

Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 102081881-001 号
2002年（平成 14年）09月30日

依頼者 オープ・テック株式会社

検体 スペースショットクリーナー（洗剤）

試験項目 DOC法による生分解度試験

2002年（平成14年）08月13日当センターに提出された
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒107-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番

DOC法による生分解度試験

要 約

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 301A(1992)を参考にして、生分解度試験を28日間実施した。

試験は微生物源として標準活性汚泥を用い、振とう培養法で培養し、溶存有機体炭素(DOC)を測定した。

その結果、28日後の検体の生分解度は90 %以上であった。

依 頼 者

オーブ・テック株式会社

検 体

スペースショットクリーナー(洗剤)

試験実施期間

平成14年8月20日～平成14年9月30日

試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
東京都多摩市永山6丁目11番10号

試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
環境科学部 環境生物安全課
稲田 友子

試験実施者

杉本 綾子 , 西山 真理子 , 藤野 仁美 , 吉安 友二

1 試験目的

検体の生分解度を測定する。

2 検 体

スペースショットクリーナー(洗剤)

性状：青色を帯びた透明な液体

3 試験方法

1) 試験区分

- ① 培養試験区：検体+微生物源+基礎培養基(試験回数：3)
- ② 非培養試験区：検体+純水+殺菌剤
- ③ 吸着試験区：検体+微生物源+基礎培養基+殺菌剤
- ④ 基準試験区：アニリン+微生物源+基礎培養基
- ⑤ 植種ブランク：微生物源+基礎培養基

2) 試験条件

- ① 試験方式：振とう培養法(振幅10 cm, 振とう回数120回/分)
- ② 試験期間：28日間(測定点：開始時, 7, 14, 21及び28日後)
- ③ 検体濃度：DOC値として50 mg/l
- ④ 基準物質：アニリン[関東化学株式会社, 特級, 純度99.0 %以上]
- ⑤ 基準物質濃度：100 mg/l
- ⑥ 微生物源：活性汚泥
- ⑦ 活性汚泥浮遊物質濃度：30 mg/l
- ⑧ 基礎培養基：無機培養基
- ⑨ 培養液量：300 ml
- ⑩ 試験容器：500 ml容坂口フラスコ
- ⑪ 試験温度：22 °C±2 °C

3) 試験培養液及び基礎培養基の調製

- ① 培養試験区, 非培養試験区及び吸着試験区

検体の調製液を塩酸溶液でpH8.0±1.0に調整し, DOC値として50 mg/lとなるように基礎培養基及び純水に添加して培養試験区, 非培養試験区及び吸着試験区とした。また, 非培養試験区及び吸着試験区は殺菌のため, 2 W/V%塩化第二水銀溶液を300 mlに対して1 ml添加した。

② 基準試験区

基準物質(アニリン)を100 mg/lとなるように基礎培養基に添加し、基準試験区とした。

③ 基礎培養基

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 301A(1992)に従って調製した。

4) 微生物源

① 活性汚泥

標準活性汚泥(入手先:財団法人 化学物質評価研究機構)

② 活性汚泥懸濁液

試験開始当日に採取した活性汚泥を遠心分離して上澄み液を捨てた後、残留物を純水に懸濁させて遠心分離し、洗浄を行った。この洗浄操作を3回繰り返して得られた残留物を純水に活性汚泥浮遊物質(MLSS)として約900 mg/lになるように懸濁させ活性汚泥懸濁液を調製した。

③ 植種

活性汚泥懸濁液を培養試験区、吸着試験区、基準試験区及び植種プランクに植種した。
なお、培養液中のMLSSは30.4 mg/lであった。

5) 測定方法

① DOC

開始時、7、14、21及び28日後に各試験区の培養液を遠心分離(4,000 g, 15分間)し、その上澄み液についてDOCをTOC計で測定した。

② MLSS

活性汚泥懸濁液のMLSSを日本下水道協会「下水試験方法」(1997)、第2編、第3章、第6節 活性汚泥浮遊物質(MLSS)1. 遠心分離法に準拠して測定した。

6) 生分解度の算出方法

DOCによる生分解度を次式により算出した。ただし、非培養試験区は植種ブランクを差し引かないで算出した。

$$\text{生分解度 (\%)} = \frac{(T_0 - B_0) - (T_x - B_x)}{(T_0 - B_0)} \times 100$$

T_0 : 各試験区の開始時のDOC (mgC/l)

B_0 : 植種ブランクの開始時のDOC (mgC/l)

T_x : 各試験区のx日後のDOC (mgC/l)

B_x : 植種ブランクのx日後のDOC (mgC/l)

7) 測定機器

TOC計 : TOC-5000 [株式会社 島津製作所]

4 試験結果

1) DOCによる生分解度

検体及び基準物質の生分解度を表-1に示した。

検体の28日後の生分解度は90 %以上であった。また、基準物質の14日後の生分解度は90 %以上であった。

表-1 生分解度測定結果 (単位 : %)

試験区分	7日後	14日後	21日後	28日後	平均値*
検 体					
培養試験区1	34.3	54.3	69.8	84.3	
培養試験区2	33.5	53.7	80.3	>90	>90
培養試験区3	35.5	67.1	85.4	>90	
非培養試験区	<10	<10	<10	<10	—
吸着試験区	<10	<10	<10	<10	—
アニリン					
基準試験区	<10	>90	—	—	—

* 培養試験区1~3の28日後の平均値を示した。

2) DOC値

検体及び基準物質のDOC値を表-2に示した。

なお、非培養試験区以外の結果は植種ブランクを差し引いた値を示した。

表-2 検体及び基準物質のDOC値(単位：mgC/l)

試験区分	開始時	7日後	14日後	21日後	28日後
検 体					
培養試験区1	46.0	30.2	21.0	13.9	7.2
培養試験区2	46.2	30.7	21.4	9.1	3.5
培養試験区3	47.1	30.4	15.5	6.9	3.0
非培養試験区	40.2	40.9	42.3	42.3	44.0
吸着試験区	41.3	41.6	43.5	43.1	45.1

アニリン					
基準試験区	75.3	71.5	1.3	—	—

以 上

生分解度試験について

はじめに

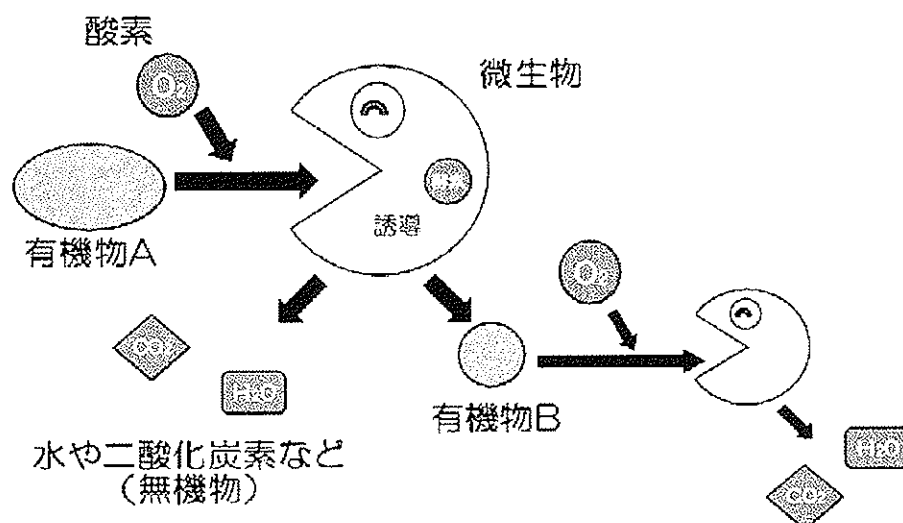
環境中に放出された化学物質は、光分解、加水分解、生分解といったさまざまな形で分解されていきます。これらの中で、河川、湖沼、海洋などの水系環境において重要な分解経路となるのが生分解です。

生分解とは、バクテリアなどの微生物の作用により、化学物質(有機物)がその構造を変えて別の化学物質に変化したり、無機化されて水、二酸化炭素などに分解されることをいいます。速やかに分解される化学物質は、それだけ環境への負荷が小さいと考えられます。

生分解度試験の結果は製品安全データシート(MSDS)に環境影響情報「残留性/分解性」として記載することができます。今回は、この生分解度試験についてご紹介します。

生分解度とは

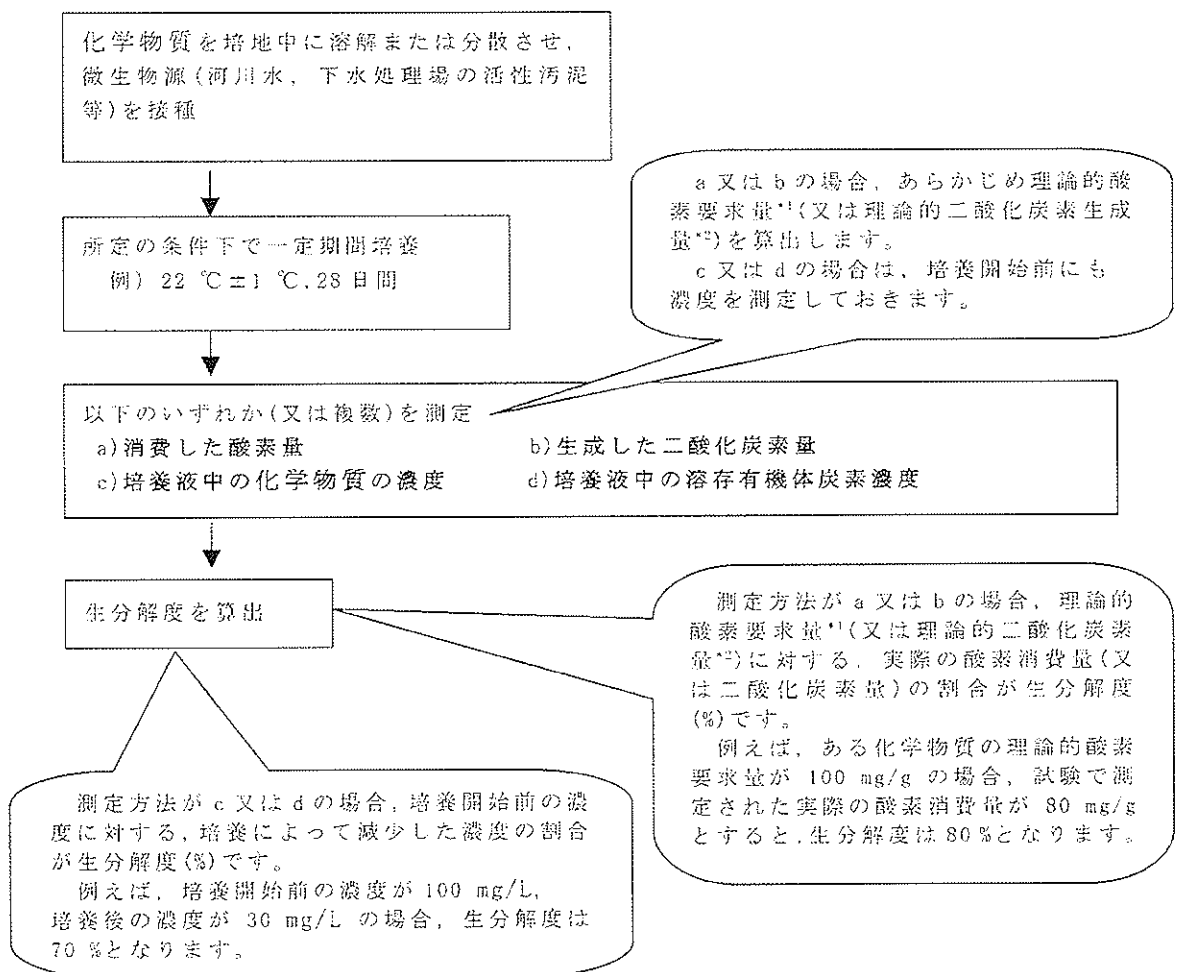
環境における生分解の大きな担い手は微生物です。微生物は化学物質に暴露されると、化学物質を分解するための酵素を体内で誘導・生成します。さらに微生物は酸素を取り込み、微生物体内で構造の異なる別の化学物質や、無機物の水や二酸化炭素などに分解していきます。生分解度とは生分解のされやすさの度合いを示し、化学物質が一定の期間に分解される割合(%)を表したものです。生分解の中には、酸素を必要としないもの(嫌氣的生分解)もありますが、ここでは酸素を必要とする、好氣的生分解についてご紹介します。



生分解度試験の概要

生分解度試験には多くの種類があります。いずれの試験にも共通する流れは以下の通りです。

- ① 化学物質を培地中に溶解または分散させ、微生物源を接種する。
- ② 所定の条件下で一定期間培養する。
- ③ 分解の指標となるもの(酸素消費量、二酸化炭素生成量、化学物質の濃度等)を測定する。
- ④ 生分解度を算出する。



*1 化学物質が完全に分解されて無機物になるために必要な酸素の量のことで、炭素は二酸化炭素に、水素は水になるとして計算します。計算するためには化学物質の元素組成についての情報が必要です。元素組成が不明の場合、COD_{Cr}(二クロム酸カリウムによる化学的酸素消費量)を測定し、この値を用います。ただし、COD_{Cr}は必ずしも正確な理論的酸素要求量を表すものではないため、結果の取り扱いに注意が必要です。

*2 化学物質が完全に分解されたときに発生する二酸化炭素の量で、化学物質中の炭素の量から計算します。

試験の種類と結果の評価

生分解度試験は、「究極的生分解」を評価する試験と、「一次的生分解」を評価する試験の2種類に大きく分けられます。前者は物質が完全に分解して、水や二酸化炭素などになることを「分解」と定義し、後者は物質が完全に分解しなくても、分子の一部が分解して別の化学物質に変化した段階を「分解」と定義しています。

種類	試験の名称	結果の評価
究極的生分解	OECD 301A DOC Die-Away 試験 OECD 301B CO ₂ 発生試験 OECD 301C 修正 MITI 試験(I) OECD 301D Closed Bottle 試験 OECD 301E 修正 OECD 試験スクリーニング試験 OECD 301F MANOMETRIC RESPIROMETRY 試験	これらの試験では、自然環境中よりも分解しにくい培養条件が設定されています。この条件下で、所定の期間内に生分解度が60%(301Aは70%)に達した場合、その物質は環境中で速やかに分解する、すなわち易生分解性であると判断されます。
	OECD 302A 修正 SCAS 試験 OECD 302B ZAHN-WELLENS/EMPA 試験 OECD 302C 修正 MITI 試験(II)	上記の OECD301A~301F の試験で、易生分解性と判断されなかった場合に実施するものです。上記の試験よりも分解のしやすい培養条件が設定されています。これらの試験で生分解度が20%以上であれば、「速やかではないが、環境中で分解される」と判断されます。培養期間の制限はありません。
	JIS K 6950(ISO 14851) プラスチック-水系培養液中の好氣的究極生分解度の求め方-閉鎖呼吸計を用いる酸素消費量の測定による方法 JIS K 6951(ISO 14852) プラスチック-水系培養液中の好氣的究極生分解度の求め方-発生二酸化炭素量の測定による方法 JIS K 6953(ISO 14855) プラスチック-制御されたコンポスト条件下の好氣的究極生分解度及び崩壊度の求め方-発生二酸化炭素量の測定による方法	プラスチックの生分解度の試験方法です。日本環境協会のエコマーク商品類型「 <u>生分解性プラスチック製品</u> 」では、これらの試験による生分解度が「6ヶ月以内に60%以上であること」と定められています。 また、日本バイオプラスチック協会が認定する「 <u>グリーンプラ製品</u> 」では、「60%以上であること、試験期間は各試験法が定める試験期間とする。」と定められています。試験期間はいずれの方法も、最大6ヶ月間です。
一次的生分解	JIS K 3363「合成洗剤の生分解度試験方法」	合成洗剤中の、アニオン界面活性剤又は非イオン界面活性剤についての試験方法です。JIS K 3370「 <u>台所用合成洗剤</u> 」や JIS K 3371「 <u>洗濯用合成洗剤</u> 」では、この試験による生分解度が「90%以上であること」と定められています。

注) 太字は弊財団で受託可能な試験(平成19年9月現在)

おわりに

現在、私たちの身の回りには多数の化学物質が存在します。近年は環境問題への人々の関心も高まり、これらの化学物質による環境汚染への懸念から、環境に対する負荷のより少ない商品を選ぼうとする消費者意識の高まりもあります。こうした中で企業には、CO₂排出の削減、省資源といった環境影響を考慮した商品開発や、環境へ配慮する姿勢が以前にも増して求められています。

生分解度試験にはさまざまな種類があり、検体（化学物質）の特性や試験目的に合わせた方法を選択することが重要です。弊財団では、試験方法を選択する段階からお手伝いをさせていただきます。

参考文献

- ・ OECD Guideline for Testing of Chemicals section 3 Degradation and Accumulation
- ・ 化学品の分類及び表示に関する世界調和システム(GHS), 化学工業日報社(2006)
- ・ JIS K 0102:1998 工場排水試験方法
- ・ 財団法人 日本環境協会ホームページ: <http://www.ecomark.jp/phyouji.html>
- ・ 日本バイオプラスチック協会ホームページ:
http://www.jbpaweb.net/gp_sikibetsu/gp_sikibetsu_gaiyou.html

トピックスーBOD/CODー

生分解度の試験結果の代わりに、COD(化学的酸素要求量)に対する BOD(生物化学的酸素要求量)の割合(%)が用いられることがあります。生分解度の求め方として、「理論的酸素要求量に対する、実際の酸素消費量の割合を算出する」方法を今回ご紹介しましたが、CODは「理論的酸素要求量」に、BODは「実際の酸素消費量」に相当するという考え方です。COD及びBODはいずれも水中の有機物量の指標として測定される項目で、JIS K 0102「工場排水試験方法」等で定められています。生分解度試験に比べて容易かつ短時間で測定できるため、簡易的な生分解度の目安として用いられてきました。

BOD/CODの値の評価方法について、たびたびお問い合わせを頂くことがあります。①CODは理論的酸素要求量よりも低いことが多く、また、②BODは培養期間が5日間と短いため、BOD/CODの値を生分解度として評価することは望ましいとはいえません。

化学品の分類、表示等を世界的に統一することを目的として国連が取り組んでいる、「化学品の分類及び表示に関する世界調和システム(GHS)」では、BOD/CODについて、「他に分解性に関する測定データが得られていない場合にのみ、用いることがある。」としています。また、「化学構造がわかっている物質については理論的酸素要求量を計算し、この数値をCODの代わりに用いるべきである。」とも述べています。