

環境省殿

## 最 終 報 告 書

2,3-ジメチルアニリンの藻類(*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害試験

(試験番号：第15041号)

2004年3月31日

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

## 試験実施概要

1. 表 題：2,3-ジメチルアニリンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験
2. 試験目的：2,3-ジメチルアニリンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験を行い、50%生長阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) 及び最大無作用濃度 (NOEC) を求める。
3. 試験方法：OECD 化学品テストガイドライン No. 201 「藻類生長阻害試験」(1984 年) に準拠
4. 適用 GLP：日本国環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室長通知「生態影響試験実施に関する基準の改正について」(別添)「生態影響試験実施に関する基準」(環保安第 242 号, 2001 年)
5. 試験委託者：
  - 1) 名 称：環境省
  - 2) 住 所：〒100-8975 東京都千代田区霞ヶ関1丁目2番2号
  - 3) 委託責任者：総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室  
室長補佐 [REDACTED]
6. 試験受託者：
  - 1) 名 称：財団法人 日本食品分析センター
  - 2) 住 所：〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号
  - 3) 代 表 者：[REDACTED]
7. 試験施設：
  - 1) 名 称：財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
  - 2) 住 所：〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目21番6号 (別館)
  - 3) 運営管理者：[REDACTED] (多摩研究所長)

8. 試験責任者

所 属：環境科学部 環境生物安全課  
氏 名：[REDACTED]

9. 分析担当責任者

所 属：応用試験部 農薬試験課  
氏 名：[REDACTED]

10. 試験担当者

生物系

所 属：環境科学部 環境生物安全課  
氏 名：[REDACTED]

分析系

所 属：応用試験部 農薬試験課  
氏 名：[REDACTED]

11. 試験日程

試験開始日：2003年12月1日  
実験開始日：2004年2月16日(本試験1回目)  
実験終了日：2004年2月19日(本試験1回目)  
実験開始日：2004年3月1日(本試験2回目[再試験1回目])  
実験終了日：2004年3月4日(本試験2回目[再試験1回目])  
試験終了日：2004年3月31日

12. 記録及び資料の保管

試験に関する下記の記録及び試料は、1)については最終報告書作成後10年間または品質低下を起さずに保存し得る期間のいずれか短い方の期間、2)から5)については10年間、財団法人日本食品分析センター多摩研究所資料保管施設に保管する。その後の保管については試験委託者と別途協議の上、定める。

- 1) 被験物質
- 2) 試験計画書
- 3) 生データ及び最終報告書
- 4) 信頼性保証部門の検閲記録
- 5) その他必要なもの

13. 最終報告書の承認

試験責任者

所 属： 財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所 環境科学部 環境生物安全課

氏 名：   2004 年 3 月 31 日 承認

## 目次

|  | 頁  |
|--|----|
| 要 旨 .....                              | 7  |
| 1 被験物質 .....                           | 9  |
| 1.1 名称, 構造式及び物理化学的性状 .....             | 9  |
| 1.2 供試試料 .....                         | 9  |
| 1.3 保管方法及び保管条件下での安定性 .....             | 10 |
| 2 供試生物 .....                           | 10 |
| 3 試験方法 .....                           | 10 |
| 3.1 試験条件.....                          | 10 |
| 3.2 培地 .....                           | 11 |
| 3.3 試験容器, 藻類培養試験装置及び機器 .....           | 11 |
| 3.4 試験濃度の設定 .....                      | 11 |
| 3.5 試験液の調製 .....                       | 11 |
| 3.6 試験液の分析 .....                       | 12 |
| 3.7 試験操作 .....                         | 12 |
| 4 結果の算出 .....                          | 12 |
| 4.1 生長曲線 .....                         | 12 |
| 4.2 生長阻害率の算出 .....                     | 12 |
| 4.3 結果の算出に用いた試験濃度の決定 .....             | 13 |
| 4.4 50 %生長阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) の算出 ..... | 13 |
| 4.5 最大無作用濃度 (NOEC) .....               | 13 |
| 4.6 統計的手法.....                         | 14 |
| 5 結果及び考察 .....                         | 14 |
| 5.1 試験液中の被験物質濃度 .....                  | 14 |
| 5.2 試験液の状態 .....                       | 14 |
| 5.3 生長曲線 .....                         | 14 |
| 5.4 50 %生長阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) .....     | 14 |
| 5.5 最大無作用濃度 (NOEC) .....               | 15 |
| 5.6 供試生物の観察された影響 .....                 | 15 |
| 5.7 試験液の水温及び pH .....                  | 15 |
| 5.8 試験計画書からの逸脱事項.....                  | 15 |
| 5.9 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因 .....    | 15 |
| 5.10 試験の妥当性 .....                      | 15 |
| 5.11 結果の評価と考察.....                     | 15 |

|            |                        |       |
|------------|------------------------|-------|
| Table 1～7  | .....                  | 16～20 |
| Figure 1～4 | .....                  | 21～22 |
| 付属資料-1     | OECD 培地 .....          | 23    |
| 付属資料-2     | 予備試験結果 .....           | 24    |
| 付属資料-3     | 本試験 1 回目の結果 .....      | 25    |
| 付属資料-4     | 統計処理データ .....          | 26～30 |
| 付属資料-5     | 試験液中の被験物質濃度の分析方法 ..... | 31～35 |

## 要 旨

試験委託者

環境省

表 題

2,3-ジメチルアニリンの藻類(*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害試験

試験番号

第15041号

試験方法

OECD 化学品テストガイドライン No. 201「藻類生長阻害試験」(1984年)に準拠

- 1) 被験物質：2,3-ジメチルアニリン
- 2) 暴露方式：振とう培養(100 r/min)，開放系(通気性シリコン栓)
- 3) 供試生物：*Selenastrum capricornutum*
- 4) 暴露期間：72時間
- 5) 試験濃度(設定値)：  
対照区， 0.22, 0.46, 1.0, 2.2, 4.6, 10, 22, 46 及び 100 mg/l  
公比；2.2
- 6) 試験液量：100 ml/容器
- 7) 連 数：3 容器/1 試験区
- 8) 初期細胞濃度：約  $1 \times 10^4$  cells/ml
- 9) 試験温度：22.3～23.8℃
- 10) 照 明：フラスコ液面付近で 4,000～4,200 lx. (連続照明)
- 11) pH：7.5～7.9 (試験液の pH 調整は行わなかった。)
- 12) 培 地：OECD 化学品テストガイドラインに示されている培地
- 13) 分 析 法：高速液体クロマトグラフ法

## 結 果

以下の値は測定値(暴露開始時)を基に示した。

### 1) 50 %生長阻害濃度 ( $EC_{50}$ )

面積法

$E_bC_{50}$  (0-72) : 16 mg/l (95 %信頼区間 ; 14~17 mg/l) logit 法により算出した。

速度法

$E_rC_{50}$  (24-48) : 30 mg/l (95 %信頼区間 ; 25~36 mg/l) logit 法により算出した。

$E_rC_{50}$  (24-72) : 36 mg/l (95 %信頼区間 ; 32~41 mg/l) logit 法により算出した。

### 2) 最大無作用濃度 (NOEC)

面積法

NOECb (0-72) : 4.6 mg/l (Dunnett の多重比較法により算出した。)

速度法

NOECr (24-48) : 4.6 mg/l (Dunnett の多重比較法により算出した。)

NOECr (24-72) : 4.6 mg/l (Dunnett の多重比較法により算出した。)



## 1 被験物質

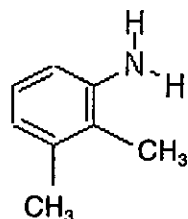
### 1.1 名称, 構造式及び物理化学的性状

名称: 2,3-ジメチルアニリン

別名: o-キシリジン<sup>1)</sup>, 2,3-キシリジン<sup>1)</sup>, 2,3-ジメチルフェニルアミン<sup>1)</sup>  
2,3-アミノジメチルベンゼン<sup>1)</sup>

CAS No: 87-59-2

構造式:



分子式:  $C_8H_{11}N$

分子量: 121.2<sup>1)</sup>

沸点: 221~222 °C<sup>2)</sup>

融点: 2.5 °C<sup>1)</sup>, <-15 °C<sup>2)</sup>

水溶解度: 微溶<sup>1)</sup>, 水に難溶<sup>2)</sup>

比重: —

pKa: —

logPow: 2.21<sup>1)</sup>

蒸気圧: 0.1 mmHg (25 °C)<sup>1)</sup>

その他: 難分解性<sup>2)</sup>

出典:

1) 浦野 紘平: "PRTR・MSDS対象化学物質の毒性ランクと物性情報", 第1版, 496 (2001)  
化学工業日報社

2) [REDACTED]

### 1.2 供試試料

純度: 99.2 %

ロット番号: SEE4863

供給者: [REDACTED]

受領量: 25 ml×4本

受領日: 2003年11月28日

外観: 暗赤色澄明の液体

### 1.3 保管方法及び保管条件下での安定性

#### 1) 保管方法

被験物質は当センターの被験物質保管庫(冷蔵庫)に保管した。

#### 2) 被験物質の確認及び保管条件下の安定性

入手した被験物質について赤外分光光度計によりスペクトルを測定し、被験物質の特性が認められることを確認した。また、試験終了時にも同様にスペクトルを測定し、試験開始前のスペクトルと変化が認められないことを確認した。その結果、被験物質は保管条件下において安定であったと判断された。

## 2 供試生物

#### 1) 学 名 : *Selenastrum capricornutum*

(現在の学名は *Pseudokirchneriella subcapitata* に変更されている。)

#### 2) 株 番 号 : ATCC22662 株

#### 3) 入 手 等 : American Type Culture Collection より入手 (2002 年 11 月 14 日) したものを、センターにおいて無菌的に継代培養した種である。使用藻類は 6 ヶ月毎に細菌検査を行い、無菌性が確認されたものを使用した。

#### 4) 基準物質による検定の結果 : 基準物質 (重クロム酸カリウム, 試薬特級) による 72 時間の 50 % 生長阻害濃度 $E_bC_{50}$ は 0.38 mg/l (2004 年 1 月 26 日) であった。当センターにおける 1995 年 12 月以降の $E_bC_{50}$ 値のバックグラウンドデータ ( $0.71 \pm 0.19$ mg/l) と比較した結果、供試生物の感受性は、やや高い状態にあると判断した。

#### 5) 前 培 養 : 試験に供する藻類は試験条件と同じ条件で暴露開始前に 3 日間培養 (2004 年 2 月 27 日 ~ 3 月 1 日) したものをを使用した。前培養終了時に、変形や異常な細胞の出現が無いことを確認した。

なお、前培養終了時の細胞濃度は  $350.20 \times 10^4$  cells/ml であり、対数増殖期にあると判断した。

## 3 試験方法

### 3.1 試験条件

- 1) 暴露方式 : 振とう培養 (100 r/min), 開放系 (通気性シリコン栓)
- 2) 暴露期間 : 72 時間
- 3) 試験液量 : 100 ml/容器
- 4) 連 数 : 3 容器/1 試験区
- 5) 初期細胞濃度 : 約  $1 \times 10^4$  cells/ml
- 6) 試験温度 : 22.3 ~ 23.8 °C
- 7) 照 明 : フラスコ液面付近で 4,000 ~ 4,200 lx. (連続照明)
- 8) pH : 7.5 ~ 7.9 (試験液の pH 調整は行わなかった。)

### 3.2 培地

前培養及び試験ともに OECD 化学品テストガイドラインに示されている培地を用いた。培地は滅菌したものを使用した。

培地の成分表を付属資料-1 に示した。

### 3.3 試験容器、藻類培養試験装置及び機器

- 1) 試験容器：500 ml 容ガラス製三角フラスコ [株式会社 前田製作所] (容器のサイズ；底面の内径 約 10 cm×高さ 約 17 cm。試験容器には通気性のシリコン栓をした。)
- 2) 藻類培養試験装置：光照射式恒温振とう機 TA-60RL [高崎科学器械株式会社]
- 3) 光学顕微鏡：CK2 [オリンパス光学工業株式会社]
- 4) 粒子計数装置：コールター Z1 [ベックマン・コールター株式会社]
- 5) 粒子計数装置用電解液：ISOTON II [ベックマン・コールター株式会社]
- 6) 血球計算盤：THOMA [エルマ販売株式会社]
- 7) pH 計：HM-14P [東亜ディーケーケー株式会社]
- 8) 温度計：AP-210 [安立計器株式会社]
- 9) 照度計：NT-1332 [N. T. コーポレーション]

### 3.4 試験濃度の設定

予備試験の結果から、100 mg/l の濃度区では藻類の生長阻害率 ( $I_h$ ) が 98 %であり、1.0 mg/l の濃度区では 10 %であったことに基づき、本試験では、当初、46 mg/l 以下の濃度を公比 2.2 で 8 濃度区 (0.22, 0.46, 1.0, 2.2, 4.6, 10, 22 及び 46 mg/l) を設定したが、最高試験濃度区の 46 mg/l 濃度区で  $I_h$  (24-48h) が 43 %,  $I_h$  (24-72h) が 63 %となり、 $E_rC50$  (24-48) 及び  $E_rC50$  (24-72) を算出するための十分なデータを得ることができなかった。

以上の経緯から、再試験は公比 2.2 で 9 濃度区 (0.22, 0.46, 1.0, 2.2, 4.6, 10, 22, 46 及び 100 mg/l) を設定した。

なお、予備試験の結果は付属資料-2、本試験1回目の結果は付属資料-3に示した。

### 3.5 試験液の調製

試験液調製時の培地は、調製前に恒温室内で  $23 \pm 2$  °C にした。

被験物質を超音波処理により培地に溶解させ被験物質原液を調製した。この原液を培地を用いて希釈し、被験物質溶液を調製した。

これらの原液及び溶液を培地に添加して各濃度区の試験液を調製した。

対照区には、培地のみの無処理の対照区を設けた。

なお、被験物質は純度が 99.2 %と高純度であったため、純度を考慮せず秤取した。よって、設定した試験濃度は、供試試料の濃度として示した。また、被験物質原液は用時調製とした。

### 3.6 試験液の分析

試験液中の被験物質濃度の分析は、高速液体クロマトグラフを用いて、全試験区について、暴露開始時(0時間)及び終了時(暴露開始後72時間)に行った。なお、暴露開始時は分析用及び3連分(pH及び水温測定用を含む。)を同時に調製した容器から試験液を100 ml採取して分析用試験液とした。また、終了時は各試験区のそれぞれ3連の試験容器から等量ずつ採取し混合した100 mlを分析用試験液とした。暴露終了時の分析に際しては、採取した試験液を遠心分離により、藻体を除去してから行った。

なお、分析方法は付属資料-5に示した。

### 3.7 試験操作

前培養した藻類の細胞数を計数し、試験液中の細胞濃度が約 $1 \times 10^4$  cells/mlとなるように、前培養液の一定量を試験液の入った容器に添加した。

各試験容器を $23 \pm 2$ ℃の培養装置に設置し試験を開始した。その後、24、48及び72時間に細胞濃度を測定した。なお、細胞濃度の測定は、粒子計数装置により行った。

試験液中の藻類について、72時間に肉眼による色調観察及び顕微鏡下での細胞形態観察を行った。

試験液調製時の水温及びpHは3容器とは別の予備1容器について測定し各試験区の暴露開始時の水温及びpHとし、終了時には各試験区の3容器のうち1容器について水温及びpHを測定した。暴露期間中、培養装置内の温度、照度を1日1回測定した。

なお、暴露期間中の試験液についてはその状態(外観等)を観察し、記録した。

## 4 結果の算出

### 4.1 生長曲線

試験区及び対照区の細胞濃度の平均値を時間に対してプロットし生長曲線を作成した。

### 4.2 生長阻害率の算出

次に下記の方法(面積法及び速度法)で生長阻害率を算出した。

#### 1) 生長曲線下の面積の比較(面積法)による生長阻害率( $I_A$ )

生長曲線下の面積は次の式により算出した。

$$A = \frac{N_1 - N_0}{2} \times t_1 + \frac{N_1 + N_2 - 2N_0}{2} \times (t_2 - t_1) + \dots + \frac{N_{n-1} + N_n - 2N_0}{2} \times (t_n - t_{n-1})$$

ここで、

A : 生長曲線下の面積

$N_0$  : 暴露開始時の設定細胞濃度(cells/ml)

$N_1$  :  $t_1$ 時の実測細胞濃度(cells/ml)

$N_n$  :  $t_n$ 時の実測細胞濃度(cells/ml)

$t_1$  : 暴露開始後最初に細胞濃度を測定した時間

$t_n$  : 暴露開始後n回目に細胞濃度を測定した時間

生長曲線下の面積より各試験区における生長の阻害百分率 ( $I_A$ ) を次の式により算出した。

$$I_A = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100$$

ここで、

$A_c$  : 対照区の生長曲線下の面積

$A_t$  : 各試験区における生長曲線下の面積

## 2) 生長速度の比較 (速度法) による生長阻害率 ( $I_\mu$ )

指数増殖している培養での細胞濃度の平均値から平均の生長速度 ( $\mu$ ) を次の式より算出した。

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_1}{t_n - t_1}$$

ここで、

$N_1$  :  $t_1$  時の実測細胞濃度 (cells/ml)

$N_n$  :  $t_n$  時の実測細胞濃度 (cells/ml)

$t_1$  : 暴露開始後最初に細胞濃度を測定した時間

$t_n$  : 暴露開始後  $n$  回目に細胞濃度を測定した時間

平均の生長速度 ( $\mu$ ) より各試験区における平均生長速度の低下百分率を次の式により算出した。

$$I_m = \frac{\mu_c - \mu_t}{\mu_c} \times 100$$

ここで、

$\mu_c$  : 対照区の平均生長速度

$\mu_t$  : 各試験区における平均生長速度

## 4.3 結果の算出に用いた試験濃度の決定

結果の算出に用いた試験濃度は測定値 (暴露開始時) とした。

## 4.4 50 % 生長阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) の算出

4.2で算出した面積法及び速度法による生長阻害率 ( $I_A$  値及び  $I_\mu$  値) を用いてlogit法により、50 % 生長阻害濃度 ( $EC_{50}$ ) を算出した。それらの95 % 信頼区間も算出した。その際、面積法により求めた場合は  $E_bC_{50}$  (0-72), 速度法により求めた場合は  $E_rC_{50}$  (24-48) または  $E_rC_{50}$  (24-72) と記載した。

## 4.5 最大無作用濃度 (NOEC)

Dunnettの多重比較検定 (片側, 有意水準:  $\alpha=0.05$ ) により対照区と比較して有意差が認められない試験濃度を最大無作用濃度 (NOEC) とした。その際、面積法により求めた場合は  $NOEC_b$  (0-72), 速度法により求めた場合は  $NOEC_r$  (24-48) または  $NOEC_r$  (24-72) と記載した。

#### 4.6 統計的手法

本試験結果に使用した統計ソフトを以下に示した。また、統計ソフトの出力結果を付属資料-4に示した。

Eco-Tox Statics version 2.2

### 5 結果及び考察

#### 5.1 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時及び終了時(72時間後)に試験液中の被験物質濃度を測定し、その結果を Table 1 に示した。

暴露開始時及び終了時(72時間後)の試験液中の測定濃度は、それぞれ0.21~95.9 mg/l, 0.16~89.6 mg/l (設定濃度: 0.22~100 mg/l)であり、設定濃度に対する割合は、暴露開始時が94~101%, 暴露終了時(72時間後)が65~91%であった。

暴露開始時の測定濃度に対して、終了時の測定濃度が減少する傾向にあり、その原因は、試験生物(藻体)への吸収または吸着によるものと推察された。

以上のことから、以下の値(50%生長阻害濃度及び最大無作用濃度)は暴露開始時の測定値を基に示した。

#### 5.2 試験液の状態

暴露開始時の試験液は無色透明であった。また、72時間後の試験液は、全ての濃度区において開始時と比較して変化が認められなかった。

#### 5.3 生長曲線

暴露期間中の細胞濃度を Table 2 及び生長曲線を Figure 1 に示した。

72時間後の平均細胞濃度は0.21 mg/l で  $174.87 \times 10^4$  cells/ml, 0.45 mg/l で  $161.37 \times 10^4$  cells/ml, 0.94 mg/l で  $140.20 \times 10^4$  cells/ml, 2.19 mg/l で  $135.23 \times 10^4$  cells/ml, 4.58 mg/l で  $124.63 \times 10^4$  cells/ml, 9.94 mg/l で  $84.64 \times 10^4$  cells/ml, 22.1 mg/l で  $52.65 \times 10^4$  cells/ml, 46.3 mg/l で  $10.91 \times 10^4$  cells/ml 及び95.9 mg/l で  $2.14 \times 10^4$  cells/ml であった。

なお、対照区では  $134.77 \times 10^4$  cells/ml であった。

#### 5.4 50%生長阻害濃度( $EC_{50}$ )

各時間における生長阻害率を Table 3 に、50%生長阻害濃度( $EC_{50}$ )を Table 4 に示した。また、濃度-阻害率のグラフを Figure 2~4 に示した。

以上のことから、以下の結果を得た。

##### 面積法

$E_bC_{50}$  (0-72) : 16 mg/l (95%信頼区間; 14~17 mg/l) logit 法により算出した。

##### 速度法

$E_rC_{50}$  (24-48) : 30 mg/l (95%信頼区間; 25~36 mg/l) logit 法により算出した。

$E_rC_{50}$  (24-72) : 36 mg/l (95%信頼区間; 32~41 mg/l) logit 法により算出した。

5.5 最大無作用濃度 (NOEC)

最大無作用濃度 (NOEC) を Table 5 及び以下に示した。

面積法

NOECb (0-72) : 4.6 mg/l (Dunnett の多重比較法により算出した。)

速度法

NOECr (24-48) : 4.6 mg/l (Dunnett の多重比較法により算出した。)

NOECr (24-72) : 4.6 mg/l (Dunnett の多重比較法により算出した。)

5.6 供試生物の観察された影響

肉眼による色調観察及び顕微鏡下での細胞形態観察の結果、全試験区において色調の異常、細胞の変形及び異常な細胞の出現は観察されなかった。

5.7 試験液の水温及び pH

試験液の水温を Table 6, pH を Table 7 に示した。

暴露期間中の各試験区の水温は 22.3~23.8 °C, pH は 7.5~7.9 であり、水温は  $23 \pm 2$  °C の範囲で試験環境条件を満たしていた。

5.8 試験計画書からの逸脱事項

なし。

5.9 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

なし。

5.10 試験の妥当性

対照区の暴露開始 72 時間後の平均細胞濃度は、 $134.77 \times 10^4$  cells/ml であり、暴露開始時の細胞濃度の 16 倍以上に増加したため、本試験の成立が確認された。

5.11 結果の評価と考察

試験液中の被験物質濃度の分析結果から、被験物質濃度はやや減少傾向にあったが、ほぼ一定に保たれていたと考えられた。よって、暴露期間中の藻類は、ほぼ設定濃度通りの被験物質に連続的に暴露されていたと判断した。

本被験物質は水溶解度が高く、難分解性物質であることから、自然環境中に流出した場合には、水系への拡散が早く、その地域に生息する生物に対して、長期間の暴露影響を及ぼす可能性が高いと推察された。したがって、本試験より得られた情報のみから、その影響を推察するには注意が必要であり、より長期的な暴露による影響を確認する必要があると考えられた。

Table 1. Measured Concentration of the Test Substance in the Test Water

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/l) | Measured Concentration (mg/l) |                       |          |                       |
|------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|----------|-----------------------|
|                                    | 0 Hour                        | Percent of<br>Nominal | 72 Hours | Percent of<br>Nominal |
| Control                            | < 0.01                        | —                     | < 0.01   | —                     |
| 0.22                               | 0.21                          | 95                    | 0.16     | 73                    |
| 0.46                               | 0.45                          | 98                    | 0.30     | 65                    |
| 1.0                                | 0.94                          | 94                    | 0.79     | 79                    |
| 2.2                                | 2.19                          | 100                   | 1.97     | 90                    |
| 4.6                                | 4.58                          | 100                   | 4.08     | 89                    |
| 10                                 | 9.94                          | 99                    | 8.54     | 85                    |
| 22                                 | 22.1                          | 100                   | 20.0     | 91                    |
| 46                                 | 46.3                          | 101                   | 40.9     | 89                    |
| 100                                | 95.9                          | 96                    | 89.6     | 90                    |



Table 2. Cell Densities of *Selenastrum capricornutum* during the 72-Hour Exposure

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/l) | Mean <sup>a</sup> Measured<br>Concentration<br>(mg/l) | No.     | Cell Densities (×10 <sup>4</sup> cells/ml) |          |          |          |
|------------------------------------|---|---------|--|----------|----------|----------|
|                                    |   |         | 0 Hour                                     | 24 Hours | 48 Hours | 72 Hours |
| Control                            | —   | 1       | 1.0  | 5.21     | 29.44    | 159.40   |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 5.22     | 25.00    | 116.40   |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 5.10     | 24.53    | 128.50   |
|                                    |   | Average | 1.0  | 5.18     | 26.32    | 134.77   |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.07     | 2.71     | 22.17    |
| 0.22                               | 0.21  | 1       | 1.0  | 6.08     | 30.57    | 165.30   |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 6.16     | 32.26    | 179.00   |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 6.67     | 32.94    | 180.30   |
|                                    |   | Average | 1.0  | 6.30     | 31.92    | 174.87   |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.32     | 1.22     | 8.31     |
| 0.46                               | 0.45  | 1       | 1.0  | 5.40     | 28.58    | 171.20   |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 5.24     | 25.32    | 146.30   |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 5.95     | 29.58    | 166.60   |
|                                    |   | Average | 1.0  | 5.53     | 27.83    | 161.37   |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.37     | 2.23     | 13.25    |
| 1.0                                | 0.94  | 1       | 1.0  | 5.12     | 22.49    | 113.40   |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 4.77     | 23.58    | 125.00   |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 5.99     | 24.54    | 182.20   |
|                                    |   | Average | 1.0  | 5.29     | 23.54    | 140.20   |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.63     | 1.03     | 36.83    |
| 2.2                                | 2.19  | 1       | 1.0  | 4.49     | 22.51    | 130.50   |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 4.88     | 21.43    | 127.00   |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 5.47     | 26.63    | 148.20   |
|                                    |   | Average | 1.0  | 4.95     | 23.52    | 135.23   |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.49     | 2.74     | 11.37    |
| 4.6                                | 4.58  | 1       | 1.0  | 5.31     | 22.57    | 117.40   |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 5.50     | 25.08    | 135.40   |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 5.13     | 22.45    | 121.10   |
|                                    |   | Average | 1.0  | 5.31     | 23.37    | 124.63   |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.19     | 1.49     | 9.51     |
| 10                                 | 9.94  | 1       | 1.0  | 4.68     | 16.21    | 86.85    |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 4.95     | 16.84    | 72.24    |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 4.82     | 18.76    | 88.84    |
|                                    |   | Average | 1.0  | 4.82     | 17.27    | 82.64    |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.14     | 1.33     | 9.06     |
| 22                                 | 22.1  | 1       | 1.0  | 3.55     | 11.35    | 51.70    |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 4.03     | 12.58    | 56.35    |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 4.94     | 12.04    | 49.91    |
|                                    |   | Average | 1.0  | 4.17     | 11.99    | 52.65    |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.71     | 0.62     | 3.32     |
| 46                                 | 46.3  | 1       | 1.0  | 3.84     | 7.10     | 20.43    |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 2.99     | 3.73     | 4.08     |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 3.80     | 6.37     | 8.23     |
|                                    |   | Average | 1.0  | 3.54     | 5.73     | 10.91    |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.48     | 1.77     | 8.50     |
| 100                                | 95.9  | 1       | 1.0  | 2.03     | 1.89     | 2.14     |
|                                    |   | 2       | 1.0  | 2.10     | 1.90     | 2.09     |
|                                    |   | 3       | 1.0  | 2.61     | 1.81     | 2.18     |
|                                    |   | Average | 1.0  | 2.25     | 1.87     | 2.14     |
|                                    |   | SD      | 0.0  | 0.32     | 0.05     | 0.05     |

a: At the start of the exposure

SD = Standard deviation

Table 3. Percentage Inhibition of *Selenastrum capricornutum*

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/l) | Mean <sup>a</sup><br>Measured<br>Concentration<br>(mg/l) | No.     | Area Under<br>the Growth Curves |  | Growth Rate             |  |                         |  |
|------------------------------------|--|---------|---------------------------------|--|-------------------------|--|-------------------------|--|
|                                    |  |         | Area<br>A (0-72hr)              | Inhibition<br>(%)<br>I <sub>A</sub> (0-72hr) | Rate<br>$\mu$ (24-48hr) | Inhibition<br>(%)<br>I <sub><math>\mu</math></sub> (24-48hr) | Rate<br>$\mu$ (24-72hr) | Inhibition<br>(%)<br>I <sub><math>\mu</math></sub> (24-72hr) |
| Control                            | —  | 1       | 26,844,000                      | —  | 0.072157                | —  | 0.071267                | —  |
|                                    |  | 2       | 20,620,800                      | —  | 0.065266                | —  | 0.064678                | —  |
|                                    |  | 3       | 21,931,200                      | —  | 0.065444                | —  | 0.067223                | —  |
|                                    |  | Average | 23,132,000                      | —  | 0.067622                | —  | 0.067723                | —  |
|                                    |  | SD      | 3,280,777                       | —  | 0.003928                | —  | 0.003323                | —  |
| 0.22                               | 0.21   | 1       | 28,032,000                      | -21.18                                       | 0.067292                | 0.49   | 0.068807                | -1.60  |
|                                    |  | 2       | 30,100,800                      | -30.13                                       | 0.068990                | -2.02  | 0.070194                | -3.65  |
|                                    |  | 3       | 30,542,400                      | -32.04                                       | 0.066544                | 1.59   | 0.068688                | -1.42  |
|                                    |  | Average | 29,558,400                      | -27.78                                       | 0.067609                | 0.02   | 0.069230                | -2.22  |
|                                    |  | SD      | 1,340,215                       | 5.80   | 0.001253                | 1.85   | 0.000837                | 1.24   |
| 0.46                               | 0.45   | 1       | 28,099,200                      | -21.47                                       | 0.069430                | -2.67  | 0.072009                | -6.33  |
|                                    |  | 2       | 24,290,400                      | -5.01  | 0.065636                | 2.94   | 0.069361                | -2.42  |
|                                    |  | 3       | 27,919,200                      | -20.70                                       | 0.066821                | 1.18   | 0.069421                | -2.51  |
|                                    |  | Average | 26,769,600                      | -15.73                                       | 0.067296                | 0.48   | 0.070264                | -3.75  |
|                                    |  | SD      | 2,148,936                       | 9.29   | 0.001941                | 2.87   | 0.001512                | 2.23   |
| 1.0                                | 0.94   | 1       | 19,634,400                      | 15.12  | 0.061663                | 8.81   | 0.064537                | 7.9  |
|                                    |  | 2       | 21,204,000                      | 8.33   | 0.066586                | 1.53   | 0.068041                | 1.7  |
|                                    |  | 3       | 28,591,200                      | -23.60                                       | 0.058759                | 13.11  | 0.071146                | -5.05  |
|                                    |  | Average | 23,143,200                      | -0.05  | 0.062336                | 7.82   | 0.067908                | -0.27  |
|                                    |  | SD      | 4,782,932                       | 20.68  | 0.003957                | 5.85   | 0.003307                | 4.88   |
| 2.2                                | 2.19   | 1       | 21,540,000                      | 6.88   | 0.067171                | 0.67   | 0.070198                | -3.65  |
|                                    |  | 2       | 20,954,400                      | 9.41   | 0.061652                | 8.83   | 0.067897                | -0.26  |
|                                    |  | 3       | 24,888,000                      | -7.59  | 0.065948                | 2.48   | 0.068735                | -1.49  |
|                                    |  | Average | 22,460,800                      | 2.90   | 0.064924                | 3.99   | 0.068943                | -1.80  |
|                                    |  | SD      | 2,122,312                       | 9.17   | 0.002899                | 4.29   | 0.001165                | 1.72   |
| 4.6                                | 4.58   | 1       | 20,179,200                      | 12.77  | 0.060293                | 10.84  | 0.064500                | 4.76   |
|                                    |  | 2       | 22,987,200                      | 0.63   | 0.063222                | 6.51   | 0.066739                | 1.45   |
|                                    |  | 3       | 20,551,200                      | 11.16  | 0.061508                | 9.04   | 0.065865                | 2.74   |
|                                    |  | Average | 21,239,200                      | 8.19   | 0.061674                | 8.80   | 0.065701                | 2.98   |
|                                    |  | SD      | 1,525,196                       | 6.59   | 0.001472                | 2.18   | 0.001128                | 1.67   |
| 10                                 | 9.94   | 1       | 14,835,600                      | 35.87  | 0.051764                | 23.45  | 0.060852                | 10.15  |
|                                    |  | 2       | 13,298,400                      | 42.51  | 0.051015                | 24.56  | 0.055846                | 17.54  |
|                                    |  | 3       | 15,720,000                      | 32.04  | 0.056623                | 16.27  | 0.060710                | 10.36  |
|                                    |  | Average | 14,618,000                      | 36.81*                                       | 0.053134                | 21.43**  | 0.059136                | 12.68*   |
|                                    |  | SD      | 1,225,377                       | 5.30   | 0.003045                | 4.50   | 0.002850                | 4.21   |
| 22                                 | 22.1   | 1       | 9,180,000                       | 60.31  | 0.048428                | 28.38  | 0.055802                | 17.60  |
|                                    |  | 2       | 10,148,400                      | 56.13  | 0.047431                | 29.86  | 0.054954                | 17.5   |
|                                    |  | 3       | 9,464,400                       | 59.09  | 0.037120                | 45.11  | 0.048185                | 21.5   |
|                                    |  | Average | 9,597,600                       | 58.51*                                       | 0.044326                | 34.45**  | 0.052980                | 21.77*   |
|                                    |  | SD      | 497,751                         | 2.15   | 0.006261                | 9.26   | 0.004174                | 6.17   |
| 46                                 | 46.3   | 1       | 4,477,200                       | 80.64  | 0.025609                | 62.13  | 0.034824                | 48.58  |
|                                    |  | 2       | 1,502,400                       | 93.51  | 0.009214                | 86.37  | 0.006475                | 90.44  |
|                                    |  | 3       | 2,828,400                       | 87.77  | 0.021525                | 68.17  | 0.016100                | 76.23  |
|                                    |  | Average | 2,936,000                       | 87.31*                                       | 0.018783                | 72.22**  | 0.019133                | 71.75*   |
|                                    |  | SD      | 1,490,316                       | 6.45   | 0.008535                | 12.62  | 0.014416                | 21.29  |
| 100                                | 95.9   | 1       | 597,600                         | 97.42  | -0.002977               | 104.40   | 0.001099                | 98.38  |
|                                    |  | 2       | 610,800                         | 97.36  | -0.004170               | 106.17   | -0.000099               | 100.15   |
|                                    |  | 3       | 722,400                         | 96.88  | -0.015251               | 122.55   | -0.003751               | 105.54   |
|                                    |  | Average | 643,600                         | 97.22*                                       | -0.007466               | 111.04**   | -0.000917               | 101.36*  |
|                                    |  | SD      | 68,561                          | 0.30   | 0.006768                | 10.01  | 0.002526                | 3.73   |

a At the start of the exposure

SD = Standard deviation.

\*  $\alpha=0.05$  (significant difference)

\*\*  $\alpha=0.01$  (significant difference)

Table 4. Calculated EC<sub>50</sub> Values

| Based on I <sub>A</sub> (0-72hr) value (Areas under the growth curves) |  |                    |
|--|--|--------------------|
| ErC <sub>50</sub> (0-72)<br>(mg/l)                                     | 95-Percent Confidence Limits<br>(mg/l) | Statistical Method |
| 16   | 14~17                                  | logit              |
| Based on I <sub>A</sub> (24-48hr) value (Growth Rates)                 |  |                    |
| ErC <sub>50</sub> (24-48)<br>(mg/l)                                    | 95-Percent Confidence Limits<br>(mg/l) | Statistical Method |
| 30   | 25~36                                  | logit              |
| Based on I <sub>A</sub> (24-72hr) value (Growth Rates)                 |  |                    |
| ErC <sub>50</sub> (24-72)<br>(mg/l)                                    | 95-Percent Confidence Limits<br>(mg/l) | Statistical Method |
| 36   | 32~41                                  | logit              |

Table 5. Calculated NOEC

| Based on I <sub>A</sub> (0-72hr) value (Areas under the growth curves) |                                |
|--|--------------------------------|
| NOECb (0-72)<br>(mg/l)   | Statistical Method             |
| 4.6  | Dunnett's multicomparison test |
| Based on I <sub>A</sub> (24-48hr) value (Growth Rates)                 |                                |
| NOECr (24-48)<br>(mg/l)  | Statistical Method             |
| 4.6  | Dunnett's multicomparison test |
| Based on I <sub>A</sub> (24-72hr) value (Growth Rates)                 |                                |
| NOECr (24-72)<br>(mg/l)  | Statistical Method             |
| 4.6  | Dunnett's multicomparison test |

Table 6. Temperature

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/l) | Mean <sup>a</sup> Measured<br>Concentration<br>(mg/l) | Temperature (°C) |          |
|------------------------------------|---|------------------|----------|
|                                    |   | 0 Hour           | 72 Hours |
| Control                            | —   | 23.8             | 22.8     |
| 0.22                               | 0.21  | 23.1             | 22.5     |
| 0.46                               | 0.45  | 23.3             | 22.5     |
| 1.0                                | 0.94  | 23.4             | 22.5     |
| 2.2                                | 2.19  | 23.6             | 22.9     |
| 4.6                                | 4.58  | 23.5             | 22.3     |
| 10                                 | 9.94  | 23.5             | 22.8     |
| 22                                 | 22.1  | 23.4             | 22.8     |
| 46                                 | 46.3  | 23.3             | 22.8     |
| 100                                | 95.9  | 23.4             | 22.4     |

a : At the start of the exposure

Table 7. pH Values

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/l) | Mean <sup>a</sup> Measured<br>Concentration<br>(mg/l) | pH     |               |
|------------------------------------|---|--------|---------------|
|                                    |   | 0 Hour | 72 Hours      |
| Control                            | —   | 7.8    | 7.5           |
| 0.22                               | 0.21  | 7.8    | 7.5           |
| 0.46                               | 0.45  | 7.8    | 7.5           |
| 1.0                                | 0.94  | 7.8    | 7.5           |
| 2.2                                | 2.19  | 7.8    | 7.6           |
| 4.6                                | 4.58  | 7.9    | 7.6           |
| 10                                 | 9.94  | 7.9    | 7.5           |
| 22                                 | 22.1  | 7.9    | 7.6           |
| 46*                                | 46.3*   | 7.9    | 7.6, 7.7, 7.6 |
| 100                                | 95.9  | 7.9    | 7.6           |

a : At the start of the exposure

\* : At 72 Hours, pH values of each vessel were measured because of the great variance of cell densities observed between the three parallels.

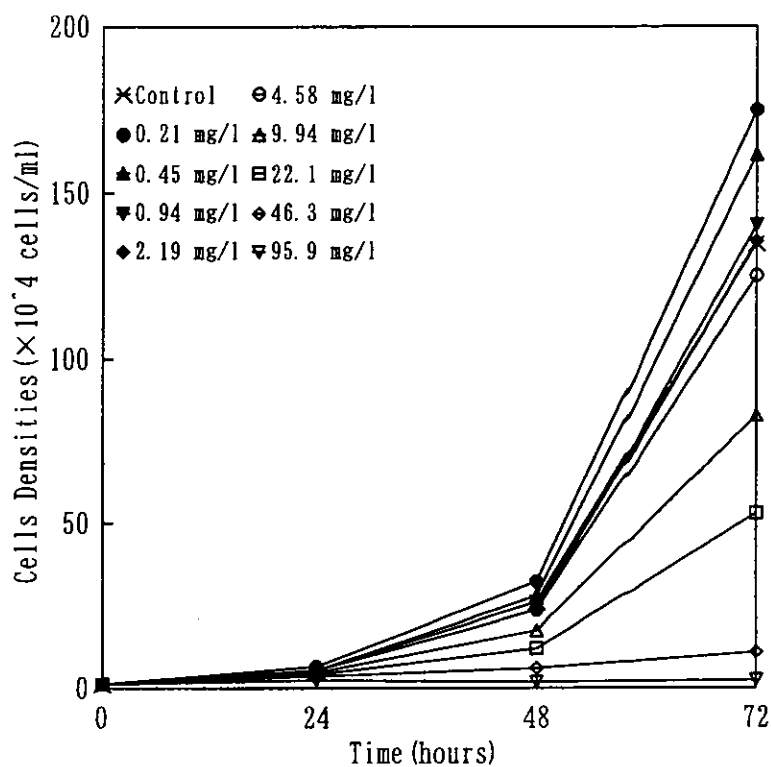


Figure 1. Algal Growth Curve of *Selenastrum capricornutum*  
(Mean Cell Densities vs time during the 72-hour exposure)

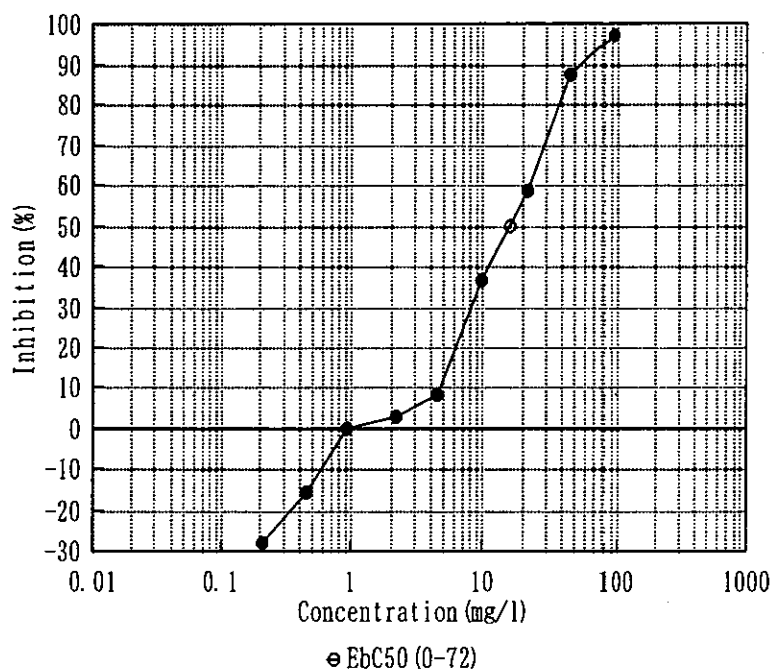


Figure 2. Concentration-Inhibition Curve Based on  $I_A$  Values Calculated from the Area  
under the Growth Curves

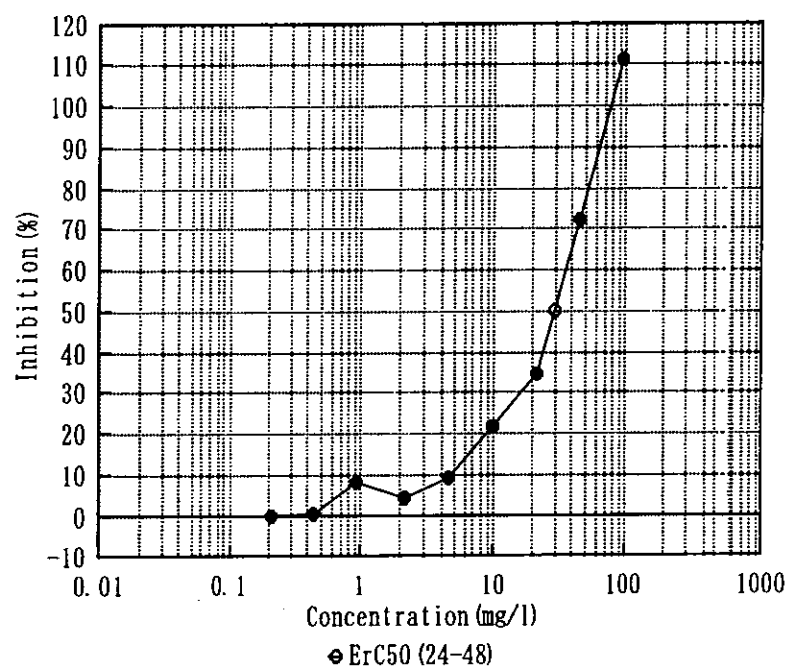


Figure 3. Concentration-Inhibition Curve Based on  $I_h$  Values Calculated from the Growth Rates (24-48)

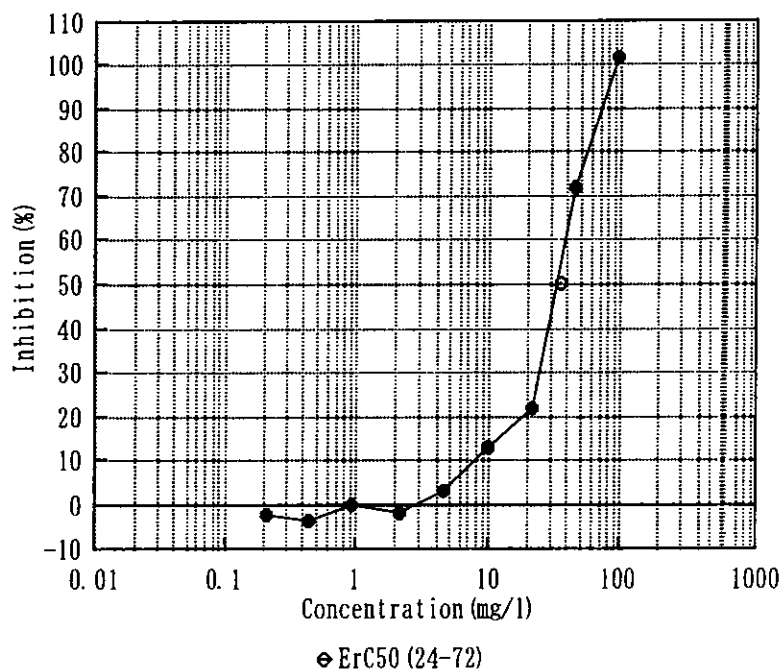


Figure 4. Concentration-Inhibition Curve Based on  $I_h$  Values Calculated from the Growth Rates (24-72)

付属資料-1 : OECD 培地

Table 1. OECD medium

| Nutrient salts                                      | Concentration (mg/l) |
|---|----------------------|
| $\text{NH}_4\text{Cl}$                              | 15                   |
| $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 12                   |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$           | 18                   |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 15                   |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                            | 1.6                  |
| $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 0.08                 |
| $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  | 0.1                  |
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                             | 0.185                |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$           | 0.415                |
| $\text{ZnCl}_2$                                     | 0.003                |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 0.0015               |
| $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$           | 0.00001              |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.007                |
| $\text{NaHCO}_3$                                    | 50                   |

付属資料-2：予備試験結果

予備試験結果を Table 1 に示した。

Table 1. Cell Densities and Percentage Inhibition of *Selenastrum capricornutum*

|                                    |  |          |          |          | (Range finding test)            |
|------------------------------------|--|----------|----------|----------|---------------------------------|
| Nominal<br>Concentration<br>(mg/l) | Cell Densities*( $\times 10^4$ cells/ml) |          |          |          | Area under<br>the growth curves |
|                                    | 0 Hour                                   | 24 Hours | 48 Hours | 72 Hours | Inhibition                      |
|                                    |  |          |          |          | (%)<br>$I_A$ (0-72hr)           |
| 1.0                                | 1.0                                      | 4.21     | 18.13    | 100.76   | 10                              |
| 10                                 | 1.0                                      | 3.73     | 11.23    | 38.79    | 59                              |
| 100                                | 1.0                                      | 1.65     | 1.83     | 1.59     | 98                              |
| Control                            | 1.0                                      | 4.52     | 20.50    | 111.83   | —                               |

\*: Average of the three parallels



付属資料-3：本試験 1 回目の結果

本試験 1 回目の結果を Table 1 に示した。

Table 1. Cell Densities and Percentage Inhibition of *Selenastrum capricornutum*

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/l) |   |          |          |          | (the first test)                    |
|------------------------------------|---|----------|----------|----------|-------------------------------------|
|                                    | Cell Densities* ( $\times 10^4$ cells/ml) |          |          |          | Area under<br>the growth curves     |
|                                    | 0 Hour                                    | 24 Hours | 48 Hours | 72 Hours | Inhibition<br>(%)<br>$I_A$ (0-72hr) |
| 0.22                               | 1.0                                       | 4.83     | 24.91    | 125.40   | -4                                  |
| 0.46                               | 1.0                                       | 4.75     | 20.49    | 107.50   | 11                                  |
| 1.0                                | 1.0                                       | 4.40     | 22.70    | 115.53   | 5                                   |
| 2.2                                | 1.0                                       | 4.10     | 17.80    | 94.20    | 23                                  |
| 4.6                                | 1.0                                       | 4.48     | 19.38    | 88.21    | 24                                  |
| 10                                 | 1.0                                       | 3.72     | 14.14    | 51.41    | 52                                  |
| 22                                 | 1.0                                       | 3.04     | 9.99     | 31.29    | 70                                  |
| 46                                 | 1.0                                       | 2.87     | 7.56     | 9.47     | 85                                  |
| Control                            | 1.0                                       | 4.73     | 26.14    | 116.07   | —                                   |

\*: Average of the three parallels

付属資料-4：統計処理データ

統計ソフトの入力値とその出力結果を以下に示した。

Input Data

藻類生長阻害試験

DMA (NOEC 算出用) 実測

ファイル名= 2010014

更新日：2004/03/09

| 区  | 濃度   | 連       | 実測数 (影響・死亡) ----- |      |       |         |
|----|------|---------|-------------------|------|-------|---------|
|    | mg/L | ( log ) | 0                 | 24   | 48    | 72 hour |
| 1  | 0    | ( - )   | 1                 | 5.21 | 29.44 | 159.4   |
| 1  | 0    | ( - )   | 2                 | 5.22 | 25    | 116.4   |
| 1  | 0    | ( - )   | 3                 | 5.1  | 24.53 | 128.5   |
| 2  | 0.21 | (-0.67) | 1                 | 6.08 | 30.57 | 165.3   |
| 2  | 0.21 | (-0.67) | 2                 | 6.16 | 32.26 | 179     |
| 2  | 0.21 | (-0.67) | 3                 | 6.67 | 32.94 | 180.3   |
| 3  | 0.45 | (-0.34) | 1                 | 5.4  | 28.58 | 171.2   |
| 3  | 0.45 | (-0.34) | 2                 | 5.24 | 25.32 | 146.3   |
| 3  | 0.45 | (-0.34) | 3                 | 5.95 | 29.58 | 166.6   |
| 4  | 0.94 | (-2.68) | 1                 | 5.12 | 22.49 | 113.4   |
| 4  | 0.94 | (-2.68) | 2                 | 4.77 | 23.58 | 125     |
| 4  | 0.94 | (-2.68) | 3                 | 5.99 | 24.54 | 182.2   |
| 5  | 2.19 | (.340)  | 1                 | 4.49 | 22.51 | 130.5   |
| 5  | 2.19 | (.340)  | 2                 | 4.88 | 21.43 | 127     |
| 5  | 2.19 | (.340)  | 3                 | 5.47 | 26.63 | 148.2   |
| 6  | 4.58 | (.661)  | 1                 | 5.31 | 22.57 | 117.4   |
| 6  | 4.58 | (.661)  | 2                 | 5.5  | 25.08 | 135.4   |
| 6  | 4.58 | (.661)  | 3                 | 5.13 | 22.45 | 121.1   |
| 7  | 9.94 | (.997)  | 1                 | 4.68 | 16.21 | 86.85   |
| 7  | 9.94 | (.997)  | 2                 | 4.95 | 16.84 | 72.24   |
| 7  | 9.94 | (.997)  | 3                 | 4.82 | 18.76 | 88.84   |
| 8  | 22.1 | (1.344) | 1                 | 3.55 | 11.35 | 51.7    |
| 8  | 22.1 | (1.344) | 2                 | 4.03 | 12.58 | 56.35   |
| 8  | 22.1 | (1.344) | 3                 | 4.94 | 12.04 | 49.91   |
| 9  | 46.3 | (1.666) | 1                 | 3.84 | 7.1   | 20.43   |
| 9  | 46.3 | (1.666) | 2                 | 2.99 | 3.73  | 4.08    |
| 9  | 46.3 | (1.666) | 3                 | 3.8  | 6.37  | 8.23    |
| 10 | 95.9 | (1.982) | 1                 | 2.03 | 1.89  | 2.14    |
| 10 | 95.9 | (1.982) | 2                 | 2.1  | 1.9   | 2.09    |
| 10 | 95.9 | (1.982) | 3                 | 2.61 | 1.81  | 2.18    |

$E_b C_{50} (0-72) \cdot E_r C_{50} (24-48) \cdot E_r C_{50} (24-72)$

藻類生長阻害試験 EC50, LC50 の推定結果 (要約)

DMA (NOEC 算出用) 実測 更新日: 2004/03/09

| mg/L  | ロジット法           |                 |                 |                 |                 |                 |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|       | ---- 0-72h      | Area ----       | ---- 24-48h     | Rate ----       | ---- 24-72h     | Rate ----       |
|       | 入力 ( % )        | 推定 ( % )        | 入力 ( % )        | 推定 ( % )        | 入力 ( % )        | 推定 ( % )        |
| 0. 21 | -55. 56 (-28. ) | -- ( - )        | . 4963 ( 25 )   | -- ( - )        | -3. 900 (-1. 9) | -- ( - )        |
| 0. 45 | -31. 45 (-16. ) | -- ( - )        | 1. 2897 ( 64 )  | -- ( - )        | -7. 001 (-3. 5) | -- ( - )        |
| 0. 94 | -9. 683 (-4. 8) | -- ( - )        | 16. 501 (8. 25) | 5. 0875 (2. 54) | -1. 057 (-0. 5) | -- ( - )        |
| 2. 19 | 5. 8032 (2. 90) | 5. 8816 (2. 94) | 8. 2415 (4. 12) | 11. 979 (5. 99) | -3. 000 (-1. 5) | -- ( - )        |
| 4. 58 | 16. 365 (8. 18) | 20. 097 (10. 0) | 17. 856 (8. 93) | 24. 374 (12. 1) | 6. 3955 (3. 20) | 5. 4125 (2. 71) |
| 9. 94 | 73. 612 (36. 8) | 61. 089 (30. 5) | 42. 969 (21. 4) | 47. 835 (23. 9) | 25. 583 (12. 7) | 19. 397 (9. 70) |
| 22. 1 | 117. 01 (58. 5) | 128. 74 (64. 3) | 70. 213 (35. 1) | 84. 423 (42. 2) | 44. 448 (22. 2) | 60. 391 (30. 1) |
| 46. 3 | 174. 61 (87. 3) | 173. 96 (86. 9) | 140. 81 (70. 4) | 122. 90 (61. 4) | 130. 97 (65. 4) | 122. 19 (61. 0) |
| 95. 9 | 194. 43 (97. 2) | 192. 07 (96. 0) | 222. 78 (111. ) | -- ( - )        | 203. 08 (102. ) | -- ( - )        |

| Y=A+BX | 係数 (標準誤差)        | 係数 (標準誤差)        | 係数 (標準誤差)        |
|--------|------------------|------------------|------------------|
| A ;    | -4. 882 ( 2705 ) | -3. 580 ( 2127 ) | -6. 235 ( 4693 ) |
| B ;    | 4. 0721 ( 2145 ) | 2. 4296 ( 1700 ) | 4. 0147 ( 3298 ) |

回帰式の適合度の検定  $\chi^2$  検定値 (P:0. 05) = 右側

|               |                      |                        |                        |
|---------------|----------------------|------------------------|------------------------|
| 逸脱度 $\chi^2$  | 8. 1602 < 9. 4877 OK | 32. 144 >= 9. 4877 Not | 10. 216 >= 5. 9915 Not |
| ピアソン $\chi^2$ | 8. 2182 < 9. 4877 OK | 41. 068 >= 9. 4877 Not | 10. 017 >= 5. 9915 Not |
| AIC           | 915. 60              | 1049. 4                | 693. 44                |

推定 ECx

|             |                         |                         |                         |
|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| EC10 (mg/L) | 4. 56608                | 3. 70957                | 10. 1351                |
| 95%Range    | 4. 27979 < * < 4. 74284 | 3. 37767 < * < 3. 86466 | 9. 13755 < * < 10. 7194 |
| EC20 (mg/L) | 7. 22246                | 8. 00000                | 16. 1369                |
| 95%Range    | 6. 69845 < * < 7. 65705 | 7. 10614 < * < 8. 79873 | 14. 4953 < * < 17. 5589 |
| EC50 (mg/L) | 15. 8168                | 29. 7623                | 35. 7372                |
| 95%Range    | 14. 4066 < * < 17. 3651 | 25. 3416 < * < 35. 9123 | 31. 9018 < * < 40. 8215 |
| EC80 (mg/L) | 34. 6381                | 110. 724                | 79. 1449                |
| 95%Range    | 30. 9849 < * < 39. 3818 | 90. 3724 < * < 146. 577 | 70. 2106 < * < 94. 9032 |
| EC90 (mg/L) | 54. 7894                | 238. 786                | 126. 011                |
| 95%Range    | 48. 4955 < * < 63. 5798 | 190. 131 < * < 333. 715 | 111. 378 < * < 155. 455 |

NOECb (0-72)

●● 0-72h NOEC 藻類 0-72h 面積法 推定結果の書き出し =====> \*\*=5%で有意, \*\*\*=1%で有意 ●●

DMA (NOEC 算出用) 実測

藻類 生長阻害試験

生物量は 0.1 を掛けてある

◎ NOEC 計算用元データ -----

| 濃度 mg/L | 0       | 0.21    | 0.45    | 0.94    | 2.19    | 4.58    | 9.94    | 22.1    | 46.3   | 95.9   | 平均 |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|----|
| 1       | 2684.4  | 2803.2  | 2809.92 | 1963.44 | 2154    | 2017.92 | 1483.56 | 918     | 447.72 | 59.76  |    |
| 2       | 2062.08 | 3010.08 | 2429.04 | 2120.4  | 2095.44 | 2298.72 | 1329.84 | 1014.84 | 150.24 | 61.08  |    |
| 3       | 2193.12 | 3054.24 | 2791.92 | 2859.12 | 2488.8  | 2055.12 | 1572    | 946.44  | 282.84 | 72.24  |    |
| 平均      | 2313.2  | 2955.84 | 2676.96 | 2314.32 | 2246.08 | 2123.92 | 1461.8  | 959.76  | 293.6  | 64.36  |    |
| 標準偏差    | 328.07  | 134.02  | 214.89  | 478.29  | 212.23  | 152.51  | 122.53  | 49.775  | 149.03 | 6.8561 |    |

◎ 各濃度区の対照平均に対する相対量 -----

| 濃度 mg/L | 0      | 0.21   | 0.45   | 0.94   | 2.19   | 4.58   | 9.94   | 22.1   | 46.3   | 95.9   |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1       | 116.05 | 121.18 | 121.47 | 84.88  | 93.12  | 87.23  | 64.13  | 39.69  | 19.36  | 2.58   |
| 2       | 89.14  | 130.13 | 105.01 | 91.67  | 90.59  | 99.37  | 57.49  | 43.87  | 6.49   | 2.64   |
| 3       | 94.81  | 132.04 | 120.70 | 123.60 | 107.59 | 88.84  | 67.96  | 40.91  | 12.23  | 3.12   |
| 平均      | 100    | 127.78 | 115.72 | 100.04 | 97.098 | 91.817 | 63.193 | 41.490 | 12.692 | 2.7823 |

◎ バートレットの等分散性の検定 -----

$\chi^2$  乗検定値 (p:0.05)=16.918 (p:0.01)=21.666 自由度=9  
計算値 (20.019) > 16.918 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/L | 0  | 0.21   | 0.45   | 0.94   | 2.19   | 4.58   | 9.94 | 22.1 | 46.3 | 95.9 |
|---------|----|--------|--------|--------|--------|--------|------|------|------|------|
| 順位      |    |        |        |        |        |        |      |      |      |      |
| 1       | 24 | 26     | 27     | 13     | 19     | 14     | 11   | 7    | 6    | 1    |
| 2       | 16 | 29     | 22     | 18     | 17     | 21     | 10   | 9    | 4    | 2    |
| 3       | 20 | 30     | 25     | 28     | 23     | 15     | 12   | 8    | 5    | 3    |
| 平均順位    | 20 | 28.333 | 24.666 | 19.666 | 19.666 | 16.666 | 11   | 8    | 5    | 2    |

$\chi^2$  乗検定基準値 (p:0.05)=16.918 (p:0.01)=21.666 自由度=9  
計算値 (26.092) => (16.91) 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/L    | 0 | 0.21    | 0.45   | 0.94   | 2.19   | 4.58   | 9.94    | 22.1    | 46.3    | 95.9    |
|------------|---|---------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
| 計算値        | - | 1.9640* | 1.5275 | .2182  | .2182  | 1.0911 | 1.9640* | 1.9640* | 1.9640* | 1.9640* |
| Dunnett 確率 |   | 0.0495  | 0.1266 | 0.8273 | 0.8273 | 0.2752 | 0.0495  | 0.0495  | 0.0495  | 0.0495  |

NOECr (24-48)

●● 24-48h NOEC 藻類 24-48h 速度法 推定結果の書き出し =====> \*\*=5%で有意, \*\*=1%で有意 ●●

DMA (NOEC 算出用) 実測

藻類 生長阻害試験

生物量は 100 を掛けてある

◎ NOEC 計算用元データ -----

| 濃度 mg/L | 0       | 0.21    | 0.45    | 0.94    | 2.19    | 4.58    | 9.94    | 22.1    | 46.3    | 95.9    | 平均      |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1       | 173.177 | 161.501 | 166.630 | 147.991 | 161.210 | 144.702 | 124.233 | 116.227 | 61.4622 | -7.1458 |         |
| 2       | 156.637 | 165.575 | 157.527 | 159.805 | 147.964 | 151.732 | 122.436 | 113.834 | 22.1134 | -10.008 |         |
| 3       | 157.065 | 159.706 | 160.370 | 141.021 | 158.275 | 147.618 | 135.895 | 89.0869 | 51.6598 | -36.602 |         |
| 平均      |         | 162.293 | 162.261 | 161.509 | 149.606 | 155.817 | 148.017 | 127.521 | 106.382 | 45.0785 | -17.918 |

120.057

|      |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |  |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--|
| 標準偏差 | 9.4281 | 3.0070 | 4.6574 | 9.4955 | 6.9569 | 3.5316 | 7.3071 | 15.026 | 20.483 | 16.243 |  |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--|

◎ 各濃度区の対照平均に対する相対量 -----

| 濃度 mg/L | 0      | 0.21   | 0.45   | 0.94   | 2.19   | 4.58   | 9.94   | 22.1   | 46.3   | 95.9   |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1       | 106.71 | 99.51  | 102.67 | 91.19  | 99.33  | 89.16  | 76.55  | 71.62  | 37.87  | -4.40  |
| 2       | 96.52  | 102.02 | 97.06  | 98.47  | 91.17  | 93.49  | 75.44  | 70.14  | 13.63  | -6.17  |
| 3       | 96.78  | 98.41  | 98.82  | 86.89  | 97.52  | 90.96  | 83.73  | 54.89  | 31.83  | -22.55 |
| 平均      | 100    | 99.979 | 99.516 | 92.182 | 96.009 | 91.203 | 78.574 | 65.549 | 27.775 | -11.04 |

◎ バートレットの等分散性の検定 -----

$\chi^2$  乗検定値 (p:0.05)=16.918 (p:0.01)=21.666 自由度= 9  
計算値 (10.927) <= 16.918 5%の危険率で等分散性を認める。

◎ 一元配置分散分析 (全ての濃度区の間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 | 99357.02 | 9   | 11039.67 | 89.5163 |
| 誤差 | 2466.516 | 20  | 123.3258 |         |
| 全体 | 101823.5 | 29  |          |         |

F 検定基準値 (p:0.05)=2.3928 (p:0.01)=3.4567 自由度= 9 : 20

計算値 (89.51) > 2.3928

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/L    | 0 | 0.21   | 0.45   | 0.94   | 2.19   | 4.58   | 9.94     | 22.1     | 46.3     | 95.9     |
|------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|----------|----------|----------|----------|
| 計算値        | - | .0036  | .0865  | 1.3993 | .7143  | 1.5744 | 3.8348** | 6.1662** | 12.927** | 19.874** |
| Dunnett 確率 |   | 1.0000 | 1.0000 | 0.6566 | 0.9833 | 0.5366 | 0.0073   | <0.0001  | <0.0001  | <0.0001  |

NOECr (24-72)

●● 24-72h NOEC 藻類 24-72h 速度法 推定結果の書き出し =====> \* =5%で有意, \*\* =1%で有意 ●●

DMA (NOEC 算出用) 実測

藻類 生長阻害試験

生物量は 100 を掛けてある

◎ NOEC 計算用元データ

| 濃度 mg/L | 0       | 0.21    | 0.45    | 0.94    | 2.19    | 4.58    | 9.94    | 22.1    | 46.3    | 95.9    | 平均 |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----|
| 1       | 171.041 | 165.137 | 172.821 | 154.888 | 168.476 | 154.799 | 146.044 | 133.925 | 83.5766 | 2.63850 |    |
| 2       | 155.226 | 168.465 | 166.466 | 163.298 | 162.952 | 160.174 | 134.030 | 131.890 | 15.5411 | -0.2386 |    |
| 3       | 161.334 | 164.850 | 166.610 | 170.750 | 164.964 | 158.075 | 145.703 | 115.642 | 38.6392 | -9.0012 |    |
| 平均      | 162.534 | 166.151 | 168.632 | 162.979 | 165.464 | 157.683 | 141.925 | 127.153 | 45.9190 | -2.2004 |    |
| 標準偏差    | 7.9755  | 2.0094  | 3.6283  | 7.9360  | 2.7957  | 2.7087  | 6.8399  | 10.019  | 34.596  | 6.0628  |    |

◎ 各濃度区の対照平均に対する相対量

| 濃度 mg/L | 0      | 0.21   | 0.45   | 0.94   | 2.19   | 4.58   | 9.94   | 22.1   | 46.3   | 95.9   |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1       | 105.23 | 101.60 | 106.33 | 95.30  | 103.66 | 95.24  | 89.85  | 82.40  | 51.42  | 1.62   |
| 2       | 95.50  | 103.65 | 102.42 | 100.47 | 100.26 | 98.55  | 82.46  | 81.15  | 9.56   | -0.15  |
| 3       | 99.26  | 101.42 | 102.51 | 105.06 | 101.49 | 97.26  | 89.64  | 71.15  | 23.77  | -5.54  |
| 平均      | 100    | 102.22 | 103.75 | 100.27 | 101.80 | 97.015 | 87.320 | 78.231 | 28.251 | -1.353 |

◎ バートレットの等分散性の検定

$\chi^2$  二乗検定値 (p:0.05)=16.918 (p:0.01)=21.666 自由度=9  
計算値 (25.189) > 16.918 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/L | 0      | 0.21   | 0.45   | 0.94   | 2.19   | 4.58   | 9.94 | 22.1 | 46.3 | 95.9 |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------|------|------|------|
| 順位      |        |        |        |        |        |        |      |      |      |      |
| 1       | 29     | 23     | 30     | 14     | 27     | 13     | 12   | 9    | 6    | 3    |
| 2       | 15     | 26     | 24     | 20     | 19     | 17     | 10   | 8    | 4    | 2    |
| 3       | 18     | 21     | 25     | 28     | 22     | 16     | 11   | 7    | 5    | 1    |
| 平均順位    | 20.666 | 23.333 | 26.333 | 20.666 | 22.666 | 15.333 | 11   | 8    | 5    | 2    |

$\chi^2$  二乗検定基準値 (p:0.05)=16.918 (p:0.01)=21.666 自由度=9  
計算値 (25.258) => (16.91) 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/L    | 0 | 0.21   | 0.45   | 0.94   | 2.19   | 4.58   | 9.94    | 22.1    | 46.3    | 95.9    |
|------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|
| 計算値        | - | .6547  | 1.0911 | .2182  | .6547  | 1.0911 | 1.9640* | 1.9640* | 1.9640* | 1.9640* |
| Dunnett 確率 |   | 0.5127 | 0.2752 | 0.8273 | 0.5127 | 0.2752 | 0.0495  | 0.0495  | 0.0495  | 0.0495  |

## 付属資料-5：試験液中の被験物質濃度の分析方法

### 1. 標準品

被験物質を使用した。

### 2. 試薬、試液及び標準溶液の調製

#### 2.1 試薬

アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用

水：活性炭フィルター、逆浸透膜及びイオン交換樹脂で精製したもの

#### 2.2 試液

アセトニトリル-水 (1:1 V/V)：アセトニトリル500 ml及び水500 mlを混合した。

アセトニトリル-水 (6:4 V/V)：アセトニトリル600 ml及び水400 mlを混合した。

#### 2.3 標準溶液の調製

標準品約25 mgを精密に量り取りアセトニトリルに溶解して50 mlとし、これを標準原液とした。この標準原液をアセトニトリルで希釈して40 mg/l溶液を調製し、この一定量を取り同量の水を混合した後、アセトニトリル-水 (1:1 V/V) で適宜希釈して0.005, 0.025, 0.1及び0.2 mg/lの標準溶液を調製した。

### 3. 試験培地の前処理

暴露終了時 (72時間後) の試験培地は、約12 mlを50 mlの遠心管に取り2,200 r/minで10分間遠心分離を行った上澄み液を分析に供した。

### 4. 試料溶液の調製

#### 4.1 試験培地分析法

試験培地をメスフラスコに正確に量り取り、同量のアセトニトリルを混合した後、アセトニトリル-水 (1:1 V/V) で定容した。各試験培地の数量関係は4.2に記載した。

#### 4.2 数量関係の一覧表

| 試験培地                 | 試験培地<br>採取量 (ml) | 定容量<br>(ml) | 分取量<br>(ml) | 最終液量<br>(ml) |
|----------------------|------------------|-------------|-------------|--------------|
| 対照区並びに0.22 mg/lの試験培地 | 10               | 20          | —           | —            |
| 0.46 mg/lの試験培地       | 5                | 20          | —           | —            |
| 1.0 mg/lの試験培地        | 2                | 20          | —           | —            |
| 2.2 mg/lの試験培地        | 2                | 25          | —           | —            |
| 4.6 mg/lの試験培地        | 2                | 50          | —           | —            |
| 10 mg/lの試験培地         | 2                | 20          | 2           | 20           |
| 22 mg/lの試験培地         | 2                | 25          | 2           | 20           |
| 46 mg/lの試験培地         | 2                | 50          | 2           | 20           |
| 100 mg/lの試験培地        | 2                | 50          | 2           | 50           |

#### 5. 分析機器操作条件

高速液体クロマトグラフ操作条件

ポンプ：LC-10AD [株式会社 島津製作所]

検出器：紫外分光光度計 SPD-10A [株式会社 島津製作所]

カラム：Inertsil Ph, φ4.6 mm×25 cm [ジーエルサイエンス株式会社]

カラム温度：40 ℃

移動相：アセトニトリル-水 (6:4 V/V)

流量：1.0 ml/min

測定波長：205 nm

データ処理装置：C-R4A [株式会社 島津製作所]

#### 6. 定量

2.3で調製した標準溶液及び4.で調製した試料溶液40 μlを5.の高速液体クロマトグラフに注入した。標準品の重量とピーク高から検量線を作成し、試験培地中の2,3-ジメチルアニリン度を算出した。

#### 7. 検出限界

$$\text{検出限界} : \frac{0.2 \text{ ng}}{1,000} \times \frac{20 \text{ ml} \times 1,000}{40 \text{ } \mu\text{l}} \times \frac{1}{10 \text{ ml}} = 0.01 \text{ mg/l}$$

#### 8. 添加回収試験

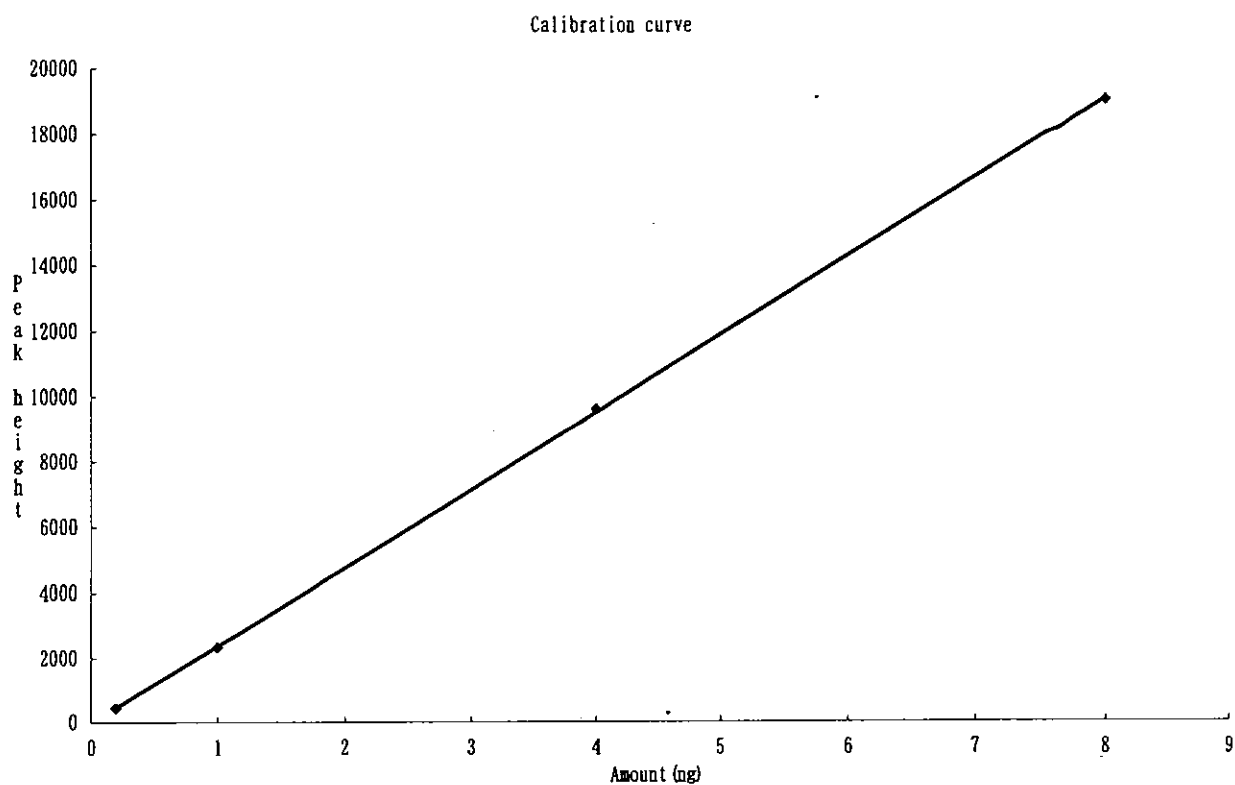
##### 8.1 低濃度添加

培地に被験物質を0.2 mg/lになるように添加し、この溶液を用いて添加回収試験を行った。試験は併行測定3回で実施し、回収率は96.6 %, 94.9 %, 83.5 % (平均91.7 %)であった。

##### 8.2 高濃度添加

培地に被験物質を100 mg/lになるように添加し、この溶液を用いて添加回収試験を行った。試験は併行測定3回で実施し、回収率は98.7 %, 97.5 %, 97.1 % (平均97.8 %)であった。





| Amount (ng) | Peak height (μV) |
|-------------|------------------|
| 8           | 18,979           |
| 4           | 9,599            |
| 1           | 2,319            |
| 0.2         | 437              |

Figure 1. Calibration curve of 2,3-dimethylaniline by HPLC analysis

Standard (0.2 mg/l): 0 hour

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=18 クロマト=2:15041R.C01 04/03/01 15:23:10

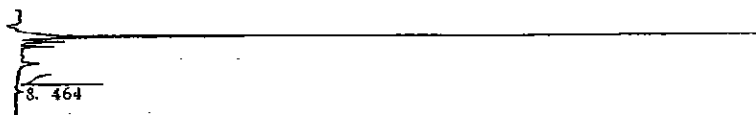


\*\* 定量計算結果 \*\*

| CH    | PKNO | TIME  | AREA   | HEIGHT | MK | IDNO | CONC | NAME |
|-------|------|-------|--------|--------|----|------|------|------|
| 1     | 1    | 7.948 | 229641 | 18979  |    |      | 100  |      |
| TOTAL |      |       | 229641 | 18979  |    |      | 100  |      |

Control: 0 hour

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=22 クロマト=2:15041R.C05 04/03/01 16:21:13

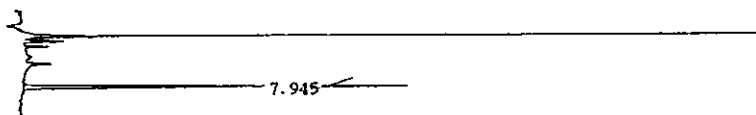


\*\* 定量計算結果 \*\*

| CH    | PKNO | TIME  | AREA | HEIGHT | MK | IDNO | CONC | NAME |
|-------|------|-------|------|--------|----|------|------|------|
| 1     | 1    | 8.464 | 1671 | 245    |    |      | 100  |      |
| TOTAL |      |       | 1671 | 245    |    |      | 100  |      |

Test solution (0.22 mg/l): 0 hour

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=23 クロマト=2:15041R.C06 04/03/01 16:42:43

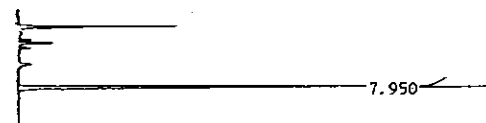


\*\* 定量計算結果 \*\*

| CH    | PKNO | TIME  | AREA   | HEIGHT | MK | IDNO | CONC | NAME |
|-------|------|-------|--------|--------|----|------|------|------|
| 1     | 2    | 7.945 | 128942 | 10026  | V  |      | 100  |      |
| TOTAL |      |       | 128942 | 10026  |    |      | 100  |      |

Test solution (100 mg/l): 0 hour

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=31 クロマト=2:15041R.C14 04/03/01 19:34:52



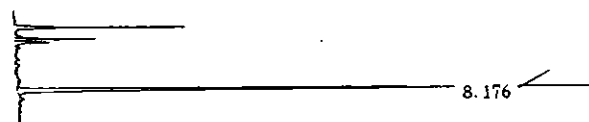
\*\* 定量計算結果 \*\*

| CH    | PKNO | TIME | AREA   | HEIGHT | MK | IDNO | CONC | NAME |
|-------|------|------|--------|--------|----|------|------|------|
| 1     | 1    | 7.95 | 179098 | 14587  | S  |      | 100  |      |
| TOTAL |      |      | 179098 | 14587  |    |      | 100  |      |

Figure 2-1. Representative chromatograms

Standard (0.2 mg/l): 72 hours

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=44 クロマト=2:150432.C14 04/03/04 18:35:38



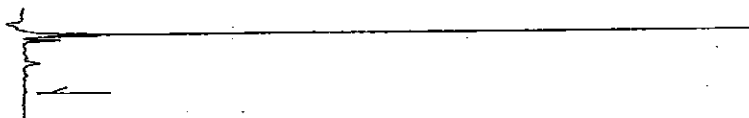
\*\* 定量計算結果 \*\*

| CH    | PKNO | TIME  | AREA   | HEIGHT | MK | IDNO | CONC | NAME |
|-------|------|-------|--------|--------|----|------|------|------|
| 1     | 1    | 8.176 | 239327 | 18932  |    |      | 100  |      |
| TOTAL |      |       | 239327 | 18932  |    |      | 100  |      |

Control: 72 hours

\*波形処理/計算エラー\* Ch=1, 1: 生ピークがありません。

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=48 クロマト=2:150432.C18 04/03/04 19:33:41

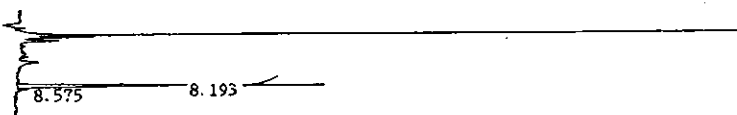


\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 17-有 CALERROR: 1

| CH    | PKNO | TIME | AREA | HEIGHT | MK | IDNO | CONC | NAME |
|-------|------|------|------|--------|----|------|------|------|
| TOTAL |      |      | 0    | 0      |    |      | 0    |      |

Test solution (0.22 mg/l): 72 hours

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=49 クロマト=2:150432.C19 04/03/04 19:55:11

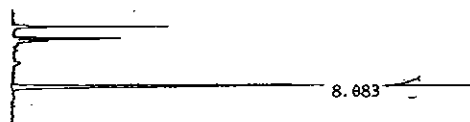


\*\* 定量計算結果 \*\*

| CH    | PKNO | TIME  | AREA   | HEIGHT | MK | IDNO | CONC    | NAME |
|-------|------|-------|--------|--------|----|------|---------|------|
| 1     | 2    | 8.193 | 98556  | 7398   | V  |      | 95.3251 |      |
|       | 3    | 8.575 | 4833   | 421    | V  |      | 4.6749  |      |
| TOTAL |      |       | 103389 | 7820   |    |      | 100     |      |

Test solution (100 mg/l): 72 hours

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=57 クロマト=2:150432.C27 04/03/04 22:47:19



\*\* 定量計算結果 \*\*

| CH    | PKNO | TIME  | AREA   | HEIGHT | MK | IDNO | CONC | NAME |
|-------|------|-------|--------|--------|----|------|------|------|
| 1     | 1    | 8.083 | 170988 | 13597  |    |      | 100  |      |
| TOTAL |      |       | 170988 | 13597  |    |      | 100  |      |

Figure 2-2. Representative chromatograms

## 陳述書

1 試験委託者

環境省

2 試験番号

第15041号

3 試験の表題

2,3-ジメチルアニリンの藻類(*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害試験

上記試験は、日本国環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室長通知「生態影響試験実施に関する基準の改正について」(別添)「生態影響試験実施に関する基準」(環保安第242号, 2001年)を遵守して実施したものです。

なお、試験実施にあたっては、OECD 化学品テストガイドライン No. 201「藻類生長阻害試験」(1984年)を遵守しました。

2004 年 3 月 31 日

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

試験責任者



## 信頼性保証書

1 試験委託者

環境省

2 試験番号

第15041号

3 試験の表題

2,3-ジメチルアニリンの藻類(*Selenastrum capricornutum*)に対する生長阻害試験

4 検閲

本試験の検閲は、財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所 信頼性保証部門の標準操作手順書に従い、以下のとおり実施した。

| 検 閲 内 容            | 検閲実施日       | 試験責任者への<br>報告年月日 | 運営管理者への<br>報告年月日 |
|--------------------|-------------|------------------|------------------|
| 試験計画書              | 2003年12月01日 | 2003年12月02日      | 2003年12月02日      |
| 被験物質の受領            | 2003年12月01日 | 2003年12月02日      | 2003年12月02日      |
| 試験計画書              | 2004年02月16日 | 2004年02月16日      | 2004年02月16日      |
| 試験の実施, 試薬等, 機器     | 2004年02月16日 | 2004年02月16日      | 2004年02月16日      |
| 分析の実施, 検体, 試薬等, 機器 | 2004年02月16日 | 2004年02月16日      | 2004年02月16日      |
| 試験の実施              | 2004年02月18日 | 2004年02月18日      | 2004年02月18日      |
| 試験の実施, 被験物質        | 2004年02月19日 | 2004年02月19日      | 2004年02月19日      |
| 試験計画書              | 2004年02月20日 | 2004年02月20日      | 2004年02月20日      |
| 試験の実施              | 2004年03月02日 | 2004年03月02日      | 2004年03月02日      |
| 分析の実施              | 2004年03月02日 | 2004年03月02日      | 2004年03月02日      |
| 試験の実施              | 2004年03月03日 | 2004年03月03日      | 2004年03月03日      |
| 試験中の保管文書           | 2004年03月29日 | 2004年03月29日      | 2004年03月29日      |
| 最終報告書草案及び生データ      | 2004年03月29日 | 2004年03月29日      | 2004年03月29日      |
| 最終報告書              | 2004年03月31日 | 2004年03月31日      | 2004年03月31日      |

上記検閲の結果、本試験最終報告書は試験に用いた方法が正確に記載され、報告結果は試験の生データを正確に反映していることを確認した。

2004 年 3 月 31 日

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
信頼性保証部門責任者

