトー工業製 ミルトンロイ
検 出 器	日本分光工業製 UVIDEC-100
カ ラ ム	Shodex GPC KF-801 30cm×8mmφ ステンレス製
溶 離 液	クロロホルム
流 量	1.0 ml/分
測 定 波 長	345 nm (図-8参照)
注 入 量	20 μl

(b) 検量線の作成

塩酸モノメチルアミン 1.087gを精製水に溶解し、50mlに定容して10.0 g/lの被験物質溶液を調製した。さらに、精製水で希釈して調製した25.0、50.0、100mg/lの溶液及び精製水を各 2.5ml分取し、下記のフロースキームに従って前処理して、得られた溶液を標準溶液1.25、2.5、5.0mg/l及び反応ブランクとした。この標準溶液及び反応ブランクを前記の定量条件に従ってHPLCにより分析を行い、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-3参照)。

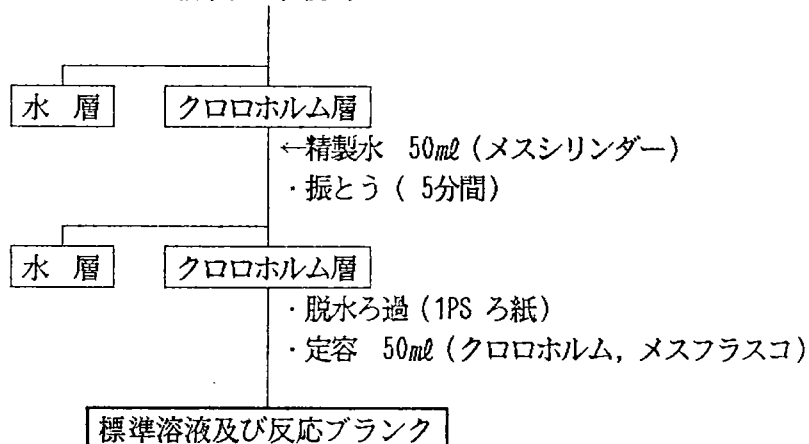
フロースキーム

塩酸モノメチルアミン溶液及び精製水

- ← 2%炭酸水素ナトリウム溶液 0.5ml
(メスピペット)
- ← 4%ジニトロフルオロベンゼン・エタノール溶液
0.3ml (メスピペット)
- ・ 加温 (60°C, 30分間)
- ・ 冷却 (室温で静置)
- ← 精製水 50ml (メスシリンダー)
- ← クロロホルム 30ml (メスシリンダー)
- ・ 振とう (5分間)

次頁へ続く

前頁より続く



(3) 吸光度法によるアンモニア態窒素の分析

前処理を行って得られたVIS試料について下記定量条件に基づきアンモニア態窒素を分析した。VIS試料中のアンモニア態窒素の濃度は得られた標準溶液の吸光度とVIS試料の吸光度とを比較し、比例計算して求めた (表-4、図-4参照)。

吸光度の測定限界はノイズレベルを考慮して 0.001 (アンモニア態窒素濃度 $0.8\mu\text{g}/\ell$) とした。

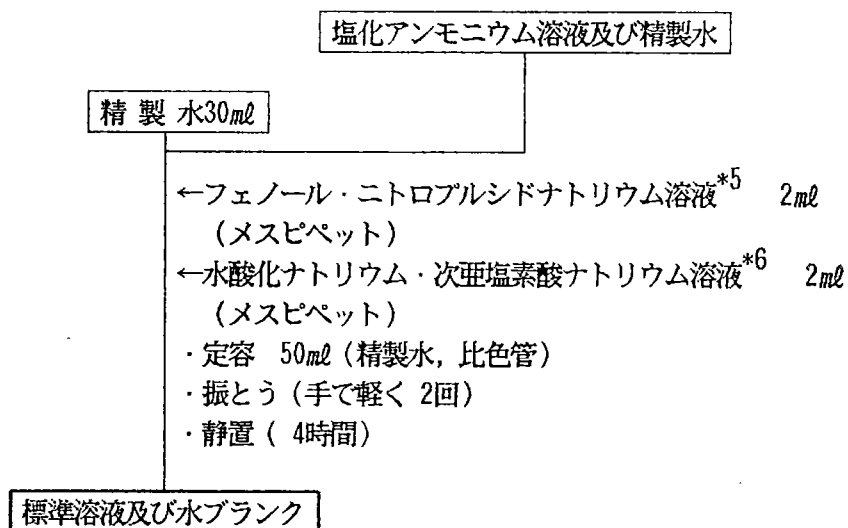
(a) 分析機器の定量条件

機	器	日立製作所製 150-20
対	照	精製水
セ	ル	セル長 10mm
波	長	640nm

(b) 検量線の作成

塩化アンモニウム 191.0mgを精製水に溶解し、500mlに定容して100mg/l（窒素量として）の溶液を調製した。さらに、精製水で希釈して2.0 mg/lの溶液を調製し、2.5、5、10ml及び精製水を5ml分取し、下記のプロースキームに従って前処理して、得られた溶液を標準溶液 0.1、0.2、0.4mg/l及び水ブランクとした。この標準溶液及び水ブランクを前記の定量条件で吸光度測定を行い、それぞれの吸光度と濃度とに基づき検量線を作成した（図-4参照）。

フロースキーム



12.5 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

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

BOD : (汚泥+被験物質)系の生物化学的酸素要求量
(測定値) (mg)

B : 汚泥ブランク系の生物化学的酸素要求量
(測定値) (mg)

TOD^{*7} : 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) (mg)

^{*7} TODの算出に際しては、塩酸モノメチルアミンとしての総添加量より計算した。

(2) TOCによる分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{DOC}_B - \text{DOC}_A}{\text{DOC}_B} \times 100$$

DOC_A : (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)

DOC_B : (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) HPLCによる分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{S_B - S_A}{S_B} \times 100$$

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

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

12.6 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。

13. 試験条件の確認

BODから求めたアニリンの7、14日後の分解度はそれぞれ60及び76%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 試験液の状況

培養期間中の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	被験物質は溶解した。	① 5.6
	(汚泥 + 被験物質)系	被験物質は溶解した。	② 7.0 ③ 7.0 ④ 7.0
培養終了時	(水 + 被験物質)系	被験物質は溶解していた。	① 6.2
	(汚泥 + 被験物質)系	汚泥の増殖が見られた。 このため、被験物質の溶解 状態の確認はできなかった。	② 7.0 ③ 7.0 ④ 7.0

14.2 分解度

14日後の分解度は下記のとおりであった。

		分 解 度 (%)			付 表
		②	③	④	
BODによる結果	(NO ₂)	42	43	44	表-1
	(NH ₃)	84	87	88	表-1 a
T O C による 結 果		97	95	94	表-2
H P L C による 結 果		100	100	100	表-3

15. 考 察

培養終了時におけるアンモニア態窒素の生成率を下表に示した。

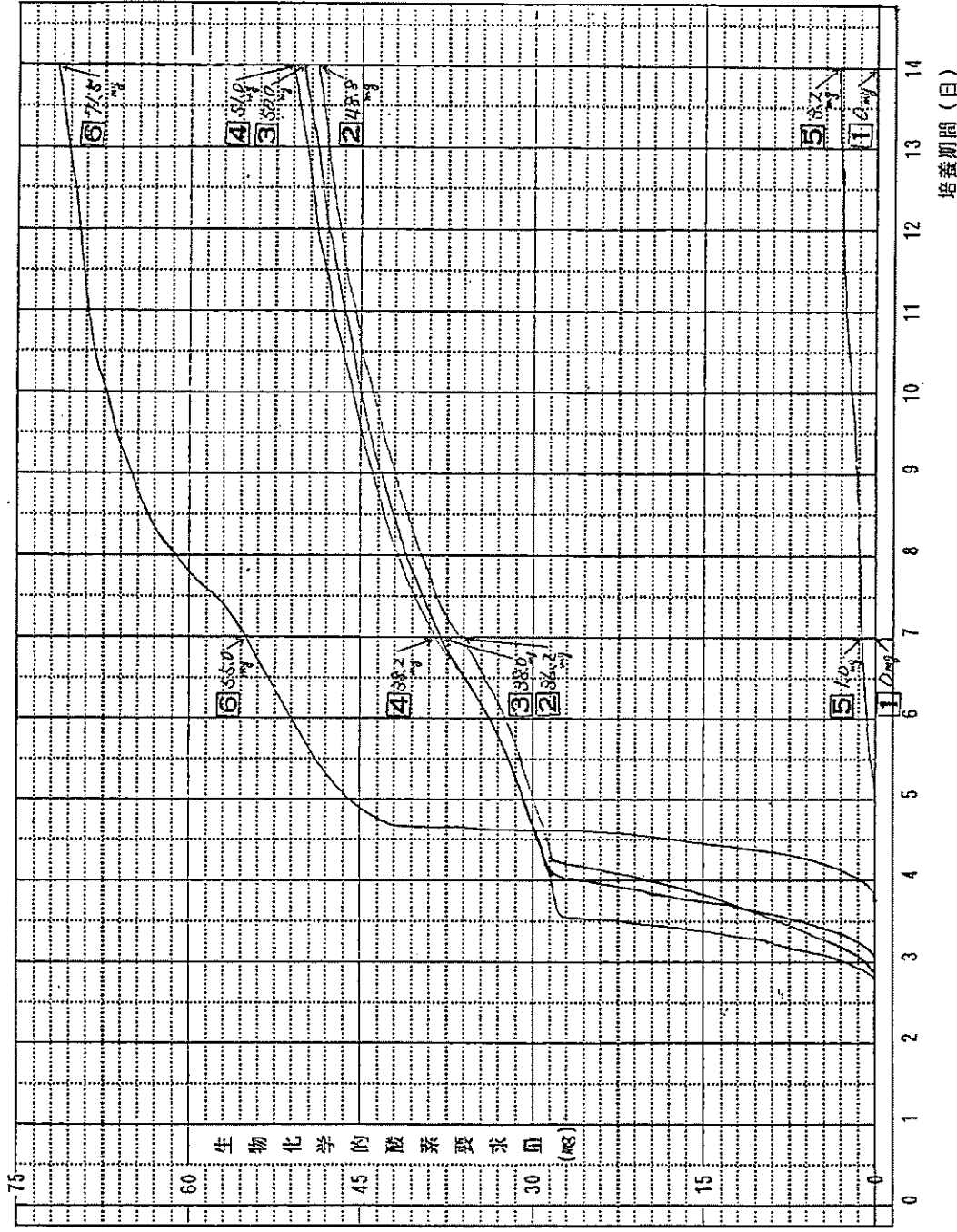
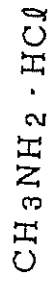
	14日後のアンモニア態窒素 の生成率 (%)	付 表	付 図
① 水 + 被験物質	9	表-4	図-4
②汚泥+被験物質	96		
③汚泥+被験物質	97		
④汚泥+被験物質	96		

上記のように、被験物質に含まれる窒素はほとんどがアンモニア態窒素として残留していることがわかった。

Test substance	K-878		
Apparatus	Coulometer No. CM-6		
range	250 mg/l x 1		
Cultivation condition			
concentration	100 mg/l		
test substance	100 mg/l		
reference substance (Aniline)	30 mg/l		
activated sludge	25 ± 1 °C		
temperature	7/19 ~ 8/2 (14 days) 19.88		
period			
Bottle No.	Contents		
①	水 + 被験物質		
②	汚泥 + 被験物質		
③	汚泥 + 被験物質		
④	汚泥 + 被験物質		
⑤	基礎呼吸		
⑥	汚泥 + アニリン		
Note	本試験		
Operator			

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

構造式



K-878 の分解度

② 分解度 = $(BOD-B)/TOD \times 100 = 84\%$

③ 分解度 = $(BOD-B)/TOD \times 100 = 87\%$

④ 分解度 = $(BOD-B)/TOD \times 100 = 88\%$

$TOD = 65.2 \text{ mg} \times 0.83 = 54.1 \text{ mg}$ * モノメチルアミンとL2 30.0 mg

7日目のアニリンの分解度 = $(BOD-B)/TOD \times 100 = 60\%$

アニリンのTOD = $30.0 \times 3.01 = 90.3 \text{ mg}$