

最 終 報 告 書

(試験番号 B-005/11001)

富士フイルム株式会社

CSR推進部 環境・品質マネジメント部 安全性評価センター

陳 述 書

富士フイルム株式会社

CSR推進部 環境・品質マネジメント部 安全性評価センター

試験の表題 J-11-054の分解度試験

試験番号 B-005/11001

本試験は、『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23年3月31日、薬食発0331第8号、平成23・03・29製局第6号、環企発第110331010号）に定める「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」および「OECD Principles of Good Laboratory Practices」(1997)に従って実施したものです。

本試験におけるデータの有効性に対しては、以下に署名、捺印した試験責任者が責任を有します。

平成 24 年 2 月 27 日

試験責任者



信頼性保証書

富士フイルム株式会社
CSR推進部
環境・品質マネジメント部
安全性評価センター

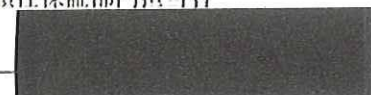
試験の種類 : 分解度試験
試験番号 : B-005/11001
被験物質番号 : J-11-054

本試験は、試験計画書及び標準操作手順書に従って実施され、最終報告書には試験で使用方法及び手順が正確に記載されており、報告結果は生データを正確に反映していることを保証する。尚、監査・査察の実施は以下の通りである。

監査又は査察の種類	監査又は査察の実施年月日	試験責任者への報告年月日	運営管理者への報告年月日
<input type="checkbox"/> 試験計画書	平成23年12月07日	平成23年12月08日	平成23年02月08日
<input type="checkbox"/> 試験の実施			
・活性汚泥の汚泥濃度測定	平成23年12月14日	平成23年12月19日	平成23年12月21日
・被験物質の添加、活性汚泥の接種	平成23年12月15日	平成23年12月19日	平成23年12月21日
・クーロメーターの管理	平成24年01月11日	平成24年01月12日	平成24年01月13日
・試験液、被験物質等の取出し、分析	平成24年01月12日	平成24年01月12日	平成24年01月13日
<input type="checkbox"/> 生データ	平成24年02月20日	平成24年02月21日	平成24年02月21日
<input type="checkbox"/> 最終報告書（ドラフト）	平成24年02月20日	平成24年02月21日	平成24年02月21日
<input type="checkbox"/> 最終報告書（ファイナル）	平成24年02月27日	平成24年02月27日	平成24年02月27日

作成日：平成24年2月27日

信頼性保証部門担当者



目 次

	頁
要約	1
1. 表題	2
2. 試験目的	2
3. 採用した試験法及び参照した試験法ガイドライン	2
4. 試験委託者	2
5. 試験施設	2
6. 試験期間	3
7. 被験物質	3
8. 分解度試験の方法	4～7
9. 試験結果の算出方法	7
10. 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	7
11. 試験結果	8
12. 考察および結論	8
13. 記録および試資料の保管	9

Table 1 Calculation table for the percentage biodegradation by BOD

Table 2 HPLC測定結果（回収試験）

Table 3 HPLC測定結果

Table 4 TOC測定結果

Table 5 培養終了後のTOC測定データ

Fig. 1 Chart of BOD

Fig. 2 標準液のHPLCチャートおよび検量線

Fig. 3 回収試験のHPLCチャート

Fig. 4 培養終了後のHPLCチャート

Fig. 5 IRスペクトル（培養開始前，培養終了後）

Reference IRスペクトル

要 約

試験の表題 J-11-054の分解度試験

試験条件

- | | |
|-----------|---------------------------------------|
| (1) 試験装置 | 閉鎖系酸素消費量測定装置 (クーロメータ) |
| (2) 微生物源 | 標準活性汚泥 |
| (3) 試験濃度 | 被験物質 100 mg/L
活性汚泥 30 mg/L |
| (4) 培養期間 | 28日間 |
| (5) 直接定量法 | 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法
全有機炭素 (TOC) 法 |

試験結果

- | | |
|--------------------|----|
| (1) BODから求めた分解度 | 0% |
| (2) HPLC測定から求めた分解度 | 1% |

結論

本試験条件において、被験物質は微生物等により分解されないと考えられる。

1. 表題 J-11-054の分解度試験

2. 試験目的 被験物質の微生物等による分解性についての知見を得る。

3. 採用した試験法及び参照した試験法ガイドライン

『新規化学物質等に係る試験の方法について』（平成 23 年 3 月 31 日 薬食発 0331 第 7 号
平成 23・03・29 製局第 5 号、環保企発第 110331009 号）に定める〈微生物等による化学物質の分解度試験〉

4. 試験委託者 名 称 経済産業省

住 所 東京都千代田区霞ヶ関 1-3-1

5. 試験施設 名 称 富士フイルム株式会社

CSR推進部 環境・品質マネジメント部 安全性評価センター
(略称；環安セ)

住 所 神奈川県南足柄市中沼210

	所属	氏 名
運営管理者	環安セ	
試験責任者	環安セ	
試験担当者	環安セ	

本試験におけるデータの有効性に対しては、以下に署名、捺印した試験責任者が責任を有する。

最終報告書作成 平成 27 年 2 月 27 日

試験責任者

6. 試験期間

試験開始日～試験終了日

平成 23 年 12 月 2 日～平成 24 年 1 月 7 日

実験開始日～実験終了日（培養期間）

平成 23 年 12 月 15 日～平成 24 年 1 月 12 日

7. 被験物質

7-1 被験物質名 3,5-ジメチルフェノール

7-2 被験物質No (別名) J-11-054

7-3 バッチNo

7-4 分子式 $C_8H_{10}O$

7-5 分子量 122.16

7-6 純度 99.9%

7-7 外観 白色粉末

7-8 融点 $64^{\circ}C$

7-9 溶解度

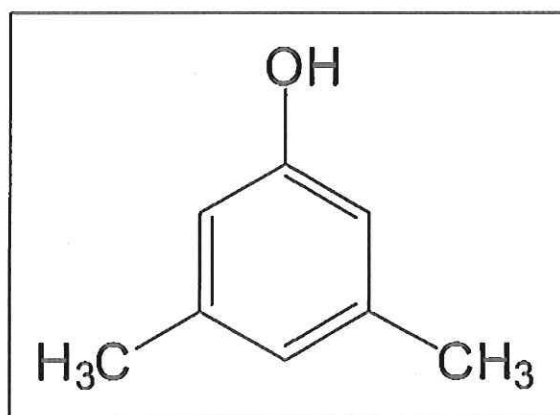
水 4.1×10^3 mg/Lメタノール 1.0×10^4 mg/L 以上

7-10 被験物質の確認、被験物質の保管条件下での安定性確認および均一性の確認

被験物質の培養開始前の IR スペクトルにて被験物質であることを確認した（（独）産業技術総合研究所 有機化合物のスペクトルデータベースによる IR スペクトルを参考とした）。また、培養終了後の IR スペクトルにより保管条件下（室温暗所）において安定であることを確認した。IR 測定の際には、被験物質の均一性について目視で確認した (Fig. 5)。

7-11 CAS No. 108-68-9

7-12 構造式



8. 分解度試験の方法

8-1 生物学的酸素消費量（BOD）の測定

下記の方法で生物学的酸素消費量の測定を実施した。

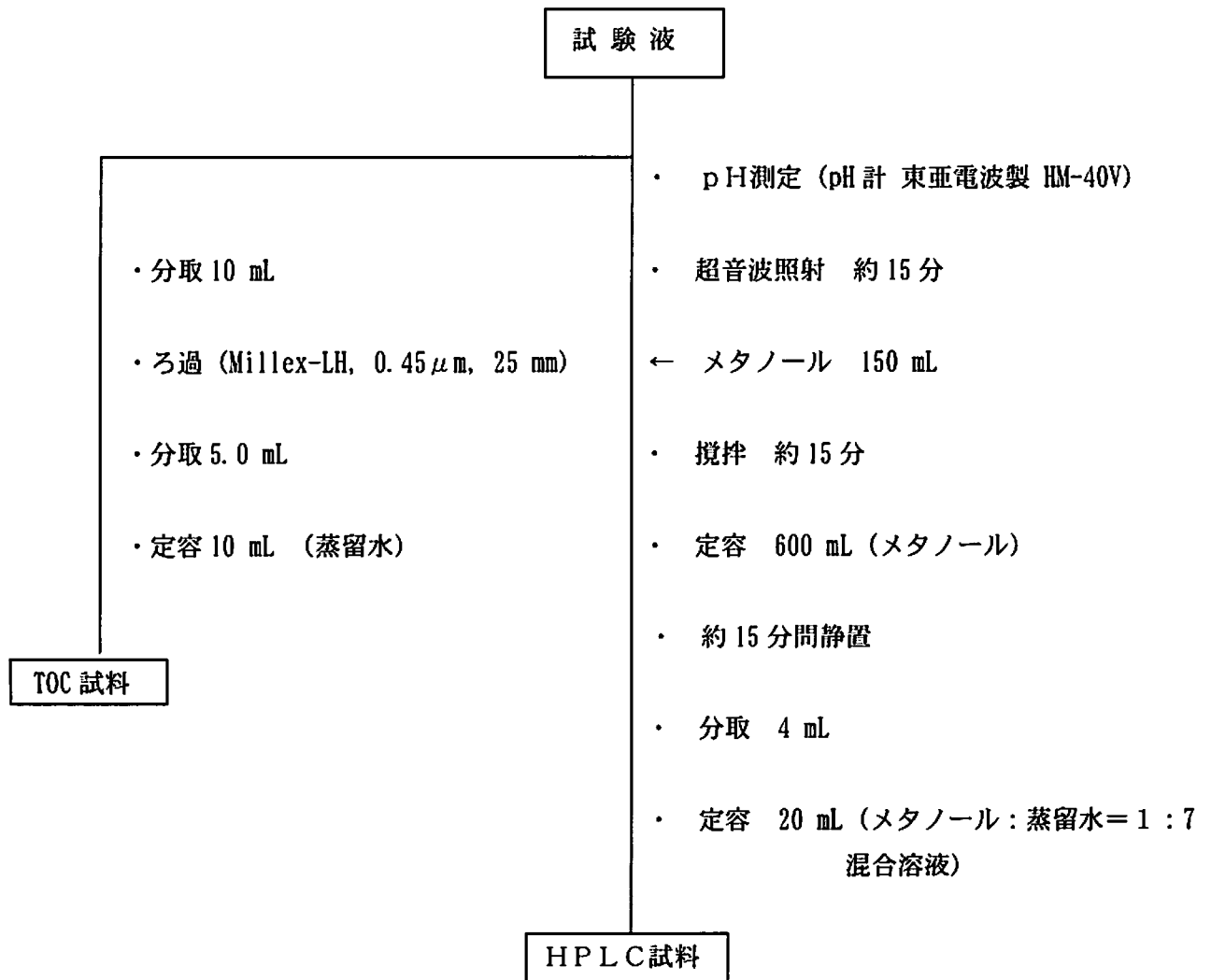
- (1) 試験装置 : 閉鎖系酸素消費量測定装置
(大倉電気製 クーロメータ)
- (2) 基礎培養液 : JIS K0102 で定められたA液, B液, C液およびD液それぞれ6 mL に
水を加え、2 L とした。
- (3) 標準活性汚泥 : 汚泥濃度 30 mg/L
受 入 (財) 化学物質評価研究機構 平成 23 年 10 月 19 日
ロットNo S-111019
培養条件 『3. 採用した試験法及び参照した試験法ガイドライン』
による。
- (4) 被験物質濃度 : 100 mg/L
- (5) 対照物質 : 名 称 アニリン
ロットNo DCM1096 (和光純薬工業 特級)
濃 度 100 mg/L
- (6) 培養期間 : 28 日間
- (7) 培養温度 : $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- (8) 試験液内容 :

試 料 名	被験物質または アニリン添加量	使用液
水+被験物質 (n=1)	30.0 mg	蒸留水
汚泥+被験物質 (n=3)		基礎培養液
汚泥+アニリン (n=1)	29.4 μL (30.0mg)	
基礎呼吸(汚泥ブランク) (n=1)	—	

8-2 定量分析法

下記の条件で生物学的酸素消費量測定後の試験液の分析を実施した。

(1) 分析試料の前処理



上記操作における回収率 [各 n=2 の平均値]

汚泥系	水系	Table	Fig.
100%	99%	2	3

(2) 分析機器および条件

① 高速液体クロマトグラフ (HPLC)

ポンプ 島津製作所 LC-20AB 検出器 島津製作所 SPD-M20A

カラムオープン 島津製作所 CT0-20AC (40℃)

カラム CAPCELL PAK C18 UG120 (2.0 mmφ×150mm)

検出波長 273 nm 流量 0.2 mL/min

標準液 10.0 mg/L 注入量 20 μL

溶離液 Aポンプ; 蒸留水 (酢酸, トリエチルアミン 各 0.1%含有)

Bポンプ; メタノール (酢酸, トリエチルアミン 各 0.1%含有)

A/B=50/50

② 全有機炭素 (TOC) 分析計

機種: 島津製作所 TOC-5000A

流量: 150 mL/min

8-3 検量線の作成

(1) HPLC法における検量線

被験物質 10.0 mg をメタノールに溶解し、100mL に定容して 100 mg/L の標準液を調製した。これをメタノール: 蒸留水=1:4 となるように希釈して、5.00、10.0 および 20.0 mg/L の標準液を調製した。この標準液および定容溶媒を前記の定量条件にしたがって分析した。それぞれのピーク面積と濃度により検量線を作成し、ほぼ原点を通る直線であることを確認した。(Fig. 2)

(2) TOC法における検量線

フタル酸水素カリウム 0.213g を蒸留水に溶解し、100mL に定容して 1000mg/L のTC (全炭素) 溶液を調製した。これを蒸留水で希釈して 50.0 および 100mg/L のTC標準液とした。

炭酸水素ナトリウム 0.350g と炭酸ナトリウム 0.441g を蒸留水に溶解し、100 mL に定容して 1000mg/L のIC (無機炭素) 溶液を調製した。これを蒸留水で希釈して 5.00 および 10.0 mg/L のIC標準液とした。

これらの標準液を前記の定量条件にしたがって分析し、それぞれのピーク面積と濃度により回帰式を求めた。

(3) 検量線作成に関する統計学的手法

次式に基づいて回帰直線式および相関係数を求めた。

回帰直線式 $y = a + b x$ x に対する y の回帰直線式

$$\begin{cases} a = (\sum y_i - b \sum x_i) / n \\ b = S(x y) / S(x x) \end{cases}$$

相関係数 (r) $r = S(x y) / \{ S(x x) \cdot S(y y) \}^{1/2}$

$$\begin{cases} S(x x) = \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 / n & \text{..... } x \text{ の偏差平方和} \\ S(y y) = \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2 / n & \text{..... } y \text{ の偏差平方和} \\ S(x y) = \sum x_i y_i - (\sum x_i)(\sum y_i) / n & \text{..... } x \text{ と } y \text{ の偏差積和} \end{cases}$$

9. 試験結果の算出方法

9-1 BODから分解度(%)を算出する方法

$$\text{分解度}(\%) = (BOD - B) / TOD \times 100$$

BOD: 被験物質の生物学的酸素消費量(測定値)(mg)

B : 活性汚泥を接種した基礎培養液の酸素消費量(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)
(窒素については NO_2 になるとして計算値を算出した)

9-2 HPLC, TOCから分解度(%)を算出する方法

$$\text{分解度}(\%) = (SB - SA) / SB \times 100$$

SA : 培養終了後の被験物質の残留量(測定値)(mg)

SB : 水に被験物質を添加した空試験における被験物質の残留量(測定値)(mg)

10. 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

特になし。

11. 試験結果

分解度、残存率等「%」表示するものは、JIS Z8401:1999 規則 B に従い、丸め間隔 1 で数値を丸めて表示した。

11-1 試験液の状況

	培養開始時		培養終了時	
	外 観 , 色	pH	外 観 , 色	pH
水+被験物質	被験物質 不溶 , 無色透明	—	不溶解物 無 , 無色透明	9.0
汚泥+被験物質	被験物質 不溶 , 無色透明	—	不溶解物 無 , 無色透明 汚泥増殖 無	7.0~7.3

11-2 残存率および溶存率

単位：(%)

試料No.	水系	汚泥系			Table	Fig.
	[1]	[2]	[3]	[4]		
HPLCによる結果	101	100	100	100	3	4
TOCによる結果*	102	91	95	94	4, 5	—

*：被験物質は汚泥系において汚泥に吸着し、TOC試料中に完全に溶存していなかったため、参考値とする。

11-3 分解度

単位：(%)

試料No.	[2]	[3]	[4]	平均	Table	Fig.
BODによる結果	0	0	0	0	1	1
HPLCによる結果	1	1	1	1	3	4

14日目のアニリン分解度は、68%であることから、本試験が有効であることを確認した。(Table 1, Fig. 1)

12. 考察および結論

28日間の分解度試験の結果、分解度は、BOD測定において平均0%、HPLC測定において平均1%であった。

以上の結果より、被験物質は微生物等により分解されないと考えられる。

13. 記録および試資料の保管

『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 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 8 号、平成 23・03・29 製局第 6 号、環保企発第 110331010 号）に定める「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」に従い、試験計画書、生データ及び最終報告書等の資料を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律第 4 条第 1 項若しくは第 2 項、第 4 条の 2 第 2 項、第 3 項若しくは第 8 項、第 5 条の 4 第 2 項、第 24 条第 2 項又は第 25 条の 3 第 2 項の規定による通知を受けた後、10 年間、当センター記録保管室に保管する。また、被験物質は上述の基準に従い、保管容器に約 2g 入れ密栓して、当センター第二試料室に 10 年間保管する。

Study No. B-005-11001 (Test item J-11-054)

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 (Dec.15 - Jan.12,2012)

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	0.8	1.1	1.1	1.1
[3]	Sludge + test item	0.5	0.7	0.7	0.7
[4]	Sludge + test item	0.4	0.6	0.6	0.6
[5]	Sludge + aniline	52.0	64.5	65.7	66.3
[6]	Control blank [B]	2.5	3.4	3.6	3.7

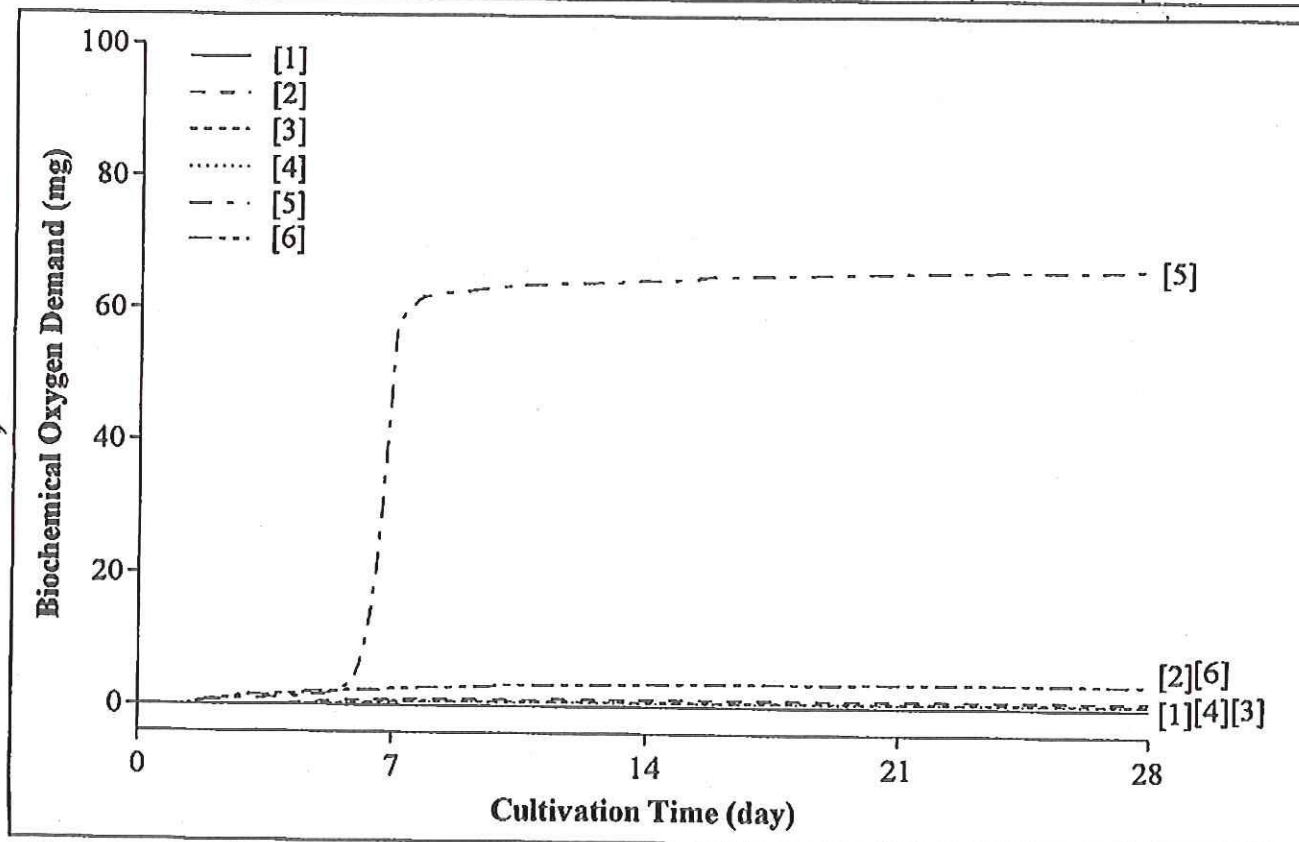


Fig. 1 Chart of BOD.

Name