

財団法人化学物質評価研究機構殿

本写しは原本と相違ありません  
(株)三菱化学安全科学研究所  
横浜研究所 運営管理者

## 最 終 報 告 書

K-1550の分解度試験

(試験番号：A010190)

2001年10月26日作成

株式会社三菱化学安全科学研究所

# 陳述書

株式会社三菱化学安全科学研究所

横浜研究所

試験委託者：財団法人化学物質評価研究機構

表 題 : K-1550の分解度試験

試験番号 : A010190

本試験は試験計画書および標準操作手順書に従って実施され、本報告書はその結果を正しく記載したものである。

また、本試験は下記のGLPに従って実施したものである。

「新規化学物質に係る試験および指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第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、1984；一部改正 2000）

2001年10月26日

試験責任者

# 信 頼 性 保 証 書

株式会社三菱化学安全科学研究所

横浜研究所

試験委託者 : 財団法人化学物質評価研究機構

表 題 : K-1550の分解度試験

試験番号 : A010190

本試験は試験計画書および標準操作手順書に従って実施され、本報告書には試験に使用した方法、手順が正確に記載されており、試験結果は生データを正確に反映していることを、下記の査察および監査実施により確認した。

## 記

実 施 事 項	実 施 日	運営管理者および 試験責任者への報告日
試験計画書監査	2001年 7月 9日	2001年 7月 9日
試験の査察		
被験物質の添加	2001年 7月11日	2001年 7月11日
培養ビンの接続	2001年 7月11日	2001年 7月11日
被験物質残存濃度の測定	2001年 8月 8日	2001年 8月 8日
最終報告書監査	2001年10月26日	2001年10月26日

2001年10月26日

信頼性保証部門担当者

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## 試 験 実 施 概 要

1. 表 題 : K-1550の分解度試験  
(試験番号: A010190)
2. 試 験 目 的 : 被験物質の分解度試験を行い, 生分解性を評価する。
3. 適用ガイドライン : 「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, 1974)
4. 適 用 G L P : 「新規化学物質に係る試験および指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第 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, 1984 ; 一部改正 2000)
5. 試 験 委 託 者 : 財団法人化学物質評価研究機構  
福岡県久留米市中央町 19 番 14 号  
委託責任者 [REDACTED]
6. 試 験 受 託 者 : 株式会社三菱化学安全科学研究所  
東京都港区芝二丁目 1 番 30 号
7. 試 験 施 設 : 株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所  
神奈川県横浜市青葉区鶴志田町 1000 番地
8. 運 営 管 理 者 : [REDACTED]
9. 試 験 責 任 者 : [REDACTED]  
(環境化学グループ)

10. 試験関係者 :

試験担当者 2001年10月26日

(試験実施)

試験担当者 2001年10月26日

(試験実施)

試験担当者

(試験実施, 2001年 9月28日付退社)

標準活性汚泥管理責任者

2001年10月26日

11. 試験日程 : 試験開始日 2001年 7月 9日  
酸素消費量測定開始日 2001年 7月11日  
酸素消費量測定終了日 2001年 8月 8日  
被験物質残存濃度測定日 2001年 8月 8日  
試験終了日 2001年10月26日

12. 試資料の保管 : 試験計画書, 生データ, 被験物質, 記録文書および最終報告書は, 横浜研究所の保管施設に保管する。

保管期間は, 最終報告書作成後10年間とし, 以降の保管は試験委託者と協議の上, 決定する。

ただし, 被験物質については, 上記期間または品質低下をおこさないで安定に保存しうる期間のいずれか短い方の期間とする。

## 目 次

	頁
要 約 .....	7
1 被 験 物 質 .....	8
1.1 名称, 構造式および物理化学的性状 .....	8
1.2 供試試料 .....	8
1.3 被験物質の確認 .....	9
1.4 保管法および安定性の確認 .....	9
2 試 験 方 法 .....	10
2.1 分解度試験条件 .....	10
2.2 BODの測定 .....	11
2.3 BOD測定後の試験液の分析前処理 .....	11
2.4 pHの測定 .....	11
2.5 DOCの測定 .....	11
2.6 被験物質残存濃度の測定 .....	12
2.7 分解度の算出式 .....	13
3 試 験 結 果 .....	15
3.1 試験成績の信頼性に影響したと思われる環境要因 .....	15
3.2 BOD測定後の培養びん内容物の観察結果 .....	15
3.3 pH測定結果 .....	15
3.4 汚泥の分解活性 .....	15
3.5 BOD分解度 .....	15
3.6 DOC分解度 .....	16
3.7 被験物質残存濃度からの分解度 .....	16
4 考 察 .....	16
表および図 .....	17~29
付属資料 .....	30~32

## 要 約

### 表 題

K-1550の分解度試験（試験番号：A010190）

### 試 験 方 法

昭和 49 年 環保業第 5 号・薬発第 615 号・49 基局第 392 号「新規化学物質に係る試験の方法について」に準拠して実施した。

#### （試験期間）

2001年 7月 9日～2001年10月26日

#### （試験の構成）

Na.1 : 分解活性確認系 (アニリン+汚泥+基礎培養基)  
 Na.2 : 汚泥基礎呼吸系 (汚泥+基礎培養基)  
 Na.3～5 : 被験物質の分解系－1, 2, 3 (被験物質+汚泥+基礎培養基)  
 Na.6 : 水中安定性系 (被験物質+精製水)  
 (被験物質濃度：100 mg/L, 汚泥濃度：30 mg/L)

#### （測定項目）

閉鎖系酸素消費量測定装置による生物学的酸素消費量(BOD)の測定 (28日間)  
 全有機炭素計による溶存有機炭素濃度(DOC)の測定 (28日後)  
 高速液体クロマトグラフによる被験物質残存濃度の測定 (28日後)

### 測 定 結 果 (28 日後の値)

測 定 項 目	被験物質の分解系 <sup>*1</sup>			水中安 定性系	仕込み 理論値
	1	2	3		
BOD, mg :	-5.2	— <sup>*2</sup>	-0.9	0.1	88.8
DOC, mg/L :	66.9	66.5	69.7	66.9	66.6
被験物質, mg/L :	91.8	91.9	93.3	96.6	100.0

\*1) 汚泥基礎呼吸系での測定値補正後の値

\*2) 装置に不具合が発生したため不採用。

### 28 日後の分解度

分 解 度	被験物質の分解系			平均値
	1	2	3	
BOD分解度, % :	0(-6) <sup>*3</sup>	— <sup>*2</sup>	0(-1) <sup>*3</sup>	0
DOC分解度, % :	0	1	0(-4) <sup>*3</sup>	0
被験物質残存濃度からの分解度, % :	5	5	3	4

\*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

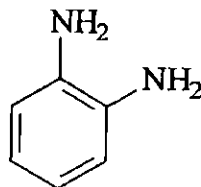
- ・ 28 日後のBOD分解度はすべて 0 %, DOC分解度は平均 0 %, 被験物質残存濃度からの分解度は平均 4 %であったことから、被験物質は分解性不良で構造変化も受けなかったと判断される。

## 1 被 験 物 質

### 1.1 名称, 構造式および物理化学的性状

1) 名 称\* : o-フェニレンジアミン (略称: K-1550)

2) 構造式\* :



3) 分子式 :  $C_6H_8N_2$

4) 分子量\* : 108.14

5) 元素組成 : C 66.6%, H 7.5%, O 25.9%

[当社計算値]

\*: 委託者提供資料による

### 1.2 供試試料

1) ロット番号\* : SEH1993

2) 供給者 : 財団法人化学物質評価研究機構

3) 受領量 : 25 g

4) 受領日 : 2001年 4月20日

5) 純 度\* : 99.6%

6) 外 観 : 白色固体

\*: 委託者提供資料による



### 1.3 被験物質の確認

委託者から供給された被験物質の赤外吸収スペクトルを測定した。提示された構造を有する化合物の標準スペクトルを、独立行政法人 産業技術総合研究所の有機化合物のスペクトル・データベースから入手し、スペクトルが一致することおよび特性吸収が認められることより、被験物質を確認した。

[ Figure 1 (P-20) および付属資料-1 (P-30) ]

1) 装置 : フーリエ変換赤外分光分析装置, Nicolet製 AVATAR 320型

さらに、質量スペクトルおよび核磁気共鳴スペクトルを測定した。

[ 付属資料-2, 3 (P-31~32) ]

### 1.4 保管法及び安定性の確認

生物学的酸素消費量 (BOD) 測定終了後、冷蔵庫 (保管条件: 遮光) で保管した被験物質の赤外吸収スペクトルを測定した。得られたスペクトルは試験開始前に測定したスペクトルと一致したことから、被験物質は保管中は安定であったと判断した。

[ Figure 1 (P-20) ]

1) 装置 : フーリエ変換赤外分光分析装置, Nicolet製 AVATAR 320型

## 2 試験方法

本試験は、「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 61 5 号，49 基局第 392 号，1974）に準拠して実施した。

活性汚泥存在下における被験物質の分解に伴う生物学的酸素消費量（BOD）を閉鎖系酸素消費量測定装置により 28 日間に亘り経時的に測定した。さらに，BOD 測定終了後，溶存有機炭素濃度（DOC）および被験物質残存濃度を測定し，これらの測定結果から被験物質の生分解性を評価した。

### 2.1 分解度試験条件

下記の条件により，分解度試験を行った。

（標準活性汚泥）

- 1) MLSS : 3200mg/L
- 2) 購入源 : (財) 化学物質評価研究機構
- 3) 購入年月日 : 2001 年 6 月 26 日

（条件）

- 1) 温度 :  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 2) 期間 : 28 日間（BOD 測定）
- 3) 液量 : 300 mL
- 4) 濃度 : 被験物質およびアニリン\*（対照物質） : 100 mg/L  
標準活性汚泥 : 30 mg/L  
\* : 関東化学製 試薬特級 Lot No. 207G1282

（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<sup>\*1</sup>を培養びんに入れ，アニリンを 29μL（30mg）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<sup>\*1</sup>を培養びんに入れ，汚泥を添加した。
- No. 3～5 : 被験物質の分解系－1～3（被験物質+汚泥+基礎培養基）  
基礎培養基<sup>\*1</sup>を培養びんに入れ，ガラスカップに秤量した被験物質を 30mg 添加し，各培養びんに汚泥を添加した。
- No. 6 : 水中安定性系（被験物質+精製水）  
300mL の精製水<sup>\*2</sup>に，ガラスカップに秤量した被験物質を 30mg 添加した。

\*1 : 基礎培養基量は 300mL から汚泥懸濁液添加量 2.8mL を差し引いた量である。

\*2 : JIS K0557 A4 グレードの水

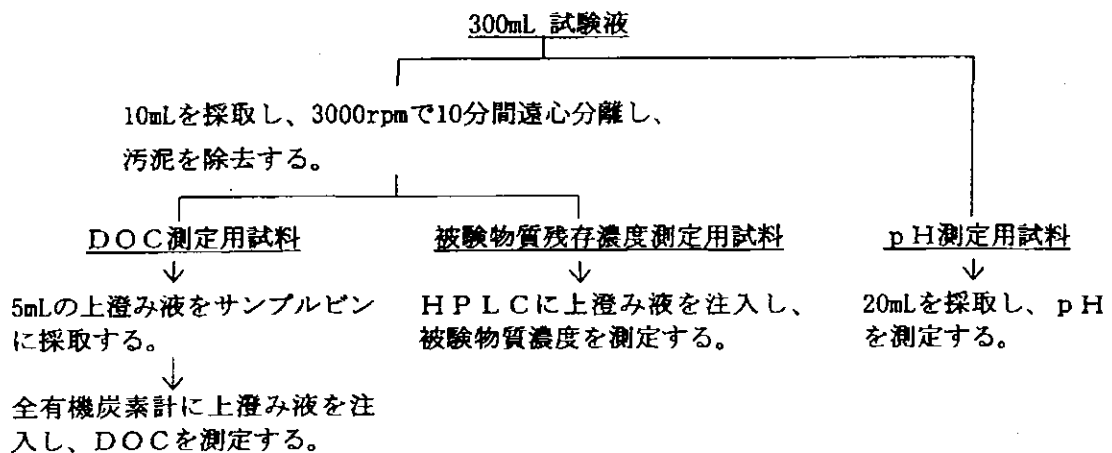
## 2.2 BODの測定

下記の装置によりBODを測定するとともに、測定期間中培養びん内容物の観察を行った。

1) 装置：閉鎖系酸素消費量測定装置：大倉電気製 OM-3100A型（識別符号K）

## 2.3 BOD測定後の試験液の分析前処理

下記のフローシートに従って、試験液中のpH、DOCおよび被験物質濃度測定のための前処理を行った。



## 2.4 pHの測定

BOD測定期間中にpHが変化したかどうかを確認するため、pHを測定した。

1) 装置：卓上pH／イオン計、オリオン製 720A型

## 2.5 DOCの測定

下記の装置および条件でDOCを測定した。

1) 装置：全有機炭素計：島津製作所製 TOC-5000A型

2) 条件：炉温度：TC 680℃  
空気流量：150 mL/min  
感度：× 5  
注入量：50 μL

### 3) 検量線

下記の標準溶液を全有機炭素計に注入しピーク面積を得て、全有機炭素計内のデータ処理装置により 2 点検量線を設定した。

全炭素(TC)測定用 : 7M酸水素カリウム水溶液 ( 20 および 50 mgC/L)  
無機炭素(IC)測定用 : 炭酸水素ナトリウムおよび炭酸ナトリウム水溶液 ( 10 mgC/L)  
および精製水 ( 0 mgC/L)

### 4) 試験液の測定

2.3に従って前処理後、DOCを測定した。

## 2.6 被験物質残存濃度の測定

下記の装置および条件で被験物質を定量し、被験物質残存濃度を求めた。

### 1) 装置 : 高速液体クロマトグラフ (HPLC)

LC-10AWS-2型

送液ポンプ : 島津製作所製 LC-10AD型 (2台使用)  
オートインジェクター : 島津製作所製 SIL-10Axi型  
紫外可視分光検出器 : 島津製作所製 SPD-10AV型  
コミュニケーションシステム : 島津製作所製 CBM-10A型  
グラムオーバーン : 島津製作所製 CTO-10AC型  
ワークステーション : 島津製作所製 CLASS-LC10型  
デガッサー : 島津製作所製 DGU-12A型

2) 条件 : カラム : ジーエル・イソテック製 Inertsil ODS-3V, 4.6mm i.d. × 150 mm  
溶離液 : アセトニトリル:水 = 15:85  
流速 : 1 mL/min  
検出波長 : 210 nm  
感度 : 検出器 : 2AU/FS  
注入量 : 10  $\mu$ L  
カラム温度 : 25  $^{\circ}$ C

### 3) 検量線

被験物質の 0, 25, 50 および 100 mg/L 水溶液を調製し、これらをHPLCに注入してピーク面積を得、横軸に被験物質濃度を、縦軸にピーク面積をとり検量線を作成した。 [ Figure 2 (P-21) および Figure 3 (P-22~23) ]

JIS Z 9041-1 (1999) “データの統計的な解釈方法” により求めた検量線の濃度とピーク面積の相関係数は 1.00 と直線性は良好であり、原点を通過すると見なせた。そこで、試験液中の被験物質の定量は 100 mg/L 水溶液で得られるピーク面積との比較で行った。

#### 4) 添加回収試験

被験物質の分解系の試験液を 2.1 に示した試験液調製方法に従って調製し、30 分間閉鎖系酸素消費量測定装置内で攪拌した後、2.3 の操作に準じて前処理し、被験物質濃度を測定した。2 回測定した結果、回収率は 102 および 99 %であった。被験物質残存濃度の測定結果は、平均回収率 101 %で補正した。

[ Table 3 (P-19) および Figure 4 (P-24~25) ]

#### 5) 検出限界

最小検出ピーク面積を 5000mAbs・secに設定し、これに相当する培養びん中の被験物質濃度 (0.1mg/L) から 1 mg/L を被験物質の検出限界とした。

[ Table 3 (P-19) および Figure 4 (P-24~25) ]

#### 6) 試験液の測定

2.3に従って前処理した後、被験物質残存濃度を測定した。

### 2.7 分解度の算出式

BOD, DOCおよび被験物質残存濃度の測定値からの分解度の算出式を下記に示す。

#### 1) BOD分解度 ( 7, 14, 21 および 28 日後)

$$\text{分解度 (\%)} = (\text{BOD}_s - \text{BOD}_b) / \text{ThOD} \times 100$$

BOD<sub>s</sub> : 分解活性確認系又は被験物質の分解系における酸素消費量 (mg)

BOD<sub>b</sub> : 汚泥基礎呼吸系における酸素消費量 (mg)

ThOD : アニリン又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

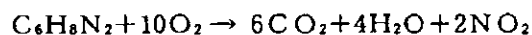
$$\text{アニリン} : 90.2 \text{ mg-O}_2 / 30 \text{ mg}$$

アニリンが下記のように無機化されるとして算出した。



$$\text{被験物質} : 88.8 \text{ mg-O}_2 / 30 \text{ mg}$$

被験物質が下記のように無機化されるとして算出した。



#### 2) DOC分解度 ( 28 日後)

$$\text{分解度 (\%)} = [ 1 - (\text{DOC}_s - \text{DOC}_b) / \text{DOC}_c ] \times 100$$

DOC<sub>s</sub> : 被験物質の分解系中のDOC (mg/L)

DOC<sub>b</sub> : 汚泥基礎呼吸系中のDOC (mg/L)

DOC<sub>c</sub> : 水中安定性系中のDOC (mg/L)

3)被験物質残存濃度からの分解度 ( 28 日後)

$$\text{分解度 (\%)} = ( 1 - C_s / C_c ) \times 100$$

C<sub>s</sub> : 被験物質の分解系中の被験物質濃度 (mg/L)

C<sub>c</sub> : 水中安定性系中の被験物質濃度 (mg/L)

### 3 試験結果

#### 3.1 試験成績の信頼性に影響したと思われる環境要因

BOD測定開始直後に、被験物質の分解系－2（No.4）のBOD測定値が急上昇した。これはマノメーターの液量が多かったために、液面が針に触れたことに起因すると判断された。そのためこの系の28日目のBOD測定値を棄却した。BOD分解度は他の2系から算出できること、さらにDOC測定および被験物質残存濃度測定には問題がないことから、試験成績の信頼性にはほとんど影響を与えなかったと判断した。その他、該当する事象はなかった。

#### 3.2 BOD測定後の培養びん内容物の観察結果

分解活性確認系（No.1）内の液は白濁、被験物質の分解系－1，2，3（No.3，4，5）および水中安定性系（No.6）内の液は黄色、汚泥基礎呼吸系（No.2）内の液は無色透明であった。

分解活性確認系で、汚泥基礎呼吸系に比べて汚泥の増殖が認められたが、被験物質の分解系では増殖は認められなかった。

#### 3.3 pH測定結果

BOD測定終了後の試験液のpHは、被験物質の分解系で7.2，7.2，7.2（No.3，4，5の順，以下同順）であり、水中安定性系で7.8であった。

[ Table 1 (P-17) ]

#### 3.4 汚泥の分解活性

7日後のアニリンのBOD分解度は53 %であり、汚泥の活性は良好であった。

[ Table 1 (P-17) および Figure 5 (P-26) ]

#### 3.5 BOD分解度

28日後のBODは理論値88.8 mgに対して、被験物質の分解系で－5.2，－0.9 mg（No.3，5の順，汚泥基礎呼吸系で補正後の値），水中安定性系で0.1mgであった。28日後のBOD分解度はすべて0 %と算出された（計算値は－6，－1 %であった）。

[ Table 1 (P-17) および Figure 5 (P-26) ]

### 3.6 DOC分解度

28日後のDOCは仕込濃度 66.6 mg/Lに対して、被験物質の分解系で 66.9, 66.5, 69.7 mg/L (汚泥基礎呼吸系で補正後の値), 水中安定性系で 66.9 mg/L 検出された。DOC分解度は 0, 1, 0 %と算出された (計算値は 0, 1, -4 %であった)。

[ Table 1 (P-17) および Table 2 (P-18) ]

### 3.7 被験物質残存濃度からの分解度

被験物質は仕込濃度 100 mg/Lに対し、被験物質の分解系で 91.8, 91.9, 93.3 mg/L, 水中安定性系で 96.6mg/L検出された。被験物質残存濃度からの分解度は, 5, 5, 3 %と算出された。

[ Table 1 (P-17) , Table 4 (P-19) および Figure 6 (P-27~29) ]

## 4 考 察

28 日後のBOD分解度はすべて 0 %, DOC分解度は平均 0 %, 被験物質残存濃度からの分解度は平均 4 %であったことから, 被験物質は分解性不良で構造変化も受けなかったと判断される。

以 上



Figure 5 BOD chart

Measurement of BOD	
Test substance	: K-1550
Study number	: A010190
Period	: 2001/7/11 ~ 2001/8/8
Temperature	: $25 \pm 1$ °C
Apparatus	: Ohkura Electric Co. Model OM-3100A (I.D. #:K)
Operator	: [REDACTED]

Bottle No.	Substance	Conc. (mg/L)	Sludge Conc. (mg/L)	BOD (mg)			
				7th day	14th day	21st day	28th day
①	Aniline	100	30	49.6	64.2	69.3	70.3
②	-----	-----	30	2.1	3.9	5.1	6.2
③	K-1550	100	30	1.0	1.0	1.0	1.0
④	K-1550	100	30	27.2	30.8	34.4	37.6
⑤	K-1550	100	30	2.5	3.9	4.9	5.3
⑥	K-1550	100	-----	0.0	0.0	0.1	0.1

