

平成24年4月2日
薬食発0402第1号
平成24・03・28製局第2号
環境企発第120402001号

厚生労働省医薬食品局長

経済産業省製造産業局長

環境省総合環境政策局長

「新規化学物質等に係る試験の方法について」の一部改正について

「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成23年3月31日薬食発0331第7号厚生労働省医薬食品局長、平成23・03・29製局第5号経済産業省製造産業局長、環境企発第110331009号環境省総合環境政策局長連名通知）」（以下「連名通知」という。）の一部を下記のとおり改正し、平成24年7月1日から施行する。

なお、平成24年6月30日以前に開始された試験であって、本改正前の連名通知に規定する試験の方法に基づき行われたものの取扱いについては、なお従前の例によることができるものとする。

記

- 1 別添<微生物等による化学物質の分解度試験>を別紙1のとおり改める。

2 別添〔様式4〕から〔様式6〕を別紙2のとおり改める。

＜微生物等による化学物質の分解度試験＞

I 適用範囲

ここでは、微生物等による化学物質の分解度試験の標準となるべき方法について規定する。

II 用語

この試験法において使用する用語は、日本工業規格（以下「JIS」という。）において使用する用語の例による。

III 活性汚泥の調製

1 汚泥採集場所

全国的な地域分布を考慮の上、多種類の化学物質が消費、廃棄されるとみられる場所を中心に全国十カ所以上とする。

2 汚泥採集回数

年間4～6回とする。

3 汚泥採集方法

3-1 都市下水 下水処理場の返送汚泥 1L

3-2 河川、湖沼又は海 表層水 1L 及び大気と接触している波打際の表土 1L

4 調製

各所から集めた汚泥を一つの容器内で混合かくはんして静置したのち浮んだ異物を除去し、上澄液を No.2 ろ紙を用いてろ過する。ろ液の pH を水酸化ナトリウム又はりん酸で 7.0 ± 1.0 に調整し、培養槽に移してばっ気する。

5 培養

4によって得られた液のばっ気を約 30 分間止めたのち、全量の約 3 分の 1 量の上澄液を除去し、これと等量の 0.1% 合成下水^(注1)を加えて再びばっ気する。この操作を毎日 1 回繰り返す。培養温度は、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ とする。

(注 1) 0.1% 合成下水

グルコース、ペプトン、りん酸二水素一カリウムおのおの 1g を水 1L に溶解し、水酸化ナトリウムで pH を 7.0 ± 1.0 に調整したもの

6 管理

培養段階での管理は、次の項目を点検し、所要の調製を行う。

6-1 上澄液の外観 活性汚泥の上澄液は透明であること。

6-2 活性汚泥の沈でん性 フロックが大きく、沈でん性がすぐれていること。

6-3 活性汚泥の生成状態 フロックの増加が認められない場合には 0.1% 合成下水の添加量又は添加回数を増やすこと。

6-4 pH 上澄液の pH は、 7.0 ± 1.0 であること。

- 6-5 温度 活性汚泥の培養温度は、 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ であること。
- 6-6 通気量 上澄液と合成下水を交換する時点において、培養槽内の液中溶存酸素濃度が少なくとも 5mg/L 以上となるように十分通気すること。
- 6-7 活性汚泥の生物相 活性汚泥を顕微鏡（100～400 倍）で観察したとき、雲状のフロックとともに種々の原生動物が多数見られること。

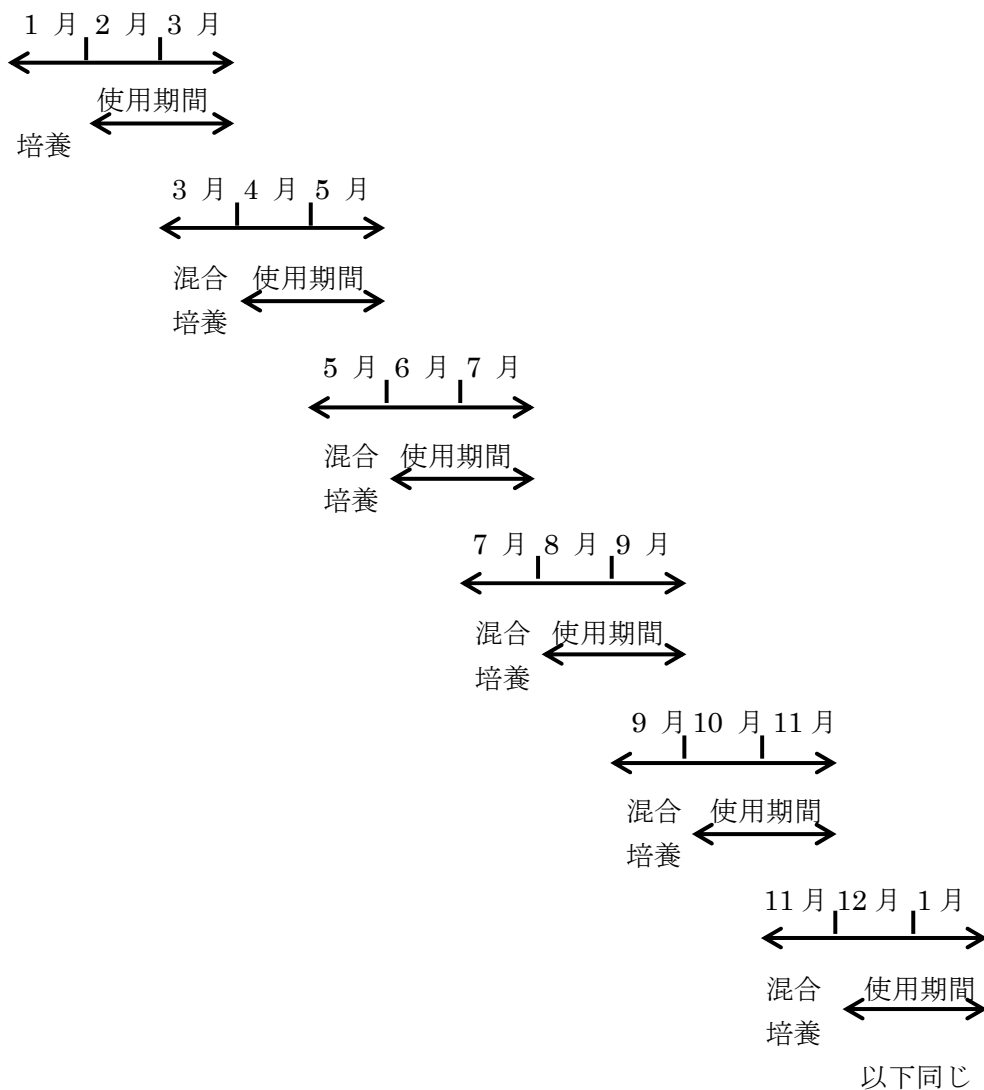
7 新旧活性汚泥の混合

新旧活性汚泥の均一性を保つため、現に試験に供している活性汚泥の上澄液のろ液と新たに採集してきた汚泥の上澄液のろ液との等量を混合し、培養する。

8 活性汚泥の活性度の点検

標準物質を用いて少なくとも 3 ヶ月に 1 回定期的に活性度を点検する。試験法はIVに準ずる。特に、新旧活性汚泥を混合したときは、旧活性汚泥との関連性に留意する。

[活性汚泥の調製と使用期間の例（年間6回採集の場合）]



IV 試験方法

1 分解度試験装置

閉鎖系酸素消費量測定装置

2 基礎培養基

JIS K0102-2008 の 21 で定められた組成のA液、B液、C液及びD液それぞれ 3 ml に水を加えて 1L とする。

3 被験物質の添加及び試験の準備

次の試験容器（各 300ml）を準備し、これらを試験温度に調整する。なお、被験物質が水に試験濃度まで溶解しない場合は、可能な限り微粉碎したものをを用い、溶媒や乳化剤は使用しない。

3-1 水に被験物質が 100mg/L となるように添加したものを入れた試験容器 1 個

3-2 基礎培養基に被験物質が 100mg/L となるように添加したものを入れた試験容器 3 個

3-3 基礎培養基にアニリンが 100mg/L となるように添加したものを入れた試験容器 1 個

3-4 基礎培養基のみを入れた試験容器 1 個

4 活性汚泥の接種

3-2、3-3 及び 3-4 の試験容器に JIS K0102-2008 の 14.1 で定められた懸濁物質濃度が 30mg/L になるように活性汚泥を接種する。ただし、3-2 については必要な場合には接種の前に溶液の pH を 7.0 に調整する。なお、活性汚泥は合成下水を添加してから 18~24 時間後のものを使用する。

5 分解度試験の実施

遮光した条件のもとで 25±1℃ で十分かきまぜながら一定期間^(注2) 培養し、酸素消費量の変化を経時的に測定する。

一定期間培養した後、残留する被験物質と変化物を分析に供し、その量を測定する。被験物質が水に溶解する場合は、溶存有機炭素の残存量も測定する。また、試験液の pH を測定する。

(注2) 通常は 28 日間とする。

6 試験結果の算出方法

6-1 試験条件の確認

試験終了時の被験物質の分解度の最大値と最小値の差が 20% 未満であり、酸素消費量から求めた IV の 3-3 のアニリンの分解度が 7 日後に 40% を超えかつ 14 日後に 65% を超えるときは、この試験は有効とする。

6-2 酸素消費量から分解度 (%) を算出する方法

$$\text{分解度 (\%)} = \frac{\text{BOD} - \text{B}}{\text{TOD} \text{ (注3)}} \times 100$$

BOD：被験物質の生物化学的酸素消費量（測定値）(mg)

B：基礎培養基に活性汚泥を接種したものの酸素消費量（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（計測値）（mg）

（注3）窒素を含む被験物質が分解した場合、硝化の程度に応じた TOD を算出する。

6-3 直接定量^(注4)から分解度（%）を算出する方法

$$\text{分解度（\%）} = \frac{S_B - S_A}{S_B} \times 100$$

S_A：分解度試験終了後の被験物質の残留量（測定値）（mg）

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

（注4）直接定量による化学分析法

① 全有機炭素分析計を用いる場合

試験容器から試験液を適量分取し、これを約 40,000m/s²で 15 分間遠心分離又はろ過（0.45 μ m）し、その上澄液又はろ液から適量を分取して全有機炭素分析計により残存する溶存有機炭素を定量する。

② その他の分析計を用いる場合

試験容器内の内容物を被験物質等に適した溶剤により抽出、濃縮等適切な前処理を行った後分析機器等による定量分析を行う。この場合、原則として JIS に規定された分析法通則（ガスクロマトグラフ分析法、吸光光度分析法、質量分析法、原子吸光分析法等）に従い分析を行う。

V 結果のまとめ

試験の結果を様式 1 によりまとめ、最終報告書を添付するものとする。

[様式 4]

哺乳類を用いる28日間の反復投与毒性試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC命名法による)			
別名			
CAS番号			
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合はその製法の概要)			
分子量			
試験に供した新規化学物質の純度 (%)			
試験に供した新規化学物質のロット番号			
不純物の名称及び含有率			
蒸気圧			
対水溶解度			
1-オクタノール/水分配係数			
融点			
沸点			
常温における性状			
安定性			
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性

2. 急性毒性試験又は反復投与予備試験等

試験 No.	試験の種類 及び期間	動物種	1群当たり の動物数	投与 経路	投与量 (mg/kg)	概略の致死量 又はNOAEL* (mg/kg)	実験場所

*NOAEL : No-Observed- Adverse- Effect-Level

3. 28日間反復投与毒性試験

被験物質投与期間			平成 年 月 日より平成 年 月 日											
使用動物種・系統			1群当たりの動物数											
投与経路 (経口投与の溶媒)			投与群 雄 匹		雌 匹		回復群 雄 匹		雌 匹					
被験物質 の純度 **. **%	投与 量	mg/kg	投与期								回復期			
			対照群 0		低用量群 *		中用量群 **		高用量群 ***		対照群 0		高用量群 ***	
			♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
死亡														
体重変化														
摂餌量														
一般状態														
機能検査所見														
尿所見														
血液学的所見														
血液生化学的 所 見														
血中ホルモン 所 見														
肉眼的所見														
器官重量 (絶対重量)														
器官重量 (相対重量)														
病理組織学的 所 見														
性周期														
その他														
NOAEL (mg/kg)		mg/kg/day												
NOAELの推定根拠とした 変化														
[備考]														

4. その他

試験実施施設	名称	
	所在地	
試験責任者	職氏名	
	経験年数	
試験番号		
試験期間		

本様式の作成責任者	所属	
	氏名	

[様式5]

哺乳類を用いる反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC命名法による)			
別名			
CAS番号			
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合はその製法の概要)			
分子量			
試験に供した新規化学物質の純度(%)			
試験に供した新規化学物質のロット番号			
不純物の名称及び含有率			
蒸気圧			
対水溶解度			
1-オクタノール/水分配係数			
融点			
沸点			
常温における性状			
安定性			
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性

2. 急性毒性試験又は反復投与予備試験等

試験 No.	試験の種類 及び期間	動物種	1群当たり の動物数	投与 経路	投与量 (mg/kg)	概略の致死量 又はNOAEL* (mg/kg)	実験場所

*NOAEL : No-Observed- Adverse- Effect-Level

3. 反復投与毒性に係る結果

被験物質投与期間		平成 年 月 日より平成 年 月 日															
使用動物種・系統		1群当たりの動物数															
投与経路 (経口投与の溶媒)		投与群		雄		雌		匹		非交配群		雌		匹			
回復群		雄		雌		匹		雌		匹							
被験物質 の純度 **.*%	投 与 量 mg/kg	投与期								回復期							
		対照群		低用量群		中用量群		高用量群		非交配群		対照群		高用量群			
		0		*		**		***		0		***		0		***	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♀	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
死亡																	
体重変化																	
摂餌量																	
一般状態																	
機能検査所見																	
尿所見																	
血液学的所見																	
血液生化学的 所見																	
血中ホルモン 所見																	
肉眼的所見																	
器官重量 (絶対重量)																	
器官重量 (相対重量)																	
病理組織学的 所見																	
その他																	
NOAEL (mg/kg)	mg/kg/day																
NOAELの推定根拠とした 変化																	
[備考]																	

4. 生殖発生毒性に係る結果

被験物質投与期間		平成 年 月 日より平成 年 月 日						
使用動物種・系統		1群当たりの動物数						
投与経路 (経口投与の溶媒)		投与群				雄	匹	
						雌	匹	
被験物質 の純度 **.*%	投与 量	mg/kg	投与期					
			対照群 0	低用量群 *	中用量群 **	高用量群 ***		
		♂ ♀		♂ ♀		♂ ♀		
性周期								
妊娠期間								
交尾率								
着床率								
受胎率								
出産率								
生後0日生存率								
生後4日生存率								
性比 (計算式)								
新生児体重	(0日)							
新生児体重	(4日)							
外表異常								
内臓異常								
その他								
NOAEL (mg/kg)		mg/kg/day						
NOAELの推定根拠とした 変化								
[備考]								

交尾率[Copulation Index] : (交尾成立動物数 / 交配動物数) X 100

着床率[Implantation Index] : (着床数 / 黄体数) X 100

受胎率[Fertility Index] : (妊娠動物数 / 交尾動物数) X 100

出産率[Delivery Index] : (生存児出産雌数 / 妊娠雌数) X 100

生後0日生存率[Viability Index on Day 0] : (生後0日生存児数 / 出産児数) X 100

生後4日生存率[Viability Index on Day 4] : (生後4日生存児数 / 出產生児数) X 100

性比 : 計算式を記載してください

外表異常・内臓異常等 : 雌雄別に観察していない場合はまとめて記載しても差し支えありません

5. その他

試験実施施設	名称	
	所在地	
試験責任者	職氏名	
	経験年数	
試験番号		
試験期間		

本様式の作成責任者	所属	
	氏名	

[様式6]

哺乳類を用いる簡易生殖発生毒性試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC命名法による)			
別名			
CAS番号			
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合はその製法の概要)			
分子量			
試験に供した新規化学物質の純度(%)			
試験に供した新規化学物質のロット番号			
不純物の名称及び含有率			
蒸気圧			
対水溶解度			
1-オクタノール/水分配係数			
融点			
沸点			
常温における性状			
安定性			
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性

2. 急性毒性試験又は反復投与予備試験等

試験 No.	試験の種類 及び期間	動物種	1群当たり の動物数	投与 経路	投与量 (mg/kg)	概略の致死量 又はNOAEL* (mg/kg)	実験場所

*NOAEL : No-Observed- Adverse- Effect-Level

3. 簡易生殖発生毒性試験

被験物質投与期間			平成 年 月 日より平成 年 月 日							
使用動物種・系統			1群当たりの動物数							
投与経路 (経口投与の溶媒)			投与群 雄 匹 雌 匹							
被験物質 の純度 **, %	投与 量	mg/kg	投与期							
			対照群 0		低用量群 *		中用量群 **		高用量群 ***	
			♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
死亡										
体重変化										
摂餌量										
一般状態										
器官重量 (絶対重量)										
器官重量 (相対重量)										
病理組織学的 所 見										
性周期										
妊娠期間										
交尾率										
着床率										
受胎率										
出産率										
生後0日生存率										
生後4日生存率										
性比 (計算式)										
新生児体重 (0日)										
新生児体重 (4日)										
外表異常										
内臓異常										
その他										
NOAEL (mg/kg)		mg/kg/day								
NOAELの推定根拠とした 変化										
[備考]										

交尾率[Copulation Index] : (交尾成立動物数 / 交配動物数) X 100

着床率[Implantation Index] : (着床数/黄体数) X 100

受胎率[Fertility Index] : (妊娠動物数/交尾動物数) X 100

出産率[Delivery Index] : (生存児出産雌数/妊娠雌数) X 100

生後0日生存率[Viability Index on Day 0] : (生後0日生存児数/出産児数) X 100

生後4日生存率[Viability Index on Day 4] : (生後4日生存児数/出產生児数) X 100

性比 : 計算式を記載してください

外表異常・内臓異常等 : 雌雄別に観察していない場合はまとめて記載しても差し支えありません

4. その他

試験実施施設	名称	
	所在地	
試験責任者	職氏名	
	経験年数	
試験番号		
試験期間		

本様式の作成責任者	所属	
	氏名	