

株式会社三菱化学安全科学研究所殿

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
[Redacted]

最 終 報 告 書

3, 4-DCTの分解度試験

(試験番号: A060553)

2007年 5月17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 : 株式会社三菱化学安全科学研究所

表 題 : 3, 4-DCTの分解度試験

試験番号 : A060553

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。

OECD Principles of Good Laboratory Practice (1997)

2007年 5月17日

試験責任者

[Redacted Signature]

[Redacted Stamp]

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 : 株式会社三菱化学安全科学研究所

表 題 : 3, 4-DCTの分解度試験

試験番号 : A060553

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	2007年 1月17日	2007年 1月17日
変更書(変更番号:01)	2007年 1月17日	2007年 1月17日
試験の査察		
被験物質の添加	2007年 1月17日	2007年 1月17日
溶存酸素濃度の測定	2007年 1月31日	2007年 1月31日
被験物質残留量の測定	2007年 2月14日	2007年 2月14日
最終報告書監査	2007年 5月17日	2007年 5月17日

信頼性保証部門担当者 : 2007年 5月17日

2007年 5月17日

2007年 5月17日

試験実施概要

1. 表 題 : 3, 4-DCTの分解度試験
(試験番号: A060553)
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 : OECD Guideline for Testing of Chemicals 301D (1992)
“Ready Biodegradability : CLOSED BOTTLE TEST”
4. 適用 G L P : OECD Principles of Good Laboratory Practice (1997)
5. 試験委託者 : 株式会社三菱化学安全科学研究所
東京都港区芝浦四丁目 2 番 8 号
(2007年 4月1日付, 移転により住所変更)
6. 試験受託者 : 株式会社三菱化学安全科学研究所
東京都港区芝浦四丁目 2 番 8 号
(2007年 4月1日付, 移転により住所変更)
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鴨志田町 1000 番地
8. 試験責任者 : XXXXXXXXXX
(環境化学研究部)

9. 試験関係者 :

試験担当者 2007年 5月17日

(試験実施)

試験担当者 2007年 5月17日

(試験実施)

10. 試験日程 : 試験開始日 2007年 1月17日
酸素消費量測定開始日 2007年 1月17日
酸素消費量測定終了日 2007年 2月14日
試験終了日 2007年 5月17日

11. 保管 : 下記の試資料は、株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所の試資料保管施設に保管する。

- 1) 試験計画書
- 2) 最終報告書
- 3) 生データ
- 4) 被験物質
- 5) その他必要なもの

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	9
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 分析前処理	11
2.3 溶存酸素濃度の測定	11
2.4 p H測定	11
2.5 被験物質残留量の測定	12
3 試 験 結 果 の 評 価	13
3.1 分解度の算出式	13
3.2 分解性の判定	13
3.3 試験の有効性	14
4 試 験 結 果	15
4.1 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	15
4.2 BOD分解度	15
4.3 被験物質残留量からの分解度	15
4.4 p H測定結果	15
4.5 試験の有効性	15
5 考 察	15
Table 1 Summary of the test results	16
Table 2 Dissolved oxygen concentration	17
Table 3 Calculation of recovery and detection limit	18
Table 4 Residual test substance amount in the test bottles	19
Figure 1 Infrared absorption spectra of the test substance	20
Figure 2 Calibration curve of the test substance	21
Figure 3 GC chromatograms of the test substance---Calibration curve	22-23
Figure 4 GC chromatograms of the test substance ---Measurement of residual test substance amount at day 0	24-26
Figure 5 GC chromatograms of the test substance ---Measurement of residual test substance amount at day 28	27-29

要 約

表 題

3, 4-DCTの分解度試験（試験番号：A060553）

試 験 方 法

被験物質は水中からの揮発性が高いことから、本試験はOECD Guideline for Testing of Chemicals 301D (1992) “Ready Biodegradability : CLOSED BOTTLE TEST” に準拠して実施した。

（試験の構成）

No.1	: 植種ブランク系	(植種液＋無機培地)
No.2	: 被験物質の分解系	(被験物質＋植種液＋無機培地)
No.3	: 水中安定性系	(被験物質＋精製水)
No.4	: 分解活性確認系	(対照物質＋植種液＋無機培地)

（評価項目）

溶存酸素濃度測定値からの生物化学的酸素消費量（BOD）の算出
被験物質残留量の測定

28日目の結果

評 価 項 目	被験物質の分解系		水中安定性系		理論値
	1	2	1	2	
BOD, mgO ₂ /mg	0.00	0.00	0.07	0.05	1.59
被験物質残留量, mg	1.29	1.24	1.27	1.34	1.25

28日目の分解度

分 解 度	被験物質の分解系		平均
	1	2	
BOD分解度, %	0	0	0
被験物質残留量からの分解度, %	0(-3)*	1	1

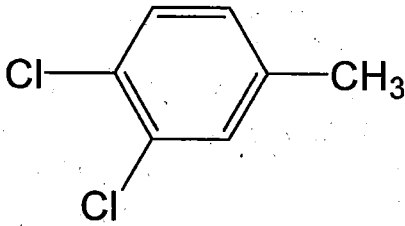
* 分解度が負の値に算出されたため、カッコ内にその計算値を示す

考 察

- ・28日目のBOD分解度は平均 0%，被験物質残留量からの分解度は平均 1%であったことから、被験物質は難分解性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

化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	3,4-ジクロロトルエン		
別 名	略称: 3, 4-DCT		
C A S 番 号	95-75-0		
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合は, その製法の概要)			
分 子 量	161.03		
試験に供した 化学物質の純度 (%)	99.9		
試験に供した 化学物質のロット番号	[REDACTED]		
不純物の名称 及び含有量	—		
蒸 気 圧	—		
対 水 溶 解 度	—		
1-オクタノール/水分配係数	—		
融 点	—		
沸 点	205℃		
常温における性状	無色透明液体		
安 定 性	通常取り扱い条件においては安定。 酸化剤との接触に注意する。		
溶媒に対する溶解度等	溶 媒	溶 解 度	溶媒中の安定性
	—	—	—

(上記内容は委託者提供資料による。)

1.2 供試試料

- 1) 供給者 : XXXXXXXXXX
2) 元素組成 : C 52.2%, H 3.8%, Cl 44.0%

[被験物質の構造式より算出した値]

1.3 被験物質の確認

入手し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により、被験物質を確認した。

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

1.4 保管法および安定性の確認

被験物質は試験期間中、試験物質保管用冷蔵庫（保管条件：冷蔵，暗所，密栓）に保管した。

実験終了後に保管中の被験物質の赤外吸収スペクトルを測定し、実験開始前に測定したスペクトルと一致したことから、被験物質は保管中安定であったと判断した。

[Figure 1]

- 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

被験物質は水中からの揮発性が高いことから、本試験はOECD Guideline for Testing of Chemicals 301D (1992) “Ready Biodegradability : CLOSED BOTTLE TEST” に準拠して実施した。

被験物質の微生物による分解に伴う密閉容器内の溶存酸素濃度の減少を経時的に測定し、生物化学的酸素消費量 (BOD) を算出した。また、BOD測定開始および終了時に被験物質残留量の測定を行い、これらの値から分解度を算出して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、被験物質の分解度試験を行った。

(装置)

恒温槽 : TAITEC製 低温恒温槽 M-210型 (No.1) (暗所条件にて使用)

(植種)

植種源 : 成瀬クリーンセンター 二次放流水 (BOD測定開始日に採取)

(条件)

濃度 : 被験物質	: 4.17 mg/L
安息香酸ナトリウム* (対照物質)	: 4.00 mg/L
植種液	: 50 μ L/L

液量 : 300 mL

期間 : 28日間 (酸素消費量測定)

温度 : 20 \pm 1 $^{\circ}$ C

* : 関東化学製 試薬特級 Lot No. 407C2060

(試験の構成と被験物質の添加)

No.1 : 植種ブランク系 (植種液 + 無機培地*¹)

無機培地 4 Lに植種液 200 μ Lを添加した後、12本のふらんビンに分注した。

No.2 : 被験物質の分解系 (被験物質 + 植種液 + 無機培地*¹)

無機培地 6 Lに植種液 300 μ Lを添加し、18本*²のふらんビンに分注した後、各ふらんビンに被験物質をマイクロシリンジで 1.00 μ L (1.25 mg*³) 添加した。

No.3 : 水中安定性系 (被験物質 + 精製水*⁴)

精製水 6 Lを18本*²のふらんビンに分注し、各ふらんビンに被験物質をマイクロシリンジで 1.00 μ L (1.25 mg*³) 添加した。

No.4 : 分解活性確認系 (対照物質 + 植種液 + 無機培地*¹)

無機培地 4 Lに植種液 200 μ Lを添加し、安息香酸ナトリウム水溶液 (4000 mg/L) を 4 mL添加した後、10本のふらんビンに分注した。

*1 : OECD Guideline for Testing of Chemicals 301D (1992) に定められた培地を酸素飽和させてから使用

*2 : 18本のうち4本は予備

*3 : 比重を1.246として算出

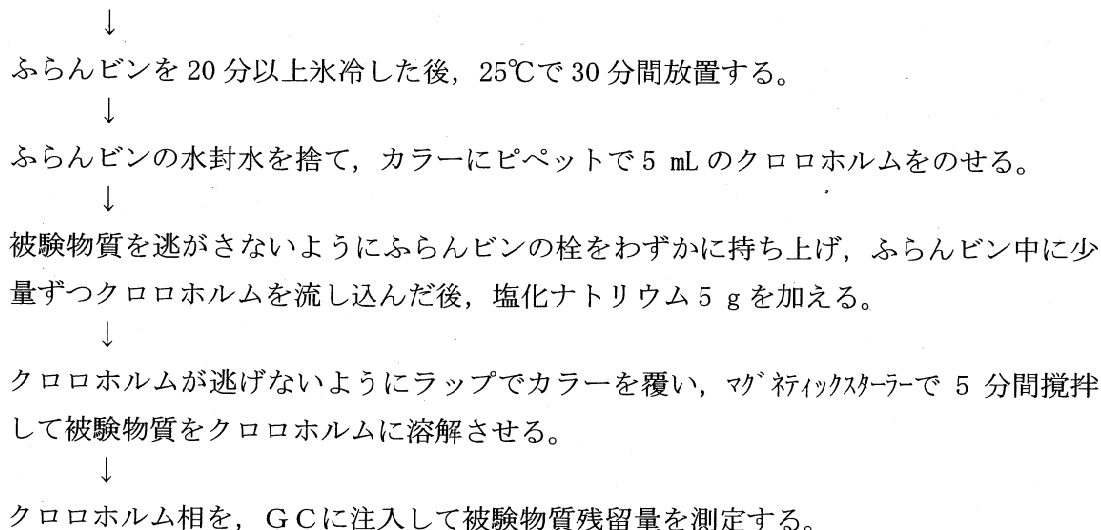
*4 : JIS K0557 A4 グレードの水を酸素飽和させてから使用

2.2 分析前処理

下記の測定スケジュールに示した本数のふらんビン内の試験液を下記フロー・シートに従って前処理した。

分析前処理フロー・シート

300 mL 試験液（被験物質残留量測定用）



測定スケジュール

項 目		0 日目	7 日目	14 日目	21 日目	28 日目
No.1 植種ブランク系	溶存酸素等測定	2 本	2 本	2 本	2 本	2 本
	被験物質測定	1 本	—	—	—	1 本
No.2 被験物質の分解系	溶存酸素等測定	2 本	2 本	2 本	2 本	2 本
	被験物質測定	2 本	—	—	—	2 本
No.3 水中安定性系	溶存酸素等測定	2 本	2 本	2 本	2 本	2 本
	被験物質測定	2 本	—	—	—	2 本
No.4 分解活性確認系	溶存酸素等測定	2 本	2 本	2 本	2 本	2 本
	被験物質測定	—	—	—	—	—

2.3 溶存酸素濃度の測定

溶存酸素濃度を下記の装置により測定し，BOD を求めた。

1) 装 置：溶存酸素計，ワイエスアイ・ナノテック製 5100 型 (No.1)

2.4 pH 測定

0 および 28 日目に溶存酸素濃度測定後，試験液の pH を測定した。

1) 装 置：卓上 pH / イオン計，オリオン製 720A 型 (No.1)

2.5 被験物質残留量の測定

下記の装置および条件で被験物質を定量し、被験物質残留量を求めた。

1) 装置 : ガスクロマトグラフ (GC)

GC : ヒューレット・パッカート製 6890A 型 (No.1)

2) 条件 : カラム : J & W 製 DB-1, 30m × 0.25mm i.d. × 0.25 μm (膜厚)

温度 : カラム 100°C (0 min) → 10°C/min → 200°C (0 min)

注入口 200 °C, 検出器 250 °C

キャリアガス : ヘリウム

検出器ガス : 水素 40 mL/min, 空気 450 mL/min

メークアップガス : ヘリウム 45 mL/min

カラム流量 : 1.0 mL/min (コンスタントフローモード)

注入口 : スプリット (スプリット比 10:1)

検出器 : FID

注入量 : 1 μL

3) 検量線

5, 10 および 20 mL のメスボトルに被験物質各 2.00 μL (2.49 mg) をマイクロシリンジを用いて採取し、クロロホルムで溶解後定容とし 125, 249 および 498 mg/L の標準溶液を調製した。クロロホルムを 0 mg/L の標準溶液とし、被験物質の 0, 125, 249 および 498 mg/L 標準溶液を GC 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。

最小二乗法により、回帰直線の相関係数を求めた。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 498 mg/L 標準溶液で得られるピーク面積との比較で行った。

[Figure 2 および Figure 3]

4) 試験液の測定

0 および 28 日目に、2.2 に従って前処理をした後、被験物質残留量を測定した。

被験物質の検出限界は、最小検出ピーク面積を 1 pA・sec に設定し、これに相当するふらんビン中の被験物質質量から、0.01 mg とした。

また、被験物質の回収率は 0 日目の測定値から算出し、被験物質の分解系では 104 および 102%, 水中安定性系では 98 および 102% であった。28 日目の被験物質残留量の測定値は、被験物質の分解系は平均回収率 103%, 水中安定性系は平均回収率 100% で補正した。

0 日目および 28 日目の植種ブランク系の測定で被験物質残留量が検出限界未満であることを確認した。

[Table 3 および Figure 4]

3 試験結果の評価

3.1 分解度の算出式

1) BOD分解度

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

BOD : 被験物質または対照物質の生物化学的酸素消費量 (mgO₂/mg)

ThOD : 被験物質または対照物質の理論的酸素要求量 (mgO₂/mg)

BODの計算

被験物質の分解系および分解活性確認系

$$\text{BOD (mgO}_2\text{/mg)} = \{(\text{DO}_0 - \text{DO}_x) - (\text{DO}_{b0a} - \text{DO}_{bxa})\} / C$$

水中安定性系

$$\text{BOD (mgO}_2\text{/mg)} = (\text{DO}_0 - \text{DO}_x) / C$$

C : 被験物質または対照物質のふらんビン中濃度 (mg/L)

DO₀ : 0日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)

DO_x : x日目の溶存酸素濃度 (mgO₂/L)

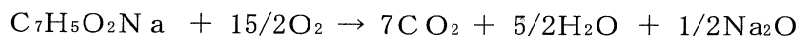
DO_{b0a} : 植種ブランク系における0日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)

DO_{bxa} : 植種ブランク系におけるx日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)

理論的酸素要求量 (ThOD) の計算

安息香酸ナトリウム : 1.67 mgO₂/mg

安息香酸ナトリウムが下記のように無機化されるとして算出した。



被験物質 : 1.59 mgO₂/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) 被験物質残留量からの分解度

$$\text{分解度 (\%)} = (1 - C_{28} / C) \times 100$$

C : 被験物質仕込み量 (mg)

C₂₈ : 28日目の被験物質の分解系中の被験物質量 (mg)

3.2 分解性の判定

BOD, 被験物質残留量測定値および算出される分解度から, 被験物質の分解性を総合的に判定する。

3.3 試験の有効性

以下の項目をすべて満たしている場合に、試験は成立する。

- 1) 14 日目の対照物質の BOD 分解度の平均値が 60% 以上であること。
- 2) 28 日目の植種ブランク系での溶存酸素の減少量が 1.5 mgO₂/L 以下であること。
- 3) BOD 測定期間中いずれのふらんビンでも溶存酸素濃度が 0.5 mgO₂/L 以下にならないこと。

4 試験結果

4.1 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

該当する事象はなかった。

4.2 BOD分解度

28日目の被験物質の分解系のBODは、理論値 (1.59 mgO₂/mg) に対していずれも 0.00 mgO₂/mgであった。28日目のBOD分解度はいずれも 0%と算出された。

[Table 1 および Table 2]

4.3 被験物質残留量からの分解度

28日目の被験物質残留量は仕込み量 (1.25 mg) に対し、被験物質の分解系で 1.29 および 1.24 mg, 水中安定性系で 1.27 および 1.34 mg 検出された。被験物質残留量からの分解度は被験物質の分解系で 0 および 1%と算出された (計算値は -3 および 1%であった)。

[Table 1, Table 4 および Figure 5]

4.4 pH測定結果

28日後の試験液のpHは、被験物質の分解系でいずれも 6.9 であり、水中安定性系で 5.1 および 5.0 であった。

[Table 1]

4.5 試験の有効性

測定結果が試験の有効性の項目をすべて満たしたため、試験は有効であると判断された。

[Table 1 および Table 2]

5 考察

28日目のBOD分解度は平均 0%, 被験物質残留量からの分解度は平均 1%であったことから、被験物質は難分解性で構造変化も受けなかったと判断される。

以 上