

＜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。

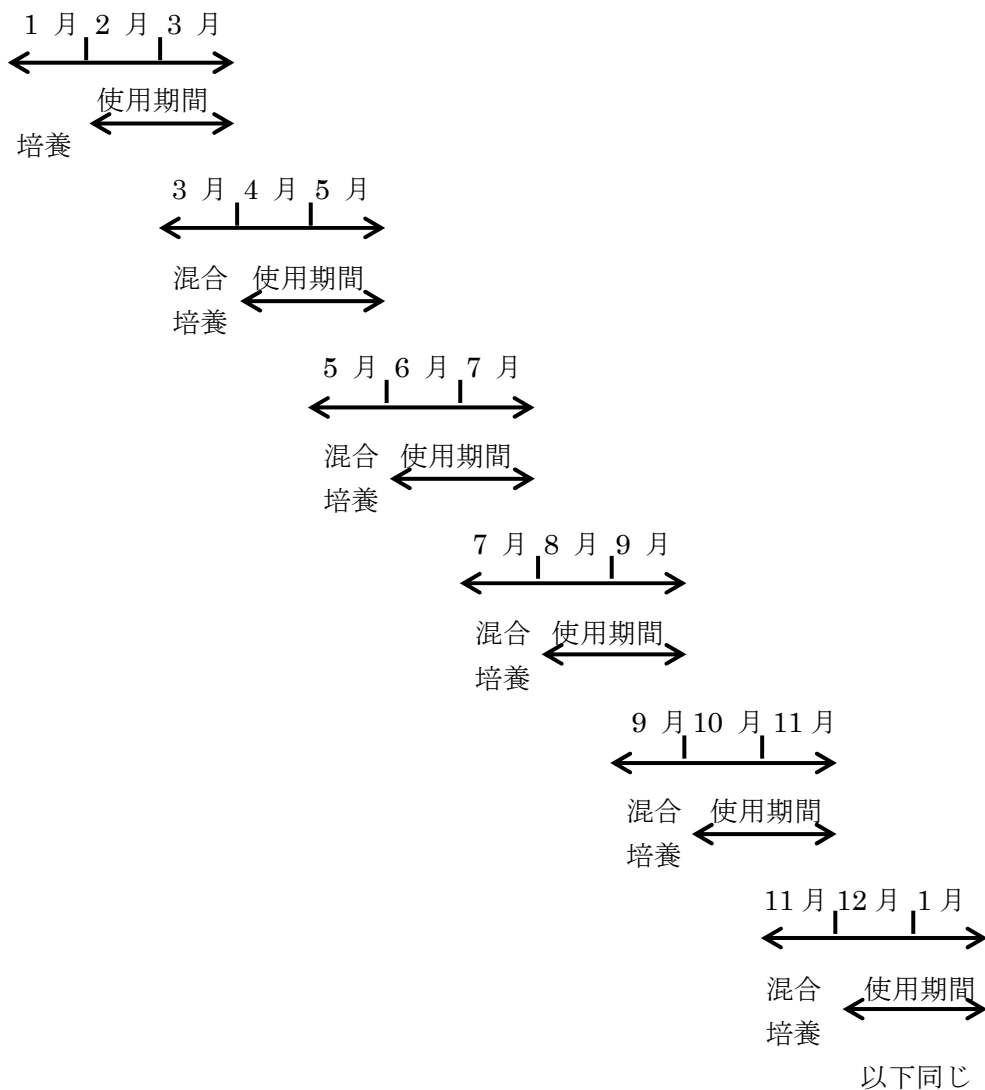
7 新旧活性汚泥の混合

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 μm）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。