

# 最終報告書

被験物質K-857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

## 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	2
7. 試験関係者	3
8. 最終報告書の承認	3
9. 被験物質	4
10. 活性汚泥の調製	6
11. 分解度試験の実施	7
12. 試験結果	13
13. 試資料の保管	14
14. 備 考	14
15. 表及び図の内容	15
付 表	
付 図	
参考資料	

# 要 約

## 1. 試験の表題

被験物質K-857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) ガスクロマトグラフ (GC) による被験物質の分析

## 3. 試験結果

(1) BODによる分解度	0%,	0%,	0%
(2) GC法による分解度			
m-ジエチルベンゼン	0%,	0%,	1%
p-ジエチルベンゼン	2%,	0%,	0%

## 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 20857

1. 表 題 被験物質K-857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-857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62年 4月27日
  - (2) 試験実施期間  
活性汚泥使用開始日 昭和62年 2月18日  
試験液培養開始日 昭和62年 4月28日  
試験液培養終了日 昭和62年 5月26日
  - (3) 試験終了日 昭和62年 6月10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

\_\_\_\_\_

最終報告書作成者

昭和62年 6月10日

\_\_\_\_\_

8. 最終報告書の承認

試験責任者

昭和62年 6月10日

氏名

\_\_\_\_\_

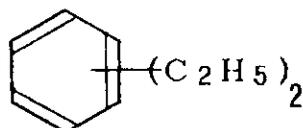
## 9. 被験物質

本報告書において被験物質K-857は、次の名称及び構造式等を有するものとする。

9.1 名 称 ジエチルベンゼン

9.2 構造式等

構造式



分子式  $C_{10}H_{14}$

分子量 134.22

9.3 純 度<sup>\*1</sup> 3.9%

	m-ジエチルベンゼン	2.4%
	p-ジエチルベンゼン	1.5%
不純物	m-ジビニルベンゼン	39.3%
	p-ジビニルベンゼン	18.0%
	m-エチルスチレン	29.8%
	p-エチルスチレン	8.8%

\*1 添付資料による。

9.4 入手先及びロット番号

(1) 入 手 先 XXXXXXXXXX (商品名 XXXXXXXXXX)

(2) ロット番号 AO02

ただし、溶解度及び分配係数は以下のロットを使用した。

m-ジエチルベンゼン ARO1 (純度 98%以上)

p-ジエチルベンゼン FBQ01 (純度 98%以上)

## 9.5 同 定

赤外吸収スペクトル、質量スペクトル及び核磁気共鳴スペクトルにより構造を確認した。

## 9.6 物理化学的性状

外 観	微黄色透明液体	
溶解性	水 / m-ジエチルベンゼン	24mg/l
	p-ジエチルベンゼン	17mg/l
	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

分配係数 (n-オクタノール/水)

m-ジエチルベンゼン

$$\log P_{ow} = 4.43 \text{ (参考資料参照)}$$

p-ジエチルベンゼン

$$\log P_{ow} = 4.60 \text{ (参考資料参照)}$$

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)

\*1 添付資料による。

## 9.7 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。

## 10. 活性汚泥の調製

### 10.1 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61年12月

### 10.2 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

### 10.3 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  $7 \pm 1$  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。

### 10.4 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回繰り返す、培養して活性汚泥とした。培養温度は  $25 \pm 2$ ℃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  $7 \pm 1$  に調整したものを用いた。

## 10.5 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、活性汚泥の沈殿性、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. 分解度試験の実施

### 11.1 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 0102-1985 の14.1に準じて行った。

測定実施日 昭和62年 4月27日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は7100mg/lであった。

#### (2) 基礎培養基の調製

JIS K 0102-1985 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）を用いた。

## 11.2 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、11.3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。

### (2) 活性汚泥の接種

(b), (c) 及び汚泥ブランク系(試験容器に基礎培養基のみ 300mlを入れたもの1個)の試験容器に10. 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。

## 11.3 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(揮発性物質用改良型)

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6機器室

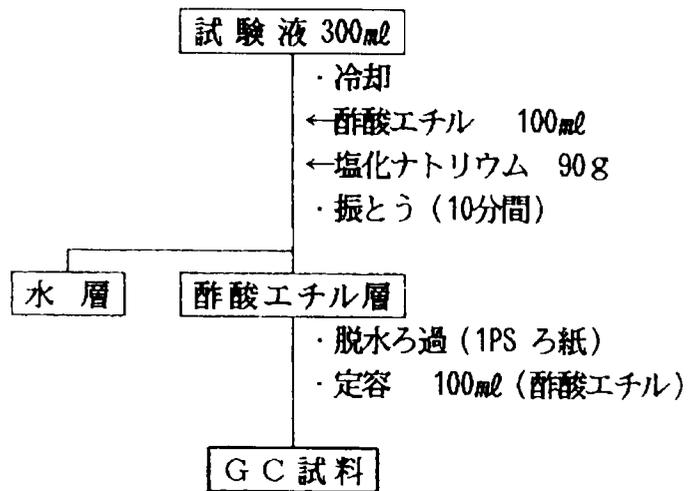
#### 11.4 試験液の分析

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。

##### (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ガスクロマトグラフ(GC)試料とした。

フロースキーム



(2) ガスクロマトグラフ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m-ジエチルベンゼン 7.2mg/l、p-ジエチルベンゼン 4.5mg/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-2、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 500 $\mu$ V $\cdot$ sec (被験物質濃度 m-ジエチルベンゼン 1.5mg/l、p-ジエチルベンゼン 1.5mg/l)とした。

(a) 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 20m $\times$ 1.2mm $\phi$ , ガラス製
液	相	G-100 膜厚 0.5 $\mu$ m
カ	ラ	ム 温度 65 $^{\circ}$ C
キ	ャ	リ ャーガス ヘリウム
流	量	20ml/分

(b) 検量線の作成

被験物質 109.5 $\mu$ lをシリンジにて分取し、酢酸エチルに溶解し、100mlに定容してm-ジエチルベンゼン24.0mg/l、p-ジエチルベンゼン15.0mg/lの標準原液を調製した。これを酢酸エチルで希釈してm-ジエチルベンゼンは2.4、4.8及び7.2mg/l、p-ジエチルベンゼンは1.5、3.0及び4.5mg/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-4参照)。

(c) 回収試験

回収試験は11.2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11.4(1)に従って前処理操作し、前記の定量条件に従ってGC分析を行った。回収率は回収試験で得られた2点の値の平均値とした(表-3、図-3参照)。分析操作における回収率は下記のとおりであり、試験液中の被験物質濃度を求める場合の補正值とした。

・ m-ジエチルベンゼン	
(水+被験物質)系回収率	97.3%
(汚泥+被験物質)系回収率	96.8%
・ p-ジエチルベンゼン	
(水+被験物質)系回収率	92.3%
(汚泥+被験物質)系回収率	93.2%

### 11.5 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た(表-4参照)。

#### (2) GC法による分解度

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

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)

### 11.6 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。

## 12. 試験結果

### 12.1 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	被験物質は水面に浮遊した。
	(汚泥+被験物質)系	被験物質は水面に浮遊した。
培養終了時	(水+被験物質)系	被験物質は水面に浮遊していた。
	(汚泥+被験物質)系	被験物質は水面に浮遊しており、 汚泥の増殖は認められなかった。

### 12.2 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
		②	③	④	
B O D による結果		0	0	0	表-1
GC法による結果	m-ジエチル ベンゼン	0	0	1	表-2
	p-ジエチル ベンゼン	2	0	0	

### 12.3 試験条件の確認

BODから求めたアニリンの7、14日後の分解度はそれぞれ69及び92%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。

## 13. 試資料の保管

### 13.1 被験物質

保管用被験物質としてm-ジエチルベンゼン約10ml、p-ジエチルベンゼン約20ml及びジビニルベンゼン約5mlを保管用容器に入れ密栓後、「新規化学物質に係る試験の項目等を定める命令第3条に規定する試験施設に関する基準」（以下「試験施設基準」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。

### 13.2 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、「試験施設基準」第32条に定める期間、当試験所資料保管室に保管する。

## 14. 備考

### 14.1 本報告書について

ジエチルベンゼンは、被験物質K-786ジビニルベンゼン（官報公示整理番号 3-14）に含まれていたため、別途定量計算を行い、被験物質K-857ジエチルベンゼンとして報告書を作成した。

### 14.2 試験に使用した機器及び装置

クーロメーター	:	8頁参照
ガスクロマトグラフ	:	10頁参照
pH計	:	東亜電波工業製 HM-20E

### 14.3 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	:	松永化学工業製	試薬一級

図1-1

クローメーター 記録図

Test substance K-786, K-857, K-858 混合物

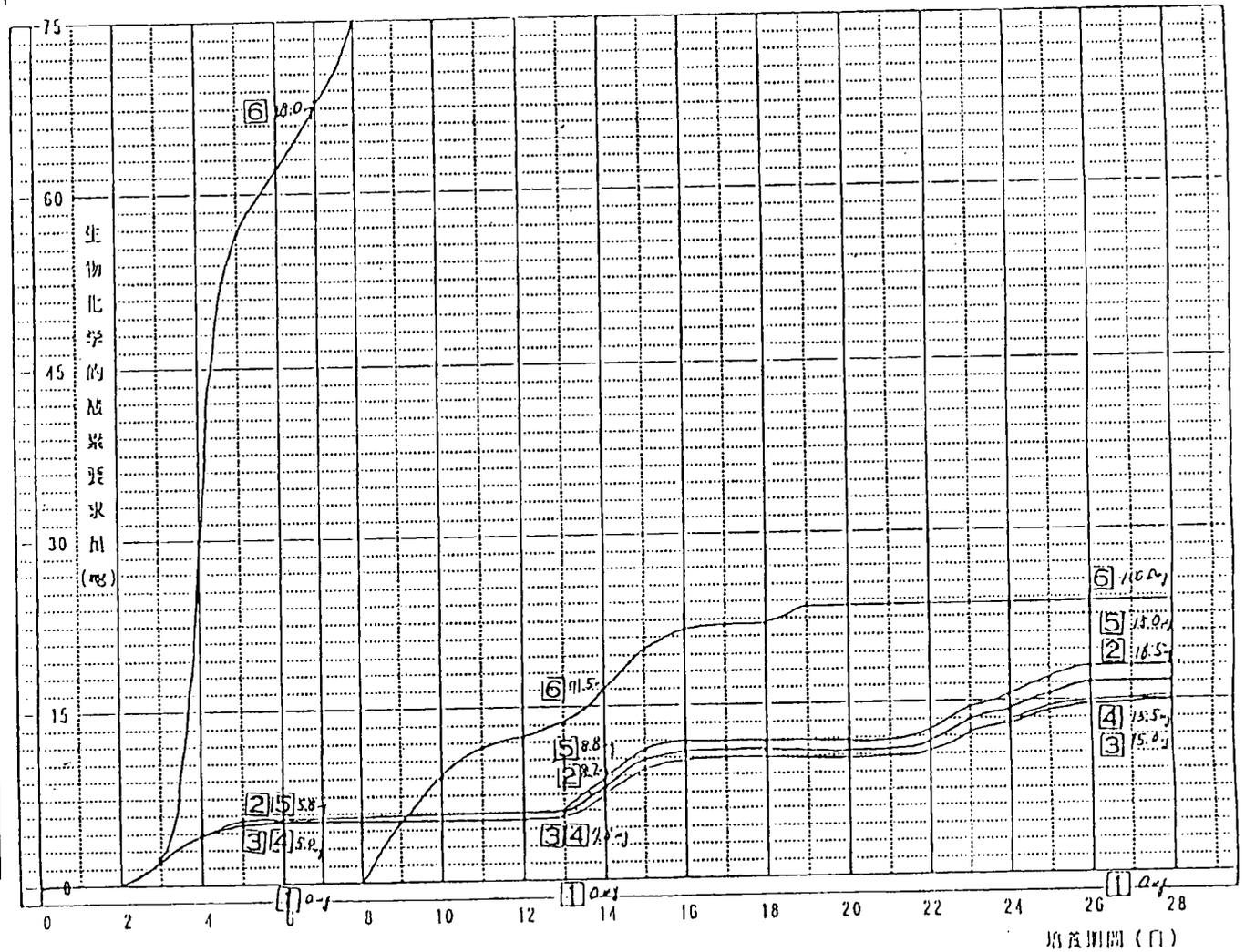
Apparatus range Conometer No 20B  
250mg/l x 1

Cultivation condition  
concentration  
test substance 100 mg/l  
reference substance (Aniline) 100 mg/l  
activated sludge 30 mg/l  
temperature 25 ± 1°C  
period 4/28 ~ 5/26 (28 days) 1987

Bottle No.	Contents
(1)	水 + 被験物質
(2)	汚泥 + 被験物質
(3)	汚泥 + 被験物質
(4)	汚泥 + 被験物質
(5)	汚泥 + アニリン
(6)	汚泥 + アニリン

Note : 本試験

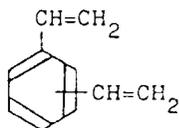
Operator XXXXXXXXXX



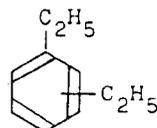
川井化学工業株式会社 化学安全センター九川試験所

構造式

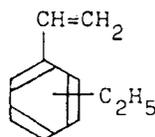
K-786



K-857



K-858



分解度 = (BOD-B)/100 x 100 = 0 %

分解度 = (BOD-B)/100 x 100 = 0 %

分解度 = (BOD-B)/100 x 100 = 0 %

100 = 93.2 mg

7日目のアニリンの分解度 = (BOD-B)/100 x 100 = 69 %

アニリンの100 = 30.0 x 3.01 = 90.3 mg