



最 終 報 告 書

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12- ドデカメチルシクロヘキサシロキサン
(被験物質番号 K-1843) の微生物による分解度試験

(試験番号 : 205180)

2010 年 2 月

財団法人化學物質評価研究機構

本文書は正本を正確に電子化したものです。

財団法人 化學物質評価研究機構 久留米事業所

2010 年 2 月 19 日

試験責任者



最 終 報 告 書

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12- ドデカメチルシクロヘキサシロキサン
(被験物質番号 K-1843) の微生物による分解度試験

(試験番号 : 205180)

2010 年 2 月

財団法人化学会物質評価研究機構

陳述書

財団法人化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 経済産業省

試験の表題 2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12- ドデカメチルシクロヘキサシロキサン（被験物質番号 K-1843）の微生物による分解度試験

試験番号 205180

上記試験は以下の GLP に従って実施したものです。

- (1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成 15 年 11 月 21 日、薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正）に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) "OECD Principles of Good Laboratory Practice" (November 26, 1997)

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認しています。

2010 年 2 月 19 日

試験責任者



信頼性保証書

財団法人化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 経済産業省

試験の表題 2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12- ドデカメチルシクロヘキサシロキサン（被験物質番号 K-1843）の微生物による分解度試験

試験番号 205180

本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証します。

なお、監査又は査察の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告しました。

監査又は査察内容	監査又は査察日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2009年11月4日	2009年11月4日
試験計画書	2009年11月6日	2009年11月6日
試験計画書の変更	2009年12月1日	2009年12月1日
培養開始時	2009年12月10日	2009年12月11日
中間時	2009年12月24日	2009年12月25日
培養終了時	2010年1月7日 2010年1月8日	2010年1月12日
生データ、最終報告書草案	2010年2月16日	2010年2月16日
最終報告書	2010年2月19日	2010年2月19日

2010年2月19日

信頼性保証部門責任者



目 次

	頁
表 題.....	1
試験委託者.....	1
試験施設.....	1
試験目的.....	1
試験法.....	1
GLP 基準.....	1
試験日程.....	1
試資料の保管.....	2
試験関係者.....	2
最終報告書の承認.....	2
要 約.....	3
1. 被 験 物 質.....	4
2. 分解度試験の実施.....	5
3. 試験条件の確認.....	9
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.....	10
5. 試験結果.....	10
6. 備 考.....	12

Tables

- Table-1 Calculation table for percentage biodegradation by BOD
 Table-2 Calculation table for recovery rate of test item
 Table-3 Calculation table for percentage biodegradation of test item
 Reference 1 Calculation table for percentage detection of test item (CO_2 absorbent)

Figures

- Fig. 1 Chart of BOD
 Fig. 2-1 Chromatograms of GC analysis for calibration curve
 Fig. 2-2 Calibration curve of test item
 Fig. 3 Chromatograms of GC analysis for recovery test
 Fig. 4 Chromatograms of GC analysis for test solution
 Fig. 5-1 IR spectrum of test item measured before experimental start
 Fig. 5-2 IR spectrum of test item measured after experimental completion
 Reference 2 Chromatograms of GC analysis for CO_2 absorbent
 Reference 3 IR spectrum of test item

表題

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12- ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (被験物質番号 K-1843) の微生物による分解度試験

試験委託者

経済産業省

(〒100-8901) 東京都千代田区霞が関一丁目 3 番 1 号

試験施設

財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所

(〒839-0801) 福岡県久留米市宮ノ陣三丁目 2 番 7 号

試験目的

K-1843 の微生物による分解性について知見を得る。

試験法

本試験は以下の試験法に従って行った。

- (1) 「新規化学物質等に係る試験の方法について」(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、平成 18 年 11 月 20 日 最終改正) に規定する〈微生物等による化学物質の分解度試験〉
- (2) "OECD Guidelines for Testing of Chemicals" に定める"Ready Biodegradability: Modified MITI Test (I)"(Guideline 301C, July 17, 1992)"

GLP 基準

本試験は以下の基準を適用した。

- (1) 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 15 年 11 月 21 日、薬食発第 1121003 号、平成 15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成 20 年 7 月 4 日 最終改正) に規定する「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」
- (2) "OECD Principles of Good Laboratory Practice" (November 26, 1997)

試験日程

試験開始日	2009 年 11 月 6 日
実験開始日	2009 年 12 月 10 日
実験終了日	2010 年 1 月 7 日
試験終了日	2010 年 2 月 19 日

試資料の保管

(1) 被 驗 物 質

供試試料を保管用容器に入れ密栓後、品質低下を起こさないで安定に保存しうる期間、久留米事業所試料保管室に保管する。

(2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、試験委託書、その他必要な資料等は最終報告書と共に、試験委託者から通知を受けるまでの期間、久留米事業所資料保管室に保管する。

試験関係者

試験責任者

試験担当者（分解度試験の実施）

活性汚泥管理責任者

最終報告書の承認

2010年2月19日

試験責任者

要 約

試験の表題

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12- ドデカメチルシクロヘキサシロキサン (被験物質番号 K-1843) 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°C
(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 (GC) 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	%	4	0	3	2
被験物質分解度 (GC)	%	-8	4	-4	0 (-3) *1

*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を 0 としカッコ内にその計算値を示した。

結 論

本試験条件下において、被験物質は一部ソーダライムに移行したが、試験液に保持された被験物質は微生物により分解されなかった。

1. 被験物質

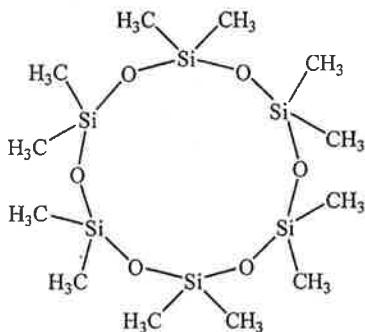
K-1843 は、次の名称等を有するものとする。

1.1 名 称

2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-ドデカメチルシクロヘキサシロキサン

1.2 構造式等

構 造 式



分子式 $C_{12}H_{36}O_6Si_6$

分子量 444.92

CAS 番号 540-97-6

1.3 供給者、商品名及びロット番号

供 紹 者 [REDACTED]

商 品 名 [REDACTED]

ロット番号 [REDACTED]

1.4 純 度

被験物質 99.9% (GC)

不 純 物 残り 0.1%については不明

被験物質は純度 100%として取り扱った。

1.5 被験物質の確認

被験物質の赤外吸収スペクトルを測定し、独立行政法人産業技術総合研究所の有機化合物スペクトルデータベースに記載のスペクトルと一致することを確認した (Fig. 5、Reference 3 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 冷暗所保管

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. 5 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21.5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7日

測定結果 活性汚泥の懸濁物質濃度は3160 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3mLに精製水（高杉製薬製 日本薬局方）を加えて1Lとする割合で5L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31.5 μL（被験物質30.5 mg=31.5 μL×0.9672 g/cm³）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(2.85 mL)を差し引いた量]及び供試試料31.5 μL（被験物質30.5 mg=31.5 μL×0.9672 g/cm³）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(2.85 mL)を差し引いた量]及びアニリン29.5 μL(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) 汚泥プランク系 (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 (2.85 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 30 mg/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	旭テクネイオン製
-------------	----------

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)	: 振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°C
-----	--------

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。

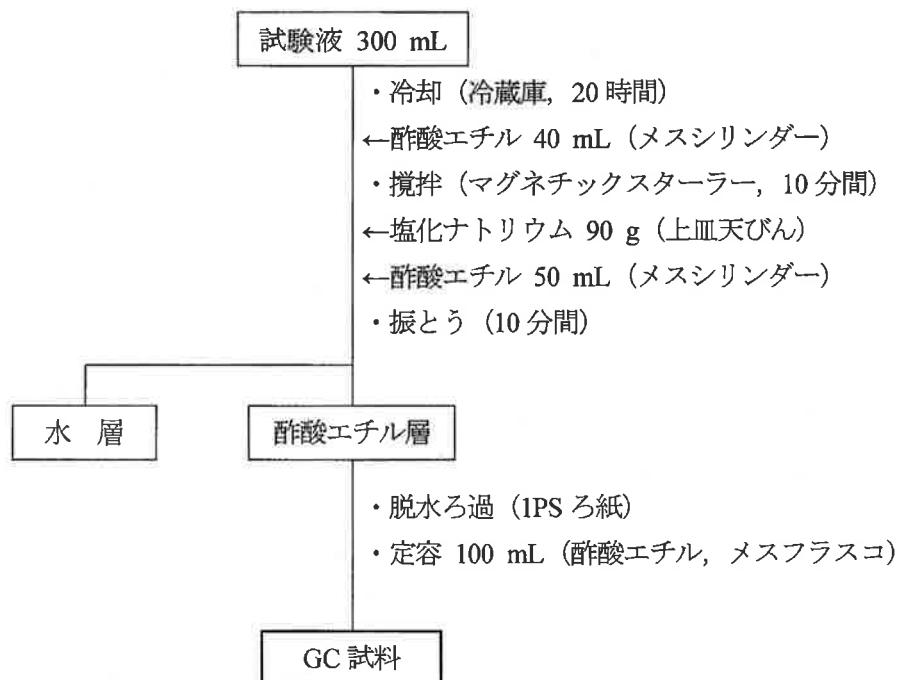
2.5 試験液の分析

培養期間終了後、試験液中の被験物質について分析した。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。そこで、溶存有機炭素（DOC）については、その分析用試料を調製するための前処理操作において被験物質の揮発による損失が考えられたため、分析は行わなかった。また、試験液のpH測定についても実施しなかった。

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(GC)試料を調製した。

フロースキーム



2.5.2 被験物質の定量分析

GC 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 のピーク面積と GC 試料のピーク面積とを比較し、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 2000 $\mu\text{V} \cdot \text{sec}$ (被験物質濃度 3.0 mg/L)とした。

(1) 定量条件

機 器	ガスクロマトグラフ 島津製作所製 GC-2010
自動試料導入装置	島津製作所製 AOC-20
検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
カラム	HP-5MS 膜厚 0.25 μm (Agilent Technologies 製) 30 m \times 0.25 mm I.D. フューズドシリカ製
カラム温度	130°C
試料導入部温度	280°C
キャリアガス	ヘリウム
線 速 度	30 cm/sec
水 素	40.0 mL/min
空 気	400.0 mL/min
注 入 量	1 μL
導 入 モード	スプリット
スプリット比	10:1
検出器温度	280°C
検出器感度	レンジ 1

(2) 標準溶液の調製

供試試料 31.5 μL (被験物質 30.5 mg = $31.5\mu\text{L} \times 0.9672 \text{ g/cm}^3$) 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 回収試験及びプランク試験

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プランク系の試験液について回収試験と同じ操作によりプランク試験を行った。回収試験については各2点、プランク試験については1点測定した。この結果、プ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	93.5%, 93.8%	平均	93.7%
(汚泥+被験物質)系回収率	94.9%, 93.4%	平均	94.1%

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ヶ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 : 汚泥プ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)

(2) 被験物質分解度

$$\text{分解度} (\%) = \frac{\text{S}_{\text{w}} - \text{S}_{\text{s}}}{\text{S}_{\text{w}}} \times 100$$

S_s : (汚泥+被験物質)系における被験物質の残留量(測定値:mg)

S_w : (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	参考
分解度の最大値と最小値の差	BOD 分解度 4%	20%未満	5.3項 分解度
	被験物質 分 解 度 12%		
アニリンのBOD 分 解 度	7日後 58%	40%以上	Table-1 Fig. 1
	14日後 75%	65%以上	
汚泥プランク系 の B O D 値	28日後 7.0 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、被験物質は揮発性物質と考えられたため、培養終了後の（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	不溶物は認められなかった。 試験液は無色であった。	-
	(汚泥+被験物質)系	汚泥以外の不溶物は認められなかった。 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 ^{*2}	mg	0	2.2	0.1	1.4	52.8	1	1
被験物質残留量 及び残留率 (GC)	mg	28.2	30.5	27.0	29.2	30.5	3	4
	%①	92	100	88	96	-		

*2 (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。

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	%	4	0	3	2	1
被験物質分解度 (GC)	%	-8	4	-4	0 (-3) ^{*1}	3

*1 分解度の平均値が負の値に算出されたため、平均値を0としカッコ内にその計算値を示した。

5.4 考 察

(1) BOD 分解度

BOD 分解度は 0~4%であり、被験物質は微生物により分解されなかったと考えられる。

(2) 被験物質分析

被験物質残留率は（汚泥+被験物質）系の [2] 及び [4] で 100%及び 96%と良好であったが、（水+被験物質）系の [1] で 92%、（汚泥+被験物質）系の [3] で 88%と若干低い値となった。被験物質残留率が低い原因として被験物質の生分解や変化が考えられたが、(1)より BOD 分解度は低く、被験物質分析の GC クロマトグラム上において変化物由来のピークは認められなかったことから、その他の要因が示唆された (Fig. 4 参照)。

(3) ソーダライム分析

本試験に先立って行った予備検討において、一部の被験物質は試験容器内に装着した炭酸ガス吸收剤であるソーダライムから検出された。そこで、本試験のソーダライムについて前処理を行い、被験物質を分析したところ、理論量に対し 1~8%の被験物質が検出された (6.1 参照)。この結果から、一部の試験液で被験物質残留率が低かった原因是被験物質が揮発しソーダライムに移行したためと考えられた。なお、被験物質について試験液分析における残留率及びソーダライム分析における検出率を合計した物質収支は 96%~101%と良好であった。

(4) ま と め

(1)~(3)より、一部の被験物質は揮発しソーダライムに移行したが、試験液に保持された被験物質は微生物より分解されなかったと考えられる。なお、（汚泥+被験物質）系において 88~100%の被験物質が保持されていることから上記のソーダライムへの移行が分解性の評価に及ぼした影響はなかったと考えられる。

5.5 結 論

本試験条件下において、一部の被験物質はソーダライムに移行したが、試験液に保持された被験物質は微生物により分解されなかった。

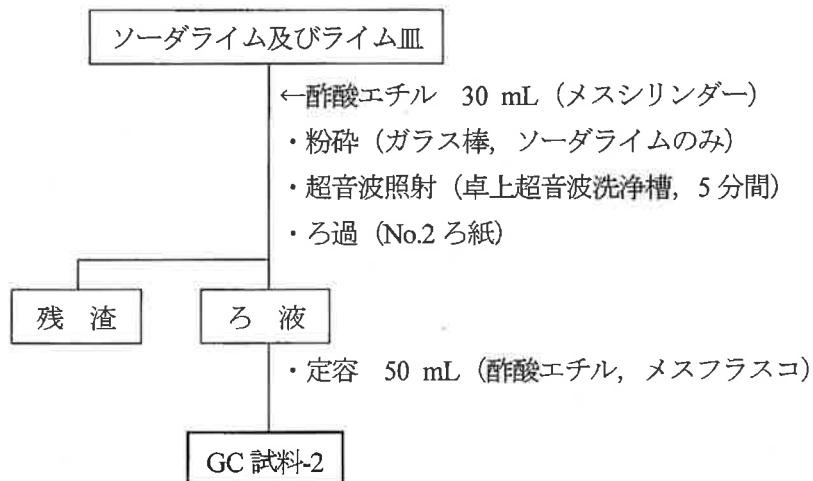
6. 備 考

6.1 本試験におけるソーダライム中の被験物質分析

本試験に先立って行った予備検討より、被験物質はソーダライムに移行することが予想されたため、ソーダライム中の被験物質について分析した。

(1) 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ソーダライム及びライム皿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 GC 試料-2 を調製した。



(2) 被験物質の定量分析

(1)で前処理を行って得られた GC 試料-2 について、2.5.2 に示す定量条件に従って被験物質を分析した。

(3) 分析結果

分析結果は下記のとおりであった (References 1, 2 参照)。

		(水+被験物質) 系	(汚泥+被験物質) 系				理論量	Reference
			[1]	[2]	[3]	[4]		
被験物質検出量及び検出率 (GC, ソーダライム)	mg	1.2	0.2	2.3	0.4	30.5	1, 2	
	%②	4	1	8	1	-		
物質収支 (① ^{*3} +②)	%	96	101	96	97	-	-	

*3 5.2 試験液の分析結果における被験物質残留率

6.2 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	:	8 頁参照	
振とう機	:	タイテック製	SR-2w

6.3 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

Table-1 Calculation table for percentage biodegradation by BOD

Study No. 205180		Duration of cultivation: 28 days								
Vessel No.		7th day		14th day		21st day		28th day		Mean Deg. (%)
		BOD (mg)	Deg. (%)	BOD (mg)	Deg. (%)	BOD (mg)	Deg. (%)	BOD (mg)	Deg. (%)	
[6]	53.5	58	69.9	75	74.6	78	75.2	76		
[5]	0.7	-	2.0	-	4.0	-	7.0	-		
[2]	0.2	-1	0.6	-3	6.2	4	9.2	4	2	
[3]	0.4	-1	2.0	0	4.7	1	7.1	0		
[4]	0.7	0	2.1	0	5.1	2	8.4	3		
[1]	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-		

Deg. : Percentage biodegradation

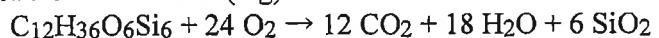
Vessel No. [6] : Sludge + aniline
 Vessel No. [5] : Control blank [B]
 Vessel No. [2] [3] [4] : Sludge + test item
 Vessel No. [1] : Water + test item

Test item of 30.5 mg was added.

Chart of BOD : Fig. 1

$$\text{Deg.} = [\text{BOD} - \text{B}] / [\text{TOD}] \times 100 (\%)$$

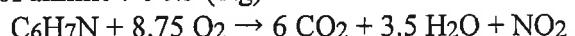
TOD of test item : 52.8 (mg)



$$24 \text{ O}_2 / \text{C}_{12}\text{H}_{36}\text{O}_6\text{Si}_6 = 767.97 / 444.92 = 1.73$$

$$\text{TOD} = 30.5 \times 1.73 = 52.8 \text{ (mg)}$$

TOD of aniline : 90.3 (mg)



$$8.75 \text{ O}_2 / \text{C}_6\text{H}_7\text{N} = 279.99 / 93.13 = 3.01$$

$$\text{TOD} = 30 \times 3.01 = 90.3 \text{ (mg)}$$

Jan.7,2010 Name _____

Table-2 Calculation table for recovery rate of test item

Sample description	A	D	E	F
Standard solution 305 mg/L	201140			
Water + test item -1	188163	28.5	93.5	93.7
Water + test item -2	188604	28.6	93.8	
Sludge + test item -1	190857	28.9	94.9	94.1
Sludge + test item -2	187812	28.5	93.4	
Control blank	n.d.			

Amount of test item added : 30.5 (mg)

A : Peak area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)

B : Final volume : 100 (mL)

C : Ratio of portion used for analysis : 300/300

D : Recovery amount (mg)

$D_w = G \times (A(\text{Water + test item}) / A(\text{Standard})) \times (B / C) / 1000$

$D_s = G \times \{ (A(\text{Sludge + test item}) - A(\text{Control blank})) / A(\text{Standard}) \} \times (B / C) / 1000$

E : Recovery rate (%)

$E = D / 30.5 (\text{mg}) \times 100$

F : Average recovery rate (%)

G : Concentration of standard solution : 305 (mg/L)

See Fig. 3

October 20, 2009

Name _____

Table-3 Calculation table for percentage biodegradation of test item

Sample description	A	E	F	G	H	Study No. 205180
Standard solution 305 mg/L	204330					
[1] Water + test item	176945	28.2	92			
[2] Sludge + test item	192389	30.5	100	-8		
[3] Sludge + test item	170040	27.0	88	4	-3	
[4] Sludge + test item	184071	29.2	96	-4		
[5] Control blank	n.d.					

Amount of test item added : 30.5 (mg)

A : Peak area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)

B : Final volume : 100 (mL)

C : Ratio of portion used for analysis : 300/300

D : Recovery rate : 93.7 (%) (Water + test item)
94.1 (%) (Sludge + test item)

E : Residual amount of test item (mg)

$$E_w = I \times (A(\text{Water + test item}) / A(\text{Standard})) \times (B / C) / (D / 100) / 1000$$

$$E_s = I \times \{ (A(\text{Sludge + test item}) - A(\text{Control blank})) / A(\text{Standard}) \} \\ \times (B / C) / (D / 100) / 1000$$

F : Percentage residue (%)

$$F = E / 30.5 (\text{mg}) \times 100$$

G : Percentage biodegradation (%)

$$G = \{ (E(\text{Water + test item}) - E(\text{Sludge + test item})) \\ / E(\text{Water + test item}) \} \times 100$$

H : Average percentage biodegradation (%)

I : Concentration of standard solution : 305 (mg/L)

See Fig. 4

January 29, 2010 Name _____

Reference 1 Calculation table for percentage detection of test item (CO₂ absorbent)

Study No. 205180

Sample description	A	D	E	F
Standard solution 305 mg/L	203521			
[1] Water + test item	16573	1.2	4	4
[2] Sludge + test item	2985	0.2	1	
[3] Sludge + test item	31108	2.3	8	3
[4] Sludge + test item	5619	0.4	1	
[5] Control blank	n.d.			

Amount of test item added : 30.5 (mg)
 A : Peak area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)
 B : Final volume : 50 (mL)
 C : Ratio of portion used for analysis : 1
 D : Detected amount of test item (mg)
 $D_w = G \times (A(\text{Water + test item}) / A(\text{Standard})) \times (B / C) / 1000$
 $D_s = G \times \{ (A(\text{Sludge + test item}) - A(\text{Control blank})) / A(\text{Standard}) \} \times (B / C) / 1000$
 E : Percentage detection (%)
 $E = D / 30.5 (\text{mg}) \times 100$
 F : Average percentage detection (%)
 G : Concentration of standard solution : 305 (mg/L)
 See Reference 2

February 8, 2010

Name _____

Study No. 205180

(Test item K-1843)

Cultivating conditions:

Concentration

Test item 100 (mg/L)

Reference item (aniline) 100 (mg/L)

Activated sludge 30 (mg/L)

Temperature $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$

Duration 28 days (Dec.10,2009 - Jan.7,2010)

Note: —

Vessel No.	Sample Description	BOD (mg)			
		7th day	14th day	21st day	28th day
[1]	Water + test item	0.0	0.0	0.0	0.0
[2]	Sludge + test item	0.2	0.6	6.2	9.2
[3]	Sludge + test item	0.4	2.0	4.7	7.1
[4]	Sludge + test item	0.7	2.1	5.1	8.4
[5]	Control blank [B]	0.7	2.0	4.0	7.0
[6]	Sludge + aniline	53.5	69.9	74.6	75.2

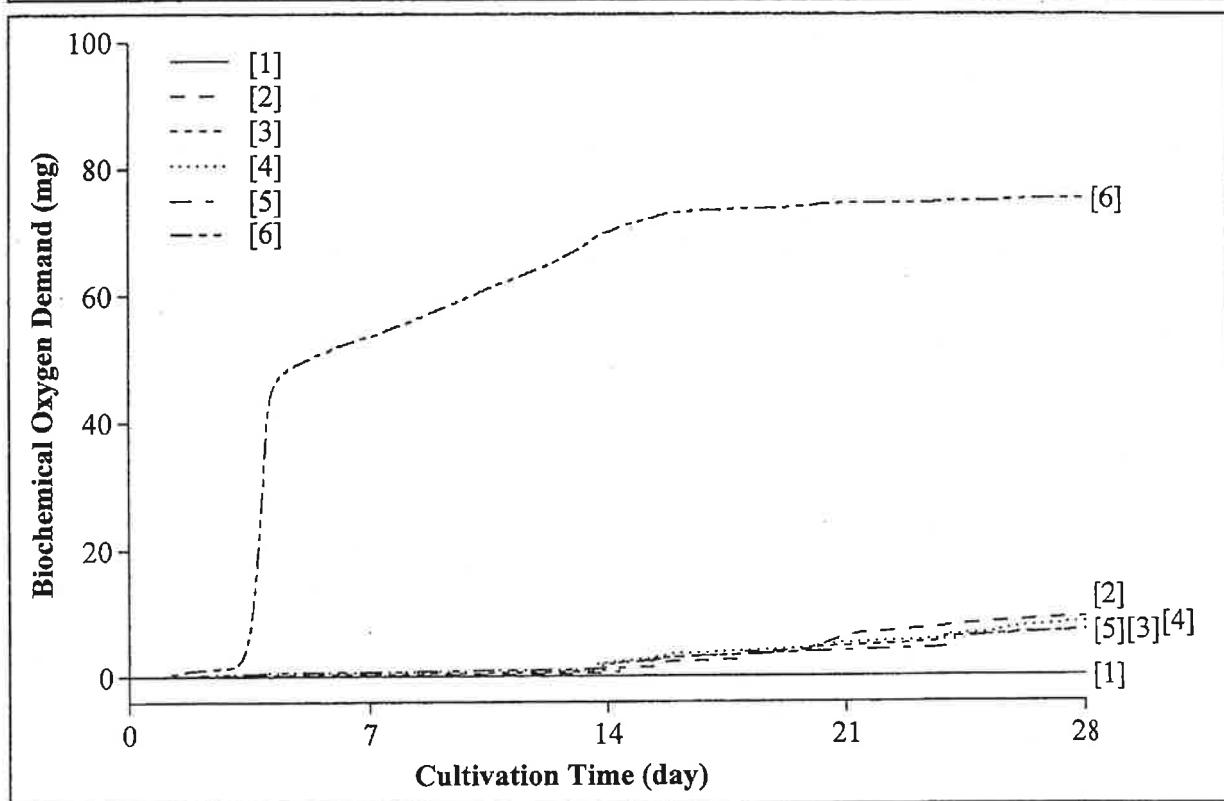


Fig. 1

Chart of BOD.

Jan.7,2010 Name _____