

環境庁殿

## 試 験 報 告 書

1,2,3-トリクロロベンゼンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*)

に対する生長阻害試験

(試験番号：7 B 7 3 0 G)

1998年3月31日作成

株式会社三菱化学安全科学研究所

# 陳 述 書

株式会社三菱化学安全科学研究所  
横浜研究所

試験委託者： 環境庁

表題： 1,2,3-トリクロロベンゼンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する  
生長阻害試験

試験番号： 7 B 7 3 0 G

本試験は環境庁のG L P規則に従って実施したものである。

1 9 9 8 年 3 月 3 1 日

運営管理者

[Redacted]

[Redacted]

# 信頼性保証証明

株式会社三菱化学安全科学研究所  
横浜研究所

試験委託者： 環境庁

表題： 1,2,3-トリクロロベンゼンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する  
生長阻害試験

試験番号： 7B730G

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下記の通り確認した。

## 記

|          | 実施日         | 運営管理者および<br>試験責任者への報告日 |
|----------|-------------|------------------------|
| 試験実施状況査察 | 1998年 2月16日 | 1998年 2月16日            |
|          | 1998年 2月19日 | 1998年 2月19日            |
| 試験報告書監査  | 1998年 3月31日 | 1998年 3月31日            |

1998年 3月31日

信頼性保証担当者：

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

## 試験実施概要

1. 表題： 1,2,3-トリクロロベンゼンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する  
生長阻害試験
2. 試験目的： 1,2,3-トリクロロベンゼンについて、藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に  
対する生長阻害試験を72時間行い、50%生長阻害濃度 (EC50) および無影響  
濃度 (NOEC) を求める。
3. 適用ガイドライン：本試験は、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) に準拠して実施した。
4. 適用GLP：本試験は環境庁のGLP規則に準拠した。
5. 試験委託者  
名称： 環境庁  
住所： 〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目2-2  
委託担当者： 企画調整局環境保健部環境安全課環境リスク評価室室長補佐 XXXXXXXXXX
6. 試験受託者：  
名称： 株式会社三菱化学安全科学研究所  
所在地： 〒105-0014 東京都港区芝二丁目1-30
7. 試験施設：  
名称： 株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所  
所在地： 〒227-0033 神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

8. 試験関係者：

試験責任者

[REDACTED]

(1998年3月31日)

試験担当者

[REDACTED]

(1998年3月31日)

分析担当者

[REDACTED]

(1998年3月31日)

9. 試験期間： 試験開始日 1997年12月16日  
試験終了日 1998年 3月31日  
暴露期間 1998年 2月16日～1998年 2月19日

10. 保管：

試験に関する下記の記録及び試資料は，試験報告書作成後10年間，当研究所試資料保管施設に保管する。その後の保管については別途協議の上，定める。

- 1) 試験計画書，同変更の記録
- 2) 試験報告書
- 3) 生データ
- 4) 信頼性保証業務担当者の監査・査察記録
- 5) 被験物質
- 6) その他必要なもの

# 目 次

|  | 頁     |
|--|-------|
| 要 旨 .....                                  | 7     |
| 1 被験物質 .....                               | 9     |
| 1.1 名称, 構造式および物理化学的性状 .....                | 9     |
| 1.2 供試試料 .....                             | 9     |
| 1.3 被験物質の確認およ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 .....                               | 10    |
| 3.3 試験容器, 藻類培養試験装置および機器等 .....             | 11    |
| 3.4 試験濃度の設定 .....                          | 11    |
| 3.5 試験液の調製 .....                           | 12    |
| 3.6 試験液の分析 .....                           | 12    |
| 3.7 試験操作 .....                             | 12    |
| 4 結果の算出 .....                              | 13    |
| 4.1 生長曲線 .....                             | 13    |
| 4.2 生長阻害率の算出 .....                         | 13    |
| 4.3 50%生長阻害濃度 (EC50) の算出 .....             | 14    |
| 4.4 無影響濃度 (NOEC) .....                     | 14    |
| 5 結果および考察 .....                            | 15    |
| 5.1 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    |
| 5.2 試験液中の被験物質濃度 .....                      | 15    |
| 5.3 生長曲線 .....                             | 15    |
| 5.4 50%生長阻害濃度 (EC50) および無影響濃度 (NOEC) ..... | 15    |
| 5.5 温度およびpH .....                          | 16    |
| 6 試験計画書からの逸脱事項 .....                       | 16    |
| Table 1~7 .....                            | 17~24 |
| Figure 1~3 .....                           | 25~27 |
| 付属資料-1 試験液の分析方法 .....                      | 28~37 |

## 要 旨

### 試験委託者

環境庁

### 表 題

1,2,3-トリクロロベンゼンの藻類 (*Selenastrum capricornutum*) に対する生長阻害試験

### 試験番号

7 B 7 3 0 G

### 試験方法

本試験は、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)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質: 1,2,3-トリクロロベンゼン
- 2) 暴露方式: 止水式 (密閉), 振とう培養 (100rpm)
- 3) 供試生物: *Selenastrum capricornutum* (ATCC22662)
- 4) 暴露期間: 72時間
- 5) 試験濃度 (設定値): 対照区, 助剤対照区, 0.050, 0.120, 0.280, 0.640, 1.50, 3.40  
8.00mg/L (公比: 2.3, 助剤濃度一定: 80 mg/L, シメチリン・メチルアミト  
および HCO-40使用)
- 6) 試験液量: 100 mL (OECD培地)
- 7) 連数: 3容器/濃度区
- 8) 初期細胞濃度:  $1 \times 10^4$  cells/mL
- 9) 試験温度:  $23 \pm 2$  °C
- 10) 照明: 4000~5000 lux (連続照明)
- 11) 被験物質の分析: HPLC法

## 結 果

### 1) 試験液中の被験物質濃度

各試験液の濃度は開始時において設定値の±20%以内であったため、下記の生長阻害濃度の算出には設定値を採用した。

暴露72時間後の設定値に対する割合は66～89 %であった。被験物質は揮発性であるため、被験物質濃度の減少は、主に揮発によるものと判断した。

### 2) 生長曲線下面積の比較による阻害濃度

50%生長阻害濃度 EbC50(0-72) : 1.08 mg/L (95%信頼区間 : 0.833～1.41 mg/L)

無影響濃度 NOECb(0-72) : 0.280 mg/L

### 3) 生長速度の比較による阻害濃度

50%生長阻害濃度 ErC50(24-48) : 2.79 mg/L (95%信頼区間 : 2.73～2.86 mg/L)

無影響濃度 NOECr(24-48) : 0.640 mg/L

50%生長阻害濃度 ErC50(24-72) : 3.23 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可能 )

無影響濃度 NOECr(24-72) : 1.50 mg/L



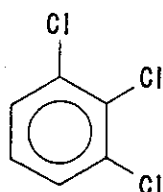
## 1 被験物質

### 1.1 名称, 構造式および物理化学的性状

名称: 1,2,3-トリクロロベンゼン  
(略称 1,2,3-TCB)

CAS No: 87-61-6

構造式:



分子式:  $C_6H_3Cl_3$

分子量<sup>\*2</sup>: 181.44

沸点<sup>\*2</sup>: 221°C

融点<sup>\*1</sup>: 53.7°C

水溶解度<sup>\*2</sup>: 12mg/L (22°C)

logPoct<sup>\*2</sup>: 4.02~4.11

\*1: 供給者提供資料

\*2: 環境化学物質要覧—環境庁環境化学物質研究会編, 丸善 (昭和63年)

### 1.2 供試試料

純度<sup>\*1</sup>: 100.0%

ロット番号<sup>\*1</sup>: TPG3364

供給者: XXXXXXXXXX

供給量<sup>\*1</sup>: 25g

入手日: 1997年12月8日

外観<sup>\*1</sup>: くすんだ白色塊

\*1: 供給者提供資料

### 1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性

被験物質は当研究所の冷蔵庫に保管した。

入手した被験物質の赤外吸収スペクトルを測定し、被験物質の構造と矛盾が認められないことを確認した。試験終了時にも赤外吸収スペクトルを測定し、試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保管中安定であったと判断された。

## 2 供試生物

試験には、単細胞緑藻類である *Selenastrum capricornutum* を用いた。

本種は、1996年6月20日に American Type Culture Collectionより入手した ATCC22662株を当研究所において無菌的に継代培養しているものである。基準物質（重クロム酸カリウム，試験特級）による72時間の生長阻害濃度（EbC50）は、0.410 mg/L（直線回帰分析）であった。

### 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日間前培養した。

## 3 試験方法

### 3.1 試験条件

- |            |                                       |
|------------|---------------------------------------|
| 1) 暴露方式：   | 止水式（密閉），振とう培養（100rpm）                 |
| 2) 暴露期間：   | 72時間                                  |
| 3) 試験液量：   | 100 mL（OECD培地）                        |
| 4) 連数：     | 3 容器／濃度区                              |
| 5) 初期細胞濃度： | $1 \times 10^4$ cells/mL              |
| 6) 試験温度：   | $23 \pm 2$ °C                         |
| 7) 照明：     | 4000～5000 lux（±20%の変動内，フラスコ液面付近）で連続照明 |

### 3.2 培地

前培養および試験ともに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。

[Table 1 (p. 17)]

### 3.3 試験容器、藻類培養試験装置および機器等

- 1) 試験容器： 500 mL容ガラス製共栓付き三角フラスコ
- 2) 藻類培養試験装置： 伊藤製作所社製 AGP-150RL型
- 3) 光学顕微鏡： オリンパス光学社製 FHT型
- 4) 粒子計数装置： 東亜医用電子社製 CDA-500型
- 5) 粒子計数装置用電解液： 東亜医用電子社製 セルパック
- 6) pHメーター： オリオン社製 卓上pH計／イオン計 900A型
- 7) 温度計： Tasco Japan Co. Ltd. TNA-120型
- 8) 照度計： トプコン社製 IM-2D型

### 3.4 試験濃度の設定

本試験の実施に先立ち、予備試験を対照区、助剤対照区および7段階の濃度区（0.10, 0.20, 0.50, 1.0, 3.0, 8.0, 20 mg/L, 各1連）で実施した。その結果を以下の表に示した。

予備試験結果

| 濃度 (mg/L) | 対照区に対する<br>72時間後の生長率<br>(%) | 助剤対照区に対する<br>72時間後の生長率<br>(%) |
|-----------|-----------------------------|-------------------------------|
| 対照区       | 100                         | —                             |
| 助剤対照区     | 105                         | 100                           |
| 0.10      | 97                          | 92                            |
| 0.20      | 81                          | 77                            |
| 0.50      | 74                          | 70                            |
| 1.0       | 54                          | 52                            |
| 3.0       | 30                          | 29                            |
| 8.0       | 4                           | 3                             |
| 20        | 3                           | 3                             |

以上の結果から、本試験における濃度を対照区、助剤対照区および 0.050, 0.120, 0.280, 0.640, 1.50, 3.40, 8.00 mg/L (公比：2.3, 各3連) の7段階の濃度区とした。

### 3.5 試験液の調製

被験物質を 100 mg 精秤し、ジメチルホルムアミド 200 mg に溶解後、分散助剤（HCO-40）を 800 mg 加え混合した。これを培地で希釈し、100 mL に定容とし、被験物質濃度 1000 mg/L の原液を調製した。さらに、この原液を培地で 10 倍希釈した被験物質濃度 100 mg/L のものを添加原液とした。同時に被験物質を含まない助剤原液 1000 mg/L（ジメチルホルムアミド 200 mg/L, HCO-40 800 mg/L）を調製した。

各試験容器に 100 mL の培地を入れ、被験物質添加原液および助剤原液の添加量分を除去後、被験物質添加原液を等比級数的に添加し、被験物質濃度 0.050, 0.120, 0.280, 0.640, 1.50, 3.40, 8.00 mg/L の試験液を調製した。同時に各濃度区の助剤濃度が一定（80.0 mg/L）となるように助剤原液を加えた。対照区には培地のみを、助剤対照区には助剤のみを含むもの（助剤濃度：80.0 mg/L）を調製した。

### 3.6 試験液の分析

暴露開始時（0hr）および終了時（72hr）に、各濃度区 3 連の試験容器より試験液を 2.0 mL ずつ、採取して混合した。開始時には、このうち 0.75 mL を分析試料とし、終了時には藻類を遠心分離（3000rpm, 10 分間）し、上澄み液 0.75 mL を分析試料とした。

各分析試料にアセトニトリルを等量加え、混合後、HPLC により分析した。各試験液の被験物質濃度は標準溶液のピーク面積との比から定量した。詳細は付属資料-1 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  $1 \times 10^4$  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  $23 \pm 2$  °C の培養装置に設置し試験を開始し、24, 48 および 72 時間に細胞濃度を測定した。細胞濃度は各試験容器より試験液 1.0 mL を採取し、電解液（セルパック）9.0 mL と混合した後、粒子計数装置（CDA-500）により計測した。

試験液調製時の pH は 3 連とは別に調製した予備 1 本について測定し、各濃度区の暴露開始時の pH とし、終了時には 3 連のうち 1 本（No. 1）について pH を測定した。試験期間中、培養装置内の温度、照度を少なくとも 1 日 1 回測定した。

#### 4 結果の算出

##### 4.1 生長曲線

各試験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

下記の方法（面積法および速度法）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。

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

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濃度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（または助剤対照区）の生長曲線下の面積

$A_t$  : 各濃度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（ $I_m$ ）

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（ $\mu$ ）より各濃度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 (または助剤対照区) の平均生長速度

$\mu_t$ : 各濃度区における平均生長速度

#### 4.3 50%生長阻害濃度 (EC50) の算出

4.2で算出した面積法および速度法による生長阻害率 (IA値および  $I_m$ 値, 助剤対照区との比較に基づく) を用いて50%生長阻害濃度 (EC50) を算出した。

各濃度区に対応する阻害率を片対数紙にプロットし, 直線性の認められる点を用いて直線回帰分析 (最小二乗法) を行い, 阻害率50%との交点からEC50値 (および可能な限りその95%信頼区間) を算出した。その際, 面積法により求めた場合はEbC50 (0-72), 速度法により求めた場合はErC50 (24-48) またはErC50 (24-72) とした。

#### 4.4 無影響濃度 (NOEC)

Bartlettの等分散検定 ( $\alpha=0.01$ ) を行い等分散性を確認後, 一元配置分散分析 (1-way ANOVA,  $\alpha=0.05$ ) および Williamsの多重比較検定 ( $\alpha=0.05$ , 両側) を行い, 助剤対照区と比較して有意差が認められない最高試験濃度を無影響濃度 (NOEC) とした。その際, 面積法により求めた場合はNOECb (0-72), 速度法により求めた場合は NOECr (24-48) またはNOECr (24-72) とした。

以上の統計解析には Yukms ソフトウェア Statlight「#4 多群の比較」(Yukms Corp., 東京) を用いた。

## 5 結果および考察

### 5.1 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

該当する事象はなかった。

### 5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時の被験物質濃度は 0.041~8.81 mg/L (設定値 0.050~8.00 mg/L) であり, 設定値に対する割合は82~110 %であった。開始時における濃度が設定値の±20%以内であったため, 各影響濃度の算出には設定値を採用した。

暴露72時間の被験物質濃度は 0.034~7.09 mg/Lであり, 設定値に対する割合は66~89 %であった。被験物質は揮発性であるため, 被験物質濃度の減少は, 主に揮発によるものと判断した。

[Table 2 (p.18), 付属資料-1]

### 5.3 生長曲線

対照区および助剤対照区における細胞濃度は72時間の培養でそれぞれ 平均 63倍, 66倍増加し, 試験条件下で正常な生長を示した。但し, 通気性のシリコン栓で培養すれば, 通常は100倍以上の生長が認められるのに対し, 揮発性物質であったことから密閉条件で培養したため, 通気性方式に比べ生長率は低かった。

また, 0.050 mg/L区で 62倍, 0.120 mg/L区で 56倍, 0.280 mg/L区で 60倍, 0.640 mg/L区で 56倍, 1.50 mg/L区で 31倍, 3.40 mg/L区で 3.7倍, 8.00 mg/L区で 1.1倍の生長を示した。

[Table 3 (p.19,20), Figure 1 (p.25)]

### 5.4 50%生長阻害濃度 (EC50) および無影響濃度 (NOEC)

#### 1) 生長曲線下面積の比較による阻害濃度

EbC50 (0-72) は 1.08 mg/Lであり, その95%信頼区間は 0.833~1.41 mg/Lであった。

NOECb (0-72) は 0.280 mg/L であった。

[Table 4,5 (p. 21,22,23), Figure 2 (p.26)]

#### 2) 生長速度の比較による阻害濃度

ErC50 (24-48) は 2.79 mg/Lであり, その95%信頼区間は 2.73~2.86 mg/L であった。

ErC50 (24-72) は 3.23 mg/Lであり, その95%信頼区間は算出不可能であった。

NOECr (24-48) および NOECr (24-72) は, それぞれ 0.640, 1.50 mg/Lであった。

[Table 4,5 (p. 21,22,23), Figure 3 (p.27)]

#### 5.5 温度およびpH

72時間の暴露期間中の培養試験器内の温度は 22.4～24.5℃であり、設定範囲内であった。試験液のpHは暴露開始時が 7.9～8.0であり、試験終了時が 7.9～10.5であった。炭酸同化が盛んに行われ藻類の生長率が高ければ、pHが1以上増加することがある。加えて、密閉方式の場合はpHが増加することは少なくない。今回は、対照区、助剤対照区および 1.50 mg/L以下の濃度区でpHが1以上増加した。

[Table 6,7 (p.24)]

#### 6. 試験計画書からの逸脱事項

該当する事象はなかった。

以 上



Table 1 OECD medium

| <u>Nutrient salts</u>                               | <u>Concentration (mg/L)</u> |
|---|-----------------------------|
| H <sub>3</sub> B <sub>3</sub> O <sub>3</sub>        | 0.185                       |
| MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O                | 0.415                       |
| ZnCl <sub>2</sub>                                   | 0.003                       |
| FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O                | 0.08                        |
| Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O              | 0.1                         |
| CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O                | 0.0015                      |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O | 0.007                       |
| CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O                | 0.00001                     |
| CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O                | 18                          |
| NH <sub>4</sub> Cl                                  | 15                          |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 1.6                         |
| NaHCO <sub>3</sub>                                  | 50                          |
| MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O                | 12                          |
| <u>MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</u>             | <u>15</u>                   |

Table 2. Measured Concentrations during the 72-Hour Exposure

| Nominal<br>Concentration<br>(mg/L) | Measured Concentration (mg/L) |                       |         |                       |
|------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|---------|-----------------------|
|                                    | 0 Hour                        | Percent of<br>Nominal | 72 Hour | Percent of<br>Nominal |
| Control                            | <0.007                        | —                     | <0.007  | —                     |
| Solvent Control.                   | <0.007                        | —                     | <0.007  | —                     |
| 0.050                              | 0.041                         | 82                    | 0.034   | 68                    |
| 0.120                              | 0.112                         | 93                    | 0.079   | 66                    |
| 0.280                              | 0.253                         | 90                    | 0.201   | 72                    |
| 0.640                              | 0.614                         | 96                    | 0.479   | 75                    |
| 1.50                               | 1.47                          | 98                    | 1.14    | 76                    |
| 3.40                               | 3.67                          | 108                   | 2.85    | 84                    |
| 8.00                               | 8.81                          | 110                   | 7.09    | 89                    |

Table 3. Cell Densities of *Selenastrum capricornutum*

| Nominal<br>Concentration<br>mg/L | Vessel<br>No. | Cell Densities (cells/mL) |       |        |        |
|----------------------------------|---------------|---------------------------|-------|--------|--------|
|                                  |               | 0                         | 24    | 48     | 72     |
| Control                          | 1             | 10000                     | 49200 | 261600 | 659200 |
|                                  | 2             | 10000                     | 45500 | 238600 | 598200 |
|                                  | 3             | 10000                     | 49200 | 263600 | 619200 |
|                                  | Average       | 10000                     | 48000 | 254600 | 625500 |
|                                  | SD            | 0                         | 2100  | 13900  | 31000  |
| Solvent. cont.                   | 1             | 10000                     | 60100 | 311600 | 647200 |
|                                  | 2             | 10000                     | 58500 | 334600 | 694200 |
|                                  | 3             | 10000                     | 58200 | 308600 | 629200 |
|                                  | Average       | 10000                     | 58900 | 318300 | 656900 |
|                                  | SD            | 0                         | 1000  | 14200  | 33600  |
| 0.050                            | 1             | 10000                     | 60300 | 326600 | 742200 |
|                                  | 2             | 10000                     | 58400 | 283600 | 592200 |
|                                  | 3             | 10000                     | 48000 | 266600 | 538200 |
|                                  | Average       | 10000                     | 55600 | 292300 | 624200 |
|                                  | SD            | 0                         | 6600  | 30900  | 105700 |
| 0.120                            | 1             | 10000                     | 59200 | 328600 | 707200 |
|                                  | 2             | 10000                     | 54200 | 297600 | 487200 |
|                                  | 3             | 10000                     | 47800 | 266600 | 494200 |
|                                  | Average       | 10000                     | 53700 | 297600 | 562900 |
|                                  | SD            | 0                         | 5700  | 31000  | 125000 |
| 0.280                            | 1             | 10000                     | 55100 | 282600 | 563200 |
|                                  | 2             | 10000                     | 55100 | 294600 | 637200 |
|                                  | 3             | 10000                     | 48500 | 264600 | 603200 |
|                                  | Average       | 10000                     | 52900 | 280600 | 601200 |
|                                  | SD            | 0                         | 3800  | 15100  | 37000  |
| 0.640                            | 1             | 10000                     | 41600 | 193600 | 566200 |
|                                  | 2             | 10000                     | 40400 | 188600 | 566200 |
|                                  | 3             | 10000                     | 38300 | 179600 | 554200 |
|                                  | Average       | 10000                     | 40100 | 187300 | 562200 |
|                                  | SD            | 0                         | 1700  | 7100   | 6900   |

Table 3. Cell Densities of *Selenastrum capricornutum* (continued)

| Nominal<br>Concentration<br>mg/L | Vessel<br>No. | Cell Densities (cells/mL) |       |       |        |
|----------------------------------|---------------|---------------------------|-------|-------|--------|
|                                  |               | 0                         | 24    | 48    | 72     |
| 1.50                             | 1             | 10000                     | 25500 | 98000 | 318200 |
|                                  | 2             | 10000                     | 26000 | 91700 | 311200 |
|                                  | 3             | 10000                     | 23400 | 88800 | 296200 |
|                                  | Average       | 10000                     | 25000 | 92800 | 308500 |
|                                  | SD            | 0                         | 1400  | 4700  | 11200  |
| 3.40                             | 1             | 10000                     | 16900 | 28400 | 34400  |
|                                  | 2             | 10000                     | 15000 | 30900 | 36400  |
|                                  | 3             | 10000                     | 15000 | 35100 | 41000  |
|                                  | Average       | 10000                     | 15600 | 31500 | 37300  |
|                                  | SD            | 0                         | 1100  | 3400  | 3400   |
| 8.00                             | 1             | 10000                     | 9300  | 11300 | 11700  |
|                                  | 2             | 10000                     | 10400 | 10100 | 10700  |
|                                  | 3             | 10000                     | 10100 | 9900  | 9500   |
|                                  | Average       | 10000                     | 9900  | 10400 | 10600  |
|                                  | SD            | 0                         | 600   | 800   | 1100   |

SD= Standard deviation

Table 4. Percent Growth Inhibition of *Selenastrum capricornutum*

| Nominal Conc.<br>(Measured Conc.) *1 |         | Area*2   | Inhibition<br>(%) *5 | Rate*3         | Inhibition<br>(%) *5 | Rate*4         | Inhibition<br>(%) *5 |
|--------------------------------------|---------|----------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|
| mg/L                                 | No.     | A(0-72h) | I A(0-72h)           | $\mu$ (24-48h) | I m(24-48h)          | $\mu$ (24-72h) | I m(24-72h)          |
| Control                              | 1       | 14770000 |                      | 0.0696         |                      | 0.0541         |                      |
|                                      | 2       | 13397000 |                      | 0.0690         |                      | 0.0537         |                      |
|                                      | 3       | 14338000 |                      | 0.0699         |                      | 0.0528         |                      |
|                                      | Average | 14168000 | -                    | 0.0695         | -                    | 0.0535         | -                    |
|                                      | SD      | 702000   |                      | 0.0005         |                      | 0.0007         |                      |
| Solvent<br>cont.                     | 1       | 16087000 |                      | 0.0686         |                      | 0.0495         |                      |
|                                      | 2       | 17165000 |                      | 0.0727         |                      | 0.0515         |                      |
|                                      | 3       | 15754000 |                      | 0.0695         |                      | 0.0496         |                      |
|                                      | Average | 16335000 | -                    | 0.0703         | -                    | 0.0502         | -                    |
|                                      | SD      | 738000   |                      | 0.0022         |                      | 0.0011         |                      |
| 0.050<br>(0.041)                     | 1       | 17592000 |                      | 0.0704         |                      | 0.0523         |                      |
|                                      | 2       | 14714000 |                      | 0.0658         |                      | 0.0483         |                      |
|                                      | 3       | 13409000 |                      | 0.0714         |                      | 0.0504         |                      |
|                                      | Average | 15238000 | 6.7                  | 0.0692         | 1.6                  | 0.0503         | -0.2                 |
|                                      | SD      | 2140000  |                      | 0.0030         |                      | 0.0020         |                      |
| 0.120<br>(0.112)                     | 1       | 17194000 |                      | 0.0714         |                      | 0.0517         |                      |
|                                      | 2       | 13690000 |                      | 0.0710         |                      | 0.0457         |                      |
|                                      | 3       | 12876000 |                      | 0.0716         |                      | 0.0487         |                      |
|                                      | Average | 14587000 | 10.7                 | 0.0713         | -1.4                 | 0.0487         | 3.0                  |
|                                      | SD      | 2294000  |                      | 0.0003         |                      | 0.0030         |                      |
| 0.280<br>(0.253)                     | 1       | 14263000 |                      | 0.0681         |                      | 0.0484         |                      |
|                                      | 2       | 15439000 |                      | 0.0699         |                      | 0.0510         |                      |
|                                      | 3       | 14153000 |                      | 0.0707         |                      | 0.0525         |                      |
|                                      | Average | 14618000 | 10.5                 | 0.0696         | 1.0                  | 0.0506         | -0.8                 |
|                                      | SD      | 713000   |                      | 0.0013         |                      | 0.0021         |                      |
| 0.640<br>(0.614)                     | 1       | 11839000 |                      | 0.0641         |                      | 0.0544         |                      |
|                                      | 2       | 11690000 |                      | 0.0642         |                      | 0.0550         |                      |
|                                      | 3       | 11280000 |                      | 0.0644         |                      | 0.0557         |                      |
|                                      | Average | 11603000 | 29.0**               | 0.0642         | 8.7                  | 0.0550         | -9.6                 |
|                                      | SD      | 289000   |                      | 0.0002         |                      | 0.0007         |                      |

Table 4. Percent Growth Inhibition of *Selenastrum capricornutum* (continued)

| Nominal Conc.<br>(Measured Conc.) *1 |         | Area *2  | Inhibition<br>(%) *5 | Rate *3        | Inhibition<br>(%) *5 | Rate *4        | Inhibition<br>(%) *5 |
|--------------------------------------|---------|----------|----------------------|----------------|----------------------|----------------|----------------------|
| mg/L                                 | No.     | A(0-72h) | I A(0-72h)           | $\mu$ (24-48h) | I m(24-48h)          | $\mu$ (24-72h) | I m(24-72h)          |
| 1.50<br>(1.47)                       | 1       | 6182000  |                      | 0.0561         |                      | 0.0526         |                      |
|                                      | 2       | 5959000  |                      | 0.0525         |                      | 0.0517         |                      |
|                                      | 3       | 5647000  |                      | 0.0556         |                      | 0.0529         |                      |
|                                      | Average | 5929000  | 63.7**               | 0.0547         | 22.2**               | 0.0524         | -4.4                 |
|                                      | SD      | 269000   |                      | 0.0020         |                      | 0.0006         |                      |
| 3.40<br>(3.67)                       | 1       | 900000   |                      | 0.0216         |                      | 0.0148         |                      |
|                                      | 2       | 938000   |                      | 0.0301         |                      | 0.0185         |                      |
|                                      | 3       | 1094000  |                      | 0.0354         |                      | 0.0209         |                      |
|                                      | Average | 977000   | 94.0**               | 0.0290         | 58.7**               | 0.0181         | 63.9**               |
|                                      | SD      | 103000   |                      | 0.0070         |                      | 0.0031         |                      |
| 8.00<br>(8.81)                       | 1       | 35000    |                      | 0.0081         |                      | 0.0048         |                      |
|                                      | 2       | 20000    |                      | -0.0012        |                      | 0.0006         |                      |
|                                      | 3       | -6000    |                      | -0.0008        |                      | -0.0013        |                      |
|                                      | Average | 16000    | 99.9**               | 0.0020         | 97.2**               | 0.0014         | 97.2**               |
|                                      | SD      | 21000    |                      | 0.0053         |                      | 0.0031         |                      |

\*1 Values in parentheses are the measured concentration at 0-hour.

\*2 Area under the growth curves (0-72h)

\*3 Growth rates (24-48h)

\*4 Growth rates (24-72h)

\*5 Values are the percent inhibition relative to the solvent control.

SD Standard deviation

\* Indicates a significant difference ( $\alpha=0.05$ ) from the solvent control.  
(There was no sign in this test.)

\*\* Indicates a significant difference ( $\alpha=0.01$ ) from the solvent control.

Table 5. Calculated EC50 and NOEC

Based on  $I_A$  (0-72h) value (Areas under growth curve)

| EbC50 (0-72)<br>(mg/L) | 95-Percent<br>Confidence Limits<br>(mg/L) | NOECb (0-72)<br>(mg/L) |
|------------------------|---|------------------------|
| 1.08 * <sup>1</sup>    | 0.833 — 1.41* <sup>1</sup>                | 0.280                  |

Based on  $I_m$  (24-48h) value (Growth rates)

| ErC50 (24-48)<br>(mg/L) | 95-Percent<br>Confidence Limits<br>(mg/L) | NOECr (24-48)<br>(mg/L) |
|-------------------------|---|-------------------------|
| 2.79 * <sup>2</sup>     | 2.73 — 2.86* <sup>2</sup>                 | 0.640                   |

Based on  $I_m$  (24-72h) value (Growth rates)

| ErC50 (24-72)<br>(mg/L) | 95-Percent<br>Confidence Limits<br>(mg/L) | NOECr (24-72)<br>(mg/L) |
|-------------------------|---|-------------------------|
| 3.23 * <sup>3</sup>     | —* <sup>3</sup>                           | 1.50                    |

The EC50 values and associated 95% confidence limits were determined by least squares linear regression analysis of the logarithm of nominal test concentration against percent growth inhibition relative to the solvent control.

\*1 using the concentrations of 0.640, 1.50 and 3.40 mg/L in the regression analysis

\*2, \*3 using the concentrations of 1.50, 3.40 and 8.00 mg/L in the regression analysis

— not calculated

The NOEC values were determined by an analysis of variances (ANOVA), Williams' t-test, subsequent to Bartlett's test for homogeneity of variances. Statistical analyses were performed using Yukms Statlight #4 software (Yukms Corp., Tokyo) and all tests of significance were at  $\alpha=0.05$ , except Bartlett's test, which was at  $\alpha=0.01$ .

Table 6. Temperature in the Incubation Chamber during the 72-Hour Exposure

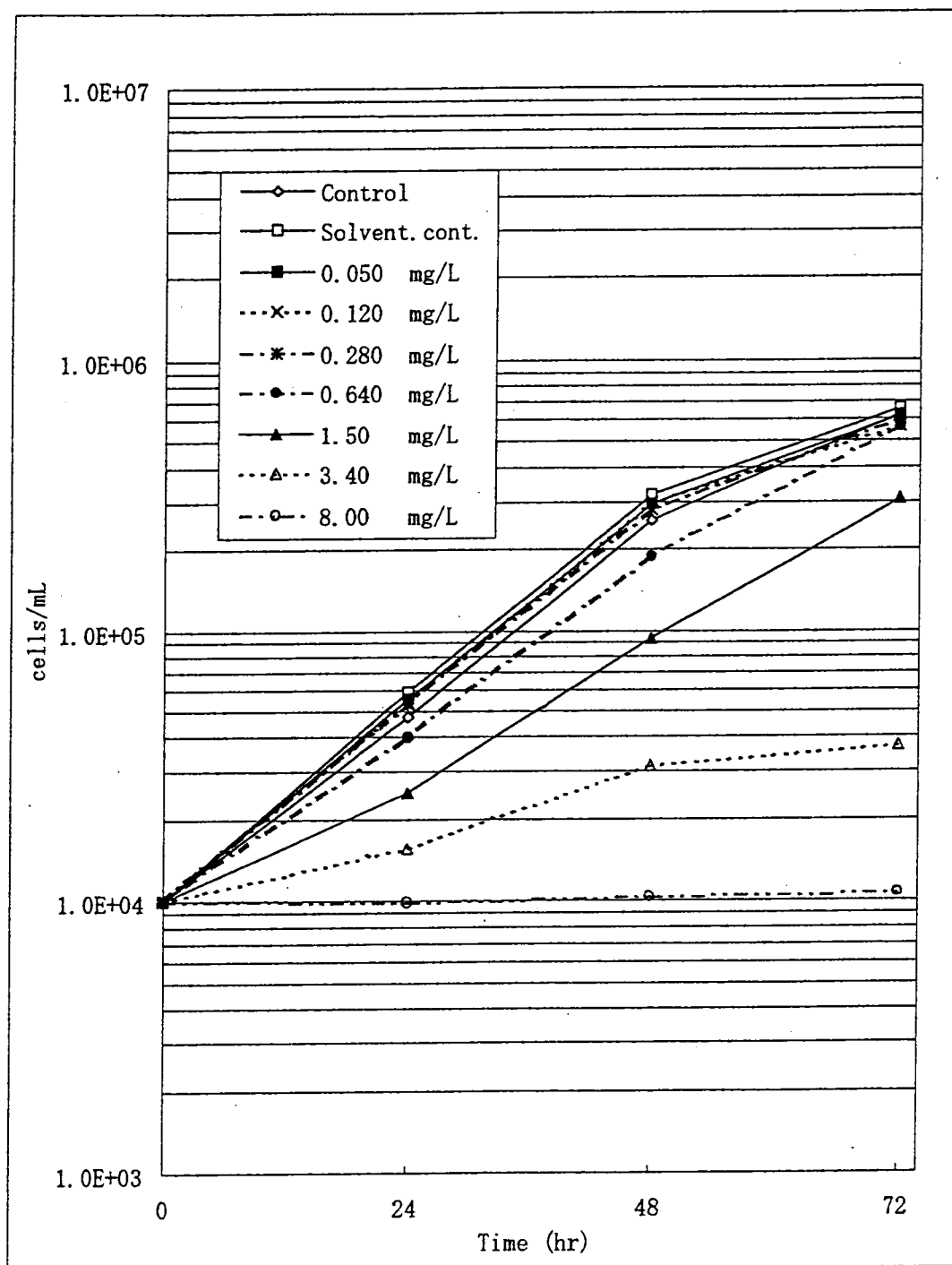
| Exposure Period<br>(Hours) | Temperature<br>(°C) |
|----------------------------|---------------------|
| 0                          | 22.4                |
| 24                         | 22.5                |
| 48                         | 22.7                |
| 72                         | 24.5                |

Table 7. pH Values at 0-Hour and 72-Hour Exposure

| Nominal<br>Concentration<br>mg/L | Vessel<br>No. | pH     |         |
|----------------------------------|---------------|--------|---------|
|                                  |               | 0 Hour | 72 Hour |
| Control                          | 1             | 8.0    | 10.4    |
| Solvent control                  | 1             | 7.9    | 10.5    |
| 0.050                            | 1             | 7.9    | 10.5    |
| 0.120                            | 1             | 7.9    | 10.5    |
| 0.280                            | 1             | 7.9    | 10.5    |
| 0.640                            | 1             | 7.9    | 10.3    |
| 1.50                             | 1             | 7.9    | 9.4     |
| 3.40                             | 1             | 7.9    | 7.9     |
| 8.00                             | 1             | 7.9    | 7.9     |



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



Values in legend are given in the nominal concentration.

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

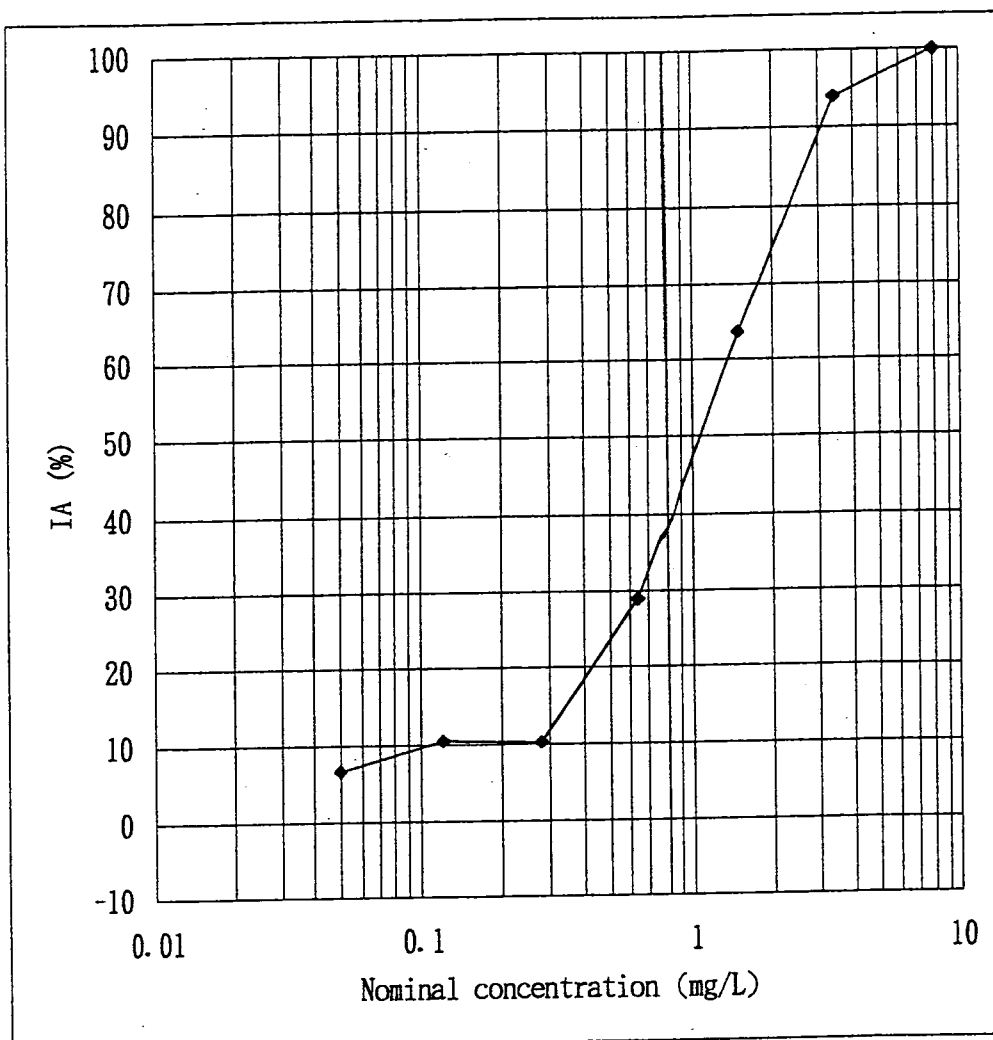
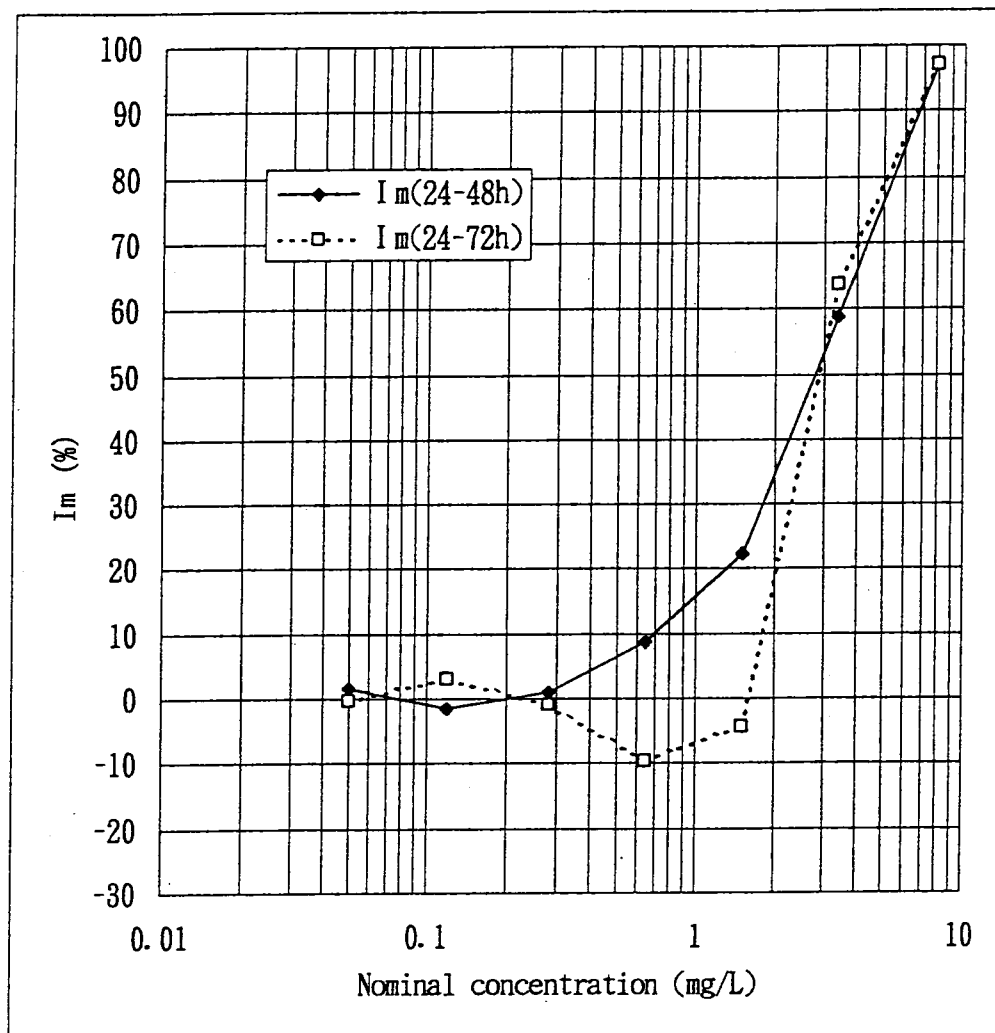


Figure 3 Concentration-Inhibition Curve Based on  $I_m$  values Calculated from the Growth Rates



## 付属資料一1

### 試験液の分析方法

## 試験液の分析方法

### 1 試験液の分析方法

- 1) 各3連の試験容器より試験液 2.0mLずつを 10mL容ガラス沈殿管に採取混合した。

暴露開始時はこのうち 0.75mLを分析試料とした。

暴露終了時は藻類を遠心分離機\* (10分間, 3000 rpm)で分離し上澄み液 0.75mL

を分析試料とした。 \*日立社製CR5B (SOP/INS/430)

- 2) 各分析試料をHPLC測定用バイアルに直接 0.75mL採取し, 7セトリルを 0.75mL加え攪はんしたものをHPLC測定試料とした。

標準液 (7セトリル溶液) はHPLC測定用バイアルに直接 0.75mL採取し, これに 0.75mLの水を加え攪はんしたものをHPLC測定試料とした。

## 2 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 測定条件

### (装置)

|              |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| 高速液体クロマトグラフ: | 日立製作所社製 L-7000型 (No. 1)            |
| ワークステーション:   | Windows NT 及び D-7000型HPLCシステムマネージャ |
| パソコン:        | COMPAQ PROLINEA 590, ディスプレイ; 171FS |
| プリンター:       | キャノン社製 LASER SHOT LBP-A404F        |
| ポンプ:         | L-7100型 (2台)                       |
| カラムオーブン:     | L-7300型                            |
| オートサンプラ:     | L-7200型                            |
| 検出器:         | L-7400型                            |
| データ処理装置:     | D-7000型                            |

### (条件)

|        |  |
|--------|--|
| カラム:   | Inertsil ODS-3V, 5 $\mu$ m, 4.6 x150 mm (GL Sciences Inc.) |
| 溶離液:   | Acetonitrile 70 %, Water 30 %                              |
| 流速:    | 1.0 mL/min   |
| 測定波長:  | 220 nm   |
| 試料注入量: | 50 $\mu$ L   |

## 3 検量線

被験物質の 1000mg/L アセトニトリル溶液を調製し、アセトニトリルで順次希釈し 0.050, 0.10, 0.20, 0.50, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20, 50, 100mg/Lの標準溶液を調製した。この標準溶液を一定量採取し水で等量希釈したものをHPLC測定した。横軸に濃度を (mg/L), 縦軸にピーク面積 (count表示) をとり、検量線を作成した。検量線はほぼ原点を通る直線となり、最小二乗法による直線回帰式の相関係数は1.000と良好であった。

## 4 検出限界

最小検出ピーク面積を 500countに設定し、これに相当する試験液中の被験物質濃度 0.007mg/Lを検出限界とした。

## 5 添加回収試験

HPLC直接注入法のため添加回収試験は実施しなかった。

Figure A-1-1 Calibration Curve by HPLC Analysis

| Input Data |                         |                      |
|------------|-------------------------|----------------------|
| No.        | Concentration<br>(mg/L) | Peak Area<br>(count) |
| 0          | 0                       | 0                    |
| 1          | 0.050                   | 3,515                |
| 2          | 0.100                   | 6,998                |
| 3          | 0.200                   | 14,067               |
| 4          | 0.500                   | 35,852               |
| 5          | 1.000                   | 70,973               |
| 6          | 2.000                   | 144,661              |
| 7          | 5.000                   | 353,201              |
| 8          | 10.000                  | 697,065              |
| 9          | 20.000                  | 1,388,026            |
| 10         | 50.000                  | 3,480,757            |

$$Y = 69,600X$$

$$r = 1.000$$

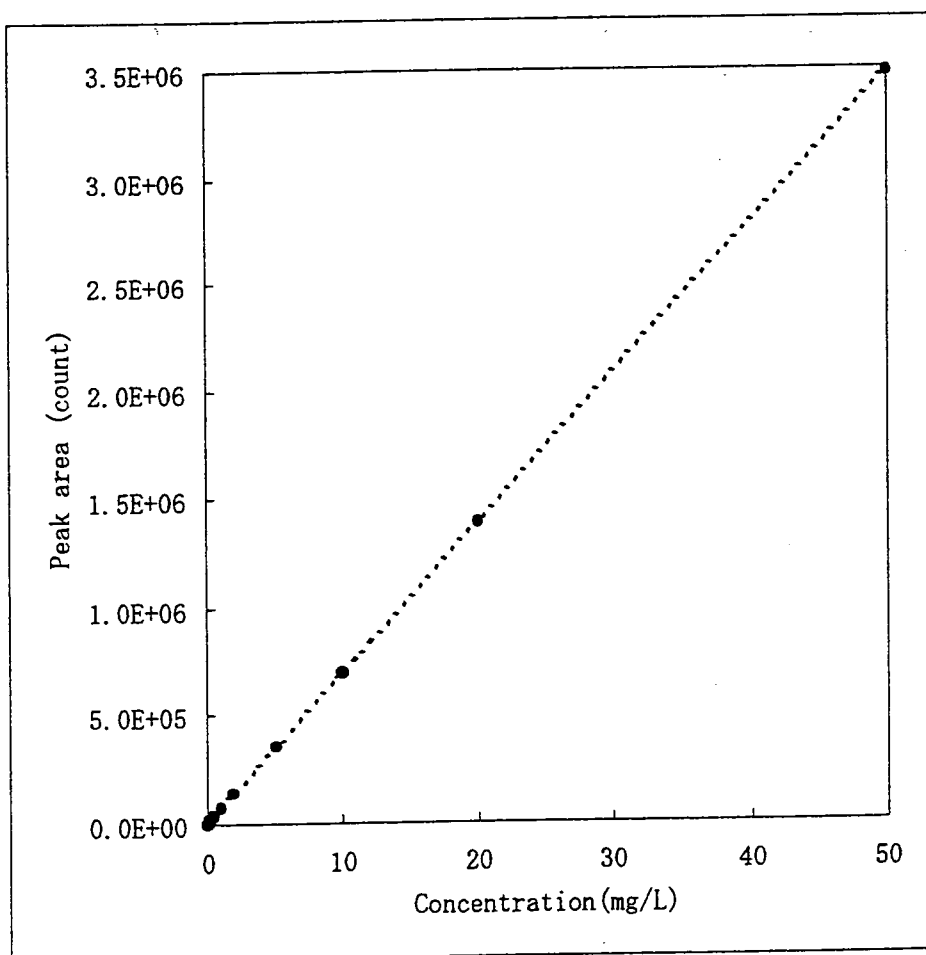
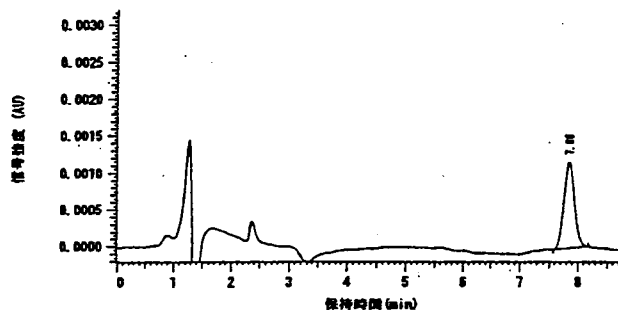


Figure A-1-2 Representative chromatograms

(1) Standard 0.100 mg/L ; 0 hr

分析日時: 98/02/17 21:40 作成日時: 98/02/19 15:42  
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TC8 (787306, algae) シート: 0001  
 アナライズ: 11 シート名: 0.1 mg/L St., 0h  
 アナライズ: UNK 注入量: 50.0 ul  
 注入回数: 1 シートコメント:

測定方法: HPLC システム: 1



データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 シート名: Inertsil ODS-3V  
 シート A (イ): L-7100  
 溶媒組成: 70% ACN  
 シート B (補助): L-7100  
 溶媒組成: 30% Water  
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

作成者: [REDACTED]

ピーク定量: 面積

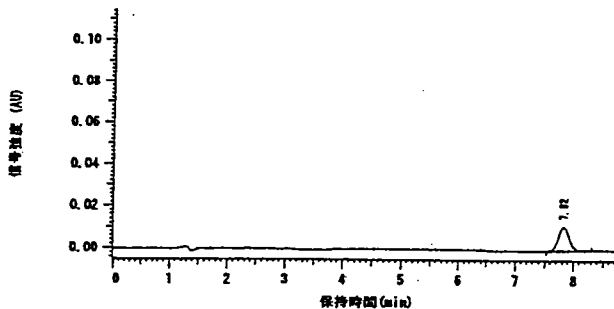
定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積   | 面積%     | BC |
|----|------|------|---------|----|
| 1  | 7.85 | 7276 | 100.000 | MC |
|    |      | 7276 | 100.000 |    |

(2) Standard 1.00 mg/L ; 0 hr

分析日時: 98/02/17 22:27 作成日時: 98/02/17 23:28  
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TC8 (787306, algae) シート: 0001  
 アナライズ: 12 シート名: 1.0 mg/L St., 0h  
 アナライズ: UNK 注入量: 50.0 ul  
 注入回数: 1 シートコメント:

測定方法: HPLC システム: 1



データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 シート名: Inertsil ODS-3V  
 シート A (イ): L-7100  
 溶媒組成: 70% ACN  
 シート B (補助): L-7100  
 溶媒組成: 30% Water  
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

作成者: [REDACTED]

ピーク定量: 面積

定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積    | 面積%     | BC |
|----|------|-------|---------|----|
| 1  | 7.82 | 73661 | 100.000 | MC |
|    |      | 73661 | 100.000 |    |

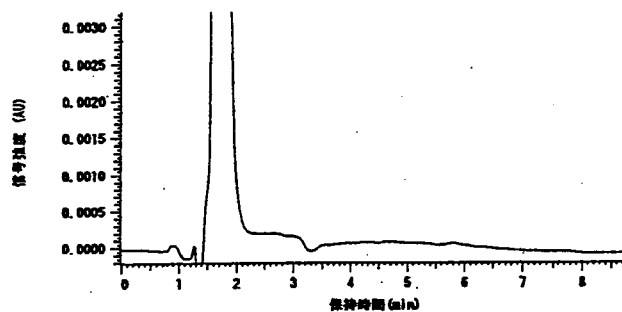


Figure A-1-2 Continued

(3) Solvent Control ; 0 hr

分析日時: 98/02/17 21:18 作成日時: 98/02/19 15:44  
 データ処理用分析ファイル: 123-TCB (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TCB (787306, algae) サンプル名: 0001  
 ピーク: 2 サンプル名: Sol. Control, 0h  
 アナライザ: LNK 注入量: 50.0 ul  
 注入回数: 1 サンプル名: 1

検出器: HPLC チャンセル: 1



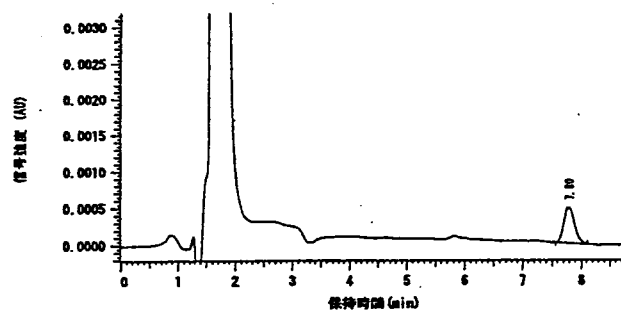
データ収集用分析ファイル: 123-TCB (787306, algae)  
 カラム名: Inertsil ODS-3V 作成者:   
 カラム A (メイン): L-7100  
 溶剤 A: 70% ACN  
 カラム B (補助): L-7100  
 溶剤 B: 30% Water  
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.  
 ピーク定数: 面積 定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積    | 面積% | BC |
|----|------|-------|-----|----|
|    | 0    | 0.000 |     |    |

(4) 0.050 mg/L nominal ; 0 hr

分析日時: 98/02/17 21:28 作成日時: 98/02/19 15:43  
 データ処理用分析ファイル: 123-TCB (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TCB (787306, algae) サンプル名: 0001  
 ピーク: 3 サンプル名: Conc. 1, 0h  
 アナライザ: LNK 注入量: 50.0 ul  
 注入回数: 1 サンプル名: 1

検出器: HPLC チャンセル: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TCB (787306, algae)  
 カラム名: Inertsil ODS-3V 作成者:   
 カラム A (メイン): L-7100  
 溶剤 A: 70% ACN  
 カラム B (補助): L-7100  
 溶剤 B: 30% Water  
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.  
 ピーク定数: 面積 定量計算方法: 面積%

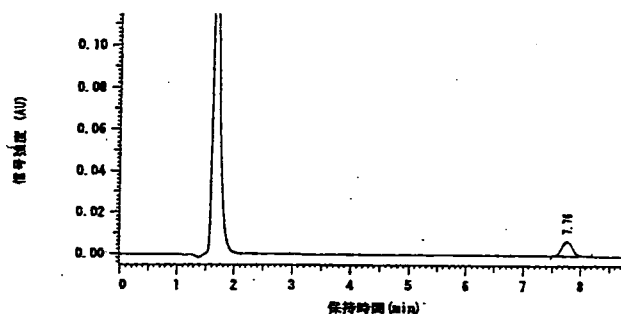
| NO | 保持時間 | 面積   | 面積%     | BC |
|----|------|------|---------|----|
| 1  | 7.80 | 2962 | 100.000 | MC |
|    |      | 2962 | 100.000 |    |

Figure A-1-2 Continued

(5) 0.640 mg/L nominal ; 0 hr

分析日時: 98/02/17 22:15 作成日時: 98/02/17 23:29  
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TC8 (787306, algae) シーテ: 0001  
 アナライザ: UNK シンク名: Conc. 4, 0h  
 注入回数: 1 注入量: 50.0 ul  
 シンクコメント:

知りたけ: HPLC チャンセル: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 シンク名: Inertsil ODS-3V  
 シンク A (主): L-7100  
 溶剤 A: 70% ACN  
 シンク B (補助): L-7100  
 溶剤 B: 30% Water  
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

作成者: [REDACTED]

ピーク定量: 面積

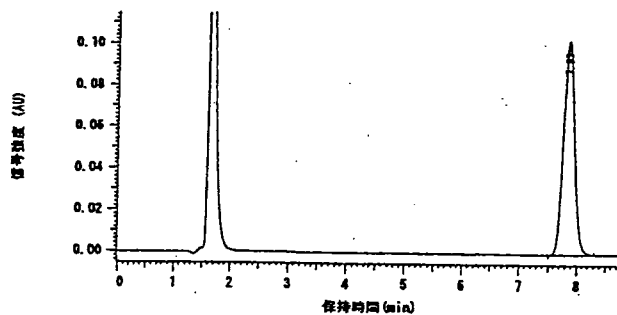
定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積    | 面積%     | BC |
|----|------|-------|---------|----|
| 1  | 7.76 | 45244 | 100.000 | MC |
|    |      | 45244 | 100.000 |    |

(6) 8.00 mg/L nominal ; 0 hr

分析日時: 98/02/17 23:03 作成日時: 98/02/17 23:25  
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TC8 (787306, algae) シーテ: 0001  
 アナライザ: UNK シンク名: Conc. 7, 0h  
 注入回数: 1 注入量: 50.0 ul  
 シンクコメント:

知りたけ: HPLC チャンセル: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 シンク名: Inertsil ODS-3V  
 シンク A (主): L-7100  
 溶剤 A: 70% ACN  
 シンク B (補助): L-7100  
 溶剤 B: 30% Water  
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.

作成者: [REDACTED]

ピーク定量: 面積

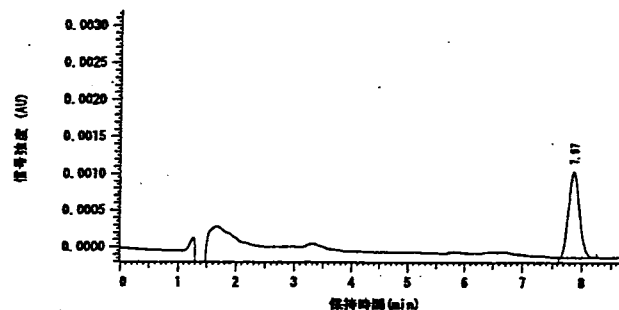
定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積     | 面積%     | BC |
|----|------|--------|---------|----|
| 1  | 7.83 | 649293 | 100.000 | MC |
|    |      | 649293 | 100.000 |    |

Figure A-1-2 Continued

(7) Standard 0.100 mg/L ; 72 hr

分析日時: 98/02/19 15:33 作成日時: 98/02/19 17:24  
 テーブル処理用分析ファイル: 123-TCB (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TCB (787306, algae) サンプル名: 0002  
 サンプル名: 0.1 mg/L St., 72h  
 アナライザ: UNK 注入量: 50.0 ul  
 注入回数: 1  
 テーブル名: 1  
 テーブル名: HPLC テーブル: 1

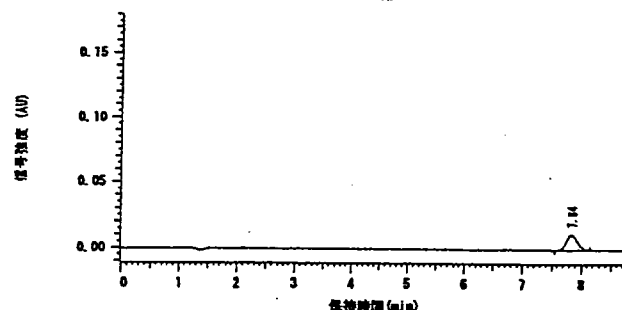


テーブル処理用分析ファイル: 123-TCB (787306, algae)  
 アナライザ: Inertsil ODS-3V 作成者:   
 サンプル名: L-7100  
 溶剤A: 70% ACN  
 サンプルB (補助): L-7100  
 溶剤A: 30% Water  
 コラム: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.  
 テーブル名: 面積 定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積   | 面積%     | BC |
|----|------|------|---------|----|
| 1  | 7.87 | 7283 | 100.000 | MC |
|    |      | 7283 | 100.000 |    |

(8) Standard 1.00 mg/L ; 72 hr

分析日時: 98/02/19 16:20 作成日時: 98/02/19 17:44  
 テーブル処理用分析ファイル: 123-TCB (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TCB (787306, algae) サンプル名: 0002  
 サンプル名: 1.0 mg/L St., 72h  
 アナライザ: UNK 注入量: 50.0 ul  
 注入回数: 1  
 テーブル名: 1  
 テーブル名: HPLC テーブル: 1



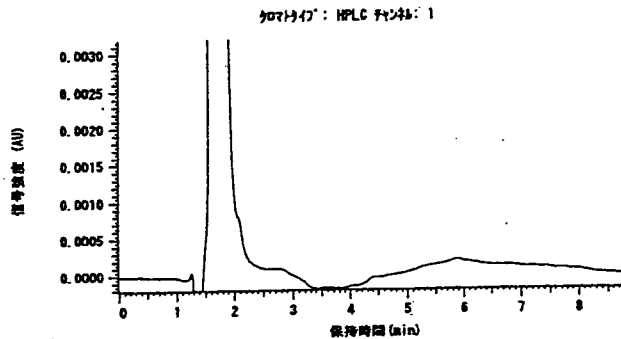
テーブル処理用分析ファイル: 123-TCB (787306, algae)  
 アナライザ: Inertsil ODS-3V 作成者:   
 サンプル名: L-7100  
 溶剤A: 70% ACN  
 サンプルB (補助): L-7100  
 溶剤A: 30% Water  
 コラム: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.  
 テーブル名: 面積 定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積    | 面積%     | BC |
|----|------|-------|---------|----|
| 1  | 7.84 | 72825 | 100.000 | MC |
|    |      | 72825 | 100.000 |    |

Figure A-1-2 Continued

(9) Solvent Control ; 72 hr

分析日時: 98/02/19 15:09 作成日時: 98/06/12 19:33  
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TC8 (787306, algae) サンプル名: 0002  
 サンプル名: Sol. Control, 72h  
 注入量: 50.0 ul  
 注入回数: 1

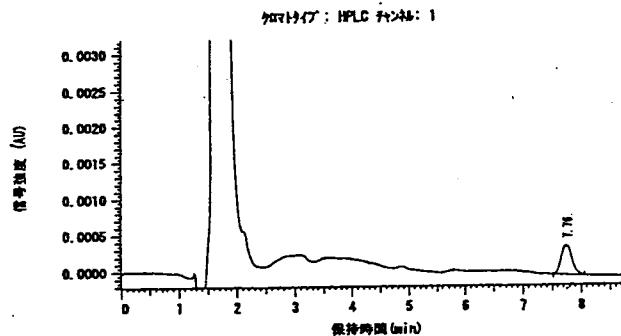


データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 カラム名: Inertsil ODS-3V 作成者: XXXXXXXXXX  
 カラム A (メイン): L-7100  
 溶媒液 A: 70% ACN  
 カラム B (補助): L-7100  
 溶媒液 B: 30% Water  
 コスト: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.  
 データ定査: 面積 定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積    | 面積% | BC |
|----|------|-------|-----|----|
|    | 0    | 0.000 |     |    |

(10) 0.050 mg/L nominal ; 72 hr

分析日時: 98/02/19 15:21 作成日時: 98/02/19 17:20  
 データ処理用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 アナライザ: 123-TC8 (787306, algae) サンプル名: 0002  
 サンプル名: Conc. 1, 72h  
 注入量: 50.0 ul  
 注入回数: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae)  
 カラム名: Inertsil ODS-3V 作成者: XXXXXXXXXX  
 カラム A (メイン): L-7100  
 溶媒液 A: 70% ACN  
 カラム B (補助): L-7100  
 溶媒液 B: 30% Water  
 コスト: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.  
 データ定査: 面積 定量計算方法: 面積%

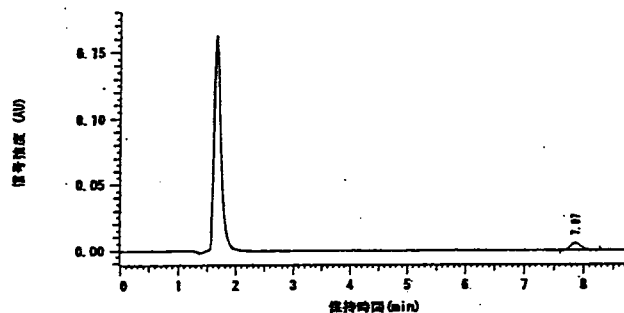
| NO | 保持時間 | 面積   | 面積%     | BC |
|----|------|------|---------|----|
| 1  | 7.76 | 2455 | 100.000 | BC |
|    |      | 2455 | 100.000 |    |

Figure A-1-2 Continued

(11) 0.640 mg/L nominal ; 72 hr

分析日時: 98/02/19 16:09 作成日時: 98/02/19 17:45  
 テーブル用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae) シーズ: 0002  
 プリケーション: 123-TC8 (787306, algae) サンプル名: Conc. 4, 72h  
 ベイ: 6 注入量: 50.0 ul  
 ベイタイプ: UNK 注入回数: 1  
 サンプル名: 787306

検出器: HPLC チャンネル: 1



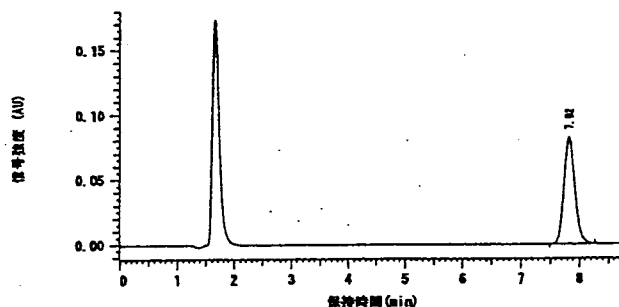
データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae) 作成者:   
 サンプル名: Inertsil ODS-3V  
 サンプルA(μl): L-7100  
 溶媒液A: 70% ACN  
 サンプルB(補助): L-7100  
 溶媒液A: 30% Water  
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.  
 ピーク定量: 面積 定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積    | 面積%     | BC |
|----|------|-------|---------|----|
| 1  | 7.87 | 34878 | 100.000 | MC |
|    |      | 34878 | 100.000 |    |

(12) 8.00 mg/L nominal ; 72 hr

分析日時: 98/02/19 16:56 作成日時: 98/02/19 17:43  
 テーブル用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae) シーズ: 0002  
 プリケーション: 123-TC8 (787306, algae) サンプル名: Conc. 7, 72h  
 ベイ: 9 注入量: 50.0 ul  
 ベイタイプ: UNK 注入回数: 1  
 サンプル名: 787306

検出器: HPLC チャンネル: 1



データ収集用分析ファイル: 123-TC8 (787306, algae) 作成者:   
 サンプル名: Inertsil ODS-3V  
 サンプルA(μl): L-7100  
 溶媒液A: 70% ACN  
 サンプルB(補助): L-7100  
 溶媒液A: 30% Water  
 コント: 220nm, 50°C, 1.0ml/min.  
 ピーク定量: 面積 定量計算方法: 面積%

| NO | 保持時間 | 面積     | 面積%     | BC |
|----|------|--------|---------|----|
| 1  | 7.82 | 516127 | 100.000 | MC |
|    |      | 516127 | 100.000 |    |