

環境省 殿

## 最 終 報 告 書

テトラブロモビスフェノールAの底質添加によるセスジユスリカ  
(*Chironomus yoshimatsui*) 毒性試験


(試験番号：No. 2007-生75)

2009年10月 5日作成

株式会社  センター

原本と相違ないことを証明する。

2009 年 10 月 8 日

試験責任者 

## 陳 述 書

株式会社 クレハ分析センター

試験委託者： 環境省

表題： テトラブロモビスフェノールAの底質添加によるセスジユスリカ  
(*Chironomus yoshimatsui*) 毒性試験

試験番号： No. 2007-生75

本試験は、

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連  
名通知「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」  
(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 15 年 11 月 21 日、平成 17 年 4 月 1 日最終改正)

経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「第三種監視化学物質  
に係る有害性の調査のための試験の方法について」、別添「ユスリカの生息又は生  
育に及ぼす影響に関する試験の方法」(平成 16・3・19 製局第 6 号、環保企発第  
040325004 号、平成 16 年 3 月 25 日)

に従って実施した。

本報告書の試験データの正確性および有効性について確認した。

2009年10月 5日

試験責任者



2009年10月 5日

確認： 運営管理者



## 信 頼 性 保 証 書

株式会社 クレハ分析センター

試験委託者 : 環境省

表題 : テトラプロモビスフェノールAの底質添加によるセスジユスリカ  
(*Chironomus yoshimatsui*) 毒性試験

試験番号 : No. 2007-生75

### 記

	監査、査察実施日	報告日	
		運営管理者	試験責任者
試験計画書の監査	2008年 1月31日	2008年 1月31日	2008年 1月31日
実験状況の監査、査察	2009年 1月15日	2009年 1月15日	2009年 1月15日
	2009年 1月22日	2009年 1月22日	2009年 1月22日
	2009年 1月29日	2009年 1月29日	2009年 1月29日
	2009年 2月 5日	2009年 2月 5日	2009年 2月 5日
	2009年 2月 9日	2009年 2月 9日	2009年 2月 9日
実験終了後の監査	2009年 6月 2日	2009年 6月 2日	2009年 6月 2日
組織体制の監査	2009年 2月 4日	2009年 2月 4日	2009年 2月 4日
施設・設備の査察 試験用機器等 施設、設備等 試験系	2009年 2月 4日	2009年 2月 4日	2009年 2月 4日
最終報告書の監査	2009年10月 5日	2009年10月 5日	2009年10月 5日

本試験は試験計画書および標準操作手順書に従って実施され、本報告書には試験に使用した方法、手順が正確に記載されており、試験結果は生データを正確に反映していることを確認した。

2009年10月 5日

信頼性保証部門責任者 :



## 試験実施概要

1. 表題 : テトラブロモビスフェノールAの底質添加によるセスジユスリカ  
(*Chironomus yoshimatsui*) 毒性試験
2. 試験目的 : 底質に被験物質を添加することにより、ユスリカをふ化後一齢幼虫から羽化まで被験物質に暴露し、羽化率等を測定することにより、ユスリカに対する被験物質の慢性毒性を明らかにする。
3. 試験法ガイドライン :  
経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「第三種監視化学物質に係る有害性の調査のための試験の方法について」、別添「ユスリカの生息又は生育に及ぼす影響に関する試験の方法」(平成 16・3・19 製局第 6 号、環保企発第 040325004 号、平成 16 年 3 月 25 日)
4. 適用 G L P :  
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連名通知「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」(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 15 年 11 月 21 日、最終改正 平成 17 年 4 月 1 日)
5. 試験委託者  
名 称 : 環境省  
所 在 地 : 〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目 2-2
6. 試験受託者  
名 称 : 株式会社 クレハ分析センター  
本社所在地 : 〒974-8232 福島県いわき市錦町落合 16 番地  
代 表 者 : XXXXXXXXXX
7. 試験施設  
実施施設名 : 株式会社 クレハ分析センター  
所 在 地 : 〒974-8232 福島県いわき市錦町落合 16 番地

8. 試験関係者：

試験責任者	■■■■■	(分析本部)
試験担当者	■■■■■	(生物試験担当者)
	■■■■■	(生物試験担当者)
	■■■■■	(生物試験担当者)
	■■■■■	(濃度分析責任者)
	■■■■■	(濃度分析担当者)

9. 試験期間：

試験開始日	2008年 1月31日
実験開始日	2008年 4月28日
暴露期間	2009年 1月15日～2009年 2月 9日
実験終了日	2009年 2月15日
試験終了日	2009年10月 5日

# 目次

	頁
要旨 .....	1
1 被験物質 .....	3
1.1 名称、構造式および物理化学的性状 .....	3
1.2 供試試料 .....	3
1.3 被験物質の同一性の確認と保管方法および保管条件下での安定性 .....	4
2 供試生物 .....	4
2.1 供試生物 .....	4
2.2 セスジユスリカー齢幼虫を得るための方法 .....	4
3 試験方法 .....	5
3.1 試験条件 .....	5
3.2 試験用水 .....	5
3.3 試験容器および恒温槽等 .....	5
3.4 被験物質の溶解度測定 .....	5
3.5 ユスリカ幼虫への給餌方法の選択 .....	6
3.6 試験濃度の設定 .....	6
3.7 試験に用いた人工底質の調製 .....	6
3.8 試験操作 .....	7
3.9 観察 .....	8
3.10 底質、間隙水、上層水中の被験物質濃度分析 .....	8
4 結果の算出 .....	9
4.1 羽化率 (Emergence Ratio) と 50 % 羽化阻害率の算出 .....	9
4.2 変態速度 (Development Rate) .....	9
4.3 最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC) .....	10
5 結果 .....	11
5.1 試験成績の信頼性に影響をおよぼしたと思われる環境要因 .....	11
5.2 試験用水に対する被験物質の溶解度 .....	11
5.3 人工底質ならびに間隙水、上層水の被験物質濃度 .....	12
5.4 羽化日数と暴露期間 .....	12
5.5 羽化数 .....	13
5.6 雌雄差の確認 .....	13
5.7 羽化率 (Emergence Ratio) .....	13
5.8 変態速度 (Development Rate) .....	14
5.9 50 %羽化阻害濃度 (EC <sub>50</sub> ) の算出 .....	14
5.10 最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC) .....	15
5.11 上層水の水温、溶存酸素濃度および pH 等 .....	15
5.12 試験計画書からの逸脱の有無 .....	15
6 保管 .....	16
Table 1～11 .....	17
Figure 1, 2 .....	27
付属資料－1 予備試験および1回日本試験の結果 .....	28
付属資料－2 試験試料の分析法 .....	31
付属資料－3 羽化調査データ .....	41
付属資料－4 データ解析 .....	50

## 要 旨

試験委託者 環境省

表 題 テトラブロモビスフェノールAの底質添加によるセスジユスリカ  
(*Chironomus yoshimatsui*) 毒性試験

試験番号 No. 2007-生75

### 試験法ガイドライン

経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「第三種監視化学物質に係る有害性の調査のための試験の方法について」、別添「ユスリカの生息又は生育に及ぼす影響に関する試験の方法」(平成16・3・19製局第6号、環保企発第040325004号、平成16年3月25日)

- 1) 被験物質 : テトラブロモビスフェノールA
- 2) 暴露方式 : 止水式
- 3) 供試生物 : セスジユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*)
- 4) 暴露期間 : 25 日間
- 5) 試験濃度 : 対照区, 助剤対照区, 56, 100, 180, 320, 560, 1000 mg/kg  
(人工底質乾燥重量に対する濃度)
- 6) 人工底質重量 : 乾燥重量として 120 g/容器
- 7) 上層水液量 : 人工底質層の深さに対する上層水の深さの比率を 1:4  
(人工底質を含めた全体量で 400 mL)
- 8) 連数 : 4 容器/試験区 (分析用として予備 1 容器を追加)
- 9) 供試生物数 : 20 個体/容器
- 10) 試験温度 : 23±1℃ (水温)
- 11) 照明 : 16 時間 明/8 時間 暗
- 12) 通気 : ごく弱い通気
- 13) pH : 暴露開始時点で 6 ~ 9 の範囲
- 14) 餌 : テトラミン粉末
- 15) 分析法 : HPLC 法

## 結 果

### 1) 人工底質の被験物質濃度

暴露期間中に人工底質における被験物質濃度の減少が見られなかったことから、各作用濃度（50 % 羽化阻害濃度、最大無作用濃度、最小無作用濃度）の算出には、暴露開始時の人工底質における被験物質濃度の実測濃度を採用した。

### 2) 各作用濃度の算出結果

25 日間の暴露期間における各作用濃度の結果を以下に示す。

#### a. 50 % 羽化阻害濃度 ( $EC_{50}$ )

$EC_{50}$  (羽化個体数) : 870 mg/kg (95 %信頼限界 740~1030 mg/kg), Probit

$EC_{50}$  (変態速度) : > 1140 mg/kg

#### b. 最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC)

最大無作用濃度 (NOEC) : 360 mg/kg

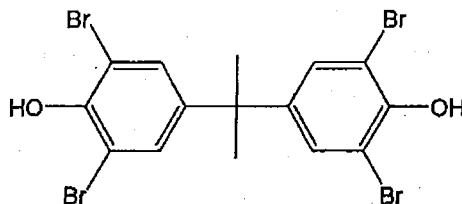
最小作用濃度 (LOEC) : 610 mg/kg



## 1 被験物質

### 1.1 名称、構造式および物理化学的性状

名称 : テトラブロモビスフェノールA  
別名\*\* : 4,4'-イソプロピリデンビス(2,6-ジブロモフェノール)  
CAS No.\* : 79-94-7  
構造式 :



分子式\* :  $C_{15}H_{12}Br_4O_2$   
分子量\* : 543.88  
蒸気圧\* :  $1.76E-011$  mmHg (25°C)  
対水溶解度\* : 0.001 mg/L (25°C)  
ヘンリー定数\* :  $7.05E-011$  atm · m<sup>3</sup>/mol (25°C)  
pKa 解離定数\* : 6.51(25°C)  
1-オクタノール/水分配係数\* : 7.20  
融点\* : 181°C  
沸点\* : 記載なし  
外観\*\* : 白色結晶性粉末  
安定性\* : 通常の取扱い条件においては安定。  
溶媒に対する溶解性\*\* : メタノール、エーテルに可溶

### 1.2 供試試料

入手先(購入先) : XXXXXXXXXX  
入手量 : 25 g × 4本  
ロット番号\*\* : T556F  
純度\*\*\* : 99.8 % (中和滴定)  
不純物の名称および含有率 : 記載なし  
入手日 : 2008年 1月 29日

#### [出典]

\* : SRC PhysProp Database  
\*\* : XXXXXXXXXX「化学物質等安全データシート」  
(作成・改訂日 2000年 8月 10日)  
\*\*\* : XXXXXXXXXX「試験成績書」(2008年 3月 10日)

### 1.3 被験物質の同一性の確認と保管方法および保管条件下での安定性

被験物質は当施設の被験物質保管用冷蔵庫において遮光・密閉して保管した。

入手した被験物質の赤外吸収スペクトルを測定し、公的データ\*ならびに官能基のリストと照合して同一性を確認した。

実験終了後にも赤外吸収スペクトルを測定し、実験開始前に測定したスペクトルと比較した。その結果、スペクトルに変化はなかったことより被験物質は実験期間中安定であったと判断した。

\*：アメリカ国立標準技術研究所(NIST) 「NIST Chemistry Web Book」

## 2 供試生物

### 2.1 供試生物

- 1) 和名 : セスジユスリカ
- 2) 学名 : *Chironomus yoshimatsui*
- 3) 入手先 : 独立行政法人 国立環境研究所
- 4) 起源 : 1994 年栃木県日光市湯元で採取された殺虫剤感受性系統の個体を入手先で継代飼育したもの
- 5) 入手日 : 2009 年 1 月 13 日
- 6) 入手方法 : 車による輸送
- 7) 感受性確認 : 行わなかった
- 8) 供給齢 : ふ化 24 時間齢以内の一齢幼虫

### 2.2 セスジユスリカ一齢幼虫を得るための方法

- 1) 飼育水 : 試験用水 (3.2 項を参照)
- 2) 飼育密度 : 卵塊 2 個体/200 mL ビーカー
- 3) 照明 : 室内光、16 時間 明/8 時間 暗
- 4) 水温 : 23.6~23.8℃
- 5) 飼育日数 : 2 日

### 3. 試験方法

#### 3.1 試験条件

- 1) 暴露方式 : 止水式
- 2) 暴露期間 : 25 日間
- 3) 人工底質量 : 120 g (乾燥重) / 容器
- 4) 上層水液量 : 人工底質層の深さに対する上層水の深さの比率を 1 : 4
- 5) 連数 : 4 容器 / 試験区  
(暴露開始時の分析用として予備容器を各試験区で 1 容器追加)
- 6) 供試生物数 : 20 個体 / 容器 (80 個体 / 試験区)
- 7) 試験温度 : 水温  $23 \pm 1$  °C
- 8) 照明 : 16 時間 明 / 8 時間 暗
- 9) pH : 暴露開始時点で 6 ~ 9 の範囲

#### 3.2 試験用水

脱塩素水 (給水施設の水を活性炭処理で残留塩素等を除去した後、空気による通気処理を行ったもの) を使用した。暴露期間中 (2009 年 1 月 19 日、2 月 16 日) に測定した試験用水の主な水質は、硬度が 32~33 mg/L ( $\text{CaCO}_3$  換算)、pH が 7.9 であった。

#### 3.3 試験容器および恒温槽等

- 1) 試験容器 : 500 mL ガラス製トールビーカー
- 2) 恒温槽 : 98 cm × 68 cm × 30 cm (自家製)
- 3) 恒温器 : ラボサーモ LH-2000 (アドバンテック)
- 4) 水温計 : ガラス製水銀温度計
- 5) 溶存酸素計 : B-505 (飯島電子工業)
- 6) pH 計 : HM-30 V (東亜ディーケーケー)
- 7) ICP (硬度測定用) : IRIS Advantage/AP (サーモエレクトロン)
- 8) HPLC  
(アンモニア測定用) : LC-20AD (島津製作所)  
検出器 : CDD-10Avp (島津製作所)

#### 3.4 被験物質の溶解度測定

被験物質の試験用水に対する溶解度は、フラスコ攪拌法で測定した。

被験物質の水溶解度の文献値が 0.001 mg/L (25°C) であることから、試験用水を用いて 10 mg/L 懸濁液を調製後、マグネチックスターラーを用いて試験温度 (23°C) で 48 時間攪拌した。この調製液をエイジング処理 (10 mg/L 調製液の 100 mL をろ過器に入

れ、5 分静置後ろ過しろ液を除去する操作を 3 回)を行った 0.2  $\mu$ m 親水性 PTFE タイプメンブランフィルター(商品名:H020A090C、メーカー:ADVANTEC)で加圧ろ過後、ろ液中の被験物質濃度を HPLC 法により測定した。

### 3.5 ユスリカ幼虫への給餌方法の選択

被験物質の 1-オクタノール/水分配係数( $\log P_{ow}$ )の文献値が 7.20 であり、人工底質にホウレンソウ粉末を混合する給餌方法を採用する基準となる 5 を超えていたことから、当初、この給餌方法の採用を予定していた。

しかし、試験用水への溶解度測定の過程で、脱塩素水(当施設では通常、pH 7.7~7.9 の範囲)に対する溶解度が 2.7 mg/L であり対水溶解度の文献値 0.001 mg/L (25°C) よりも高いことが判明した。pH 4.8 に調整した脱塩素水の溶解度は 0.087 mg/L となっており、当該被験物質が解離性物質のため(pKa 解離定数の文献値は 6.51 [25°C])、pH によって溶解度が変化したと考えられた。

この知見を基に、給餌方法について公的機関に相談したところ、「環境中では解離して、ある程度溶解していると考えられる。よって、テトラミン給餌法で良い」との助言を得たことから、最終的に暴露期間にテトラミン(メーカー: 関テトラ社)を分割給餌する方法を採用した。

給餌量は、暴露開始から最初の 3 日間は 0.35 mg/幼虫/日、4~11 日間は 0.5 mg/幼虫/日、12 日以降は 0.75 mg/幼虫/日に該当する量とした。

### 3.6 試験濃度の設定

公比 3.2 の予備試験の結果(付属資料-1)、助剤対照区に対する羽化阻害率は 100 mg/kg 区で 17%、320 mg/kg 区で -6%、1000 mg/kg 区で 33%であったことを基に、公比 1.8 で 100, 180, 320, 560, 1000 mg/kg 区および助剤対照区、対照区を設定し 1 回目の本試験を行った。

1 回目の本試験の結果、対照区及び助剤対照区の羽化率が試験基準の 70%に達しなかったことから再試験としたが、羽化阻害率が 180 mg/kg 区で 41%であったことから、低濃度区が必要と考え、56 mg/kg 区を追加し、公比 1.8 で 56, 100, 180, 320, 560, 1000 mg/kg 区 および助剤対照区、対照区を設定した。

### 3.7 試験に用いた人工底質の調製

以下の原材料を用い、ピートモス 5% (乾燥重量)、カオリン 20%、石英砂 75% の割合で混合し、人工底質重量(乾燥重量)が 120 g/試験容器となるようにした。更に、pH 調整用の炭酸カルシウムを添加して人工底質を調製した。

- |            |                                       |             |
|------------|---------------------------------------|-------------|
| 1) ピートモス   | : 「自然思考」(商品名)                         | (販売元;ホーマック) |
| 2) カオリン    | : 化学用                                 | (和光純薬)      |
| 3) 石英砂     | : Quartz, fine granular, 1.07536.1000 | (メルク)       |
| 4) 炭酸カルシウム | : 試薬特級                                | (和光純薬)      |

#### (1) ピートモスの前処理方法

購入したピートモスを自然乾燥し、70℃で1日間加熱乾燥した後、粉碎機を用いて、250 μm以下に粉碎・篩分した。

240 g (乾燥重量) のピートモスを純水で練り合わせてペースト状にした後、試験用水で全量を3Lの懸濁液とし、1N 水酸化ナトリウム水溶液を用いて pH 6.1 に調整した。この懸濁液をマグネチックスターラーにより2日間攪拌後、遠心分離 (1870G, 15 分) することで人工底質に添加するピートモスを調製した。

#### (2) 人工底質の調製方法

被験物質 67.4, 120, 216, 384, 672, 1200 mg を 10 mL メスフラスコにそれぞれ秤り入れ、アセトンで 10 mL として 6.74, 12.0, 21.6, 38.4, 67.2, 120 mg/mL の溶液とした。濃度区毎に、これらの溶液 1.0 mL を 10 g の石英砂に注ぎ (各試験容器に調製)、直ちにステンレス製薬さじを用いて均一に混合し、ドラフト内において室温で 30 分放置することでアセトンを蒸発させて除去した。

試験容器に、前処理したピートモス 26.0 g (乾燥重量として 6.0 g)、カオリン 24 g、石英砂 80 g、炭酸カルシウム 0.10 g を秤り入れ、各濃度に該当する被験物質を吸着させた石英砂 10 g を添加することで、56, 100, 180, 320, 560, 1000 mg/kg の濃度の人工底質を調製した (各濃度区 5 本調製)。

対照区には、被験物質を吸着させた石英砂に替えて、被験物質・アセトンとも加えない石英砂を用い、助剤対照区にはアセトンを添加後乾燥させた石英砂を用いて、それぞれ人工底質を調製した。

人工底質を混合した後、更に均一になるまで薬さじを用いて良く攪拌し、水深が底質の高さの約 4 倍 (全体で 400 mL) になるまで試験用水を入れ、試験に用いた。

### 3.8 試験操作

準備した各試験容器を 23℃に設定した水槽内に設置し、パスツールピペットの先端を底質表面から 3 ~ 4 cm の位置にセットし、ピペットを通してわずかに通気し、この状態で 7 日間静置し安定化させた。

安定化の後、通気を止め、上層水の pH、DO、水温について水質測定を行い (全容器

について測定し、測定後の水は各試験容器に戻した)、アンモニア濃度と硬度測定用の試料を採取後、ピペットを用いてふ化後 24 時間以内のユスリカ 一齢幼虫 20 個体を各試験容器に入れ、暴露開始とした。

暴露開始日の翌日に通気を再開した。

暴露期間中は、ユスリカの行動・羽化、底質や上層水の状況を肉眼で観察し、上層水が蒸発した場合には、蒸留水を加えて水量を一定に保った。また pH、DO、水温については 2 回/週の頻度で全容器の上層水について測定を行い、測定後の水は各試験容器に戻した。

### 3.9 観察

暴露期間中には、以下の点について観察し記録した。

異常行動 : 底質に潜っていた幼虫が、底質表面や水中にはい出ることがある場合、その幼虫数を記録した。

羽化 : 羽化開始後、毎日観察し、羽化および羽化失敗数(雌雄別)を記録し、羽化個体は取り除いた。

### 3.10 底質、間隙水、上層水中の被験物質濃度分析

暴露開始時は別途準備した各試験区の分析用の予備 1 容器について、暴露終了時は各試験容器より等量ずつ採取した試料について被験物質濃度の測定を行った。試料は、人工底質(湿重)約 50 g、間隙水約 10 mL、上層水約 100 mL を採取し、分析に供した。

上層水は、底質を乱さないように上層水の中層より採取した。間隙水および人工底質は、上層水を除いた後に採取した人工底質を遠心分離(1870 G×15 分)し、分離後の上澄みを間隙水、沈殿物を人工底質として採取した。

採取した人工底質、間隙水、上層水中の被験物質濃度を HPLC 法により分析した(付属資料—2 試験試料の分析法 参照)。

人工底質は、遠心分離後の水分を含んだ状態で溶剤[アセトニトリル/純水 (70/30)]を加えて振とう抽出し、抽出液の濃度分析を行った。また、別途、分析に供したものと同一人工底質について約 10 g を正確に秤り取り、120 °C で 1 日間乾燥した乾燥重量より水分含量(約 25 %)を算出した。

乾燥重あたりの人工底質の被験物質濃度については、水分を含んだ底質抽出液の分析値について、底質の水分含量を換算することで算出した。

#### 試験成立条件：

- ・ 対照区（助剤対照区を含む）での羽化率が 70 % 以上であること。
- ・ 対照区（助剤対照区を含む）での羽化開始が試験開始 12 日から 23 日にあること。
- ・ 暴露終了時に全ての試験容器において、pH が 6 ～ 9 の範囲にあり、溶存酸素濃度が飽和濃度の 60 % を維持していること。
- ・ 暴露期間中、水温の変動が  $\pm 1$  °C 以内であること。

#### 4 結果の算出

各濃度区の雌雄毎の羽化数の  $\chi^2$  乗検定法により、被験物質による羽化率への雌雄差への影響がなかったことから、雌雄を合計した羽化数を基に作用濃度を算出した。

各作用濃度〔50 % 羽化阻害濃度、最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC)〕は助剤対照区に対する羽化率や変態速度を基に算出した。

##### 4.1 羽化率 (Emergence Ratio) と 50 % 羽化阻害率の算出

羽化率 (Emergence Ratio : ER) は、1 容器当たりの「羽化数／入れた幼虫数 (20 個体)」として算出し、試験区毎に平均値を算出した。

50 % 羽化阻害率の算出には EcoTox ver. 2.6d を用い、助剤対照区並びに全ての濃度区の総羽化数を入力し、Probit 法により 50 % 羽化阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) を算出した。 $EC_{50}$  の算出の濃度範囲は、助剤対照区の羽化率により補正された羽化率 5 ～ 95 % の範囲 (560 mg/kg 区と 1000 mg/kg 区) を採用した。

$$ER = \frac{n_e}{n_a}$$

$ER$	:	羽化率
$n_e$	:	1 容器当たり羽化数
$n_a$	:	1 容器に入れた幼虫数 (20 個体)

##### 4.2 変態速度 (Development Rate)

次の式により算出した 1 容器当たりの平均変態速度 (x) より (付属資料—3 羽化調査データ 参照)、各濃度区の平均変態速度 (Development Rate : DR) を算出した。

各濃度区の平均変態速度について助剤対照区に対する阻害率を算出した結果、試験最高濃度 (1000 mg/kg) でも阻害率が 4 % であったことから、50 % 阻害濃度はこの分析値以上と判断した。

$$x = \sum \frac{f_i x_i}{n_e}$$

$x$	:	1 容器当たりの平均変態速度
$f_i$	:	$i-1 \sim i$ 日に羽化した個体数
$x_i$	:	$1 / (i-1/2)$ 1/day
$n_e$	:	1 容器当たり羽化個体総数

#### 4.3 最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC)

最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC) \*は、容器毎の羽化率 (ER) を arcsin-sqrt に変換し、この値を用いて ANOVA 法により求めた。

助剤対照区と全ての濃度区を入力し、得られた有意水準が  $p < 0.05$  以下では濃度区間に差があるとみなし、作用を及ぼしたと考えられる濃度区を除いて再解析を繰り返し、差が認められなくなった時点の最高濃度を最大無作用濃度を判断した。

なお、EcoTox ver. 2.6d による解析では、arcsin-sqrt 変換が  $ER_{arc} = \text{ATN}(\text{Root}(ER) / \text{Root}(1-ER \times ER))$  と算出されていたことから、Excel 2003 を用いて算出した。

- \* 最大無作用濃度 (NOEC) : 助剤対照区と有意差の認められない最高濃度
- 最小作用濃度 (LOEC) : 助剤対照区と有意差の認められる最低濃度



## 5 結果

### 5.1 試験成績の信頼性に影響をおよぼしたと思われる環境要因

認められなかった。

### 5.2 試験用水に対する被験物質の溶解度

#### (1) 試験用水に対する被験物質の溶解度

「3.4 被験物質の溶解度測定」に記載する方法で、フラスコ攪拌法により、被験物質の試験用水に対する溶解度を調べた結果、測定値は 2.52, 2.68, 2.87 mg/L の平均値 2.7 mg/L となり、この値を試験用水に対する被験物質の溶解度と判断した。

なお、文献値 0.001 mg/L (25℃) であり測定した結果と差が大きいこともあり、別に、ほぼ同様の操作で試験用水に対する溶解度を 2 回測定した。その平均値は、それぞれ 2.4, 3.0 mg/L であり、若干の変動が見られたが、操作時の脱塩素水の水質、操作や分析誤差から生じる変動の範囲と考え、中間の値である上記の 2.7 mg/L を採用した。

#### (2) pH の影響確認試験 1

pKa (解離定数) の文献値は 6.51 (25℃) であり、溶解度測定に使用した脱塩素水の pH が溶解度に影響するかを調べた。

その結果、脱塩素水 (当施設では通常、pH 7.7~7.9 の範囲) に対する溶解度が 2.7 mg/L であるのに対し、HCl により pH を 4.8 に低下させた脱塩素水に対しては 0.087 mg/L となり、溶解度は低かった。

	溶解度 (mg/L)			
	測定値			平均値
	1	2	3	
通常の脱塩素水	2.52	2.68	2.87	2.7
pH 4.8 に調整した脱塩素水	0.0858	0.0964	0.0777	0.087

#### pH の影響確認試験 2

脱塩素水、上層水、蒸留水に対する溶解度を測定した結果、脱塩素水と比較して、上層水、蒸留水に対する水溶解度は低かった。これらの溶液の pH を測定したところ脱塩素水と比較して、上層水、蒸留水の pH が低く、被験物質の溶解度は pH の影響を受けていることが示唆された。

	溶解度 (mg/L)				溶解時の溶液の pH
	測定値			平均値	
脱塩素水	3.09	3.10	2.95	3.0	7.7
上層水	0.112	0.108	0.126	0.12	6.1
蒸留水	0.095	0.105	0.141	0.11	5.8 ~ 6.3

### 5.3 人工底質ならびに間隙水、上層水の被験物質濃度

暴露開始時および暴露終了時に人工底質、間隙水、上層水中の被験物質濃度を測定した結果を Table 1 に示した。

#### (1) 人工底質中の被験物質濃度

暴露開始時の人工底質中の被験物質濃度は、設定濃度に対して 100～114 % の測定値が得られた。

暴露終了時の測定濃度は開始時と同等で、暴露期間中には被験物質濃度の減少が起きなかったことから、各作用濃度の算出には、暴露開始時の人工底質における実測濃度を採用した。

#### (2) 間隙水、上層水の被験物質濃度

56～1000 mg/kg 区における被験物質濃度の測定値は、暴露開始時が間隙水 0.101～0.538 mg/L、上層水 0.128～1.70 mg/L、暴露終了時が間隙水 0.083～0.914 mg/L、上層水 0.141～2.80 mg/L であった。

通常、間隙水の濃度は、底質から被験物質が溶出することで上層水よりも高くなると考えられ、今回の結果では濃度の逆転が起きていた。上層水に分散状態の被験物質が存在している可能性が考えられたことから、暴露終了時に、採取した上層水を遠心分離後、メンブランフィルターでろ過したところ濃度が低下した（例として、測定濃度 2.80 mg/L の 1000 mg/kg 区の上層水が 0.915 mg/L まで低下した）。これより、上層水の測定濃度は、溶解状態に加え分散状態の被験物質が存在していることにより、高くなっていたと推測された。

#### (3) 物質収支

全濃度区における、添加した被験物質質量に対する分析の測定値より算出される人工底質、間隙水および上層水中の被験物質の総量の割合は、暴露開始時で 101～114 % および暴露終了時で 103 ～ 116 % であり、物質収支の面でも特に問題はなかったと考えられた。

### 5.4 羽化日数と暴露期間

暴露期間における雌雄毎の羽化数を Table 2 に、羽化の状況を Figure 1 に示した。

対照区、助剤対照区の羽化は暴露開始 13 日目より始まり、「対照区での羽化が試験開始 12 日から 23 日にあること」とした試験成立条件を満たした。対照区および助剤対照区における総羽化数は 14 日にピークとなり、対照区では 19 日で全て終了した。暴露期間は 25 日間とした。

濃度区においては、1000 mg/kg 区を除き、対照区と同様に 14 日目に総羽化数のピークを示し、19 日で羽化が全て終了した。

### 5.5 羽化数

暴露終了時における雌雄毎の羽化数を Table 3 に示した。

対照区および助剤対照区における羽化数は、対照区が雄 31 個体、雌 38 個体の合計 69 個体（供試 80 個体に対する羽化率 86 %）、助剤対照区が雄 36 個体、雌 32 個体の合計 68 個体（羽化率 85 %）で、いずれも「羽化率が 70 % 以上であること」とした試験成立条件を満たした。

濃度区における羽化数は、56 mg/kg 区では 70 個体（羽化率 88 %）、100 mg/kg 区で 69 個体（羽化率 86 %）、180 mg/kg 区では 75 個体（羽化率 94 %）、320 mg/kg 区で 73 個体（羽化率 91 %）であり、いずれも助剤対照区に対する有意差は認められなかった。これに対して、560 mg/kg 区では 59 個体（羽化率 74 %）とやや減少傾向にあり、1000 mg/kg 区では 13 個体（羽化率 16 %）と、羽化の阻害が認められた。

### 5.6 雌雄差の確認

被験物質に対する雌雄の感受性差を調べるため、雌雄毎の羽化数を基に、濃度区毎に助剤対照区に対する差の有無を  $\chi^2$  乗検定法により検定し、その結果を Table 4 に示した。

検定の結果、全ての濃度区において雌雄毎の羽化数と助剤対照区の雌雄の羽化数には差が認められず、当該被験物質に対する雄と雌の感受性差はないと考えられた。

羽化日数 (Table 2) でみた場合においても、対照区、助剤対照区における雌雄毎の羽化の傾向（雌の羽化が雄よりも 1 日程度遅れ、ややなだらかになる傾向）と、各濃度区との傾向は同様であった。

以上より、羽化における雌雄差への影響はないものと判断し、雌雄を合計した羽化数を基に、羽化率ならびに変態速度を算出した。

### 5.7 羽化率 (Emergence Ratio)

ユスリカの羽化率 (Emergence Ratio:ER) について算出した結果を Table 5 に示した。

対照区、助剤対照区の羽化率は、それぞれ  $0.863 \pm 0.075$ 、 $0.850 \pm 0.000$ （いずれも平均値  $\pm$  標準偏差）であり、arcsin-sqrt 変換後の ANOVA の結果、有意差は認められなかった（付属資料-4 データ解析）。

各濃度区の羽化率は、56 mg/kg 区  $0.875$ （助剤対照区に対する阻害率 -3 %）、100 mg/kg

区 0.863 (阻害率 -1 %)、180 mg/kg 区 0.938 (阻害率 -10 %)、320 mg/kg 区 0.913 (阻害率 -7 %)、560 mg/kg 区 0.738 (阻害率 13 %)、1000 mg/kg 区 0.163 (阻害率 81 %) であった。助剤対照区に対して 1000 mg/kg 区で有意差 ( $p < 0.01$ ) が認められた。

なお、予備試験時には羽化阻害率が 320 mg/kg 区 -6 %、1000 mg/kg 区 33 %となり、やや弱く影響が現れ、1 回目本試験では、100 mg/kg 区で 0 %、180 mg/kg 区 41 %、320 mg/kg 区 78 %、560 mg/kg 区で 78 %、1000 mg/kg 区で 87 %でありやや影響が強く出る傾向が認められた。1 回目本試験では助剤対照区の羽化率 (ER) が 0.575 と低かったことから、底質やユスリカの状態による変動の可能性も考えられた。

#### 5.8 変態速度 (Development Rate)

ユスリカの変態速度 (Development Rate) を算出した結果を Table 6 に示した (付属資料—3 羽化調査データ 参照)。

対照区と助剤対照区は変態速度がそれぞれ  $0.0729 \pm 0.0027$ 、 $0.0716 \pm 0.0041$  (いずれも平均値  $\pm$  標準偏差) であり、t 検定の結果、有意差は認められなかった (付属資料—4 データ解析)。

濃度区では、平均変態速度に対する被験物質の影響は非常に小さく、試験最高濃度の 1000 mg/kg 区においても  $0.0687 \pm 0.0008$  (助剤対照区に対する阻害率 4 %) であった (阻害率、変動の幅とも非常に小さく、生物的な影響からみた有意性はないと判断し、検定は行わなかった)。

#### 5.9 50 %羽化阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) の算出

羽化率 (Emergence Rate) および変態速度 (Development Rate) の結果より算出された助剤対照区に対する 50 %羽化阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) を Table 7 および以下に示した。

$EC_{50}$  (羽化個体数) は統計解析により 870 mg/kg と算出された。

$EC_{50}$  (変態速度) は 1000 mg/kg 区においても阻害率が 4 %であり、その分析値 (1140 mg/kg) 以上と判断した。

##### 50 %羽化阻害濃度

$EC_{50}$  (羽化個体数) : 870 mg/kg (95 %信頼限界 740 ~ 1030 mg/kg) , Probit  
 $EC_{50}$  (変態速度) : >1140 mg/kg

#### 5.10 最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC)

最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC) は、容器毎に算出した羽化率 (Emergence Rate) より算出し、その結果を Table 7 および以下に示す。

羽化率 (Emergence Rate) は、arcsin-sqrt に変換後 ANOVA 法により解析した結果、560, 1000 mg/kg 区を除外した時に助剤対照区を含めた残りの濃度区間で差が認められなかった ( $p>0.05$ ) ことから、320 mg/kg 区の分析値 (360 mg/kg) を最大無作用濃度、560 mg/kg 区の分析値 (610 mg/kg) を最小作用濃度とした。

#### 最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC)

羽化率 (ER)	最大無作用濃度 (NOEC)	:	360 mg/kg
	最小作用濃度 (LOEC)	:	610 mg/kg

#### 5.11 上層水の水温、溶存酸素濃度および pH 等

上層水の水温、溶存酸素濃度、pH、硬度・アンモニア濃度について、測定した結果を Table 8～11 に示した。

暴露期間中の全試験容器の水温は 22.7 ～ 23.8℃の範囲内で、設定温度 (23℃) に対する変動は  $\pm 1$ ℃以内であり、試験成立条件を満たした。

溶存酸素濃度は 7.2 ～ 8.5 mg/L の範囲内であり、全ての試験区で飽和溶存酸素濃度の 60 %以上が維持され、試験成立条件を満たした (23.0℃の飽和溶存酸素濃度 : 8.39 mg/L)。

pH は、暴露期間中の全ての試験区について測定値が 8.1 ～ 8.6 の範囲内にあり、試験成立条件の 6 ～ 9 の範囲を満たした。

上層水の硬度 (CaCO<sub>3</sub> 換算) は、暴露開始時は、対照区 42 mg/L、1000 mg/kg 区 49 mg/L、終了時にはそれぞれ 28 mg/L、34 mg/L であった。アンモニア濃度は、暴露開始時には対照区、1000 mg/kg 区とも 定量下限値 (5 mg/L) 未満で、終了時はそれぞれ 5 mg/L 未満～9 mg/L および 5 mg/L 未満～10 mg/L の範囲内であった。

#### 5.12 試験計画書からの逸脱の有無

試験計画書からの逸脱は無かった。

6 保管

試験に関する下記の記録および試資料は、当施設の資料保管施設に保管する。

- 1) 主計画表
- 2) 試験計画書、生データおよび最終報告書
- 3) 信頼性保証部門によって実施された監査または査察の記録
- 4) 職員の資格、訓練、経験および職務分掌の記録
- 5) 機器類の保守点検および校正の記録および報告書
- 6) コンピュータ化されたシステムの有効性確認の記録
- 7) 全標準操作手順書の経時的ファイル
- 8) 環境モニター記録
- 9) 被験物質、対照物質
- 10) その他の資料

以 上

Table 1 Measured Concentration of the Test Substance (Static Condition)

## (a) Sediment

Nominal Concentration (mg/kg sediment dry weight)	Measured Concentration (mg/kg dry weight) (Percent of Nominal)		
	0 day (Start of the Test)	25 day (End of the Test)	Mean <sup>a</sup> Measured Concentration
Control	<0.3 ( - )	<0.3 ( - )	- ( - )
Solvent Cont.	<0.3 ( - )	<0.3 ( - )	- ( - )
56	56.0 (100)	60.1 (107)	58.1 (104)
100	100 (100)	102 (102)	101 (101)
180	189 (105)	192 (107)	191 (106)
320	358 (112)	369 (115)	364 (114)
560	610 (109)	625 (112)	618 (110)
1000	1140 (114)	1090 (109)	1120 (112)

a : Arithmetic mean

- : Not calculated

## (b) Pore Water and Overlying Water

Nominal Concentration (mg/kg sediment dry weight)	Measured Concentration (mg/L)				
	0 day (Start of the Test)		25 day (End of the Test)		
	Pore Water	Overlying Water	Pore Water	Overlying Water	
				Without Filtration	After Centrifuge and Filtration
Control	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
Solvent Cont.	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
56	0.101	0.128	0.083	0.141	0.051
100	0.125	0.230	0.126	0.202	0.091
180	0.132	0.468	0.213	0.383	0.186
320	0.393	0.827	0.368	1.07	0.411
560	0.472	1.20	0.756	1.77	0.870
1000	0.538	1.70	0.914	2.80	0.915

Table 2 The Hatching Day and Numbers

Nominal Concentration (Initial Measured Conc.) [mg/kg sediment dry weight]		The Hatched Numbers										Start to End
		0-12	13	14	15	16	17	18	19	20-25	Total	
Control ( - )	Male	0	14	12	3	1	1	0	0	0	31	13-17
	Female	0	0	23	8	3	2	1	1	0	38	14-19
	Total	0	14	35	11	4	3	1	1	0	69	13-19
	Accumulation	0	14	49	60	64	67	68	69	69	-	-
Solvent Control ( - )	Male	0	10	19	4	2	0	1	0	0	36	13-18
	Female	0	0	10	12	7	1	2	0	0	32	14-18
	Total	0	10	29	16	9	1	3	0	0	68	13-18
	Accumulation	0	10	39	55	64	65	68	68	68	-	-
56 (56.0)	Male	0	15	24	0	0	0	0	0	0	39	13-14
	Female	0	0	11	13	6	1	0	0	0	31	14-17
	Total	0	15	35	13	6	1	0	0	0	70	13-17
	Accumulation	0	15	50	63	69	70	70	70	70	-	-
100 (100)	Male	0	13	29	0	0	0	0	0	0	42	13-14
	Female	0	0	14	7	5	1	0	0	0	27	14-17
	Total	0	13	43	7	5	1	0	0	0	69	13-17
	Accumulation	0	13	56	63	68	69	69	69	69	-	-
180 (189)	Male	0	8	30	3	1	0	2	0	0	44	13-18
	Female	0	0	16	8	6	0	1	0	0	31	14-18
	Total	0	8	46	11	7	0	3	0	0	75	13-18
	Accumulation	0	8	54	65	72	72	75	75	75	-	-
320 (358)	Male	0	5	29	1	0	2	0	0	0	37	13-17
	Female	0	0	9	17	10	0	0	0	0	36	14-16
	Total	0	5	38	18	10	2	0	0	0	73	13-17
	Accumulation	0	5	43	61	71	73	73	73	73	-	-
560 (610)	Male	0	2	23	3	1	0	0	0	0	29	13-16
	Female	0	0	3	14	13	0	0	0	0	30	14-16
	Total	0	2	26	17	14	0	0	0	0	59	13-16
	Accumulation	0	2	28	45	59	59	59	59	59	-	-
1000 (1140)	Male	0	0	2	1	2	0	0	0	0	5	14-16
	Female	0	0	1	6	0	0	0	1	0	8	14-19
	Total	0	0	3	7	2	0	0	1	0	13	14-19
	Accumulation	0	0	3	10	12	12	12	13	13	-	-

- : Not calculated



Table 3 Sum of Emerged Midges

Nominal Concentration (Initial Measured Conc.) [mg/kg sediment dry weight]		Emerged Midges (20 Larvae Applied per Vessel)				Sum of Emerged Midges	Percent to Applied 80 Larvae	
		Vessel Number						Total
		1	2	3	4			
Control	Male	9	6	9	7	31	69	86*
	Female	10	12	7	9	38		
	Total	19	18	16	16	69		
Solvent Control ( - )	Male	9	10	9	8	36	68	85*
	Female	8	7	8	9	32		
	Total	17	17	17	17	68		
56 (56.0)	Male	9	11	10	9	39	70	88
	Female	9	8	8	6	31		
	Total	18	19	18	15	70		
100 (100)	Male	18	7	10	7	42	69	86
	Female	0	9	7	11	27		
	Total	18	16	17	18	69		
180 (189)	Male	9	9	12	14	44	75	94
	Female	9	10	8	4	31		
	Total	18	19	20	18	75		
320 (358)	Male	9	12	10	6	37	73	91
	Female	9	6	8	13	36		
	Total	18	18	18	19	73		
560 (610)	Male	8	6	9	6	29	59	74
	Female	5	8	9	8	30		
	Total	13	14	18	14	59		
1000 (1140)	Male	2	3	0	0	5	13	16
	Female	3	3	1	1	8		
	Total	5	6	1	1	13		

\* : Hatching criterion (hatching success: more than 70 %)

Table 4 Sensitivity Differences of Emerged Midges between Sexes  
( $\chi^2$ -r $\times$ 2 Table Test)

	Male	Female	Total	$\chi^2$ value**	Sig***
Control ( - )	31	38	69	0.589	NS
Solvent Cont. ( - )	36	32	68		
Total	67	70	137		

	Male	Female	Total	$\chi^2$ value**	Sig***
Solvent Cont. ( - )	36	32	68	0.024	NS
56 mg/kg (56.0) *	39	31	70		
Total	75	63	138		

	Male	Female	Total	$\chi^2$ value**	Sig***
Solvent Cont. ( - )	36	32	68	0.584	NS
100 mg/kg (100) *	42	27	69		
Total	78	59	137		

	Male	Female	Total	$\chi^2$ value**	Sig***
Solvent Cont. ( - )	36	32	68	0.270	NS
180 mg/kg (189)	44	31	75		
Total	80	63	143		

	Male	Female	Total	$\chi^2$ value**	Sig***
Solvent Cont. ( - )	36	32	68	0.010	NS
320 mg/kg (358) *	37	36	73		
Total	73	68	141		

	Male	Female	Total	$\chi^2$ value**	Sig***
Solvent Cont. ( - )	36	32	68	0.062	NS
560 mg/kg (610) *	29	30	59		
Total	65	62	127		

	Male	Female	Total	$\chi^2$ value**	Sig***
Solvent Cont. ( - )	36	32	68	0.428	NS
1000 mg/kg (1140) *	5	8	13		
Total	41	40	81		

$\chi^2$  (n-1=1, p=0.05) = 3.841

- : Not calculated

\* : Nominal Concentration (Initial Measured Concentration)  
[mg/kg sediment dry weight]

\*\* : With Yates' correction

\*\*\* : Sig (Significant difference)

NS : Not significant difference (p>0.05)

Table 5 Emergence Ratio  
(a) Emergence Ratio (Normal)

Vessel Number	Emergence Ratio (Male and Female Total)							
	Nominal Concentration (Initial Measured Conc.) [mg/kg sediment dry weight]							
	Control ( - )	Solvent ( - )	56 (56.0)	100 (100)	180 (189)	320 (358)	560 (610)	1000 (1140)
1	0.950	0.850	0.900	0.900	0.900	0.900	0.650	0.250
2	0.900	0.850	0.950	0.800	0.950	0.900	0.700	0.300
3	0.800	0.850	0.900	0.850	1.000	0.900	0.900	0.050
4	0.800	0.850	0.750	0.900	0.900	0.950	0.700	0.050
Average	0.863	0.850	0.875	0.863	0.938	0.913	0.738	0.163
SD	0.075	0.000	0.087	0.048	0.048	0.025	0.111	0.131
Inhibition*(%)	-1	0	-3	-1	-10	-7	13	81
Significant difference **	-	-	NS	NS	NS	NS	NS	P<0.01

- : Not calculated

SD : Standard deviation

\* : To solvent control

\*\* : By Dunnett's multicomparison test

NS : Not significant difference ( $p>0.05$ ) to solvent control

(b) Arcsin-Sqrt-Transformation of Emergence Ratio

Vessel Number	Emergence Ratio (Male and Female Total)							
	Nominal Concentration (Initial Measured Conc.) [mg/kg sediment dry weight]							
	Control ( - )	Solvent ( - )	56 (56.0)	100 (100)	180 (189)	320 (358)	560 (610)	1000 (1140)
1	1.345	1.173	1.249	1.249	1.249	1.249	0.938	0.524
2	1.249	1.173	1.345	1.107	1.345	1.249	0.991	0.580
3	1.107	1.173	1.249	1.173	1.571	1.249	1.249	0.226
4	1.107	1.173	1.047	1.249	1.249	1.345	0.991	0.226
Average	1.202	1.173	1.223	1.195	1.354	1.273	1.042	0.389
SD	0.117	0.000	0.125	0.068	0.152	0.048	0.140	0.190
Inhibition*(%)	-2	0	-4	-2	-15	-9	11	67
ANOVA	-	p<0.01 from Solvent Control to 1000 mg/kg						
	-	p<0.05 from Solvent Control to 560 mg/kg						-
Significant difference	-	Not significant difference ( $p>0.05$ ) from Solvent Control to 320 mg/kg					Sig	Sig

- : Not calculated

\* : To solvent control

SD : Standard deviation

Sig : Significant difference ( $p<0.05$ )

Table 6 Development Rate

Vessel Number	Development Rate (Male and Female Total)							
	Nominal Concentration (Initial Measured Conc.)							
	[mg/kg sediment dry weight]							
	Control	Solvent	56	100	180	320	560	1000
	Control							
	( - )	( - )	(56.0)	(100)	(189)	(358)	(610)	(1140)
1	0.0692	0.0735	0.0726	0.0760	0.0739	0.0712	0.0722	0.0691
2	0.0739	0.0746	0.0735	0.0745	0.0726	0.0732	0.0700	0.0674
3	0.0757	0.0656	0.0741	0.0743	0.0714	0.0719	0.0711	0.0690
4	0.0729	0.0725	0.0733	0.0704	0.0717	0.0700	0.0689	0.0690
Average	0.0729	0.0715	0.0734	0.0738	0.0724	0.0716	0.0705	0.0686
SD	0.0027	0.0041	0.0006	0.0024	0.0011	0.0013	0.0014	0.0008
Inhibition* (%)	-2	0	-3	-3	-1	0	1	4

- : Not calculated

SD : Standard deviation

\* : To solvent control

Table 7 EC<sub>50</sub> and NOEC values

	EC <sub>50</sub> (mg/kg)	95 % Confidence Limit (mg/kg)	Statistic Method
Emergence Ratio	870	740 - 1030	Probit
Development Rate	>1140	-	-

	NOEC (mg/kg)	LOEC (mg/kg)	Statistic Method
Emergence Ratio*	360	610	ANOVA

- : Not adaptable

\* : By arcsin-sqrt-transformation

Table 8 Water Temperature

(Static Condition)

Nominal Concentration (Initial Measured Conc.) [mg/kg sediment dry weight]	No.	Water Temperature °C							
		0	4	7	11	14	18	21	25
Control ( - )	1	22.8	23.4	23.0	22.8	22.8	23.0	23.0	23.2
	2	22.7	23.6	23.2	23.2	23.2	23.0	23.2	23.6
	3	22.8	23.6	23.2	23.0	23.0	23.0	23.2	23.4
	4	22.9	23.4	23.0	23.0	22.8	23.0	23.0	23.2
Solvent Control ( - )	1	22.9	23.2	23.0	22.8	22.8	23.0	22.8	23.0
	2	23.2	23.4	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0
	3	23.2	23.6	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0	23.0
	4	23.0	23.2	23.0	22.8	23.0	23.0	22.9	23.0
56 (56.0)	1	23.1	23.2	23.0	22.8	23.0	22.8	22.8	23.2
	2	23.2	23.2	23.0	22.8	23.0	23.0	22.8	22.8
	3	23.4	23.3	22.9	22.8	23.2	23.0	22.8	22.9
	4	23.4	23.2	22.9	22.8	23.2	22.8	22.8	22.8
100 (100)	1	23.4	23.0	22.8	22.7	23.0	22.8	22.8	23.0
	2	23.2	23.1	22.8	22.7	23.0	22.8	22.8	22.8
	3	23.3	23.1	22.8	22.8	23.0	22.8	22.8	22.8
	4	23.3	23.2	22.8	22.8	22.8	22.8	22.8	22.8
180 (189)	1	23.4	23.2	23.0	22.8	22.8	22.8	22.8	22.8
	2	23.4	23.2	23.0	22.8	22.8	22.8	22.8	22.8
	3	23.4	23.2	23.0	22.8	23.2	22.8	23.0	22.8
	4	23.4	23.2	23.0	22.8	22.8	22.8	22.9	22.8
320 (358)	1	23.6	23.2	23.0	22.8	23.2	22.8	23.0	22.8
	2	23.6	23.2	23.1	22.8	22.8	23.0	23.0	22.8
	3	23.6	23.3	23.0	22.9	23.2	23.0	23.1	22.8
	4	23.6	23.3	23.0	22.8	22.9	22.8	23.0	22.8
560 (610)	1	23.6	23.4	23.0	22.9	22.8	23.0	23.2	23.0
	2	23.7	23.4	23.0	23.0	23.0	23.0	23.2	23.2
	3	23.7	23.4	23.0	23.0	22.8	23.0	23.2	23.2
	4	23.7	23.4	23.0	22.9	23.2	23.0	23.2	23.0
1000 (1140)	1	23.7	23.4	23.1	23.0	22.8	23.2	23.2	23.0
	2	23.8	23.4	23.1	23.1	22.8	23.2	23.2	22.8
	3	23.8	23.6	23.1	23.1	22.8	23.2	23.2	23.2
	4	23.8	23.6	23.0	22.9	22.8	23.0	23.2	23.2

- : Not calculated

Table 9 Dissolved Oxygen Concentration

(Static Condition)

Nominal Concentration (Initial Measured Conc.) [mg/kg sediment dry weight]	No.	Dissolved Oxygen Concentration mg/L							
		0	4	7	11	14	18	21	25
Control ( - )	1	7.9	7.8	7.6	7.9	8.1	8.0	8.0	8.4
	2	7.8	7.7	7.6	7.7	8.1	8.0	8.1	8.3
	3	7.8	7.8	7.7	7.7	8.1	8.1	8.0	8.3
	4	7.9	7.8	7.8	8.0	8.1	8.1	8.1	8.3
Solvent Control ( - )	1	7.9	7.7	7.8	7.9	7.9	8.1	8.1	8.4
	2	7.8	7.6	7.5	7.8	7.9	8.2	8.2	8.4
	3	7.7	7.2	7.7	7.8	8.0	8.2	7.9	8.4
	4	7.9	7.9	7.7	8.0	8.1	8.2	8.3	8.4
56 (56.0)	1	7.9	7.9	7.6	7.8	8.0	8.2	8.2	8.5
	2	7.9	7.9	7.8	7.9	8.1	8.2	8.2	8.4
	3	7.8	7.8	7.5	7.9	8.1	8.2	8.2	8.4
	4	7.9	7.8	7.7	7.9	8.0	8.2	8.1	8.4
100 (100)	1	8.0	7.8	7.6	7.8	8.0	8.2	8.2	8.3
	2	7.9	7.8	7.7	7.8	8.1	8.2	8.2	8.4
	3	7.9	7.9	7.8	7.9	8.1	8.3	8.2	8.4
	4	8.0	7.8	8.0	8.1	8.1	8.3	8.2	8.4
180 (189)	1	7.9	7.8	7.8	7.9	8.1	8.3	8.2	8.4
	2	7.9	7.8	7.8	7.8	8.0	8.2	8.2	8.4
	3	7.9	7.8	7.8	7.9	8.0	8.3	8.2	8.4
	4	8.0	7.6	7.8	7.9	8.0	8.2	8.1	8.5
320 (358)	1	7.9	7.8	7.9	7.9	7.9	8.1	8.1	8.3
	2	7.9	7.7	7.8	7.8	7.8	8.2	8.2	8.4
	3	7.9	7.9	7.9	7.8	8.0	8.3	8.3	8.4
	4	7.9	7.8	7.8	7.9	8.0	8.2	8.2	8.4
560 (610)	1	7.9	7.8	7.8	7.8	7.9	8.3	8.1	8.3
	2	7.9	7.8	7.8	7.9	7.8	8.2	8.1	8.3
	3	7.9	7.8	7.6	7.8	7.8	8.3	8.3	8.5
	4	8.0	7.9	7.7	7.9	7.9	8.2	8.3	8.4
1000 (1140)	1	7.8	7.9	7.7	7.9	7.8	8.1	8.1	8.3
	2	7.8	7.8	7.5	7.8	7.7	8.2	8.0	8.2
	3	7.8	7.8	7.7	7.8	7.8	8.2	8.1	8.3
	4	7.9	7.9	7.8	7.9	7.9	8.2	8.2	8.3

- : Not calculated

Table 10 pH

(Static Condition)

Nominal Concentration (Initial Measured Conc.) (mg/kg sediment dry weight)	No.	pH							
		0	4	7	11	14	18	21	25
Control (-)	1	8.3	8.3	8.2	8.3	8.3	8.4	8.2	8.2
	2	8.3	8.3	8.2	8.3	8.3	8.5	8.4	8.4
	3	8.4	8.4	8.2	8.3	8.3	8.5	8.4	8.4
	4	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.4	8.4
Solvent Control (-)	1	8.3	8.4	8.2	8.3	8.3	8.5	8.4	8.4
	2	8.3	8.3	8.2	8.3	8.3	8.5	8.4	8.6
	3	8.3	8.3	8.3	8.4	8.3	8.5	8.1	8.3
	4	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.5	8.4
56 (56.0)	1	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.4	8.3
	2	8.3	8.4	8.3	8.4	8.4	8.5	8.4	8.4
	3	8.4	8.4	8.2	8.3	8.3	8.5	8.5	8.5
	4	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.4	8.3
100 (100)	1	8.3	8.3	8.2	8.3	8.3	8.5	8.4	8.4
	2	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.4	8.4
	3	8.3	8.4	8.3	8.4	8.4	8.5	8.5	8.4
	4	8.3	8.4	8.3	8.4	8.4	8.5	8.4	8.4
180 (189)	1	8.3	8.4	8.3	8.4	8.3	8.5	8.5	8.4
	2	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.5	8.4
	3	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.5	8.4
	4	8.3	8.3	8.3	8.3	8.4	8.5	8.2	8.5
320 (358)	1	8.3	8.4	8.3	8.4	8.3	8.5	8.4	8.4
	2	8.3	8.4	8.3	8.4	8.3	8.5	8.5	8.4
	3	8.3	8.4	8.3	8.4	8.3	8.5	8.5	8.4
	4	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.5	8.4
560 (610)	1	8.3	8.4	8.3	8.3	8.3	8.5	8.4	8.4
	2	8.3	8.4	8.3	8.4	8.3	8.5	8.5	8.4
	3	8.3	8.4	8.2	8.3	8.3	8.5	8.5	8.5
	4	8.3	8.4	8.2	8.3	8.3	8.5	8.4	8.4
1000 (1140)	1	8.4	8.4	8.3	8.4	8.3	8.4	8.2	8.2
	2	8.4	8.4	8.3	8.4	8.3	8.4	8.4	8.4
	3	8.3	8.4	8.3	8.4	8.3	8.5	8.5	8.4
	4	8.3	8.4	8.3	8.4	8.3	8.4	8.4	8.4

- : Not calculated

Table 11 Hardness and Ammonia

(Static Condition)					
Nominal Concentration (Initial Measured Conc.) (mg/kg sediment dry weight)	Vessel No.	0 day (Start of the Test)		25 day (End of the Test)	
		Hardness (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	Ammonia (mg/L)	Hardness (mg/L CaCO <sub>3</sub> )	Ammonia (mg/L)
Control ( - )	1	42	<5	28	<5
	2	-	-	-	8
	3	-	-	-	8
	4	-	-	-	9
1000 (1140)	1	49	<5	34	<5
	2	-	-	-	10
	3	-	-	-	10
	4	-	-	-	9



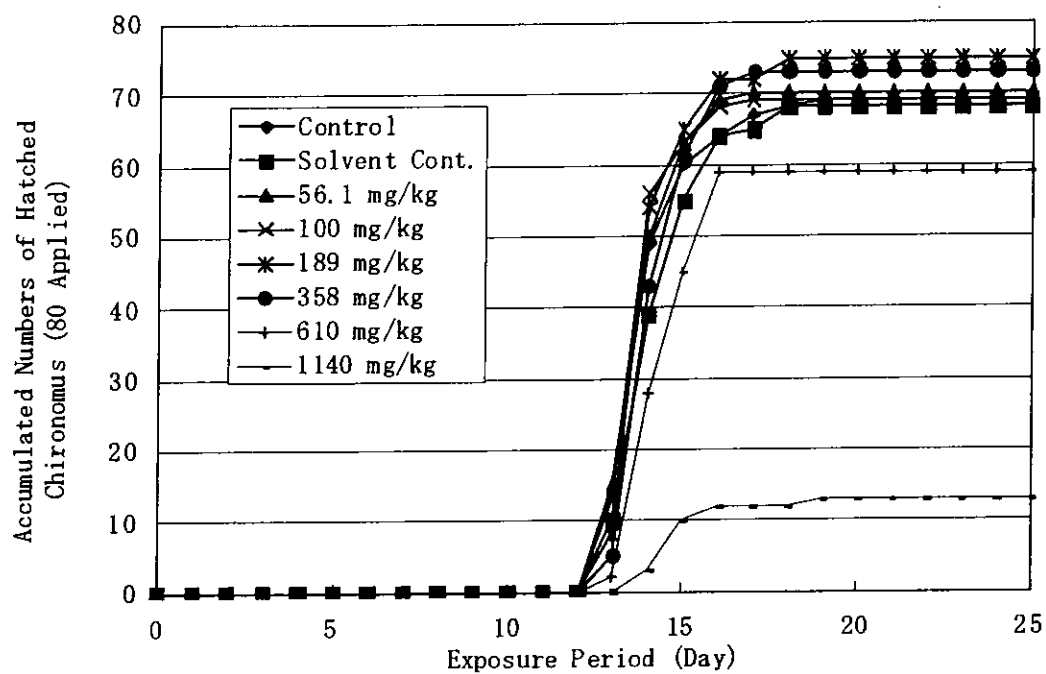


Figure 1 Accumulated Numbers of Hatched *Chironomus*

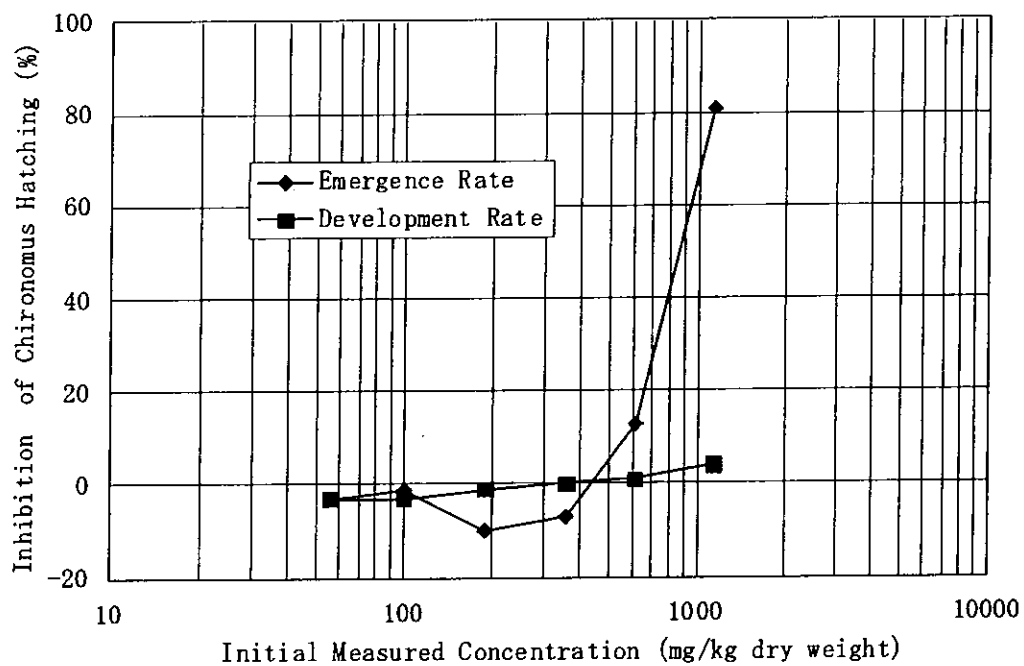


Figure 2 Concentration - Response Curves

## 付 属 資 料 ー 1

### 予 備 試 験 お よ び 1 回 目 本 試 験 の 結 果

Table B-1 Hatched Numbers and Inhibition of ER

(Range Finding Test)

Nominal Concentration (mg/kg dry weight)	Vessel Numbers	Applied Numbers	Hatched Numbers	Emergence Ratio*	Inhibition** (%)
Control	1	20	14	0.700	22
Solvent Control	1	20	18	0.900	0
100	1	20	15	0.750	17
320	1	20	19	0.950	-6
1000	1	20	12	0.600	33

\* : Emergence Ratio to total applied numbers

\*\* : Values are the percent inhibition relative to the solvent control

Table B-2 Measured Concentration of the Test Substance in the Sediment

(Range Finding Test)

Nominal Concentration (mg/kg dry weight)	Measured Concentration (mg/kg dry weight)	
	0 day (Start of the Test)	28 day (End of the Test)
Control	<0.3	<0.3
Solvent Control	<0.3	<0.3
100	98.9	90.6
320	344	322
1000	1160	1040

Table C-1 Hatched Numbers and Inhibition of ER

Nominal Concentration (mg/kg dry weight)	Vessel Numbers	Applied Numbers	Hatched Numbers	(1st Test)	
				Emergence Ratio*	Inhibition** (%)
Control	4	80	49	0.613	-7
Solvent Control	4	80	46	0.575	0
100	4	80	46	0.575	0
180	4	80	27	0.338	41
320	4	80	10	0.125	78
560	4	80	10	0.125	78
1000	4	80	6	0.075	87

\* : Emergence Ratio to total applied numbers

\*\* : Values are the percent inhibition relative to the solvent control

Table C-2 Measured Concentration of the Test Substance in the Sediment

Nominal Concentration (mg/kg dry weight)	(1st Test)	
	Measured Concentration (mg/kg dry weight)	
	0 day (Start of the Test)	28 day (End of the Test)
Control	<0.3	-
Solvent Control	<0.3	-
100	104	-
180	193	-
320	342	-
560	586	-
1000	1010	-

- : Not measured because this test was not valid

## 付 属 資 料 ー 2

### 試 験 試 料 の 分 析 法

## テトラブロモビスフェノールA分析法

### 1. 分析法の概要

人工底質は、間隙水を遠心分離で除いた一定量を取り、これにアセトニトリルを一定量添加し、被験物質を振とう抽出した抽出液を前処理溶液とする。

上層水、間隙水は、ジクロロメタンを用いて被験物質を抽出し、乾固後、アセトニトリル水溶液で再溶解する。必要に応じてこの溶液を希釈することで前処理溶液とする。

これらの前処理溶液の一定量について、UV 検出器を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入し、クロマトグラムおよびピーク面積 (カウント数) をデータ処理装置から求める。このピーク面積を用い、標準液の検量線から前処理溶液中の被験物質濃度を求め、それぞれの濃縮・希釈倍率で換算することで、人工底質、上層水、間隙水中の被験物質濃度を求める。

人工底質については、別途水分含量を測定し、その値を基に換算することで乾燥重量あたりの被験物質濃度を求める。

### 2. 分析方法

#### (1) 装置および器具

a) 高速液体クロマトグラフ	: L-6000 型	日立製作所
b) 分離カラム	: Inertsil ODS-80A, 250×4.6 mm φ	GL サイエンス
c) カラム恒温槽	: L-5025 型	日立製作所
d) UV 検出器	: L-4000 型	日立製作所
e) オートサンプラー	: L-2200 型	日立製作所
f) データ処理装置	: D-2500 型	日立製作所
g) 化学天秤	: AG-204 型	メトラー
h) 超音波洗浄器	: BRANSON 8200 型	ヤマト科学
i) 純水製造装置	: Milli-Q SP TOC	ミリポア
j) ガラス製トールビーカー	: 500 mL	柴田科学
k) メスシリンダー	: 容量 50, 100, 500 mL	柴田科学
l) メスフラスコ	: 容量 10 mL, 100 mL	柴田科学
m) ホールピペット	: 容量 2, 5, 10, 20 mL	柴田科学
n) 分液ロート	: 容量 200 mL	柴田科学
o) 三角フラスコ	: 容量 200 mL	柴田化学
p) 振とう機	: SA-31	ヤマト化学
q) シリンジ	: 容量 2.5, 10 mL	テルモ
r) フィルター	: DISMIC-25HP (PTFE 0.45 μL)	アドバンテック
s) マイクロピペット	: 容量 100, 500, 1000 μL	エッペンドルフ
t) エバポレーター	: 一式	柴田化学

(2) 試薬

- a) テトラプロモビスフェノールA : 純度 99.8 %, ロット番号 T556F XXXXXXXXXX
- b) アセトニトリル : HPLC 用 和光純薬
- c) ジクロロメタン : ダイオキシン類分析用 和光純薬
- d) 純水 : 純水製造装置で調製

(3) 試薬の調製

a) 溶離液

アセトニトリル 700 mL と純水 300 mL をそれぞれメスシリンダーで量り取り混合する。調製した溶離液は使用前に超音波処理をしながら減圧し、脱気する。

b) 被験物質標準原液 (1000 mg/L)

被験物質約 100 mg を 100 mL メスフラスコに 0.1 mg の桁まで精秤する。これにアセトニトリルを加えて溶解し 100 mL とする。秤量した質量から、純度換算を行った上、正確な被験物質の濃度を算出する。

c) 50 % アセトニトリル水溶液 (希釈液)

アセトニトリル 500 mL と純水 500 mL をそれぞれメスシリンダーで量り取り混合する。

(4) 操作

[人工底質の前処理]

- a) 200 mL 三角フラスコに試料約 20 g を正確に秤量し、ホールピペットを用い、アセトニトリル 20 mL を添加する。
- b) 振とう機にセットし、室温で 10 分間振とう抽出を行う。
- c) 振とう抽出後、静置し、上澄み液を 10 mL シリンジに採取しフィルターろ過する。
- d) ホールピペットを用い、10 mL メスフラスコにろ過液 0.10~5.0 mL を採取後、純水を用いて 10 mL とし、前処理溶液とする (希釈倍率 2~100 倍)。

[上層水、間隙水の前処理]

- a) メスシリンダーを用い、上層水もしくは間隙水約 10 mL を正確に測定し、200 mL 分液ロートに採取する (浮遊物が生じるため最大でも 10 mL とする)。
- b) 全量が 100 mL となるよう純水を加える。
- c) メスシリンダーを用い、ジクロロメタン 30 mL を添加後、容器を振り混ぜる。
- d) コックを上にして、ガス抜きを行なう。
- e) 振とう機にセットし、室温で 10 分間振とう抽出を行う。

- f) 振とう抽出後しばらく静置する。
- g) 下層のジクロロメタン層を 100 mL ナス形フラスコに採取し、エバポレーターで減圧乾固 (40℃) する。
- h) 放冷後、50 % アセトニトリル水溶液 2 mL をホールビペットで加えて被験物質を再溶解する。
- i) 2.5 mL シリンジに採取後、フィルターでろ過し、前処理溶液とする (濃縮倍率 5 倍～希釈倍率 4 倍)。

#### [測定操作]

- a) 「3. HPLC測定条件」に記載する分析条件で HPLCを作動し、装置を安定させる。
- b) 「4. 検量線の作成」に記載する方法で検量線の標準液を調製する。
- c) 前処理溶液について、その 50  $\mu$ L を HPLCに注入してクロマトグラムおよびピーク面積 (カウント数) を得る。
- d) 検量線により前処理溶液の被験物質の濃度を求め、濃縮もしくは希釈倍率で換算して上層水・間隙水もしくは人工底質の被験物質濃度を算出する。
- e) 人工底質については、別途、分析に供したのと同じ試料について約 10 g を正確に秤り取り、120 ℃で 1 日間乾燥して測定した乾燥重量より水分含量 (約 25 %) を算出し、分析値を乾燥重量に換算する。

### 3. HPLC 測定条件

- a) 分離カラム : Inertsil ODS-80A, 250×4.6 mm  $\phi$
- b) 恒温槽温度 : 40℃
- c) 溶離液 : アセトニトリル/純水 (70/30)
- d) 流量 : 1.0 mL/min
- e) 検出波長 : 上層水および間隙水 ; UV 220 nm、人工底質 ; UV 295 nm
- f) 注入量 : 50  $\mu$ L

### 4. 検量線の作成

#### (1) 人工底質

- a) 被験物質標準原液 (1023 mg/L) 1000  $\mu$ L を 10 mL メスフラスコに正確に分取しアセトニトリルで 10 mL とし、102.3 mg/L 溶液を調製する。
- b) この調製液の 100, 500, 1000  $\mu$ L をそれぞれ 10 mL メスフラスコに正確に分取し、50 % アセトニトリル水溶液を用いて 10 mL とすることで、1.023, 5.115, 10.23 mg/L 標準液とする。
- c) 各標準液について 50  $\mu$ L を HPLCに注入し、データ処理装置からクロマトグラムおよびピーク面積 (カウント数) を得る。
- d) 被験物質濃度を横軸にピーク面積を縦軸にとり検量線を作成する。この時の回帰式の



寄与率 ( $R^2$ ) も算出する。

表 1 検量線に使用したデータ例

No.	被験物質濃度 (mg/L)	ピーク面積 ( $\mu V \cdot sec$ )
1	0	0
2	1.023	8647
3	5.115	43532
4	10.23	86459

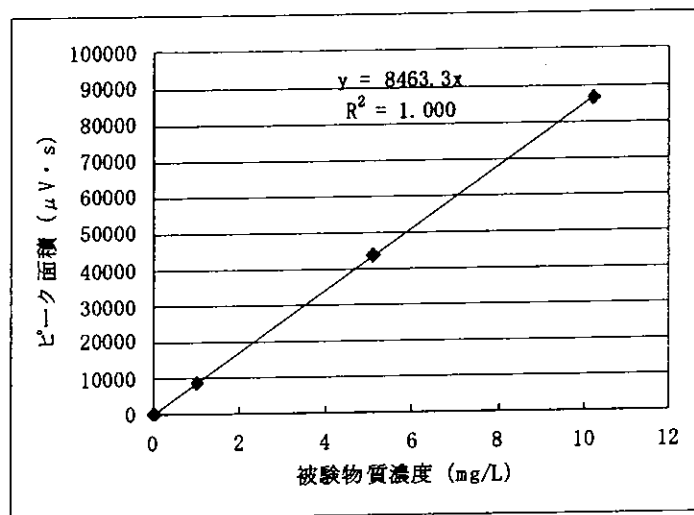


図 1 検量線例

(2) 上層水および間隙水

- 被験物質標準原液 (1023 mg/L) 100  $\mu L$  を 10 mL メスフラスコに正確に分取し、アセトニトリルで 10 mL とすることで 10.23 mg/L 溶液を調製する。
- この調製液の 100, 500, 1000  $\mu L$  をそれぞれ 10 mL メスフラスコに正確に分取し、50 % アセトニトリル水溶液を用いて 10 mL とし、0.1023, 0.5115, 1.023 mg/L 標準液とする。
- 各標準液について 50  $\mu L$  を HPLC に注入し、データ処理装置からクロマトグラムおよびピーク面積 (カウント数) を得る。
- 被験物質濃度を横軸に、ピーク面積を縦軸にとり検量線を作成する。この時の回帰式の寄与率 ( $R^2$ ) も算出する。

表 2 検量線に使用したデータ例

No.	被験物質濃度 (mg/L)	ピーク面積 ( $\mu V \cdot sec$ )
1	0	0
2	0.1023	8248
3	0.5115	41034
4	1.023	79987

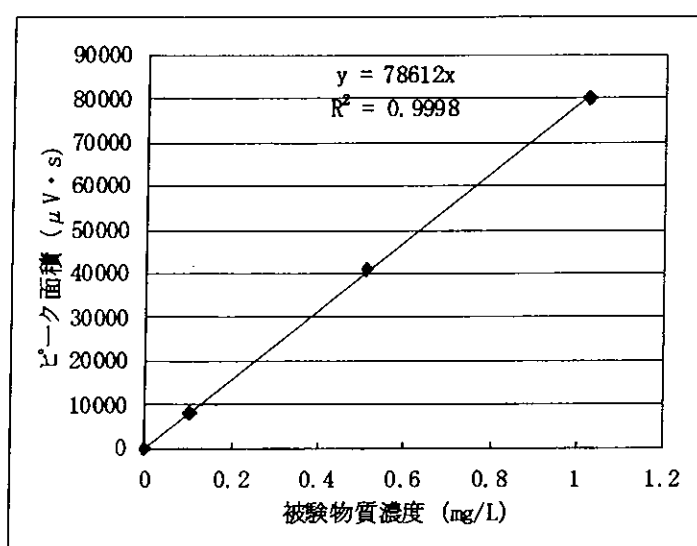


図 2 検量線例

## 5. 添加回収率

### (1) 人工底質（間隙水を含む）

10 mL メスフラスコに被験物質 12.2, 120, 1200 mg をそれぞれ秤り入れ、アセトンで定容して 1.2, 12, 120 mg/mL の溶液とした。試験容器（500 mL ガラス製トルビーカー）を準備し、石英砂 10 g を入れ、アセトン溶液について、それぞれ 1.0 mL を注ぎ、均一に混合後、アセトンを蒸発させて除去する。試験容器毎にPEATMOS 6 g（乾燥重量）、カオリン 24 g、石英砂 80 g、 $CaCO_3$  0.12 g を入れ、濃度 10, 100, 1000 mg/kg（乾燥重量）の人工底質を調製する。調製後、均一に攪拌し、脱塩素水 60 mL（ほぼ間隙水に該当するまでの量）を添加し分析用の試料とする。

この人工底質の一定量を採取し、間隙水を遠心分離せず水を含んだ状態で分析することで湿重量あたりの分析値を得る。更に別途、水分含量を測定し（約 33 %）、乾燥重あたりに換算することで、添加回収率を算出する。

結果を表 3 に示す。回収率は 95 ～ 110 %であった。

表 3 添加回収率

試料濃度 (mg/kg)	n	測定値 (mg/kg)	測定値平均 (mg/kg)	回収率 (%)
10	1	9.35	9.5	95
	2	9.54		
100	1	105.0	103	103
	2	100.8		
1000	1	1138	1100	110
	2	1055		

(2) 上層水

試験時の調製方法に準じて、試験容器 (500 mL ガラス製トールビーカー) に作製した人工底質 (ピートモス 6 g [乾燥重量]、カオリン 24 g、石英砂 90 g、 $\text{CaCO}_3$  0.12 g) に、全体の量が 400 mL となるように脱塩素水を加える。

この上層水を採取し、被験物質標準原液 (1020 mg/L) のそれぞれ該当する量を添加し、濃度が 0.10, 1.0, 10 mg/L における、回収率を求めた。

結果を表 4 に示す。回収率は 82 ～ 92 %であった。

表 4 添加回収率

試料濃度 (mg/L)	n	測定値 (mg/L)	測定値平均 (mg/L)	回収率 (%)
0.10	1	0.0920	0.0909	91
	2	0.0898		
1.0	1	0.9279	0.921	92
	2	0.9141		
10	1	7.905	8.18	82
	2	8.451		

## 6. 保存安定性

### (1) 人工底質

「5. 添加回収率」で調製した 3 濃度の人工底質 (9.5, 103, 1100 mg/kg) を、室温において 2 日間保存し、人工底質における被験物質の安定性を調べた。

結果を表 5 に示す。2 日間の室温保存液の濃度維持率は 96～98 %であった。

表 5 保存安定性

開始時測定値 (mg/kg)	2 日後			
	n	測定値 (mg/kg)	測定値平均 (mg/kg)	濃度維持率 (%)
9.5	1	9.13	9.1	96
	2	9.03		
103	1	101.7	100	97
	2	97.8		
x で x f 1100	1	1074	1080	98
	2	1076		

### (2) 上層水

「5. 添加回収率」で調製した 3 濃度の試料液 (0.0909, 0.921, 8.18 mg/L) を、室温において 2 日間保存し、上層水における被験物質の安定性を確認した。

結果を表 6 に示す。2 日間室温に保存した試料溶液の濃度維持率は 74～105 %であった。

開始時測定値 0.0909 mg/L 区は濃度維持率が 74 % に低下しており、低濃度区の安定性が若干悪くなっていたが、その原因は不明であった。分析時は少なくとも当日に抽出操作を行った。

表 6 保存安定性

開始時測定値 (mg/L)	2 日後			
	n	測定値 (mg/L)	測定値平均 (mg/L)	濃度維持率 (%)
0.0909	1	0.06739	0.0673	74
	2	0.06718		
0.921	1	0.9247	0.931	101
	2	0.9364		
8.18	1	8.489	8.56	105
	2	8.628		

## 7. 定量下限値および検出限界値

### (1) 人工底質

被験物質濃度 1.023 mg/L の検量線標準溶液 50  $\mu$ L を HPLC に 7 回注入し、得られた測定値について標準偏差値を算出した。測定時には、人工底質 20 g よりアセトニトリル 20 mL で被験物質を抽出し、アセトニトリル抽出液 5 mL を純水で 10 mL としている。更に高濃度区では希釈するものの、希釈倍率は最小で 2 倍となる。定量下限値、検出限界値は、繰り返し測定から得られた標準偏差値のそれぞれ 10 倍、3 倍の値について、希釈倍率で換算した。

結果を表 7 に示す。人工底質の定量下限値は 0.3 mg/kg、検出限界値は 0.07 mg/kg であった。

表 7 定量下限値および検出限界値の算出データ

n	測定値 (mg/L)
1	1.019
2	1.025
3	1.048
4	1.026
5	1.032
6	1.022
7	1.015
平均値	1.027
標準偏差( $\sigma_{n-1}$ )	0.011

人工底質測定時の定量下限値

$$\text{定量下限値} = 0.011 \times 10 \times 2 \approx 0.3 \text{ (mg/kg)}$$

$$\text{検出限界値} = 0.011 \times 3 \times 2 \approx 0.07 \text{ (mg/kg)}$$

### (2) 上層水および間隙水

被験物質濃度 0.1023 mg/L の検量線標準溶液 50  $\mu$ L を HPLC に 7 回注入し、得られた測定値について標準偏差値を算出した。上層水もしくは間隙水 10 mL をジクロロメタンで抽出し、乾固した後に 50 % アセトニトリル水溶液 2 mL で再溶解するため、最大で 5 倍濃縮となる。定量下限値、検出限界値は、繰り返し測定から得られた標準偏差値のそれぞれ 10 倍、3 倍の値について、濃縮倍率で換算した。

結果を表 8 に示す。上層水、間隙水の定量下限値は 0.02 mg/L、検出限界値は 0.004 mg/L であった。

表 8 定量下限値および検出限界値の算出データ

n	測定値 (mg/L)
1	0.1040
2	0.1057
3	0.1106
4	0.1191
5	0.1007
6	0.1078
7	0.1098
平均値	0.1082
標準偏差( $\sigma_{n-1}$ )	0.0059

上層水および間隙水測定時の定量下限値の算出

定量下限値 =  $0.0059 \times 10 \div 5 \approx 0.02$  (mg/L)

検出限界値 =  $0.0059 \times 3 \div 5 \approx 0.004$  (mg/L)

### 付 属 資 料 ー 3

#### 羽 化 調 査 デ ー タ

## Control

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器1	羽化数	M	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	2	3	3	1	0	1	0	0	0	0	0	0	10	0.50	0.707	0.785
		合計	3	4	5	4	2	0	1	0	0	0	0	0	0	19	0.95	0.975	1.345
	平均変態速度	mXiFi	0.240	0.148	0.138	0.065	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0724			
		fXiFi	0.000	0.148	0.207	0.194	0.061	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0663			
		合計	0.240	0.296	0.345	0.258	0.121	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0692			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器2	羽化数	M	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0.30	0.548	0.580
		F	0	9	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0.60	0.775	0.886
		合計	3	11	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
	平均変態速度	mXiFi	0.240	0.148	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0762			
		fXiFi	0.000	0.667	0.207	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0728			
		合計	0.240	0.815	0.276	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0739			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器3	羽化数	M	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0.35	0.592	0.633
		合計	6	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0.80	0.894	1.107
	平均変態速度	mXiFi	0.480	0.222	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0780			
		fXiFi	0.000	0.370	0.138	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0726			
		合計	0.480	0.593	0.138	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0757			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器4	羽化数	M	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0.35	0.592	0.633
		F	0	7	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		合計	2	12	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	16	0.80	0.894	1.107
	平均変態速度	mXiFi	0.160	0.370	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0758			
		fXiFi	0.000	0.519	0.000	0.000	0.061	0.057	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0707			
		合計	0.160	0.889	0.000	0.000	0.061	0.057	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0729			



## Solvent Control

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器1	羽化数	M	4	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	3	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632	0.685
		合計	4	8	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0.85	0.922	1.173
	平均変 態速度	mXiFi	0.320	0.370	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0767			
		fXiFi	0.000	0.222	0.276	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0698			
		合計	0.320	0.593	0.276	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0735			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器2	羽化数	M	4	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0.50	0.707	0.785
		F	0	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0.35	0.592	0.633
		合計	4	10	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0.85	0.922	1.173
	平均変 態速度	mXiFi	0.320	0.444	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0764			
		fXiFi	0.000	0.296	0.207	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0719			
		合計	0.320	0.741	0.207	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0746			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器3	羽化数	M	0	2	4	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	0	1	5	0	2	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632	0.685
		合計	0	2	5	7	0	3	0	0	0	0	0	0	0	17	0.85	0.922	1.173
	平均変 態速度	mXiFi	0.000	0.148	0.276	0.129	0.000	0.057	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0678			
		fXiFi	0.000	0.000	0.069	0.323	0.000	0.114	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0632			
		合計	0.000	0.148	0.345	0.452	0.000	0.171	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0656			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器4	羽化数	M	2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632	0.685
		F	0	3	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		合計	2	9	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0.85	0.922	1.173
	平均変 態速度	mXiFi	0.160	0.444	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0756			
		fXiFi	0.000	0.222	0.276	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0697			
		合計	0.160	0.667	0.276	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0724			

56 mg/kg

		Date	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 1	羽化数	Day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25				
		M	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	2	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
	平均変 態速度	合計	3	8	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
		mXiFi	0.240	0.444	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0760			
		fXiFi	0.000	0.148	0.345	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0691			
		合計	0.240	0.593	0.345	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0726			

		Date	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 2	羽化数	Day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25				
		M	4	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0.55	0.742	0.835
		F	0	4	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632	0.685
	平均変 態速度	合計	4	11	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0.95	0.975	1.345
		mXiFi	0.320	0.519	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0762			
		fXiFi	0.000	0.296	0.069	0.194	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0699			
		合計	0.320	0.815	0.069	0.194	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0735			

		Date	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 3	羽化数	Day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25				
		M	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0.50	0.707	0.785
		F	0	3	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632	0.685
	平均変 態速度	合計	5	8	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
		mXiFi	0.400	0.370	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0770			
		fXiFi	0.000	0.222	0.276	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0703			
		合計	0.400	0.593	0.276	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0741			

		Date	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 4	羽化数	Day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25				
		M	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	2	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0.30	0.548	0.580
	平均変 態速度	合計	3	8	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0.75	0.866	1.047
		mXiFi	0.240	0.444	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0760			
		fXiFi	0.000	0.148	0.207	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0693			
		合計	0.240	0.593	0.207	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0733			

100 mg/kg

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 1	羽化数	M	6	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
		F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	0.000
		合計	6	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
	平均変態速度	mXiFi	0.480	0.889	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0760			
		fXiFi	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000			
		合計	0.480	0.889	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0760			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 2	羽化数	M	3	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0.35	0.592	0.633
		F	0	7	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		合計	3	11	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0.80	0.894	1.107
	平均変態速度	mXiFi	0.240	0.296	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0766			
		fXiFi	0.000	0.519	0.138	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0729			
		合計	0.240	0.815	0.138	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0745			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 3	羽化数	M	4	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0.50	0.707	0.785
		F	0	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0.35	0.592	0.633
		合計	4	10	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0.85	0.922	1.173
	平均変態速度	mXiFi	0.320	0.444	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0764			
		fXiFi	0.000	0.296	0.138	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0712			
		合計	0.320	0.741	0.138	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0743			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 4	羽化数	M	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0.35	0.592	0.633
		F	0	3	3	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0.55	0.742	0.835
		合計	0	10	3	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
	平均変態速度	mXiFi	0.000	0.519	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0741			
		fXiFi	0.000	0.222	0.207	0.258	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0680			
		合計	0.000	0.741	0.207	0.258	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0704			

180 mg/kg

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 1	羽化数	M	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		合計	3	11	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
	平均変 態速度	mXiFi	0.240	0.444	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0760			
		fXiFi	0.000	0.370	0.276	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0718			
		合計	0.240	0.815	0.276	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0739			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 2	羽化数	M	1	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	7	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0.50	0.707	0.785
		合計	1	13	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0.95	0.975	1.345
	平均変 態速度	mXiFi	0.080	0.444	0.138	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0736			
		fXiFi	0.000	0.519	0.069	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0717			
		合計	0.080	0.963	0.207	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0726			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 3	羽化数	M	3	7	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	12	0.60	0.775	0.886
		F	0	4	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632	0.685
		合計	3	11	2	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	20	1.00	1.000	1.571
	平均変 態速度	mXiFi	0.240	0.519	0.000	0.000	0.000	0.114	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0727			
		fXiFi	0.000	0.296	0.138	0.065	0.000	0.057	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0695			
		合計	0.240	0.815	0.138	0.065	0.000	0.171	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0714			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器 4	羽化数	M	1	11	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0.70	0.837	0.991
		F	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0.20	0.447	0.464
		合計	1	11	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
	平均変 態速度	mXiFi	0.080	0.815	0.069	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0734			
		fXiFi	0.000	0.000	0.069	0.194	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0656			
		合計	0.080	0.815	0.138	0.258	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0717			

320 mg/kg

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器1	羽化数	M	1	7	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		F	0	2	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671	0.735
		合計	1	9	5	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
	平均変 態速度	mXiFi	0.080	0.519	0.000	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0732			
		fXiFi	0.000	0.148	0.345	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0691			
		合計	0.080	0.667	0.345	0.129	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0712			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器2	羽化数	M	3	8	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0.60	0.775	0.886
		F	0	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0.30	0.548	0.580
		合計	3	10	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
	平均変 態速度	mXiFi	0.240	0.593	0.000	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0744			
		fXiFi	0.000	0.148	0.276	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0707			
		合計	0.240	0.741	0.276	0.000	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0732			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器3	羽化数	M	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0.50	0.707	0.785
		F	0	1	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632	0.685
		合計	1	10	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949	1.249
	平均変 態速度	mXiFi	0.080	0.667	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0747			
		fXiFi	0.000	0.074	0.345	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0685			
		合計	0.080	0.741	0.345	0.129	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0719			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin	
容器4	羽化数	M	0	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0.30	0.548	0.580
		F	0	4	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0.65	0.806	0.938
		合計	0	9	4	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0.95	0.975	1.345
	平均変 態速度	mXiFi	0.000	0.370	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0732			
		fXiFi	0.000	0.296	0.207	0.387	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0685			
		合計	0.000	0.667	0.276	0.387	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0700			

560 mg/kg

	Date	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根 arcsin
	Day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25			
容器1	羽化数	M	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632 0.685
		F	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0.25	0.500 0.524
		合計	0	8	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0.65	0.806 0.938
	平均変 態速度	mXiFi	0.000	0.593	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0741		
		fXiFi	0.000	0.000	0.345	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0690		
		合計	0.000	0.593	0.345	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0721		
容器2	羽化数	M	1	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0.30	0.548 0.580
		F	0	1	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632 0.685
		合計	1	5	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0.70	0.837 0.991
	平均変 態速度	mXiFi	0.080	0.296	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0742		
		fXiFi	0.000	0.074	0.138	0.323	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0668		
		合計	0.080	0.370	0.207	0.323	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0700		
容器3	羽化数	M	1	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671 0.735
		F	0	1	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0.45	0.671 0.735
		合計	1	8	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0.90	0.949 1.249
	平均変 態速度	mXiFi	0.080	0.519	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0742		
		fXiFi	0.000	0.074	0.345	0.194	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0681		
		合計	0.080	0.593	0.414	0.194	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0711		
容器4	羽化数	M	0	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0.30	0.548 0.580
		F	0	1	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0.40	0.632 0.685
		合計	0	5	3	6	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0.70	0.837 0.991
	平均変 態速度	mXiFi	0.000	0.296	0.069	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0716		
		fXiFi	0.000	0.074	0.138	0.323	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0668		
		合計	0.000	0.370	0.207	0.387	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0689		

1000 mg/kg

		Date	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	合計	羽化率	羽化率変換	
		Day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25		(ER)	平方根	arcsin
容器 1	羽化数	M	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0.10	0.316	0.322
		F	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0.15	0.387	0.398
		合計	0	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0.25	0.500	0.524
	平均変態速度	mXiFi	0.000	0.000	0.069	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0667			
		fXiFi	0.000	0.074	0.138	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0707			
		合計	0.000	0.074	0.207	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0691			

		Date	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	合計	羽化率	羽化率変換	
		Day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25		(ER)	平方根	arcsin
容器2	羽化数	M	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0.15	0.387	0.398
		F	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	0.15	0.387	0.398
		合計	0	2	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	6	0.30	0.548	0.580
	平均変態速度	mXiFi	0.000	0.148	0.000	0.065	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0709			
		fXiFi	0.000	0.000	0.138	0.000	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0640			
		合計	0.000	0.148	0.138	0.065	0.000	0.000	0.054	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0674			

		Date	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	合計	羽化率	羽化率変換	
		Day	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25		(ER)	平方根	arcsin
容器3	羽化数	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	0.000
		F	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.05	0.224	0.226
		合計	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.05	0.224	0.226
	平均変態速度	mXiFi	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000			
		fXiFi	0.000	0.000	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0690			
		合計	0.000	0.000	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0690			

		Date Day	1/28 13	1/29 14	1/30 15	1/31 16	2/1 17	2/2 18	2/3 19	2/4 20	2/5 21	2/6 22	2/7 23	2/8 24	2/9 25	合計	羽化率 (ER)	羽化率変換 平方根   arcsin	
容器4	羽化数	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.000	0.000
		F	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.05	0.224	0.226
		合計	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.05	0.224	0.226
	平均変 態速度	mXiFi	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000			
		fXiFi	0.000	0.000	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000			
		合計	0.000	0.000	0.069	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0000			

## 付 属 資 料 ー 4

### デ ー タ 解 析



ユスリカ試験(羽化・雌雄合計)

2007-生 75

ファイル名= 2182004 更新日: 2009/09/09

区	濃度		連	実測数(生存)							
	mg/kg	( log )		0	13	14	15	16	17	18	19
day											
1	0	( - )	1	20	4	8	4	0	1	0	0
1	0	( - )	2	20	4	10	3	0	0	0	0
1	0	( - )	3	20	0	2	5	7	0	3	0
1	0	( - )	4	20	2	9	4	2	0	0	0
2	56	( 1.75)	1	20	3	8	5	2	0	0	0
2	56	( 1.75)	2	20	4	11	1	3	0	0	0
2	56	( 1.75)	3	20	5	8	4	1	0	0	0
2	56	( 1.75)	4	20	3	8	3	0	1	0	0
3	100	( 2.00)	1	20	6	12	0	0	0	0	0
3	100	( 2.00)	2	20	3	11	2	0	0	0	0
3	100	( 2.00)	3	20	4	10	2	1	0	0	0
3	100	( 2.00)	4	20	0	10	3	4	1	0	0
4	189	( 2.28)	1	20	3	11	4	0	0	0	0
4	189	( 2.28)	2	20	1	13	3	2	0	0	0
4	189	( 2.28)	3	20	3	11	2	1	0	3	0
4	189	( 2.28)	4	20	1	11	2	4	0	0	0
5	358	( 2.55)	1	20	1	9	5	2	1	0	0
5	358	( 2.55)	2	20	3	10	4	0	1	0	0
5	358	( 2.55)	3	20	1	10	5	2	0	0	0
5	358	( 2.55)	4	20	0	9	4	6	0	0	0
6	610	( 2.79)	1	20	0	8	5	0	0	0	0
6	610	( 2.79)	2	20	1	5	3	5	0	0	0
6	610	( 2.79)	3	20	1	8	6	3	0	0	0
6	610	( 2.79)	4	20	0	5	3	6	0	0	0
7	1140	( 3.06)	1	20	0	1	3	1	0	0	0
7	1140	( 3.06)	2	20	0	2	2	1	0	0	1
7	1140	( 3.06)	3	20	0	0	1	0	0	0	0
7	1140	( 3.06)	4	20	0	0	1	0	0	0	0
区	濃度		連	実測数(生存)							
	mg/kg	( log )		20	21	22	23	24	25 day		
1	0	( - )	1	0	0	0	0	0	0		
1	0	( - )	2	0	0	0	0	0	0		
1	0	( - )	3	0	0	0	0	0	0		
1	0	( - )	4	0	0	0	0	0	0		
2	56	( 1.75)	1	0	0	0	0	0	0		
2	56	( 1.75)	2	0	0	0	0	0	0		
2	56	( 1.75)	3	0	0	0	0	0	0		
2	56	( 1.75)	4	0	0	0	0	0	0		
3	100	( 2.00)	1	0	0	0	0	0	0		
3	100	( 2.00)	2	0	0	0	0	0	0		
3	100	( 2.00)	3	0	0	0	0	0	0		
3	100	( 2.00)	4	0	0	0	0	0	0		
4	189	( 2.28)	1	0	0	0	0	0	0		
4	189	( 2.28)	2	0	0	0	0	0	0		
4	189	( 2.28)	3	0	0	0	0	0	0		
4	189	( 2.28)	4	0	0	0	0	0	0		
5	358	( 2.55)	1	0	0	0	0	0	0		
5	358	( 2.55)	2	0	0	0	0	0	0		
5	358	( 2.55)	3	0	0	0	0	0	0		

5	358	( 2.55)	4	0	0	0	0	0	0
6	610	( 2.79)	1	0	0	0	0	0	0
6	610	( 2.79)	2	0	0	0	0	0	0
6	610	( 2.79)	3	0	0	0	0	0	0
6	610	( 2.79)	4	0	0	0	0	0	0
7	1140	( 3.06)	1	0	0	0	0	0	0
7	1140	( 3.06)	2	0	0	0	0	0	0
7	1140	( 3.06)	3	0	0	0	0	0	0
7	1140	( 3.06)	4	0	0	0	0	0	0

[対照に対する] 割合 (%)

区	濃度		25d	25d	25d
	mg/kg	( log )	Emerg(ER)	ArcER	Develop
1	56	( 1.75)	-2.94	-3.10	-5.60
2	100	( 2.00)	-1.47	-1.52	-4.66
3	189	( 2.28)	-10.29	-12.36	-11.61
4	358	( 2.55)	-7.35	-8.30	-7.37
5	610	( 2.79)	13.24	11.95	14.45
6	1140	( 3.06)	80.88	64.63	81.74

EC50 計算に用いたデータ (Probit, Logit 法)

区	濃度		Start	25d	25d	25d
	mg/kg	( log )		Emerg(ER)	ArcER	Develop
1	56	( 1.75)	20.00	---	---	---
2	100	( 2.00)	20.00	---	---	---
3	189	( 2.28)	20.00	---	---	---
4	358	( 2.55)	20.00	---	---	---
5	610	( 2.79)	20.00	2.65	2.39	2.89
6	1140	( 3.06)	20.00	16.18	12.93	16.35

2007-生 75

ユスリカ試験(羽化・雌雄合計) 観察回数=14 濃度区数=7(mg/kg)

繰返し数 = 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4

データファイル: 2182004 更新日: 2009/09/09

生物量

濃度	繰返し	0	13	14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	day					
0	(1)	20.000	4.0000	8.0000	4.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
	(2)	20.000	4.0000	10.000	3.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
	(3)	20.000	0.0000	2.0000	5.0000	7.0000	0.0000	3.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
	(4)	20.000	2.0000	9.0000	4.0000	2.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
56	(1)	20.000	3.0000	8.0000	5.0000	2.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
	(2)	20.000	4.0000	11.000	1.0000	3.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
	(3)	20.000	5.0000	8.0000	4.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
	(4)	20.000	3.0000	8.0000	3.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					
100	(1)	20.000	6.0000	12.000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000					

	(2)	20.000	3.0000	11.000	2.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(3)	20.000	4.0000	10.000	2.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(4)	20.000	0.0000	10.000	3.0000	4.0000	1.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
189	(1)	20.000	3.0000	11.000	4.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(2)	20.000	1.0000	13.000	3.0000	2.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(3)	20.000	3.0000	11.000	2.0000	1.0000	0.0000	3.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(4)	20.000	1.0000	11.000	2.0000	4.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
358	(1)	20.000	1.0000	9.0000	5.0000	2.0000	1.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(2)	20.000	3.0000	10.000	4.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(3)	20.000	1.0000	10.000	5.0000	2.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(4)	20.000	0.0000	9.0000	4.0000	6.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
610	(1)	20.000	0.0000	8.0000	5.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(2)	20.000	1.0000	5.0000	3.0000	5.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(3)	20.000	1.0000	8.0000	6.0000	3.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(4)	20.000	0.0000	5.0000	3.0000	6.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
1140	(1)	20.000	0.0000	1.0000	3.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(2)	20.000	0.0000	2.0000	2.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(3)	20.000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				
	(4)	20.000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000				

対照に対する羽化阻害率 (%)

25day	Emergency	Development
	ER	ERarc
56	-2.94	-3.10
100	-1.47	-1.52
189	-10.29	-12.36
358	-7.35	-8.30
610	13.24	11.95
1140	80.88	64.63

E(L)C50 計算 収束判定値=0.0001 最大反復回数=50

===== EC50 計算ごとの詳細データ =====

===== プロビット関数 =====

●● 25d Emerg(ER) E(L)C50 計算 収束までの反復回数=2 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
610	20.00	2.647	0.13	1.000	2.785
1140	20.00	16.18	0.81	1.000	3.057

◎ 回帰式の適合度の検定は、自由度が1のためできない

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数( $\theta$ 推定)	標準誤差(SE)	$\theta$ 推定/SE
const	-21.51	5.179	-4.154
log(Conc.)	7.324	1.763	4.153
WALD検定	X2値=17.247	自由度=1	有意確率=0.000

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	$\pi$ 推定	残差(割合)
610	2.647	2.647	5.E-8	0.132	0.132	2.E-9
1140	16.18	16.18	3.E-6	0.809	0.809	1.E-7

◎ 診断統計量

濃度	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化 逸脱度残差	標準化 ピアソン残差
mg/kg						
610	1.E+11	1.000	4.E-8	3.E-8	0.131	0.118
1140	4.E+14	1.000	1.E-6	1.E-6	6.315	6.310

EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定		
log(EC90)	= 2.7626	(95% Range: 2.6455 - 2.7818)
EC90(mg/kg)	= 578.94	(95% Range: 442.13 - 605.03)
log(EC80)	= 2.8227	(95% Range: 2.7214 - 2.8605)
EC80(mg/kg)	= 664.82	(95% Range: 526.44 - 725.34)
log(EC50)	= 2.9376	(95% Range: 2.8664 - 3.0112)
EC50(mg/kg)	= 866.21	(95% Range: 735.14 - 1026.2)
log(EC20)	= 3.0525	(95% Range: 3.0114 - 3.1619)
EC20(mg/kg)	= 1128.6	(95% Range: 1026.6 - 1451.8)
log(EC10)	= 3.1126	(95% Range: 3.0872 - 3.2407)
EC10(mg/kg)	= 1296.0	(95% Range: 1222.3 - 1740.5)

●● 25d ArcER E(L)C50 計算 収束までの反復回数=2 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
610	20.00	2.391	0.12	1.000	2.785
1140	20.00	12.93	0.65	1.000	3.057

◎ 回帰式の適合度の検定は、自由度が1のためできない

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数( $\theta$ 推定)	標準誤差(SE)	$\theta$ 推定/SE
const	-17.10	5.045	-3.390
log(Conc.)	5.717	1.707	3.349
WALD検定	X2値=11.218	自由度=1	有意確率=0.001

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	$\pi$ 推定	残差(割合)
610	2.391	2.391	1.E-6	0.120	0.120	6.E-8
1140	12.93	12.93	-2E-6	0.646	0.646	-1E-7

◎ 診断統計量

濃度	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化 逸脱度残差	標準化 ピアソン残差
mg/kg						

610	2.E+14	1.000	8.E-7	8.E-7	3.982	3.979
1140	1.E+17	1.000	-1E-6	-1E-6	-21.75	-21.75

=====EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定=====

log(EC90)	=	2.7671	(95% Range: 2.6733 - 2.8609)
EC90(mg/kg)	=	584.93	(95% Range: 471.29 - 725.97)
log(EC80)	=	2.8441	(95% Range: 2.6912 - 2.8840)
EC80(mg/kg)	=	698.31	(95% Range: 491.12 - 765.67)
log(EC50)	=	2.9913	(95% Range: 2.9101 - 3.1129)
EC50(mg/kg)	=	980.06	(95% Range: 812.93 - 1296.8)
log(EC20)	=	3.1385	(95% Range: 3.1289 - 3.3417)
EC20(mg/kg)	=	1375.5	(95% Range: 1345.6 - 2196.5)
log(EC10)	=	3.2154	(95% Range: 3.1064 - 3.3244)
EC10(mg/kg)	=	1642.1	(95% Range: 1277.6 - 2110.6)

●● 25d Develop E(L)C50 計算 収束までの反復回数=2 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
610	20.00	2.889	0.14	1.000	2.785
1140	20.00	16.35	0.82	1.000	3.057

◎ 回帰式の適合度の検定は、自由度が<1のためできない

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ推定)	標準誤差(SE)	θ推定/SE
const	-21.23	5.133	-4.135
log(Conc.)	7.240	1.751	4.136
WALD検定	X2値=17.103 自由度=1 有意確率=0.000		

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π推定	残差(割合)
610	2.889	2.889	-1E-6	0.144	0.144	-5E-8
1140	16.35	16.35	2.E-6	0.817	0.817	1.E-7

◎ 診断統計量

濃度	Cookの距離		逸脱度残差		標準化	
mg/kg	逸脱度残差	ピアソン残差	逸脱度残差	ピアソン残差	逸脱度残差	ピアソン残差
610	5.E+14	1.000	-7E-7	-7E-7	-4.753	-4.750
1140	3.E+15	1.000	1.E-6	1.E-6	9.759	9.770

=====EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定=====

log(EC90)	=	2.7548	(95% Range: 2.6358 - 2.7729)
EC90(mg/kg)	=	568.58	(95% Range: 432.28 - 592.80)
log(EC80)	=	2.8156	(95% Range: 2.7126 - 2.8528)
EC80(mg/kg)	=	653.97	(95% Range: 515.96 - 712.51)
log(EC50)	=	2.9318	(95% Range: 2.8597 - 3.0056)
EC50(mg/kg)	=	854.70	(95% Range: 723.86 - 1013.0)
log(EC20)	=	3.0481	(95% Range: 3.0067 - 3.1584)
EC20(mg/kg)	=	1117.0	(95% Range: 1015.5 - 1440.2)
log(EC10)	=	3.1088	(95% Range: 3.0835 - 3.2383)
EC10(mg/kg)	=	1284.8	(95% Range: 1212.1 - 1731.1)

=====ロジット関数=====

●● 25d Emerg(ER) E(L)C50 計算 収束までの反復回数=2 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
610	20.00	2.647	0.13	1.000	2.785
1140	20.00	16.18	0.81	1.000	3.057

◎ 回帰式の適合度の検定は、自由度が1のためできない

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数( $\theta$ 推定)	標準誤差(SE)	$\theta$ 推定/SE
const	-35.96	9.444	-3.808
log(Conc.)	12.23	3.207	3.815
WALD 検定	X2 値=14.550 自由度=1 有意確率=0.000		

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y 推定	残差(度数)	Y/n(P)	$\pi$ 推定	残差(割合)
610	2.647	2.647	5.E-8	0.132	0.132	2.E-9
1140	16.18	16.18	2.E-7	0.809	0.809	9.E-9

◎ 診断統計量

濃度	Cook の距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化 逸脱度残差	標準化 ピアソン残差
mg/kg						
610	4.E+12	1.000	4.E-8	3.E-8	0.330	0.299
1140	2.E+14	1.000	1.E-7	1.E-7	1.586	1.367

EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定		
log(EC90)	= 2.7594	(95% Range: 2.6187 - 2.7698)
EC90(mg/kg)	= 574.68	(95% Range: 415.62 - 588.53)
log(EC80)	= 2.8257	(95% Range: 2.7069 - 2.8616)
EC80(mg/kg)	= 669.43	(95% Range: 509.26 - 727.17)
log(EC50)	= 2.9390	(95% Range: 2.8578 - 3.0187)
EC50(mg/kg)	= 868.99	(95% Range: 720.76 - 1044.0)
log(EC20)	= 3.0523	(95% Range: 3.0086 - 3.1757)
EC20(mg/kg)	= 1128.0	(95% Range: 1020.1 - 1498.8)
log(EC10)	= 3.1186	(95% Range: 3.0969 - 3.2676)
EC10(mg/kg)	= 1314.0	(95% Range: 1249.9 - 1851.9)

●● 25d ArcER E(L)C50 計算 収束までの反復回数=2 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
610	20.00	2.391	0.12	1.000	2.785
1140	20.00	12.93	0.65	1.000	3.057

◎ 回帰式の適合度の検定は、自由度が1のためできない

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数( $\theta$ 推定)	標準誤差(SE)	$\theta$ 推定/SE
const	-28.66	9.122	-3.142
log(Conc.)	9.573	3.067	3.121
WALD 検定	X2 値=9.741 自由度=1 有意確率=0.002		

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y 推定	残差(度数)	Y/n(P)	$\pi$ 推定	残差(割合)
610	2.391	2.391	3.E-8	0.120	0.120	1.E-9
1140	12.93	12.93	1.E-7	0.646	0.646	7.E-9

◎ 診断統計量

濃度	Cook の距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化 逸脱度残差	標準化 ピアソン残差
mg/kg						
610	4.E+10	1.000	5.E-8	2.E-8	0.177	0.071
1140	3.E+11	1.000	5.E-8	6.E-8	0.175	0.223

EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定		
log(EC90)	= 2.7644	(95% Range: 2.6679 - 2.8609)

EC90(mg/kg) = 581.31 (95% Range: 465.51 - 725.91)  
 log(EC80) = 2.8491 (95% Range: 2.6701 - 2.8690)  
 EC80(mg/kg) = 706.51 (95% Range: 467.88 - 739.60)  
 log(EC50) = 2.9939 (95% Range: 2.9042 - 3.1132)  
 EC50(mg/kg) = 986.12 (95% Range: 802.02 - 1297.6)  
 log(EC20) = 3.1387 (95% Range: 3.1382 - 3.3573)  
 EC20(mg/kg) = 1376.4 (95% Range: 1374.8 - 2276.8)  
 log(EC10) = 3.2235 (95% Range: 3.1110 - 3.3360)  
 EC10(mg/kg) = 1672.8 (95% Range: 1291.1 - 2167.5)

●● 25d Develop E(L)C50 計算 収束までの反復回数=2 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
610	20.00	2.889	0.14	1.000	2.785
1140	20.00	16.35	0.82	1.000	3.057

◎ 回帰式の適合度の検定は、自由度が<1のためできない

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ推定)	標準誤差(SE)	θ推定/SE
const	-35.40	9.301	-3.806
log(Conc.)	12.07	3.167	3.811

WALD検定 X2値=14.526 自由度=1 有意確率=0.000

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π推定	残差(割合)
610	2.889	2.889	1.E-7	0.144	0.144	6.E-9
1140	16.35	16.35	-3E-7	0.817	0.817	-1E-8

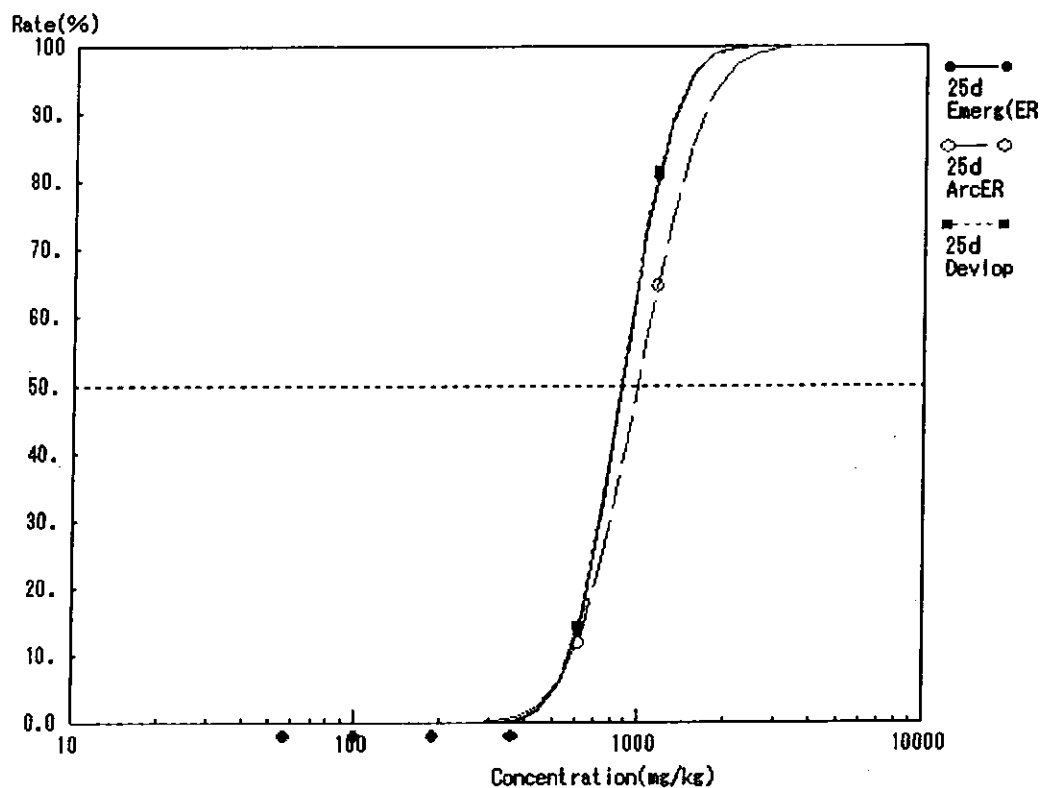
◎ 診断統計量

濃度	mg/kg	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化	
						逸脱度残差	ピアソン残差
610	1.E+13	1.000	8.E-8	8.E-8	0.670	0.615	
1140	5.E+13	1.000	-2E-7	-2E-7	-1.289	-1.297	

=====EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定=====

log(EC90)	=	2.7507	(95% Range: 2.6088 - 2.7608)
EC90(mg/kg)	=	563.19	(95% Range: 406.21 - 576.51)
log(EC80)	=	2.8178	(95% Range: 2.6982 - 2.8540)
EC80(mg/kg)	=	657.42	(95% Range: 499.16 - 714.52)
log(EC50)	=	2.9327	(95% Range: 2.8512 - 3.0133)
EC50(mg/kg)	=	856.45	(95% Range: 709.93 - 1031.2)
log(EC20)	=	3.0476	(95% Range: 3.0042 - 3.1727)
EC20(mg/kg)	=	1115.7	(95% Range: 1009.7 - 1488.2)
log(EC10)	=	3.1148	(95% Range: 3.0937 - 3.2659)
EC10(mg/kg)	=	1302.4	(95% Range: 1240.8 - 1844.5)

\*\*\*\*\* END \*\*\*\*\*



Dose-response curve for EC50 of Sediment-Water Chironomid Test (Probit method)  
2007-生75

●● ユスリカ 25dNormal(測定値のまま) NOEC 推定結果の書き出し ==> \*≒5%で有意, \*\*≒1%  
で有意 ●●  
2007-生 75 ユスリカ試験(羽化・雌雄合計)

◎ NOEC 計算用元データ

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140	平均
1	17.000	18.000	18.000	18.000	18.000	13.000	5.0000	
2	17.000	19.000	16.000	19.000	18.000	14.000	6.0000	
3	17.000	18.000	17.000	20.000	18.000	18.000	1.0000	
4	17.000	15.000	18.000	18.000	19.000	14.000	1.0000	
平均	17.000	17.500	17.250	18.750	18.250	14.750	3.2500	15.250
標準偏差	0.0000	1.7321	0.9574	0.9574	0.5000	2.2174	2.6300	

◎ 各濃度区の対照平均に対する相対量

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140
1	100.00	105.88	105.88	105.88	105.88	76.47	29.41
2	100.00	111.76	94.12	111.76	105.88	82.35	35.29
3	100.00	105.88	100.00	117.65	105.88	105.88	5.88
4	100.00	88.24	105.88	105.88	111.76	82.35	5.88
平均	100.00	102.94	101.47	110.29	107.35	86.76	19.12

◎ バートレットの等分散性の検定

$\chi^2$  乗検定値 (p;0.05)= 12.59 (p;0.01)= 16.81 自由度= 6  
計算値( 8.284) <= 12.59 5%の危険率で等分散性を認める。

◎ 一元配置分散分析 (全ての濃度区の平均数に差がないとみなせるか)

要因	平方和	自由度	平均平方	検定値(F)
処理	710.5000	6.000000	118.4167	49.00000



誤差 50.75000 21.00000 2.416667  
 全体 761.2500 27.00000  
 F検定基準値 (p:0.05)= 2.573 (p:0.01)= 3.812 自由度= 6 : 21  
 計算値( 49.0) > 2.573

5%の危険率で「濃度区間に差がない」仮説を棄却する。

即ち、濃度区間に差があるとみなす。

◎ Dunnett 型の検定 (どの濃度区が対照に比べて差があるかを特定する) -----

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140
計算値	-	0.455	0.227	1.592	1.137	2.047	12.51**
Dunnett 確率		0.9941	0.9999	0.4298	0.7321	0.2096	<0.0001

●● ユスリカ 25dEmergence Rate(羽化) NOEC 推定結果の書き出し =====> \*5%で有意, \*\*1%  
 で有意 ●●

2007-生 75 ユスリカ試験(羽化・雌雄合計)

◎ NOEC 計算用元データ -----

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140	平均
1	1.0517	1.1401	1.1401	1.1401	1.1401	0.8149	0.4767	
2	1.0517	1.2608	0.9799	1.2608	1.1401	0.8642	0.5212	
3	1.0517	1.1401	1.0517	1.5261	1.1401	1.1401	0.2203	
4	1.0517	0.9185	1.1401	1.1401	1.2608	0.8642	0.2203	
平均	1.0517	1.1149	1.0780	1.2668	1.1703	0.9209	0.3596	0.9946
標準偏差	0.0000	0.1427	0.0775	0.1820	0.0603	0.1480	0.1619	

◎ 各濃度区の対照平均に対する相対量 -----

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140
1	100.00	108.41	108.41	108.41	108.41	77.49	45.33
2	100.00	119.88	93.18	119.88	108.41	82.18	49.56
3	100.00	108.41	100.00	145.11	108.41	108.41	20.94
4	100.00	87.34	108.41	108.41	119.88	82.18	20.94
平均	100.00	106.01	102.50	120.45	111.27	87.56	34.19

◎ バートレットの等分散性の検定 -----

$\chi^2$  乗検定値 (p:0.05)= 12.59 (p:0.01)= 16.81 自由度= 6  
 計算値(-9.313) <= 12.59 5%の危険率で等分散性を認める。

◎ 一元配置分散分析 (全ての濃度区間の平均数に差がないとみなせるか) -----

要因	平方和	自由度	平均平方	検定値(F)
処理	2.153054	6.000000	0.358842	22.57704
誤差	0.333777	21.00000	0.015894	
全体	2.486831	27.00000		

F検定基準値 (p:0.05)= 2.573 (p:0.01)= 3.812 自由度= 6 : 21

計算値( 22.6) > 2.573

5%の危険率で「濃度区間に差がない」仮説を棄却する。

即ち、濃度区間に差があるとみなす。

◎ Dunnett 型の検定 (どの濃度区が対照に比べて差があるかを特定する) -----

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140
計算値	-	0.709	0.295	2.413	1.330	1.467	7.764**
Dunnett 確率		0.9510	0.9994	0.1070	0.6003	0.5081	<0.0001

●● ユスリカ 25dDevelopment Rate(成長) NOEC 推定結果の書き出し =====> \*5%で有意, \*\*1%  
 で有意 ●●

2007-生 75 ユスリカ試験(羽化・雌雄合計)

◎ NOEC 計算用元データ

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140	平均
1	0.0735	0.0726	0.0760	0.0739	0.0712	0.0721	0.0691	
2	0.0746	0.0735	0.0745	0.0726	0.0732	0.0700	0.0674	
3	0.0656	0.0741	0.0743	0.0714	0.0719	0.0711	0.0690	
4	0.0724	0.0733	0.0704	0.0717	0.0700	0.0689	0.0690	
平均	0.0715	0.0734	0.0738	0.0724	0.0716	0.0705	0.0686	0.0717
標準偏差	0.0040	6.E-4	0.0024	0.0011	0.0013	0.0014	8.E-4	

◎ 各濃度区の対照平均に対する相対量

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140
1	102.71	101.46	106.31	103.35	99.50	100.80	96.59
2	104.24	102.81	104.21	101.45	102.30	97.84	94.28
3	91.77	103.52	103.87	99.86	100.54	99.40	96.41
4	101.27	102.52	98.35	100.25	97.83	96.29	96.41
平均	100.00	102.58	103.19	101.23	100.04	98.59	95.92

◎ バートレットの等分散性の検定

$\chi^2$  二乗検定値 (p:0.05)= 12.59 (p:0.01)= 16.81 自由度= 6  
計算値( 13.69) > 12.59 5%の危険率で等分散性を認めない。

◎ クラスカル・ワリスの順位検定 (Kruskal-Wallis test):全順位法

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140
1	21.00	18.00	28.00	23.00	11.00	15.00	6.000
2	27.00	22.00	26.00	17.00	19.00	8.000	2.000
3	1.000	24.00	25.00	12.00	14.00	10.00	4.500
4	16.00	20.00	9.000	13.00	7.000	3.000	4.500
平均順位	16.25	21.00	22.00	16.25	12.75	9.000	4.250

$\chi^2$  二乗検定基準値 (p:0.05)= 12.59 (p:0.01)= 16.81 自由度= 6  
計算値( 14.37) => ( 12.6) 5%の危険率で有意差を認める。

◎ ノンパラメトリック Dunnett 型の検定法

濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140
計算値	-	0.577	0.866	0.289	0.866	1.155	1.162
Dunnett 確率		0.5637	0.3865	0.7728	0.3865	0.2482	0.2454

▲ 参考：等分散性を認めた場合の計算

等分散性の仮定を満足しないため、順位検定を行った。  
毒性試験のような場合は、等分散性の仮定を満足しないことが多い。  
順位検定は情報の脱落を伴うため、検出力が低くなる。  
そのため、[等分散性の仮定を満足すると仮定した]分析結果をしめす。

◎ 一元配置分散分析 (全ての濃度区の平均数に差がないとみなせるか)

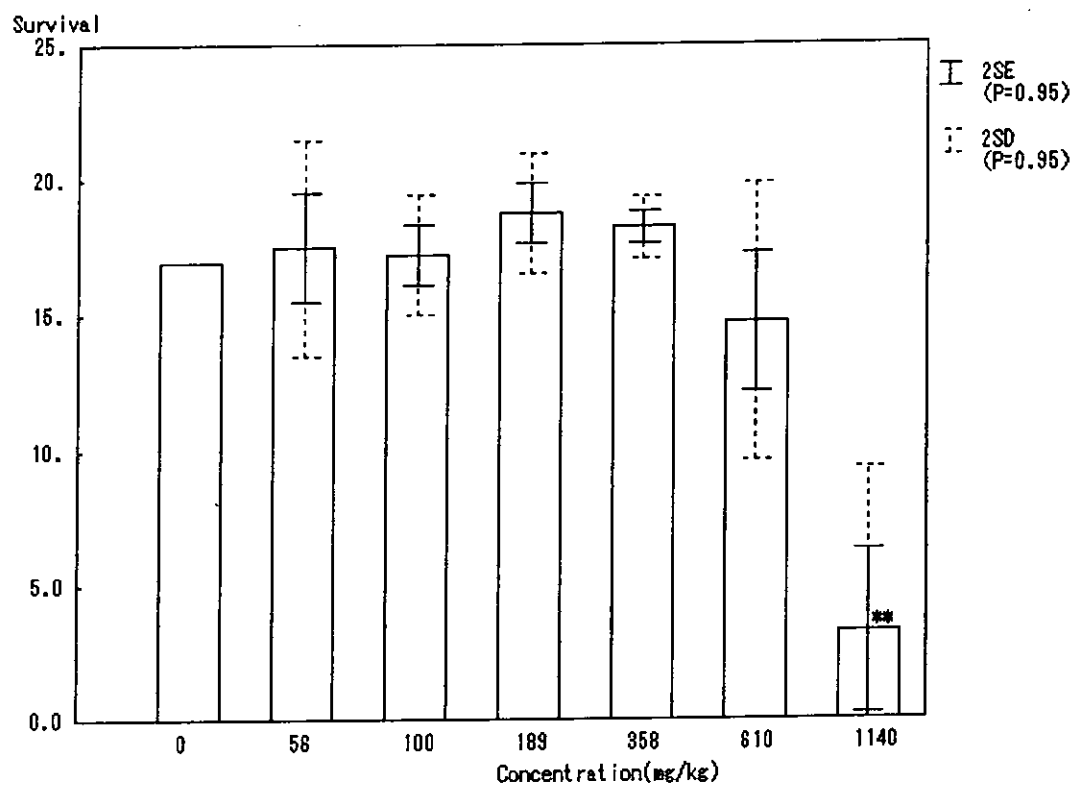
要因	平方和	自由度	平均平方	検定値 (F)
処理	7.49E-5	6.000000	1.25E-5	3.114471
誤差	8.42E-5	21.00000	4.01E-6	
全体	1.59E-4	27.00000		

F 検定基準値 (p:0.05)= 2.573 (p:0.01)= 3.812 自由度= 6 : 21  
計算値( 3.11) > 2.573  
5%の危険率で「濃度区間に差がない」仮説を棄却する。  
即ち、濃度区間に差があるとみなす。

◎ Dunnett 型の検定 (どの濃度区が対照に比べて差があるかを特定する)

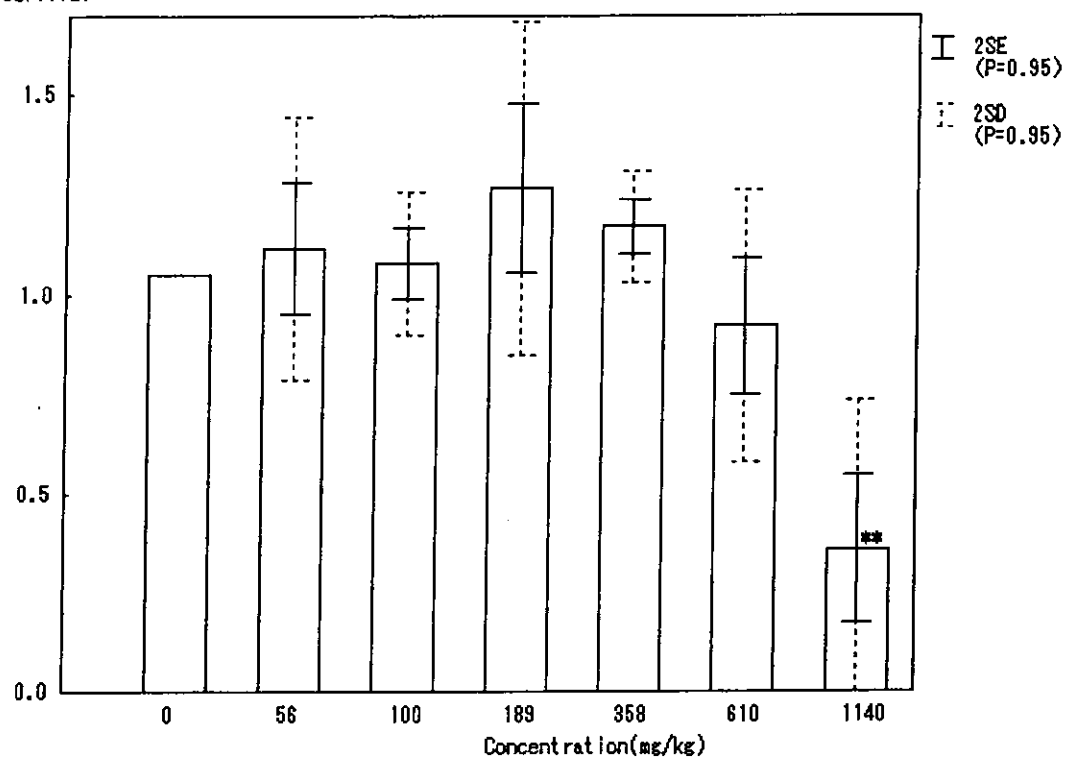
濃度 mg/kg	0	56	100	189	358	610	1140
----------	---	----	-----	-----	-----	-----	------

計算値	-	1.304	1.610	0.620	0.021	0.714	2.060
Dunnett 確率		0.6183	0.4190	0.9730	1.0000	0.9494	0.2050



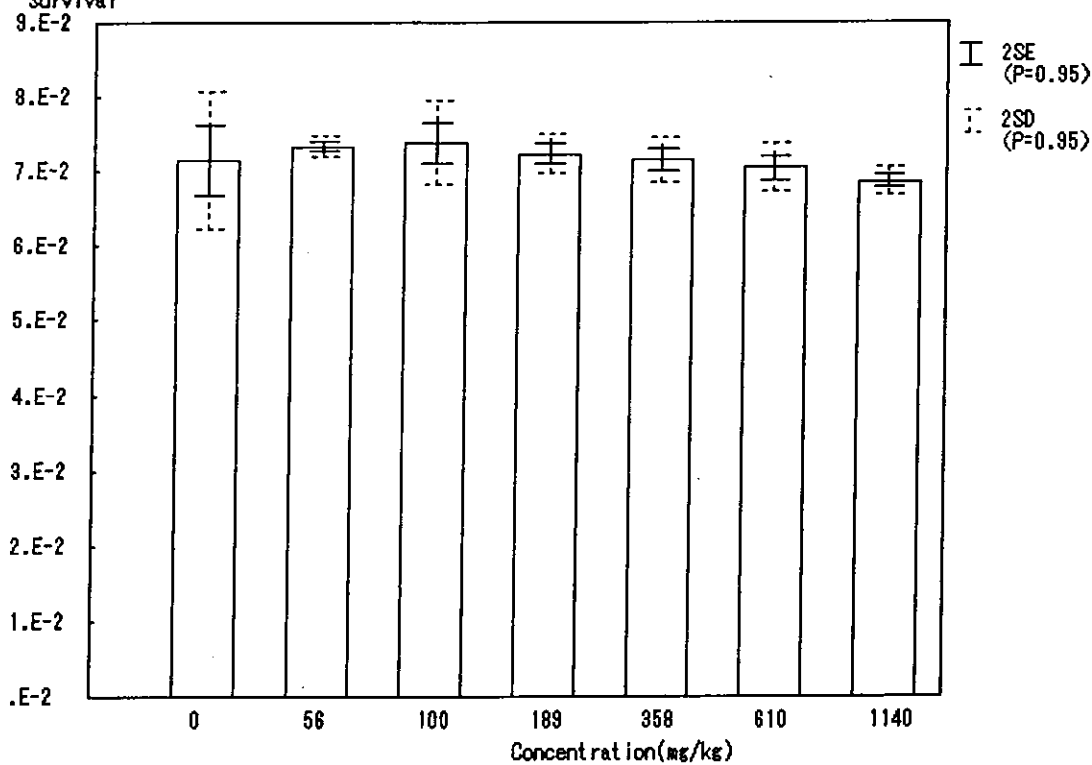
NOEC estimation by Sediment-Water Chironomid Test 25d NOEC 羽化ER;Normal(測定値);グラフ  
2007-生75

Survival



NOEC estimation by Sediment-Water Chironomid Test 25d NOEC 羽化ERarc; グラフ  
2007-生75

Survival



NOEC estimation by Sediment-Water Chironomid Test 25d NOEC 成長Development.; グラフ  
2007-生75

対照区と助剤対照区の差の検定

(1) 羽化率の検定

Vessel Number	Arcsin-sqrt-transformation of Emergence Ratio	
	Control ( - )	Solvent Control ( - )
1	1.345	1.173
2	1.249	1.173
3	1.107	1.173
4	1.107	1.173

分散分析：一元配置

概要

グループ	標本数	合計	平均	分散
Control	4	4.808	1.202	0.01357
Solvent Control	4	4.692	1.173	0.00000

分散分析表

変動要因	変動	自由度	分散	観測され た分散比	P-値	F 境界値
グループ間	0.00168	1	0.001682	0.2479	0.6363	5.9874
グループ内	0.04071	6	0.006785			
合計	0.04239	7				

(2) 変態速度の検定

Vessel Number	Development Rate	
	Control ( - )	Solvent Control ( - )
1	0.0692	0.0735
2	0.0739	0.0746
3	0.0757	0.0656
4	0.0729	0.0725

F-検定：2 標本を使った分散の検定

	Control	Solvent Control
平均	0.07293	0.07155
分散	7.51E-06	1.65E-05
観測数	4	4
自由度	3	3
観測された分散比	0.4559	
P(F<=f) 片側	0.2678	
F 境界値 片側	0.1078	

t-検定：等分散を仮定した2標本による検定

	変数 1	変数 2
平均	0.07293	0.07155
分散	7.51E-06	1.65E-05
観測数	4	4
プールされた分散	1.2E-05	
仮説平均との差異	0	
自由度	6	
t	0.562	
P(T<=t) 片側	0.297	
t 境界値 片側	1.943	
P(T<=t) 両側	0.595	
t 境界値 両側	2.447	

一元配置分散分析による最大無作用濃度の解析

ER (Arcsin-sqrt-transformation) 値結果

Vessel Number	Emergence Ratio (Male and Female Total)							
	Nominal Concentration (Initial Measured Conc.)							
	[mg/kg sediment dry weight]							
	Control	Solvent	56	100	180	320	560	1000
	Control							
	( - )	( - )	(45.2)	(80.2)	(152)	(290)	(491)	(916)
1	1.345	1.173	1.249	1.249	1.249	1.249	0.938	0.524
2	1.249	1.173	1.345	1.107	1.345	1.249	0.991	0.580
3	1.107	1.173	1.249	1.173	1.571	1.249	1.249	0.226
4	1.107	1.173	1.047	1.249	1.249	1.345	0.991	0.226

(1) 全データ (対照区を除く) による解析

概要

グループ	標本数	合計	平均	分散
Solvent Cont.	4	4.6924	1.1731	0.0000
56	4	4.8906	1.2226	0.0157
100	4	4.7783	1.1946	0.0047
180	4	5.4142	1.3535	0.0230
320	4	5.0924	1.2731	0.0023
560	4	4.1691	1.0423	0.0196
1000	4	1.5543	0.3886	0.0360

分散分析表

変動要因	変動	自由度	分散	観測された分散比	P-値	F 境界値
グループ間	2.5306	6	0.4218	29.123	3.87E-09	2.573
グループ内	0.3041	21	0.0145			
合計	2.8348	27				

(2) 1000 mg/kg 区を除いた解析 (対照区も除く)

概要

グループ	標本数	合計	平均	分散
Solvent Cont.	4	4.6924	1.1731	0.0000
56	4	4.8906	1.2226	0.0157
100	4	4.7783	1.1946	0.0047
180	4	5.4142	1.3535	0.0230
320	4	5.0924	1.2731	0.0023
560	4	4.1691	1.0423	0.0196

分散分析表

変動要因	変動	自由度	分散	観測された分散比	P-値	F 境界値
グループ間	0.2179	5	0.04358	3.9980	0.0129	2.773
グループ内	0.1962	18	0.01090			
合計	0.4141	23				

(3) 560, 1000 mg/kg 区を除いた解析 (対照区も除く)

概要

グループ	標本数	合計	平均	分散
Solvent Cont.	4	4.6924	1.1731	0.0000
56	4	4.8906	1.2226	0.0157
100	4	4.7783	1.1946	0.0047
180	4	5.4142	1.3535	0.0230
320	4	5.0924	1.2731	0.0023

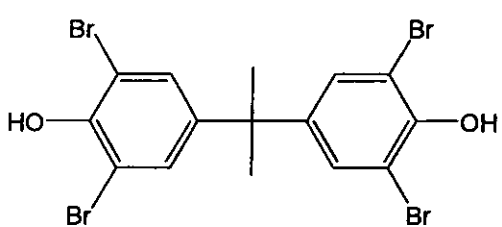
分散分析表

変動要因	変動	自由度	分散	観測された分散比	P-値	F 境界値
グループ間	0.0831	4	0.02077	2.2690	0.1101	3.056
グループ内	0.1373	15	0.00915			
合計	0.2204	19				



ユスリカ底質毒性試験結果報告書

1. 一般的事項

化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	テトラブロモビスフェノールA		
別名	4, 4'-イソプロピリデンビス (2, 6-ジブロモフェノール)		
C A S 番号	79-94-7		
構造式			
分子量	543.88		
試験に供した 化学物質の純度 (%)	99.8 % (中和滴定)		
試験に供した 化学物質のロット番号	T556F		
不純物の名称及び含有率	不明		
蒸気圧	1.76E-011 mmHg (25℃)		
対水溶解度	0.001 mg/L (25℃)		
ヘンリー定数	7.05E-011 atm・m <sup>3</sup> /mol (25℃)		
酸解離定数 (pKa)	6.51 (25℃)		
1-オクタノール/水分配係数	7.20		
融点	181℃		
沸点	不明		
常温における性状	白色結晶性粉末		
安定性	通常の手扱い条件においては安定		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	メタノール エーテル	可溶	不明

## 2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方法
分析方法	<p>人工底質、上層水、間隙水中のそれぞれの前処理液の一定量を、UV 検出器を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入し、クロマトグラムおよびピーク面積 (カウント数) をデータ処理装置から求める。このピーク面積を用い、標準液の検量線から前処理液中の被験物質濃度を求め、それぞれの濃縮・希釈率、並びに底質は水分含量で換算することで、人工底質、上層水、間隙水中の被験物質濃度を算出する。</p> <p>〔分析手順〕</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 定量条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。</li> <li>2. 検量線を作成する。</li> <li>3. 前処理液を HPLC に注入してクロマトグラムと同時にピーク面積を得る。</li> <li>4. 検量線により前処理液中の被験物質濃度を求め、濃縮率・希釈率を換算し、前処理液中の被験物質濃度を求める。</li> <li>5. 人工底質は、分析に供したのと同じ試料について、別途、水分含量を算出し、分析値を乾燥重量に換算する。</li> </ol>
前処理法	<p><u>人工底質：</u></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 間隙水を遠心分離で除き、底質の一定量を採取する。</li> <li>2. アセトニトリルを一定量添加し、被験物質を振とう抽出する。</li> <li>3. 抽出液をろ過し、前処理液とする。</li> </ol> <p><u>上層水、間隙水：</u></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 一定量の上層水、間隙水にジクロロメタンを添加する。</li> <li>2. 振とう抽出により被験物質を抽出する。</li> <li>3. 抽出液を静置後、エバポレーターを用いジクロロメタンを減圧乾固する。</li> <li>4. 50 % アセトニトリル水溶液を加えて被験物質を再溶解後、ろ過する。そのろ液を必要に応じて希釈し、前処理液とする。</li> </ol>
定量条件	<p>分析に用いた機器：</p> <p>高速液体クロマトグラフ (L-6000 型 日立製作所)</p> <p>UV 検出器 (L-4000 型 日立製作所)</p> <p>測定条件：</p> <p>分離カラム : Inertsil ODS-80A, 250×4.6 mmφ</p> <p>恒温槽温度 : 40℃</p> <p>溶離液 : アセトニトリル/純水 (70/30)</p> <p>流量 : 1.0 mL/min</p> <p>検出波長 : 上層水および間隙水 ; UV 220 nm</p> <p>人工底質 ; UV 295 nm</p> <p>注入量 : 50 μL</p>

### 3. 試験材料及び方法

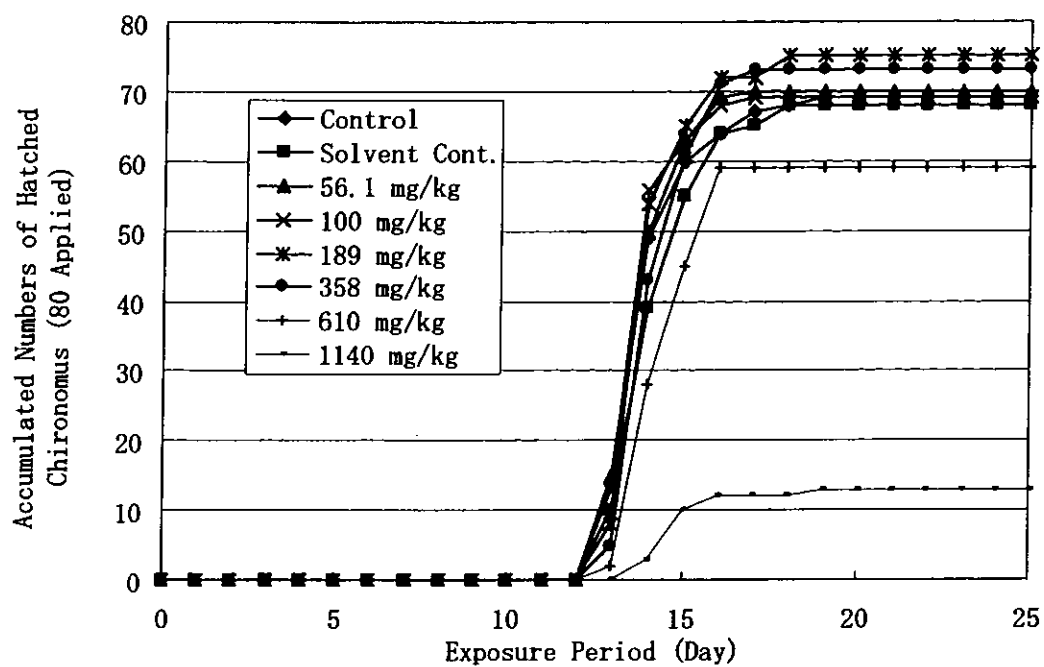
項目			内容
試験生物	種 (和名・学名)		和名：セスジユスリカ 学名： <i>Chironomus yoshimatsui</i>
	入手先		独立行政法人 国立環境研究所
	対照物質への感受性		行わなかった (卵塊を輸送し使用したため)
一齢幼虫の確保	卵塊のふ化 (じゅん化) 期間		2009 年 1 月 13 日～2009 年 1 月 15 日
	飼育水		脱塩素水
	環境条件 (温度、光強度)		23±1℃、16 時間 明/8 時間 暗 室内光
試験条件	試験容器		500 mL ガラス製トールビーカー
	底質・上層水	底質層	ピートモス/カオリン/石英砂=1/4/15 (重量比)
		上層水	脱塩素水
		硬度	42 ～ 49 mg/L (CaCO <sub>3</sub> 換算)
	試験濃度 (設定値)		対照区, 助剤対照区, 56, 100, 180, 320, 560, 1000 mg/kg[人工底質乾燥重量に対する濃度] (公比 1.8)
	暴露期間		2009 年 1 月 15 日 ～ 2009 年 2 月 9 日
	供試生物数		20 個体/容器 (80 個体/試験区)
	連数	試験濃度区	4 連 (分析用予備容器を追加)
		対照区、助剤対照区	4 連 (分析用予備容器を追加)
	上層水液量		人工底質層深さ：上層水深さ = 1：4 (人工底質を含めた全体量で 400 mL)
	餌		テトラミン粉末の分割給餌
	底質の安定化期間		2009 年 1 月 8 日 ～ 2009 年 1 月 15 日
	助剤	助剤の有無	有
		種類	アセトン
		濃度	被験物質を溶解し石英砂に添加後、乾燥し留去
	通気		ごく弱い通気
	水温		23±1℃ (実測値 22.7～23.8℃)
	照明		室内光、16 時間 明/8 時間 暗
結果の算出方法	EC <sub>50</sub>		Probit 法 (ER：羽化個体数)
	NOEC, LOEC		ER-Arcsin-Sqrt-Transformin 後 ANOVA 法

#### 4. 試験結果及び考察

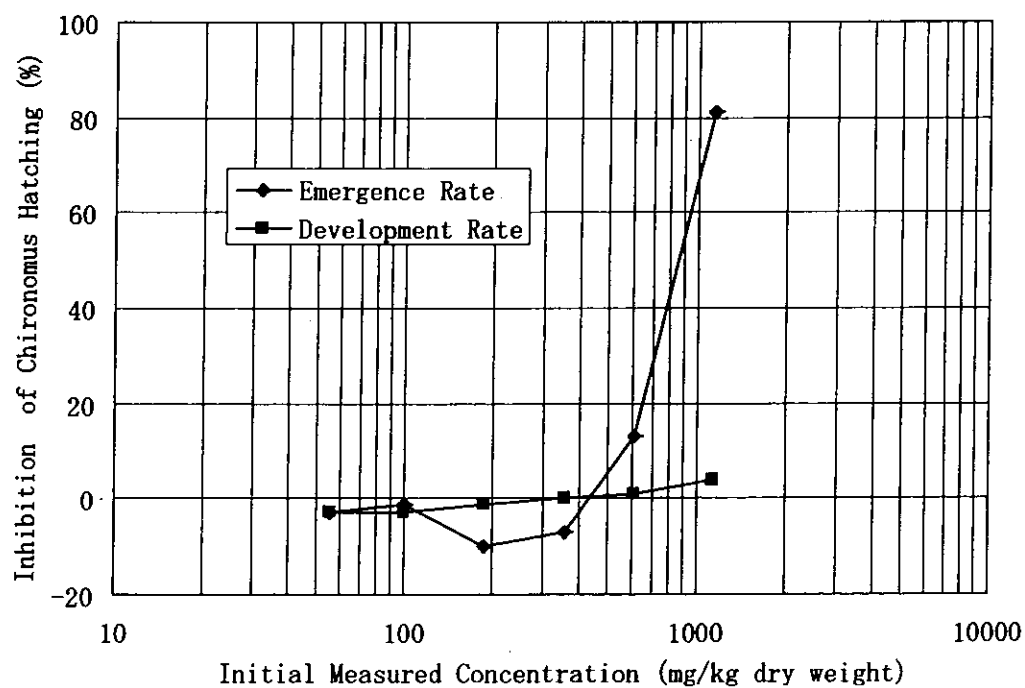
項 目	内 容
毒性値	EC <sub>50</sub> (羽化個体数) = 870 mg/kg EC <sub>50</sub> (変態速度) > 1140 mg/kg NOEC (羽化率) = 360 mg/kg LOEC (羽化率) = 610 mg/kg
試験濃度	1. 設定値    2. 実測値
考察及び特記事項	<p>被験物質の対水溶解度の文献値は 0.001 mg/L (25℃) であったものの、フラスコ攪拌法で測定を繰り返し、被験物質の試験用水への溶解度は 2.7 mg/L と判断した (n=3)。測定値が文献値と異なる理由として、当該被験物質の酸解離定数 (pKa) の文献値が 6.51 (25℃) であることから、試験用水 (通常 pH 7.7~7.9) 中では解離することで溶解度が上がることが考えられた。</p> <p>当初は、被験物質の 1-オクターノル/水分配係数 (log Pow) の文献値が 7.20 であることを基に、人工底質に予めホウレンソウ粉末を混合する給餌方法を採用する予定であった。しかし、試験の場面では、溶解度が高いため、公的機関より助言を得た上で、log Pow が 5 以下の時に採用するテトラミンを暴露期間中に分割給餌する方法を採用した。</p> <p>暴露試験の結果、暴露期間中に人工底質における被験物質濃度の減少が見られなかったことから、各影響濃度の算出には、暴露開始時の人工底質における被験物質濃度の実測濃度を採用した。なお、水中の被験物質濃度の測定値は、間隙水 0.083 ~ 0.914 mg/L、上層水 0.128 ~ 2.80 mg/L であった (上層水の濃度が間隙水の濃度よりも高くなっており通常の場合と逆転していたが、確認の結果、上層水に分散状態の被験物質が存在していた状態であった)。</p> <p>試験の有効性については、テストガイドラインから逸脱した点もなく、試験の有効性基準を満たしたことから、有効であると判断した。</p>

## 5. 累積羽化数および濃度－羽化阻害率曲線

### 累積羽化数



### 被験物質濃度－羽化阻害率曲線



6. その他

試験実施施設	名 称	株式会社 クレハ分析センター		
	所 在 地	〒974-8232 福島県いわき市錦町落合16番地		電話 0246-63-6755 FAX 0246-62-3753
試験責任者	職 氏 名	分析本部 <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span>		
	経 験 年 数	約5年		
試験番号	No. 2007-生75			
試験期間	2008年 1月31日 から 2009年10月 5日 まで			

作成責任者：分析本部 [REDACTED]

# I U C L I D

## Data Set

Existing Chemical : ID: 79-94-7  
CAS No. : 79-94-7  
EINECS Name : Tetrabromobisphenol A  
EC No. :  
TSCA Name :  
Molecular Formula : C15H12Br4O2

Producer related part  
Company : Kureha Special Laboratory Co., Ltd.  
Creation date : 10.05.2009

Substance related part  
Company : Kureha Special Laboratory Co., Ltd.  
Creation date : 10.05.2009

Status :  
Memo :

Printing date : 10.05.2009  
Revision date :  
Date of last update : 10.05.2009

Number of pages :  
5

Chapter (profile) : Chapter: 4  
Reliability (profile) : Reliability: without reliability, 1, 2, 3, 4  
Flags (profile) : Flags: without flag, confidential, non confidential, WGK (DE), TA-Luft (DE),  
Material Safety Dataset, Risk Assessment, Directive 67/548/EEC, SIDS

## 4.1 ACUTE/PROLONGED TOXICITY TO FISH

## 4.2 ACUTE TOXICITY TO AQUATIC INVERTEBRATES

## 4.3 TOXICITY TO AQUATIC PLANTS E.G. ALGAE

## 4.4 TOXICITY TO MICROORGANISMS E.G. BACTERIA

## 4.5.1 CHRONIC TOXICITY TO FISH

## 4.5.2 CHRONIC TOXICITY TO AQUATIC INVERTEBRATES

## 4.6.1 TOXICITY TO SEDIMENT DWELLING ORGANISMS

Type	: Static
Species	: Chironomus yoshimatsui
Exposure period	: 25 day(s)
Unit	: mg/kg (Dry sediment weight)
NOEC	: Emergence ratio (ER) = 360 Initial measured concentration
EC50	: Emergence rate (ER) = 870 Initial measured concentration Development rate (DR) > 1140 Initial measured concentration
Limit Test	: No
Analytical monitoring Method	: Yes : OECD Guide-line 218, "Sediment-Water Chironomid Toxicity Test Using Spiked Sediment"
Year	: 2009
GLP	: Yes
Test substance	: TS: [REDACTED] Lot No.: T556F, Purity = 99.8 %
Method	: -Test Organisms: a) Age: < 24 hours old after hatching (First instar larvae) b) Supplier/Source: Test organisms as eggs were supplied from the National Institute for Environmental Studies (Japan). c) Any pretreatment: Eggs were incubated for 2 days in the test water before testing.  -Test substance: Tetrabromobisphenol A a) Empirical Formula: C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> Br <sub>4</sub> O <sub>2</sub> b) Molecular Weight: 543.88 g/mol c) Purity: 99.8 % d) Boiling Point: Not clear e) Water Solubility: 0.001 mg/L (25C) (Literature)  -Test Conditions: a) Dilution Water Source: Dilution water was prepared from dechlorinated industrial water (drinkable water grade). This water was aerated after



residual chlorine removal by activated carbon treatment.

b) Dilution Water Chemistry: pH : 7.9 Total hardness (as CaCO<sub>3</sub>): 32 - 33 mg/L

c) Exposure Vessel Type: 120 g Sediment (Peat moss 5 %, Kaolin 20 %, quartz sand 75 %), total 400 mL test solution in a 500 mL glass tall beaker.

d) Nominal Concentrations: control, 56, 100, 180, 320, 560, 1000 mg/kg

e) Vehicle/Solvent and Concentrations: Acetone was used at the preparation of the sediment to dissolve test substance (Added to the quartz sand and soon dried).

f) Number of Replicate: 4

g) Individuals per Replicates: 20

h) Water Temperature: 23+/-1C

i) Light Condition: 16:8 hours, light-darkness cycle

j) Feeding: Yes (TetraMin)

1- 3day :0.35mg/larvae/day

4-11day:0.50mg/larvae/day

After 12day:0.75mg/larvae/day

k) Aeration : Yes (Slight aeration)

- Analytical Procedure: Test concentrations were measured at the start and the end of the test using HPLC.

- Statistical Method:

a) Data Analysis: EC50 was calculated by Probit method and LOEC and NOEC were calculated by ANOVA after ER arcsin-sqrt-transformation.

b) Method of Calculating Mean Measured Concentrations (i.e. arithmetic mean, geometric mean, etc.): The initial measured concentrations (as dry weight) were used for calculation (show below).

## Result

: - Measured Concentrations: The test concentrations were measured at the start and the end of the test period.

### Sediment

Sediment	Measured Concentration of Sediment				Mean Measured Conc. (mg/kg)
	[mg/kg] (Percent of Nominal)				
	0 day		25 day		
Nominal Concentration (mg/kg)	Start of the Test		End of the Test		
Control	<0.3	(-)	<0.3	(-)	-
Solvent Cont.	<0.3	(-)	<0.3	(-)	-
56	56.0	(100)	60.1	(107)	58.1
100	100	(100)	102	(102)	101
180	189	(105)	192	(107)	191
320	358	(112)	369	(115)	364
560	610	(109)	625	(112)	618
1000	1140	(114)	1090	(109)	1120

### Pore Water and Overlying Water

Nominal Concentration (mg/kg)	Measured Concentration (mg/L)			
	0 day		25 day	
	(Start of the Test)		(End of the Test)	
	Pore Water	Overlying Water*	Pore Water	Overlying Water*
Control	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
Solvent Cont.	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
56	0.101	0.128	0.083	0.141
100	0.125	0.230	0.126	0.202
180	0.132	0.468	0.213	0.383
320	0.393	0.827	0.368	1.07
560	0.472	1.20	0.756	1.77
1000	0.538	1.70	0.914	2.80

\* : The concentration of overlying water was higher than the pore water because of the presence of suspended test substance in the overlying water.

- Water chemistry (pH, DO and temperature in test): Water chemistry and temperature were measured for control and each concentration two times a week.

pH: 8.1 - 8.6

DO: 7.2 - 8.5 mg/L

Water Temperature: 22.7 - 23.8°C

-Effect Data:

EC50

Emergence ratio (ER)

EC50 (25day) = 870 mg/kg (95 % C.L.: 740 - 1030 mg/kg) Probit

Development rate (DR)

EC50 (25day) > 1140 mg/kg

NOEC

Emergence ratio (ANOVA after arcsin-sqrt-transformation)

NOEC = 360 mg/kg

LOEC = 610 mg/kg

-Emergence: More than 70% of test organisms were emerged both at control and solvent control. The lowest concentration from which the test organisms were emerged was 1140 mg/kg during 25 Days.

#### Emergence Ratio (ER)

Initial Measured Concentration mg/kg	Emerged Chironomid (25 Day)		
	Cumulative Number (Applied 80)	Emergence Ratio (ER)	Inhibition*, ** %
Control	69	0.863	-1 N.S
Solvent control	68	0.850	0
56.0	70	0.875	-3 N.S
100	69	0.863	-1 N.S
189	75	0.938	-10 N.S
358	73	0.913	-7 N.S
610	59	0.738	13 ***
1140	13	0.163	81 ****

\* : To Solvent control

\*\* : By ANOVA after arcsin-sqrt-transformation

N.S. : Indicates No significant from the solvent control.

\*\*\* : Indicates Significant difference  $p < 0.05$

\*\*\*\* : Indicates Significant difference  $p < 0.01$

#### Development Rate (DR)

Initial Measured Concentration mg/kg	Development Rate (DR)	Inhibition* %
Control	0.0729	-2
Solvent control	0.0715	0
56.0	0.0734	-3
100	0.0738	-3
189	0.0724	-1
358	0.0716	0
610	0.0705	1
1140	0.0686	4

\* Statistics was not applied because of the low inhibition level.

## 9. References

Id 79-94-7

Date 10.05.2009

---

- Calculation of toxic values: Initial measured concentration

Reliability  
10.05.2009

: (1) valid without restriction

(1)

### 4.6.2 TOXICITY TO TERRESTRIAL PLANTS

### 4.6.3 TOXICITY TO SOIL DWELLING ORGANISMS

### 4.6.4 TOX. TO OTHER NON MAMM. TERR. SPECIES

### 4.7 BIOLOGICAL EFFECTS MONITORING

### 4.8 BIOTRANSFORMATION AND KINETICS

### 4.9 ADDITIONAL REMARKS