

# 最 終 報 告 書

K - 1 5 5 2 の 分 解 度 試 験

( 試 験 番 号 : 0 1 7 2 D )

平成 1 3 年 1 2 月 2 6 日

保土谷コンストラクトラボ

株式会社

## 陳 述 書

保土谷コントラクトラボ株式会社

試験委託者 : 財団法人化学物質評価研究機構

試験番号 : 0172D

試験表題 : K-1552の分解度試験

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省令第4条に規定する試験施設について』（環保業第39号、業発第229号、59基局第85号：昭和59年3月31日、平成12年3月1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省令第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。

平成 13 年 12 月 26 日

試験責任者

## &lt;分解度試験&gt; 信頼性保証報告書

200 / 年 12 月 26 日

運営管理者・試験責任者



信頼性保証業務担当者



信頼性保証業務責任者



試験番号： 0172D

試験表題： K-1552の分解度試験

上記の試験は社内GLP基準に基づく信頼性保証業務担当者が監査・査察を実施した。

監査・査察を実施した日付け並びに運営管理者及び試験責任者に報告を行った日付けは下記のとおりである。

また、本最終報告書は試験の方法が正しく記載されており、内容が試験計画及び標準操作手順書に従い、

かつ、試験結果は生データを正しく反映していることを保証する。

監査・査察実施日及び報告日

監 査 ・ 査 察 項 目	監 査 ・ 査 察 実 施 日	監 査 ・ 査 察 結 果 報 告 日	
		運営管理者	試験責任者
1. 試験計画の監査	2001年10月 3日	2001年10月 3日	2001年10月 3日
2. 試験施設の査察	2001年10月 4日	2001年10月 4日	2001年10月 4日
3. 試験の実施に関する監査・査察	2001年11月29日	2001年11月29日	2001年11月29日
(1)安定性試験		2001年11月29日	2001年11月29日
(2)分解度試験（BOD測定中）		2001年10月25日 2001年11月29日	2001年10月25日 2001年11月29日
(分析操作中)		2001年11月22日 2001年11月29日	2001年11月22日 2001年11月29日
4. 最終報告書の監査	2001年12月26日	2001年12月26日	2001年12月26日

## 要 約

### 1. 試験番号、試験表題

0172D、K-1552の分解度試験

### 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 | 28     | 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) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による残留被験物質量の分析

### 3. 試験結果

(1) BODによる分解度	2 %、	5 %、	4 %	平均	4 %
(2) HPLCによる分解度	4 %、	3 %、	2 %	平均	3 %
(3) 残留率					98 %
①水分解区					
②生分解区	97 %、	96 %、	97 %	平均	97 %

### 4. 結 論

本試験において、BOD及びHPLC分解度が、それぞれ4 % (平均) 及び3 % (平均) であったことから、被験物質は良分解性化合物ではないと考えられた。

また、水分解区の残留率及び生分解区の平均残留率がそれぞれ98 % 及び97 % であったことから、被験物質は変化していないものと考えられた。

### 5. 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。

目 次

	ページ
陳 述 書	2
信頼性保証報告書	3
要 約	4
目 次	5
表及び図の内容	6
1 . 試験番号、試験表題	7
2 . 試験目的	7
3 . 試験方法	7
4 . G L P の適合	7
5 . 試験委託者	7
6 . 試験施設	7
7 . 試験期間	7
8 . 試験関係者	8
9 . 最終報告書の作成及び承認	8
1 0 . 被験物質	9
1 1 . 標準活性汚泥	1 0
1 2 . 分解度試験の実施	1 1
1 3 . 試験結果	1 5
1 4 . 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 6
1 5 . 結果の考察及び結論	1 6
1 6 . 試資料の保管	1 7
1 7 . 備 考	1 7
表及び図	1 8
別添資料	

( 試験番号 : 0172D )

1. 試験番号、試験表題

0172D、K-1552の分解度試験

2. 試験目的

K-1552の微生物による分解性の程度について知見を得る。

3. 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、昭和62年3月31日改正）に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉に準拠した。

4. GLPの適合

『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 昭和59年3月31日、平成12年3月1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省令第4条に規定する試験施設に関する基準』に適合して実施した。

5. 試験委託者

名 称 : 財団法人化学物質評価研究機構  
所 在 地 : (〒112-0004) 東京都文京区後楽一丁目4番25号  
電話番号 : 03-5804-6134

6. 試験施設

名 称 : 保土谷コントラクトラボ株式会社  
所 在 地 : (〒305-0841) 茨城県つくば市御幸が丘45番地  
電話番号 : 0298-58-6884  
運営管理者 : XXXXXXXXXX

7. 試験期間

(1) 試験開始日	:	2001年	10月	3日
(2) 実験(BOD測定)開始日	:	2001年	10月	25日
(3) 実験(BOD測定)終了日	:	2001年	11月	22日
(4) 試験終了日	:	2001年	12月	26日

( 試験番号 : ...0.1.7.2.D... )

8. 試験関係者

試験責任者 : 試験部 第1分析グループ

試験担当者 : 試験部 第1分析グループ  
業務分担

業務分担

業務分担

汚泥管理責任者 : 試験部 第1分析グループ

試資料保管 : ラボ長  
責任者

9. 最終報告書の作成及び承認

作成 : 2001年12月26日 作成者

承認 : 2001年12月26日 試験責任者

( 試験番号 : ...0.1.7.2.D... )

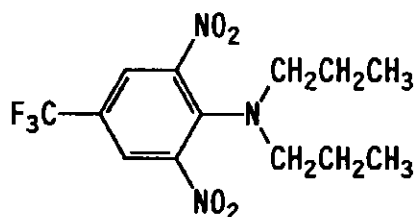
10. 被験物質

10.1 名 称<sup>\*1</sup>: 2,6-ジニトロ-N,N-ジプロピル-4-(トリフルオロメチル)アニリン

10.2 識別符号<sup>\*1</sup>: K-1552

10.3 構造式、分子式、分子量<sup>\*1</sup>

構 造 式 :



分 子 式 : C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

分 子 量 : 335.28

10.4 純 度<sup>\*1</sup>

96.3 % (w/w)

10.5 提供者及びロット番号

(1) 提 供 者 : 財団法人化学物質評価研究機構

(2) ロット番号<sup>\*1</sup>: 007AP1

<sup>\*1</sup>試験委託者提供資料による。

10.6 被験物質の同定

試験委託者提供のIRスペクトルと当ラボ測定(IRスペクトル)が一致することを確認した。(図-1参照)

また、予備検討(<sup>1</sup>H-NMR及びMSスペクトル測定)を行い、その構造を確認した。(参考資料-1参照)

10.7 物理化学性状

(1) 外観等 : 橙色固体



## 10.8 安定性試験

### (1) 保管条件下

保管条件 : 被験物質取扱い室の保管庫内 (室温)

安定性 : 試験開始直後及び実験終了後に被験物質のIRスペクトルを測定した結果、変化は認められなかった。 (図-2参照)  
従って、被験物質は保管条件下で安定であることが確認された。

## 11. 標準活性汚泥

### 11.1 購入

(1) 購入日 : 2001年 10月 18日

(2) 購入元 : 財団法人化学物質評価研究機構 化学物質安全センター  
東京都文京区後楽一丁目4番25号

### 11.2 培養

培養槽への通気を30分間停止し、汚泥を自然沈降させる。  
上澄液300mlを除去し、これと等量の合成下水<sup>\*2</sup>を加えて再び通気を開始する。

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pHを $7.0 \pm 1.0$ 、培養温度は $25 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。

#### <sup>\*2</sup>合成下水

ブドウ糖、りん酸一カリウム及びペプトンをそれぞれ0.1(w/v)%になるように脱塩素水(市販の活性炭カートリッジを通した水道水)に溶解し、0.1M-水酸化ナトリウム水溶液でpHを $7.0 \pm 1.0$ に調整したものを使用した。

### 11.3 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、活性汚泥の沈澱性、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光学顕微鏡を用いて観察し、異常のないことを確認した。

基準物質を用いて、活性度の確認をした。

( 試験番号 : ...0.1.7.2.D... )

## 12. 分解度試験の実施

### 12.1 試験の準備

#### 12.1.1 活性汚泥の懸濁物質濃度の測定

測定方法 : 「工場排水試験法」の懸濁物質 (JIS K 0102-1998の14.1) に準じて行った。

測定実施日 : 2001年 10月 25日

測定結果 : 活性汚泥の懸濁物質濃度は2880 mg/Lであった。

#### 12.1.2 基礎培養液の調製

「工場排水試験法」の生物化学的酸素消費量 (JIS K 0102-1998の21.) に準拠し、A液、B液、C液及びD液それぞれ6 mlに精製水 (小堺製薬製、日本薬局方) を加えて2 Lとする割合で混合し、pH 7.2に調整した。

#### 12.1.3 基準物質

アニリン (昭和化学製、試薬特級、Lot No. SL-3234W) 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記載の条件で培養を行った。

#### 12.2.1 被験物質及びアニリンの添加

- (1) 水分解区 [ (水 + 被験物質) 系 ] (1個 ; 試験容器 No. 1)  
試験容器に精製水300 mlを入れ、被験物質を100 mg/Lになるように30 mgを精秤して添加した。
- (2) 基礎呼吸区 [ 汚泥ブランク系 ] (1個 ; 試験容器 No. 2)  
試験容器に基礎培養液290 mlを入れた。
- (3) アニリン区 [ (汚泥 + アニリン) 系 ] (1個 ; 試験容器 No. 3)  
試験容器に基礎培養液290 mlを入れ、アニリンを100 mg/Lになるようにマイクロピペットで29.7  $\mu$ l (30 mg) を分取して添加した。
- (4) 生分解区 [ (汚泥 + 被験物質) 系 ] (3個 ; 試験容器 No. 4、5、6)  
試験容器に基礎培養液290 mlを入れ、被験物質を100 mg/Lになるように30 mgを精秤して添加した。

#### 12.2.2 活性汚泥の接種

11.の条件で培養した活性汚泥を、12.2.1の(2)、(3)及び(4)の試験容器に懸濁物質濃度として30 mg/Lとなるように(9 mg)接種した。  
接種後、必要に応じて基礎培養液で試験液量を300 mlとした。

( 試験番号 : ...0172D... )

### 12.3 BOD測定装置及び試験条件

#### 12.3.1 BOD測定装置

- (1) 閉鎖系酸素消費量測定装置 [大倉電気製 クーロメーター (No. B)]
- (2) 試験容器 : 300 ml用培養びん
- (3) 炭酸ガス吸収剤 : ソーダライム (和光純薬製、1号)
- (4) 攪拌方法 : マグネチックスターラーによる回転攪拌

#### 12.3.2 試験条件

- (1) 試験液培養温度 :  $25 \pm 1$  °C
- (2) 試験液培養期間 : 28 日間
- (3) 試験実施場所 : B-206B (分解度試験室)

### 12.4 試験液の分析

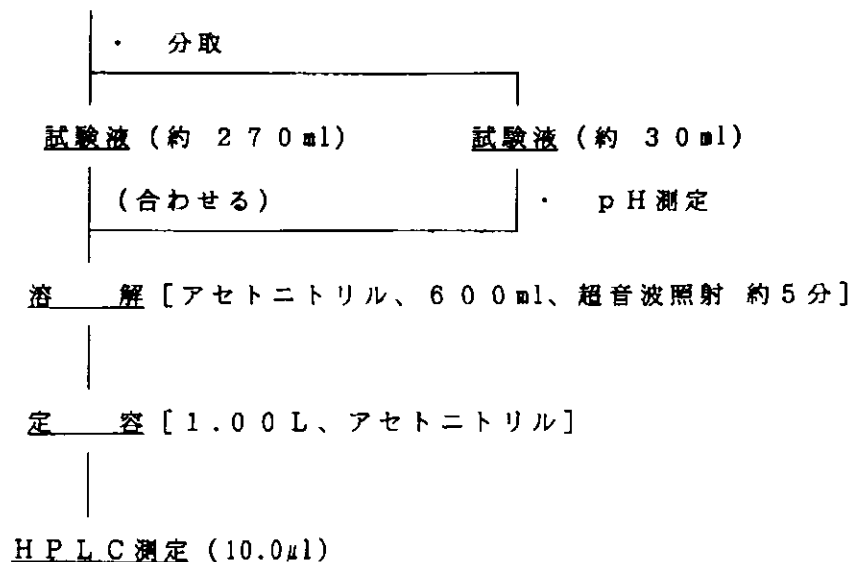
培養期間終了後、試験液中に残留している被験物質量を分析した。

#### 12.4.1 試験液の前処理

試験液培養期間終了後、水分解区、基礎呼吸区及び生分解区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、残留している被験物質量を分析するための試料とした。

##### フロースキーム

培養期間終了後の試験液



( 試験番号 : ...0.1.7.2.D... )

#### 12.4.2 H P L Cによる残留被験物質量の測定

培養期間終了後の試験液（水分解区、基礎呼吸区及び生分解区）について、12.4.1記載の前処理方法に従って前処理し、残留している被験物質量を以下の測定条件に従って測定した。

被験物質量は、クロマトグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求め、有効数字3桁に丸めて表記した。

また、1試料の分析は2回実施し、その平均値を計算に用いた。

定量分析には、下記の1000 mg/Lの標準溶液をアセトニトリル／水（70/30、v/v）の混合溶媒で希釈して30.0 mg/Lとしたものを用いた。

##### (1) H P L C測定条件

機 器 :	島津高速液体クロマトグラフ
ポンプ 送液ユニット	LC-10A②
検出器 紫外検出器	SPD-10A
カラム :	Develosil ODS UG-3、4.6mmφ × 150mm
溶 離 液 :	アセトニトリル／水 = 80／20 (v/v)
カラム温度 :	45 °C
流 速 :	1.0 ml/min
測定波長 :	220 nm
感 度 :	0.04 AUFS (出力電圧 : 1mV)
注 入 量 :	10.0 μl
データ処理装置 :	島津クロマトパック C-R5A (No. ③)
《設定条件》	WIDTH 5、SLOPE 80、MIN.AREA 400、 ATTEN 2、STOP.TM 8、SPEED 2、 LOCK 3

##### (2) 被験物質標準溶液の調製

分析試料中の被験物質量を求めるための標準溶液の調製は、以下のように行った。

被験物質0.1 gを精秤し、アセトニトリルに溶解して1000 mg/Lの溶液を調製した。

この溶液をアセトニトリル／水（70/30、v/v）の混合溶媒で順次希釈して、1.00及び60.0 mg/Lの希釈溶液を調製し、最小検出濃度及び検量線作成範囲を求めるための溶液とした。

##### (3) 検量線の作成

上記標準溶液（1000 mg/L）をアセトニトリル／水（70/30、v/v）の混合溶媒で適宜希釈して1.00、10.0、30.0、40.0及び60.0 mg/Lの検量線作成用溶液を調製した。

この検量線作成用溶液を(1)の測定条件に従ってH P L Cにそれぞれ注入し、得られたクロマトグラムからピーク面積と注入溶液濃度より検量線を作成した。

(図-3、4参照)

( 試験番号 : ...0.1.7.2.D... )

(4) ブランク試験

12.2記載の試験液（基礎呼吸区）調製方法に従って試験液を調製し、数分間攪拌した後、12.4.1記載の前処理方法に従って前処理し、(1)の測定条件に従って測定した。

その結果、クロマトグラム上、被験物質の定量を妨害するようなピークは認められなかった。  
(表-3、図-6参照)

(5) 添加回収試験

12.2記載の試験液（水分解区及び生分解区）調製方法に従って試験液を調製し、数分間攪拌した後、12.4.1記載の前処理方法に従って前処理し、(1)の測定条件に従って測定した。

その結果、平均回収率は水分解区相当で102%、生分解区相当で99.8%であった。  
(表-3、図-6参照)

培養期間終了後の残留被験物質量の測定値はそれぞれの平均回収率で補正した。

(6) 検出限界

データ処理装置の最小検出ピーク面積を400  $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ に設定し、これに相当する培養びん中の被験物質濃度から、被験物質の検出限界を求めた。

その結果、最小検出濃度(1.00  $\text{mg/L}$ )より、検出限界は3.27  $\text{mg/L}$ (水分解区)及び3.34  $\text{mg/L}$ (生分解区)となった。  
(図-5参照)

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、整数位で丸めて表記した。

(1) BODによる分解度

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

B a : 生分解区の生物化学的酸素要求量(測定値) ( $\text{mg/L}$ )

B b : 基礎呼吸区の生物化学的酸素要求量(測定値) ( $\text{mg/L}$ )

B : 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) ( $\text{mg/L}$ )

[算出に際しては不純物の寄与は考慮していない]

(2) HPLC測定による分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{H b - (H a - H c)}{H b} \times 100$$

H a : 生分解区の残留被験物質量 ( $\text{mg}$ ) [平均回収率で補正した値]

H b : 水分解区の残留被験物質量 ( $\text{mg}$ ) [平均回収率で補正した値]

H c : 基礎呼吸区のブランク値 ( $\text{mg}$ ) [平均回収率で補正した値]

( 試験番号 : 0.172.D )

#### 12.6 残留率の算出

被験物質の残留率は下記の式に基づき算出し、整数位で丸めて表記した。

$$\text{残留率 (\%)} = \frac{\text{残留被験物質質量 (mg)}}{\text{被験物質添加量 (mg)}} \times 100$$

#### 12.7 数値の取扱い

数値を平均する場合は、平均は算術平均とした。

数値の丸め方はJIS Z 8401-1999に従った。

### 13. 試験結果

#### 13.1 試験開始前の装置の漏れチェック

BOD測定開始前に試験系に漏れがないことを確認した。

#### 13.2 BOD測定

28日後のBOD濃度は生分解区で24、29及び27mg/Lであった。

(表-1、図-7参照)

#### 13.3 試験条件の確認

BODから求めた基準物質(アニリン)の7日後及び14日後の分解度はそれぞれ64%及び71%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。

(表-1、図-7参照)

#### 13.4 恒温槽温度

BOD測定実施中における恒温槽の温度は、試験設定温度(25±1℃)に保たれていることを確認した。

#### 13.5 試験溶液の状況

試験溶液の状況は下記のとおりであった。

	試験溶液	状 況
培養開始時	水分解区	溶解しなかった。 着色しなかった。
	生分解区	溶解しなかった。 着色しなかった。
培養終了時	水分解区	溶解していなかった。 着色していた。
	生分解区	溶解していなかった。 汚泥の増殖は見られなかった。 着色していた。

( 試験番号 : 0172D )

#### 13.6 pH測定

培養期間終了後の試験液のpHは生分解区で7.56、7.44及び7.55、水分解区で8.02であった。

#### 13.7 残留被験物質量の分析

培養期間終了後の試験液に残留している被験物質量は、水分解区で29.9mg、生分解区で28.8、28.9及び29.4mgであった。

(表-2、図-8参照)

#### 13.8 被験物質の残留率

水分解区及び生分解区における被験物質の残留率は、生分解区で97、96及び97%、水分解区で98%であった。

(表-2参照)

#### 13.9 分解度

28日後の分解度は下記のとおりであった。

(図-7、8参照)

	分 解 度			付 表	
	各 分 解 度		平 均		
B O D による結果	2 %	5 %、	4 %	4 %	表 - 1
HPLC による結果	4 %、	3 %、	2 %	3 %	表 - 2

#### 14. 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

特になし。

#### 15. 結果の考察及び結論

本試験において、BOD及びHPLC分解度が、それぞれ4%（平均）及び3%（平均）であったことから、被験物質は良分解性化合物ではないと考えられた。

また、水分解区の残留率及び生分解区の平均残留率がそれぞれ98%及び97%であったことから、被験物質は変化していないものと考えられた。

## 16. 試資料の保管

### 16.1 被験物質

保管用被験物質約5gを保管用の容器に入れ密栓後、『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省令第4条に規定する試験施設について』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省令第4条に規定する試験施設に関する基準』第32条に定める期間、当ラボ試資料保管室に保管する。

保管期間の過ぎた被験物質は、試験委託者と協議の上処置する。

### 16.2 生データ、資料等

生データ、試験計画書、被験物質調査表、その他必要な資料等は最終報告書と共に、『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省令第4条に規定する試験施設について』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省令第4条に規定する試験施設に関する基準』第32条に定める期間、当ラボ試資料保管室に保管する。

保管期間の過ぎた生データ、資料等は、試験委託者と協議の上処置する。

## 17. 備考

### 17.1 試験に使用した主要な機器、装置

閉鎖系酸素消費量測定装置	: 大倉電気製	OM-2001A形
高速液体クロマトグラフ	: ポンプ	島津製作所製 LC-10AD
	検出器	島津製作所製 SPD-10A
	データ処理装置	島津製作所製 C-R5A
赤外分光光度計	: 日本分光工業製	IR-810型
分析用上皿電子天秤	: メトラー製	AE-163型
pHメーター	: 横河電機製	PH82型

### 17.2 試験に使用した試薬

アセトニトリル (HPLC用)	: 純正化学製
アニリン (試薬特級)	: 昭和化学製
KBr (錠剤成形用)	: ジーエルサイエンス製
水 (日本薬局方 精製水)	: 小堺製薬製



( 試験番号 : 0172D )

BOD (mg/L)

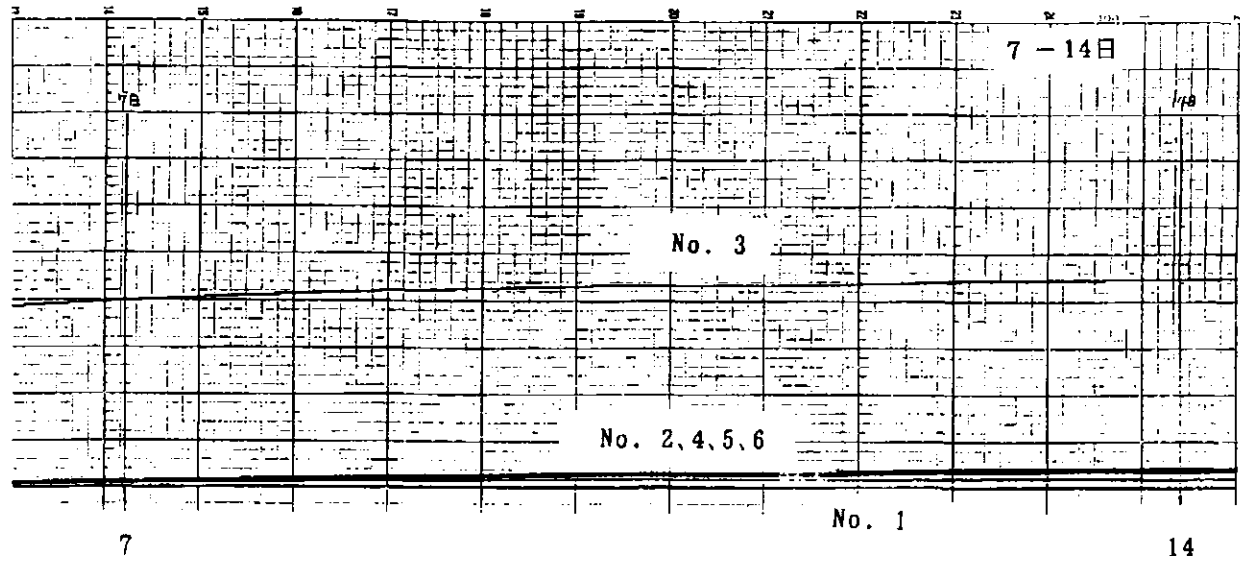
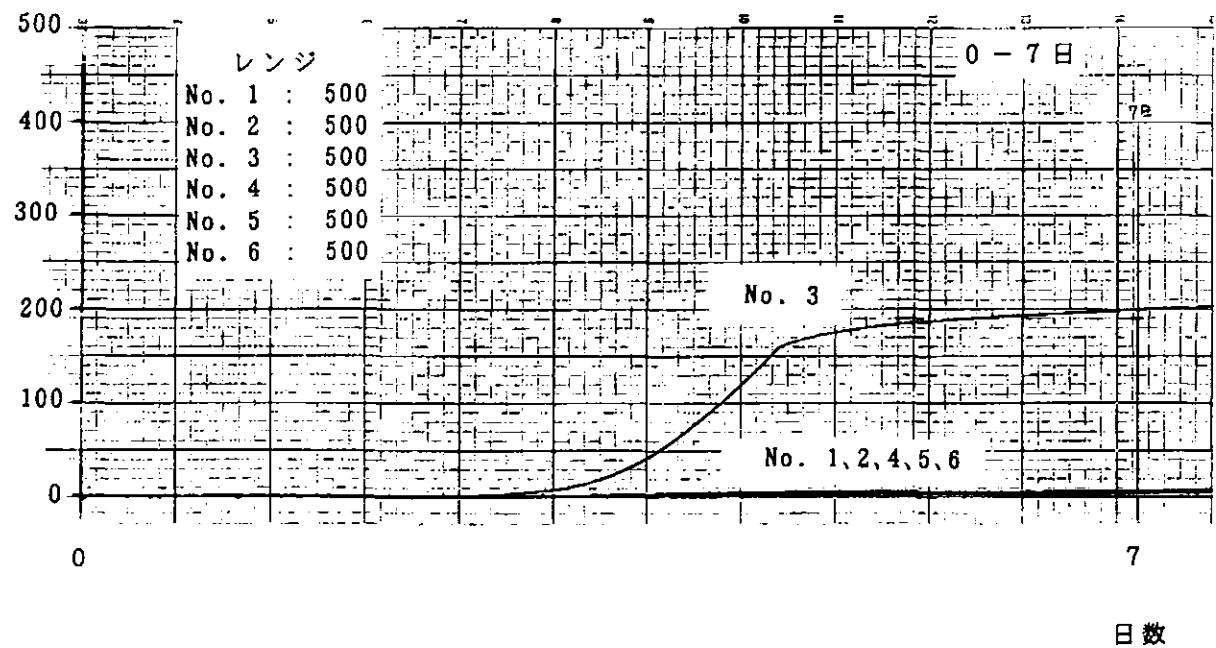


図 - 7 - 1 BOD測定チャート

( 試験番号 : 0172D )

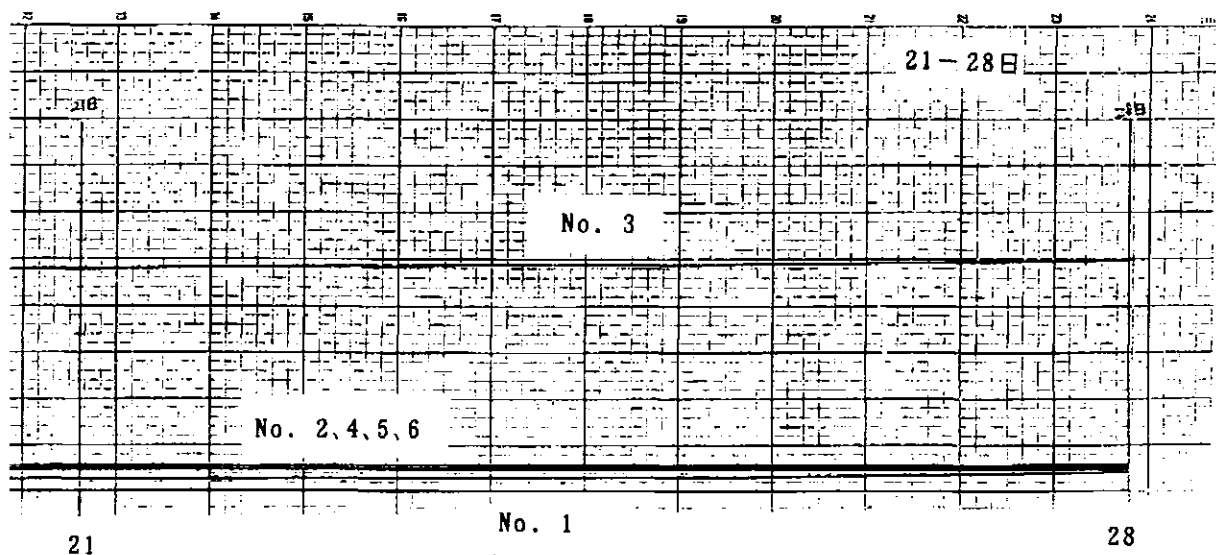
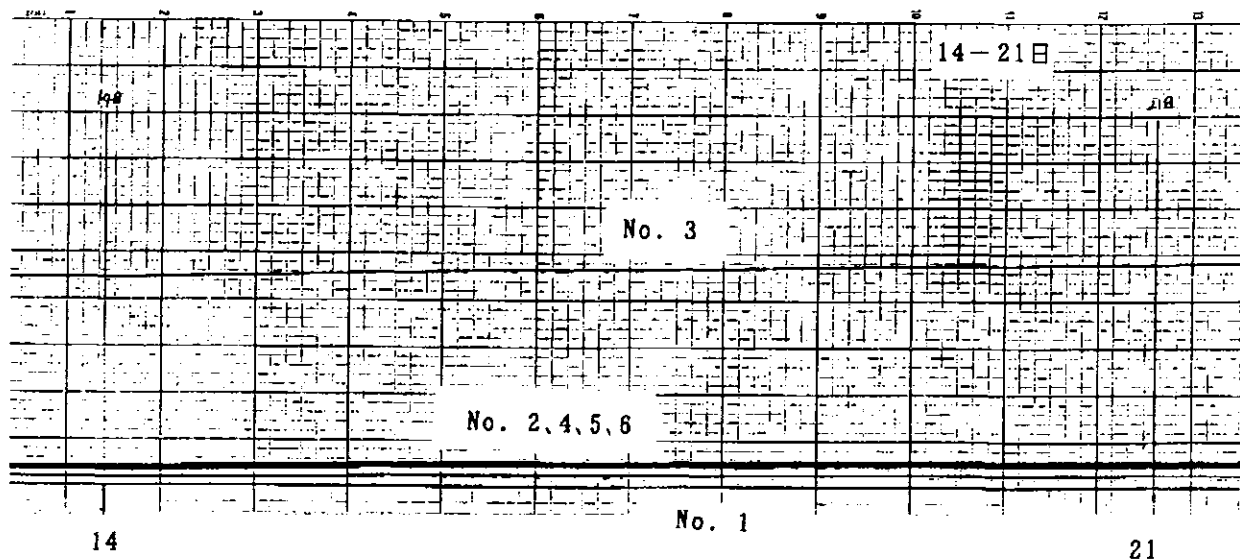


図-7-2 BOD測定チャート