

# 最 終 報 告 書

スチレンオキシド（被験物質番号 K-889）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 スチレンオキシド（被験物質番号 K-889）の微生物による分解度試験

試験番号 20889

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11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 スチレンオキシド（被験物質番号 K-889）の微生物による  
分解度試験

試験番号 20889

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 8月25日	昭和63年 8月25日	昭和63年 8月25日
昭和63年 9月 6日	昭和63年 9月 6日	昭和63年 9月 6日
昭和63年 9月20日	昭和63年 9月22日	昭和63年 9月22日
昭和63年 9月21日	昭和63年 9月22日	昭和63年 9月22日
昭和63年11月22日	昭和63年11月22日	昭和63年11月22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11月22日  
信頼性保証業務担当者

昭和63年11月22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	14
14. 試験結果	14
15. 試資料の保管	16
16. 備 考	16
17. 表及び図の内容	17
付 表	
付 図	

## 要 約

1. 試験の表題 スチレンオキシド（被験物質番号 K-889）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  $25 \pm 1$  °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 | 80%,  | 82%,  | 81%  |
| (2) TOCによる分解度 | 93%,  | 95%,  | 94%  |
| (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 20889

1. 表 題      スチレンオキシド（被験物質番号 K-889）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-889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 8月25日

(2) 試験実施期間

活性汚泥使用開始日 昭和63年 8月10日

試験液培養開始日 昭和63年 9月 6日

試験液培養終了日 昭和63年 9月20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11月12日

作成者

\_\_\_\_\_

9. 最終報告書の承認

昭和63年11月12日

試験責任者

氏名

\_\_\_\_\_

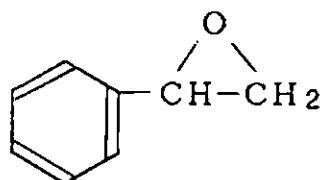
## 10. 被験物質

本報告書において被験物質K-889は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

10.1 名 称 スチレンオキシド

10.2 構造式等

構造式



分子式  $C_8H_8O$

分子量 120.15

10.3 純 度<sup>\*1</sup> 95.9%  
不純物 フェニルアセトアルデヒド 4.1%

<sup>\*1</sup> ガスクロマトグラフィー（図-12参照）による。

10.4 入手先、商品名及びロット番号

- (1) 入 手 先 [redacted] ([redacted] 試薬)
- (2) 商 品 名 [redacted]
- (3) ロット番号 AZ01



## 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

沸 点<sup>\*2</sup> 191 ～ 192℃

比 重<sup>\*3</sup>  $d_{20}^{20}$  1.0547

溶解性 水 加水分解するため測定不可。

ヘキサン 100 g/ℓ以上

クロロホルム 100 g/ℓ以上

酢酸エチル 100 g/ℓ以上

メタノール 100 g/ℓ以上

赤外吸収スペクトル (図-7参照)

質量スペクトル (図-8参照)

核磁気共鳴スペクトル (図-10参照)

\*2 化学大辞典(共立出版)による。

\*3 添付資料による。

## 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-7参照)、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 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 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  $7.0 \pm 1.0$  に調整して培養槽でばっ気<sup>\*4</sup>した。

#### \*4 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<sup>\*5</sup>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。

#### \*5 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  $7.0 \pm 1.0$  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前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 工場排水試験方法の懸濁物質 (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 5日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は6000mg/lであった。

#### (2) 基礎培養基の調製

工場排水試験方法の生物化学的酸素消費量 (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) 基準物質

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、被験物質を 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 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

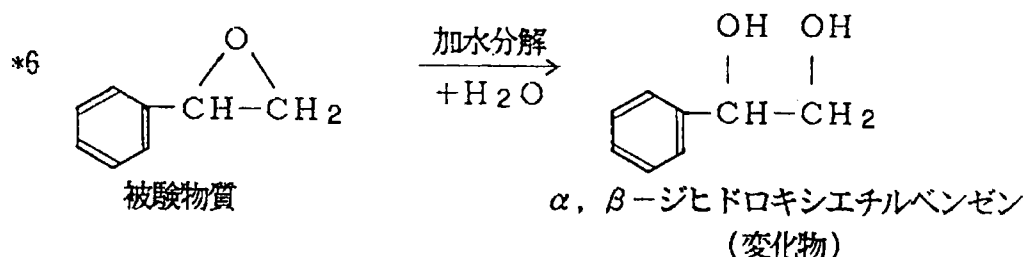
試験液培養温度  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$

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

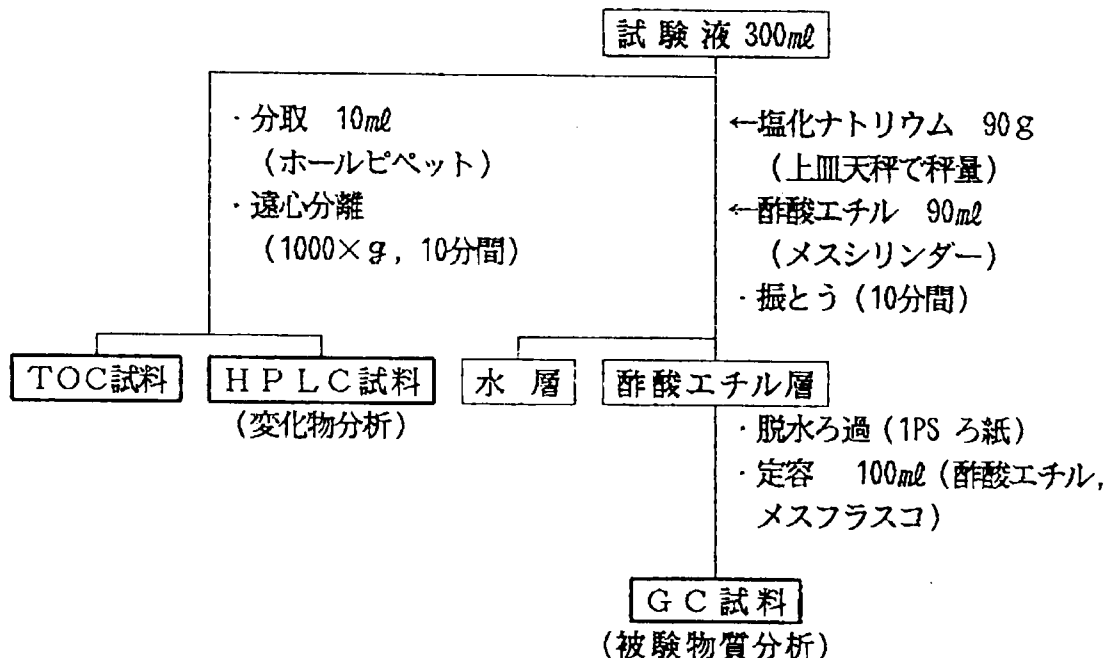
培養期間終了後、試験液中に残留している溶存有機炭素、被験物質及び加水分解によって生成する $\alpha$ 、 $\beta$ -ジヒドロキシエチルベンゼン<sup>\*6</sup>〔官報公示整理番号 3-2882 〕（以下、変化物と称す）を分析した。なお、変化物は培養終了後の試験液（水＋被験物質）系について、ガスクロマトグラフィー質量分析法により同定を行った結果、 $\alpha$ 、 $\beta$ -ジヒドロキシエチルベンゼンであることを確認した（図-9参照）。



### 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blank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ガスクロマトグラフィー（GC）試料及び変化物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。

#### フロースキーム



## 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 350 digit（溶存有機炭素濃度 1.3mgC/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 ℃
流 量	150 ml/分
注 入 量	10 μl
感 度	レンジ 3

### (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 300mg/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 500μV・sec（被験物質濃度 3.5mg/l）とした。

(a) 分析機器の定量条件

機 器	島津製作所製 GC-9A
検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
カ ラ ム	40m×1.2mmφ ガラス製
液 相	G-300 膜厚 1μm
カ ラ ム 温 度	125℃
試料導入部温度	200℃
キャリアーガス	ヘリウム
流 量	20ml/min
注 入 量	2μl
感 度	
検 出 器	レンジ 10 <sup>2</sup>
記 録 計	レンジ 1mV, ATTN 2 <sup>3</sup>

(b) 検量線の作成

被験物質 100.0mgを酢酸エチルに溶解し、100mlに定容して1000mg/lの標準原液を調製した。これを酢酸エチルで希釈して75.0、150及び300mg/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)。

(3) 高速液体クロマトグラフィーによる変化物の分析

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変化物を分析した。HPLC試料中の変化物の濃度はクロマトグラム上で得られた標準溶液 120mg/lのピーク高さとは比較し、比例計算して求めた(表-4、図-3参照)。

ピーク高さの測定限界はノイズレベルを考慮して2mm(変化物濃度2.6mg/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	島津製作所製 LC-5A
検 出 器	島津製作所製 SPD-2A
カ ラ ム	UNISIL PACK F3-100B 10cm×6mmφ ステンレス製
溶 離 液	メタノール/精製水 (4/6 V/V)
流 量	1.0ml/min
測 定 波 長	212nm (図-11参照)
注 入 量	10μl
感 度	
検 出 器	0.64ABU/FS
記 録 計	レンジ 1mV

(b) 検量線の作成

α, β-ジヒドロキシエチルベンゼン 100.0mg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30.0、60.0及び 120mg/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-6参照)。

12.4.3 回収試験

回収試験は12.2に準じて被験物質を添加した(水+被験物質)系及び(汚泥+被験物質)系の試験液を12.4.1に従って前処理操作し、前記の定量条件に従ってGCにより分析を行った。分析操作における各2点の回収率及び平均回収率は下記のとおりであり、平均回収率を試験液中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした(表-5、図-4参照)。

(水+被験物質)系回収率 94.9%, 94.6% 平均94.8%  
(汚泥+被験物質)系回収率 97.3%, 97.4% 平均97.4%



## 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<sup>\*7</sup> : 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 純度100%として計算した。

### (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<sub>A</sub> : (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<sub>B</sub> : (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) GCによる分解度

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

S<sub>A</sub> : (汚泥+被験物質)系における被験物質の残留量  
(測定値) (mg)

S<sub>B</sub> : (水+被験物質)系における被験物質の添加量<sup>\*8</sup>  
(測定値) (mg)

\*8 (水+被験物質)系が水中で変化したため。

## 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70%及び78%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。	⑥ 6.7
	(汚泥 + 被験物質)系	被験物質は溶解した。	② 6.9 ③ 7.0 ④ 6.9
培養終了時	(水 + 被験物質)系	被験物質は溶解していた。	⑥ 6.0
	(汚泥 + 被験物質)系	汚泥は増殖していた。	② 6.9 ③ 6.9 ④ 6.9

#### 14.2 試験液の分析結果

14日後の試験液の分析結果は下記のとおりであった。

単位：％

	被験物質残留率 (A)	変化物生成率 (B)	(A)+(B)
⑥ 水 + 被験物質	0	98	98
② 汚泥 + 被験物質	0	0	0
③ 汚泥 + 被験物質	0	0	0
④ 汚泥 + 被験物質	0	0	0
付 表	表 - 3	表 - 4	

(水 + 被験物質) 系では、被験物質は加水分解して $\alpha$ 、 $\beta$ -ジヒドロキシエチルベンゼンとして存在していた。

#### 14.3 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	80	82	81	表-1
TOC による結果	93	95	94	表-2
GC による結果	100	100	100	表-3

## 15. 試資料の保管

### 15.1 被験物質

保管用被験物質約5g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。

### 15.2 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。

## 16. 備考

### 16.1 試験に使用した機器及び装置

クーロメーター	:	8頁参照
全有機炭素計	:	10頁参照
ガスクロマトグラフ	:	11頁参照
高速液体クロマトグラフ	:	12頁参照
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 150-20
遠心分離機	:	トミー精工業製 LC06
振とう機	:	大洋科学工業製 TB-6

### 16.2 分析に使用した試薬

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
塩化ナトリウム	:	マナック製	試薬一級
酢酸エチル	:	関東化学製	試薬一級
メタノール	:	和光純薬工業製	HPLC用
$\alpha$ , $\beta$ -ジヒドロキシエチルベンゼン	:	東京化成工業製	TCI-EP試薬