

## 最 終 報 告 書

*tert*-ブチルベンゼン（被験物質番号 K-1846）の微生物による分解度試験

（試験番号：205184）

2010 年 3 月

財団法人化学物質評価研究機構

久留米事業所

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 久留米事業所

2010 年 3 月 2 日

試験責任者

## 最 終 報 告 書

*tert*-ブチルベンゼン（被験物質番号 K-1846）の微生物による分解度試験

（試験番号：205184）

2010 年 3 月

財団法人化学物質評価研究機構

残留基準部

## 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 経済産業省

試験の表題 *tert*-ブチルベンゼン（被験物質番号 K-1846）の微生物による分解度試験

試験番号 205184

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、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正）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。

2010 年 3 月 2 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 経済産業省

試験の表題 tert-ブチルベンゼン（被験物質番号 K-1846）の微生物による分解度試験

試験番号 205184

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	2009 年 10 月 23 日	2009 年 10 月 26 日
試験計画書	2009 年 10 月 26 日	2009 年 10 月 26 日
試験計画書の変更	2009 年 11 月 26 日	2009 年 11 月 26 日
培養開始時	2009 年 11 月 26 日	2009 年 11 月 26 日
中間時	2009 年 12 月 10 日	2009 年 12 月 11 日
培養終了時	2009 年 12 月 24 日	2009 年 12 月 25 日
	2009 年 12 月 25 日	2009 年 12 月 25 日
生データ、最終報告書草案	2010 年 3 月 1 日	2010 年 3 月 1 日
最終報告書	2010 年 3 月 2 日	2010 年 3 月 2 日

2010 年 3 月 2 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
GLP基準	1
試験日程	1
試資料の保管	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. 分解度試験の実施	5
3. 試験条件の確認	10
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	10
5. 試験結果	10
6. 備 考	13

## Tables

Table-1	Calculation table for percentage biodegradation by BOD
Table-2	Calculation table for recovery rate of test item
Table-3	Calculation table for percentage decrease of test item
Reference 1	Calculation table for percentage detection of test item (CO <sub>2</sub> absorbent)
Reference 2	Calculation table for percentage residue of test item (reference test)

## Figures

Fig. 1	Chart of BOD
Fig. 2-1	Chromatograms of GC analysis for calibration curve
Fig. 2-2	Calibration curve of test item
Fig. 3	Chromatograms of GC analysis for recovery test
Fig. 4	Chromatograms of GC analysis for test solution
Fig. 5-1	IR spectrum of test item measured before experimental start
Fig. 5-2	IR spectrum of test item measured after experimental completion
Reference 3	Chromatograms of GC analysis for test solution (converted products)
Reference 4	Chromatograms of HPLC analysis for test solution (converted products)
Reference 5	Chromatograms of GC analysis for CO <sub>2</sub> absorbent
Reference 6	Chromatograms of GC analysis for test solution (reference test)

## 表 題

*tert*-ブチルベンゼン（被験物質番号 K-1846）の微生物による分解度試験

## 試験委託者

経済産業省

（〒100-8901）東京都千代田区霞が関一丁目3番1号

## 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-1846の微生物による分解性について知見を得る。

## 試験法

本試験は以下の試験法に従って行った。

- (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、平成18年11月20日最終改正）に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉
- (2) "OECD Guidelines for Testing of Chemicals"に定める"Ready Biodegradability: Modified MITI Test ( I ) (Guideline 301C, July 17, 1992)"

## GLP基準

本試験は以下の基準を適用した。

- (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、平成20年7月4日最終改正）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)

## 試験日程

試験開始日	2009年10月26日
実験開始日	2009年11月26日
実験終了日	2009年12月24日
試験終了日	2010年3月2日

## 試資料の保管

## (1) 被験物質

供試試料を保管用容器に入れ密栓後、品質低下を起こさないで安定に保存しうる期間、久留米事業所試料保管室に保管する。

## (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

2010年 3 月 2 日

試験責任者

## 要 約

## 試験の表題

*tert*-ブチルベンゼン（被験物質番号 K-1846）の微生物による分解度試験

## 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℃              |
| (5) 試験液培養期間 | 28 日間（遮光下）         |

## 分解度（減少率）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) ガスクロマトグラフィー（GC）による被験物質の定量分析

## 試験結果

		（汚泥＋被験物質）系			
		[1]	[2]	[3]	平均
BOD 分解度	%	-4	-2	-1	0 (-2) * <sup>1</sup>
被験物質減少率* <sup>2</sup> (GC)	%	25	29	28	27

\*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。

\*2 （水＋被験物質）系における被験物質残留率が 90%未満（72%）となったため、被験物質分解度（被験物質の直接分析による分解度）は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

## 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

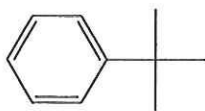
K-1846 は、次の名称等を有するものとする。

## 1.1 名 称

*tert*-ブチルベンゼン

## 1.2 構造式等

構造式



分子式  $C_{10}H_{14}$

分子量 134.22

CAS 番号 98-06-6

## 1.3 供給者、商品名及びロット番号

供給者

[REDACTED]

商品名

*tert*-Butylbenzene, 99%

ロット番号

[REDACTED]

## 1.4 純 度

被験物質 99.8%

不純物 不明成分 0.2%

被験物質は純度 100%として取り扱った。

## 1.5 被験物質の確認

被験物質の赤外吸収スペクトルを測定し、独立行政法人産業技術総合研究所の有機化合物スペクトルデータベースに記載のスペクトルと一致することを確認した (Fig. 5 参照)。

## 1.6 保管条件及び保管条件下での安定性確認

保管条件 冷暗所保管

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. 5 参照)。

## 2. 分解度試験の実施

### 2.1 試験の準備

#### (1) 活性汚泥

試験法(1)に従い、財団法人化学物質評価研究機構において採集、調製及び管理を行った活性汚泥（採集時期及び使用開始日は下記参照）を使用した。使用に際しては、合成下水（グルコース、ペプトン、りん酸二水素カリウムを精製水に溶解し、pH を  $7.0 \pm 1.0$  に調整したもの）を添加して 21.5 時間後のものを用いた。

採集時期      2009 年 9 月

使用開始日    2009 年 10 月 5 日

#### (2) 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      JIS K 0102-2008 の 14.1 に準じて行った。

測定実施日    2009 年 11 月 24 日

測定結果      活性汚泥の懸濁物質濃度は 3320 mg/L であった。

#### (3) 基礎培養基の調製

JIS K 0102-2008 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 3 mL に精製水（高杉製薬製 日本薬局方）を加えて 1 L とする割合で 3 L 調製し、pH を 7.0 に調整した。

#### (4) 対照物質

アニリン（和光純薬工業製 試薬特級 ロット番号 KWQ3949）を用いて活性汚泥が十分な活性度を有することを確認した。

### 2.2 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、2.3 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 [4] ）

被験物質濃度が 100 mg/L になるように、試験容器に精製水 300 mL 及び供試試料 35.0  $\mu$ L（被験物質 30.3 mg）を入れた。供試試料はマイクロシリンジで分取して添加した。

##### (b) （汚泥＋被験物質）系（3 個，試験容器 [1] [2] [3] ）

被験物質濃度が 100 mg/L になるように、試験容器に基礎培養基 [300 mL から活性汚泥添加量 (2.71 mL) を差し引いた量] 及び供試試料 35.0  $\mu$ L（被験物質 30.3 mg）を入れた。供試試料はマイクロシリンジで分取して添加した。

##### (c) （汚泥＋アニリン）系（1 個，試験容器 [6] ）

アニリンの濃度が 100 mg/L になるように、試験容器に基礎培養基 [300 mL から活性汚泥添加量 (2.71 mL) を差し引いた量] 及びアニリン 29.5  $\mu$ L (30 mg) 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 [300 mL から活性汚泥添加量 (2.71 mL) を差し引いた量] を入れた。

## (2) 活性汚泥の接種

(b)、(c)及び(d)の試験液に懸濁物質濃度として30mg/Lになるように活性汚泥を添加した。  
 なお、(b)の試験液については被験物質を添加する前に活性汚泥を添加した。

## 2.3 試験液培養装置及び培養条件

## (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 以下の300 mL用培養瓶を用いた。

## 2.2 試験液の調製における

(a)、(b)及び(d) : 揮発性物質用改良型培養瓶

(c) : 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)

2.2 試験液の調製における(a)、(b)及び(d)の試験容器と測定ユニットの接続にはコック付きのチューブを使用した。

## (2) 培養条件

温度  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$

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

機器室 1A

## 2.4 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。

## (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の変化を連続的に閉鎖系酸素消費量測定装置で測定した。

また、閉鎖系酸素消費量測定装置の恒温槽内の温度を毎日記録した。

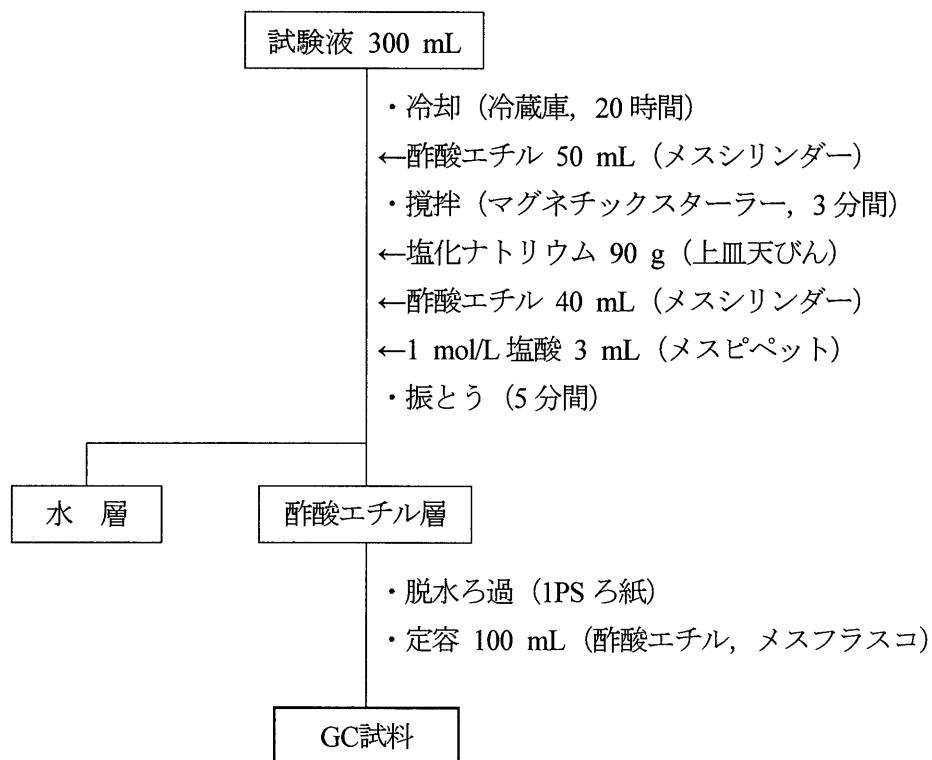
## 2.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中の被験物質について分析した。なお、予備検討の結果より、被験物質は揮発性を有すると考えられた。そこで、溶存有機炭素 (DOC) については、その分析用試料を調製するための前処理操作において被験物質の揮発による損失が考えられたため、分析は行わなかった。また、試験液のpH測定についても実施しなかった。

## 2.5.1 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ガスクロマトグラフィー (GC) 試料を調製した。

フロースキーム



## 2.5.2 被験物質の定量分析

GC 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 303 mg/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 (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  $2900 \mu\text{V} \cdot \text{sec}$  (被験物質濃度 2.9 mg/L) とした。

## (1) 定 量 条 件

機 器	ガスクロマトグラフ
	Agilent Technologies 製 Agilent 7890A
検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
カ ラ ム	NEUTRA BOND -1 膜厚 $1.5 \mu\text{m}$ (GL サイエンス製)
	$60 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm I.D.}$ フューズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	$120^\circ\text{C}$ (0 min) $\rightarrow$ $220^\circ\text{C}$ (0 min)
昇 温 速 度	$10^\circ\text{C}/\text{min}$
試料導入部温度	$240^\circ\text{C}$
キャリアガス	ヘリウム
カラム流量	$1.5 \text{ mL}/\text{min}$
水 素	$40 \text{ mL}/\text{min}$
空 気	$400 \text{ mL}/\text{min}$
注 入 量	$1 \mu\text{L}$
導 入 モード	スプリット
スプリット比	20:1
検 出 器 温 度	$250^\circ\text{C}$
検 出 器 感 度	レンジ $2^0$

## (2) 標準溶液の調製

供試試料  $35.0 \mu\text{L}$  (被験物質 30.3 mg) を分取し、酢酸エチルに溶解して  $1010 \text{ mg}/\text{L}$  の被験物質溶液を調製した。これを酢酸エチルで希釈して  $303 \text{ mg}/\text{L}$  の標準溶液とした。

## (3) 検量線の作成

(2)の標準溶液の調製と同様にして 75.8、152 及び  $303 \text{ mg}/\text{L}$  の標準溶液を調製した。これらを(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)。

### 2.5.3 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、2.2 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2.5.1 及び2.5.2 に従い、回収試験を行った。また、2.2 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	97.5%, 94.1%	平均	95.8%
（汚泥＋被験物質）系回収率	93.6%, 93.4%	平均	93.5%

### 2.6 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。

なお、（水＋被験物質）系における被験物質残留率が90%未満（72%）となったため、被験物質分解度（被験物質の直接分析による分解度）は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

#### (1) BOD 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 : 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）

#### (2) 被験物質減少率

$$\text{減少率 (\%)} = \frac{S_w - S_s}{S_w} \times 100$$

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 : 被験物質の添加量（mg）

### 2.7 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 : 1999 規則 B に従った。

## 3. 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 (減少率)の最大値と最小値の差	BOD 分解度	3%	20%未満	5.3 項 分解度
	被 験 物 質 減 少 率	4%		
アニリンのBOD 分 解 度	7 日 後	62%	40%以上	Table-1 Fig. 1
	14 日 後	79%	65%以上	
汚泥ブランク系の B O D 値	28 日 後	8.8 mg	18 mg 未満 (60 mg/L 未満)	Table-1 Fig. 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

当該要因はなかった。

## 5. 試験結果

## 5.1 試験液の状況

試験液の状況は下記のとおりであった。

また、被験物質は揮発性物質と考えられたため、培養終了後の（水＋被験物質）系及び（汚泥＋被験物質）系の試験液の pH 測定は行わなかった。

	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	不溶物は認められなかった。 試験液は無色であった。	-
	（汚泥＋被験物質）系	汚泥以外の不溶物は認められなかった。 汚泥の増殖は認められなかった。 試験液は無色であった。	-

## 5.2 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。

		(水＋被験物質)系	(汚泥＋被験物質)系				理論量	Table	Fig.
		[4]	[1]	[2]	[3]				
BOD <sup>*3</sup>	mg	0.5	-4.2	-1.5	-1.3	97.6	1	1	
被験物質残留量 及び残留率 (GC)	mg	21.8	22.8	21.6	21.7	30.3	3	4	
	%	72	75	71	72	-			

\*3 （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。

### 5.3 分 解 度

28 日後の分解度は下記のとおりであった。

なお、（水＋被験物質）系における被験物質残留率が 90%未満（72%）となったため、被験物質分解度（被験物質の直接分析による分解度）は算出せず、被験物質の添加量に対する減少率を求めた。

		(汚泥＋被験物質) 系				Table
		[1]	[2]	[3]	平 均	
BOD 分解度	%	-4	-2	-1	0 (-2) <sup>*1</sup>	1
被験物質減少率 (GC)	%	25	29	28	27	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。

### 5.4 考 察

#### (1) 試験法及び試験容器の選定理由について

被験物質の類似物質であるエチルベンゼン [K-937、官報公示整理番号 (3)-28] 及びジエチルベンゼン [K-857、官報公示整理番号 (3)-13] は揮発性物質用改良型培養瓶を使用して 1 頁に記載の化審法テストガイドラインに準拠した分解度試験を実施し、28 日後の（水＋被験物質）系の被験物質残留率がいずれも 94%以上であった。また、気相と液相の分配を示すパラメーターであるヘンリー定数（計算値）について、被験物質と類似物質を比較したところ、被験物質のヘンリー定数はエチルベンゼンとジエチルベンゼンに近い数値であったため、類似物質と同じ試験法及び試験容器を選択した（下表参照）。

	ヘンリー定数 <sup>*4</sup> (atm・m <sup>3</sup> /mol)
被験物質	$1.39 \times 10^{-2}$
エチルベンゼン	$7.89 \times 10^{-3}$
ジエチルベンゼン	$1.16 \times 10^{-2}$

\*4 EPI suite (Version 3.20) を用いた計算値

#### (2) 試験結果について

BOD 分解度の平均値は 0% (-2%) <sup>\*1</sup> であり、培養終了時の試験液において汚泥の増殖は認められなかったことから、被験物質は微生物により分解されなかったと考えられた。しかしながら、被験物質残留率は（水＋被験物質）系において 72%、（汚泥＋被験物質）系において 75%、71%及び 72%であり、25～29%の収支不足が認められたことから、生分解以外の要因による収支不足が生じたと考えられた。

#### (3) 収支不足の要因について

(2)で挙げた収支不足の要因を明らかにするため、次頁の(a)～(c)の追加検討を実施した。その結果より、被験物質は培養期間中に揮発の影響を受け、一部はソーダライムへ移行し、一部は試験系外にロスした可能性があることが明らかとなった。(1)で記載したとおり、類似物質より試験法及び試験容器を選択して本試験を実施したが、被験物質との構造の違いや、比重等の物理化学的性状の違いが試験液中の保持率の差に影響したものと考えられる。



(a) GC 及び高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による変化物の検出確認

被験物質分析条件では検出されない変化物の有無を確認するため、GC 及び HPLC により変化物の検出確認を行ったが、すべての試験液において変化物は検出されなかった (6.1 項、References 3, 4 参照)。

(b) ソーダライムへの被験物質の移行確認

炭酸ガス吸収剤として使用したソーダライムへの被験物質の移行を確認するため、ソーダライム分析を行ったところ、(水+被験物質)系において 2%、(汚泥+被験物質)系において 0%、3%及び 1%の被験物質が検出され、若干量の被験物質がソーダライムへ移行していることが確認された (6.2 項、References 1, 5 参照)。

(c) 被験物質の揮発による損失確認

本試験の試験液とは別途に、ソーダライムを装着しない(水+被験物質)系の試験液 2 点 [揮発性物質用改良型培養瓶 (本試験と同じ培養瓶) 及び密閉瓶 (完全に密閉した培養瓶)] を 28 日間培養し、培養終了後に被験物質分析を実施した。その結果、揮発性物質用改良型培養瓶での被験物質残留率は 83%、密閉瓶では被験物質残留率は 99%であり、密閉した場合に被験物質が試験液中に良好に保持されていることが確認された (6.3 項、References 2, 6 参照)。

(4) ま と め

(2)及び(3)より、被験物質の一部は揮発して試験液中に保持されなかったと考えられるが、被験物質の 70%以上が試験液中に保持されていること並びに(水+被験物質)系と(汚泥+被験物質)系の被験物質残留率に差がないことから、揮発の影響はあったものの、被験物質は微生物により分解されなかったと評価することは可能であると考えられる。

5.5 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。

## 6. 備 考

## 6.1 変化物の有無の確認

2.5.1 において前処理を行って得られた GC 試料について、GC 及び HPLC で分析を行い、変化物の検出確認を行った。

## (1) 分析試料の調製

2.5.1 において前処理を行って得られた GC 試料を GC 及び HPLC で分析試料として使用した。

## (2) 分 析 条 件

## (a) GC 分析条件

機 器	ガスクロマトグラフ
検 出 器	Agilent Technologies 製 Agilent 7890A
カ ラ ム	水素炎イオン化検出器 (FID)
	NEUTRA BOND -1 膜厚 1.5 $\mu\text{m}$ (GL サイエンス製)
	60 m $\times$ 0.25 mm I.D. フューズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	120 $^{\circ}\text{C}$ (0 min) $\rightarrow$ 300 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)
昇 温 速 度	10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$
試料導入部温度	240 $^{\circ}\text{C}$
キャリアガス	ヘリウム
カ ラ ム 流 量	1.5 mL/min
水 素	40 mL/min
空 気	400 mL/min
注 入 量	1 $\mu\text{L}$
導 入 モ ー ド	スプリット
スプリット比	20:1
検 出 器 温 度	300 $^{\circ}\text{C}$
検 出 器 感 度	レンジ 2 $^{\circ}$

## (b) HPLC 分析条件

機 器	高速液体クロマトグラフ
	島津製作所製 LC-2010A (紫外可視分光検出器内蔵)
カ ラ ム	L-column ODS
	(15 cm $\times$ 2.1 mm I.D., 化学物質評価研究機構製)
カ ラ ム 温 度	40 $^{\circ}\text{C}$
溶 離 液	A: アセトニトリル/りん酸 (1000/1 v/v)
	B: 超純水/りん酸 (1000/1 v/v)
	グラジエント条件
	時間 (min)      A (%)      B (%)
	0.0              10          90
	18.0             100          0
	35.0             100          0
流 量	0.2 mL/min
測 定 波 長	250 nm
注 入 量	1 $\mu\text{L}$
検 出 器 出 力	2 V/AU

(3) 被験物質溶液の調製

2.5.2(2)に従って調製した標準溶液を被験物質溶液とした。

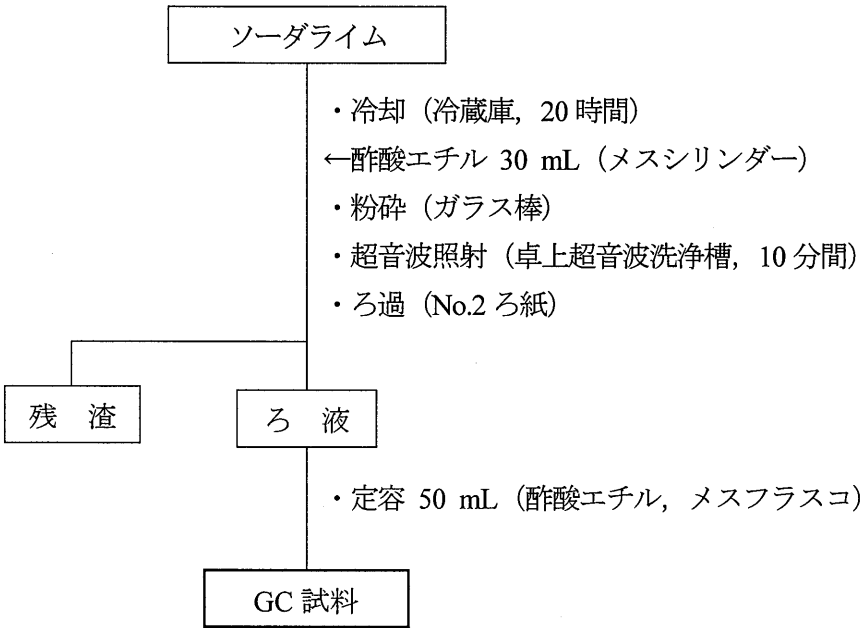
(4) 結 果

(水+被験物質)系、(汚泥+被験物質)系共に、GC クロマトグラム上及び HPLC クロマトグラム上に変化物由来と考えられるピークは検出されなかった (References 3, 4 参照)。

6.2 ソーダライム中の被験物質分析

試験液における被験物質残留率が低い値となった原因を調査するために、ソーダライムについて前処理操作を行い分析に供した。

(1) 分析試料の調製



(2) 被験物質の定量分析

(1)で前処理を行って得られた GC 試料について 2.5.2(1)に示す定量条件に従って被験物質を分析した。

(3) 分 析 結 果

分析結果は下記のとおりであった。

		(水+被験物質)系	(汚泥+被験物質)系			理論量	Reference
		[4]	[1]	[2]	[3]		
被験物質検出量及び検出率 (GC)	mg	0.7	0	1.0	0.2	30.3	1, 5
	%	2	0	3	1	-	

### 6.3 参考試験

被験物質の揮発性を確認するため、別途培養を行った（水＋被験物質）系の試験液について、培養期間終了後に試験液中の被験物質を分析した（References 2, 6 参照）。

#### 6.3.1 試験条件

試験液培養温度	25±2℃
試験液培養期間	28 日間（遮光下）（2009.12.28～2010.1.25）
撈拌方法	マグネチックスターラーによる回転撈拌

#### 6.3.2 試験液の調製

2.2 に示す調製法に従って、（水＋被験物質）系の試験液を 2 点調製した。なお、試験容器は揮発性物質用改良型培養瓶と密閉瓶各 1 点とし、ソーダライムは装着しなかった。

#### 6.3.3 試験液の前処理

培養期間終了後、2.5.1 に従って前処理操作を行い、被験物質を分析するための GC 試料を調製した。

#### 6.3.4 被験物質の定量分析

##### (1) 定量条件

2.5.2(1)の定量条件に従って被験物質を分析した。

##### (2) 標準溶液の調製

2.5.2(2)に従って標準溶液を調製した。

#### 6.3.5 分析結果

28 日後の分析結果は下記のとおりであった。

		(水＋被験物質) 系		理論量	Reference
		1 (揮発性物質用 改良型培養瓶)	2 (密閉瓶)		
被験物質残留量 及び残留率 (GC)	mg	25.0	30.0	30.3	2, 6
	%	83	99	-	

#### 6.4 試験に使用した主要な装置・機器

フーリエ変換赤外分光光度計	:	島津製作所製	IRPrestige-21
閉鎖系酸素消費量測定装置	:	6 頁参照	
ガスクロマトグラフ	:	8 頁参照	
振とう機	:	タイテック製	SR-2w

#### 6.5 分析に使用した試薬

酢酸エチル	:	関東化学製	試薬一級
塩化ナトリウム	:	マナック製	試薬一級
1 mol/L 塩酸	:	和光純薬工業製	容量分析用

Study No. 205184 ( Test item K-1846 )

Cultivating conditions:

Concentration

Test item ..... 100 (mg/L)

Reference item (aniline) ..... 100 (mg/L)

Activated sludge ..... 30 (mg/L)

Temperature .....  $25 \pm 1$  °C

Duration ..... 28 days (Nov.26,2009 - Dec.24,2009)

Note: ~

Vessel No.	Sample Description	BOD (mg)			
		7th day	14th day	21st day	28th day
[1]	Sludge + test item	0.4	1.7	3.7	4.6
[2]	Sludge + test item	3.6	4.5	6.7	7.3
[3]	Sludge + test item	3.2	4.3	6.7	7.5
[4]	Water + test item	0.0	0.0	0.4	0.5
[5]	Control blank [B]	3.0	5.0	8.2	8.8
[6]	Sludge + aniline	59.1	76.1	78.6	79.3

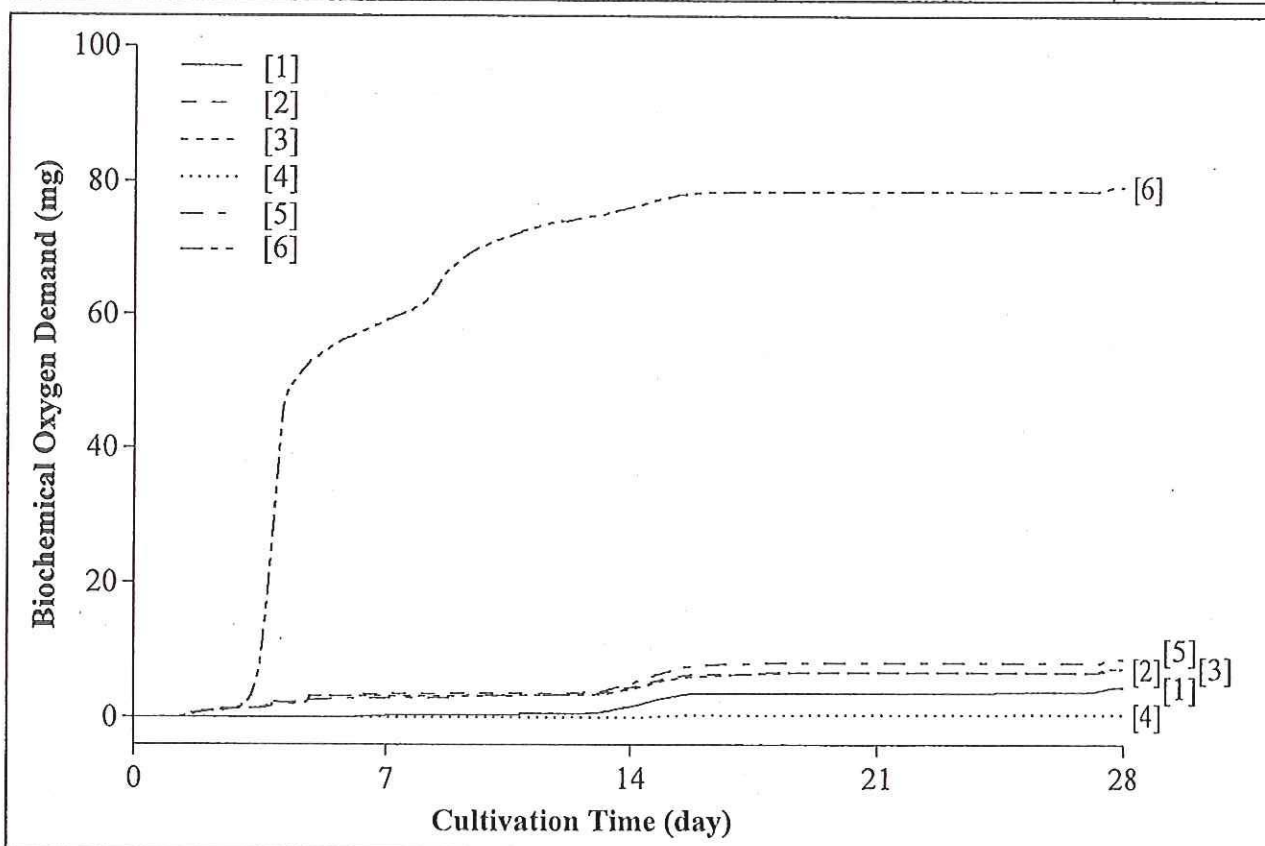


Fig. 1 Chart of BOD.

Dec.24,2009 Name [REDACTED]