最終報告書

酢酸ビニル(被験物質番号 K-885)の微生物による分解度試験

財団法人 イヒーディートトライン 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 酢酸ビニル(被験物質番号 K-885)の微生物による分解度試験

試験番号 20885

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。

昭和公年//月22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 酢酸ビニル(被験物質番号 K-885)の微生物による

分解度試験

試験番号 20885

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	查察日	報告日(通	営管理	者)	報告日(試験責任者)		
昭和63年	6月20日	昭和63年	6月2	0日	昭和63年	6月20日	
昭和63年	9月13日	昭和63年	9月1	3日	昭和63年	9月13日	
昭和63年	9月27日	昭和63年1	0月	3日	昭和63年	9月30日	
昭和63年	9月28日	昭和63年1	0月	3日	昭和63年	9月30日	
昭和63年	9月29日	昭和63年1	0月	3日	昭和63年	9月30日	
昭和63年1	1月18日	昭和63年1	1月1	8日	昭和63年1	1月18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 1/月/8日 信頼性保証業務担当者

昭和63年//月/8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	15
14.	試験結果	15
15.	考 察	16
16.	試資料の保管	18
17.	備考	19
18.	表及び図の内容 付 表 付 図	20

要約

- 1. 試験の表題 酢酸ビニル (被験物質番号 K-885) の微生物による分解度 銀短
- 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 配
 - (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) 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82%, 98%, 89%

 - (2) TOCによる分解度100%, 98%, 96%(3) GC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 20885

- 1.表 題 酢酸ビニル (被験物質番号 K-885) 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

- 4. 試験目的 被験物質K-885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	鉧	期	問
\sim	D-1	2^	771	191

(1) 試験開始日

昭和63年 6月20日

(2) 試験実施期間

活性污泥使用開始日

昭和63年 8月10日

試験液培養開始日

昭和63年 9月13日

試験液培養終了日

昭和63年 9月27日

(3) 試験終了日

昭和63年11月12日

7. 試験関係者

試験責任者

試験担当者

活性污泥管理責任者

試資料管理責任者

8. 最終報告書作成日

昭和63年11月12日

作成者

9. 最終報告書の承認

試験責任者

昭和63年11月12日

氏 名

10. 被験物質

本報告書において被験物質K-885は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

- 10.1 名 称 酢酸ビニル
- 10.2 構造式等

構造式 CH3COOCH=CH2

分子式 C4H6O2

分子量 86.09

- 10.3 純 度*1 99%以上
 - *1 添付資料による。
- 10.4 入手先及びロット番号

 - (2) ロット番号 ATO1
- 10.5 同 定

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 無色透明液体 融 点*² -84 ℃以下 沸 点*² 73 ℃ 比 重*¹ d₂₀ 0.934

溶解性 水 268/l
 ヘキサン 1008/l以上
 クロロホルム 1008/l以上
 酢酸エチル 1008/l以上
 メタノール 1008/l以上

赤外吸収スペクトル (図-8参照) 質量スペクトル (図-9参照) 核磁気共鳴スペクトル (図-10参照) 紫外吸収スペクトル (図-11参照)

- *1 添付資料による。
- *2 化学大辞典 (共立出版株式会社発行) 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被験物質の赤外吸収スペクトルを測定した結果(図-8参照)、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) 中浜処理場 (大阪府大阪市) 北上川(宮城県石巻市) 吉野川(徳島県徳島市) 広島湾(広島県広島市) 洞海湾(福岡県北九州市)

深芝処理場 (茨城県鹿島郡) 落合処理場(東京都新宿区) 信濃川 (新潟県西蒲原郡) 琵琶湖(滋賀県大津市)

(2) 時期 昭和63年 6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 500歳と、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±2℃とした。

*4 0.1%合成下水

グルコース、ペプトン、りん酸ー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 9月12日

測 定 結 果 活性汚泥の懸濁物質濃度は5600mg/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3 mに精製水(高杉製薬製 日本薬局方)を加えて11 とする割合で混合し、pHを7.0に調整した。

(3) 基準物質

アニリンを用いた。

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、被験物質を 100ms/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、被験物質を 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 300㎡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 300㎡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

試験容器 300 ml用培養ビン(揮発性物質改良型) 炭酸ガス吸収剤 ソーダライム, No.1

撹 拌 方 法 マグネチックスターラーによる回転撹拌

(2) 環境条件

試験液培養温度 25±1℃ 試験液培養期間 14日間

実 施 場 所 第11機器室

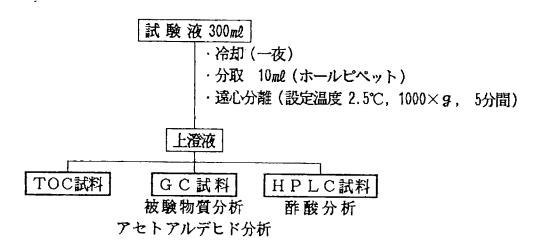
12.4 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中に残留している溶存有機炭素、被験物質及び加水分解によって生成するアセトアルデヒド及び酢酸を分析した。また、ソーダライムに吸着した酢酸についても分析した。

12.4.1 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下記のフロースキーム-1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、被験物質及びアセトアルデヒドを分析するためのガスクロマトグラフィー(GC)試料及び酢酸を分析するための高速液体クロマトグラフィー(HPLC)試料とした。また、ソーダライムに吸着した酢酸も次頁のフロースキーム-2に従って前処理操作を行い、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)試料とした。

フロースキーム-1



フロースキーム-2

yーダライム及びソーダライム皿 ←精製水 20ml (メスシリンダー) ・撹拌 ・傾しゃ法 ・定容 50ml (精製水, メスフラスコ) ・分取 1ml (ホールピペット) ・定容 10ml (精製水, メスフラスコ) HPLC試料 酢酸分析

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データ処理装置の最小ピーク条件よりノイズレベルを考慮して 350 digit (溶存有機 炭素濃度 1.4mgC/l) とした。

分析機器の定量条件

機		22	全有機能	长素計
TC) 炉 沿	品度	680	℃
流		量	150	喊/分
注	入	量	10	Цl

(2) 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データ処理装置で得られた標準溶液 101㎏/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(表-3、図-2参照)。

ピーク面積の測定限界はノイズレベルを考慮して 500以・sec (被験物質 濃度 14.1mg/l)とした。

(a) 分析機器の定量条件

뿚 機 ガスクロマトグラフ 検 出 쫎 水素炎イオン化検出器(FID) 40m×1.2mø, ガラス製 力 ラ A 液 相 G-100 膜厚 0.5 /m カラム温度 60℃→150℃ キャリヤーガス ヘリウム 流量 25 吨/分 注入。量 1ル

(b) 検量線の作成

被験物質 108㎡(101㎡)を精製水に溶解し、100㎡に定容して1010 ㎡/ℓの標準原液を調製した。これを精製水で希釈して25.2、50.5及び 101 ㎡/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により分析を行い、それぞれのピーク面積と濃度とに基づき検量線を作成した(図-3参照)。

(3) ガスクロマトグラフィーによるアセトアルデヒドの分析

前処理を行って得られたGC試料について下記定量条件に基づきアセトアルデヒドを分析した。GC試料中のアセトアルデヒドの濃度はデータ処理装置で得られた標準溶液60個/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(表-4、図-4参照)。

ピーク面積の測定限界はノイズレベルを考慮して 500 W·sec (アセトアルデヒド濃度 2.0 mg/l) とした。

(a) 分析機器の定量条件

機 器 ガスクロマトグラフ 検 出 器 水素炎イオン化検出器 (FID) 40m×1.2mmø,ガラス製 力 ラ A 液 膜厚 1.0/m 相 G-300 カラム温度 70℃ キャリヤーガス ヘリウム 流量 20吨/分 注 入 量 1 42

(b) 検量線の作成

アセトアルデヒド 126 (100mg) を精製水に溶解し、100mlに定容して1000mg/lの標準原液を調製した。これを精製水で希釈して15、30及び60mg/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により分析を行い、それぞれのピーク面積と濃度とに基づき検量線を作成した(図-5参照)。

(4) 高速液体クロマトグラフィーによる酢酸の分析

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酢酸を分析した。HPLC試料中の酢酸の濃度はクロマトグラム上で得られた標準溶液40mg/lのピーク高さとHPLC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 2 mm (酢酸濃度 1.3 mg/2) 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カラムTSK ODS 120T30cm×4cmφ,ステンレス製溶離液りん酸アンモニウム水溶液 (pH 2.4) *5測定波長210cm (図-11参照)注入量

*5 精製水 400mlにアンモニア水1mlを加え、りん酸でpH 2.4に調整した。

(b) 検量線の作成

酢酸 100mgを精製水に溶解し、100mlに定容して1000mg/lの標準原液を調製した。これを精製水で希釈して20、40及び80mg/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-7参照)。

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

BOD : (汚泥+被験物質)系の生物化学的酸素要求量

(測定値)(水)

. B : 汚泥ブランク系の生物化学的酸素要求量

(測定値)(78)

TOD*6: 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(計算值)(18)

*6 純度100%として計算した。

(2) TOCによる分解度

$$OCCCよる分解度$$

 $OCC_B - DOC_A$
 $OCC_B \times DOC_B$

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)(MSC)

DOC_R: (水+被験物質)系における溶存有機炭素の残留量

(測定值)(mgC)

(3) GCによる分解度

SA : (汚泥+被験物質) 系における被験物質の残留量

(測定値)(198)

: (水+被験物質)系における被験物質の残留量

(測定値)(水)

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日及び14日後の分解度はそれぞれ72及び90%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
培養開始時	(水 +被験物質)系	被験物質は溶解した。
	(汚泥+被験物質)系	被験物質は溶解した。
	(水 +被験物質)系	被験物質は溶解しており、ソーダライム が黄色く着色していた。
培養終了時	(汚泥+被験物質)系	被験物質は溶解しており、汚泥の増殖が見られた。

14.2 分解度

14日後の分解度は下記のとおりであった。

	分	解原	€ (%)	11t+
	2	3	4	付 表
BODによる結果	82	98	89	表-1
TOCによる結果	100	98	96	表-2
GCによる結果	100	100	100	表-3

15. 考 察

15.1 分析結果について

試験終了後、加水分解によって生成したアセトアルデヒド及び酢酸の分析を行った。また、酢酸は一部ソーダライムに吸着するため、その分析も行った。14日後の被験物質分析結果及び変化物分析結果を次表に示す。

14日後の被験物質分析結果

·	BOD (嘅) 分解%		DOC		GC(被験物質)	
			(mg)	分解%	(mg)	分解%
① (水 +被験物質)	0	_	5.5	-	0.0	-
② (汚泥+被験物質)-1	47.2	82	0.0	100	0.0	100
③ (汚泥+被験物質) -2	55.2	98	0.1	98	0.0	100
④ (汚泥+被験物質)-3	50.8	89	0.2	96	0.0	100
⑥ 汚泥ブランク	6.5	-	_	-	0.0	-
理論量	49.9	_	16.7		29. 9	_

14日後の変化物分析結果

	GC (アセト	HPLC(酢酸)			
	アルデヒド)		ソーダライム		試馬	検 液
	(178) 生成%		(mg)	生成%	(mg)	生成%
① (水 +被験物質)	9.1	59	21.5	103	1.1	5
② (汚泥+被験物質) -1	0.0	0	9.9	47	0.0	0
③ (汚泥+被験物質) -2	0.0	0	6.6	32	0.0	0
④(汚泥+被験物質)-3	0.0	0	7.8	37	0.0	0
⑥ 汚泥ブランク	0.0_	_	0.0_	_	0.0	
理論量	15.3 [*]		20.9*7		20.9	_

*7 被験物質が全量加水分解したときに生成する量

酢酸がソーダライムに吸着していること、またソーダライムが着色していることから、ソーダライム無しの系で開放系試験を行った結果を下表に示す。

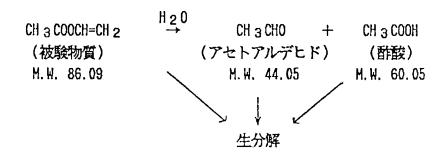
開放系試験結果 (ソーダライム無しの系)

MILLONIA (/ / / / / / /	1,111,0-22				···	
	GC(被験物質)		GC(アセト アルデヒド)		HPLC (酢酸)	
	(mg)	残留%	(mg)	生成%	(mg)	生成%
(水 +被験物質)系 (密閉びん)	23.0	77	2.4	16	3.6	17
(水 +被験物質)系 (密閉びん)	22.6	76	2.6	17	3.8	18
(汚泥+被験物質)系 (揮散びん)	0	0	0	0	0	0
(汚泥+被験物質)系 (揮散びん)	0	0	0	0	0	0
理論量	29	. 9	15	. 3	20	. 9

以上より、本試験ではソーダライムに酢酸が吸着し残留したが、ソーダライム無しの開放系試験結果では、被験物質及びその加水分解生成物のアセトアルデヒド及び酢酸はいずれも残留しなかった。

15.2 被験物質の分解性について

被験物質は水中で一部加水分解し、アセトアルデヒドと酢酸を生成した。 生成したアセトアルデヒド(官報公示整理番号: 2-485, 報告書番号: A30690 昭和55年7月9日)は良分解であり、酢酸も生分解されると推定される。



16. 試資料の保管

16.1 被験物質

保管用被験物質約58を保管用容器に入れ密栓後、「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。)第32条に定める期間、 当試験所試料保管室に保管する。

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、調査表、資料等は最終報告書と共に、「GLP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。

17. 備 考

17.1 試験に使用した機器及び装置

閉鎖系酸素消費量測定装置 : 大倉電気製 クーロメーター

全有機炭素計 : 島津製作所製 TOC-500

ガスクロマトグラフ : 島津製作所製 GC-9A

高速液体クロマトグラフ

ポンプ: 日本分光工業製 BIP-1

検出器 : 日本分光工業製 UVIDCE-100-V

天 び ん : Sartorius社製 2007 MP6

p H 計 : 東亜電波工業製 HM-20E

紫外可視分光光度計 : 日立製作所製 200-20

17.2 試験に使用した試薬

フタル酸水素カリウム : 和光純薬工業製 試薬特級

精製水 : 高杉製薬製 日本薬局方

アンモニア水 : 和光純薬工業製 試薬特級

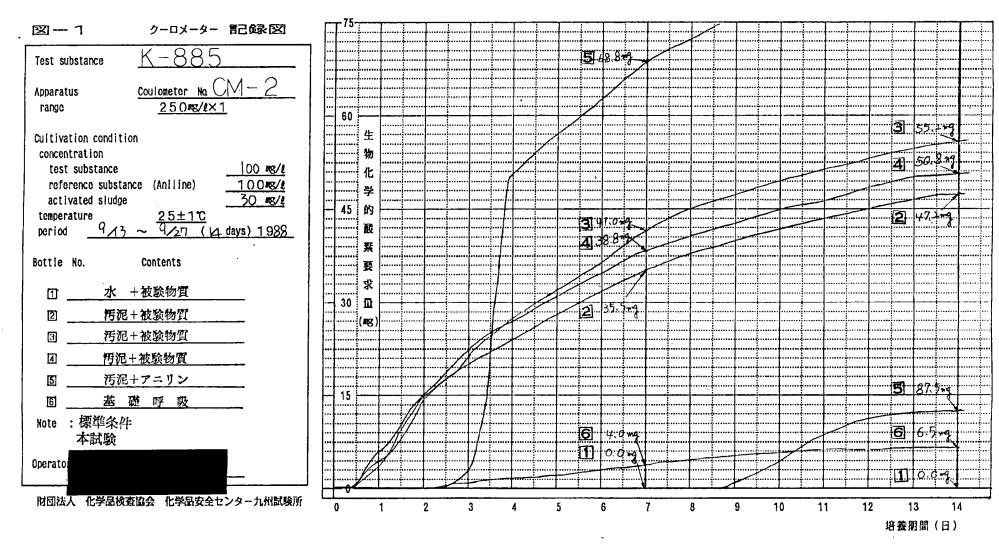
アセトアルデヒド : ナカライテスク製 酢酸 : ナカライテスク製

アニリン : 昭和化学製 試薬特級

ロット番号 298324

ソーダライム, No.1 : 和光純薬工業製 試薬一級

りん酸 : 和光純薬工業製 試薬 級



構造式

CH3COOCH=CH2

K-885 の分解度
② 分解度-(BOD-B)/TODx100 = 82 %
③ 分解度-(BOD-B)/TODx100 = 98 %
④ 分解度-(BOD-B)/TODx100 = 89 %
TOD = 29 9 mg x 1.67 = 49 9 mg
7日目のアニリンの分解度-(BOD-B)/TODx100 = 72 %
アニリンのTOD = 30.0 x 3.01 = 90.3 mg