

要 約

試験の表題

ポリ(オキシパーフルオロ-*n*-アルキレン(C=1~2)) (被験物質番号 K-1844) 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—質量分析法 (GC-MS) による被験物質の定量分析

試験結果

		(汚泥+被験物質) 系			
		[2]	[3]	[4]	平 均
BOD 分解度	%	9	-2	2	3
被験物質分解度 (GC-MS)	%	1	0	2	1

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-1844 は、次の名称等を有するものとする。

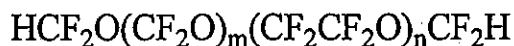
1.1 名 称

ポリ(オキシパーフルオロ-*n*-アルキレン(C=1~2))

(別名: α -ジフルオロメチル- ω -ジフルオロメトキシポリ[オキシ(ジフルオロメチレン)/
オキシ(テトラフルオロエチレン)])

1.2 構造式等

構 造 式



$m=1, n=3$ 24.2% (主成分)

$m=1, n=4$ 15.8%

$m=0, n=4$ 15.7%

$m=1, n=2$ 13.5%

$m=0, n=3$ 9.5%

$m=2, n=3$ 6.4%

$m=2, n=2$ 3.7%

$m=0, n=5$ 3.5%

$m=0, n=2$ 1.6%

$m=1, n=1$ 1.0%

その他 5.1% (不純物)

示 性 式 $\text{HCF}_2\text{O}(\text{CF}_2\text{O})(\text{CF}_2\text{CF}_2\text{O})_3\text{CF}_2\text{H}$ (主成分)

分 子 量 532.08 (主成分)

CAS 番号 161075-02-1

1.3 供給者、商品名及びロット番号

供 給 者

商 品 名

ロット番号

1.4 純 度

被 験 物 質 94.9%

不 純 物 不明 5.1% (各成分 1%未満の微量成分)

被験物質は純度で補正して取り扱った。

1.5 被験物質の確認

被験物質供給者提供の赤外吸収スペクトルと久留米事業所の当該測定スペクトルが一致することを確認した (Fig. 6、Reference 10 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 室温暗所保管

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. 6 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 ± 1.0 に調整したもの）を添加して19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12月21日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は3390 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 5 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 [1])

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 19.0 μ L [被験物質 30.5 mg = $19.0 \mu\text{L} \times 1.690 \text{ g/cm}^3$ (密度) $\times 0.949$ (含有率)] 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 [2] [3] [4])

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 (2.65 mL) を差し引いた量] 及び供試試料 19.0 μ L [被験物質 30.5 mg = $19.0 \mu\text{L} \times 1.690 \text{ g/cm}^3$ (密度) $\times 0.949$ (含有率)] 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 (2.65 mL) を差し引いた量] 及びアニリン 29.5 μ 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 (2.65 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	大倉電気製
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±1℃
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。

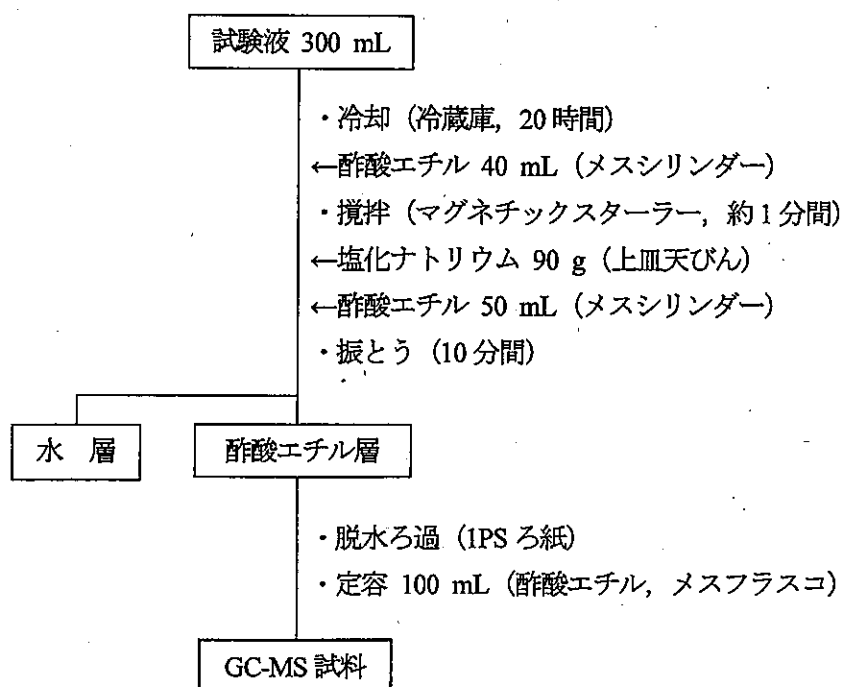
2.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中の被験物質について分析した。また、本試験に先立って実施した予備試験の結果より、被験物質は試験液に溶解しないことが明らかなため、試験液中の溶存有機炭素 (DOC) の分析は行わなかった。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ため、試験液の pH 測定は行わなかった。

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質量分析法 (GC-MS) 試料を調製した。なお、抽出操作で使用した酢酸エチルはあらかじめ冷却したものを用いた。

フロースキーム



2.5.2 被験物質の定量分析

被験物質はクロマトグラム上において9本のピークとして検出されたため、これらを分析対象とした。GC-MS 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 305 mg/L のピークの総面積と GC-MS 試料のピークの総面積とを比較し、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 30000 (被験物質濃度 1.9 mg/L) とした。

(1) 定量条件

機 器	ガスクロマトグラフー質量分析計 島津製作所製 GCMS-QP2010
<u>ガスクロマトグラフ条件</u>	
カ ラ ム	INNOWAX 膜厚 0.25 μm (Agilent technology 製) 30 m $\times$ 0.25 mm I.D. フューズドシリカ製
カ ラ ム 温 度	40°C (2 min) $\rightarrow$ 100°C (0 min)
昇 温 速 度	10°C/min
キャリアガス	ヘリウム
線 速 度	35.0 cm/sec
注 入 口 温 度	180°C
注 入 量	1 μL
導 入 モード	スプリット
スプリット比	20:1
<u>質量分析計条件</u>	
イオン化法	電子イオン化法 (EI)
検 出 法	選択イオンモニタリング (SIM)
測定イオン (m/z)	119 (Fig. 5 参照)
イオン源温度	220°C
イオン化電圧	70 V
インターフェース温度	250°C

(2) 標準溶液の調製

供試試料 19.0 μL (被験物質 30.5 mg) を分取し、酢酸エチルに溶解して 1020 mg/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 305 mg/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 76.2、152 及び 305 mg/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の総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	95.5%, 96.6%	平均	96.1%
(汚泥 + 被験物質) 系回収率	95.5%, 97.1%	平均	96.3%

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。

(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)

TOD は 1.2 における主成分の分子式 $\text{C}_9\text{H}_2\text{F}_{18}\text{O}_5$ を用いて算出した。

(2) 被験物質分解度

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{Sw} - \text{Ss}}{\text{Sw}} \times 100$$

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 : (水+被験物質) 系における被験物質の残留量 (測定値 : 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
分解度の最大値 と最小値の差	BOD 分解度	11%	20%未満	5.3 項 分解度
	被 験 物 質 分 解 度	2%		
アニリンのBOD 分 解 度	7 日 後	65%	40%以上	Table-1 Fig. 1
	14 日 後	75%	65%以上	
汚泥ブランク系 の B O D 値	28 日 後	9.3 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 pH 測定操作時に揮発による損失の可能性が考えられたため、(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	不溶物が認められた。 試験液は無色であった。	-
	(汚泥＋被験物質)系	汚泥以外の不溶物が認められた。 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.
		[1]	[2]	[3]	[4]				
BOD ^{*1}	mg	0.7	1.2	-0.2	0.2	12.8 ^{*2}	1	1	
被験物質残留量 ^{*3} 及び残留率 (GC-MS)	mg	30.8	30.5	30.7	30.1	30.5	3	4	
	%	101	100	101	99	-			

*1 (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。

*2 TOD は 1.2 における主成分の分子式 $C_9H_2F_{18}O_5$ を用いて算出した。

*3 クロマトグラム上のピークの総面積を用いて算出した。

5.3 分解度

28 日後の分解度は下記のとおりであった。

		(汚泥+被験物質)系				Table
		[2]	[3]	[4]	平均	
BOD 分解度	%	9	-2	2	3	1
被験物質分解度 (GC-MS)	%	1	0	2	1	3

5.4 考 察

GC-MS 分析において、被験物質はクロマトグラム上に 9 本のピーク (溶出順にピーク 1~9) として検出された。そこで、ピーク毎の分解度を算出したところ、いずれのピークについても分解度は 0~3% であった (下表参照)。この結果及び BOD 分解度が平均 3% であったことから、本試験条件下において、被験物質の全成分が微生物により分解されずに残留したと考えられる。

被験物質のピーク毎の分解度

		(汚泥+被験物質)系				Reference
		[2]	[3]	[4]	平均	
ピーク 1	%	2	0	2	2	1
ピーク 2	%	1	1	3	2	2
ピーク 3	%	1	1	2	2	3
ピーク 4	%	1	1	2	1	4
ピーク 5	%	1	0	2	1	5
ピーク 6	%	1	0	2	1	6
ピーク 7	%	1	0	2	1	7
ピーク 8	%	1	0	2	1	8
ピーク 9	%	1	0	2	1	9

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 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ー質量分析計	:	8 頁参照	
振とう機	:	タイテック製	SR-2w

6.2 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