

## 培養法による化学物質の生分解性テスト結果

近藤雅臣,<sup>a</sup> 西原 力,<sup>a</sup> 島本隆光,<sup>a</sup> 越川富比古,<sup>b</sup>飯尾利弘,<sup>c</sup> 沢村良二,<sup>d</sup> 田中慶一<sup>e</sup>大阪大学薬学部,<sup>a</sup> 摂南大学薬学部,<sup>b</sup> 昭和薬科大学<sup>c</sup>日本大学理工学部,<sup>d</sup> 神戸学院大学栄養学部<sup>e</sup>

## Biodegradation Test of Chemicals by Cultivation Method

MASAOMI KONDO,<sup>a</sup> TSUTOMU NISHIHARA,<sup>a</sup> TAKAMITSU SHIMAMOTO,<sup>a</sup>TOMIHIKO KOSHIKAWA,<sup>b</sup> TOSHIHIRO IIO,<sup>c</sup> RYOJI SAWAMURA<sup>d</sup>and KEIICHI TANAKA<sup>e</sup>*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University,<sup>a</sup> Yamada-oka, Suita**565, Japan, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsu-nan University,<sup>b</sup>**Nagao-Touge, Hirakata 573-01, Japan, Showa Pharmaceutical**College,<sup>c</sup> Turumaki, Setagaya, Tokyo 154, Japan, Faculty of**Sciences, Nihon University,<sup>d</sup> Kanda-Surugadai, Chiyoda,**Tokyo 101, Japan, and Faculty of Nutrition, Kobe**Gaku-in University,<sup>e</sup> Ikawa-dani, Nishi,**Kobe 673, Japan*

(Received August 31, 1987)

Biodegradability of organic compounds in river and sea water was tested according to the simple and rapid method, the cultivation method, which was reported in our previous report. Out of 170 chemicals tested, 103 compounds were judged to be hard-, 43 to be moderate-, and 24 to be easy-of-degradability. In comparison with the MITI method, our method was applicable to wider range of compounds with less expensive equipments and gave more strict marks in 3 d, indicating that our method is a useful screening test method for biodegradability of chemicals in environmental water.

**Keywords**—biodegradability; screening method; chemical assessment; river water; sea water; cultivation method

## 結 言

環境水中の微生物による化学物質の生分解性をスクリーニングするための迅速・簡易なテスト法(培養法)を考案し、前報<sup>1)</sup>で報告した。すなわち、非汚染地区の河川水及び海水を微生物源として用い、これらの微生物を0.1%ペプトン水中で増殖させつつ、化学物質と接触させ、3日後の分解率を求めて、生分解性を判定するものである。本報ではこの培養法を用いたテストの結果を報告するとともに、それらを通商産業省(MITI)法<sup>2)</sup>による生分解性テスト結果<sup>3)</sup>と比較した。

## 実 験 方 法

1. 生分解性テスト法 微生物源として河川(箕面川、多摩川)及び海域(明石海岸、江ノ島海岸)の表層水を用いて培養法<sup>1)</sup>に従って、170物質について生分解性テストを行った。

2. 結果の判定 結果は3日後の分解率が50%以上のものを易分解性、15%以下のものを難分解性、それらの中間の値を示すものを中等度分解性として判定し、Table I中ではそれぞれ、E(easy), H(hard), M(moderate)と表わした。なお、供試濃度に2倍以上の差が

TABLE I. Biodegradability of Chemicals by Cultivation Method

| No. | Chemicals                             | River <sup>a)</sup> | Sea <sup>b)</sup> | Inst <sup>c)</sup> | Conc <sup>d)</sup> | Judgement <sup>e)</sup> |
|-----|---------------------------------------|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|
| 1   | Acetanilide                           | 15—30               | 0—15              | OU                 | 100                |                         |
|     |                                       | 29                  | 11                | KGU                | 5                  | H/M (○)                 |
| 2   | <i>N</i> -Acetyl-4-ethoxyaniline      | 34                  | 32                | KGU                | 5                  | M (*)                   |
| 3   | Allyl alcohol                         | 60                  | 100               | KGU                | 25                 | E (○)                   |
| 4   | 2-Amino-5-methylbenzene-sulfonic acid | 47                  | 6                 | NU                 | 10                 | H/M (*)                 |
| 5   | 3-Aminobenzene 1-sulfonic acid        | 38                  | 11                | NU                 | 10                 | H/M (*)                 |
| 6   | 4-Aminobenzene 1-sulfonic acid        | 47                  | 35                | NU                 | 10                 | M (○)                   |
| 7   | <i>m</i> -Aminophenol                 | 0                   | 0                 | NU                 | 50                 |                         |
|     |                                       | 85                  | 100               | NU                 | 10                 | E (*)                   |
| 8   | 3-Aminopyridine                       | 7                   | 19                | NU                 | 100                | H/M (*)                 |
| 9   | 4-Aminopyridine                       | 0                   | 0                 | NU                 | 250                | H (*)                   |
| 10  | Aniline                               | 14                  | 0                 | NU                 | 51                 |                         |
|     |                                       | 6                   | 2                 | OU                 | 40                 |                         |
|     |                                       | 3                   | 3                 | NU                 | 40                 |                         |
|     |                                       | 100                 | -                 | SPC                | 40                 |                         |
|     |                                       | 15                  | -                 | KGU                | 40                 |                         |
|     |                                       | 73                  | 15                | SPC                | 40                 |                         |
|     |                                       | 5 <sup>M</sup>      | 3 <sup>A</sup>    | SPC                | 40                 |                         |
|     |                                       | 54                  | -                 | NU                 | 40                 |                         |
|     |                                       | 14 <sup>M</sup>     | 2 <sup>A</sup>    | NU                 | 40                 |                         |
|     |                                       | 5                   | 0                 | OU                 | 40                 |                         |
| 11  | <i>o</i> -Anisidine                   | 4 <sup>T</sup>      | 0 <sup>E</sup>    | OU                 | 40                 |                         |
|     |                                       | 100 <sup>T</sup>    | 11 <sup>E</sup>   | OU                 | 4                  | H/E                     |
| 12  | <i>m</i> -Anisidine                   | 0                   | 2                 | OU                 | 20                 | H (×)                   |
| 13  | <i>p</i> -Anisidine                   | 37                  | 17                | OU                 | 45                 | M                       |
| 14  | Anthracene                            | 82                  | 2                 | OU                 | 100                | H/E (×)                 |
| 15  | Anthraquinone                         | 44                  | 19                | NU                 | 25                 |                         |
|     |                                       | 11 <sup>T</sup>     | 22                | OU                 | 20                 |                         |
|     |                                       | 9                   | 33                | KGU                | 2                  |                         |
|     |                                       | 59                  | 33                | SPC                | 2                  | H/M/E (×)               |
|     |                                       | 82                  | 91                | SPC                | 10                 | E (○)                   |
| 16  | Benzene                               | 100                 | 11                | SPC                | 20                 |                         |
| 17  | Benzonitrile                          | 15—30               | 15—30             | OU                 | 10                 | M (○)                   |
|     |                                       | 7                   | 0                 | NU                 | 50                 | H (○)                   |
| 18  | Benzyl chloride                       | 53                  | 83                | SPC                | 20                 | E (○)                   |
| 19  | Biphenyl                              | 3                   | 0                 | OU                 | 4                  | H (○)                   |
| 20  | 2-Bromophenol                         | 2                   | 3                 | KGU                | 1                  | H (*)                   |
| 21  | $\beta$ -Bromostyrene                 | 5                   | 6                 | SPC                | 20                 | H (*)                   |
| 22  | 2-Butoxy ethanol                      | 100                 | 41                | SPC                | 20                 | M/E (○)                 |
| 23  | <i>n</i> -Butyl acrylate              | 100                 | 100               | KGU                | 50                 |                         |
|     |                                       | 100                 | 72                | SPC                | 50                 |                         |
|     |                                       | 100                 | 39                | NU                 | 50                 |                         |
|     |                                       | 98                  | 91                | OU                 | 36                 | M/E (○)                 |
| 24  | <i>t</i> -Butyl alcohol               | 0                   | 0                 | KGU                | 50                 |                         |
|     |                                       | 0                   | 14                | OU                 | 40                 |                         |
|     |                                       | 0                   | 1                 | NU                 | 22                 |                         |
|     |                                       | 25                  | 16                | SPC                | 20                 | H/M (×)                 |
| 25  | Butylamine                            | 100                 | 39                | NU                 | 4                  | M/E                     |
| 26  | <i>i</i> -Butyl carbamate             | 3                   | 18                | KGU                | 100                | H/M                     |
| 27  | <i>i</i> -Butyl nitrile               | 100                 | 0                 | NU                 | 20                 | H/E (○)                 |
| 28  | <i>p-t</i> -Butyl phenol              | 11                  | 11                | SPC                | 20                 | H (×)                   |
| 29  | <i>n</i> -Capric acid                 | 100                 | 100               | SPC                | 100                | E                       |

TABLE I. (Continue)

| No. | Chemicals  | River <sup>a)</sup> | Sea <sup>b)</sup> | Inst <sup>c)</sup> | Conc <sup>d)</sup> | Judgement <sup>e)</sup> |
|-----|--|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|
| 30  | Chlorendic acid  | 7                   | 14                | SPC                | 10                 | H (*)                   |
| 31  | Chlorinated paraffins  | 0                   | 7                 | OU                 | 50                 | H                       |
| 32  | <i>m</i> -Chloroaniline  | 53                  | 50                | OU                 | 0.1                | E                       |
| 33  | <i>p</i> -Chloroaniline  | 0                   | 0                 | OU                 | 0.2                | H                       |
| 34  | 2-Chloroanthraquinone  | 75                  | 72                | SPC                | 4                  |                         |
|     |  | 22                  | 54                | SPC                | 2                  | M/E (*)                 |
| 35  | <i>p</i> -Chloronitrobenzene   | 2                   | 55                | KGU                | 5                  | H/E (x)                 |
| 36  | 2-Chloropyridine   | 3                   | 3                 | NU                 | 24                 | H (*)                   |
| 37  | <i>p</i> -Chlorotoluene  | 44                  | 64                | SPC                | 20                 | M/E (*)                 |
| 38  | <i>o</i> -Cresol   | 100                 | 38                | KGU                | 10                 | M/E (o)                 |
| 39  | <i>m</i> -Cresol   | 100                 | 26                | KGU                | 10                 | M/E (o)                 |
| 40  | <i>p</i> -Cresol   | 100                 | 5                 | SPC                | 100                |                         |
|     |  | -                   | 100               | SPC                | 10                 |                         |
|     |  | 100                 | 100               | NU                 | 10                 |                         |
|     |  | 100                 | 100               | OU                 | 10                 |                         |
|     |  | 100                 | 100               | KGU                | 10                 | E (o)                   |
| 41  | Cyclohexanone  | 100                 | 0                 | SPC                | 100                |                         |
|     |  | 100                 | 0                 | NU                 | 50                 |                         |
|     |  | 72                  | 69                | OU                 | 20                 |                         |
|     |  | 83                  | 83                | OU                 | 20                 | E (o)                   |
| 42  | Decabromodiphenyl ether  | 27                  | 4                 | SPC                | 0.5                | H/M (*)                 |
| 43  | Dibenzofran  | 22                  | 12                | SPC                | 20                 | H/M (*)                 |
| 44  | Dibenzyl ether   | 27                  | 40                | SPC                | 2                  | M (*)                   |
| 45  | 1,2-Dibromoethane  | 21                  | 35                | SPC                | 50                 | M (*)                   |
| 46  | Di- <i>n</i> -butyl phthalate (DBP)  | 75                  | 80                | OU                 | 2                  | E (o)                   |
| 47  | Dichloroacetic acid  | 14                  | 8                 | KGU                | 10                 | H (o)                   |
| 48  | 3,4-Dichloroaniline  | 1                   | 2                 | OU                 | 40                 | H (*)                   |
| 49  | <i>o</i> -Dichlorobenzene  | 30-50               | 15-30             | OU                 | 20                 | M (x)                   |
| 50  | <i>p</i> -Dichlorobenzene  | 0                   | 0                 | OU                 | 4                  | H (o)                   |
| 51  | 2,2'-Dichlorodiethyl ether   | 0                   | 0                 | OU                 | 50                 | H (x)                   |
| 52  | 2,2-Dichlorovinyl- <i>O,O</i> -dimethyl sulphate   | 34                  | 98                | OU                 | 5                  | M/E                     |
| 53  | 1,4-Dicyanobenzene   | 15                  | 11                | SPC                | 25                 | H (*)                   |
| 54  | Di-isodecyl phthalate (DIDP)   | 14                  | 30                | OU                 | 100                | H/M (o)                 |
| 55  | Diethanolamine   | 7                   | 56                | NU                 | 5000               | H/E (o)                 |
| 56  | <i>O,O</i> -Diethyl- <i>O</i> -2-isopropyl-6-methyl pyrimidin-4-yl-phosphorothioate (Diazinon) | 34                  | 0                 | OU                 | 30                 |                         |
|     |  | 20                  | 26                | OU                 | 10                 | M (*)                   |
| 57  | Diheptyl phthalate (DHP)   | 16                  | 7                 | OU                 | 100                | H/M (o)                 |
| 58  | Dimethyl amine   | 23                  | 8                 | NU                 | 10                 | H/M (o)                 |
| 59  | Dimethyl aniline   | 14                  | -                 | SPC                | 80                 |                         |
|     |  | 0                   | -                 | NU                 | 80                 |                         |
|     |  | 7                   | 2                 | OU                 | 76                 | H (x)                   |
| 60  | Di-( $\alpha$ -methylbenzyl) phenol  | 8                   | 26                | SPC                | 10                 | H/M                     |
| 61  | 4,4-Dimethyl diphenylamine   | 0                   | 3                 | NU                 | 100                | H (x)                   |
| 62  | <i>N,N</i> -Dimethyl formamide   | 0                   | 10                | OU                 | 100                | H (*)                   |
| 63  | <i>O,O</i> -Dimethyl <i>O</i> -4 nitro- <i>m</i> -tolyl phosphothioate (Fenitrothion)          | 25                  | 33                | OU                 | 5                  | M (*)                   |
| 64  | Dimethyl terephthalate   | 100                 | 27                | SPC                | 50                 |                         |
|     |  | 100                 | 38                | OU                 | 40                 |                         |
|     |  | 100                 | 49                | NU                 | 5                  | M/E (o)                 |
| 65  | Dinitroaniline   | 0                   | 0                 | NU                 | 100                | H                       |
| 66  | 2,6-Dinitrotoluene   | 100 <sup>T</sup>    | 100               | KGU                | 40                 |                         |

TABLE I. (Continue)

| No. | Chemicals  | River <sup>a)</sup> | Sea <sup>b)</sup> | Inst <sup>c)</sup> | Conc <sup>d)</sup> | Judgement <sup>e)</sup> |
|-----|--|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|
|     |  | 100                 | 94                | SPC                | 2                  |                         |
|     |  | 100                 | 83                | NU                 | 1                  |                         |
|     |  | 98 <sup>T</sup>     | 98                | OU                 | 0.4                | E (*)                   |
| 67  | Di- <i>n</i> -octyl phthalate (DOP)                | 11                  | 2                 | OU                 | 100                | H (o)                   |
| 68  | <i>N,N</i> -Diphenyl guanidine                     | 18                  | 9                 | SPC                | 20                 | H/M (x)                 |
| 69  | Diphenyl methane                                   | 0                   | 5                 | KGU                | 10                 | H (*)                   |
| 70  | <i>N,N'</i> -Diphenyl- <i>p</i> -phenylene diamine | 0                   | 13                | KGU                | 50                 | H (*)                   |
| 71  | 2,6-Di- <i>t</i> -butyl- <i>p</i> -cresol          | 30                  | 29                | SPC                | 20                 | M (*)                   |
| 72  | Dodecyl benzene sulfonate (LAS)                    | 100                 | 77                | OU                 | 15                 | E (o)                   |
| 73  | Ethanol  | 34                  | 40                | OU                 | 10                 | M (o)                   |
| 74  | 4-Ethoxy aniline                                   | 46                  | 61                | KGU                | 5                  | M/E (x)                 |
| 75  | 2-Ethoxyethyl alcohol                              | 51                  | 8                 | SPC                | 100                | H/E (o)                 |
| 76  | 2-Ethoxyethyl acetate                              | 81                  | 100               | KGU                | 50                 | E (o)                   |
| 77  | Ethyl acrylate                                     | 100                 | 0                 | SPC                | 100                |                         |
|     |  | 100                 | 61                | NU                 | 40                 |                         |
|     |  | 70                  | 75                | OU                 | 20                 | E (o)                   |
| 78  | <i>N</i> -Ethyl aniline                            | 0                   | 0                 | OU                 | 47                 | H (x)                   |
| 79  | 2-Ethylhexyl alcohol                               | 84                  | 33                | SPC                | 20                 | M/E (o)                 |
| 80  | Epichlorohydrin                                    | 60                  | 8                 | SPC                | 100                | H/E (o)                 |
| 81  | Furfural   | 100                 | 100               | KGU                | 50                 | E (o)                   |
| 82  | Hexabromobenzene                                   | 8                   | 10                | OU                 | 0.5                | H (x)                   |
| 83  | Hexachloroethane                                   | 5                   | 24                | OU                 | 5                  | H/M (*)                 |
| 84  | Hexachlorophene                                    | 30                  | 15                | OU                 | 4                  | M                       |
| 85  | Hexamethylene diamine                              | 4                   | 10                | OU                 | 50                 | H (o)                   |
| 86  | Hexamethylene tetramine                            | 70                  | 1                 | KGU                | 50                 | H/E (o)                 |
| 87  | 4-(4-Hexylphenyl)-benzotrile                       | 34                  | 0                 | OU                 | 30                 | H/M (*)                 |
| 88  | Isocyanuric acid                                   | 13                  | 13                | NU                 | 25                 | H (*)                   |
| 89  | Isophthalic acid                                   | 5                   | 13                | KGU                | 50                 | H (o)                   |
| 90  | Maleic anhydride                                   | 15                  | 2                 | KGU                | 100                | H (o)                   |
| 91  | 2-Mercaptobenzimidazole                            | 0                   | 7                 | KGU                | 20                 |                         |
|     |  | 0                   | 0                 | KGU                | 20                 | H (*)                   |
| 92  | 2-Mercaptobenzothiazole                            | 0                   | 0                 | NU                 | 20                 |                         |
|     |  | 3                   | 21                | SPC                | 20                 |                         |
|     |  | 11                  | 41                | KGU                | 20                 |                         |
|     |  | 12                  | 10                | OU                 | 20                 | H/M (x)                 |
| 93  | 3-Methoxy- <i>n</i> -butyl acetate                 | 89                  | 100               | KGU                | 50                 | E (o)                   |
| 94  | 3-Methoxy- <i>n</i> -butyl alcohol                 | 68                  | 31                | SPC                | 20                 | M/E (o)                 |
| 95  | <i>N</i> -Methylaniline                            | 1                   | 2                 | OU                 | 40                 | H (*)                   |
| 96  | Methyl isobutyl ketone                             | 51                  | 94                | OU                 | 40                 |                         |
|     |  | 75                  | 40                | OU                 | 10                 |                         |
|     |  | 100                 | 55                | OU                 | 8                  | M/E (o)                 |
| 97  | Methyl carbamate                                   | 19                  | 18                | KGU                | 100                | M                       |
| 98  | Methyl ethyl ketone                                | 85—100              | 30—50             | OU                 | 10                 | M/E                     |
| 99  | Methyl methacrylate                                | 100                 | 100               | SPC                | 20                 | E (o)                   |
| 100 | 2-Methylpyridine                                   | 0                   | 0                 | NU                 | 200                | H (o)                   |
| 101 | Methyl sorbate                                     | 0—15                | 5—30              | OU                 | 0.4                | H/M                     |
| 102 | 2-Methylstyrene                                    | 77                  | 81                | SPC                | 20                 | E (*)                   |
| 103 | Monochloroacetic acid                              | 0                   | 0                 | KGU                | 10                 | H                       |
| 104 | Monoethanolamine                                   | 15                  | 65                | NU                 | 1000               | M/E (o)                 |
| 105 | Naphthalene  | 100                 | 0                 | NU                 | 23                 | H/E (*)                 |
| 106 | 2-Naphthol   | 100                 | 15                | NU                 | 101                | M/E (o)                 |
| 107 | 2-Naphthylamine-1-sulfonic acid                    | 24                  | 6                 | NU                 | 10                 | H/M (x)                 |

TABLE I. (Continue)

| No. | Chemicals                              | River <sup>a)</sup> | Sea <sup>b)</sup> | Inst <sup>c)</sup> | Conc <sup>d)</sup> | Judgement <sup>e)</sup> |
|-----|--|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|
| 108 | <i>p</i> -Nitroaniline                 | 5                   | 4                 | OU                 | 5                  | H (×)                   |
| 109 | <i>o</i> -Nitroanisole                 | 20                  | 16                | NU                 | 40                 |                         |
|     |  | 0                   | 2                 | NU                 | 11                 | H (×)                   |
| 110 | Nitrobenzene                           | 0                   | 13                | NU                 | 50                 | H (×)                   |
| 111 | 3-Nitroresol                           | 6                   | 19                | KGU                | 20                 | H/M (*)                 |
| 112 | <i>m</i> -Nitrophenol                  | 36                  | 35                | SPC                | 100                | M                       |
| 113 | <i>p</i> -Nitrophenol                  | 23                  | 14                | KGU                | 50                 | H/M (×)                 |
| 114 | 4-Nitrophenyl methyl ether             | 79                  | 64                | KGU                | 5                  | E (×)                   |
| 115 | <i>o</i> -Nitrotoluene                 | 1                   | 0                 | OU                 | 45                 | H (×)                   |
| 116 | <i>p</i> -Nitrotoluene                 | 8                   | 2                 | NU                 | 1.1                |                         |
|     |  | 1                   | 0                 | NU                 | 1.1                | H (*)                   |
| 117 | <i>n</i> -Nonacosane                   | 95                  | 97                | SPC                | 2                  | E (○)                   |
| 118 | Nonyl phenol                           | 3                   | 2                 | NU                 | 54                 | H (*)                   |
| 119 | Octyl acrylate                         | 98                  | 98                | OU                 | 20                 | E (○)                   |
| 120 | Pentachlorobenzene                     | 15                  | 18                | SPC                | 8                  |                         |
|     |  | 3                   | 0                 | KGU                | 3                  |                         |
|     |  | 0                   | 2                 | NU                 | 0.1                |                         |
|     |  | 0                   | 0                 | OU                 | 0.1                | H (*)                   |
| 121 | Penta erythritol                       | 12                  | 67                | OU                 | 20                 | H/E (×)                 |
| 122 | Phenanthrene                           | 10                  | 12                | NU                 | 25                 | H (○)                   |
| 123 | Phenol                                 | 100                 | 26                | NU                 | 25                 | M/E (○)                 |
| 124 | Phenylacetonitrile                     | 11                  | 18                | OU                 | 100                | H/M (○)                 |
| 125 | 1-Phenyl-1-(3,4-dimethylphenyl)-ethane | 13                  | 15                | OU                 | 50                 | H (○)                   |
| 126 | 1-Phenylethylamine                     | 2                   | 13                | KGU                | 100                | H (*)                   |
| 127 | Phenylhydrazine                        | 0                   | 0                 | NU                 | 50                 | H                       |
| 128 | Piperazine                             | 20                  | 77                | NU                 | 20                 | M/E (*)                 |
| 129 | Piperidine                             | 86                  | 21                | NU                 | 4.3                | M/E (○)                 |
| 130 | Polychlorinated biphenyls (PCB)        | 0                   | 9                 | OU                 | 0.8                | H (×)                   |
| 131 | Polyvinyl alcohol                      | 81                  | 79                | KGU                | 50                 | E (*)                   |
| 132 | Isopropyl alcohol                      | 15-30               | 15-30             | OU                 | 10                 | M                       |
| 133 | Isopropylbenzene                       | 0                   | 0                 | OU                 | 40                 | H (○)                   |
| 134 | Propyl carbamate                       | 0                   | 0                 | KGU                | 100                | H                       |
| 135 | Pyrrole                                | 29                  | 13                | SPC                | 100                |                         |
|     |  | 0                   | 0                 | NU                 | 50                 |                         |
|     |  | 38                  | 37                | OU                 | 20                 | M (○)                   |
| 136 | Quinoline                              | 100                 | 0                 | NU                 | 55                 | H/E (*)                 |
| 137 | Resorcin                               | 1                   | 9                 | KGU                | 10                 | H (○)                   |
| 138 | Salicylic acid                         | 96                  | 98                | OU                 | 60                 |                         |
|     |  | 12                  | 88                | KGU                | 10                 | H/E (○)                 |
| 139 | Sorbic acid                            | 100                 | 100               | OU                 | 60                 | E (○)                   |
| 140 | Styrene                                | 100                 | 10                | SPC                | 20                 | H/E (○)                 |
| 141 | Terephthalic acid                      | 3                   | 4                 | OU                 | 2                  | H (○)                   |
| 142 | Terphenyl                              | 20                  | 10                | NU                 | 50                 | H/M (*)                 |
| 143 | 1,2,3,4-Tetrahydronaphthalene          | 15                  | 8                 | OU                 | 50                 | H/M (×)                 |
| 144 | <i>o</i> -Toluidine                    | 14                  | 5                 | OU                 | 100                | H (○)                   |
| 145 | 2,4,6-Tribromophenol                   | 82                  | 9                 | SPC                | 10                 | H/E (○)                 |
| 146 | Tri- <i>n</i> -butyl phosphate         | 0                   | 0                 | KGU                | 50                 |                         |
|     |  | 3                   | 0                 | NU                 | 10                 |                         |
|     |  | 8                   | 9                 | OU                 | 5                  |                         |
|     |  | 28 <sup>T</sup>     | 2 <sup>E</sup>    | OU                 | 5                  | H/M (×)                 |
| 147 | 1,2,4-Trichlorobenzene                 | 0                   | -                 | SPC                | 4                  |                         |
|     |  | 0                   | -                 | NU                 | 4                  |                         |

TABLE I. (Continue)

| No. | Chemicals   | River <sup>a)</sup> | Sea <sup>b)</sup> | Inst <sup>c)</sup> | Conc <sup>d)</sup> | Judgement <sup>e)</sup> |
|-----|---|---------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|
| 148 | 1,3,5-Trichlorobenzene  | 14                  | 15                | OU                 | 4                  | H/M (*)                 |
|     |   | 1                   | -                 | SPC                | 4                  |                         |
|     |   | 0                   | -                 | NU                 | 4                  |                         |
|     |   | 4                   | 9                 | OU                 | 4                  | H (×)                   |
| 149 | Trichloroisocyanuric acid   | 13                  | 13                | NU                 | 10                 | H (×)                   |
| 150 | 2,4,6-Trichloronitrobenzene   | 18                  | 2                 | OU                 | 100                |                         |
|     |   | 9                   | 0                 | KGU                | 1                  | H (*)                   |
| 151 | 2,4,6-Trichlorophenol   | 0                   | 0                 | NU                 | 2                  | H (○)                   |
| 152 | 2,4,6-Trichlorophenyl 4'-nitrophenyl ether                              | 33                  | 59                | KGU                | 1                  | M/E                     |
| 153 | O-3,5,6-Trichloro-2-pyridyl O,O-diethyl phosphorothioate (Chlorpyrifos) | 23                  | 13                | OU                 | 5                  | H/M                     |
| 154 | O-Tricresyl phosphate   | 0                   | 0                 | OU                 | 10                 |                         |
|     |   | 1                   | 0                 | OU                 | 10                 | H (○)                   |
| 155 | 1-Tridecyl alcohol  | 100                 | 97                | SPC                | 2                  | E (○)                   |
| 156 | Triethanolamine   | 3                   | 13                | NU                 | 485                | H (*)                   |
| 157 | Trimethylamine  | 39                  | 0                 | NU                 | 10                 | H/M (○)                 |
| 158 | Tri-( $\alpha$ -methylbenzyl) phenol                                    | 27                  | 30                | SPC                | 10                 | M (*)                   |
| 159 | 1,5,5-Trimethyl cyclohexene-3-one                                       | 0                   | 11                | SPC                | 25                 | H (×)                   |
| 160 | Tris-(1,3-dichloro-2-propyl)-phosphate                                  | 19                  | 14                | SPC                | 20                 | H/M                     |
| 161 | Tris-(2-ethylhexyl) phosphate   | 26                  | 24                | OU                 | 5                  | M (*)                   |
| 162 | 2,4,6-Tri- <i>t</i> -butylphenol  | 44                  | 17                | SPC                | 2                  | M                       |
| 163 | Urethan   | 0                   | 0                 | KGU                | 100                | H                       |
| 164 | <i>o</i> -Xylene  | 24                  | 21                | SPC                | 20                 | M (○)                   |
| 165 | <i>m</i> -Xylene  | 100                 | 31                | SPC                | 10                 | M/E (○)                 |
| 166 | <i>p</i> -Xylene  | 100                 | 35                | SPC                | 20                 |                         |
|     |   | 53                  | 11                | SPC                | 20                 | H/M/E (○)               |
| 167 | <i>o</i> -Xylenol   | 100                 | 54                | SPC                | 20                 | E (○)                   |
| 168 | <i>m</i> -Xylenol   | 20                  | 4                 | SPC                | 20                 | H/M (○)                 |
| 169 | <i>p</i> -Xylenol   | 4                   | 1                 | SPC                | 20                 | H (○)                   |
| 170 | Xylidine  | 59                  | 19                | OU                 | 60                 | M/E (*)                 |

Values in columns of River and Sea are degradation percentage of chemicals after 3 day-cultivation.

a) Water from Mino River for institutes OU and KGU, and Tama River for NU and SPC, except the case marked (T: Tama River, M: Mino River).

b) Water from Akashi Beach for institutes OU and KGU, and Enoshima Beach for NU and SPC, except the case marked (E: Enoshima Beach, A: Akashi Beach).

c) Institute (OU: Osaka University, KGU: Kobe Gaku-In University, NU: Nihon University, SPC: Showa Pharmaceutical College).

d) Concentration of test chemicals, ppm.

e) Judgement of degradability by our cultivation method (H: Hard, M: Moderate, E: Easy-of-degradability); ( ): Judgement by MITI method (×: Hard, ○: Easy-of-degradability, \*: Chemicals with no degradation test but with the accumulation test).<sup>3)</sup>

ある場合は低濃度の方の結果を用いて判定し、河川水と海水の間あるいは採水地域や時期により、結果に差があった場合は M/E や H/M などのように表わした。

MITI 法による結果は、難分解性は×、易分解性は○と表わし、分解性テストを行わず、蓄積性テストのみを行っている化学物質は\*マークを付した。

### 結果及び考察

#### 1. 培養法による化学物質の生分解性評価

今回、培養法によりテストした 170 物質についての結果 (3 日後の分解率%) を Table I に示した。同一物

質についての複数のデータは実施機関、実施時期、あるいは供試濃度が異なる場合であり、Judgement 欄にはそれぞれの物質についての判定結果 (H, M, E) を、( ) 中の MITI 法による結果と併せて示した。まず、供試濃度による差がいくつかの物質について見られたが、一般的には濃度の低い方が分解率が高かった。本報では環境中の濃度は低いと考え、2 倍以上の濃度差があった場合は低濃度の方の値を用いて評価した。その結果、170 物質中 155 物質については H, M, E または H/M, M/E となり、比較的安定した評価が得られた。評価が

H/M/E あるいは H/E となった, すなわち, 採水地域や時期による差が大きかった物質は15物質であった. そのうち, 河川の違いによると推定されたのは aniline と anthracene の2物質のみであり, 残りの13物質はすべて河川と海水の結果の相違によるものであった. また, これらのうち, 河川水の方が海水より分解性が良かったのは10物質 (*p*-anisidine, isobutyronitrile, 2-ethoxyethyl alcohol, epichlorohydrin, hexamethylene tetramine, naphthalene, quinoline, styrene, 2,4,6-tribromophenol, *p*-xylene) で, 逆のケースは3物質 (*p*-chloronitrobenzene, diethanolamine, penta erythritol) と少なく, 一般的に河川水の方が分解性は良好であった. これは高塩分濃度による化学物質の溶解状態の変化などの物理的要因によることも考えられるが, それよりもむしろ, 河川水と海水のマイクロフローが異なり, また, 河川の方が海洋より高濃度の化学物質汚染を経験する機会が多いのでそこに生息する微生物にはそれらの化学物質を分解できる菌群が多くなり, また1菌体当りの分解活性も上昇している. いわゆる順化が進んでいるためと考える方が妥当であろう.

aniline は MITI 法で微生物源となる活性汚泥の順化のための基準物質に使用されている<sup>2)</sup> が, 上述のように河川により差があり, 比較的化学物質による汚染が進行していると考えられる河川の方が培養法による aniline の生分解性が高いこと<sup>4)</sup> や, 河川底質などの環境中から検出されたこともあり,<sup>5)</sup> 非汚染地区の環境水中では難分解性物質と考えられることから, 培養法では基準物質として使うことが不相当であった.

## 2. 培養法と MITI 法の判定結果の比較

本テスト法の目的が難分解性物質のスクリーニングであることから, すべての物質について分解性の低い方の値を採用し, すなわち, Table I の Judgement 欄の左端の評価を用い, 例えば, H/M では H として判定し, MITI 法での結果<sup>3)</sup> と比較した (Table II). その結果, 170物質中, 培養法で H は 103物質 (61%), M は 43物質 (25%), E は 24物質 (14%) であったのに対し, MITI 法では分解性テストの結果が報告されている99物質中, ×が30物質 (30%), ○が69物質 (70%) であり, 分解性テスト未実施71物質中で蓄積性テストを実施している\*物質 (46物質) を化学構造等から難分解性の可能性が高いため分解性テストを行わずに蓄積性テストのみを実施したと推察し, ×と解釈して集計しても×が52% (76物質) となり, 培養法の方が厳しい結果となった.

更に, 詳細に相互の関係をみると, 培養法で H で, MITI 法で×と一致したものが, 蓄積性もあり, 化審法

TABLE II. Comparison between Results of Biodegradation Test by Our Cultivation Method and MITI Method

| MITI method | Cultivation method |          |      |        |
|-------------|--------------------|----------|------|--------|
|             | Hard               | Moderate | Easy | Total  |
| × (Hard)    | 26(57)             | 2(14)    | 2(5) | 30(76) |
| ○ (Easy)    | 33                 | 19       | 17   | 69     |
| Not-tested  | 44(13)             | 22(10)   | 5(2) | 71(25) |
| Total       | 103                | 43       | 24   | 170    |

Values are numbers of chemicals.

( ): When counted the chemicals (\* in Table I) which had no degradation test but the accumulation test as "×" (Hard-of-degradability) in MITI method.<sup>3)</sup>

でも第一種特定物質に指定されている PCB を含めて26物質 (\*を含めると57物質), 同じく培養法で E, MITI 法で○は acrylic acid ester 類など17物質であった. 一方, acetoanilide など33物質は MITI 法では○であるが, 培養法では H と厳しく判定された. これに対して, MITI 法で×の30物質 (\*を含めると76物質) 中, 培養法で E は 2,6-dinitrotoluene, 4-nitrophenyl methyl ether の2物質 (\*を含めると5物質) のみであり, 培養法で M も *o*-dichlorobenzene, 4-ethoxyaniline の2物質 (\*を含めると14物質) のみと, より甘い判定されたのは少数であった. これらの甘い判定された物質に関しては“分解”の意味が培養法では“他物質への変化”であるのに対し, MITI 法では“完全無機化”と異なることから, 分解中間産物の蓄積などが推察された. この分解の意味の差だけをとりあげれば, 培養法は MITI 法より甘い判定となるはずであり, 各供試物質毎に分析法を選択, あるいは開発・確立しなければならないこととともに, 培養法の短所である. しかし, “完全無機化”で分解率を求めようとするならば有機栄養分を添加する培養法は不可能であり, 更にまた, テスト期間の短縮, 適用物質の拡大, 供試濃度の低下も図れないことになる. したがって, 結果的に培養法の方が厳しい評価となったのは使用する微生物源が一般環境水と順化した下水処理場の活性汚泥の上清と大きく異なったためと考えられた.

以上から, 活性汚泥を長期間順化し, 更にテストに28日間を要し, 高価な BOD 自動測定装置などを必要とする MITI 法に比べて, 培養法は簡便, 迅速, 安価に行えるなどの長所から, スクリーニング・テスト法としては十分利用できると言えよう. すなわち, 環境中でモニタリングすべき難分解性物質のプライオリティ・リストの作成等に有用であると考えられる.

### 結 論

化学物質の水中微生物による生分解性をテストする培養法を170物質について実施した。その結果、難分解性、中等度分解性、易分解性と判定されたのはそれぞれ103, 43, 24物質であり、微生物源として用いた河川水の違いや河川水と海水の違いにより結果の評価に大差がみられた物質は数少なかった。MITI法の結果と比較す

ると、判定結果は培養法の方が厳しかった。また、適用物質の範囲が広く、簡便で、短期間に安価に行えるなどの長所からスクリーニング・テスト法として有用であることがわかった。

**謝辞** 本研究の一部は環境庁公害防止等調査研究委託費によって行ったものである。

### 引用文献

- 1) 近藤雅臣, 西原 力, 島本隆光, 渡部一仁, 藤井正美, 衛生化学, **34**, 115 (1988).
- 2) OECD, "OECD Guidelines for Testing of Chemicals," Paris, 1981; 通商産業省基礎産業局化学品安全課(監) "OECD 化学品テストガイドライン," 301 C 修正 MITI 試験, 第一法規出版, 東京, 1981.
- 3) 通商産業省基礎産業局化学品安全課(監), "化審法 既存化学物質ハンドブック 第4版," 化学工業日報社, 東京, 1986; 通商産業省公報, 既存化学物質点検結果.
- 4) 後藤 操, 西原 力, N. Gunawardena, 島本隆光, 近藤雅臣, 日本防菌防黴学会 第13回年次大会要旨集, 北里大学, 1986年5月, p.38; T. Nishihara, I. Matsuno, F. Kugawa, H.I. El-Belbasi, M. Kondo, *J. Antibact. Antifung. Agents Jpn.*, **15**, 101 (1987).
- 5) 環境庁保健調査室(編), "昭和52年度版ケミカルアセスメント, 環境における化学物質の存在," 1977.