

最 終 報 告 書

ペルフルオロドデカン酸（被験物質番号 K-1750）の微生物による分解度試験

（試験番号：205126）

2006 年 8 月 17 日

化学物質評価研究機構

残留基準所

本文書は正本を正確に電子化したものです。

財団法人 化学物質評価研究機構 残留基準所

2006 年 8 月 17 日

試験責任者

最 終 報 告 書

ペルフルオロドデカン酸（被験物質番号 K-1750）の微生物による分解度試験

（試験番号：205126）

2006 年 8 月 17 日

化学物質評価研究機構

陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 ペルフルオロドデカン酸（被験物質番号 K-1750）の微生物による
分解度試験

試験番号 205126

上記試験は以下のGLPに従って実施したものです。

- (1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成15年11月21日、薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号）に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認しています。

2006 年 8 月 17 日

試験責任者



信 頼 性 保 証 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構

試験の表題 ペルフルオロドデカン酸（被験物質番号 K-1750）の微生物による
分解度試験

試験番号 205126

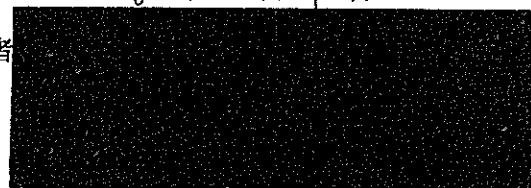
本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証します。

なお、監査又は査察の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告しました。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2006 年 6 月 27 日	2006 年 6 月 27 日
試験計画書	2006 年 6 月 28 日	2006 年 6 月 28 日
試験計画書の変更	2006 年 8 月 4 日	2006 年 8 月 4 日
試験計画書からの逸脱	2006 年 8 月 2 日	2006 年 8 月 2 日
培養開始時	2006 年 6 月 29 日	2006 年 6 月 29 日
中間時	2006 年 7 月 13 日	2006 年 7 月 13 日
培養終了時	2006 年 7 月 27 日	2006 年 7 月 28 日
生データ、最終報告書草案	2006 年 8 月 10 日	2006 年 8 月 10 日
最終報告書	2006 年 8 月 17 日	2006 年 8 月 17 日

2006 年 8 月 17 日

信頼性保証部門責任者



目 次

	頁
表 題	1
試験委託者	1
試験施設	1
試験目的	1
試験法	1
適用 GLP	1
試験日程	2
試験資料の保管	2
試験関係者	2
最終報告書の承認	2
要 約	3
1. 被験物質	4
2. 活性汚泥	6
3. 分解度試験の実施	8
4. 試験条件の確認	15
5. 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
6. 試験結果	15
7. 備 考	17

表 題	ペルフルオロドデカン酸（被験物質番号 K-1750）の微生物による分解度試験
試験委託者	独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構 （〒212-8554）神奈川県川崎市幸区大宮町1310番
試験施設	財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所 （〒839-0801）福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号
試験目的	K-1750の微生物による分解性の程度について知見を得る。
試験法	<p>本試験は以下の試験法に従って行った。</p> <p>(1) 「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成15年11月21日、薬食発第1121002号、平成15・11・13製局第2号、環保企発第031121002号）に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉</p> <p>(2) 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」に定める "Ready Biodegradability: Modified MITI Test (I) (Guideline 301C, July 17, 1992)"</p> <p>ただし、(2)に関して一部試験法から逸脱した。なお、逸脱の内容については「5. 試験成績の信頼性に及ぼしたと思われる環境要因」に記した。</p>
適用 GLP	<p>本試験は以下の基準を適用した。</p> <p>(1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成15年11月21日、薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号）に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」</p> <p>(2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)</p>

試験日程

試験開始日	2006年6月28日
実験開始日	2006年6月29日
実験終了日	2006年7月27日
試験終了日	2006年8月17日

試験資料の保管

(1) 被験物質


同一ロットの被験物質が505086試験終了後にすでに保管されているため、本試験終了後には保管しない。

(2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、試験委託書、その他必要な資料等は最終報告書と共に、試験委託者から通知を受けるまでの期間、久留米事業所資料保管室に保管する。

試験関係者

試験責任者


 所属 試験第一課

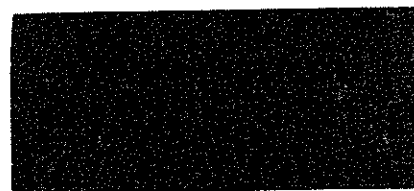
 試験担当者
 (分解度試験の実施)

 活性汚泥管理責任者


最終報告書の承認

2006年8月17日

試験責任者



要 約

試験の表題

ペルフルオロドデカン酸（被験物質番号 K-1750）の微生物による分解度試験

試験条件

(1) 被験物質濃度	100mg/L
(2) 活性汚泥濃度	30mg/L（懸濁物質濃度として）
(3) 試験液量	300mL
(4) 試験液培養温度	25±1℃
(5) 試験液培養期間	28日間（遮光下）

分解度算出のための測定及び分析

- (1) 閉鎖系酸素消費量測定装置による生物化学的酸素消費量（BOD）の測定
- (2) 高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による被験物質の定量分析

試験結果

(1) BOD分解度	-11%, -16%, -16%	平均	0% (-14%) ^{*1}
(2) 被験物質分解度（HPLC）	2%, 1%, 2%	平均	2%

*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を0としカッコ内にその計算値を示した。

結 論

本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

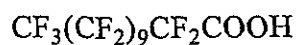
1. 被 験 物 質

本報告書においてK-1750は、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称 ペルフルオロドデカン酸

1.2 構造式等

構造式



分子式 $\text{C}_{12}\text{HF}_{23}\text{O}_2$

分子量 614.10

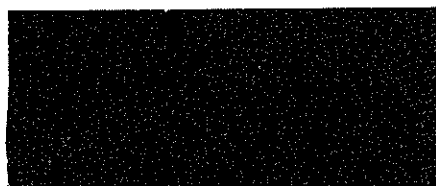
CAS番号 307-55-1

1.3 入手先、商品名及びロット番号^{*2}

(1) 入 手 先

(2) 商 品 名

(3) ロット番号

1.4 純 度^{*2}

(1) 被 験 物 質 98.5%

(2) 不 純 物 残り1.5%は不明

被験物質は純度100%として取り扱った。

*2 入手先添付資料による。

1.5 被験物質の確認

赤外吸収スペクトル (Fig.6参照) 及び質量スペクトル (Fig.7参照) により構造を確認した。

1.6 保管条件及び保管条件下での安定性確認

- | | |
|-------------|---|
| (1) 保 管 条 件 | 室温暗所保存 |
| (2) 安定性確認 | 実験開始前及び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、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 (Fig.6参照)。 |

2. 活性汚泥

2.1 活性汚泥の調製

本試験における活性汚泥は、以下のとおり調製したものを使用した。

(1) 採集場所

以下の全国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（茨城県神栖市）
中浜下水処理場（大阪府大阪市）	落合水再生センター（東京都新宿区）
北上川（宮城県石巻市）	信濃川（新潟県新潟市）
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) 採集方法

下水処理場 ： 返送汚泥を採集

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を採集

(3) 採集時期 2006年 3月

(4) 調製方法

活性汚泥の均一性を保つため、上記で採集してきた各地の汚泥混合液のろ液5Lと、約3ヶ月間培養した活性汚泥^{*3}のろ液5Lとを混合して10Lとし、pHを7.0±1.0に調整して培養槽でばっ気^{*4}した。

*3 上記で採集してきた各地の汚泥混合液のろ液10Lを、次頁2.2に従って培養した活性汚泥。

*4 屋外空気をプレフィルターに通し、ばっ気に用いた。

2.2 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た。これに脱塩素水道水を加え全量を10Lにして再びばっ気し（30分間以上）、添加した脱塩素水道水中での合成下水濃度が0.1%になるように50g/L合成下水^{*5}を添加した。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 グルコース、ペプトン、りん酸二水素カリウムをそれぞれ50g/Lになるように精製水に溶解し、水酸化ナトリウムでpHを 7.0 ± 1.0 に調整した。

2.3 管理及び使用

活性汚泥の正常な状態を維持するため、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、管理基準（「新規化学物質等に係る試験の方法について」参照）の範囲内であることを確認した。この結果を生データとして保管した。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。また、合成下水を添加してから19時間後の活性汚泥を使用した。

2.4 活性汚泥の活性度の点検及び使用開始日

(1) 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。

(2) 活性汚泥使用開始日 2006年 4月17日

3. 分解度試験の実施

3.1 試験の準備

(1) 活性汚泥の懸濁物質濃度の測定

活性汚泥の添加量を決定するために、懸濁物質濃度を測定した。

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

測定実施日 2006年 6月26日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は3320mg/Lであった。

(2) 基礎培養基の調製

「工場排水試験方法，生物化学的酸素消費量」（JIS K 0102-1998 の 21.）に定められた組成の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とし、pHを7.0に調整した。

(3) 対照物質

試験の実施には汚泥が十分な活性度を有することを確認するため、対照物質としてアニリン（昭和化学製 試薬特級 ロット番号 SR-2626U）を用いた。

3.2 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、3.3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 [1])

被験物質濃度が100mg/Lになるように、試験容器に精製水300mL及び被験物質30mgを入れた。被験物質は電子分析天びんで正確にはかりとり添加した。

(b) (汚泥＋被験物質)系 (3個, 試験容器 [2] [3] [4])

被験物質濃度が100mg/Lになるように、試験容器に基礎培養基 [300mLから活性汚泥添加液量 (2.71mL) を差し引いた量] 及び被験物質30mgを入れた。被験物質は電子分析天びんで正確にはかりとり添加した。

(c) (汚泥＋アニリン)系 (1個, 試験容器 [6])

アニリンの濃度が100mg/Lになるように、試験容器に基礎培養基 [300mLから活性汚泥添加液量 (2.71mL) を差し引いた量] 及びアニリン29.5 μ L [添加量30mg＝29.5 μ L \times 1.022g/cm³ (密度)] を入れた。アニリンはマイクロシリンジで分取して添加した。

(d) 汚泥ブランク系 (1個, 試験容器 [5])

試験容器に基礎培養基 [300mLから活性汚泥添加液量 (2.71mL) を差し引いた量] を入れた。

(2) 活性汚泥の接種

(b)、(c)及び(d)の試験液に2.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。

3.3 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

恒温槽及び測定ユニット 旭テクネイオン製

データ処理装置 旭テクネイオン製

試験容器

300mL用培養瓶（改良型培養瓶）

炭酸ガス吸収剤

ソーダライム, No.1

（和光純薬工業製 二酸化炭素吸収用）

(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 28日間（遮光下）

攪拌方法 マグネチックスターラーによる回転攪拌

(3) 実施場所

クーロ室A

3.4 観察、測定等

(1) 観察

培養期間中、試験液の状況を毎日目視観察した。また、装置の作動状況を適宜点検した。

(2) 生物化学的酸素消費量（BOD）の測定

培養期間中、試験液のBODの変化を連続的にデータ処理装置で自動記録して測定した。また、槽内温度は毎日測定記録した。

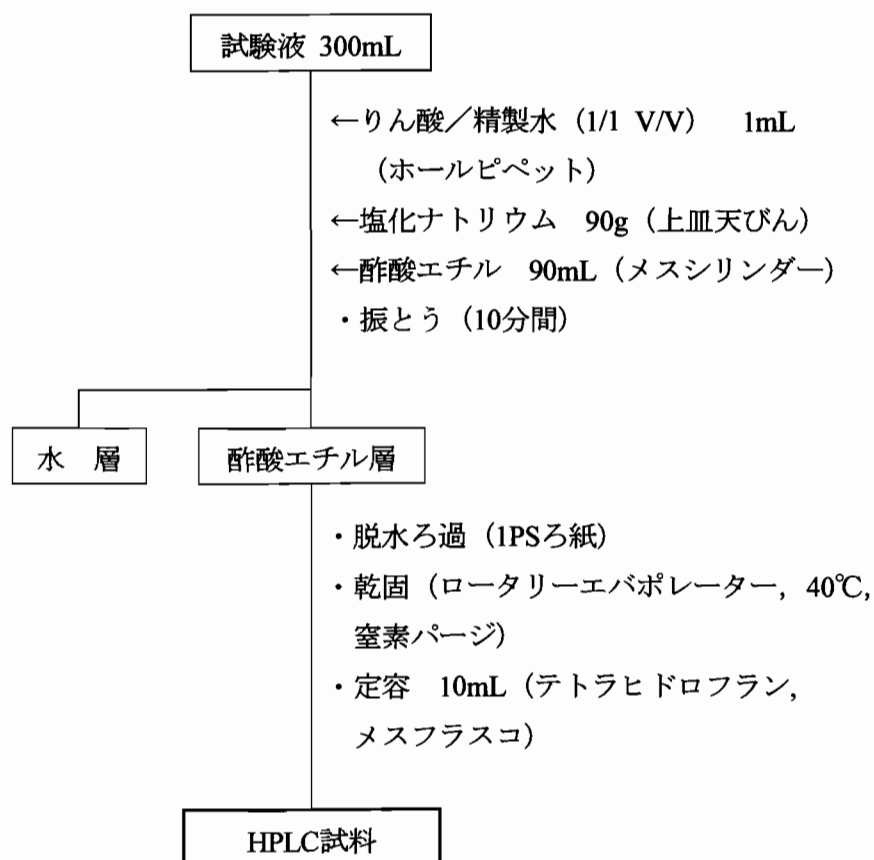
3.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中に残留している被験物質について分析した。

3.5.1 試験液の前処理

（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以下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）試料を調製した。

フロースキーム



3.5.2 高速液体クロマトグラフィーによる被験物質の定量分析

前処理を行って得られたHPLC試料について、下記の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3000mg/Lのピーク面積とHPLC試料のピーク面積とを比較し、比例計算して求めた（Table-3、Fig.4参照）。

ピーク面積の定量下限は、ノイズレベルを考慮して2000 μ V・sec（被験物質濃度27mg/L）とした。

(1) 定量条件

機 器	高速液体クロマトグラフ 島津製作所製 LC-2010A
カ ラ ム	L-column ODS (15cm×2.1mmI.D., 化学物質評価研究機構製)
カ ラ ム 温 度	40℃
溶 離 液	A (70%) : アセトニトリル／0.5mol/L酢酸ジ- <i>n</i> -ブチルアンモニウム (100/2 V/V) B (30%) : 水 ^{*6} ／0.5mol/L酢酸ジ- <i>n</i> -ブチルアンモニウム (100/2 V/V)
流 量	0.2mL/min
測 定 波 長	220nm (Fig.5参照)
注 入 量	1 μ L
検 出 器 出 力	2V/AU

*6 水道水を超純水装置システムで処理した水。

(2) 標準溶液の調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための標準溶液の調製は次のように行った。

被験物質150mgを正確にはかりとり、テトラヒドロフランに溶解して3000mg/Lの被験物質溶液を調製した。これを3000mg/Lの標準溶液とした。

(3) 検量線の作成

(2)と同様に3000mg/Lの標準溶液を調製した。さらに、これをテトラヒドロフランで希釈して、750及び1500mg/Lの標準溶液を調製した。これらの標準溶液を(1)の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのクロマトグラム上のピーク面積と濃度により検量線を作成した（Fig.2参照）。

3.5.3 回収試験及びブランク試験

前述した前処理における試験液からの被験物質の回収率を求めるため、3.2に準じて調製した（水＋被験物質）系及び（汚泥＋被験物質）系の試験液について3.5.1及び3.5.2に従い、回収試験を行った。また、3.2に準じて調製した汚泥ブランク系の試験液について回収試験と同じ操作によりブランク試験を行った。回収試験については各2点、ブランク試験については1点測定した。この結果、ブランク試験においてクロマトグラム上、被験物質ピーク位置にはピークは認められなかった。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（Table-2、Fig.3参照）。

（水＋被験物質）系回収率	96.1%, 94.9%	平均	95.5%
（汚泥＋被験物質）系回収率	96.1%, 99.4%	平均	97.7%

3.6 分解度の算出法

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分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{BOD} - \text{B}}{\text{TOD}^{*7}} \times 100$$

BOD : (汚泥+被験物質)系の生物化学的酸素消費量
(測定値) (mg)

B : 汚泥ブランク系の生物化学的酸素消費量
(測定値) (mg)

TOD^{*7} : 被験物質が完全に酸化された場合に必要とされる
理論的酸素消費量(計算値) (mg)

*7 純度100%として計算した。

(2) 被験物質分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{Sw} - \text{Ss}}{\text{Sw}} \times 100$$

Ss : (汚泥+被験物質)系における被験物質の残留量
(測定値) (mg)

Sw : (水+被験物質)系における被験物質の残留量
(測定値) (mg)

3.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 : 1999 規則Bに従った。

4. 試験条件の確認

試験の有効性の基準値と本試験における値を下表に示す。本試験における値はいずれも基準値を満たしたことから、本試験は有効であった。

		本試験における値	基準値	参 照
分解度の最大値と最小値の差	BOD分解度	5%	20%未満	6.3項 分解度
	被 験 物 質 分 解 度	1%		
アニリンのBOD 分解度	7日後	65%	40%以上	Table-1 Fig.1
	14日後	75%	65%以上	
汚泥ブランク系のBOD値	28日後	7.0mg	18mg未満 (60mg/L未満)	Table-1 Fig.1

5. 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

培養終了時の試験液のpHを測定しなかったため、OECDテストガイドラインから逸脱した。被験物質は水にほとんど溶解しない物質 [対水溶解度：530 μ g/L (25℃)] であり、培養終了時の試験液の観察結果から、試験液中にほとんど溶解せずに不溶物として残留したと推察される。従って、被験物質の溶解によるpHの変動はなかったと考えられ、pH測定を実施しなかったことが被験物質の分解性評価並びに試験成績の信頼性に及ぼした影響はなかったと判断した。

6. 試験結果

6.1 試験液の状況

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	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
	(汚泥 + 被験物質) 系	被験物質は溶解しなかった。 試験液は無色であった。	-
培養終了時	(水 + 被験物質) 系	不溶物が認められた。 試験液は無色であった。	-
	(汚泥 + 被験物質) 系	汚泥以外の不溶物が認められた。 汚泥の増殖は認められなかった。 試験液は無色であった。	-

6.2 試験液の分析結果

28日後の分析結果は下記のとおりであった。

なお、（水＋被験物質）系、（汚泥＋被験物質）系共に被験物質はほぼ理論量残留し、HPLCクロマトグラム上に被験物質以外のピークは認められなかった。よって、変化物は生成しなかったと判断されたため分析対象としなかった。

		（水＋被験物質）系	（汚泥＋被験物質）系				理論量	Table	Fig.
		[1]	[2]	[3]	[4]				
BOD ^{*8}	mg	0	-2.0	-2.9	-2.9	17.7		1	1
被験物質残留量 及び残留率 (HPLC)	mg	29.7	29.0	29.5	29.1	30.0		3	4
	%	99	97	98	97	-			

*8 （汚泥＋被験物質）系は、汚泥ブランク系の値を差し引いて表示した。

6.3 分解度

28日後の分解度は下記のとおりであった。

		（汚泥＋被験物質）系				Table
		[2]	[3]	[4]	平均	
BOD分解度	%	-11	-16	-16	0 (-14) ^{*1}	1
被験物質分解度 (HPLC)	%	2	1	2	2	3

*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を0としカッコ内にその計算値を示した。

6.4 考 察

全ての試験液においてほぼ理論量の被験物質が検出されたことから、被験物質は分解されなかったと考えられる。

なお、本試験のBOD分解度は-11%、-16%及び-16%であり、いずれも0%を大きく下回った。このようにBOD分解度が負の値となった要因として、被験物質が微生物に対し呼吸阻害性を与え、（汚泥＋被験物質）系のBOD値が汚泥ブランク系よりも低下した可能性が考えられる。また、その他の要因として、被験物質の理論的酸素消費量（TOD）が17.7mgと小さいことから、（汚泥＋被験物質）系と汚泥ブランクの僅かなBOD値の差が、分解度として大きな値で算出された可能性も考えられる。

6.5 結 論

本試験条件下において、被験物質は微生物により分解されなかった。

7. 備 考

7.1 試験に使用した主要な装置・機器

閉鎖系酸素消費量測定装置	:	10頁参照	
高速液体クロマトグラフ	:	12頁参照	
紫外可視分光光度計	:	日本分光製	V-560
フーリエ変換赤外分光光度計	:	島津製作所製	IRPrestige-21
液体クロマトグラフー質量分析計	:	ウォータース製	ZMD
天びん	:	ザルトリウス製	BP210S
振とう機	:	タイテック製	SR-2w
ロータリーエバポレーター	:	東京理化工器械製	N-1000V

7.2 分析に使用した試薬

アセトニトリル	:	和光純薬工業製	HPLC用
精製水	:	高杉製薬製	日本薬局方
酢酸エチル	:	関東化学製	試薬一級
テトラヒドロフラン	:	関東化学製	HPLC用
塩化ナトリウム	:	マナック製	試薬一級
りん酸	:	和光純薬工業製	試薬特級
0.5mol/L酢酸ジ- <i>n</i> -ブチルアンモニウム	:	東京化成工業製	イオンペア試薬

Study No. 205126 (Test item K-1750)

Cultivating conditions:

Concentration

Test item 100 (mg/L)

Reference item (aniline) 100 (mg/L)

Activated sludge 30 (mg/L)

Temperature 25 ± 1 °C

Duration 28 days (Jun.29,2006 - Jul.27,2006)

Note: -

Vessel No.	Sample Description	BOD (mg)			
		7th day	14th day	21st day	28th day
[1]	Water + test item	0.0	0.0	0.0	0.0
[2]	Sludge + test item	3.0	3.6	4.6	5.0
[3]	Sludge + test item	2.4	2.4	3.6	4.1
[4]	Sludge + test item	2.7	2.7	3.8	4.1
[5]	Control blank [B]	4.0	6.0	6.8	7.0
[6]	Sludge + aniline	62.6	74.1	76.2	76.6

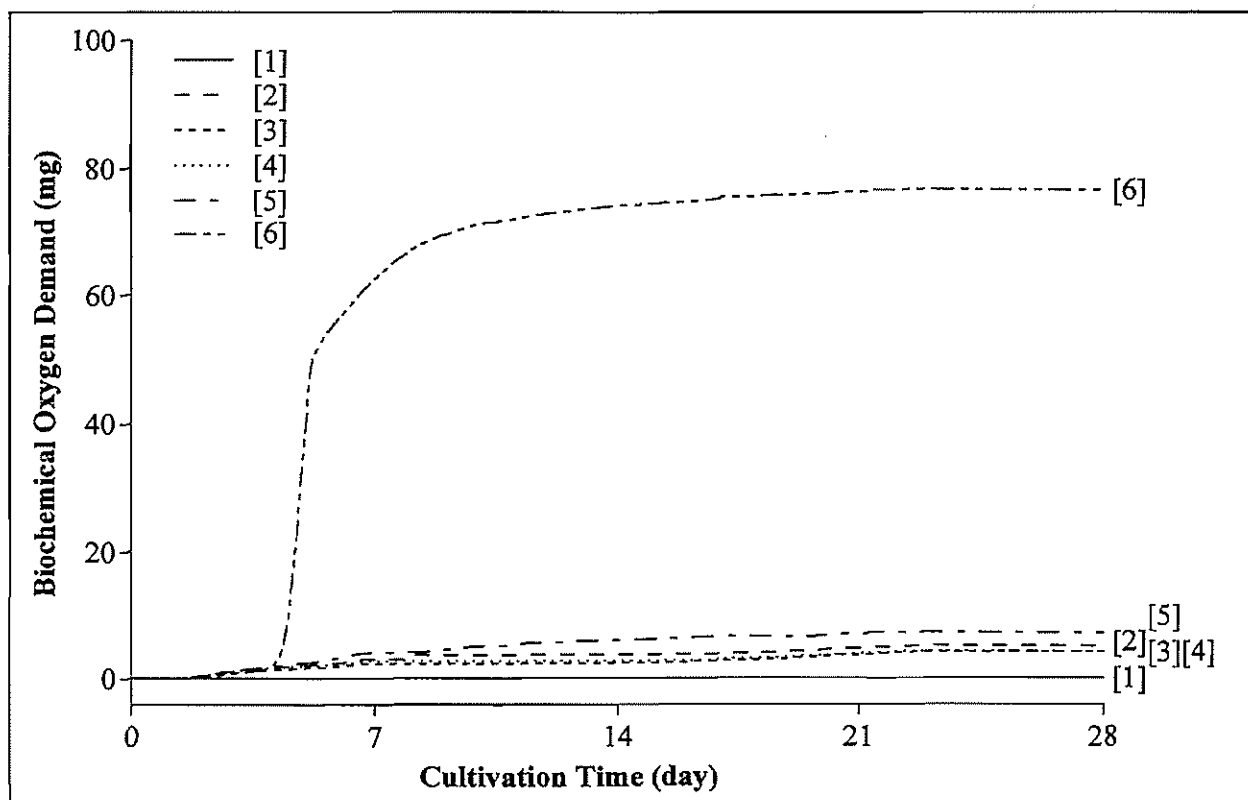


Fig. 1 Chart of BOD.

Jul.27,2006 Name XXXXXXXXXX