

# 最終報告書

2-アミノアントラキノン (被験物質番号 K-893) 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 2-アミノアントラキノン(被験物質番号 K-893)の微生物による分解度試験

試験番号 20893

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27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 2-アミノアントラキノン(被験物質番号 K-893)の  
微生物による分解度試験

試験番号 20893

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 3日	昭和63年 8月 3日	昭和63年 8月 3日
昭和63年 8月 5日	昭和63年 8月 9日	昭和63年 8月 9日
昭和63年 8月23日	昭和63年 9月 5日	昭和63年 9月 7日
昭和63年 9月 2日	昭和63年 9月 5日	昭和63年 9月 7日
昭和63年 9月27日	昭和63年 9月27日	昭和63年 9月27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27日  
信頼性保証業務担当者

昭和63年 9月27日  
信頼性保証業務担当者

昭和63年 9月27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	11
14. 試験結果	12
15. 試資料の保管	13
16. 備 考	13
17. 表及び図の内容	14
付 表	
付 図	

## 要 約

1. 試験の表題 2-アミノアントラキノン (被験物質番号 K-893) 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 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) による被験物質の分析

3. 試験結果

- |                |     |     |    |
|----------------|-----|-----|----|
| (1) BODによる分解度  | 2%, | 1%, | 0% |
| (2) HPLCによる分解度 | 2%, | 4%, | 4% |

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。



6. 試験期間

(1) 試験開始日 昭和63年 8月 3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 8月 5日

試験液培養終了日 昭和63年 9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

\_\_\_\_\_

試験資料管理責任者

\_\_\_\_\_

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

\_\_\_\_\_

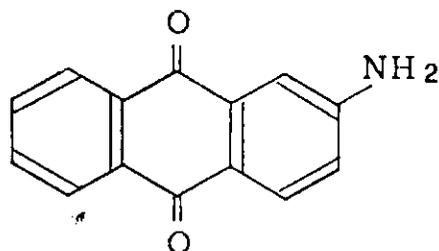
## 10. 被験物質

本報告書において被験物質K-893は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

10.1 名 称 2-アミノアントラキノン

### 10.2 構造式等

構造式



分子式  $C_{14}H_9NO_2$

分子量 223.23

10.3 純 度<sup>\*1</sup> 85.2%  
不純物 1-アミノアントラキノン 0.5%

\*1 添付資料による。

### 10.4 入手先及びロット番号

(1) 入手先 XXXXXXXXXX  
(2) ロット番号 FFQ01

## 10.5 同 定

堀口博著 赤外吸光図説総覧（三共出版株式会社）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	赤茶色粉末	
融 点 <sup>*1</sup>	299.0 °C	
溶解性	水	0.15mg/l
	ヘキサン	0.31mg/l
	クロロホルム	500mg/l
	酢酸エチル	790mg/l
	メタノール	270mg/l

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)

紫外吸収スペクトル (図-8参照)

\*1 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-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  $7.0 \pm 1.0$  に調整して培養槽でばっ気<sup>\*2</sup>した。

\*2 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>\*3</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。

\*3 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 8月 3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) 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±1℃

試験液培養期間 28日間

実施場所 第11機器室

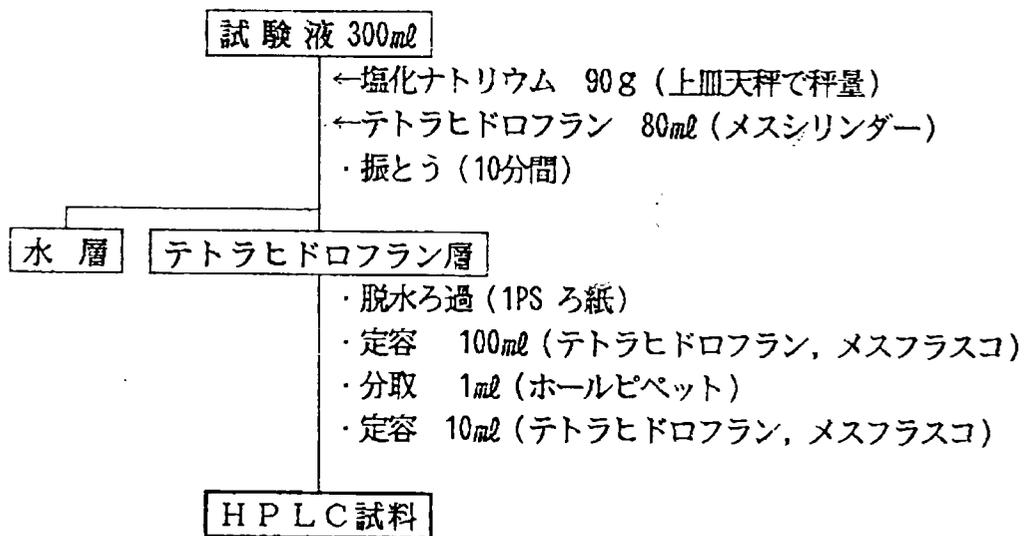
## 12.4 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中に残留している被験物質を分析した。

### 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、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) 試料とした。

フロースキーム



## 12.4.2 定量分析

### (1) 高速液体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HPLC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。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40.2mg/ℓのピーク高さとは比較し、比例計算して求めた(表-2、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0.48mg/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	ミツミ科学産業製 ミルトンロイポンプ
検出器	日本分光工業製 UVIDEC-100-II
カラム	Shodex GPC KF-801 30cm×8mmφ ステンレス製
溶離液	テトラヒドロフラン
流量	1.0ml/分
測定波長	296nm(図-8参照)
注入量	10μℓ

#### (b) 検量線の作成

入手試薬 118mg(被験物質 100.5mg)をテトラヒドロフランに溶解し、100mlに定容して1005mg/ℓの標準原液を調製した。これをテトラヒドロフランで希釈して10.0、20.1及び40.2mg/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は濃度とに基づき検量線を作成した(図-4参照)。

## 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HPLC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-3、図-3参照)。

(水+被験物質)系回収率	98.3%	96.4%	平均	97.4%
(汚泥+被験物質)系回収率	98.3%	99.8%	平均	99.0%

## 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>\*4</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)

\*4 TODの算出に際しては不純物の寄与を考慮していない。

### (2) HPLC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日及び14日後の分解度はそれぞれ65及び75%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	被験物質は溶解していなかった。
	(汚泥 + 被験物質)系	被験物質は溶解していなかった。
培養終了時	(水 + 被験物質)系	被験物質は溶解していなかった。
	(汚泥 + 被験物質)系	被験物質は溶解していなかった。 汚泥の増殖は見られなかった。

### 14.2 分解度

28日後の分解度は下記のとおりであった。

	分解度 (%)			付表
	③	④	⑤	
BODによる結果	2	1	0	表-1
HPLCによる結果	2	4	4	表-2

## 15. 試資料の保管

### 15.1 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。

### 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
高速液体クロマトグラフ	:	10頁参照
天びん	:	Sartorius社製 2007 MP6
pH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

### 16.2 分析に使用した試薬

塩化ナトリウム	:	マナック製	試薬一級
テトラヒドロフラン	:	関東化学製	HPLC用

Test substance K-893

Apparatus Coulometer No. CM-6  
range 250mg/l×1

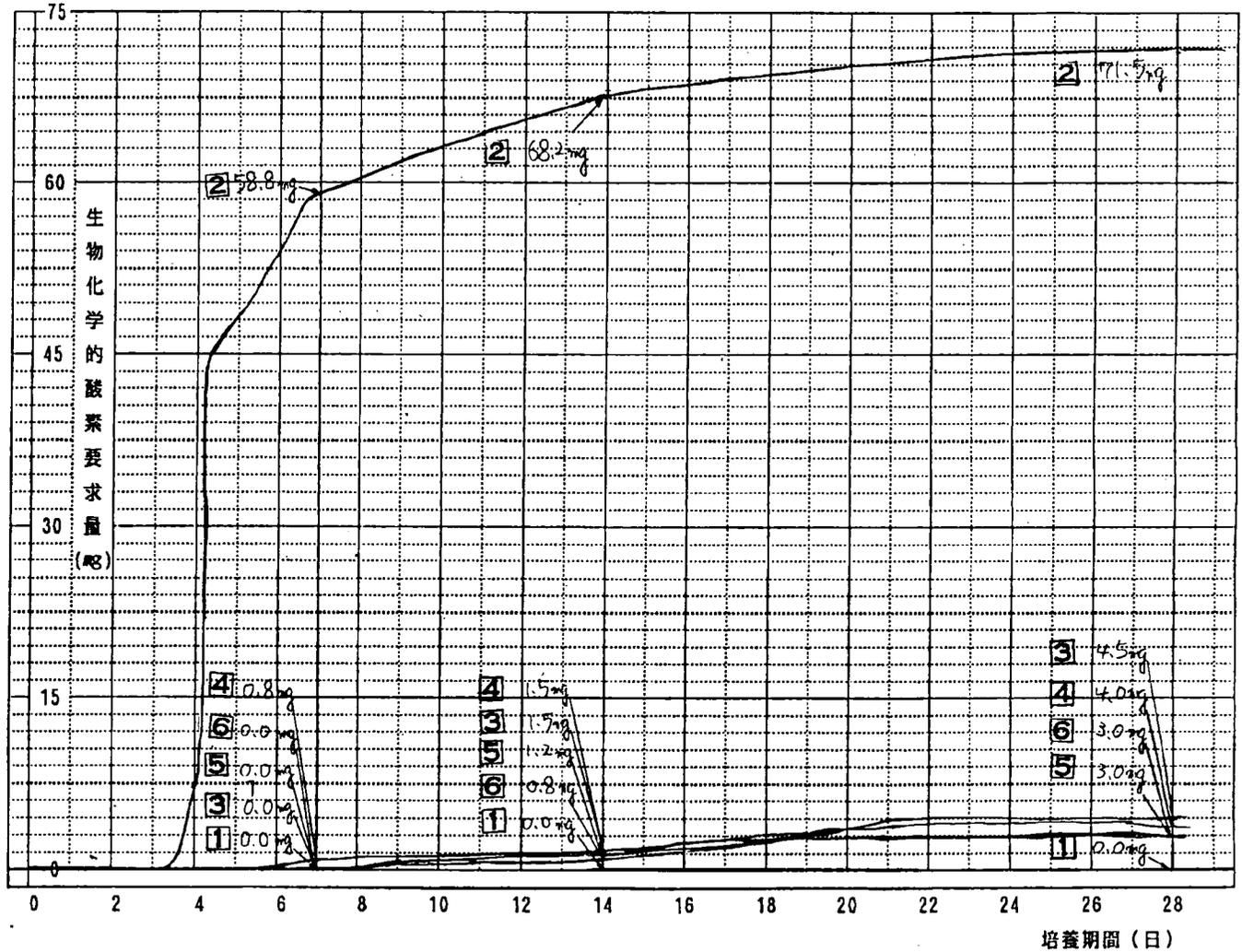
Cultivation condition  
concentration  
test substance 100 mg/l  
reference substance (Aniline) 100 mg/l  
activated sludge 30 mg/l  
temperature 25±1°C  
period 8/5 ~ 9/2 (28 days) 1988

Bottle No.	Contents
①	水 + 被験物質
②	汚泥 + アニリン
③	汚泥 + 被験物質
④	汚泥 + 被験物質
⑤	汚泥 + 被験物質
⑥	基礎呼吸

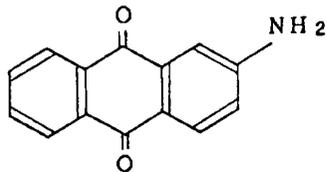
Note : 本試験  
標準条件

Operator XXXXXXXXXX

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-893 の分解度

③分解度 = (BOD-B)/TOD×100 = 2 %

④分解度 = (BOD-B)/TOD×100 = 1 %

⑤分解度 = (BOD-B)/TOD×100 = 0 %

TOD = 30.2 mg × 2.33 = 70.4 mg

7日目のアニリンの分解度 = (BOD-B)/TOD×100 = 65 %

アニリンのTOD = 30.0 × 3.01 = 90.3 mg