

新旧対照表

○微生物等による化学物質の分解度試験

(傍線部分は改正部分)

改 正 案	現 行
<p>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<u>方法</u>について規定する。</p> <p>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「J I S」という。）において使用する用語の例による。</p> <p><u>III</u> 活性汚泥の調整</p> <p>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ヶ所以上とする。</p> <p>2 汚泥採集回数 年間4回とする。</p> <p>3 汚泥採集方法 3-1 都市下水、下水処理場の返送汚泥 1 L</p>	<p>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<u>用法</u>について規定する。</p> <p>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「J I S」という。）において使用する用語の例による。</p> <p><u>III</u> <u>試薬</u> <u>この試験法において使用する試薬は、試薬一級又はこれと同等以上のものとする。</u></p> <p><u>IV</u> 活性汚泥の調整</p> <p>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<u>原則として</u>全国十ヶ所以上とする。</p> <p>2 汚泥採集回数 年間4回、<u>原則として3月、6月、9月、12月</u>とする。</p> <p>3 汚泥採集方法 3-1 都市下水、下水処理場の返送汚泥 1 L</p>

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

4 調整

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、培養そう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±2℃とする。

（注1） 0.1%合成下水

グルコース、ペプトン、りん酸-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、所要の調整を行う。

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±2℃であること。

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

4 調整

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、培養そう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±2℃とする。

（注1） 0.1%合成下水

グルコース、ペプトン、りん酸-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、所要の調整を行う。

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±2℃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 5 mg/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。

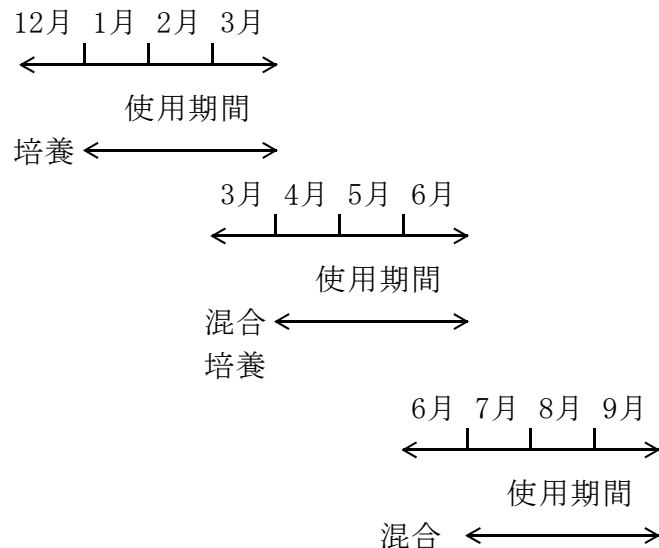
7 新旧活性汚泥の混合

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。

〔活性汚泥の調整と使用期間の例〕



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 5 ppm 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。

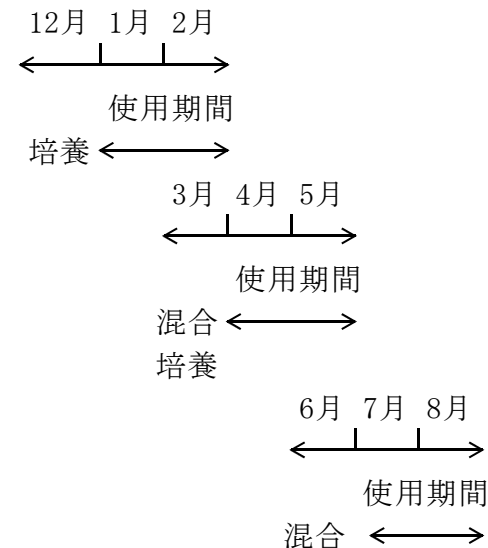
7 新旧活性汚泥の混合

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。

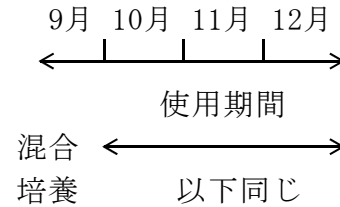
8 活性汚泥の活性度の点検

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V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。

〔活性汚泥の調整と使用期間の例〕



培養



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

J I S K 0 1 0 2 - 1 9 9 8 の 2 1 で定められた A 液、B 液、C 液及び D 液それぞれ 3 ml に水を加え 1 L 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 300 ml）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用い、溶媒や乳化剤は使用しない。

3 - 1 水に被験物質が 1 0 0 m g / 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 1 0 0 m g / L となるように添加したものを入れた試験容器 3 個

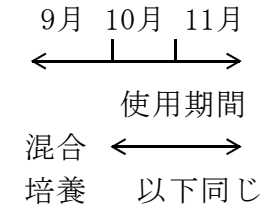
3 - 3 基礎培養基にアニリンが 1 0 0 m g / L となるように添加したものを入れた試験容器 1 個

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 J I S K 0 1 0 2 - 1 9 9 8 の 1 4 . 1 で定められた懸濁物質濃度が 3 0 m

培養



V 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

J I S K 0 1 0 2 の 1 6 (1) で定められた A 液、B 液、C 液及び D 液それぞれ 3 ml に水を加え 1 L とする。

3 供試物質の添加及び試験の準備

次の試験容器を準備し、これらを試験温度に調整する。なお、供試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用いる。

3 - 1 基礎培養基に供試物質が 1 0 0 ppm (W / V) となるように添加したものを入れた試験容器

3 - 2 基礎培養基のみを入れた対照空試験用の試験容器

3 - 3 水に供試物質が 1 0 0 ppm (W / V) となるように添加したものを入れた試験容器

3 - 4 基礎培養基にアニリンが 1 0 0 ppm (W / V) となるように添加したものを入れた試験容器

4 活性汚泥の接種

3 - 1、3 - 2 及び 3 - 4 の試験容器に J I S K 0 1 0 2 の 1 0 、 2 、 3 で定められた懸濁物質濃度が 3 0 ppm (W

g/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℃で十分かきまでながら一定期間（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、残留する被験物質及び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、全有機炭素の残留量も測定する。

（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%以上であり、酸素消費量から求めたIVの3-3のアニリンの分解度が14日後に6.0%を超えない場合は、この試験は無効とする。

6-2 酸素消費量から分解度(%)を算出する方法

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

BOD：被験物質の生物学的酸素要求量（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要求量（計算値）(mg)

6-3 直接定量（注3）から分解度(%)を算出する方法

$$\text{分解度}(\%) = \frac{\text{S}_B - \text{S}_A}{\text{S}_B - \text{S}_A} \times 100$$

／Vになるように活性汚泥を接種する。

5 分解度試験の実施

25±1℃で十分かきまでながら一定期間（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、残留する供試物質を分析に供し、その量を測定する。供試物質が水に溶解する場合は、全有機炭素の残留量も測定する。

（注2） 原則として14日間とする。

6 試験結果の算出方法

6-1 試験条件の確認

酸素消費量から求めたV-3の4のアニリンの分解度が7日後に40%を超えない場合は、この試験は無効とする。

6-2 酸素消費量から分解度(%)を算出する方法

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

BOD：供試物質の生物学的酸素要求量（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：供試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要求量（計算値）(mg)

6-3 直接定量（注3）から分解度(%)を算出する方法

$$\text{分解度}(\%) = \frac{\text{S}_B - \text{S}_A}{\text{S}_B - \text{S}_A} \times 100$$

S_B

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3) 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

試験容器から反応液を10ml採取し、これを3000Gで5分間遠心分離し、その上澄液から適当量を採取して全有機炭素分析計により残留する全有機炭素を定量する。

② その他の分析計を用いる場合

試験容器内のすべての内容物を被験物質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、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。

S_B

S_A : 分解度試験終了後の供試物質の残留量 (測定値)
(mg)

S_B : 水に供試物質のみを添加した空試験における供試物質の残留量 (測定値) (mg)

(注3) 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

試験容器から反応液を10ml採取し、これを3000Gで5分間遠心分離し、その上澄液から適当量を採取して全有機炭素分析計により残留する全有機炭素を定量する。

② その他の分析計を用いる場合

試験容器内のすべての内容物を供試物質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、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。

[様式1]

分解度試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC命名法による)			
別 名			
C A S 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

[備 考] 物理化学的性状は、可能な限り記入すること。

1. 「蒸気圧」の欄には、被験物質の蒸気圧を記入すること。
2. 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入すること。
3. 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、被験物質の溶媒に対する溶解度及びその溶媒中での安定性を記入すること。

2. 試験方法

試 験 方 法	
暴 露 期 間 (日)	
汚 泥 の 種 類	
被 験 物 質 濃 度	
汚泥の懸濁物質濃度	
p H 調 整	有 ・ 無

3. 試験結果

(1) BODチャート

*別添としても良い。

(2) BOD測定結果

試験容器 \ 測定日	BOD (mg)				
		7日目	14日目	21日目	28日目
(水 + 被験物質) 系					
(汚泥 + 被験物質) 系	No. 1				
	No. 2				
	No. 3				
(汚泥 + アニリン) 系					
汚泥 ブ ラ ン ク 系					

(3)測定結果（28日後の値）

測定項目		(汚泥+被験物質)系			(水+被験物質)系	仕込み理論量
		No. 1	No. 2	No. 3		
B O D * 1	mg					
D O C * 1	mg/L					
被験物質残留量 及び残留率 (分析機器名称)	mg					
	%①					
変化物生成量 及び生成率 *2 (分析機器名称)	mg	*2	*2	*2	*2	*2
	%②	*2	*2	*2	*2	
物質収支 (①+②)	%					

*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する。

*2：変化物が生成した場合に記入する。

(4)分解度

		(汚泥+被験物質)系			平均値
		No. 1	No. 2	No. 3	
BOD分解度	%				
DOC分解度	%				
被験物質分解度	%				

4. 回収率（平均値）

(水+被験物質)系回収率	%	
(汚泥+被験物質)系回収率	%	

5. 考察

*可能な限り、本試験結果の考察（本被験物質の生分解性について）を記載してください。
 *特に変化物を生じた場合には物質収支等について記載してください。

6. その他

試験実施施設	名 称	
	所 在 地	電話 () FAX ()
試験責任者	職氏名	
	経験年数	
試 験 番 号		
試 験 期 間	年 月 日 から 年 月 日 まで	

[備 考]

1. 本様式への記載は、最終報告書より転記して作成すること。
2. 最終報告書と同じ試験番号を記入すること。
3. 本様式の作成責任者は、本様式の欄外に、所属及び氏名を記載すること。