


試 験 報 告 書

2, 2'-メチレンビス(6-tert-ブチル-4-メチルフェノール)
(被験物質No.K-825)の微生物等による分解度試験

昭和60年3月20日

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター

試験実施機関

名 称 : 財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター
所 在 地 : (〒131) 東京都墨田区東向島四丁目1番1号
電話番号 : (03) 614-1106
代 表 者 : 化学品安全センター 

(1) 試験施設

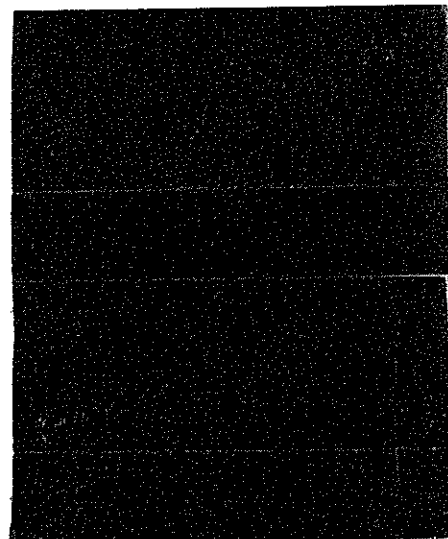
名 称 : 財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター
九州試験所
所 在 地 : (〒830) 福岡県久留米市中央町19番14号
電話番号 : (0942) 34-1500

(2) 運営管理者など

運 営 管 理 者 九州試験所 所 長

試 験 責 任 者
及 び 九州試験所 分解試験課
試 験 担 当 者

微生物管理担当者 九州試験所 分解試験課



報 告 書 要 旨

1. 試験の内容 : 微生物等による化学物質の分解度試験
2. 被 験 物 質 : 2, 2'-メチレンビス(6-tert-ブチル-4-メチルフェノール)
(被験物質No.K-825)

3. 試験方法及び条件

3.1 試験方法

環 保 業 第 5 号
薬 発 第 6 1 5 号 } 〈微生物等による化学物質の分解度試験〉による。
49基局第392号

3.2 試験条件

被 験 物 質 濃 度 : 100 mg/l
標準活性汚泥濃度 : 30 mg/l (懸濁物質として)
試 験 液 量 : 300 ml
培 養 温 度 : 25±1 °C
培 養 期 間 : 28 日間

3.3 分解度の測定

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
高速液体クロマトグラフ(HPLC)による被験物質の分析

4. 試験結果

生物化学的酸素要求量による分解度	0%,	0%,	0%
高速液体クロマトグラフによる分解度	2%,	1%,	0%

目 次

	頁
1. 試験の目的	1
2. 試験方法	1
3. 試験期間	1
4. 被験物質	1～2
5. 微生物源	2
6. 試験装置	2
7. 試験条件	3
8. 試験液の調製方法	3
9. 直接定量方法	4～6
10. 分解度の算出	7
11. 試験条件の確認	7
12. 試験結果	8

付 表

付 図

1. 試験の目的

既存化学物質の安全性確認の一環として、2, 2'-メチレンビス(6-tert-ブチル-4-メチルフェノール) (被験物質No.K-825) の微生物等による分解度試験を実施し、分解性の程度について知見を得る。



2. 試驗方法

環 保 業 第 5 号 }
薬 発 第 6 1 5 号 } 〈微生物等による化学物質の分解度試験〉による。
49基局第392号 }

3. 試驗期間

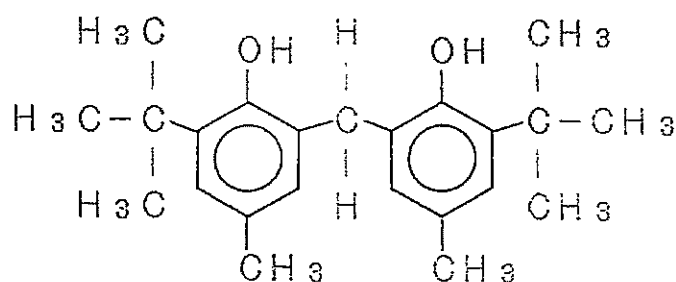
昭和60年1月11日～昭和60年2月20日
(酸素要求量測定期間 昭和60年1月18日～昭和60年2月15日)

4. 被驗物質

4.1 名 称 2, 2'-メチレンビス(6-tert-ブチル-4-メチルフェノール)
(被験物質No.K-825)
純 度^{*1} 99.6%
入手源 
ロット番号 

4.2 構造式、分子式、分子量

構造式



分子式 $C_{23}H_{32}O_2$

分子量 340.51

4.3 スペクトル

- 紫外部吸収スペクトル (図-6 参照)
- 赤外線吸収スペクトル (図-7 参照)
- 質量スペクトル (図-8 参照)
- 核磁気共鳴スペクトル (図-9 参照)

4.4 物理化学的性状

- 外 観 微黄色粉末
- 融 点^{*1} 126.5～130℃
- 溶解性 水 : 10mg/ℓ以下 (図-5 参照)
- クロロホルム : 10g/ℓ以上
- ベンゼン : 10g/ℓ以上
- メタノール : 10g/ℓ以上

*1 [REDACTED] 資料による。

5. 微生物源

標準活性汚泥

昭和59年9月に下記の全国10ヶ所から採取した汚泥を混合した後、pH等の調整をし、活性汚泥の調製の方法により培養

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)

6. 試験装置

大倉電気株式会社製 閉鎖系酸素消費量測定装置 (クーロメーター)
標準型

7. 試験条件

被験物質濃度	100 mg/l	
標準活性汚泥濃度	30 mg/l	(懸濁物質として)
試験液量	300 ml	
培養温度	25±1 °C	
培養期間	28 日間	

8. 試験液の調製方法

- 1) (汚泥+被験物質)系
基礎培養基^{*2} 300mlに被験物質 30.0mg及び標準活性汚泥^{*3} 1.25 ml
(懸濁物質として 9.0mgに相当)を添加した。(n=3)
- 2) (水+被験物質)系
イオン交換水 300mlに被験物質 30.0mgを添加した。(n=1)
- 3) (汚泥+アニリン)系
基礎培養基 300mlにアニリン^{*4} 29.5μl(30.0mgに相当)及び標準活性
汚泥 1.25 mlを添加した。(n=1)
- 4) 対照ブランク系
標準活性汚泥 1.25 mlを基礎培養基 300mlに添加した。(n=1)

*2 JIS K 0102の21. で定められたA液、B液、C液及びD液それぞれ 6mlに
水を加えて 20 とし、pH 7.0に調整したもの。

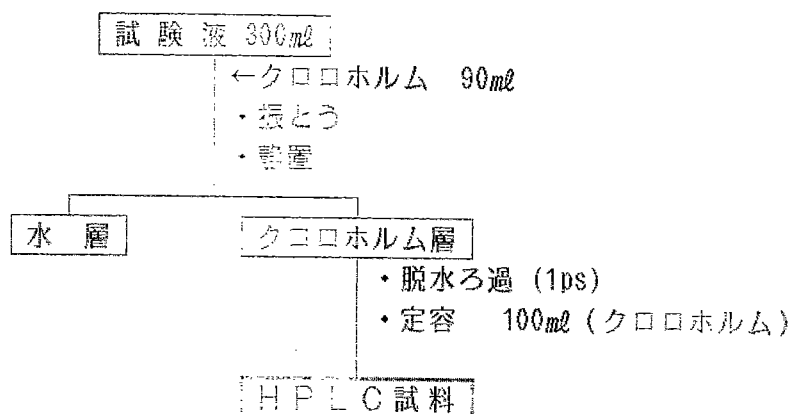
*3 標準活性汚泥中の懸濁物質濃度は7200mg/lであった。

*4 昭和化学株式会社製 試薬特級

9. 直接定量方法

9.1 試験液の前処理

試験終了後、下記のフローシートに従って試験液の前処理操作を行い、HPLC試料とした。



9.2 高速液体クロマトグラフ（HPLC）による定量分析

9.1の前処理を行って得られたHPLC試料について下記条件により直接定量分析を行った。被験物質の濃度はクロマトグラムから被験物質のピーク高さと標準溶液 300mg/lのピーク高さとを比較し、比例計算により求めた。（表-2、図-2参照）

被験物質のピーク高さの測定限界は2mmとした。

〔定量条件〕

装置 : CBC型 高速液体クロマトグラフ
ポンプ : ミツミ製 SF-0709
検出器 : 日本分光工業製 UVIDEC-100-II

カラム : Shodex GPC A-801
30cm×8mmφ, ステンレス製

溶離液 : クロロホルム

測定波長 : 285 nm (図-6参照)

検出限界 : 4.2 mg/l

〔定量性の確認〕

被験物質 150.0mgをクロロホルムに溶解し、100mlに定容して1500mg/lの標準原液を調製した。これをクロロホルムで希釈して 300mg/l、150mg/l、75.0mg/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 HPLC分析を行い、それぞれのピーク高さと濃度とにより検量線を作成した。検量線は原点を通る直線であることから定量性が良好であることを確認した。(図-4参照)

〔回收率〕

8. に従って被験物質を添加した（汚泥＋被験物質）系及び（水＋被験物質）系の試験液を 9.1 の操作で前処理し、抽出回収試験を行った。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。（表－3、図－3 参照）

(汚泥+被験物質)系	平均値	98.2%
(水+被験物質)系	平均値	98.8%

なお、9. で使用した試薬は次のとおりである。

クロロホルム : キシダ化学株式会社 試薬特級

10. 分解度の算出

分解度は次式により算出した。

10.1 酸素要求量による分解度

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

BOD : 被験物質の生物化学的酸素要求量 (測定値) (mg)

B : 基礎培養基に活性汚泥を接種したものの酸素要求量 (測定値) (mg)

TOD^{*5} : 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)

*5 純度100%として計算した。

10.2 直接定量による分解度

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

SA : 分解度試験終了後の被験物質の残留量 (測定値) (mg)

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

11. 試験条件の確認

酸素要求量から求めたアニリンの7日後、14日後の分解度はそれぞれ、70%、75%であった。

よってこの試験は有効である。

12. 試験結果

12.1 試験液の状況

	状 況
仕込時	被験物質は水に溶解せず、水面に浮遊していた。
終了時 (28日後)	被験物質は水に溶解せず、水中に微粒子となって分散していた。

12.2 28日後の分解度

	分 解 度 (%)	付 表
酸素要求量による結果	0 , 0 , 0	表-1
HPLCによる結果	2 , 1 , 0	表-2

以 上

図-1

Date 1/18 ~ 2/15, 1985

Test Temp. 25 ± 1°C

Model Coulometer No 211

Range 250 mg/l x 1

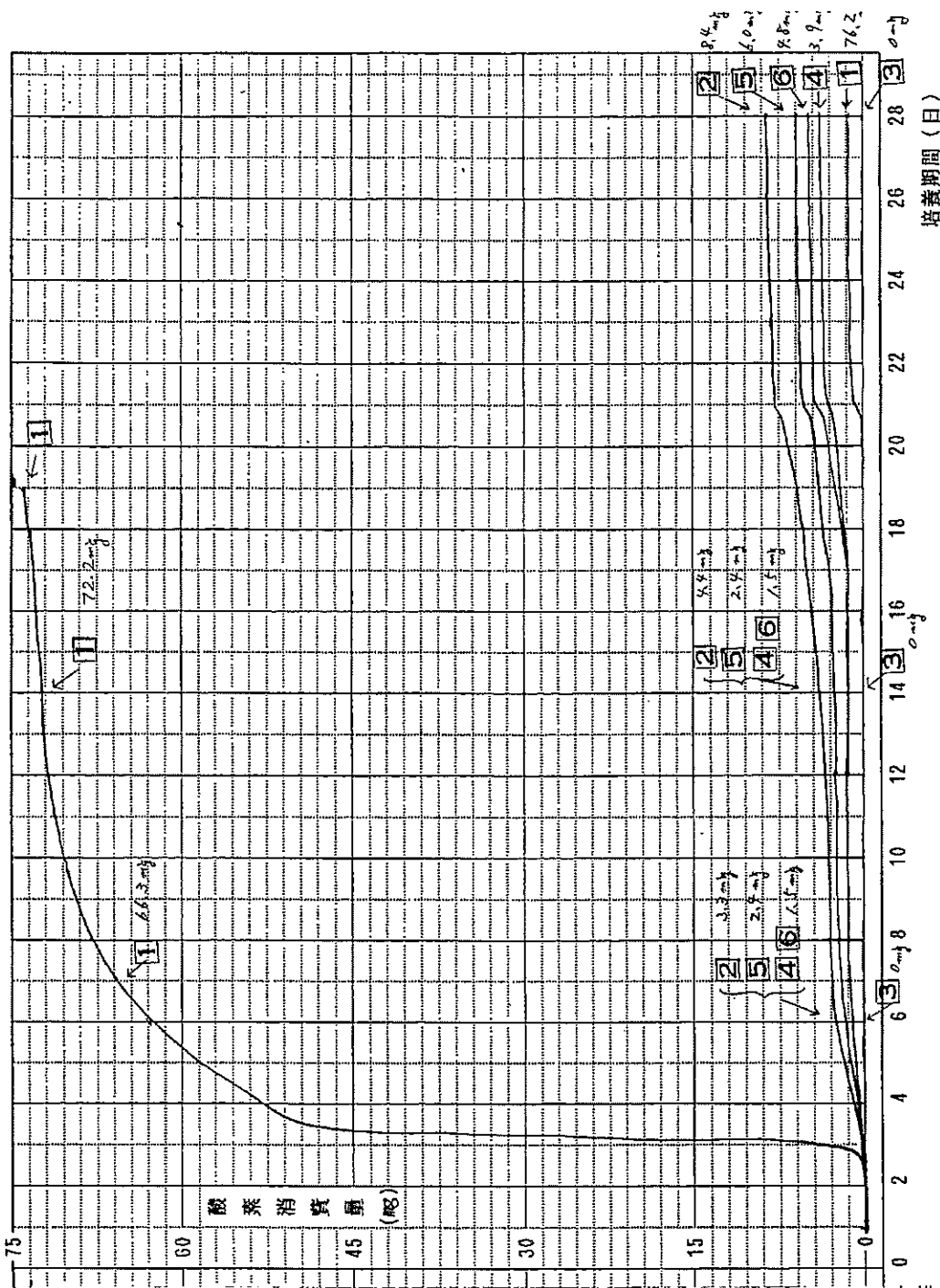
Chart Speed 2 mm/h

Sample (mg/l) Sludge (mg/l)

1 汚泥+アニリン (100)	30
2 基礎呼吸 (-)	30
3 水+被験物質 (100)	-
4 汚泥+被験物質 (100)	30
5 汚泥+被験物質 (100)	30
6 汚泥+被験物質 (100)	30

Note: K-825

Operator



ここで $C_{23}H_{32}O_2 + 30 O_2 \rightarrow 23 CO_2 + 16 H_2O$

K-825 分解度

分解度 = $(BOD-8)/TOD \times 100 = 0\%$

分解度 = $(BOD-8)/TOD \times 100 = 0\%$

分解度 = $(BOD-8)/TOD \times 100 = 0\%$

$TOD = 30.0 \text{ mg} \times 2.82 = 84.6 \text{ mg}$

$\frac{30 O_2}{C_{23}H_{32}O_2} = \frac{957.96}{340.51} = 2.82$

7日目のアニリンの分解度 = $(BOD-8)/TOD \times 100 = 70\%$

$C_6H_7N + 8.75 O_2 \rightarrow 6 CO_2 + 3.5 H_2O + NO_2$

$8.75 O_2 / C_6H_7N = 280.0/93.1 = 3.01$

$TOD = 30.0 \times 3.01 = 90.3 \text{ (mg)}$

培養期間 (日)