

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|-------------|----------------------------|------|------|--------------------------------|------|----------------------|------|------|-----------------------|------|-------|----|----------|-------------------------|----|-----|----|---|-------|--|-----|--|--|--|
| 濃縮度試験 | | | | | 事業対象年度 平成21年度 | | | | | 濃縮度試験 | | | | | 年 月 日 | | | | | 毒性試験 | | | | | |
| 試験期間 | | | | | 22. 1. 15 ~ 22. 3. 19 | | | | | 試験期間 | | | | | . . . ~ . . . | | | | | 年月日 | | | | | |
| 試験装置 (標)・揮 | | LC50値 >5mg/L(96hr)魚種(ヒメダカ) | | | 試験装置 標・揮 | | LC50値 mg/L(hr)魚種() | | | 試験装置 | | LC50値 | | | mg/L(hr)魚種() | | 依 | | 頼 | | | | | | |
| 水槽設定濃度 (mg/L) | | | | | 水槽設定濃度 () | | | | | 水槽設定濃度 () | | | | | 水槽設定濃度 () | | | | | 経過 | | | | | |
| 被験物質 | | 分散剤 | | | 被験物質 | | 分散剤 | | | 被験物質 | | 分散剤 | | | 被験物質 | | 分散剤 | | | 被験物質 | | 分散剤 | | | |
| | | HCO-40 | THF | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 第1濃度区 | | 0.05 | | | 1mg/L | | 24ppm | | | 第1濃度区 | | | | | 第1濃度区 | | | | | 第1濃度区 | | | | | |
| 第2濃度区 | | 0.005 | | | 0.1mg/L | | 25ppm | | | 第2濃度区 | | | | | 第2濃度区 | | | | | 第2濃度区 | | | | | |
| 第3濃度区 | | | | | | | | | | 第3濃度区 | | | | | 第3濃度区 | | | | | 第3濃度区 | | | | | |
| 濃縮倍率 | | | | | 脂質含有率 開始前 5.5% 終了後 5.0% 魚種(コイ) | | | | | 濃縮倍率 | | | | | 脂質含有率 開始前 % 終了後 % 魚種() | | | | | | | | | | |
| | | 7日後 | | 13日後 | | 19日後 | | 22日後 | | 28日後 | | | | 日後 | | 日後 | | 日後 | | 日後 | | 日後 | | | |
| 第1 | 水槽濃度 (μg/L) | | 43.6 | | 43.8 | | 44.0 | | 44.0 | | 44.5 | | 第1 | 水槽濃度 () | | | | | | | | | | | |
| | 倍率 | | 148 | | 182 | | 186 | | 237 | | 263 | | | 倍率 | | | | | | | | | | | |
| | | | 136 | | 78 | | 351 | | 236 | | 167 | | | | | | | | | | | | | | |
| 第2 | 水槽濃度 (μg/L) | | 3.64 | | 3.41 | | 3.34 | | 3.28 | | 3.31 | | 第2 | 水槽濃度 () | | | | | | | | | | | |
| | 倍率 | | 177 | | 208 | | 157 | | 280 | | 223 | | | 倍率 | | | | | | | | | | | |
| | | | <154 | | 181 | | 276 | | 307 | | 339 | | | | | | | | | | | | | | |
| 第3 | 水槽濃度 () | | | | | | | | | | | | 第3 | 水槽濃度 () | | | | | | | | | | | |
| | 倍率 | | | | | | | | | | | | | 倍率 | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 審査部会 第101回 22年 12月 17日 開催 | | | | | 審査部会 第 回 年 月 日 開催 | | | | | 審査部会 第 回 年 月 日 開催 | | | | | 審査部会 第 回 年 月 日 開催 | | | | | | | | | | |
| 判定結果 | | | | | 判定結果 | | | | | 判定結果 | | | | | 判定結果 | | | | | | | | | | |
| 備考 | | | | | 備考 | | | | | 備考 | | | | | 備考 | | | | | | | | | | |
| [定常状態における濃縮倍率] 第1濃度区 234倍 | | | | | [ばく露期間における濃縮倍率] 第2濃度区 271倍 | | | | | [実施機関] 三菱化学メディエンス株式会社 | | | | | | | | | | | | | | | |

1.1 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-の分解度試験

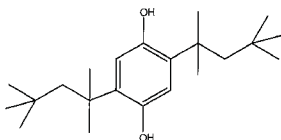
a) 試験材料

被験物質

名称* : 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-

略称 : BTMB

構造式** :



分子式** : $C_{22}H_{38}O_2$

分子量** : 334.54

CAS番号*** : 903-19-5

純度*** : 97.0% (GC)

外観*** : うすい褐色の結晶性粉末

* 試験委託者提供資料による

** 独立行政法人 科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」検索サービス (<http://nikkajweb.jst.go.jp>) による

*** 供給元提供資料による

b) 試験方法

試験は、「新規化学物質等に係る試験の方法について<微生物等による化学物質の分解度試験>」(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, 最終改正:平成18年11月20日)に準拠して実施した。

1) 試験条件

(標準活性汚泥)

MLSS : 2700 mg/L

入手源 : (財)化学物質評価研究機構

入手年月日 : 2009年10月19日

(条件)

温度 : $25 \pm 1^\circ\text{C}$

期間 : 28 日間 (BOD測定)

液量 : 300 mL

濃度 : 被験物質 : 100 mg/L (被験物質の分解系)

および水中安定性系)

アニリン (対照物質) : 100 mg/L (分解活性確認系)

標準活性汚泥 : 30 mg/L (被験物質の分解系,

分解活性確認系および

汚泥基礎呼吸系)

(試験の構成および試験物質の添加)

No.1 : 分解活性確認系 (アニリン+汚泥+基礎培養基)

基礎培養基^{#1}を培養びんに入れ, アニリン^{#2}を 29.5 μL (30.0 mg) マイクロシリンジで添加し混合後, 汚泥を添加した。

No.2 : 汚泥基礎呼吸系 (汚泥+基礎培養基)

基礎培養基^{#1}を培養びんに入れ, 汚泥を添加した。

No.3, 4, 5 : 被験物質の分解系-1, 2, 3 (被験物質+汚泥+基礎培養基)

基礎培養基^{#1}を培養びんに入れ, ガラスカップに秤量した被験物質を 30.0 mg 添加後, 汚泥を添加した。

No.6 : 水中安定性系 (被験物質+精製水)

300 mLの精製水^{#3}を培養びんに入れ, ガラスカップに秤量した被験物質を 30.0 mg添加した。

*1 : 300 mLから汚泥懸濁液添加量 3.3 mLを差し引いた量

*2 : 関東化学製 試薬特級 Lot No. 106U1946

*3 : JIS K0557 A4 グレードの水

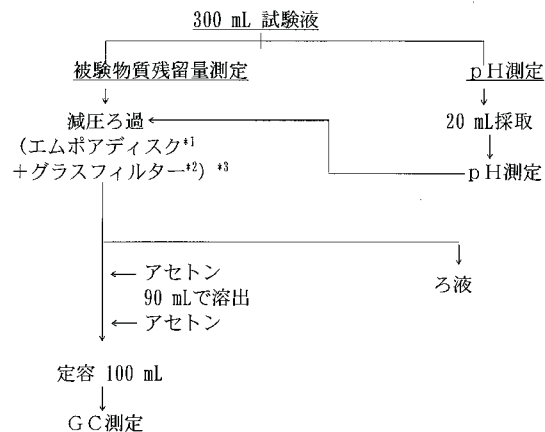
2) 装置

閉鎖系酸素消費量測定装置 : 大倉電気製 OM-3100A 型

c) 分析方法

1) 分析前処理

下記のフローシートに従って、試験液の前処理を行った。



*1 3M Empore Extraction Disk Octadecyl

*2 Toyo Roshi ADVANTEC
GLASS FIBER GA200

*3 アセトン 20 mL, 精製水 20 mLで
コンディショニング

2) 被験物質残留量の測定条件

汚泥基礎呼吸系, 被験物質の分解系および水中安定性系の被験物質残留量を下記の装置および条件により測定した。

被験物質はヒドロキノン骨格 (還元型) を有し, 酸化されるとキノン体 (酸化型) として存在する。この反応は可逆的であるため, 被験物質とキノン体のそれぞれのピークを測定対象とし, 合計ピークから被験物質残留量を算出した。

キノン体および被験物質のリテンションタイムは, それぞれ約 6.5分, 約 7.9分であった。

装置: ガスクロマトグラフ 6890 型 (ヒュレット パッカド 製) (No. 1)

ガスクロマトグラフ (GC) : HP6890 Series

オートインジェクタ : HP7683 100チャンネル

検出器 : 水素炎イオン化検出器 (FID)

ワークステーション : クミレーション

条件:

| | |
|--------------|---|
| カラム | : Agilent 製 DB-1HT, 15 m × 0.25 mm i.d. × 0.1 μm (膜厚) |
| オープン温度 | : 100°C (0 min) → 15°C/min → 300°C (13.3 min) |
| キャリアガス, 流量 | : ヘリウム, 1.0 mL/min (コンスタントフロー) |
| 検出器ガス, 流量 | : 水素 40 mL/min, 空気 450 mL/min |
| 検出器温度 | : 350°C |
| メイクアップガス, 流量 | : 窒素 40 mL/min |
| 注入口 | : スプリット (スプリット比 10:1) |
| 注入口温度 | : 300°C |
| 注入量 | : 1 μL |

検量線の濃度と合計ピーク面積の相関は良好であり, 検量線の切片は原点を通過するとみなせることから, 試験液中の被験物質の定量は 300 mg/L標準溶液で得られるピーク面積との比較で行った。被験物質の検出限界は, 測定対象ピークのうち, 最大ピークの最小検出ピーク面積を 4 pA·secに設定したところ, 測定対象となる全てのピークに対する最小検出合計ピーク面積は 5 pA·secと算出されたため, これに相当する培養びん中の被験物質質量から 0.2 mgとした。

なお, 添加回収試験の結果は平均回収率 98%であった。被験物質残留量の測定値は, 平均回収率で補正した。

d) 分解度の算出式

1) BOD分解度

$$\text{分解度 (\%)} = (\text{BOD}_s - \text{BOD}_b) / \text{ThOD} \times 100$$

BOD_s: 分解活性確認系または被験物質の分解系における酸素消費量 (mg)

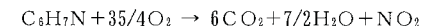
BOD_b: 汚泥基礎呼吸系における酸素消費量 (mg)

ThOD: アニリンまたは被験物質の理論的酸素要求量 (mg)

理論的酸素要求量 (ThOD) の計算

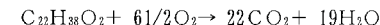
$$\text{アニリン: } 90.2 \text{ mgO}_2 / 30.0 \text{ mg}$$

アニリンが下記のように無機化されるとして算出した。



$$\text{被験物質: } 87.5 \text{ mgO}_2 / 30.0 \text{ mg}$$

被験物質が下記のように無機化されるとして算出した。



2) 被験物質残留量からの分解度

$$\text{分解度 (\%)} = (1 - C_s / C_c) \times 100$$

C_s: 被験物質の分解系中の被験物質残留量 (mg)

C_c: 水中安定性系中の被験物質残留量 (mg)

e) 試験結果

試験結果を以下にまとめた。

1) 標準活性汚泥の分解活性

アニリンのBOD分解度は、14日後に60%以上(70%)であった。

2) 28日後の結果

| 測定項目 | 被験物質の分解系 | | | 水中安定性系 | 仕込み理論値 |
|------------------------------------|----------|------|------|--------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| BOD, mg ^l ⁻¹ | 0.4 | -0.1 | -1.5 | 0.0 | 87.5 |
| DOC, mg ^l ⁻² | - | - | - | - | - |
| 被験物質, mg | 30.5 | 29.0 | 30.3 | 30.1 | 30.0 |

3) 28日後の分解度

| 分解度 | 被験物質の分解系 | | | 平均値 |
|-------------------------|---------------------|---|---------------------|-----|
| | 1 | 2 | 3 | |
| BOD分解度, % | 0 | 0 | 0(-2) ^{*3} | 0 |
| DOC分解度, % ^{*2} | - | - | - | - |
| 被験物質残留量からの分解度, % | 0(-1) ^{*3} | 4 | 0(-1) ^{*3} | 1 |

*1 被験物質の分解系の値は汚泥基礎呼吸系の値を差し引いて表示する

*2 被験物質は難分解性で構造変化を起こさないこと、かつ、難水溶性であることが明らかであるため、溶存有機炭素(DOC)の測定は行わなかった

*3 分解度が負の値に算出されたため、カッコ内にその計算値を示す

f) 考察

28日後のBOD分解度は平均0%、被験物質残留量からの分解度は平均1%であったことから、被験物質は難分解性と判断される。

被験物質の分解系において、ヒドロキノン体とキノン体の存在比が約9:1から約8:2に変化した。水中安定性系では存在比に変化は見られなかった。この原因として、汚泥存在下で被験物質がより酸化側で平衡化し、互変異性体であるキノン体が増加したものと推察される。しかし、新たな構造変化物は生成していない。

以上より、被験物質は難分解性で構造変化を受けなかったと判断される。

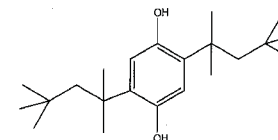
1.2 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1,3,3,-tetramethylbutyl)-の濃縮度試験

a) 試験材料

1) 被験物質

名称^{*1}: 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1,3,3,-tetramethylbutyl)-

構造式^{*2}:



分子式^{*2}: C₂₂H₃₈O₂

分子量^{*2}: 334.54

CAS番号^{*3}: 903-19-5

純度^{*3}: 97.0% (GC)

外観^{*3}: うすい褐色の結晶性粉末

ロット番号^{*3}: EKEHO

*1: 委託者提供資料による。

*2: 独立行政法人 科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」検索サービス (<http://nikkajiweb.ist.go.jp>) による。

*3: 東京化成工業株式会社提供資料による。

2) 供試魚

体重約5g、全長約8±4cmのコイ(*Cyprinus carpio*)を使用した。

3) 試験用水

横浜市水道水を活性炭ろ過およびチオ硫酸ナトリウム添加により脱塩素処理し、試験用水として使用した。

b) 試験方法

「新規化学物質等に係る試験の方法について<魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験>」（平成15年11月21日 業食発第1121002号，平成15・11・13製局第2号，環企発第031121002号，最終改正：平成18年11月20日）に準拠して実施した。

ヒメダカに対する96hr-LC₅₀値は>5 mg/Lであった。濃縮度試験の試験濃度は、この濃度の1/100以下（第一濃度区）、1/1000以下（第二濃度区）である0.05および0.005 mg/Lに設定した。

濃縮度試験装置は、濃度区を第一濃度区（高濃度区）および第二濃度区（低濃度区）としてそれぞれ1系列，コントロール区を1系列設置し，流水式で魚を飼育した。試験水および供試魚中の被験物質濃度を定期的に測定し，その対比により濃縮倍率を求め魚類への濃縮性を評価した。

c) 分析方法

1) 試験水および供試魚の分析回数

試験水分析は，魚の投入前（0日目）および取込開始後7，13，19，22，28日目に濃度区から試験水をサンプリングし，各濃度区1回ずつ分析した。

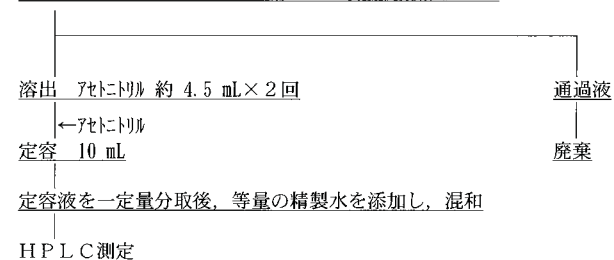
供試魚分析は，取込開始後7，13，19，22，28日目に濃度区から魚を4尾ずつサンプリングし，2尾ずつ2回に分けて分析した。

2) 試験水分析試料の前処理

採取した試験水を下記フロー・シートに従って前処理し，高速液体クロマトグラフ（HPLC）で分析した。

試験水（第一濃度区 100 mL，第二濃度区 1000 mL）

エムポアディスク SDB-XC* 47 mm（予めアセトリル 約 10 mL，精製水 約 30 mL でコンデ イショングしたもの）に通水（アスピレーターで吸引）



*エムポアディスク SDB-XC： 3M Empore Extraction Disk Polystyrenedivinybenzene

3) 供試魚分析試料の前処理

採取した魚を下記フロー・シートに従って前処理し、HPLCで分析した。

魚体 2 尾 重量測定 (約 10 g)

ハサミで細切

ホモジナイズ (約 1 分, 回転速度約 8000 rpm) × 4

微細化試料を 5 g 採取 脂質含量測定用保存試料 (≥1 g, -20℃の冷凍庫で保管)

←n-ヘキサン 30 mL

ホモジナイズ (約 3 分, 回転速度 約 8000 rpm)

ろ過・脱水 (硫酸ナトリウム約 50 g を入れた 11 G ガラスフィルター)

n-ヘキサン層

残さ

←n-ヘキサン 20 mL

ホモジナイズ (約 3 分,
回転速度 約 8000 rpm)

ろ過・脱水 (硫酸ナトリウム約 50 g
を入れた 11 G ガラスフィルター
(前回のろ過と同じもの))

残さと硫酸ナトリウムを
約 20 mL の n-ヘキサンで洗浄 × 2

n-ヘキサン層

残さ

←n-ヘキサン

廃棄

定容 100 mL

10 mL 分取 (分取比率 10)

濃縮・乾固 (ロータリーエボレータ (浴温約 45℃))

←窒素吹き付け

←アセトニトリル 5 mL

溶解後, 溶解液を一定量分取, 等量の精製水を添加し, 混和*

HPLC測定

* 被験物質濃度が検量線の上限以上の場合, 検量線の範囲内の濃度まで溶解液をアセトニトリルで希釈した後, 精製水を添加した。

4) 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 測定条件

(装置)

高速液体クロマトグラフ :

Agilent 1100 型 カラムスイッチング装置付 (No. 5)

ワークステーション : Agilent 1100 システムステーション

デガッサ : G1379A型

送液ポンプ : G1311A型 (カーナリポンプ)

オートサンプラ : G1313A型

カラムオープン : G1316A型

フロッグイールドアリ検出器 : G1315B型

(条件)

カラム : ジーエルエンズ製 Inertsil ODS-3 粒径 2 μm 3.0 mm i.d. × 50 mm

カラムオープン : 50℃

試料注入量 : 30 μL

測定波長 : 295 nm

試験水分析

溶離液 : A液 精製水

B液 アセトニトリル

A液 20%, B液 80%

流速 : 0.6 mL/min

魚体分析

溶離液 : A液 精製水

B液 アセトニトリル

0.00 min A液 40%, B液 60%

5.50 min A液 40%, B液 60%

7.00 min A液 5%, B液 95%

12.00 min A液 5%, B液 95%

流速 : 0.8 mL/min

ポストタイム : 5.00 min

上記測定条件にて標準溶液 (0~1.00 mg/L のアセトニトリル溶液に等量の精製水を添加) のピーク面積を測定し, 横軸に濃度を, 縦軸にピーク面積 (mAU・sec 表示) をとり, 検量線を作成した。検量線はほぼ原点を通る直線となり, 相関係数は 0.9991 (試験水分析) および 0.9952 (魚体分析) と良好であった。

試料の分析に当たっては, 試料測定毎に標準溶液 (0.500 mg/L) の測定を行い, そのピーク面積比から定量した。

5) 濃縮倍率の算出

魚体中の被験物質濃度は、回収率で補正して算出した。濃縮倍率は、魚体中被験物質濃度を、取込開始から各測定時までの試験水中被験物質濃度の平均値で割った値とした。

d) 試験結果

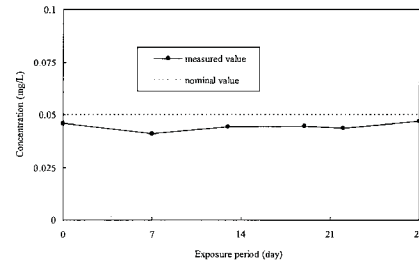
1) 試験水中の被験物質濃度

28日間の取込期間中における試験水中被験物質濃度の平均値および試験水中被験物質濃度の変動を以下に示した。

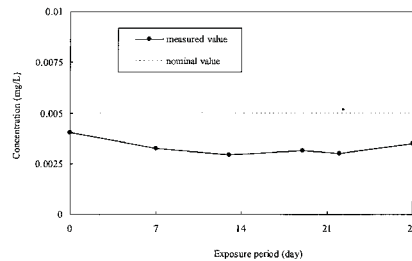
| | 第一濃度区 | 第二濃度区 |
|----------------|--------|---------|
| 平均試験水中濃度, mg/L | 0.0445 | 0.00331 |
| 変動係数, % | 4.6 | 12.1 |

試験水中の被験物質濃度の変動

第一濃度区



第二濃度区



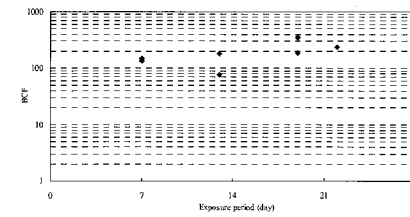
2) 濃縮倍率

濃縮倍率 (BCF) の測定結果を以下に示した。

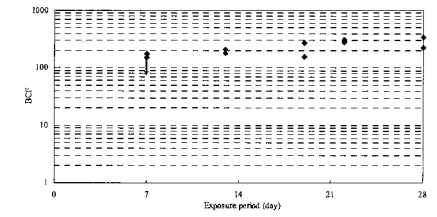
| 取込期間 | | 7日目 | 13日目 | 19日目 | 22日目 | 28日目 | |
|-------|-----------------------|-----|------|------|------|------|-----|
| 第一濃度区 | 濃縮倍率 | 1 | 148 | 182 | 186 | 263 | |
| | BCF _{SS} 234 | 2 | 136 | 78 | 351 | 236 | 167 |
| 第二濃度区 | 濃縮倍率 | 1 | 177 | 208 | 157 | 280 | 223 |
| | BCF _{SS} 271 | 2 | <154 | 181 | 276 | 307 | 339 |

濃縮倍率

第一濃度区

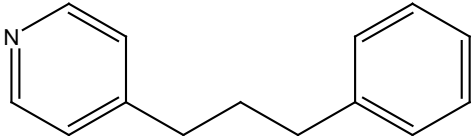


第二濃度区



e) 考察

48時間以上の間隔で連続した3回の測定における濃縮倍率(平均)の変動は20%以内であり、28日間の取込期間において定常状態を確認した。第一、第二濃度区の定常状態における濃縮倍率 (BCF_{SS}) はそれぞれ 234 倍、271 倍であった。

| 整理番号 K-1851 (5-3720) | | 分解度試験 | | 分解度試験 | | 分解度試験 | |
|---|--------------------------|--|----|--|------|--|--|
| 4-(3-フェニルプロパン-1-イル)ピリジン | | 事業対象年度 平成21年度 | | 契約 年 月 日 | | 契約 年 月 日 | |
| (2057-49-0) | | 試験期間 22.1.21~22.3.18 | | 試験期間 . . ~ . . | | 試験期間 . . ~ . . | |
| | | 試験装置 標・㊟ | | 試験装置 標・揮 | | 試験装置 標・揮 | |
| 構造式(示性式)・物理化学的性状  分子式 C ₁₄ H ₁₅ N 分子量 197.28 | | 試験濃度 | | 試験濃度 | | 試験濃度 | |
| | | 有機物質 2.30 mg/L 安息香酸ナトリウム 4.00mg/L 植種液 50 μL/L | | 被験物質 mg/L | | 被験物質 mg/L | |
| | | 本試験期間 4 週間 | | 本試験期間 週間 | | 本試験期間 週間 | |
| | | 試験結果 | 間接 | BOD 5, 3 (4)% | 試験結果 | 間接 | |
| | | | 直接 | LC/M S 24, 21 (23)% | | 直接 | |
| 純度*1 98.9% | 外観 橙黄色透明液体 | 溶解度(対水, その他) 対水 190mg/L | | 審査部会 第 101 回 22年12月17日開催 | | 審査部会 第 回 年 月 日開催 | |
| 不純物(物質名, 含有率) 不明 | | 審査部会 第 101 回 22年12月17日開催 | | 審査部会 第 回 年 月 日開催 | | 審査部会 第 回 年 月 日開催 | |
| 沸点 322℃ | 1-オクタノール/水分配係数 4.04(計算値) | 判定 | | 判定 | | 判定 | |
| 比重 1.024g/cm ³ | 安定性 — | 備考 | | 備考 | | 備考 | |
| LD50 — | | 1. 分解度試験の結果、被験物質の一部はヒドロキシル基が付加した構造変化物を生成したと推定された。その他にも構造変化物の存在が示唆されたが構造推定には至らなかった。 | | 1. 分解度試験の結果、被験物質の一部はヒドロキシル基が付加した構造変化物を生成したと推定された。その他にも構造変化物の存在が示唆されたが構造推定には至らなかった。 | | 1. 分解度試験の結果、被験物質の一部はヒドロキシル基が付加した構造変化物を生成したと推定された。その他にも構造変化物の存在が示唆されたが構造推定には至らなかった。 | |
| IRチャートの有無 有・㊟ | | 2. 実施機関 ・三菱化学メディエンス株式会社 | | 2. 実施機関 ・三菱化学メディエンス株式会社 | | 2. 実施機関 ・三菱化学メディエンス株式会社 | |
| 用途 — | | 経済産業公報発表年月日 年 月 日 | | 経済産業公報発表年月日 年 月 日 | | 経済産業公報発表年月日 年 月 日 | |
| 生産量 — | | | | | | | |
| 試料 提供試料 | | | | | | | |

*1 GCによる。

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|-----------------------------|--------|-------|--------|------------------------------|--------|----------------------|--------|------|--------|--------|------|---------|----|---------|--|--|--|
| 濃縮度試験 事業対象年度 平成21年度 | | | | | | 濃縮度試験 年 月 日 | | | | | | 依 頼 | 毒性試験 | | | | | | |
| 試験期間 22. 1. 7 ~ 22. 3. 11 | | | | | | 試験期間 . . . ~ . . . | | | | | | | 年月日 | | | | | | |
| 試験装置 (標)・揮 | | LC50値 5.7mg/L(96hr)魚種(ヒメダカ) | | | | 試験装置 標・揮 | | LC50値 mg/L(hr)魚種() | | | | 経 過 | | | | | | | |
| 水槽設定濃度 (μg/L) | | | | | | 水槽設定濃度 () | | | | | | | | | | | | | |
| 被験物質 | | 分散剤 | | | | 被験物質 | | 分散剤 | | | | | | | | | | | |
| | | DMSO | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 第1濃度区 | | 0.5 | | 50ppm | | | | | | | | | | | | | | | |
| 第2濃度区 | | 0.05 | | 50ppm | | | | | | | | | | | | | | | |
| 第3濃度区 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 濃縮倍率 脂質含有率 開始前 4.3% 終了後 3.8% 魚種(コイ) | | | | | | 濃縮倍率 脂質含有率 開始前 % 終了後 % 魚種() | | | | | | | | | | | | | |
| | | 4日後 | | 7日後 | | 13日後 | | 20日後 | | 28日後 | | | | | | | | | |
| 第1 | 水槽濃度(μg/L) | | 0.380 | | 0.396 | | 0.399 | | 0.398 | | 0.406 | | | | 第1 | 水槽濃度() | | | |
| | 倍率 | | 31 | | 42 | | 35 | | 16 | | 37 | | | | | 倍率 | | | |
| | | 50 | | 38 | | 31 | | 31 | | 26 | | | | | | | | | |
| 第2 | 水槽濃度(μg/L) | | 0.0432 | | 0.0438 | | 0.0427 | | 0.0419 | | 0.0423 | | 第2 | 水槽濃度() | | | | | |
| | 倍率 | | <15 | | <15 | | 56 | | 92 | | 23 | | | 倍率 | | | | | |
| | | 24 | | <15 | | 26 | | <16 | | 23 | | | | | | | | | |
| 第3 | 水槽濃度() | | | | | | | | | | | | 第3 | 水槽濃度() | | | | | |
| | 倍率 | | | | | | | | | | | | | 倍率 | | | | | |
| 審査部会 第101回 22年 12月 17日 開催 | | | | | | 審査部会 第 回 年 月 日 開催 | | | | | | | | | | | | | |
| 判定結果 | | | | | | 判定結果 | | | | | | | | | | | | | |
| 備考 [定常状態における濃縮倍率] 第1濃度区 28倍 [ばく露期間における濃縮倍率] 第2濃度区 ≤92倍 [実施機関] 三菱化学メディエンス株式会社 | | | | | | 備考 | | | | | | | | | | | | | |

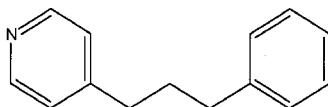
2.1 Pyridine, 4-(3-phenylpropyl)-の分解度試験

a) 試験材料

1) 被験物質

名称^{*1} : Pyridine, 4-(3-phenylpropyl)-

構造式^{*2} :



分子式^{*2} : C₁₄H₁₃N

分子量^{*2} : 197.28

CAS番号^{*2} : 2057-49-0

純度^{*3} : 98.9 (GC)

ロット番号^{*3} : FGJ01

外観^{*3} : 橙黄色透明液体

安定性^{*3} : 通常の取扱い条件においては安定。酸化剤との接触に注意する。

*1 委託者提供資料による

*2 独立行政法人科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」
検索サービス (<http://nikkajweb.jst.go.jp>) による

*3 東京化成工業株式会社提供資料による

b) 試験方法

被験物質は水中からの揮発性が高いことから、本試験は OECD Guideline for Testing of Chemicals 301D (1992) “Ready Biodegradability : CLOSED BOTTLE TEST” に準拠して実施した。

1) 試験条件

(植種)

植種源 : 成瀬クリーンセンター 二次放流水

入手日 : 2010年 1月22日 (BOD測定開始日に採取)

(条件)

濃度 : 被験物質 : 2.30 mg/L

安息香酸ナトリウム (対照物質) : 4.00 mg/L

植種液 : 50 μL/L

液量 : 300 mL (ふらんビン容量 : 300 ± 4.9 mL)

期間 : 28日間 (BOD測定)

温度 : 20 ± 1 °C

(試験の構成と被験物質の添加)

No1 : 植種ブランク系 (植種液 + 無機培地)

無機培地^{*1} 4 L に植種液 200 μL を添加した後、12本のふらんビンに分注した。

No2 : 被験物質の分解系 (被験物質 + 植種液 + 無機培地)

無機培地^{*1} 6 L から 138 mL を採取した。これに被験物質溶液^{*2} (100 mg/L) を 138 mL 添加し、植種液 300 μL を添加した後、18本^{*3}のふらんビンに分注した。

No3 : 水中安定性系 (被験物質 + 精製水)

精製水^{*4} 6 L から 138 mL を採取した。これに被験物質溶液^{*5} (100 mg/L) を 138 mL 添加した後、18本^{*3}のふらんビンに分注した。

No4 : 分解活性確認系 (対照物質 + 植種液 + 無機培地)

無機培地^{*1} 4 L から 4 mL を採取した。これに安息香酸ナトリウム^{*6}水溶液 (4000 mg/L) を 4 mL 添加し、植種液 200 μL を添加した後、10本のふらんビンに分注した。

*1 : 無機培地を酸素飽和させてから使用

*2 : 被験物質 20.0 mg に無機培地を加えて 200 mL に定容とし、超音波照射して溶解させた

*3 : 18本のうち4本は予備

*4 : JIS K0557 A4 グレードの水を酸素飽和させてから使用

*5 : 被験物質 20.0 mg に精製水を加えて 200 mL に定容とし、超音波照射して溶解させた

*6 : 関東化学製 試薬特級 Lot No. 804W2276

2) 装置

恒温槽 : TAITEC 製 低温恒温槽 M-210FN 型 (No.1) (暗所条件にて使用)

c) 分析方法

1) 測定項目および測定スケジュール

下記の測定スケジュールおよび連数（ふらんビン）に従って、各項目について測定を行った。

測定スケジュール

| 試験系 | 測定項目 | 使用するふらんビン（本） | | | | |
|------------------|----------------------|--------------|-----|------|------|------|
| | | 0日目 | 7日目 | 14日目 | 21日目 | 28日目 |
| No.1 植種ブランク系 | 溶存酸素濃度 ^{*1} | | 2 | 2 | 2 | |
| | pH ^{*2} | 2 | — | — | — | 2 |
| | 被験物質残留量 | 1 | — | — | — | 1 |
| No.2 被験物質の分解系 | 溶存酸素濃度 ^{*1} | | 2 | 2 | 2 | |
| | pH ^{*2} | 2 | — | — | — | 2 |
| | 被験物質残留量 | 2 | — | — | — | 2 |
| No.3 水中安定性系 | 溶存酸素濃度 ^{*1} | | 2 | 2 | 2 | |
| | pH ^{*2} | 2 | — | — | — | 2 |
| | 被験物質残留量 | 2 | — | — | — | 2 |
| No.4 分解活性確認系 | 溶存酸素濃度 ^{*1} | | 2 | 2 | 2 | |
| | pH ^{*2} | 2 | — | — | — | 2 |
| | 被験物質残留量 | — | — | — | — | — |

*1 装置：溶存酸素計 ワイエスアイ・ナノテック製 5100型 (No.1)

*2 溶存酸素濃度測定後に測定

2) 被験物質残留量測定の前処理

300 mL 試験液



水相を 10 mL 採取



遠心分離 (5分, 3000 G)



上澄み液を LC/MS に注入して被験物質残留量を測定する。

3) 被験物質残留量測定の測定条件

下記の装置および条件で被験物質を定量し、被験物質残留量を求めた。

(装 置) 高速・高分離液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS)

SL-HT-MISシステム (No.1)

ワークステーション : Agilent Technologies ChemStation

高速・高分離液体クロマトグラフ (RRLC) : Agilent Technologies 1200型

デガッサ : Agilent Technologies G1379B型

送液ポンプ : Agilent Technologies G1312B型

オートサンブラ : Agilent Technologies G1329B型

カラムオープン : Agilent Technologies G1316B型

質量選択検出器 (MSD) : Agilent Technologies G6130A型

(条 件)

【LC】

カラム : ジーエーケイ製 Inertsil ODS-3, 5 μm, 2.1 mm i.d. × 150 mm

溶 離 液 : A2液 20 mM 酢酸アンモニウム / 0.1% 酢酸水溶液

B1液 アセトニトリル

A2液 : B1液 = 30 : 70

流 速 : 0.4 mL/min

注 入 量 : 0.5 μL

カラム温度 : 40°C

【MS】

Ionization : MM-ES

Fragmentor : 210 V

Nebulizer : N₂ (60 psig)

Drying gas : N₂ (5.0 L/min, 350°C)

Mode : Positive

SIM (Selected Ion Monitoring) 条件:

Quant ion *m/z* 198.20 ([M+H]⁺)

4) 被験物質濃度の定量

検量線の濃度とピーク面積の相関は良好であったことから、試験液中の被験物質の定量は 標

準溶液 (2.30 mg/L) で得られるピーク面積との比較で行った。被験物質の検出限界は、最小検出ピーク面積を 1500 count に設定し、これに相当する培養ビン中の被験物質質量から求めた。

その結果、28日目における検出限界は 0.003 mg と算出された。

なお、被験物質残留量の測定値は、被験物質の分解系は平均回収率 93%、水中安定性系は平均回収率 90%で補正した。

d) 分解度の算出式

1) BOD分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \text{BOD} / \text{ThOD} \times 100$$

BOD : 被験物質または対照物質の生物化学的酸素消費量 (mgO₂/mg)

ThOD : 被験物質または対照物質の理論的酸素要求量 (mgO₂/mg)

BODの計算

被験物質の分解系および分解活性確認系

$$\text{BOD (mgO}_2\text{/mg)} = \{(\text{DO}_0 - \text{DO}_x) - (\text{DO}_{b0a} - \text{DO}_{bxa})\} / C$$

水中安定性系

$$\text{BOD (mgO}_2\text{/mg)} = (\text{DO}_0 - \text{DO}_x) / C$$

C : 被験物質または対照物質の仕込み濃度 (mg/L)

DO₀ : 0日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)

DO_x : x日目の溶存酸素濃度 (mgO₂/L)

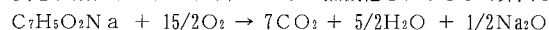
DO_{b0a} : 植種ブランチ系における0日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)

DO_{bxa} : 植種ブランチ系におけるx日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)

理論的酸素要求量 (ThOD) の計算

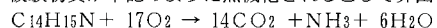
安息香酸ナトリウム : 1.67 mgO₂/mg

安息香酸ナトリウムが下記のように無機化されるとして算出した。



被験物質 : 2.76 mgO₂/mg

被験物質が下記のように無機化されるとして算出した。



2) 被験物質残留量からの分解度

$$\text{分解度 (\%)} = (1 - C_s / C_i) \times 100$$

C_i : 被験物質仕込み量 (mg)

C_s : 28日目の被験物質の分解系中の被験物質質量 (mg)

e) 試験結果

試験結果を以下にまとめた。

1) 植種の分解活性

安息香酸ナトリウムのBOD分解度は、14日目に60%以上(72%および78%)であった。

2) 28日目の結果

| 評価項目 | 被験物質の分解系 | | 水中安定性系 | | 理論値 |
|---------------------------|----------|-------|--------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | |
| BOD, mgO ₂ /mg | 0.13 | 0.07 | 0.09 | 0.09 | 2.76 |
| 被験物質, mg | 0.521 | 0.542 | 0.657 | 0.638 | 0.690 |

3) 28日目の分解度

| 分解度 | 被験物質の分解系 | | |
|------------------|----------|----|-----|
| | 1 | 2 | 平均値 |
| BOD分解度, % | 5 | 3 | 4 |
| 被験物質残留量からの分解度, % | 24 | 21 | 23 |

1) 考察

28日目のBOD分解度が平均4%、被験物質残留量からの分解度が平均23%であったことから、被験物質は難分解性と判断される。被験物質の一部は、ヒドロキシル基が付加した構造変化物を生成したと推定された。その他にも構造変化物の存在が示唆されたが構造推定には至らなかった。

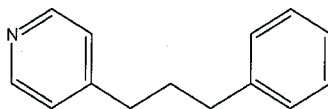
2.2 Pyridine, 4-(3-phenylpropyl)-の濃縮度試験 (PPP)

a) 試験材料

1) 被験物質

名称*1 : Pyridine, 4-(3-phenylpropyl)-

構造式*2 :



分子式*2 : C₁₄H₁₃N

分子量*2 : 197.28

CAS番号*2 : 2057-49-0

純度*5 : 98.9 (GC)

外観*3 : 橙黄色透明液体

安定性*3 : 通常の取扱い条件においては安定。酸化剤との接触に注意する。

ロット番号*3 : FGJ01

*1 委託者提供資料による

*2 独立行政法人科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」検索サービス (<http://nikkajiweb.jst.go.jp>) による

*3 東京化成工業株式会社提供資料による

2) 供試魚

体重約 3.5 g, 全長約 8±4cm のコイ (*Cyprinus carpio*) を使用した。

3) 試験用水

横浜市水道水を活性炭ろ過およびチオ硫酸ナトリウム添加により脱塩素処理し、試験用水として使用した。

b) 試験方法

「新規化学物質等に係る試験の方法について<魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験>」(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, 最終改正:平成18年11月20日)に準拠して実施した。

ヒメダカに対する96hr-LC₅₀値は5.7 mg/Lであった。濃縮度試験の試験濃度は、この濃度の1/100以下(第一濃度区), 1/1000以下(第二濃度区)である0.0005および0.00005 mg/Lに設定した。

流水式の濃縮度試験装置を、第一濃度区(高濃度区)および第二濃度区(低濃度区)としてそれぞれ1系列設置し、被験物質を含む水中で魚を飼育した。また、コントロール区として1系列設置し被験物質を含まない水中で魚を飼育した。この間、試験水および魚体中の被験物質濃度を定期的に測定し、その対比により濃縮倍率を求め魚類への濃縮性を評価した。

c) 分析方法

1) 試験水および供試魚の分析回数

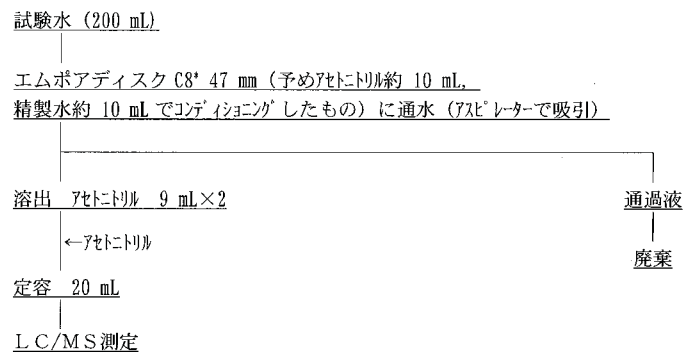
試験水分析は、魚の投入前(0日目)および取込開始後4, 7, 13, 20, 28日目に濃度区から試験水をサンプリングし、各濃度区1回ずつ分析した。

供試魚分析は、取込開始後4, 7, 13, 20, 28日目に濃度区から魚を4尾ずつサンプリングし、2尾ずつ2回に分けて分析した。

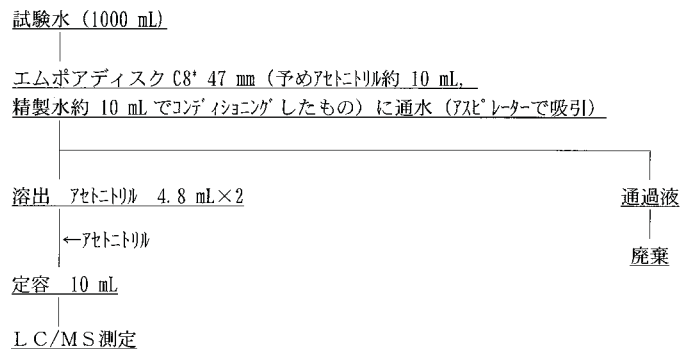
2) 試験水分析試料の前処理

採取した試験水を下記フロー・シートに従って前処理し、高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC/MS) 計で分析した。

第一濃度区



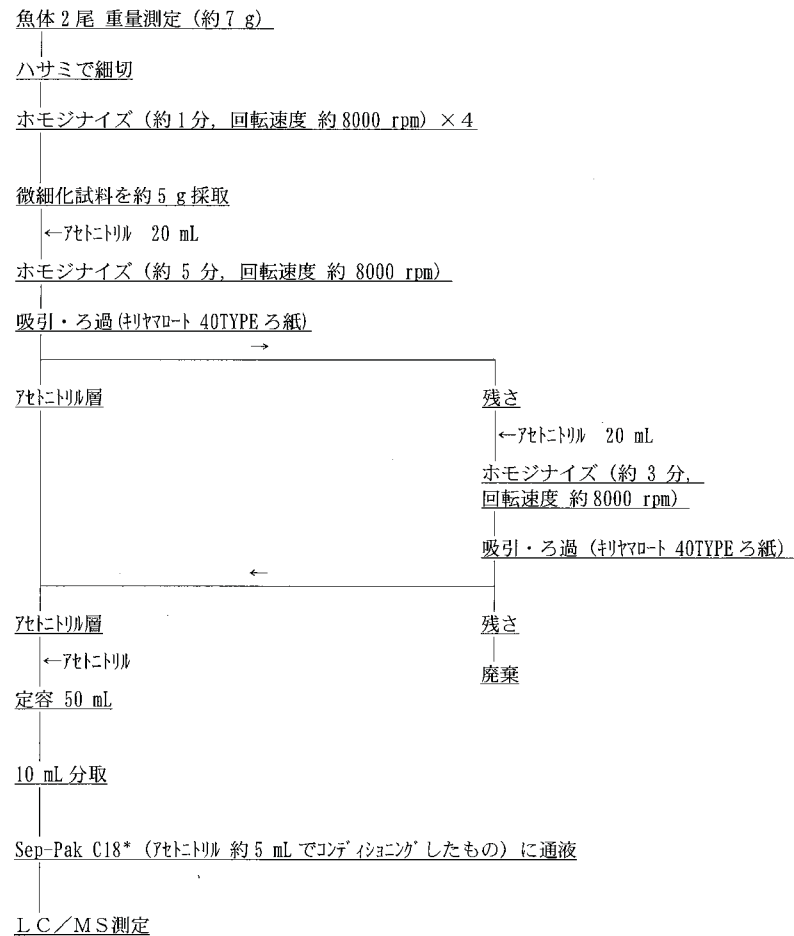
第二濃度区



*: 3M Empore Extraction Disk Octyl

3) 供試魚分析試料の前処理

採取した魚を下記フロー・シートに従って前処理し、LC/MSで分析した。



*: Waters Sep-Pak Plus C18 Cartridge

4) 高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC/MS) 計測定条件

(装置)

高速液体クロマトグラフ質量分析計 Agilent 1100型 No2
 ワークステーション: Agilent 1100 シリーズ ケミステーション
 高速液体クロマトグラフ (HPLC): Agilent Technologies 1100 型
 デガッサ: G 1 3 7 9 A 型
 送液ポンプ: G 1 3 1 2 A 型 (ハイポンプ)
 オートサンブラ: G 1 3 1 3 A 型
 カラムオープン: G 1 3 1 6 A 型
 質量選択検出器 (MSD): G 1 9 4 6 D 型

(条件)

[HPLC 条件]

カラム: GLサイエンス製 Inertsil ODS-3 粒径5 μm 3.0 mm i.d.×150 mm
 カラムオープン: 40℃
 溶離液: A1液 20mM 酢酸アモニウム水溶液: 酢酸=1000:1
 B1液 アセトニトリル
 0 min A1液 50%, B1液 50%
 1 min A1液 50%, B1液 50%
 3 min A1液 30%, B1液 70%
 流速: 0.4 mL/min
 試料注入量: 10 μL

[MSD 条件]

Ionization: API-ES
 Fragmentor: 175 V
 Nebulizer: N₂ (30 psig)
 Drying gas: N₂ (10 L/min, 300℃)
 Mode: Positive
 SIM (Selected Ion Monitoring) 条件:
 Start Time 0 min
 Stop Time 10 min
 Post Time 2 min
 Quant ion m/z 198.20 [M+H]⁺

上記測定条件にて標準溶液 (0~0.0100 mg/L のアセトニトリル溶液) のピーク面積を測定し、横軸に濃度を、縦軸にピーク面積 (count 表示) をとり、検量線を作成した。検量線はほぼ原点を通る直線となり、相関係数は 0.999 と良好であった。

試料中の被験物質濃度の定量は、試料測定毎に 0.00500 mg/L 標準溶液を測定し、そのピーク面積との比較で行った。

5) 濃縮倍率の算出

魚体中の被験物質濃度は、回収率で補正して算出した。濃縮倍率は、魚体中被験物質濃度を、取込開始から各測定時までの試験水中被験物質濃度の平均値で割った値とした。

d) 試験結果

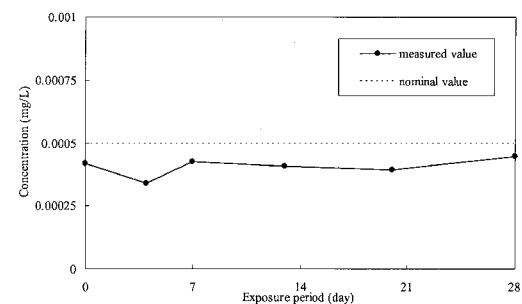
1) 試験水中の被験物質濃度

取込期間中における試験水中被験物質濃度の平均値および試験水中被験物質濃度の変動を以下に示した。

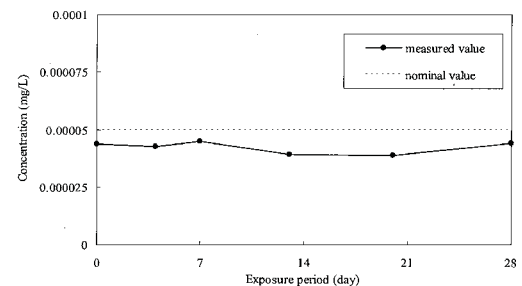
| | 第一濃度区 | 第二濃度区 |
|----------------|----------|-----------|
| 平均試験水中濃度, mg/L | 0.000406 | 0.0000423 |
| 変動係数, % | 9.1 | 6.3 |

試験水中の被験物質濃度の変動

第一濃度区



第二濃度区



2) 濃縮倍率

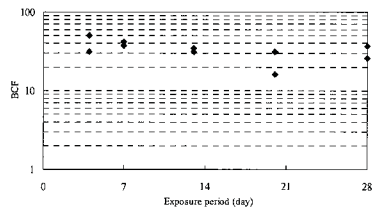
濃縮倍率の測定結果を以下に示した。

| 取 込 期 間 | | 4 日 目 | 7 日 目 | 13 日 目 | 20 日 目 | 28 日 目 | |
|---------|-----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|----|
| 第一濃度区 | 濃縮倍率 | 1 | 31 | 42 | 35 | 16 | 37 |
| | BCF _{SS} 28 | 2 | 50 | 38 | 31 | 31 | 26 |
| 第二濃度区 | 濃縮倍率 | 1 | <15 | <15 | 56 | 92 | 23 |
| | BCF _{SS} ≤92 | 2 | 24 | <15 | 26 | <16 | 23 |

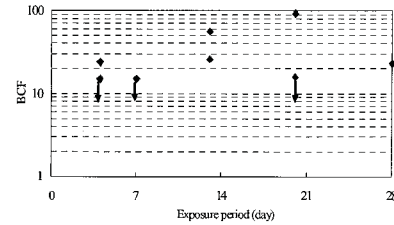
BCF_{SS}: 定常状態における濃縮倍率

濃縮倍率

第一濃度区



第二濃度区

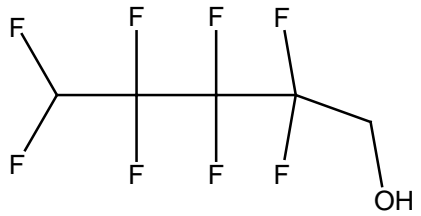


e) 考 察

第一濃度区:48 時間以上の間隔で連続した 3 回の測定における濃縮倍率(平均)の変動は 20% 以内であり, 取込期間中に定常状態に達していることを確認した。定常状態における濃縮倍率 (BCF_{SS}) は 28 倍であった。

第二濃度区:48 時間以上の間隔で連続した 3 回の測定における濃縮倍率(平均)の変動は 20% 以内であることを確認できなかったが, 取込期間中の濃縮倍率は全て 100 倍未満であったため, 定常状態に達しているとみなした。定常状態における濃縮倍率(BCF_{SS}) は ≤92 倍であった。

以上の結果から, 被験物質の魚類への濃縮性は低いと判断される。

| 整理番号 K-1849 (2-285) | | 分解度試験 | 分解度試験 | 分解度試験 |
|--|------------------|---|---------------------------|---------------------|
| 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-オクタフルオロペンタノン-1-オール (355-80-6) | | 事業対象年度 平成21年度 | 契約 年 月 日 | 契約 年 月 日 |
| | | 試験期間 21.12.25~22.2.26 | 試験期間 . . . ~ . . . | 試験期間 . . . ~ . . . |
| | | 試験装置 標・㊟ | 試験装置 標・揮 | 試験装置 標・揮 |
| 構造式(示性式)・物理化学的性状  分子式 C ₅ H ₄ F ₈ 分子量 232.07 | | 試験濃度 | 試験濃度 | 試験濃度 |
| | | 有機物質 10.0 mg/L 安息香酸ナトリウム 4.00mg/L 植種液 50 μL/L | 被験物質 mg/L | 被験物質 mg/L |
| | | 本試験期間 4 週間 | 本試験期間 週間 | 本試験期間 週間 |
| | | 間接 BOD -6, -6 (0)% | 間接 | 間接 |
| | | 直接 GC -4, -7 (0)% | 直接 | 直接 |
| 純度*1 99.6% | 外観 無色透明液体 | 溶解度(対水, その他) 対水 >10000mg/L | 審査部会 第101回 22年12月17日開催 | 審査部会 第 回 年 月 日開催 |
| 不純物(物質名, 含有率) 不明 | | | 審査部会 第 回 年 月 日開催 | 審査部会 第 回 年 月 日開催 |
| 沸点 140℃ | 1-オクタノール/水分配係数 - | 備考 | 備考 | 備考 |
| 比重 1.6647g/cm ³ | | 1. 実施機関 ・三菱化学メディエンス株式会社 | | |
| LD50 - | 安定性 - | | | |
| IRチャートの有無 有・㊟ | | | | |
| 用途*2 中間物、工業用溶剤、塗料用 | | | | |
| 生産量*2 (18年) 100~1,000 t 未満 | | | | |
| 試料 提供試料 | | | | |
| 経済産業公報発表年月日 | 年 月 日 | | | |

*1 GCによる。 *2 化学物質の製造・輸入量に関する実態調査による。

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-------------|------------------------------|--------|--------|------------------------------|--------|----------------------|----------|----|-------------|----|----|----|----|
| 濃縮度試験 事業対象年度 平成21年度 | | | | | 濃縮度試験 年 月 日 | | | | | 毒性試験 年月日 | | | | |
| 試験期間 21.12.18 ~ 22. 3.16 | | | | | 試験期間 . . . ~ . . . | | | | | | | | | |
| 試験装置 (標)・揮 | | LC50値 >100mg/L(96hr)魚種(ヒメダカ) | | | 試験装置 標・揮 | | LC50値 mg/L(hr)魚種() | | | 依 頼 | | | | |
| 水槽設定濃度 (mg/L) | | | | | 水槽設定濃度 () | | | | | | | | | |
| 被験物質 | | 分散剤 | | | 被験物質 | | 分散剤 | | | 経過 | | | | |
| | | 2-メトキシエ ノール | | | | | | | | | | | | |
| 第1濃度区 | 1 | 24ppm | | | 第1濃度区 | | | | | | | | | |
| 第2濃度区 | 0.1 | 25ppm | | | 第2濃度区 | | | | | | | | | |
| 第3濃度区 | | | | | 第3濃度区 | | | | | | | | | |
| 濃縮倍率 脂質含有率 開始前 5.0% 終了後 5.1% 魚種(コイ) | | | | | 濃縮倍率 脂質含有率 開始前 % 終了後 % 魚種() | | | | | | | | | |
| | | 4日後 | 7日後 | 14日後 | 21日後 | 28日後 | | | 日後 | | 日後 | 日後 | 日後 | 日後 |
| 第1 | 水槽濃度 (mg/L) | 0.961 | 0.956 | 0.969 | 0.969 | 0.978 | 第1 | 水槽濃度 () | | | | | | |
| | 倍率 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | | 倍率 | | | | | | |
| 第2 | 水槽濃度 (mg/L) | 0.0896 | 0.0918 | 0.0917 | 0.0926 | 0.0935 | 第2 | 水槽濃度 () | | | | | | |
| | 倍率 | <29 | <28 | <28 | <28 | <27 | | 倍率 | | | | | | |
| 第3 | 水槽濃度 () | | | | | | 第3 | 水槽濃度 () | | | | | | |
| | 倍率 | | | | | | | 倍率 | | | | | | |
| 審査部会 第101回 22年 12月 17日 開催 | | | | | 審査部会 第 回 年 月 日 開催 | | | | | | | | | |
| 判定結果 | | | | | 判定結果 | | | | | | | | | |
| 備考 [定常状態における濃縮倍率] 第1濃度区 <3倍 [ばく露期間における濃縮倍率] 第2濃度区 <29倍 [実施機関] 三菱化学メディエンス株式会社 | | | | | 備考 | | | | | | | | | |

3.1 1-Pentanol, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-octafluoro-の分解度試験

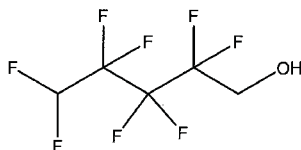
a) 試験材料

1) 被験物質

名称^{*1} : 1-Pentanol, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-octafluoro-

略称 : OFP

構造式^{*2} :



分子式^{*2} : C₅H₄F₈O

分子量^{*2} : 232.07

CAS番号^{*2} : 355-80-6

純度^{*3} : 99.6 (GC)

ロット番号^{*3} : M4NNA

沸点^{*3} : 140℃

外観^{*3} : 無色透明液体

安定性^{*3} : 通常の取扱い条件においては安定

*1 委託者提供資料による

*2 独立行政法人科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」
検索サービス (<http://nikkajiweb.jst.go.jp>) による

*3 東京化成工業株式会社提供資料による

b) 試験方法

被験物質は水中からの揮発性が高いことから、本試験は OECD Guideline for Testing of Chemicals 301D (1992) "Ready Biodegradability: CLOSED BOTTLE TEST" に準拠して実施した。

1) 試験条件

(植 種)

植 種 源 : 成瀬クリーンセンター 二次放流水

入 手 日 : 2010年 1月 6日 (BOD測定開始日に採取)

(条 件)

濃 度 : 被験物質 : 10.0 mg/L

安息香酸ナトリウム (対照物質) : 4.00 mg/L

植種液 : 50 μL/L

液 量 : 300 mL (ふらんビン容量 : 300 ± 2.9 mL)

期 間 : 28日間 (BOD測定)

温 度 : 20 ± 1℃

(試験の構成と被験物質の添加)

No.1 : 植種ブランク系 (植種液+無機培地)

無機培地^{*1} 4Lに植種液 200 μLを添加した後、12本のふらんビンに分注した。

No.2 : 被験物質の分解系 (被験物質+植種液+無機培地)

無機培地^{*1} 6Lに植種液 300 μLを添加し、18本^{*2}のふらんビンに分注した後、各ふらんビンに被験物質をマイクロシリンジで 1.80 μL (3.01 mg^{*3}) 添加した。

No.3 : 水中安定性系 (被験物質+精製水)

精製水^{*4} 6Lを 18本^{*2}のふらんビンに分注し、各ふらんビンに被験物質をマイクロシリンジで 1.80 μL (3.01 mg^{*3}) 添加した。

No.4 : 分解活性確認系 (対照物質+植種液+無機培地)

無機培地^{*1} 4Lに植種液 200 μLを添加し、安息香酸ナトリウム^{*5}水溶液 (4000 mg/L) を 4 mL 添加した後、10本のふらんビンに分注した。

*1 : 無機培地を酸素飽和させてから使用

*2 : 18本のうち 4本は予備

*3 : 比重を1.6699 (供給元提供資料) として算出

*4 : JIS K0557 A4 グレードの水を酸素飽和させてから使用

*5 : 関東化学製 試薬特級 Lot No. 804W2276

2) 装置

恒温槽 : TAITEC 製 低温恒温槽 M-210FN 型 (No.1) (暗所条件にて使用)

c) 分析方法

1) 測定項目および測定スケジュール

下記の測定スケジュールおよび連数 (ふらんビン) に従って、各項目について測定を行った。

測定スケジュール

| 試験系 | 測定項目 | 使用するふらんビン (本) | | | | |
|------------------|----------|---------------|-----|------|------|------|
| | | 0日目 | 7日目 | 14日目 | 21日目 | 28日目 |
| No.1 植種ブランク系 | 溶存酸素濃度*1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | pH*2 | | - | - | - | |
| | 被験物質残留量 | 1 | - | - | - | 1 |
| No.2 被験物質の分解系 | 溶存酸素濃度*1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | pH*2 | | - | - | - | |
| | 被験物質残留量 | 2 | - | - | - | 2 |
| No.3 水中安定性系 | 溶存酸素濃度*1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | pH*2 | | - | - | - | |
| | 被験物質残留量 | 2 | - | - | - | 2 |
| No.4 分解活性確認系 | 溶存酸素濃度*1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | pH*2 | | - | - | - | |
| | 被験物質残留量 | - | - | - | - | - |

*1 装置：溶存酸素計 ワイエスアイ・ナノテック製 5100型 (No.1)

*2 溶存酸素濃度測定後に測定

2) 被験物質残留量測定の前処理

300 mL 試験液

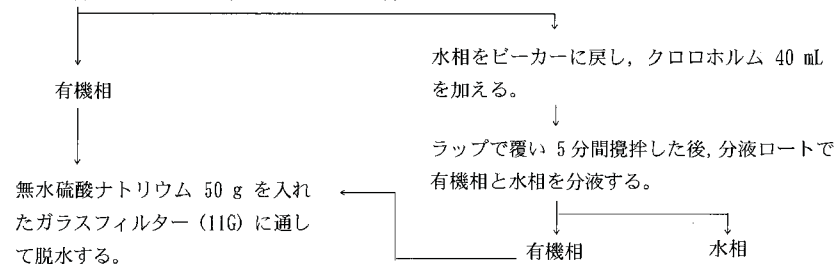
↓
ふらんビンの水封水を捨て、カラーにピペットで 5 mL のクロロホルムをのせる。

↓
被験物質が揮発しないようにふらんビンの栓をわずかに持ち上げ、ふらんビン中に少量ずつクロロホルムを流し込む。

↓
全量をビーカーへ移し、ふらんビンを 40 mL のクロロホルムで洗い込んだ後、マグネティックスターで攪拌しながら塩化ナトリウム 100 g を加える。

↓
クロロホルムが揮発しないようにラップでビーカーの口を覆い、5分間攪拌する。

↓
全量を分液ロートに移し、有機相と水相を分液する。



↓
クロロホルムで 100 mL に定容とする。

↓
GCに注入して被験物質残留量を測定する。

3) 被験物質残留量測定の前処理

下記の装置および条件で被験物質を定量し、被験物質残留量を求めた。

(装置)

ガスクロマトグラフ (GC)

GC : ヒューレット・パッカード製 6890N型 (No.1)

FID付

(条件)

カラム : J&W製 DB-5, 30 m × 0.25 mm i.d. × 1.0 μm (膜厚)

温 度 : カラム 40℃ (3 min) → 20℃/min → 200℃ (0 min)
 注入口 280℃, 検出器 300℃
 キャリヤガス : ヘリウム
 検出器ガス : 水素 40 mL/min, 空気 450 mL/min
 メータップガス : ヘリウム 45 mL/min
 カム流量 : 1.5 mL/min (コンスタントモード)
 注入口モード : スプリット (スプリット比 5:1)
 注 入 量 : 4 μL

4) 被験物質濃度の定量

検量線の濃度とピーク面積の相関は良好であったことから、試験液中の被験物質の定量は標準溶液 (30.1 mg/L) で得られるピーク面積との比較で行った。被験物質の検出限界は、最小検出ピーク面積を 1 pA・sec に設定し、これに相当する培養ビン中の被験物質質量から、0.03 mg とした。

なお、被験物質残留量の測定値は、被験物質の分解系は平均回収率 91%、水中安定性系は平均回収率 100% で補正した。

d) 分解度の算出式

1) BOD分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \text{BOD} / \text{ThOD} \times 100$$

BOD : 被験物質または対照物質の生物化学的酸素消費量 (mgO₂/mg)
 ThOD : 被験物質または対照物質の理論的酸素要求量 (mgO₂/mg)

BODの計算

被験物質の分解系および分解活性確認系

$$\text{BOD (mgO}_2\text{/mg)} = \{(\text{DO}_0 - \text{DO}_x) - (\text{DO}_{b0a} - \text{DO}_{bxa})\} / C$$

水中安定性系

$$\text{BOD (mgO}_2\text{/mg)} = (\text{DO}_0 - \text{DO}_x) / C$$

C : 被験物質または対照物質の仕込み濃度 (mg/L)
 DO₀ : 0 日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)
 DO_x : x 日目の溶存酸素濃度 (mgO₂/L)
 DO_{b0a} : 植種ブランク系における 0 日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)
 DO_{bxa} : 植種ブランク系における x 日目の溶存酸素濃度の平均値 (mgO₂/L)

理論的酸素要求量 (ThOD) の計算

安息香酸ナトリウム : 1.67 mgO₂/mg

安息香酸ナトリウムが下記のように無機化されるとして算出した。
 $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_2\text{Na} + 15/2\text{O}_2 \rightarrow 7\text{CO}_2 + 5/2\text{H}_2\text{O} + 1/2\text{Na}_2\text{O}$

被験物質 : 0.483 mgO₂/mg

被験物質が下記のように無機化されるとして算出した。
 $\text{C}_5\text{H}_4\text{OF}_8 + 7/2\text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 5\text{CO}_2 + 8\text{HF}$

2) 被験物質残留量からの分解度

$$\text{分解度 (\%)} = (1 - C_s / C_i) \times 100$$

C_i : 被験物質仕込み量 (mg)
 C_s : 28日目の被験物質の分解系中の被験物質質量 (mg)

ただし、水中安定性系の被験物質残留量が仕込み量の 90% 未満であったため、上記の式より得られた結果は消失率とした。

e) 試験結果

試験結果を以下にまとめた。

1) 植種の分解活性

安息香酸ナトリウムのBOD分解度は、14日目に 60%以上 (ともに 88%) であった。

2) 28日目の結果

| 評価項目 | 被験物質の分解系 | | 水中安定性系 | | 理論値 |
|---------------------------|----------|-------|--------|------|-------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 | |
| BOD, mgO ₂ /mg | -0.03 | -0.03 | 0.01 | 0.01 | 0.483 |
| 被験物質, mg | 3.13 | 3.21 | 2.80 | 2.33 | 3.01 |

3) 28日目の分解度

| 分解度 | 被験物質の分解系 | | | 水中安定性系 | | |
|----------------------------|----------------------|----------------------|-----|--------|-----|-----|
| | 1 | 2 | 平均値 | 1 | 2 | 平均値 |
| BOD分解度, % | 0 (-6) ^{*1} | 0 (-6) ^{*1} | 0 | --- | --- | --- |
| 被験物質の消失率 ^{*2} , % | 0 (-4) ^{*1} | 0 (-7) ^{*1} | 0 | 7 | 23 | 15 |

*1 分解度が負の値に算出されたため、カッコ内にその計算値を示す

*2 水中安定性系の値が仕込み理論量の 90% 未満となったため、消失率を示す

f) 考察

被験物質の分解系において、28日目のBOD分解度がともに 0%、被験物質の消失率がともに 0%であったことから、被験物質は難分解性で構造変化を受けなかったと判断される。

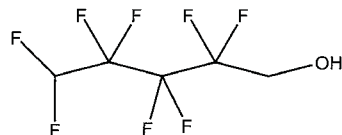
3.2 1-Pentanol, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-octafluoro-の濃縮度試験

a) 試験材料

1) 被験物質

名称^{*1} : 1-Pentanol, 2, 2, 3, 3, 4, 4, 5, 5-octafluoro-

構造式^{*2} :



分子式^{*2} : C₅H₄F₈O

分子量^{*2} : 232.07

CAS番号^{*2} : 355-80-6

純度^{*3} : 99.6 (GC)

ロット番号^{*3} : M4NNA

沸点^{*3} : 140°C

外観^{*3} : 無色透明液体

安定性^{*3} : 通常の取扱い条件においては安定

*1 委託者提供資料による

*2 独立行政法人科学技術振興機構の有機化合物辞書DB「日本化学物質辞書」
検索サービス (<http://nikkajiweb.jst.go.jp>) による

*3 東京化成工業株式会社提供資料による

2) 供試魚

体重約 4 g, 全長約 8±4 cm のコイ (*Cyprinus carpio*) を使用した。

3) 試験用水

横浜市水道水を活性炭ろ過およびチオ硫酸ナトリウム添加により脱塩素処理し、試験用水として使用した。

b) 試験方法

「新規化学物質等に係る試験の方法について<魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験>」(平成15年11月21日 薬食発第1121002号, 平成15・11・13製局第2号, 薬保企発第031121002号, 最終改正:平成18年11月20日)に準拠して実施した。

ヒメダカに対する96hr-LC₅₀値は>100 mg/Lであった。濃縮度試験の試験濃度は, この濃度の1/100以下(第一濃度区), 1/1000以下(第二濃度区)である1および0.1 mg/Lに設定した。

流水式の濃縮度試験装置を, 第一濃度区(高濃度区)および第二濃度区(低濃度区)としてそれぞれ1系列設置し, 被験物質を含む水中で魚を飼育した。また, コントロール区として1系列設置し被験物質を含まない水中で魚を飼育した。この間, 試験水および魚体中の被験物質濃度を定期的に測定し, その対比により濃縮倍率を求め魚類への濃縮性を評価した。

c) 分析方法

1) 試験水および供試魚の分析回数

試験水分析は, 魚の投入前(0日目)および取込開始後4, 7, 14, 21, 28日目に濃度区から試験水をサンプリングし, 各濃度区1回ずつ分析した。

供試魚分析は, 取込開始後4, 7, 14, 21, 28日目に濃度区から魚を4尾ずつサンプリングし, 2尾ずつ2回に分けて分析した。

2) 試験水分析試料の前処理

採取した試験水を下記フロー・シートに従って前処理し、高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC/MS) 計で分析した。

第一濃度区

試験水をオートサンプラ用バイアルに採取

↓

LC/MS測定

第二濃度区

試験水 100 mL

エムポアディスク C18[®] 47 mm (予め HPLC 用アセトリル約 5 mL、
精製水約 5 mL でコンディショニングしたもの) に通水 (アシピレーターで吸引)

溶出 HPLC 用アセトリル 4.8 mL×2

←HPLC 用アセトリル

定容 10 mL

LC/MS測定

* エムポアディスク C18: 3M Empore Extraction Disk Octadecyl

通過液

廃棄

3) 供試魚分析試料の前処理

採取した魚を下記フロー・シートに従って前処理し、LC/MSで分析した。

魚体 2尾 重量測定 (約 8 g)

ハサミで細切

ホモジナイズ (約 2分, 回転速度 約 8000 rpm) × 3

微細化試料を 2 g 採取 脂質含量測定用保存試料 (≥1 g, -20℃の冷凍庫で保管)

←アセトリル 40 mL

ホモジナイズ (約 3分, 回転速度 約 8000 rpm)

吸引・ろ過 (キヤマート 40TYPE S-60 ろ紙)

アセトリル層

残さ

←アセトリル 40 mL

ホモジナイズ (約 3分, 回転速度 約 8000 rpm)

吸引・ろ過 (キヤマート 40TYPE S-60 ろ紙)

アセトリル層

残さ

←アセトリル

廃棄

定容 100 mL

約 10 mL 分取

メンブレンフィルター 0.22 μm に通液

LC/MS測定

* メンブレンフィルター 0.22 μm: Millex-GV 0.22 μm Filter Unit

4) 高速液体クロマトグラフ質量分析 (LC/MS) 計測定条件

(装置) 以下2台のLC/MSを使用した。

高速液体クロマトグラフ質量分析計 Agilent 1100型 No.3
 ワークステーション: Agilent 1100 シリーズ/ケミステーション
 高速液体クロマトグラフ (HPLC): Agilent Technologies 1100 型
 デガッサ: G 1379A型
 送液ポンプ: G 1312A型 (ハイトポンプ)
 オートサンブラ: G 1313A型
 カラムオープン: G 1316A型
 質量選択検出器 (MSD): G 1946D型

高速・高分離液体クロマトグラフ質量分析計 SL-HTシステム No.1
 ワークステーション: Agilent 1200 シリーズ/ケミステーション
 高速・高分離液体クロマトグラフ: Agilent Technologies 1200 型
 デガッサ: G 1379B型
 送液ポンプ: G 1312B型 (ハイトポンプ)
 オートサンブラ: G 1367C型
 カラムオープン: G 1316B型
 質量選択検出器 (MSD): G 6140A型

(条件)

[HPLC 条件]

カラム: GLサイエンス製 Inertsil ODS-3, 5 μm, 3.0 mm i.d. × 150 mm
 カラムオープン: 40°C
 溶離液: A液 20 mM ギ酸アンモニウム水溶液: ギ酸=1000:1 (v/v)
 B液 アセトリル*
 A液 50%, B液 50%
 流速: 0.4 mL/min
 試料注入量: Agilent 1100型 No.3: 5 μL
 SL-HTシステム No.1: 10 μL

[MSD 条件]

Ionization: API-ES
 Fragmentor: 75 V
 Nebulizer: N2 (30 psig)
 Drying gas: N2 (11 L/min, 300°C)
 Mode: Negative
 SIM (Selected Ion Monitoring) 条件:
 Quant ion m/z 277.20 [M+HCOO]⁻

* アセトリル: HPLCグレード

上記測定条件にて標準溶液 (0~2.00 mg/L) のピーク面積を測定し、横軸に濃度を、縦軸にピーク面積 (count 表示) をとり、検量線を作成した。検量線はほぼ原点を通る直線となり、

相関係数は Agilent 1100 型 No.3 では 1.0000, SL-HTシステム No.1 では 1.0000 となり、いずれも良好であった。

試料中の被験物質濃度の定量は、試料測定毎に 1.00 mg/L 標準溶液を測定し、そのピーク面積との比較で行った。

5) 濃縮倍率の算出

魚体中の被験物質濃度は、回収率で補正して算出した。濃縮倍率は、魚体中被験物質濃度を、取込開始から各測定時までの試験水中被験物質濃度の平均値で割った値とした。

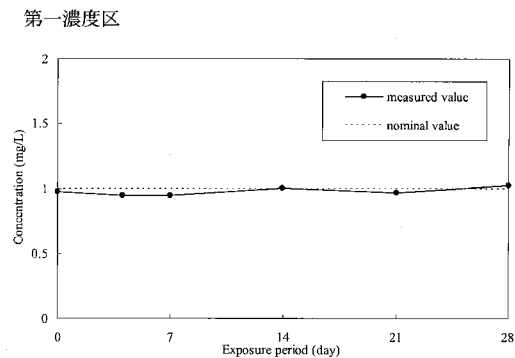
d) 試験結果

1) 試験水中の被験物質濃度

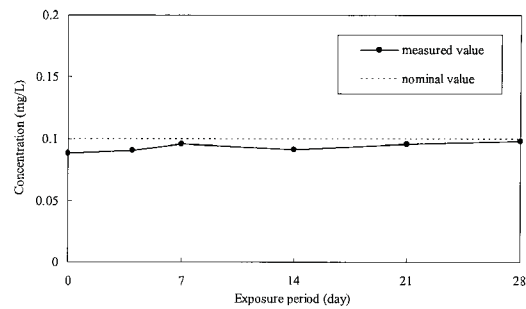
28日間の取込期間中における試験水中被験物質濃度の平均値および試験水中被験物質濃度の変動を以下に示した。

| | 第一濃度区 | 第二濃度区 |
|----------------|-------|--------|
| 平均試験水中濃度, mg/L | 0.978 | 0.0935 |
| 変動係数, % | 3.2 | 4.0 |

試験水中の被験物質濃度の変動



第二濃度区



2) 濃縮倍率

濃縮倍率 (BCF) の測定結果を以下に示した。

| 取 込 期 間 | | 4 日 目 | 7 日 目 | 14 日 目 | 21 日 目 | 28 日 目 |
|---------|-----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|
| 第一濃度区 | 濃縮倍率 | 1 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| | BCF _{ss} <3 | 2 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 第二濃度区 | 濃縮倍率 | 1 | <29 | <28 | <28 | <27 |
| | BCF _{ss} <29 | 2 | <29 | <28 | <28 | <27 |

e) 考 察

48 時間以上の間隔で連続した 3 回の測定における濃縮倍率 (平均) の変動は、両濃度区とも 20% 以内であることを確認できなかったが、取込期間中の濃縮倍率は全て 100 倍未満であったため、定常状態に達していると考えた。定常状態における濃縮倍率 (BCF_{ss}) は第一濃度区が <3 倍、第二濃度区が <29 倍であった。

以上の結果から、被験物質の魚類への濃縮性は低いと判断される。