

環境庁殿

試 験 報 告 書

ペンタクロロフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

(試験番号：第09013号)

財団法人日本環境分析センター

〒100-8585 東京都千代田区千代田1-1-1

目 次

	頁
試験概要	1
要 旨	3
1 被験物質	4
1.1 名称, 構造式及び物理化学的性状	4
1.2 供試試料	4
1.3 被験物質の確認及び保管条件下での安定性	4
2 供試生物	5
3 試験方法	5
3.1 試験条件	5
3.2 希釈水	6
3.3 試験容器及び恒温室等	6
3.4 試験濃度の設定	6
3.5 試験水の調製	6
3.6 試験水の分析	6
3.7 試験操作	7
4 結果の算出	7
4.1 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) の算出	7
4.2 50 %繁殖阻害濃度 (EC50) の算出	7
4.3 最大無作用濃度 (NOEC) 及び最小作用濃度 (LOEC)	8
5 結果及び考察	8
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	8
5.2 試験水中の被験物質濃度	8
5.3 ミジンコの観察結果	9
5.4 LC50値	9
5.5 EC50値	9
5.6 NOEC及びLOEC	9
5.7 試験水のpH, DO, 水温及び硬度	10
Table 1～11	11～23
Figure 1, 2	15, 17
付属資料－1	希釈水の水質
付属資料－2	試験水の分析方法
付属資料－3	ミジンコの観察結果

試験概要

1. 表題

ペンタクロロフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

2. 試験目的

ペンタクロロフェノールについて、オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験を21日間行い、最小作用濃度 (LOEC) と最大無作用濃度 (NOEC) を求め、可能な限り50%繁殖阻害濃度 (EC50) も求める。

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 202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」(1984年4月採択)の改訂版であるガイドライン 211「オオミジンコによる繁殖試験」(1997年4月提案)に準拠した。

4. 適用GLP

本試験は環境庁GLP規則「生態影響試験実施に関する基準」に従い実施した。

5. 試験委託者

名 称：環境庁

住 所：東京都千代田区霞ヶ関1丁目2番2号

委託責任者：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

6. 試験受託者

名 称：財団法人 日本食品分析センター

所在地：東京都渋谷区元代々木町52番1号

7. 試験施設

名 称：財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

所在地：東京都多摩市永山6丁目11番10号

名 称：財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所別館

所在地：東京都多摩市永山6丁目21番6号

8. 試験関係者

試験責任者

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

生物担当責任者

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

生物系試験担当者

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

分析担当責任者

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

理化学系分析担当者

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

[Redacted]

(1999 年 1 月 25 日)

9. 試験期間

試験開始日：平成 9 年 12 月 10 日

試験終了日：平成 11 年 1 月 25 日

曝露期間：平成 10 年 10 月 7 日～平成 10 年 10 月 28 日

10. 保管

試験計画書，生データ，記録文書及び試験報告書は，試験報告書作成後 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協議のうえ決定する。

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題

ペンタクロロフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号

第 0 9 0 1 3 号

試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン 202「ミジンコ類，急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」（1984年4月採択）の改訂版であるガイドライン 211「オオミジンコによる繁殖試験」（1997年4月提案）に準拠して実施した。

- 1) 被験物質：ペンタクロロフェノール
- 2) 曝露方法：半止水式（週に3回，試験水の全量を交換）
- 3) 曝露期間：21日間
- 4) 連 数：1濃度区 10連
- 5) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 6) 生 物 数：10頭／濃度区（1連 1頭，1濃度区 10頭）
- 7) 試験水量：80 mL
- 8) 試験水温：20±1℃
- 9) 照 明：室内光，16時間明／8時間暗
- 10) 餌：*Chlorella vulgaris*
- 11) 給 餌：ミジンコ1頭当たり約0.15 mgC(有機体炭素含量)／日の割合で与えた。
- 12) 試験濃度：対照区，助剤対照区，0.0010，0.0022，0.0046，0.010，0.022，0.046及び0.10 mg/L
- 13) 試験水中の被験物質の分析：高速液体クロマトグラフ法（曝露開始時及び2日後の換水前，7日後の換水後及び9日後の換水前，14日後の換水後及び16日後の換水前）

結 果

- 1) 21日間の親ミジンコの半数致死濃度
LC50 (21days) : 0.10 mg/L以上
- 2) 21日間の50 % 繁殖阻害濃度
EC50 (21days) : 0.10 mg/L以上
- 3) 21日間の最大無作用濃度 (NOEC) : 0.046 mg/L
- 4) 21日間の最小作用濃度 (LOEC) : 0.10 mg/L
(上記濃度は，全て設定濃度に基づく値)

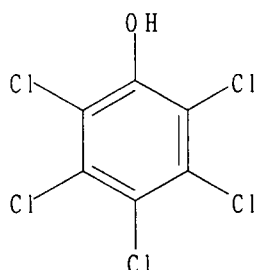
1 被験物質

1.1 名称, 構造式及び物理化学的性状

名 称 : ペンタクロロフェノール

略 称 : PCP (CASNo. 87-86-5)

構 造 式 :



分 子 式 : C_6Cl_5OH

分 子 量 : 266.34

安 定 性 : -

pKa : 4.71 (Na塩)

LogP_{ow} : 5.01

水への溶解度 : 80 mg/L (25℃) , 14.0 mg/L (20℃)

蒸 気 圧 : 14.7 mPa (20℃)

1.2 供試試料

供給者 :

入手日 : 1997年12月 5日

ロット番号 : MSK9571

外 観 : ほとんど白色結晶性粉末

純 度 : 99.6 %

供給量 : 2 g

1.3 被験物質の確認及び保管条件下での安定性

被験物質は財団法人日本食品分析センター多摩研究所の被験物質保管庫（遮光，冷蔵）に保管した。

入手した被験物質について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。試験終了時にも同様に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結果，スペクトルに変化は無かった。よって，被験物質は多摩研究所の被験物質保管庫に保管中は安定であったと判断された。

2 供試生物

試験には生後24時間令以内のオオミジンコ (*Daphnia magna*) の幼体を用いた。

本種は、1998年 6月23日に国立環境研究所より入手したものを、財団法人日本食品分析センターにおいて継代飼育しているものである。

基準物質（重クロム酸カリウム，試薬特級）の供試ミジンコに対する急性遊泳阻害試験の48時間 EC_{50} 値は0.42 mg/Lであった。

供試する幼体を得るためのミジンコの飼育方法

継代中のものから幼体を抱えた肉眼的に健康かつ十分な大きさの雌成体を選別し、別に用意した容器に移した。翌日、産出された幼体を順化用容器（1 L容ガラス製ビーカー）に分け、この幼体を供試ミジンコの親とし、以下の条件で2～4週間飼育した。成熟し幼体を産むようになったら1週間に3回幼体を除去した。2～4週間後、曝露開始前日に順化用容器から幼体を除去し、翌日（24時間以内）産出された幼体を試験に用いた。なお、ミジンコの異常が認められた容器、死亡個体の多い容器、休眠卵や雄が生じた容器のミジンコは使用しなかった。

飼 育 水：希釈水（3.2参照）

飼育密度：20～50頭/L飼育水（但し、成熟個体の場合は、25頭以下/Lとした。）

水 温：20±1℃

照 明：室内光，16時間明／8時間暗

餌 : *Chlorella vulgaris*

給 餌：ミジンコ1頭当たり約0.15 mgC（有機体炭素含量）／日の割合で与えた。

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 曝露方法：半止水式（週に3回，試験水の全量を交換）
- 2) 曝露期間：21日間
- 3) 連 数：1濃度区 10連
- 4) 生 物 数：10頭／濃度区（1連 1頭，1濃度区 10頭）
- 5) 試験水量：80 mL
- 6) 試験水温：20±1℃
- 7) 照 明：室内光，16時間明（1,200 lux以下）／8時間暗
- 8) 餌 : *Chlorella vulgaris*
- 9) 給 餌 量：ミジンコ1頭当たり約0.15 mgC（有機体炭素含量）／日

3.2 希釈水

希釈水は脱塩素水（つくば市水道水を曝気処理し、残留塩素を除去したもの。）を使用した。なお、定期測定による希釈水の水質結果を付属資料－1に示した。

試験に使用した希釈水のpH及び硬度はそれぞれ7.7～7.9及び69～71 mg/L（CaCO₃換算）であった。

3.3 試験容器及び恒温室等

- 1) 試験容器：100 mL容ガラス製ネジ口耐熱瓶
- 2) 恒温室：21.84R-4410（日立冷熱株式会社）
- 3) 温度計：AP-210（安立計器株式会社）
- 4) pH計：HM-11P及び14P（東亜電波工業株式会社）
- 5) 溶存酸素計：DO-14P（東亜電波工業株式会社）
- 6) 残留塩素比色測定器：OT-I型（理研光学株式会社）

3.4 試験濃度の設定

被験物質のオオミジンコに対する48時間半数遊泳阻害濃度（48hr-EiC50値）が0.11 mg/Lであったため、0.10 mg/L以下の濃度を公比2.2で7段階設定した。各濃度区は以下の通りであった。

対照区，助剤対照区，0.0010，0.0022，0.0046，0.010，0.022，0.046及び0.10 mg/L

3.5 試験水の調製

被験物質を溶解助剤（ジメチルスルホキシド及びポリオキシエチレンソルビット脂肪酸エステル）を用いて水に溶解させ、被験物質原液及び溶液を調製し、希釈水に添加して試験水を調製した。なお、助剤対照区の溶解助剤の添加濃度は濃度区と同一濃度（1.0 mg/L）とし、対照区は希釈水のみとした。

3.6 試験水の分析

全濃度区について、曝露開始時及び2日後の換水前、7日後の換水後及び9日後の換水前、14日後の換水後及び16日後の換水前の試験水を採取した。

試験水の採取は、曝露開始時及び換水後では分析用を含めた量の試験水を調製して、そこから採取し分析用試験水（濃度区及び対照区並びに助剤対照区は100～150 mL）とした。また、換水前は各濃度区の試験容器（10連中4連）から試験水を採取し、等量混合して分析用試験水とした。

試験水は速やかに高速液体クロマトグラフを用いて分析した。試験水の分析に際しては、標準溶液のピーク高さを用いて検量線を作成し、試験水より得られたピーク高さから試験水中の被験物質濃度を算出した。なお、詳細は付属資料－2に示した。

3.7 試験操作

曝露開始時に順化用容器から生後24時間以内の幼体を採取し、供試ミジンコとした。

試験水のpH、溶存酸素濃度（D0）、水温及び硬度を測定後、供試ミジンコを先端が比較的広口のガラスピペットを用いて各試験容器に1頭ずつ（1濃度区当たり10頭）投入した。その後、換水毎に親ミジンコを新しい試験水に移しかえ、21日間曝露した。なお、曝露期間中は毎日一定量の給餌を行った（3.1参照）。

3.7.1 ミジンコの観察

1) 親ミジンコ

生死、遊泳障害及び外観の異常の有無を毎日観察して、記録した。観察後に死亡個体は取り除いた。

2) 産出幼体

毎日、幼体の生存数を計数し、死亡幼体及び墮胎卵の発生等については、その有無を毎日観察し記録した。なお、計数及び観察後に幼体等は取り除いた。また、最初の幼体産出日を、初産日として記録した。

3.7.2 水質測定

pH、D0及び水温は全濃度区（但し、各1試験容器）、硬度は対照区、助剤対照区及び最高試験濃度区について、曝露期間中に3回（試験水の採取日と同様）換水前後に測定した。なお、pHはガラス電極法、D0は隔膜電極法及び硬度は滴定法で行った。

4 結果の算出

4.1 親ミジンコの半数致死濃度（LC50）の算出

各濃度区での親ミジンコの死亡数と供試個体数（10頭）を用いて、統計的手法により21日後のLC50値を算出した。

4.2 50 %繁殖障害濃度（EC50）の算出

4.2.1 平均累積産仔数

各濃度区の21日間の平均累積産仔数を以下の式により算出した。なお、算出は21日間生存した親ミジンコについて行った。

$$\overline{TF} = \frac{\sum_{p=1}^m \sum_{n=1}^{ne} F_{pn}}{m}$$

\overline{TF} : 平均累積産仔数

p : 21日間生存した親ミジンコの数

m : 21日間生存した親ミジンコの全数

n : 幼体観察回数

ne : 観察最終回

Fpn : p親ミジンコの n回目の幼体数（但し、生存幼体）

4.2.2 繁殖阻害率

繁殖阻害率を以下の式により算出した。

$$In = \frac{\overline{TFc} - \overline{TFt}}{\overline{TFc}} \times 100$$

\overline{In} : 繁殖阻害率 (%)

\overline{TFc} : 対照区の平均累積産仔数

\overline{TFt} : t濃度区の平均累積産仔数

4.2.3 EC50値の算出

片対数グラフを用いて横軸（対数）に濃度を縦軸に21日後の各濃度区の繁殖阻害率をプロットし、統計的手法を用いてEC50値を算出した。

4.3 最大無作用濃度（NOEC）及び最小作用濃度（LOEC）

各濃度区毎の21日間曝露後の生存親1頭当たりの累積産仔数を算出し、対照区と助剤対照区及び各濃度区との有意差の有無をDunnett法（片側、有意水準5 %及び1 %）により求め、有意差が認められない最高濃度（NOEC）及び有意差が認められる最低濃度（LOEC）を決定した。

なお、統計解析には、Yukms統計ライブラリーを用いた。

5 結果及び考察

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

なし。

5.2 試験水中の被験物質濃度

曝露開始時、7日後及び14日後の換水後の被験物質濃度はそれぞれ0.00098～0.0961 mg/L, 0.00098～0.0917 mg/L及び0.0011～0.0954 mg/L（設定値0.0010～0.10 mg/L）であり、設定値に対する割合は90～110 %であった。

それらの2日後の換水前の被験物質濃度はそれぞれ0.00099～0.0947 mg/L, 0.00092～0.0918 mg/L及び0.00087～0.0917 mg/Lであり、設定値に対する割合は86～99 %であった。

[Table 1-1, 1-2, 1-3 (p.11～13), 付属資料-2]

5.3 ミジンコの観察結果

1) 親ミジンコの死亡数及び死亡率

曝露終了時の死亡数及び死亡率は、0.0010～0.10 mg/L濃度区（以下設定濃度）で0頭（0 %）であった。

対照区及び助剤対照区での親ミジンコの死亡率はそれぞれ曝露終了時で0 %であり、試験成立条件である20 %以下の基準を満たした。

[Table 2-1, 2-2 (p.14), Figure 1 (p.15), 付属資料-3]

2) 初産日

0.0010～0.10 mg/L濃度区における親ミジンコの初産日は7～9日後であった。なお、対照区及び助剤対照区での親ミジンコの初産日は7～9日後であった。

[Table 3 (p.16), 付属資料-3]

3) 平均累積産仔数

各濃度区における21日間の平均累積産仔数の最小値は0.10 mg/L濃度区の120.3頭であり、最大値は0.0046 mg/L濃度区の152.0頭であった。

対照区及び助剤対照区の21日間の平均累積産仔数は135.8頭及び137.0頭であり、試験成立条件である平均累積産仔数60頭以上の基準を満たした。

[Table 4 (p.17), Figure 2 (p.17) 付属資料-3]

4) 親ミジンコの大きさ及び状態

全濃度区の親ミジンコの大きさ等は対照区及び助剤対照区と比較して同等であった。

5.4 LC50値

被験物質の設定濃度に基づく、21日間の親ミジンコのLC50値は0.10 mg/L以上であった。

[Table 5 (p.18)]

5.5 EC50値

被験物質の設定濃度に基づく、21日間のEC50値は、0.10 mg/L以上であった。

[Table 6 (p.18)]

5.6 NOEC及びLOEC

21日間のNOECは 0.046 mg/L（以下設定濃度）で、LOECは 0.10 mg/Lであった。

[Table 7 (p.19)]

5.7 試験水のpH, D0, 水温及び硬度

21日間の曝露期間における濃度区のpHは7.5～7.9であり, 変動は1.5以下であった。

D0は8.4～10.3 mg/Lであり, 全ての濃度区で飽和溶存酸素濃度の60 %以上が維持された(20.0℃の飽和溶存酸素濃度: 8.8 mg/L)。

水温は19.1～20.4℃であり, 設定範囲内であった。また, 硬度は最高試験濃度において68～70 mg/Lであった。

以上のことから, pH, D0, 水温及び硬度については, ミジンコの生育条件としては適切な範囲であったと思われる。

[Table 8 (p.20), Table 9 (p.21), Table 10 (p.22), Table 11 (p.23)]

以 上

Table 1-1. Measured concentrations of Pentachlorophenol in the 21-day reproduction inhibition test in *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration(mg/L)		Time-Weighted Mean (mg/L)	Percent of Nominal	
	0 day new	2 days old		0 day new	2 days old
Control	< 0.0001	< 0.0001	---	---	---
Solvent Control	< 0.0001	< 0.0001	---	---	---
0.0010	0.00098	0.00099	0.00099*	98	99
0.0022	0.0022	0.0021	0.0022	100	95
0.0046	0.0046	0.0043	0.0045	100	93
0.010	0.0098	0.0093	0.0096	98	93
0.022	0.0217	0.0203	0.0210	99	92
0.046	0.0445	0.0434	0.0439	97	94
0.10	0.0961	0.0947	0.0954	96	95

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration(mg/L)		Time-Weighted Mean (mg/L)	Percent of Nominal	
	7 days new	9 days old		7 days new	9 days old
Control	< 0.0001	< 0.0001	---	---	---
Solvent Control	< 0.0001	< 0.0001	---	---	---
0.0010	0.00098	0.00092	0.00095	98	92
0.0022	0.0020	0.0020	0.0020	91	91
0.0046	0.0044	0.0042	0.0043	96	91
0.010	0.0093	0.0088	0.0091	93	88
0.022	0.0205	0.0204	0.0205	93	93
0.046	0.0412	0.0427	0.0420*	90	93
0.10	0.0917	0.0918	0.0918*	92	92

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions 2 days after preparation

* : Arithmetic mean

Table 1-2. Measured concentrations of Pentachlorophenol in the 21-day reproduction inhibition test in *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration(mg/L)		Time-Weighted Mean (mg/L)	Percent of Nominal	
	14 days new	16 days old		14 days new	16 days old
Control	< 0.0001	< 0.0001	---	---	---
Solvent Control	< 0.0001	< 0.0001	---	---	---
0.0010	0.0011	0.00087	0.00098	110	87
0.0022	0.0021	0.0019	0.0020	95	86
0.0046	0.0043	0.0041	0.0042	93	89
0.010	0.0096	0.0093	0.0095	96	93
0.022	0.0214	0.0203	0.0208	97	92
0.046	0.0441	0.0422	0.0431	96	92
0.10	0.0954	0.0917	0.0935	95	92

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions 2 days after preparation

Table 1-3. The time-weighted mean value on measured concentrations of
Pentachlorophenol at each period in the 21-day reproduction inhibition
test in *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

Nominal Concentration (mg/L)	The Time-Weighted Mean Value on Measured Concentration (mg/L)			Percent of Nominal		
	0-7 days	0-14 days	0-21 days	0-7 days	0-14 days	0-21 days
0.0010	0.00099	0.00097	0.00097	99	97	97
0.0022	0.0022	0.0021	0.0021	100	95	95
0.0046	0.0045	0.0044	0.0043	98	96	93
0.010	0.0096	0.0093	0.0094	96	93	94
0.022	0.0210	0.0207	0.0208	95	94	95
0.046	0.0439	0.0429	0.0430	95	93	93
0.10	0.0954	0.0936	0.0936	95	94	94

Table 2-1. Cumulative number of dead parental *Daphnia magna*

Nominal Concentration (mg/L)	Days																					
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Solv. cont.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.0010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.0022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.0046	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.010	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.046	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table 2-2. Mortality (%) of parental *Daphnia magna*

Nominal Concentration (mg/L)	Days					
	1	2	4	7	14	21
Control	0	0	0	0	0	0
Solv. cont.	0	0	0	0	0	0
0.0010	0	0	0	0	0	0
0.0022	0	0	0	0	0	0
0.0046	0	0	0	0	0	0
0.010	0	0	0	0	0	0
0.022	0	0	0	0	0	0
0.046	0	0	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0	0	0

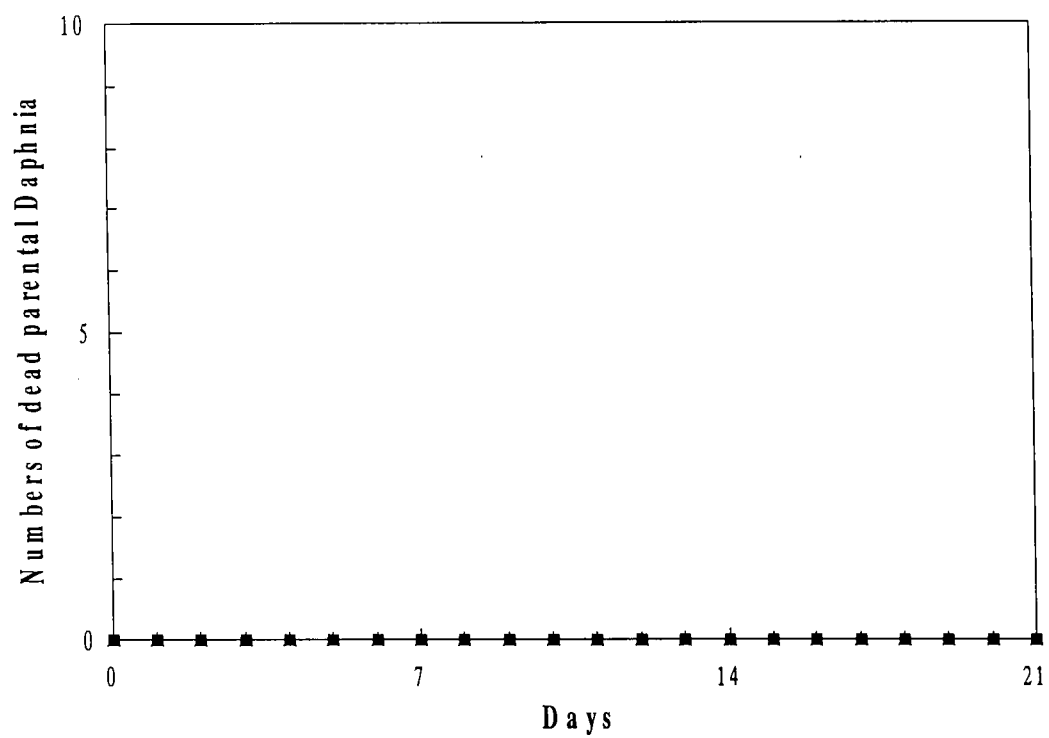


Figure 1. Cumulative numbers of dead parental Daphnia

■ Control ◆ Solv. con ★ 0.0010 ✕ 0.0022 ⊕ 0.0046
 ⊖ 0.010 ⊕ 0.022 ⊖ 0.046 ⊖ 0.10

Table 3. The time(days) to first brood

Vessel		Nominal Concentration(mg/L)							
No.	Cont.	Solv. Cont.	0. 0010	0. 0022	0. 0046	0. 010	0. 022	0. 046	0. 10
1	7	9	7	7	7	9	9	7	7
2	9	7	9	7	9	9	7	7	7
3	7	7	7	8	9	7	7	9	7
4	7	7	7	9	8	7	7	7	7
5	7	7	8	7	9	8	7	7	7
6	8	7	9	9	7	9	7	7	7
7	7	8	8	9	9	7	9	7	8
8	8	7	9	7	9	7	7	7	9
9	7	7	9	7	9	7	7	7	9
10	8	7	8	9	7	8	7	9	7
Mean	7. 50	7. 30	8. 10	7. 90	8. 30	7. 80	7. 40	7. 40	7. 50

Table 4. Mean cumulative numbers of living offspring per parent animal alive at the end of the test ($\Sigma F1/P$)

Nominal Conc. (mg/L)	Measured Conc. (mg/L)	Days															
		0	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	Control	0.0	5.7	7.8	8.5	25.1	25.1	27.4	50.4	50.4	54.2	95.5	95.5	97.8	132.3	132.3	135.8
Solv. cont.	Solv. cont.	0.0	7.2	8.4	9.9	28.7	28.7	31.9	52.5	52.5	55.5	93.9	93.9	96.8	133.7	133.7	137.0
0.0010	0.00097	0.0	2.9	7.4	15.4	27.3	31.1	42.8	56.5	60.0	68.0	87.8	91.8	106.2	118.3	130.1	146.5
0.0022	0.0021	0.0	4.2	5.2	13.0	29.5	29.5	41.8	55.2	55.2	62.7	85.7	85.7	99.5	119.0	122.2	135.9
0.0046	0.0043	0.0	2.6	4.6	15.3	24.1	27.6	47.0	53.2	53.2	67.5	79.9	79.9	109.7	123.1	123.1	152.0
0.010	0.0094	0.0	4.8	8.8	14.2	28.3	36.3	45.8	56.2	62.8	67.5	87.1	91.5	108.1	126.5	126.5	142.2
0.022	0.0208	0.0	7.6	7.6	11.8	33.7	33.7	39.2	56.8	56.8	60.9	94.6	94.6	103.5	137.7	137.7	145.3
0.046	0.0430	0.0	7.6	7.6	11.5	32.0	32.0	38.7	53.3	53.3	56.9	90.0	90.0	98.5	125.2	125.2	131.9
0.10	0.0936	0.0	6.5	8.0	11.2	29.0	32.2	39.2	54.1	56.9	59.3	84.7	88.4	96.5	107.8	112.0	120.3

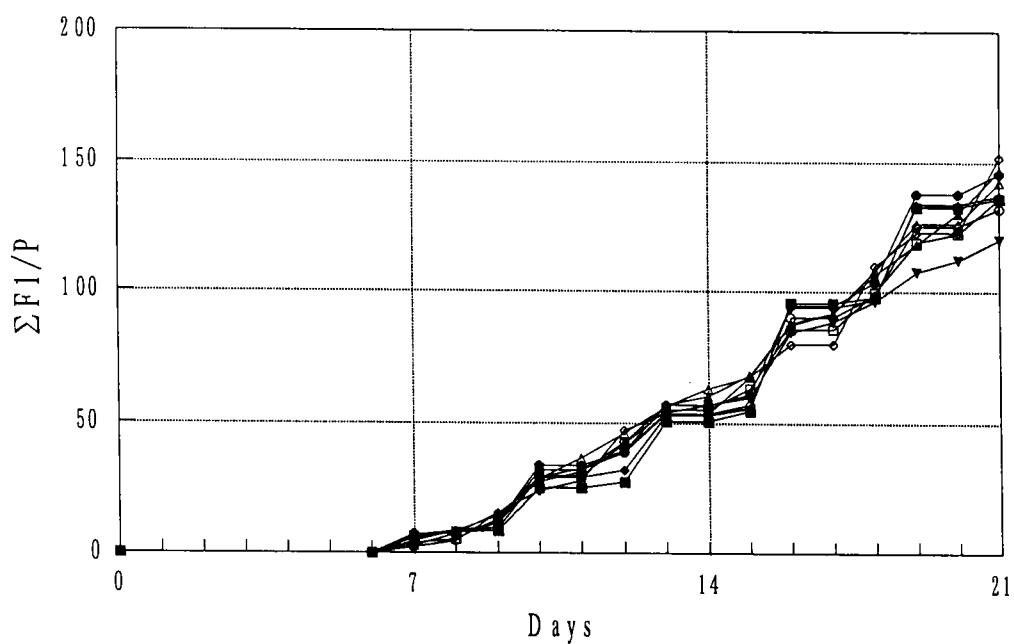


Figure 2. Mean cumulative numbers of living offspring per parent animal alive at the end of the test ($\Sigma F1/P$)

■ Control ◆ Solv. cont. ★ 0.0010 ⊕ 0.0022 ⊕ 0.0046
 ⊕ 0.010 ◆ 0.022 ⊕ 0.046 ▼ 0.10

Table 5. Calculated LC50 value for parental *Daphnia magna*
(based on nominal concentration)

Exposure period (days)	LC50 (mg/L)	95 % Confidence limits (mg/L)	Statistical method
21	> 0.10	-----	-----

Table 6. Calculated EC50 value for inhibition of reproduction
(based on nominal concentration)

Exposure period (days)	EC50 (mg/L)	95 % Confidence limits (mg/L)	Statistical method
21	> 0.10	-----	-----

Table 7. Cumulative numbers of living offspring per parent animal
alive at the end of the test

Vessel No.	Cont.	Nominal Concentration, mg/L (Measured Concentration, mg/L)							
		Solv. Cont.	0. 0010 (0. 00097)	0. 0022 (0. 0021)	0. 0046 (0. 0043)	0. 010 (0. 0094)	0. 022 (0. 0208)	0. 046 (0. 0430)	0. 10 (0. 0936)
1	138	139	139	139	149	130	159	125	123
2	126	134	152	131	146	153	135	135	117
3	138	141	140	131	161	135	141	149	121
4	137	143	150	137	160	133	160	124	106
5	132	133	134	133	148	168	156	129	115
6	129	136	135	146	141	145	135	134	105
7	138	144	182	132	158	139	144	126	127
8	149	131	146	134	156	133	151	128	138
9	140	139	152	140	157	133	138	124	137
10	131	130	135	136	144	153	134	145	114
Mean	135. 8	137. 0	146. 5	135. 9	152. 0	142. 2	145. 3	131. 9	120. 3
S. D.	6. 6	4. 9	14. 3	4. 8	7. 2	12. 3	10. 3	8. 9	11. 4
Inhibition rate(%)	---	-0. 9	-7. 9	-0. 1	-11. 9	-4. 7	-7. 0	2. 9	11. 4
Significant difference*1	---	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**

*1: Indicates a significant difference from the control by Dunnett type multiple comparisons procedure, one-sided test.

** : Significant ($p < 0. 01$)

NS: Not significant ($p \geq 0. 05$)

No observed effect concentration (NOEC): 0. 046 mg/L (as the nominal concentration)

Lowest observed effect concentration (LOEC): 0. 10 mg/L (as the nominal concentration)

Table 8. The pH of the test solutions in the 21-day reproduction inhibition test in *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

pH

days	Nominal Concentration (mg/L)								
	Control	Solv. Cont.	0.0010	0.0022	0.0046	0.010	0.022	0.046	0.10
0 new	7.9	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8
2 old	7.9	7.9	7.9	7.8	7.8	7.9	7.8	7.8	7.8
7 new	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.7	7.8	7.8	7.8
9 old	7.7	7.7	7.6	7.6	7.6	7.6	7.6	7.6	7.5
14 new	7.8	7.8	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7	7.7
16 old	7.5	7.5	7.6	7.6	7.5	7.6	7.5	7.6	7.6

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions 2 days after preparation

Table 9. The dissolved oxygen concentration (DO) of the test solutions in the 21-day reproduction inhibition test in *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

DO (mg/L)									
days	Nominal Concentration (mg/L)								
	Control	Solv. Cont.	0.0010	0.0022	0.0046	0.010	0.022	0.046	0.10
0 new	9.5	9.3	9.1	9.1	9.4	9.0	9.1	9.1	9.1
2 old	10.3	10.1	9.1	9.1	9.2	9.0	9.1	9.0	9.0
7 new	9.3	9.3	9.2	9.2	9.2	9.2	9.2	9.2	9.2
9 old	9.4	9.2	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	8.4	8.4
14 new	8.9	8.9	8.9	9.0	8.7	8.9	8.7	8.9	8.8
16 old	9.2	9.2	9.1	9.1	9.0	9.1	9.0	9.1	9.0

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions 2 days after preparation

Table 10. Temperature values of the test solutions in the 21-day reproduction inhibition test in *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

Temperature (°C)

days	Nominal Concentration (mg/L)								
	Control	Solv. Cont.	0.0010	0.0022	0.0046	0.010	0.022	0.046	0.10
0 new	19.8	19.8	19.8	19.7	19.7	19.7	19.7	19.7	19.7
2 old	19.9	19.7	20.1	20.1	20.2	20.2	20.4	20.2	20.2
7 new	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.7	19.8	19.8
9 old	20.0	20.0	20.1	20.0	19.9	19.9	19.9	19.9	19.8
14 new	20.1	20.1	20.0	20.0	19.9	20.0	19.9	19.9	19.9
16 old	19.2	19.1	19.1	19.1	19.2	19.1	19.1	19.2	19.1

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions 2 days after preparation

Table 11. Total hardness (as CaCO₃) of the test solutions in the 21-day reproduction inhibition test in *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

Total hardness (as CaCO ₃ , mg/L)			
days	Nominal Concentration (mg/L)		
	Control	Solv. Cont.	Maximum Conc. 0.10
0 new	69	68	68
2 old	70	69	68
7 new	69	69	69
9 old	69	69	69
14 new	70	69	69
16 old	70	69	70

new: Freshly prepared test solutions

old: Test solutions 2 days after preparation

付属資料－ 1

希釈水の水質
(全 2 頁)

Water Quality of Dilution Water-1

Parameter	Concentration
Coliform group	ND
Cadmium	< 0.001 mg/L
Mercury	< 0.0001 mg/L
Selenium	< 0.001 mg/L
Lead	< 0.005 mg/L
Arsenic	< 0.001 mg/L
Chromium(VI)	< 0.005 mg/L
Cyanide	< 0.005 mg/L
Nitrate and Nitrite	1.0 mg/L
Fluoride	0.15 mg/L
Carbon tetrachloride	< 0.0002 mg/L
1,2-Dichloroethane	< 0.0002 mg/L
1,1-Dichloroethylene	< 0.001 mg/L
Dichloromethane	< 0.001 mg/L
cis-1,2-Dichloroethylene	< 0.001 mg/L
Tetrachloroethylene	< 0.001 mg/L
1,1,2-Trichloroethane	< 0.0005 mg/L
Trichloroethylene	< 0.001 mg/L
Benzene	< 0.001 mg/L
Chloroform	< 0.001 mg/L
Dibromochloromethane	< 0.001 mg/L
Bromochloromethane	< 0.001 mg/L
Bromoform	< 0.001 mg/L
Trihalomethanes	< 0.001 mg/L
1,3-Dichloropropene	< 0.0002 mg/L
Simazine	< 0.0002 mg/L
Thiram	< 0.0005 mg/L
Thiobencarb	< 0.001 mg/L
Zinc	< 0.005 mg/L
Iron	< 0.03 mg/L
Copper	< 0.01 mg/L
Sodium	25 mg/L
Manganese	< 0.005 mg/L
Chloride	43 mg/L
Total hardness (as CaCO ₃)	70 mg/L
Total residue	190 mg/L
Surface active agents (anionic)	< 0.02 mg/L
1,1,1-Trichloroethane	< 0.001 mg/L
Phenols	< 0.005 mg/L

Date : October 22, 1998

— continue —

Water Quality of Dilution Water-2

Parameter	Concentration
Permanganate reduction substances	2.6 mg/L
pH Value	7.4
Taste	normal
Odor	normal
Color	< 1°
Turbidity	< 1°
Phosphorus	0.01 mg/L
Aluminium	< 0.05 mg/L
Nickel	< 0.001 mg/L
Tin	< 0.1 mg/L
Free residual chlorine	< 0.01 mg/L
Bromide	< 0.5 mg/L
Sulfide	< 0.01 mg/L
Ammonium	< 0.05 mg/L
Electric conductivity	290 μ S /cm
Alkalinity (as CaCO ₃)	40 mg/L
Potassium	6.0 mg/L
Calcium	17 mg/L
Magnesium	6.6 mg/L
PCB	< 0.0005 mg/L
Organophosphate	< 0.02 mg/L

Date : October 22, 1998

付 属 資 料 ー 2

試験水の分析方法
(全10頁)

試験水の分析方法

1 試験方法

① 試料溶液の調製

a) 対照区、助剤対照区の試験水

試験水50 mLを100 mLの分液漏斗に正確に量り、塩化ナトリウム2.5 g, 5 mol/L硫酸1 mL, ジクロロメタン25 mLを加えて5分間振とうした。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン25 mLを加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール0.5 mLに溶解し、これを試料溶液とした。

b) 0.0010 mg/L濃度区の試験水

試験水50 mLを100 mLの分液漏斗に正確に量り、塩化ナトリウム2.5 g, 5 mol/L硫酸1 mL, ジクロロメタン25 mLを加えて5分間振とうした。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン25 mLを加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール1 mLに溶解し、これを試料溶液とした。

c) 0.0022 mg/L濃度区の試験水

試験水50 mLを100 mLの分液漏斗に正確に量り、塩化ナトリウム2.5 g, 5 mol/L硫酸1 mL, ジクロロメタン25 mLを加えて5分間振とうした。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン25 mLを加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール1 mLに溶解し、これを試料溶液とした。

d) 0.0046 mg/L濃度区の試験水

試験水50 mLを100 mLの分液漏斗に正確に量り、塩化ナトリウム2.5 g, 5 mol/L硫酸1 mL, ジクロロメタン25 mLを加えて5分間振とうした。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン25 mLを加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール1 mLに溶解し、これを試料溶液とした。

e) 0.010 mg/L濃度区の試験水

試験水50 mLを100 mLの分液漏斗に正確に量り、塩化ナトリウム2.5 g, 5 mol/L硫酸1 mL, ジクロロメタン25 mLを加えて5分間振とうした。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン25 mLを加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール1 mLに溶解し、これを試料溶液とした。

f) 0.022 mg/L濃度区の試験水

試験水50 mLを100 mLの分液漏斗に正確に量り、塩化ナトリウム2.5 g、5 mol/L硫酸1 mL、ジクロロメタン25 mLを加えて5分間振とうした。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン25 mLを加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール2 mLに溶解し、これを試料溶液とした。

g) 0.046 mg/L濃度区の試験水

試験水50 mLを100 mLの分液漏斗に正確に量り、塩化ナトリウム2.5 g、5 mol/L硫酸1 mL、ジクロロメタン25 mLを加えて5分間振とうした。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン25 mLを加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール4 mLに溶解し、これを試料溶液とした。

h) 0.10 mg/L濃度区の試験水

試験水50 mLを100 mLの分液漏斗に正確に量り、塩化ナトリウム2.5 g、5 mol/L硫酸1 mL、ジクロロメタン25 mLを加えて5分間振とうした。静置後、ジクロロメタン層を分取し、水層にはさらにジクロロメタン25 mLを加えて同様な操作を繰り返した。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧濃縮乾固した。得られた残留物をメタノール10 mLに溶解し、これを試料溶液とした。

② 標準溶液の調製

標準品0.025 gを正確に量りとり、メタノールに溶解して50 mLに溶解し、これを標準原液とした。この標準原液からメタノールを用いて適宜希釈し、0.01, 0.05, 0.5, 1.0 µg/mlの標準溶液を調製した。

③ 定量

試料溶液20 µLを高速液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク高さと検量線から試料溶液中のペンタクロロフェノール濃度を求め、試験水中のペンタクロロフェノール濃度を算出した。

2 高速液体クロマトグラフ操作条件

機 種：島津製作所LC-10AD

検 出 器：UV

カ ラ ム：CAPCELL PAK C18 SG120Å φ4.6 mm×15 cm, 孔径 5 μm

移 動 相：0.1 %リン酸－アセトニトリル(4:6 V/V)

測定波長：215 nm

流 速：1.0 ml/分

温 度：40℃

注 入 量：20 μL

データ処理装置：島津製作所LCワークステーション

3 検量線

1-②で調製した標準溶液20 μLを高速液体クロマトグラフに注入し、注入量(ng)と得られたピーク高さから検量線を作成した。

4 添加回収試験

① 低濃度添加

飼育水に濃度が0.001 mg/Lになるようにペンタクロロフェノールを添加し、この溶液を用いて添加回収試験を行った。試験は平行測定3回で実施し、回収率は107.0 %, 108.5 %, 107.8 % (平均107.8 %) であった。

② 高濃度添加

飼育水に濃度が0.1 mg/Lになるようにペンタクロロフェノールを添加し、この溶液を用いて添加回収試験を行った。試験は平行測定3回で実施し、回収率は94.8 %, 96.9 %, 94.5 % (平均95.4 %) であった。

Figure 1 Calibration Curve of PCP by HPLC Analysis

Amount (ng)	Peak Height (μ Abs)
20	24594
10	12237
1	1171

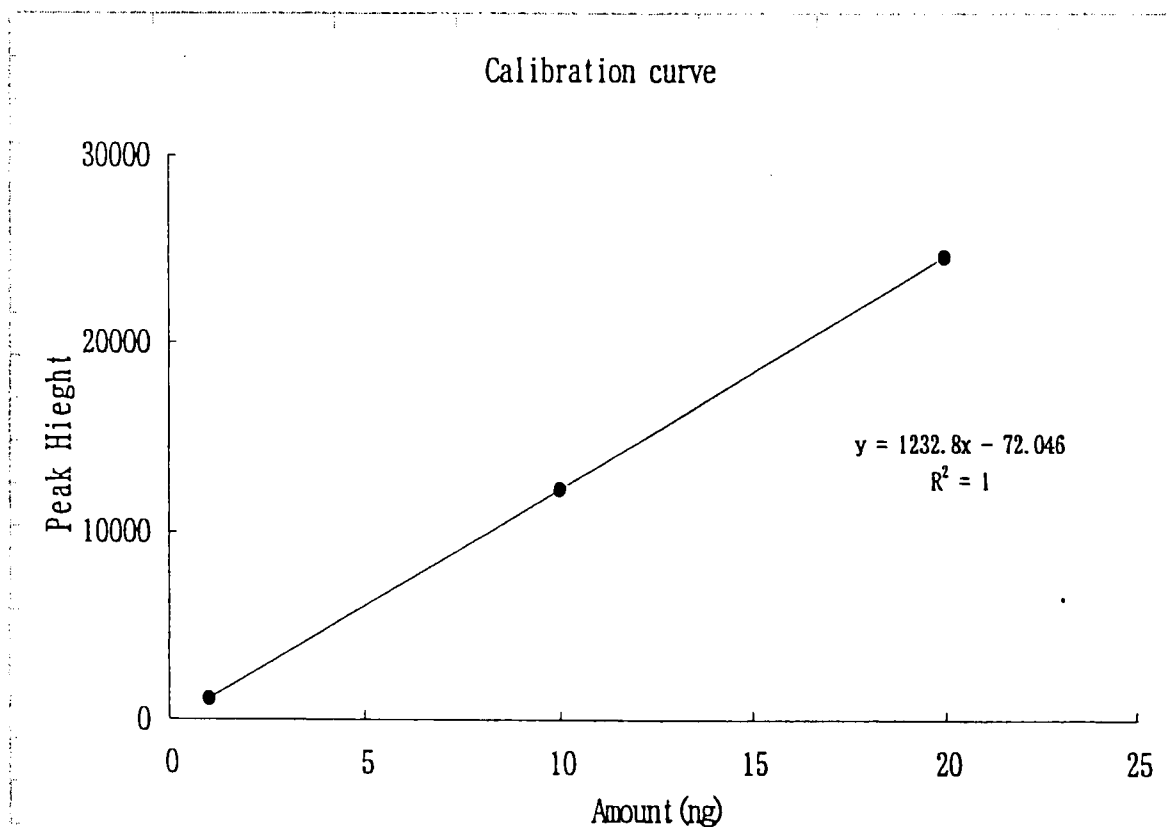
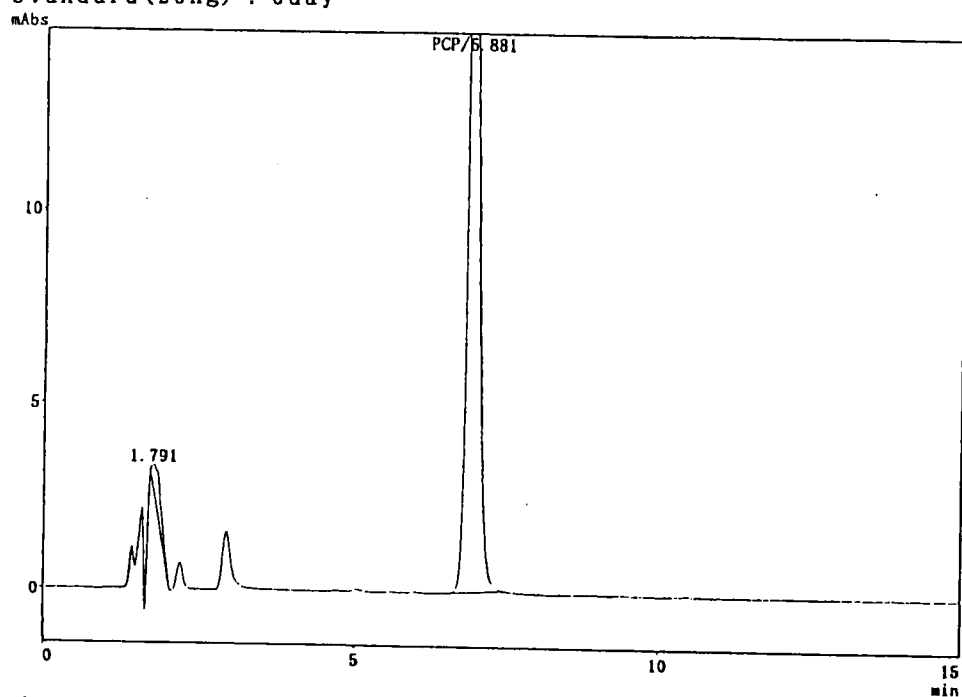


Figure 2 Representative Chromatogram

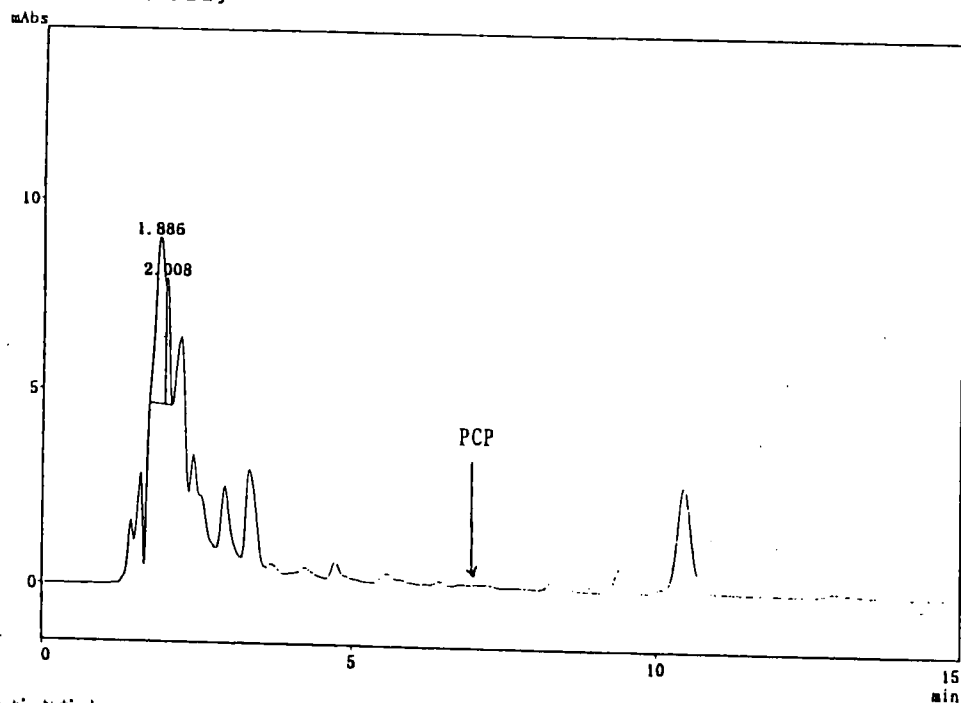
Standard(20ng) : 0day



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
1	1.791	9974	714		
	6.881	280224	24594		1

Control : 0day



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
1	1.886	43636	4393		
	2.008	12799	3330	Y	

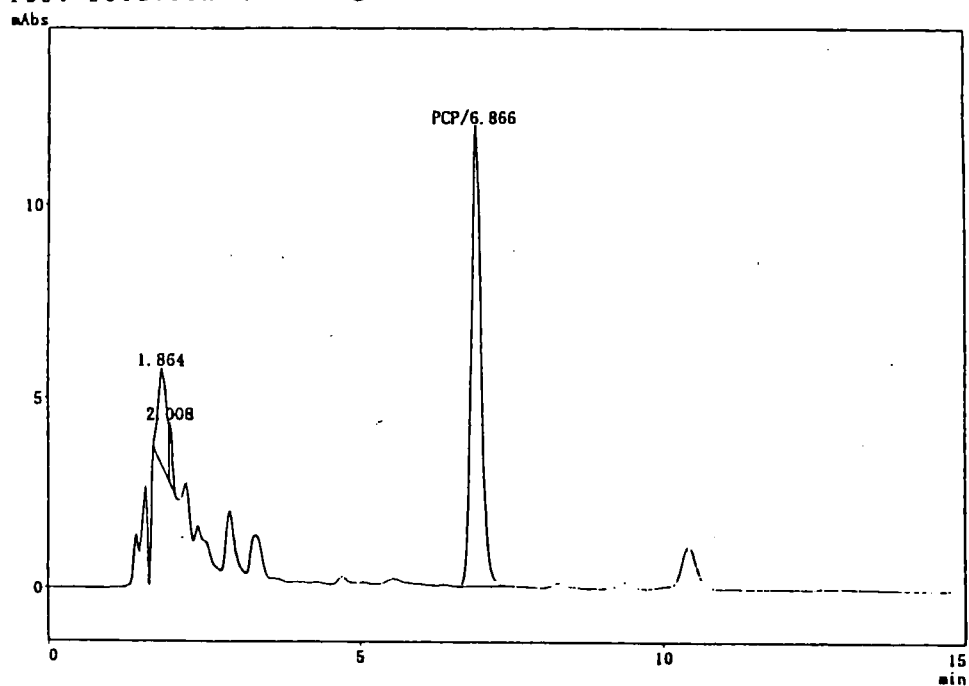
Chromatogram showing peaks at retention times 1.883, 2.006, 7.599, and 10.599 minutes. The y-axis is labeled ΔAbs and ranges from 0 to 10. The x-axis is labeled 'min' and ranges from 0 to 15. A peak at 7.599 minutes is labeled 'PCP'.

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	WK	IDNO
1	1.883	38187	3983		
2	2.006	13655	3205	V	
3	7.599	4109	508		

Chromatogram showing two traces. The top trace has a major peak at 1.870 minutes. The bottom trace has a peak labeled PCP/6.886 at approximately 6.886 minutes. The y-axis is labeled mAbs and ranges from 0 to 10. The x-axis is labeled min and ranges from 0 to 15.

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
1	1.870	40457	3358		
	6.886	13340	<u>1142</u>		1

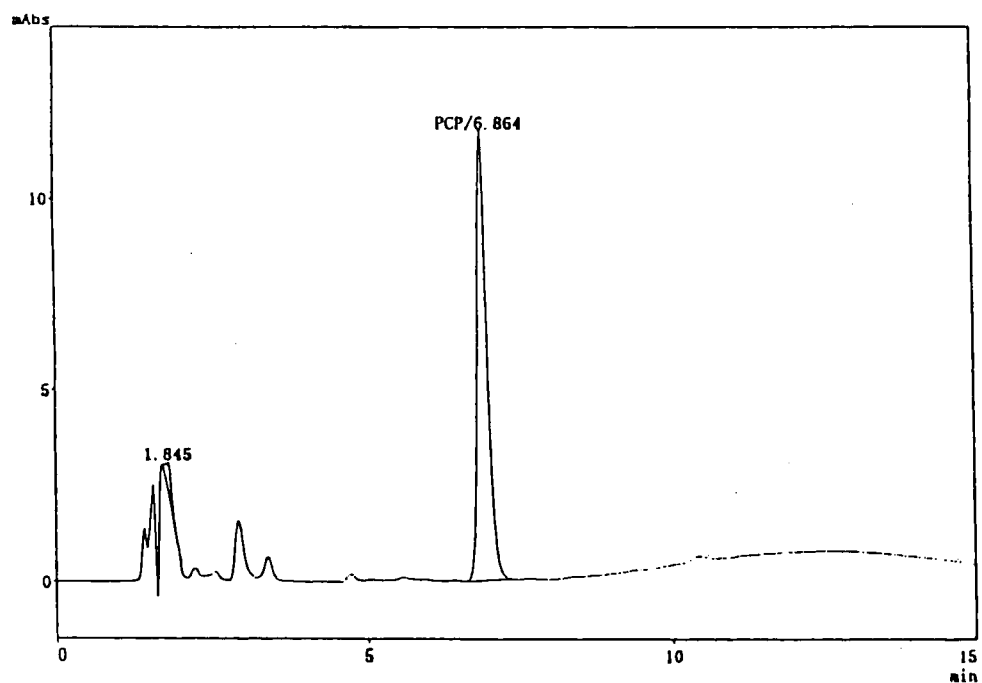
Test solution (0.010mg/L) : 0day



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
I	1.864	24129	2508		
	2.008	5808	1640	V	
J	6.866	137210	11973		I

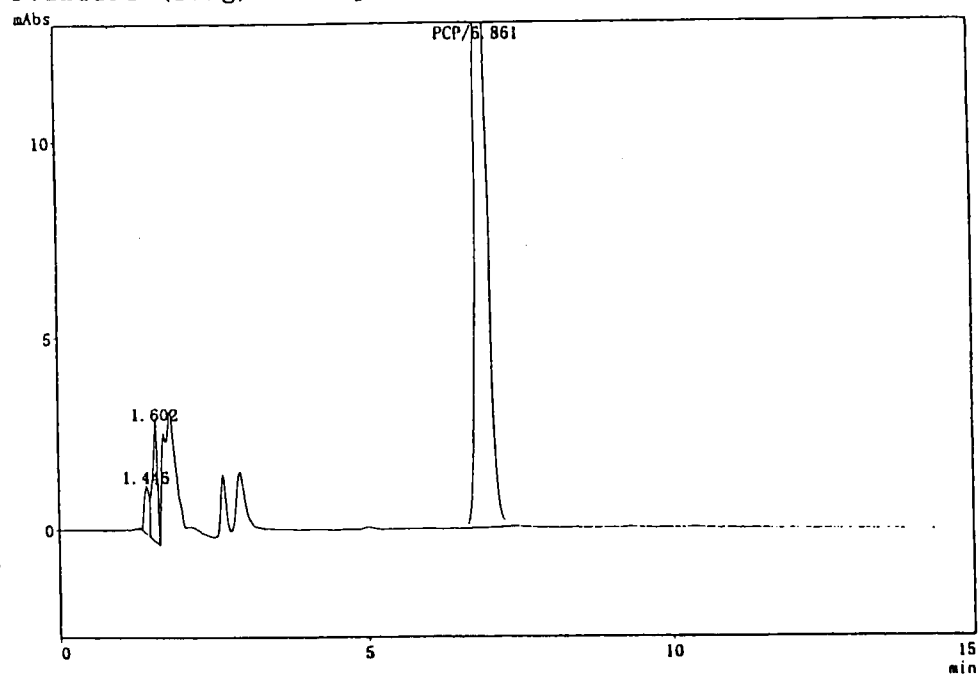
Test solution (0.10mg/L) : 0day



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
I	1.845	4828	806		
	6.864	133813	11771		I

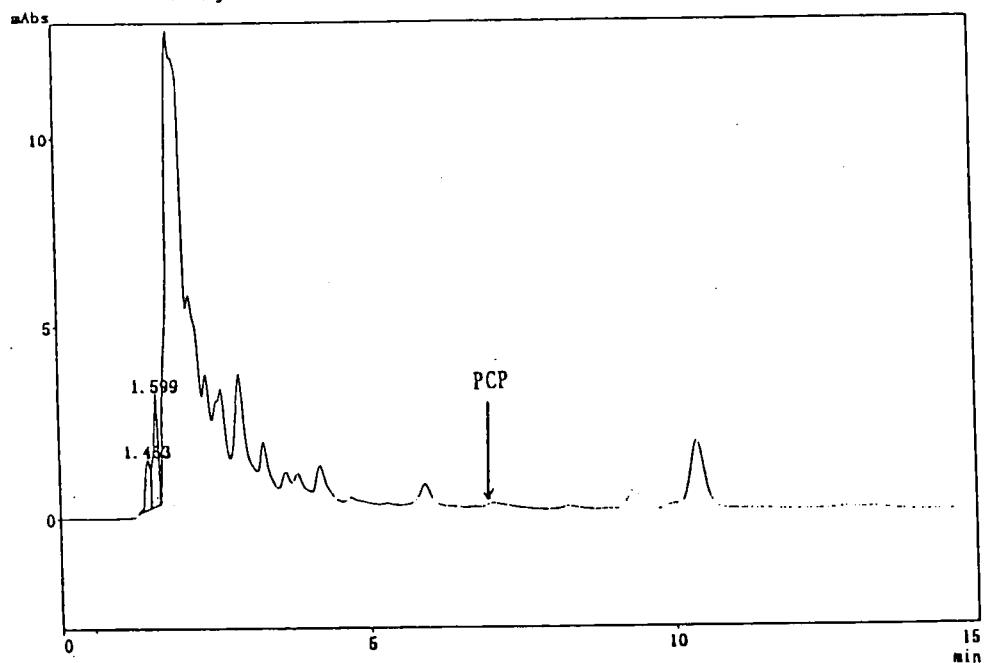
Standard (20ng) : 16days



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
1	1.446	7314	1244		
2	1.602	17117	3172	Y	
3	6.861	282259	<u>25067</u>		1

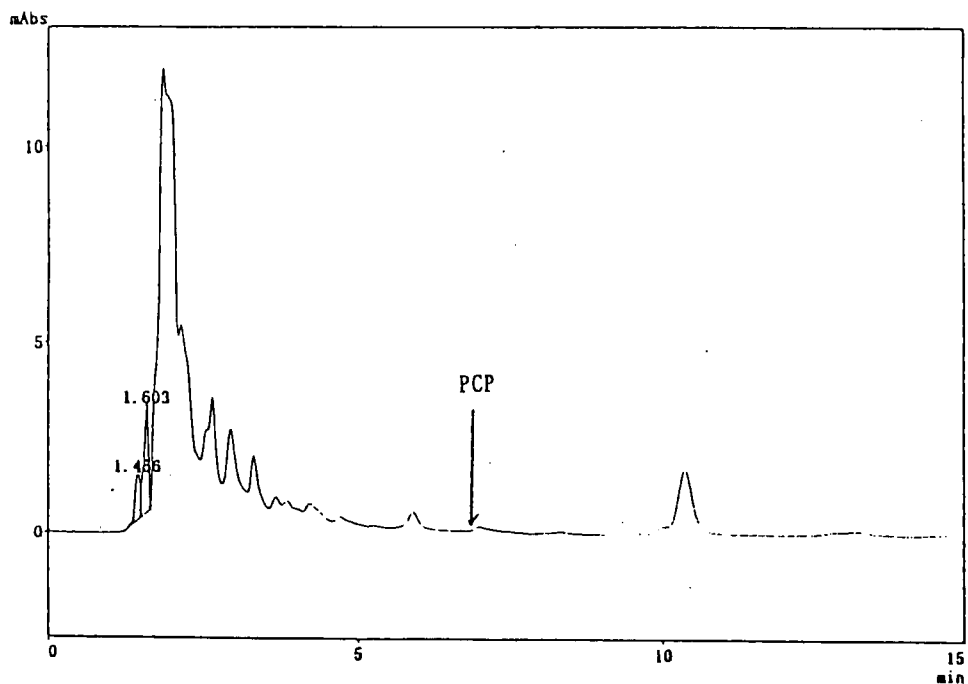
Control : 16days



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
1	1.453	8141	1308		
2	1.599	15467	2939	Y	

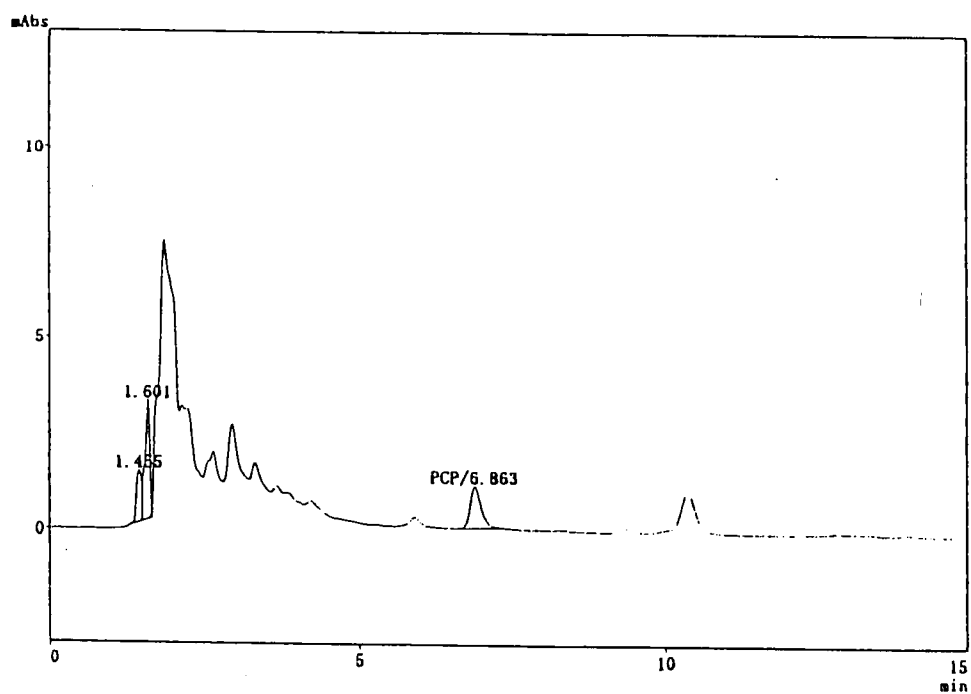
Solvent control : 16days



*** ヒートマップ ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
1	1.455	7307	1223		
	1.603	15143	2890	V	

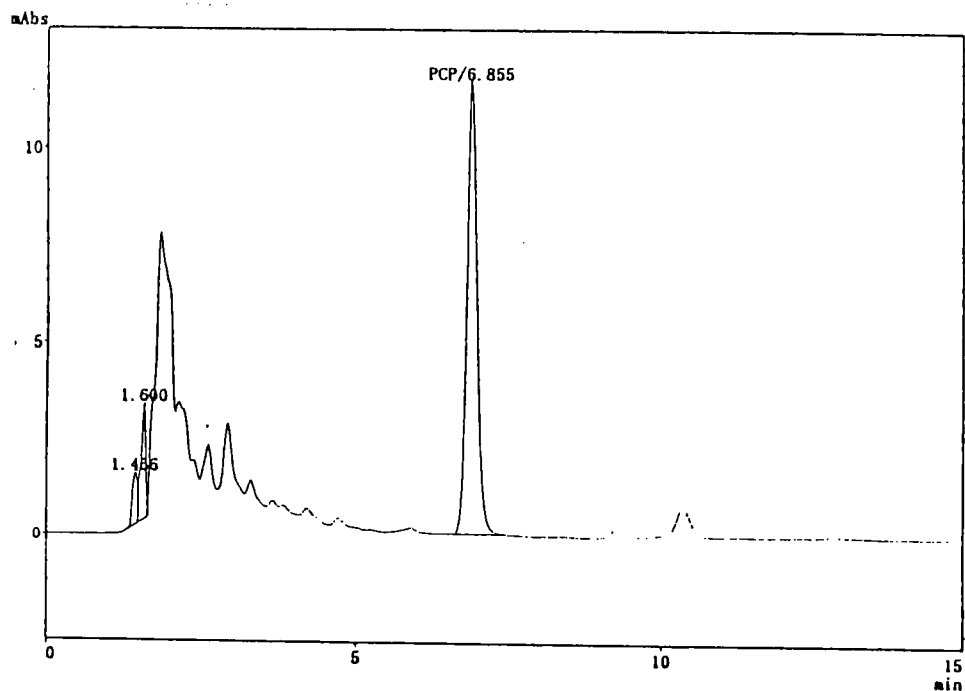
Test solution (0.0010mg/L) : 16days



*** ヒートマップ ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC [ng]	NAME
1	1.455	8093	1338				
2	1.601	16552	3098	V			
3	6.863	13429	1097		1	0.5004	PCP

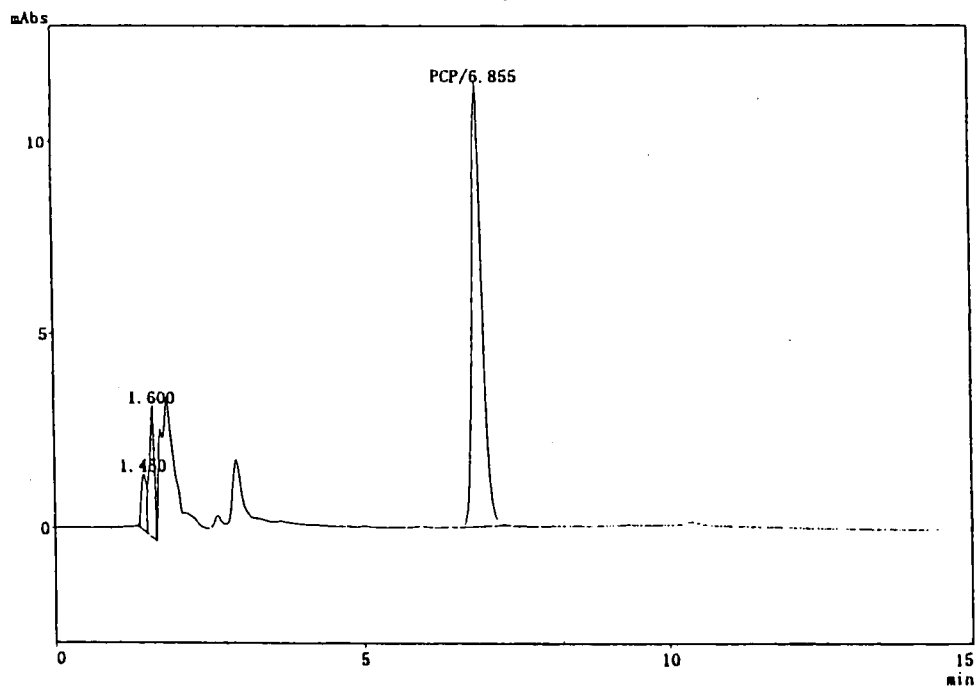
Test solution (0.010mg/L) : 16days



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
1	1.456	8177	1363		
2	1.600	16229	3033	V	
3	6.855	134558	11712		1

Test solution (0.10mg/L) : 16days



*** ピークレポート ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO
1	1.450	8430	1403		
2	1.600	18198	3344	V	
3	6.855	130096	11505		1

付属資料－ 3

ミジンコの観察結果
(全 9 頁)

Appendix 3-1 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol,						Chemical conc.:		0 mg/L,		Dispersant conc.:			0 mg/L)								
Rep. No.	Counts		Time																					Total
			10/8	10/9	10/10	10/11	10/12	10/13	10/14	10/15	10/16	10/17	10/18	10/19	10/20	10/21	10/22	10/23	10/24	10/25	10/26	10/27	10/28	
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							11	0	0	18	0	0	22	0	0	47	0	0	40	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	29	29	29	51	51	51	98	98	98	138	138	138	138
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live									7	0	0	23	0	0	38	0	0	23	0	0	35	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	30	30	30	68	68	68	91	91	91	126	126
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							7	0	0	24	0	0	22	0	0	49	0	0	36	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	7	7	7	31	31	31	53	53	53	102	102	102	138	138	138	138
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							10	0	0	19	0	0	25	0	0	47	0	0	36	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	29	29	29	54	54	54	101	101	101	137	137	137	137
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							9	0	0	20	0	0	19	0	0	47	0	0	37	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	29	29	29	48	48	48	95	95	95	132	132	132	132
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live								7	0	11	0	0	28	0	0	46	0	0	37	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	18	18	18	46	46	46	92	92	92	129	129	129	129
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							10	0	0	18	0	0	20	0	0	51	0	0	39	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	28	28	28	48	48	48	99	99	99	138	138	138	138
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live								4	0	14	0	0	42	0	0	47	0	0	42	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	18	18	18	60	60	60	107	107	107	149	149	149	149
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							10	0	0	25	0	0	24	0	0	43	0	0	38	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	35	35	35	59	59	59	102	102	102	140	140	140	140
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live								10	0	17	0	0	28	0	0	36	0	0	40	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	10	10	27	27	27	55	55	55	91	91	91	131	131	131	131

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 9 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 7 days,
6; 8 days, 7; 7 days, 8; 8 days, 9; 7 days, 10; 8 days.

Appendix 3-2 Result of Reproduction Test

Appendix 5-2 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol,						Chemical conc.:		0 mg/L,		Dispersant conc.:		1.0 mg/L)												
Rep. No.	Counts		Time																					Total			
			10/8	10/9	10/10	10/11	10/12	10/13	10/14	10/15	10/16	10/17	10/18	10/19	10/20	10/21	10/22	10/23	10/24	10/25	10/26	10/27	10/28				
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d				
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						0	0	15	0	0	32	0	0	30	0	0	29	0	0	33		139			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	47	47	47	77	77	77	106	106	106	139				
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						10	0	0	20	0	0	23	0	0	42	0	0	39	0	0		134			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	30	30	30	53	53	53	95	95	95	134	134	134				
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						11	0	0	25	0	0	23	0	0	41	0	0	41	0	0		141			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	36	36	36	59	59	59	100	100	100	141	141	141				
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						9	0	0	22	0	0	30	0	0	41	0	0	41	0	0		143			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	31	31	31	61	61	61	102	102	102	143	143	143				
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						10	0	0	20	0	0	21	0	0	43	0	0	39	0	0		133			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	30	30	30	51	51	51	94	94	94	133	133	133				
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						8	0	0	19	0	0	21	0	0	46	0	0	42	0	0		136			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	27	27	27	48	48	48	94	94	94	136	136	136				
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live							12	0	17	0	0	26	0	0	47	0	0	42	0	0		144			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	12	12	29	29	29	55	55	55	102	102	102	144	144	144				
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						7	0	0	23	0	0	22	0	0	37	0	0	42	0	0		131			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	7	7	7	30	30	30	52	52	52	89	89	89	131	131	131				
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						6	0	0	25	0	0	20	0	0	46	0	0	42	0	0		139			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	6	6	6	31	31	31	51	51	51	97	97	97	139	139	139				
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live						11	0	0	17	0	0	20	0	0	41	0	0	41	0	0		130			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	28	28	28	48	48	48	89	89	89	130	130	130				

The time (days) to first brood: 1; 9 days, 2; 7 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 7 days.
6; 7 days, 7; 8 days, 8; 7 days, 9; 7 days, 10; 7 days.

Appendix 3-3 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol,					Chemical conc.:					0.0010 mg/L,		Dispersant conc.:		0.010 mg/L)									
Rep. No.	Counts		Time																					Total		
			10/8 1d	10/9 2d	10/10 3d	10/11 4d	10/12 5d	10/13 6d	10/14 7d	10/15 8d	10/16 9d	10/17 10d	10/18 11d	10/19 12d	10/20 13d	10/21 14d	10/22 15d	10/23 16d	10/24 17d	10/25 18d	10/26 19d	10/27 20d	10/28 21d			
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							8	0	0	28	0	0	33	0	0	33	0	0	37	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	36	36	36	69	69	69	102	102	102	139	139	139	139		
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									25	0	0	29	0	0	18	0	0	38	0	0	42			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	25	25	25	54	54	54	72	72	72	110	110	110	152	152		
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							10	0	0	27	0	0	26	0	0	37	0	0	40	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	37	37	37	63	63	63	100	100	100	140	140	140	140		
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							11	0	0	20	0	0	24	0	0	51	0	0	44	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	31	31	31	55	55	55	106	106	106	150	150	150	150		
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							8	0	25	0	0	27	0	0	40	0	0	0	34	0	0			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	33	33	33	60	60	60	100	100	100	100	134	134	134	134		
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									13	0	0	32	0	0	19	0	0	35	0	0	36			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	45	45	45	64	64	64	99	99	99	135	135		
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live								22	0	0	38	0	0	35	0	0	40	0	0	47	0			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	22	22	22	60	60	60	95	95	95	135	135	135	182	182	182	182		
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									16	0	0	29	0	0	22	0	0	36	0	0	43			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	16	16	16	45	45	45	67	67	67	103	103	103	146	146	146	146		
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									26	0	0	27	0	0	21	0	0	35	0	0	43			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	26	26	26	53	53	53	74	74	74	109	109	109	152	152	152	152		
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live								15	0	19	0	0	27	0	0	37	0	0	37	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	15	15	34	34	34	34	61	61	61	98	98	98	135	135	135	135		

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 9 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 8 days.
6; 9 days, 7; 8 days, 8; 9 days, 9; 9 days, 10; 8 days.

Appendix 3-4 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol, Chemical conc.: 0.0022 mg/L, Dispersant conc.: 0.022 mg/L)																					
Rep. No.	Counts		Time																					
			10/8 1d	10/9 2d	10/10 3d	10/11 4d	10/12 5d	10/13 6d	10/14 7d	10/15 8d	10/16 9d	10/17 10d	10/18 11d	10/19 12d	10/20 13d	10/21 14d	10/22 15d	10/23 16d	10/24 17d	10/25 18d	10/26 19d	10/27 20d	10/28 21d	Total
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							7	0	0	35	0	0	21	0	0	38	0	0	38	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	7	7	7	42	42	42	63	63	63	101	101	101	139	139	139	139
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							6	0	0	24	0	0	21	0	0	42	0	0	38	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	6	0	0	30	30	30	51	51	51	93	93	93	131	131	131	131
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							10	0	23	0	0	31	0	0	35	0	0	0	32	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	10	10	33	33	33	64	64	64	99	99	99	99	131	131	131
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							21	0	0	35	0	0	18	0	0	34	0	0	29			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	21	21	21	56	56	56	74	74	74	108	108	108	137	137	137
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							8	0	0	29	0	0	18	0	0	36	0	0	42	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	37	37	37	55	55	55	91	91	91	133	133	133	133
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							21	0	0	35	0	0	14	0	0	36	0	0	40			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	21	21	21	56	56	56	70	70	70	106	106	106	146	146	146
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							18	0	0	20	0	0	23	0	0	34	0	0	37			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	18	18	18	38	38	38	61	61	61	95	95	95	132	132	132
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							11	0	0	22	0	0	25	0	0	38	0	0	38	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	33	33	33	58	58	58	96	96	96	134	134	134	134
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							10	0	0	32	0	0	18	0	0	41	0	0	39	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	42	42	42	60	60	60	101	101	101	140	140	140	140
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live							18	0	0	33	0	0	20	0	0	34	0	0	31			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	18	18	18	51	51	51	71	71	71	105	105	105	136	136	136

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 7 days, 3; 8 days, 4; 9 days, 5; 7 days.

6; 9 days, 7; 9 days, 8; 7 days, 9; 7 days, 10; 9 days.

Appendix 3-5 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol,					Chemical conc.:					0.0046 mg/L,		Dispersant conc.:					0.046 mg/L)					
Rep. No.	Counts		Time																					Tbtal	
			10/ 8	10/ 9	10/10	10/11	10/12	10/13	10/14	10/15	10/16	10/17	10/18	10/19	10/20	10/21	10/22	10/23	10/24	10/25	10/26	10/27	10/28		
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d		
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							10	0	0	35	0	0	24	0	0	38	0	0	42	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	45	45	45	69	69	69	107	107	107	149	149	149	149	
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									20	0	0	32	0	0	16	0	0	37	0	0	41		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	52	52	52	68	68	68	105	105	105	146	146	
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									18	0	0	39	0	0	16	0	0	44	0	0	44		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	18	18	18	57	57	57	73	73	73	117	117	117	161	161	
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live								20	0	0	35	0	0	0	30	0	0	44	0	0	31		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	55	55	55	55	85	85	85	129	129	129	160	160	
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									16	0	0	25	0	0	22	0	0	44	0	0	41		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	16	16	16	41	41	41	63	63	63	107	107	107	148	148	
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							8	0	0	22	0	0	22	0	0	42	0	0	47	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	30	30	30	52	52	52	94	94	94	141	141	141	141	
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									17	0	0	34	0	0	25	0	0	39	0	0	43		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	17	51	51	51	76	76	76	115	115	115	158	158	
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									16	0	0	30	0	0	20	0	0	45	0	0	45		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	16	16	16	46	46	46	66	66	66	111	111	111	156	156	
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									20	0	0	34	0	0	14	0	0	45	0	0	44		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	54	54	54	68	68	68	113	113	113	157	157	
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							8	0	0	31	0	0	16	0	0	44	0	0	45	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	39	39	39	55	55	55	99	99	99	144	144	144	144	

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 9 days, 3; 9 days, 4; 8 days, 5; 9 days.

6; 7 days, 7; 9 days, 8; 9 days, 9; 9 days, 10; 7 days.

Appendix 3-6 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol, Chemical conc.: 0.010 mg/L, Dispersant conc.: 0.10 mg/L)										Time											Total
Rep. No.	Counts		10/8 1d	10/9 2d	10/10 3d	10/11 4d	10/12 5d	10/13 6d	10/14 7d	10/15 8d	10/16 9d	10/17 10d	10/18 11d	10/19 12d	10/20 13d	10/21 14d	10/22 15d	10/23 16d	10/24 17d	10/25 18d	10/26 19d	10/27 20d	10/28 21d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	130
	F1 generation	Live									14	0	0	29	0	0	15	0	0	38	0	0	34	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	43	43	43	58	58	58	96	96	96	130	
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	153
	F1 generation	Live									20	0	0	34	0	0	19	0	0	40	0	0	40	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	54	54	54	73	73	73	113	113	113	153	
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	135
	F1 generation	Live							8	0	0	28	0	0	20	0	0	43	0	0	36	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	36	36	36	56	56	56	99	99	99	135	135	135	
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	133
	F1 generation	Live							10	0	0	32	0	0	18	0	0	42	0	0	31	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	42	42	42	60	60	60	102	102	102	133	133	133	
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	168
	F1 generation	Live								21	0	0	42	0	0	33	0	0	45	0	0	0	27	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	21	21	21	63	63	63	96	96	96	141	141	141	168	168	
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	145
	F1 generation	Live									20	0	0	32	0	0	13	0	0	43	0	0	37	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	52	52	52	65	65	65	108	108	108	145	
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	139
	F1 generation	Live							9	0	0	31	0	0	20	0	0	40	0	0	39	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	40	40	40	60	60	60	100	100	100	139	139	139	
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	133
	F1 generation	Live							10	0	0	26	0	0	22	0	0	33	0	0	42	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	36	36	36	58	58	58	91	91	91	133	133	133	
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	133
	F1 generation	Live							11	0	0	24	0	0	24	0	0	38	0	0	36	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	35	35	35	59	59	59	97	97	97	133	133	133	
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	153
	F1 generation	Live								19	0	0	38	0	0	33	0	0	44	0	0	0	19	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	19	19	19	57	57	57	90	90	90	134	134	134	153	153	

The time (days) to first brood: 1; 9 days, 2; 9 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 8 days.
6; 9 days, 7; 7 days, 8; 7 days, 9; 7 days, 10; 8 days.

Appendix 3-7 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol,					Chemical conc.:					0.022 mg/L,		Dispersant conc.:					0.22 mg/L)						
Rep. No.	Counts		Time																					Total		
			10/8 1d	10/9 2d	10/10 3d	10/11 4d	10/12 5d	10/13 6d	10/14 7d	10/15 8d	10/16 9d	10/17 10d	10/18 11d	10/19 12d	10/20 13d	10/21 14d	10/22 15d	10/23 16d	10/24 17d	10/25 18d	10/26 19d	10/27 20d	10/28 21d			
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									22	0	0	31	0	0	19	0	0	48	0	0	39			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	22	22	22	53	53	53	72	72	72	120	120	120	159	159		
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							9	0	0	30	0	0	16	0	0	36	0	44	0	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	39	39	39	55	55	55	91	91	135	135	135	135	135		
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							9	0	0	29	0	0	26	0	0	40	0	0	37	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	38	38	38	64	64	64	104	104	104	141	141	141	141		
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							10	0	0	27	0	0	23	0	0	47	0	0	53	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	37	37	37	60	60	60	107	107	107	160	160	160	160		
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							10	0	0	30	0	0	24	0	0	46	0	0	46	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	40	40	40	64	64	64	110	110	110	156	156	156	156		
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							7	0	0	22	0	0	22	0	0	41	0	0	43	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	7	7	7	29	29	29	51	51	51	92	92	92	135	135	135	135		
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									20	0	0	24	0	0	22	0	0	41	0	0	37			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	44	44	44	66	66	66	107	107	107	144	144		
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							12	0	0	21	0	0	23	0	0	55	0	0	40	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	12	12	12	33	33	33	56	56	56	111	111	111	151	151	151	151		
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							10	0	0	31	0	0	20	0	0	35	0	0	42	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	41	41	41	61	61	61	96	96	96	138	138	138	138		
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							9	0	0	29	0	0	22	0	0	37	0	0	37	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	38	38	38	60	60	60	97	97	97	134	134	134	134		

The time (days) to first brood: 1; 9 days, 2; 7 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 7 days.
6; 7 days, 7; 9 days, 8; 7 days, 9; 7 days, 10; 7 days.

Appendix 3-8 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol,					Chemical conc.:		0.046 mg/L,		Dispersant conc.:		0.46 mg/L)										
Rep. No.	Counts		Time																					Total
			10/8	10/9	10/10	10/11	10/12	10/13	10/14	10/15	10/16	10/17	10/18	10/19	10/20	10/21	10/22	10/23	10/24	10/25	10/26	10/27	10/28	
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							9	0	0	24	0	0	14	0	0	43	0	0	35	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	33	33	33	47	47	47	90	90	90	125	125	125	125
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							8	0	0	25	0	0	20	0	0	40	0	0	42	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	33	33	33	53	53	53	93	93	93	135	135	135	135
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live									20	0	0	35	0	0	17	0	0	46	0	0	31	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	55	55	64	72	72	72	118	118	118	149	149
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							12	0	0	29	0	0	16	0	0	41	0	0	26	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	12	12	12	41	41	41	57	57	57	98	98	98	124	124	124	124
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							7	0	0	23	0	0	20	0	0	37	0	0	42	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	7	7	7	30	30	30	50	50	50	87	87	87	129	129	129	129
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							11	0	0	23	0	0	24	0	0	43	0	0	33	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	34	34	34	58	58	58	101	101	101	134	134	134	134
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							11	0	0	27	0	0	19	0	0	43	0	0	26	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	38	38	38	57	57	57	100	100	100	126	126	126	126
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							8	0	0	25	0	0	17	0	0	42	0	0	36	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	33	33	33	50	50	50	92	92	92	128	128	128	128
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live							10	0	0	29	0	0	16	0	0	42	0	0	27	0	0	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	10	39	39	39	55	55	55	97	97	97	124	124	124	124
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live									19	0	0	32	0	0	19	0	0	39	0	0	36	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	19	19	19	51	51	51	70	70	70	109	109	109	145	145

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 7 days, 3; 9 days, 4; 7 days, 5; 7 days.
6; 7 days, 7; 7 days, 8; 7 days, 9; 7 days, 10; 9 days.

Appendix 3-9 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: Pentachlorophenol, Chemical conc.: 0.10 mg/L, Dispersant conc.: 1.0 mg/L)																								
Rep. No.	Counts		Time																								Total
			10/8 1d	10/9 2d	10/10 3d	10/11 4d	10/12 5d	10/13 6d	10/14 7d	10/15 8d	10/16 9d	10/17 10d	10/18 11d	10/19 12d	10/20 13d	10/21 14d	10/22 15d	10/23 16d	10/24 17d	10/25 18d	10/26 19d	10/27 20d	10/28 21d				
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							9	0	0	20	0	0	29	0	0	27	0	0	38	0	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	9	9	9	29	29	29	58	58	58	85	85	85	123	123	123	123	123		
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							14	0	0	26	0	0	18	0	0	40	0	0	0	19	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	14	14	14	40	40	40	58	58	58	98	98	98	98	117	117	117	117		
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							13	0	0	25	0	0	18	0	0	42	0	0	0	23	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	13	13	13	38	38	38	56	56	56	98	98	98	98	121	121	121	121		
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							4	0	0	24	0	0	18	0	0	41	0	0	19	0	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	4	4	4	28	28	28	46	46	46	87	87	87	106	106	106	106	106		
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							11	0	0	27	0	0	22	0	0	30	0	0	25	0	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	38	38	38	60	60	60	90	90	90	115	115	115	115	115		
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							6	0	0	31	0	0	26	0	0	35	0	0	7	0	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	6	6	6	37	37	37	63	63	63	98	98	98	105	105	105	105	105		
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live								15	0	0	32	0	0	28	0	0	37	0	0	0	0	15	15		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	47	47	47	75	75	75	112	112	112	112	127	127	127		
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									10	0	0	35	0	0	9	0	0	42	0	0	0	42	42		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	45	45	45	54	54	54	96	96	96	138	138	138		
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live									22	0	0	35	0	0	15	0	0	39	0	0	0	26	26		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	10	10	22	22	22	37	37	37	72	72	72	111	111	111	137	137	137		
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live							8	0	0	25	0	0	18	0	0	39	0	0	24	0	0	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	8	8	8	33	33	33	51	51	51	90	90	90	114	114	114	114	114		

The time (days) to first brood: 1; 7 days, 2; 7 days, 3; 7 days, 4; 7 days, 5; 7 days,
6; 7 days, 7; 8 days, 8; 9 days, 9; 9 days, 10; 7 days.

陳 述 書

試験委託者： 環境庁

試験の表題： ペンタクロロフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する
繁殖阻害試験

試験番号： 第09013号

上記試験は、環境庁GLP規則「生態影響試験実施に関する基準」を遵守して実施したものである。

1999 年 1 月 25 日

(財) 日本食品分析センター 多摩研究所

運営管理者



信 頼 性 保 証 証 明 書

試験委託者： 環境庁

試験の表題： ペンタクロロフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する
繁殖阻害試験

試験番号： 第09013号

本試験は試験計画書及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用いた方法、手順が正確に記載されており、試験結果は試験の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	試験責任者及び 運営管理者への報告日
査察実施期間	1997年12月10日 ～1999年 1月25日	1997年12月10日 ～1999年 1月25日
試験報告書監査	1999年 1月25日	1999年 1月25日

1999 年 1 月 25 日

(財) 日本食品分析センター 多摩研究所

信頼性保証責任者

