

環境省 殿

最 終 報 告 書

2-tert-ブチルフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験

(試験番号 : No. 2010-生態16)

2011年 3月 3日

株式会社クレバ分析センター

原本と相違ないことを証明する。

2011年 3月 28日

試験責任者

陳 述 書

株式会社クレハ分析センター

試験委託者： 環境省

表題： 2-tert-ブチルフェノールのヒメダカ(*Oryzias latipes*)に対する
急性毒性試験

試験番号： No. 2010-生態16

本試験は、


厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(薬食発第 1121003 号、平成15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成15年11月21日、平成20年7月4日改正)

厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「新規化学物質等に係る試験の方法について」(薬食発第 1121002 号、平成15・11・13 製局第 2 号、環保企発第 031121002 号、平成15年11月21日、平成18年11月20日改正)


に従って実施した。

本報告書の試験データの正確性および有効性について確認した。

2011年 3 月 3 日

試験責任者 署名： 

2011年 3 月 3 日

確認： 運営管理者 署名： 

信 頼 性 保 証 書

株式会社クレハ分析センター

試験委託者： 環境省

表題： 2-tert-ブチルフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する
急性毒性試験


試験番号： No. 2010-生態16

記

	監査, 査察実施日	報告日	
		運営管理者	試験責任者
試験計画書の監査	2011年 1月19日	2011年 1月20日	2011年 1月19日
実験状況の監査, 査察	2011年 1月24日	2011年 1月24日	2011年 1月24日
	2011年 1月28日	2011年 1月28日	2011年 1月28日
実験終了後の監査	2011年 2月 4日	2011年 2月 4日	2011年 2月 4日
組織体制の監査	2010年 8月 4日	2010年 8月 4日	2010年 8月 4日
	2010年10月21日	2010年10月26日	2010年10月21日
施設・設備の査察 試験用機器等 施設, 設備等 試験系	2010年 8月 5日	2010年 8月 5日	2010年 8月 5日
	2010年10月26日	2010年10月26日	2010年10月26日
最終報告書の監査	2011年 3月 3日	2011年 3月 3日	2011年 3月 3日

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

2011年 3月 3日

信頼性保証部門責任者 署名： 

試験実施概要

1. 表題 : 2-tert-ブチルフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する急性毒性試験
2. 試験目的 : ヒメダカ (*Oryzias latipes*) を被験物質に 96 時間暴露し、死亡率を測定することにより、ヒメダカに対する被験物質の毒性を明らかにする。
3. 試験法ガイドライン :
本試験は、厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「新規化学物質等に係る試験の方法について」(薬食発第 1121002 号、平成15・11・13 製局第 2 号、環保企発第 031121002 号、平成15年11月21日、平成18年11月20日改正)に従って実施した。
4. 適用GLP : 本試験は、厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(薬食発第 1121003 号、平成15・11・17 製局第 3 号、環保企発第 031121004 号、平成15年11月21日、平成20年7月4日改正)に従って実施した。
5. 試験委託者
名称 : 環境省
所在地 : 〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目2-2
6. 試験受託者
名称 : 株式会社クレハ分析センター
本社所在地 : 〒974-8232 福島県いわき市錦町落合16番地
代表者 : XXXXXXXXXX
7. 試験施設
実施施設名 : 株式会社クレハ分析センター
所在地 : 〒974-8232 福島県いわき市錦町落合16番地

8. 試験関係者 :

試験責任者 [REDACTED] (生物試験室)
試験担当者 [REDACTED] (生物試験担当者)
[REDACTED] (濃度分析責任者)
[REDACTED] (濃度分析担当者)

9. 試験期間 :

試験開始日 2011年 1月19日
実験開始日 2011年 1月24日
実験終了日 2011年 1月28日
試験終了日 2011年 3月 3日



目 次

	頁
要 旨	1
1 被験物質	3
1.1 名称、構造式および物理化学的性状	3
1.2 供試試料	3
1.3 被験物質の保管方法および保管条件下での安定性	4
2 供試生物	4
2.1 供試生物	4
2.2 感受性確認	4
2.3 じゅん化	4
3 試験方法	5
3.1 予備的検討結果	5
3.2 試験条件	6
3.3 試験用水	7
3.4 試験容器および恒温槽等	7
3.5 試験濃度の設定	7
3.6 試験溶液の調製	7
3.7 被験物質濃度等の測定	8
3.8 試験操作	8
4 試験結果の算出	11
4.1 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) の算出に用いる被験物質濃度の決定	11
4.2 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) の算出	11
4.3 0 % 死亡最高濃度および 100 % 死亡最低濃度	11
5 結果および考察	11
5.1 試験成績の信頼性に影響をおよぼしたと思われる環境要因	11
5.2 試験溶液中の被験物質濃度	11
5.3 50 % 死亡濃度 (LC_{50})	12
5.4 0 % 死亡最高濃度、100 % 死亡最低濃度	12
5.5 毒性症状	12
5.6 試験溶液の水温、溶存酸素濃度および pH	15
5.7 試験計画書からの逸脱の有無	15
6 保管	15
Table 1.- 8	16
Figure 1	23
付属資料-I 試験用水の水質	24
付属資料-II 予備試験の結果	26
付属資料-III 試験溶液の分析法	28
付属資料-IV 統計解析結果	33
付属資料-V 濃度分析 HPLC クロマトグラム	41

要 旨

試験委託者 環境省

表 題 2-tert-ブチルフェノールのヒメダカ (*Oryzias latipes*) に対する
急性毒性試験

試験番号 No. 2010-生態16

試験法ガイドライン

本試験は、厚生労働省医薬食品局長、経済産業省製造産業局長、環境省総合環境政策局長連名通知「新規化学物質等に係る試験の方法について」（薬食発第 1121002 号、平成15・11・13 製局第 2 号、環保企発第 031121002 号、平成15年11月21日、平成18年11月20日改正）に従って実施した。

試験条件

- 1) 被験物質 : 2-tert-ブチルフェノール
- 2) 暴露方式 : 半止水式 (48 時間後に試験溶液の全量を交換) 密閉系
- 3) 供試生物 : ヒメダカ (*Oryzias latipes*)
- 4) 暴露期間 : 96 時間
- 5) 試験濃度 (設定値) : 対照区, 1.5, 2.2, 3.2, 4.6, 6.8, 10 mg/L
公比 ; $10^{1/6}$ (約1.5)
- 6) 試験溶液量 : 5 L/容器
- 7) 連数 : 1 容器/試験区
- 8) 供試生物数 : 10 尾/試験区
- 9) 試験温度 : 24℃で設定し、経時的および各試験容器間の変動範囲は
±1℃以内とする
- 10) 照明 : 室内光、16 時間明/8 時間暗
- 11) 給餌 : 無給餌
- 12) 通気 : なし
- 13) pH : 試験溶液の pH 調整は行わない。暴露期間中の pH は
6.0 ~ 8.5 の範囲とし、変動は 1.0 以内とする。
- 14) 分析法 : HPLC 法

結 果

予備的な検討で、本被験物質は開放系で揮散する可能性があり、人健康への影響も懸念されることから、密閉系での試験が望ましいと考えられた。また、当局も密閉系が望ましいとの意見であったことから、密閉系での試験を行った。

1) 試験溶液中の被験物質濃度

暴露期間中の被験物質濃度に最大で 15 % 程度の減少が認められた。従って、各影響濃度 (50 % 死亡濃度、0 % 死亡最高濃度、100 % 死亡最低濃度) の算出に当たっては、暴露開始時、48時間換水前後および暴露終了時の測定値の時間加重平均値を採用した。

2) 50 % 死亡濃度 (LC_{50})

24 時間 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) : 5.1 mg/L
(95 % 信頼限界 4.2 ~ 6.0 mg/L) , Binomial

48 時間 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) : 4.8 mg/L
(95 % 信頼限界 4.3 ~ 6.8 mg/L) , Logit

72 時間 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) : 4.4 mg/L
(95 % 信頼限界 3.6 ~ 7.2 mg/L) , Logit

96 時間 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) : 3.7 mg/L
(95 % 信頼限界 2.5 ~ 4.2 mg/L) , Logit

3) 0 % 死亡最高濃度、100 % 死亡最低濃度

96 時間 0 % 死亡最高濃度 : 2.9 mg/L

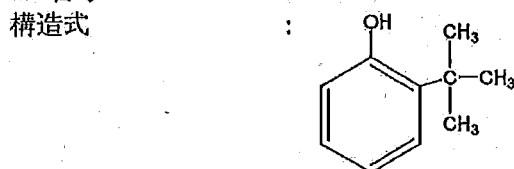
96 時間 100 % 死亡最低濃度 : 6.0 mg/L

1 被験物質

1.1 名称、構造式および物理化学的性状

化学物質等の名称 : 2-tert-ブチルフェノール

CAS番号* : 88-18-6



分子式* : $C_{10}H_{14}O$

分子量* : 150.22

蒸気圧* : 0.09 mmHg (25°C)

水溶解度* : 700 mg/L (25°C)

ヘンリー定数* : $2.54E-005 \text{ atm} \cdot \text{m}^3/\text{mole}$ (25°C)

酸解離定数* (pKa) : 10.3

1-オクタノール/水分配係数* : 3.31

融点* : -6.8°C

沸点* : 223°C

外観** : うすい黄色～赤褐色の液体

安定性** : 光により変質する

溶媒に対する溶解性** : エタノールに可溶

1.2 供試試料

入手先 : [REDACTED]

入手量 : 25 g × 4 本 (同一ロット)

ロット番号*** : [REDACTED]

含量*** : 99.9 % (毛管カラムGC)

密度(20°C)*** : 0.984 g/mL

不純物の名称および含有率*** : 記載なし

水分*** : 0.01 %

入手日 : 2010年11月22日

〔出典〕

* : SRC PhysProp Database

** : [REDACTED] 「製品安全データシート」 [REDACTED]
(作成 : 2001年09月01日・改訂日 : 2009年05月14日)

*** : [REDACTED] 「検査成績書」 ([REDACTED]
2010年11月22日) 成績書発行番号 [REDACTED]

1.3 被験物質の保管方法および保管条件下での安定性

1) 保管方法

被験物質保管用冷蔵庫（約4℃）において、遮光・密閉保管した。

2) 被験物質の確認および保管条件下の安定性

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、公的データ*との比較により、被験物質の特性が認められることを確認した。

実験終了後にも赤外吸収スペクトルを測定し、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から、被験物質は実験期間中安定であったと判断した。

*：独立行政法人 産業技術総合研究所「有機化合物スペクトルデータベース (SDBS)」

2 供試生物

2.1 供試生物

試験には、自家繁殖したヒメダカ (*Oryzias latipes*) を用いた。暴露開始時において、供試魚と同ロットのヒメダカの全長は 使用基準の 2.3 ± 1.2 cm を満たした。

- 1) ロット番号 : FJ09A7
- 2) 齢 : 18ヶ月齢
- 3) 全長 : 平均 2.5 cm (範囲 2.2 ~ 2.8 cm)
- 4) 体重 : 平均 0.15 g (範囲 0.09 ~ 0.20 g)
- 5) 測定数 : n=10

2.2 感受性確認

供試魚はロット毎に硫酸銅(Ⅱ)五水和物(試薬特級)を基準物質とする急性毒性試験を実施して感受性の確認を行なっている。直近の基準物質による LC_{50} 値は 0.34 mg/L [暴露期間：2010年10月 4 日～2010 年10月 8日] であった。1997年12月以降、直近までの EC_{50} 値は 平均= 0.30 mg/L, 標準偏差=0.09 mg/L, n=41 であった。

2.3 じゅん化

当該ロットのヒメダカの飼育中の観察において、寄生虫が認められたことから、2010年7月20日から7月23日の 3 日間、リフィッシュ(メーカー：三栄製薬)で、その後 0.1 % 食塩水で薬浴を行った後に、じゅん化を行った。

供試魚は、暴露開始 3 日前に試験容器に移し、容器じゅん化を行った。

同ロットの暴露開始前までの 7 日間連続の死亡率は 0.8 % で、試験には肉眼的に健康で正常な個体を使用した。

じゅん化時の飼育条件を以下に記載した。

- 1) 飼育水 : 試験に用いる試験用水 (3.3 項を参照) で飼育した
- 2) 飼育方法 : 流水式
- 3) 飼育密度 : 250 尾/ 60 L水槽
- 4) 水温 : 24 ± 1 °C
- 5) 照明 : 室内光、16 時間明/8 時間暗
- 6) 餌 : テトラミン (メーカー: ㈱テトラ社)
- 7) 給餌量 : 魚体重の約 2 % /日(暴露開始の 24 時間前からは無給餌)
- 8) じゅん化期間 : 2010年7月23日 ~ 2011年1月24日

3 試験方法

3.1 予備的検討結果

1) 被験物質の溶解性確認

本被験物質の水溶解度の文献値が 700 mg/L (25°C) であることから、被験物質 600 mg を秤量し、3 L メスフラスコに入れ、試験用水で定容後、マグネチックスターラーを用いて、試験温度 (24°C) で 2 時間攪拌し、200 mg/L の溶液を調製した。目視で溶解していることを確認後、更に遠心分離 (3000 rpm, 15 分間) 操作を行い、溶液の上層、中層および下層部の被験物質濃度を HPLC 法により測定した。結果を以下の表に示す。

	測定濃度 (mg/L)		
	試料-1	試料-2	平均
上層部	193	191	192
中層部	191	194	193
下層部	197	192	194

200 mg/L に調製した被験物質溶液は溶解していると判断した。

2) 試験溶液の濃度安定性

開放系、密閉系および密閉・遮光条件下における試験溶液の安定性の検討を以下の手順で行った。

1) で調製した 200 mg/L の溶液を更に試験用水で希釈し、1.0 mg/L の試験液を調製し、試験液の 3 L を 3 L ガラス製ビーカー (開放条件) に入れ、試験液の 5 L をそれぞれ、5 L のスクリービン (密閉系) およびアルミホイルで遮光し

た 5 L のスクリービン（遮光・密閉系）に入れ、48 時間試験温度（24℃）に保ち、被験物質濃度を HPLC 法により測定した。

	測定濃度 (mg/L)	
	開始時	48 時間後 (維持率 %)
開放系	0.992	0.794 (80)
密閉系		0.944 (95)
遮光・密閉系		0.960 (97)

48 時間後の濃度維持率は低い順に開放系、密閉系、遮光・密閉系の結果となった。

3.2 試験条件

予備検討の結果および予備試験の結果を基に、以下の条件で試験を行った。

予備的な検討で、本被験物質は開放系で揮散する可能性があり、人健康への影響も懸念されることから、密閉系での試験が望ましいと考えられた。また、当局も密閉系が望ましいとの意見であったことから、密閉系での試験を行った。

- 1) 暴露方式 : 半止水式(密閉系)で48 時間後に試験溶液の全量を交換
- 2) 暴露期間 : 96 時間
- 3) 試験溶液量 : 5.0 L/容器
- 4) 連数 : 1 容器/試験区
- 5) 供試生物数 : 10 尾/試験区
- 6) 試験温度 : 24℃で設定し、経時的および各試験容器間の変動範囲は ± 1℃以内とする。
- 7) 溶存酸素濃度 : 暴露期間中、通気は行わない。暴露期間中の溶存酸素濃度は飽和濃度の 60 % 以上 (約 5 mg/L) を維持する。
- 8) pH : 試験溶液の pH 調整は行わない。暴露期間中の pH は 6.0 ～ 8.5 の範囲とし、変動は 1.0 以内とする。
- 9) 照明 : 室内光、16 時間明/8 時間暗
- 10) 給餌 : 無給餌
- 11) かく乱 : 魚の行動に影響を及ぼすようなかく乱操作は避ける。

3.3 試験用水

脱塩素水（給水施設の水を活性炭処理で残留塩素等を除去した後、空気による通気処理を行ったもの）を使用した。

暴露開始時における試験用水の全硬度は、29 mg/L (CaCO₃換算)、pH は 7.7 であった。また DPD法により残留塩素が検出されないことを確認した。

半年に 1 回、定期的に測定する試験用水の水質分析結果（2010年 8月19日）を付属資料 - I 「試験用水の水質」に示した。

3.4 試験容器および恒温槽等

- 1) 試験容器 : 5.0 L 容ガラス製ネジロビンを使用し、密栓した。
(ヘッドスペース : 0.6 L)
- 2) 天秤 : 上皿電子天秤 AE200 (メトラー)
(被験物質秤量)
- 3) 恒温槽 : 恒温器 ラボサーモ LH-2000 (アドバンテック)
- 4) 水温計 : ガラス製水銀温度計
- 5) 溶存酸素計 : B-505 (飯島電子工業)
- 6) pH 計 : HM-30 V (東亜ディーケーケー)
- 7) ICP(硬度分析用) : IRIS Advantage/AP (サーモエレクトロン)

3.5 試験濃度の設定

本試験の実施に先立ち、公比 $10^{1/3}$ (約 2.2 と記載する)で、4 濃度区 (1.0, 2.2, 4.6, 10 mg/L) の予備試験を行った結果、96 時間累積死亡率は 1.0、2.2 mg/L 区で 0 %、4.6 mg/L 区で 80 %、10 mg/L 区で 100 % であった (付属資料-II)。予備試験の結果を基に、本試験では公比 $10^{1/6}$ (約 1.5)で、1.5, 2.2, 3.2, 4.6, 6.8, 10 mg/L および対照区を設定した。

3.6 試験溶液の調製

600 mg の被験物質を 100 mL ビーカーに秤りとり、試験用水を用いて 3 L メスフラスコに移し入れ、試験用水で 3 L とし、マグネチックスターラー付恒温水槽を用いて 24 °Cで 3 時間攪拌し、200 mg/L の試験原液を調製した (無色透明)。

1.5, 2.2, 3.2, 4.6, 6.8, 10 mg/L 区の各試験溶液は、200 mg/L の試験原液の各 38, 55, 80, 115, 170, 250 mL を 5 L のネジロビン (2 L と 3 L のメスフラスコで定容) に入れ、試験用水で 5 L としてそれぞれ調製した (全て無色透明)。

対照区には被験物質を加えない試験用水を用いた。

3.7 被験物質濃度等の測定

1) 被験物質濃度の測定

試験溶液中の被験物質濃度の分析は、全試験区について暴露開始時、48 時間試験溶液換水前後および暴露終了時に HPLC 法により行った。いずれも各試験容器から 10 mL ずつ採取した試験溶液について行った。

試料の測定条件および前処理方法の概略を以下に記載した。詳細な分析方法は付属資料 - III 「試験溶液の分析法」(測定条件、検出限界値および定量下限値、添加回収率、保存安定性、検量線) に示した。

定量下限値は 0.06 mg/L である。

(1) 測定条件

高速液体クロマトグラフ	: L-6000 型	日立製作所
分離カラム	: Mightysil RP-18, 4.6×150 mm	関東化学
恒温槽温度	: 40℃	
溶離液	: アセトニトリル／純水 (60／40)	
流量	: 0.8 mL/min	
検出波長	: UV 273 nm	
注入量	: 50 μ L	

(2) 前処理方法

必要に応じ検量線の被験物質濃度範囲内に入るように試験溶液を純水で希釈した。

2) 試験環境の測定

全試験区の水温、溶存酸素濃度、pH について、毎日 1 回測定した。換水を行った場合は換水前後で測定した。

試験水温の変動を監視するため、別に設けた試験容器の水温および周囲の大気のを暴露期間中に継続して測定して記録した。

3.8 試験操作

本試験においては、供試魚は乱数を用いて各試験区に無作為に割り付け、試験容器中に 1 試験区当たり 10 尾投入し、3 日間の容器じゅん化を行った。

暴露開始前に、供試魚と同水槽で馴養した魚 10 尾の体重および全長を測定し、

全長が 2.3 ± 1.2 cm の範囲内であることを確認した。その後、各試験区の試験溶液の水溫、溶存酸素濃度ならびに pH を測定し、試験溶液に魚網を用いて供試魚を投入し、その時点を暴露開始時とした。

暴露期間中給餌は行わなかった。

暴露開始直後、3, 6, 24, 48, 72 および 96 時間後に死亡個体数、ならびに観察された毒性の徴候あるいは異常の有無を記録した。鰓蓋の動きなどの観察可能な動きがなく、尾柄部に触れて反応がない場合には魚は死亡しているとみなした。観察時に死亡魚を発見した場合は、水質の悪化が起こらないよう速やかに取り除き、また死亡数を記録した。平衡、遊泳行動、呼吸機能、体色などに異常が観察された場合や、亜致死的な影響が観察された場合には記録した。

一般的に報告書に記載する症状と定義を表 1 に示した。その他、特異的症状（背曲がり、出血、体色変化、粘液の分泌、平衡失調、立鱗等）が観察された場合には、具体的にその旨を記載した。

観察された症状を「死亡、遊泳不能、異常遊泳、外見異常、呼吸異常、その他、正常」に分類し、それぞれの個体数が分かるように記載した。また、暴露終了時には個体別に症状の観察を行った。症状が重複している場合には個体毎にそれぞれの症状を記載した。

表1 一般的な症状と定義

分類	症状	症状の定義			
死亡	死亡	観察可能な動き（例えば鰓蓋の動きなど）がなく、尾柄部に触れて反応がない状態。			
重篤	遊泳不能	鰓蓋のみが動いているが、遊泳等の運動が停止、または極度の異常を示している状態（仮死、横臥、横転等と称される症状が相当する）			
異常	異常遊泳	正常ではない異常行動を示す状態。以下の症状が含まれる。 <ul style="list-style-type: none">・上層遊泳（鼻上げを含む）・平衡失調〔平衡感覚が失われており、背泳、スパイラル遊泳（鉛直方向）、コークスクリュー遊泳（水平方向）等を示している。〕・方向不定遊泳（方向感覚がなく遊泳方向が定まらない）・過活発（活動量が増加している。興奮、狂奔等）・不活発（活動量が低下している）・痙攣			
	外見異常	正常ではない外見を示す状態。表面に関する異常と形態に関する異常の2つがある			
		表面	体色	明化、暗化	
			体表面	出血（内出血も含む） びらん（ただれる） 粘液異常（粘液過剰分泌、粘液凝固等）	
				鱗	立鱗（鱗が逆立つ） 脱鱗
			鰭	欠損	
		形態	背曲がり（骨折を含む） 眼球異常（眼球突出等）		
	呼吸異常	正常ではないが、鰓蓋の動きを示す状態。増加または減少がある。			
	その他	上記以外の毒性症状			
正常	正常	遊泳行動、外見等に異常が見られない状態。			

4 試験結果の算出

4.1 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) の算出に用いる被験物質濃度の決定

暴露期間中の被験物質濃度に最大で 15 % 程度の減少が認められた。従って、各影響濃度 (50 % 死亡濃度、0 % 死亡最高濃度、100 % 死亡最低濃度) の算出に当たっては、暴露開始時と 48 時間換水前後、および暴露終了時の測定値の時間加重平均値を採用した。時間加重平均値は、暴露開始時から 48 時間後の換水前、換水後から暴露終了時のそれぞれについて求めた幾何平均値を算術平均して求めた。

4.2 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) の算出

各試験区の死亡数と供試個体数 (10 尾) から、観察時間毎に死亡率 (%) を算出した。次に、算出した死亡率と各試験区の被験物質濃度 (平均値) を用いて、Logit 法により 48、72、96 時間の 50 % 死亡濃度 (LC_{50}) および 95 % 信頼限界を算出した。(Logit 法を選択した理由は、96 時間目のデータで収束までの反復回数が、Probit 法は収束しなかったのに対し、Logit 法は 6 回で収束したことによる)

統計ソフトは、EcoTox ver. 2.6 d を用いた。

なお、24 時間の死亡率は 6.8 mg/L 未満の区で 0 %、それ以上の区で 100 % であったため、50 % 死亡濃度 (LC_{50}) は Binomial 法で算出した。

4.3 0 % 死亡最高濃度および 100 % 死亡最低濃度

死亡率が 0 % である最高濃度 (0 % 死亡最高濃度) および死亡率が 100 % である最低濃度 (100 % 死亡最低濃度) を記載した。

5 結果および考察

5.1 試験成績の信頼性に影響をおよぼしたと思われる環境要因

認められなかった

5.2 試験溶液中の被験物質濃度

暴露開始時、48時間換水前後および暴露終了時に試験溶液中の被験物質濃度を測定した。その結果を Table 1 に示した。

暴露開始時、48時間換水後の被験物質濃度は設定値の 91 % ~ 112 % であり、ほぼ設定通りに調製された。

また、暴露期間中の被験物質濃度に最大で 15 % 程度の減少が認められたが、暴露開始時または換水後の調製濃度に対し 80 % 以上を維持した。

5.3 50 % 死亡濃度 (LC₅₀)

各観察時における死亡率を Table 2 に、50 % 死亡濃度 (LC₅₀) を Table 3 に示した。また、各観察時間の濃度－死亡率について、Figure 1 に示した。

96 時間暴露の対照区の死亡率は 0 % であり、試験成立条件を満たした。

統計解析を行うにあたり、観察点として採用する区を、下限は死亡率 0 % の区、上限は死亡率が 100 % の区の範囲を選択した。24 時間は 4.6, 6.8 mg/L 区での Binomial 法、48、72、96 時間は 3.2 ～ 6.8 mg/L 区を採用し、EcoToxによる解析を行った (付属資料-IV)。

なお、一部が死亡する濃度が 1 濃度区しか含まれないが、1.5 ～ 3.2 mg/L 区で毒性症状が観察されており、公比を 1.5 より狭めると感受性の個体差の影響で濃度と死亡の関係に逆転現象が生じることが考えられるので試験成立とした。

24 時間 50 % 死亡濃度 (LC₅₀) : 5.1 mg/L

(95 % 信頼限界 4.2 ～ 6.0 mg/L) , Binomial

48 時間 50 % 死亡濃度 (LC₅₀) : 4.8 mg/L

(95 % 信頼限界 4.3 ～ 6.8 mg/L) , Logit

72 時間 50 % 死亡濃度 (LC₅₀) : 4.4 mg/L

(95 % 信頼限界 3.6 ～ 7.2 mg/L) , Logit

96 時間 50 % 死亡濃度 (LC₅₀) : 3.7 mg/L

(95 % 信頼限界 2.5 ～ 4.2 mg/L) , Logit

5.4 0 % 死亡最高濃度、100 % 死亡最低濃度

0 % 死亡最高濃度、100 % 死亡最低濃度を Table 4 および以下に示した。

96 時間 0 % 死亡最高濃度 : 2.9 mg/L

96 時間 100 % 死亡最低濃度 : 6.0 mg/L

5.5 毒性症状

暴露期間中に観察された個体毎の毒性症状を表2-1、表2-2 および Table 5 に示した。

観察された主な症状は、軽度なものとして、遊泳異常 (上層遊泳、不活発、平衡失調)、重篤なものとして横転、横臥であった。

表2-1. 暴露期間中の観察結果

設定濃度 (mg/L)	区分	観察時間					
		3 時間	6 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間
対照区	死亡 (累積)	0	0	0	0	0	0
	正常	10	10	10	10	10	10
1.5	死亡 (累積)	0	0	0	0	0	0
	重篤	0	0	0	0	0	0
	異常	0	0	2 (不活発)	3 (不活発)	3 (上層遊泳)	3 (上層遊泳) 2 (不活発)
	正常	10	10	8	7	7	5
2.2	死亡 (累積)	0	0	0	0	0	0
	重篤	0	0	0	0	0	0
	異常	1 (上層遊泳)	3 (上層遊泳)	3 (不活発)	4 (不活発)	2 (上層遊泳) 2 (不活発)	4 (上層遊泳) 5 (不活発) 1 (平衡失調)
	正常	9	7	7	6	6	0
3.2	死亡 (累積)	0	0	0	0	0	0
	重篤	0	1 (横転)	1 (横転)	1 (横臥)	3 (横臥)	2 (横転) 5 (横臥)
	異常	2 (上層遊泳)	3 (上層遊泳) 6 (不活発)	2 (上層遊泳) 7 (不活発)	2 (上層遊泳) 7 (不活発)	5 (上層遊泳) 2 (不活発)	3 (上層遊泳)
	正常	8	0	0	0	0	0

表2-2. 暴露期間中の観察結果

設定濃度 (mg/L)	区分	観察時間					
		3 時間	6 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間
4.6	死亡 (累積)	0	0	0	1	4	9
	重篤	1 (横転) 5 (横臥)	8 (横転)	9 (横転)	9 (横臥)	6 (横臥)	1 (横臥)
	異常	4 (不活発)	2 (平衡失調)	1 (平衡失調)	0	0	0
	正常	0	0	0	0	0	0
6.8	死亡 (累積)	0	1	10	10	10	10
	重篤	2 (横転) 8 (横臥)	9 (横臥)	0	0	0	0
	異常	0	0	0	0	0	0
	正常	0	0	0	0	0	0
10	死亡 (累積)	0	4	10	10	10	10
	重篤	10 (横臥)	6 (横臥)	0	0	0	0
	異常	0	0	0	0	0	0
	正常	0	0	0	0	0	0

5.6 試験溶液の水温、溶存酸素濃度および pH

試験溶液の水温を Table 6、溶存酸素濃度を Table 7、pH を Table 8 に示した。

96 時間の暴露期間中の水温は 23.9 ～ 24.0℃の範囲内であり、暴露期間中の変動は 1℃以内であった。試験水温の変動を連続的に監視するために別に設けた試験容器内の水温は 24±1℃の範囲内であった。

溶存酸素濃度は 5.7 ～ 8.2 mg/L の範囲内であり、すべての試験区で飽和溶存酸素濃度の 60 % 以上が維持され (24.0℃の飽和溶存酸素濃度 : 8.25 mg/L)、試験成立条件を満たした。

pH は 7.1 ～ 7.9 の範囲内で、暴露期間中の同一容器内の変動は 1.0 以内であった。

5.7 試験計画書からの逸脱の有無

試験原液の調製法に試験計画書からの逸脱があった。

逸脱の内容 : 試験計画書では 200 mg の被験物質を 2 L メスフラスコに取り 100 mg/L の原液を調製することになっていたが、担当者は 600 mg の被験物質を 3 L のメスフラスコに取り、200 mg/L の原液を調製した。試験溶液の調製に際しては、試験原液の使用量を調整し、試験計画書の設定濃度に合わせたため、試験の質や完全性に影響はないと判断した。

6 保管

試験に関する下記の記録および試料は、当施設の資料保管施設に保管する。

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

以 上

Table 1. Measured Concentrations of the Test Substance in Test Solution

(Semi-Static Condition Closed System)

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration, mg/L (Percent of Nominal)				Mean ^a Measured Concentration (mg/L)
	0 Hour new	old	48 Hours new	96 Hours old	
Control	<0.06 (-)	<0.06 (-)	<0.06 (-)	<0.06 (-)	-
1.5	1.64 (109)	1.44 (96)	1.68 (112)	1.61 (108)	1.59
2.2	2.18 (99)	1.86 (84)	2.27 (103)	2.14 (97)	2.11
3.2	2.95 (92)	2.58 (80)	3.07 (96)	2.93 (91)	2.88
4.6	4.30 (94)	3.83 (83)	4.39 (96)	4.39 (96)	4.23
6.8	6.26 (92)	5.83 (86)	D	D	6.04
10	9.15 (91)	8.74 (87)	D	D	8.94

new : Freshly prepared test solutions

old : Test solutions after 48 hours exposure

a : Time-weighted mean

D : Not measured (all fish were dead)

Table 2. The Numbers of Dead Fish (Mortality)

(Semi-Static Condition Closed System)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean ^a Measured Concentration (mg/L)	Cumulative Mortality (Percent Mortality)			
		24 Hours	48 Hours	72 Hours	96 Hours
Control	-	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)
1.5	1.59	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)
2.2	2.11	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)
3.2	2.88	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)	0/10 (0)
4.6	4.23	0/10 (0)	1/10 (10)	4/10 (40)	9/10 (90)
6.8	6.04	10/10 (100)	10/10 (100)	10/10 (100)	10/10 (100)
10	8.94	10/10 (100)	10/10 (100)	10/10 (100)	10/10 (100)

a : Time-weighted mean

Table 3. Calculated LC₅₀ Values

Exposure Period (Hours)	LC ₅₀ (mg/L)	95 % Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	5.1	4.2 - 6.0	Binomial
48	4.8	4.3 - 6.8	Logit
72	4.4	3.6 - 7.2	Logit
96	3.7	2.5 - 4.2	Logit

Table 4. The Highest Concentration in 0 % Mortality, the Lowest Concentration in 100 % Mortality

Exposure Period (Hours)	Highest Concentration in 0 % Mortality (mg/L)	Lowest Concentration in 100 % Mortality (mg/L)
24	4.2	6.0
48	2.9	6.0
72	2.9	6.0
96	2.9	6.0

Table 5. Observed Toxic Symptoms

(Semi-Static Condition Closed System)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean ^a Measured Concentration (mg/L)	Toxic Symptoms					
		3 Hours	6 Hours	24 Hours	48 Hours	72 Hours	96 Hours
Control	-	N	N	N	N	N	N
1.5	1.59	N	N	N(8), AS(2)	N(7), AS(3)	N(7), AS(3)	N(5), AS(5)
2.2	2.11	N(9), AS(1)	N(7), AS(3)	N(7), AS(3)	N(6), AS(4)	N(6), AS(4)	AS(10)
3.2	2.88	N(8), AS(2)	AS(9), C(1)	AS(9), C(1)	AS(9), C(1)	AS(7), C(3)	AS(3), C(7)
4.6	4.23	AS(4), C(6)	AS(2), C(8)	AS(1), C(9)	C(9)	C(6)	C(1)
6.8	6.04	C(10)	C(9)	D	D	D	D
10	8.94	C(10)	C(6)	D	D	D	D

a : Time-weighted mean

N : No toxic symptom was observed (Normal)

C : Critical (Immobile)

AS : Abnormal swimming

D : All fish were dead

Table 6. Temperature

(Semi-Static Condition Closed System)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean ^a Measured Concentration (mg/L)	Temperature, °C					
		0 Hour	24 Hours	48 Hours		72 Hours	96 Hours
		new	-	old	new	-	old
Control	-	23.9	24.0	24.0	23.9	24.0	23.9
1.5	1.59	23.9	24.0	24.0	23.9	24.0	23.9
2.2	2.11	23.9	24.0	24.0	23.9	24.0	23.9
3.2	2.88	23.9	24.0	24.0	23.9	24.0	23.9
4.6	4.23	23.9	24.0	24.0	23.9	24.0	23.9
6.8	6.04	23.9	24.0	NM	NM	NM	NM
10	8.94	23.9	24.0	NM	NM	NM	NM

a : Time-weighted mean

new : Freshly prepared test solutions

old : Test solutions after 48 hours exposure

NM : Not measured (all fish were dead)

Table 7. Dissolved Oxygen Concentrations

(Semi-Static Condition Closed System)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean ^a Measured Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration, mg/L					
		0 Hour	24 Hours	48 Hours		72 Hours	96 Hours
		new	-	old	new	-	old
Control	-	8.2	6.8	6.7	8.2	6.8	6.4
1.5	1.59	8.2	7.0	6.9	8.2	6.9	6.3
2.2	2.11	8.2	6.6	6.5	8.2	6.3	5.8
3.2	2.88	8.2	7.0	6.6	8.2	6.7	5.8
4.6	4.23	8.2	6.7	6.3	8.2	6.3	5.7
6.8	6.04	8.2	7.5	NM	NM	NM	NM
10	8.94	8.2	7.8	NM	NM	NM	NM

a : Time-weighted mean

new : Freshly prepared test solutions

old : Test solutions after 48 hours exposure

NM : Not measured (all fish were dead)

Table 8. pH Values

(Semi-Static Condition Closed System)

Nominal Concentration (mg/L)	Mean ^a Measured Concentration (mg/L)	pH					
		0 Hour	24 Hours	48 Hours		72 Hours	96 Hours
		new	-	old	new	-	old
Control	-	7.7	7.3	7.2	7.9	7.3	7.2
1.5	1.59	7.7	7.3	7.2	7.9	7.3	7.1
2.2	2.11	7.7	7.3	7.3	7.9	7.3	7.1
3.2	2.88	7.7	7.3	7.2	7.9	7.3	7.1
4.6	4.23	7.8	7.3	7.2	7.9	7.3	7.2
6.8	6.04	7.8	7.5	NM	NM	NM	NM
10	8.94	7.8	7.5	NM	NM	NM	NM

a : Time-weighted mean

new : Freshly prepared test solutions

old : Test solutions after 48 hours exposure

NM : Not measured (all fish were dead)

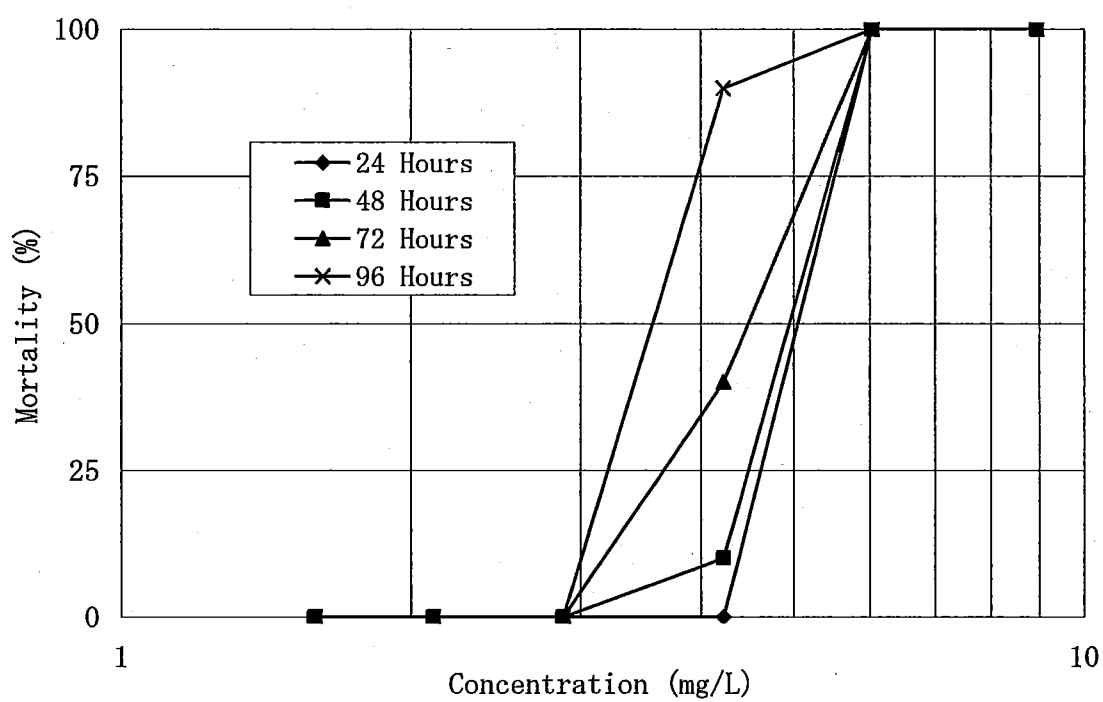


Figure 1. Concentration—Response (Mortality) Curves

付 属 資 料 - I

試 験 用 水 の 水 質

Table A-1 Water Quality of Dilution Water

Parameter	Concentration
BOD	<0.6 mg/L
COD	<0.6 mg/L
Total phosphorus	<0.02 mg/L
pH	7.3
	(25.8 °C)
Coliform group bacteria	N. D.
Mercury	<0.0005 mg/L
Copper	<0.01 mg/L
Cadmium	<0.002 mg/L
Zinc	<0.01 mg/L
Lead	<0.005 mg/L
Aluminium	<0.02 mg/L
Nickel	<0.005 mg/L
Chromium	<0.05 mg/L
Manganese	<0.02 mg/L
Tin	<0.1 mg/L
Iron	<0.1 mg/L
Cyanide	<0.1 mg/L
Free chlorine	<0.05 mg/L
Bromide	<0.2 mg/L
Fluoride	0.03 mg/L
Sulfide	<0.5 mg/L
Total ammonium	<0.05 mg/L
Arsenic	<0.005 mg/L
Selenium	<0.005 mg/L
Evaporation residue	70 mg/L
Electric conductivity	8.94 mS/m
Total hardness (as CaCO ₃)	32 mg/L
Alkalinity	30 mg/L
Sodium	5.3 mg/L
Potassium	1.4 mg/L
Calcium	9.6 mg/L
Magnesium	2.2 mg/L

Date of measurement: 19 August, 2010

付 属 資 料 - II

予 備 試 験 の 結 果

Table B-1. The Numbers of Dead Fish (Mortality)
(Range Finding Test)

Nominal Concentration (mg/L)	(Semi-Static Condition, Open System) Cumulative Mortality (Percent Mortality)			
	24 Hours	48 Hours	72 Hours	96 Hours
Control	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
1.0	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
2.2	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)	0/5 (0)
4.6	2/5 (40)	4/5 (80)	4/5 (80)	4/5 (80)
10	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)

Table B-2. Measured Concentration of the Test Substance in Test Solution
(Range Finding Test)

Nominal Concentration (mg/L)	(Semi-Static Condition, Open System) Measured Concentration (mg/L)			
	0 Hour	48 Hours		96 Hours
	new	old	new	old
Control	<0.06	<0.06	<0.06	<0.06
1.0	0.970 (97)	0.928 (93)	1.01 (101)	0.832 (83)
2.2	2.06 (94)	2.11 (96)	2.10 (96)	1.95 (89)
4.6	4.40 (96)	4.21 (91)	4.44 (96)	4.26 (93)
10	9.70 (97)	8.23 (82)	D	D

new : Freshly prepared test solutions

old : Test solutions after 48 hours exposure

D : Not measured (all fish were dead)

Table B-3. Observed Toxic Symptoms
(Range Finding Test)

Nominal Concentration (mg/L)	(Semi-Static Condition, Open System) Toxic Symptoms					
	3 Hours	6 Hours	24 Hours	48 Hours	72 Hours	96 Hours
Control	N	N	N	N	N	N
1.0	N	N	N	N	AS(1)	AS(1)
2.2	N	AS(1)	AS(1)	AS(2)	AS(2)	AS(5)
4.6	C(5)	C(5)	C(3)	C(1)	C(1)	C(1)
10	C(4)	D	D	D	D	D

N : No toxic symptom was observed

D : All fish were dead

AS : Abnormal swimming

C : Critical condition

付 属 資 料 - III

試 験 溶 液 の 分 析 法



2-tert-ブチルフェノール分析法

1. 分析方法

(1) 分析法の概要

試験溶液の一定量を、UV検出器を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入し、クロマトグラムと同時にピーク面積 (カウント数) をデータ処理装置から求める。このピーク面積を用い、標準液の検量線から試験溶液中の被験物質の濃度を求める。

(2) 装置および器具

a) 高速液体クロマトグラフ	: L-6000 型	日立製作所
b) 分離カラム	: Mightysil RP-18, 4.6×150 mm	関東化学
c) カラム恒温槽	: L-5025 型	日立製作所
d) UV 検出器	: L-4000 型	日立製作所
e) オートサンプラー	: L-2200 型	日立製作所
f) データ処理装置	: D-2500 型	日立製作所
g) 化学天秤	: AG-204 型	メトラー
h) 超音波洗浄器	: BRANSON 8200 型	ヤマト科学
i) 純水製造装置	: Milli-Q SP TOC	ミリポア
j) メスシリンダー	: 容量 500 mL	柴田科学
k) メスフラスコ	: 容量 10, 25, 100 mL	柴田科学
l) ホールピペット	: 容量 1 mL	柴田科学
m) メスピペット	: 容量 1 mL	柴田科学

(3) 試薬

a) 2-tert-ブチルフェノール	: 純度 99.9 %, ロット番号	
b) アセトニトリル	: HPLC 用	和光純薬
c) 純水	: 純水製造装置で製造	

(4) 試薬の調製

a) 溶離液

アセトニトリル 600 mL と純水 400 mL をメスシリンダーで取り混合する。調製した溶離液は使用前に超音波処理をしながら減圧し、脱気する。

b) 被験物質標準原液 (1000 mg/L)

被験物質約 100 mg を 100 mL メスフラスコに 0.1 mg の桁まで精秤する。これにアセトニトリルを加えて溶解し標線を合わせる。

秤量した質量から、純度換算を行った上、正確な被験物質の濃度を算出する。

(5) 操作

- a) 2. に記載する分析条件で HPLC を作動し、装置を安定させる。
- b) 3. に記載する方法で検量線を作成する。
- c) 検量線の被験物質濃度範囲内に入るように試験溶液を純水で希釈し、その 50 μL を HPLC に注入してクロマトグラムと同時にピーク面積を得る。
- d) 検量線により濃度を求め、希釈率を補正して試験溶液の被験物質濃度を算出する。

2. HPLC測定条件

- (1) 分離カラム : Mightysil RP-18, 4.6 \times 150 mm
- (2) 恒温槽温度 : 40 $^{\circ}\text{C}$
- (3) 溶離液 : アセトニトリル/純水 (60/40)
- (4) 流量 : 0.8 mL/min
- (5) 検出波長 : UV 273 nm
- (6) 注入量 : 50 μL

3. 検量線の作成

- (1) 被験物質標準原液 (1000 mg/L) 0.25 mL を 25 mL メスフラスコに正確に分取し、純水で標線を合わせ、10 mg/L 標準液を調製する。標準液 10 mg/L から、0.1 mL、0.5 mL、1.0 mL をそれぞれ 10 mL メスフラスコに正確に分取し、純水を用いて標線を合わせ、0.1 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L 標準液とする。
- (2) 各標準液について 50 μL を HPLC に注入し、データ処理装置からクロマトグラムと同時にピーク面積 (カウント数) を得る。被験物質濃度を横軸にピーク面積を縦軸にとり検量線を作成する。この時の回帰式の相関係数も算出する。

表1 検量線に使用したデータ例

No.	被験物質濃度 (mg/L)	ピーク面積 ($\mu\text{V} \cdot \text{sec}$)
1	0	0
2	0.1024	1905
3	0.5120	9138
4	1.024	18192

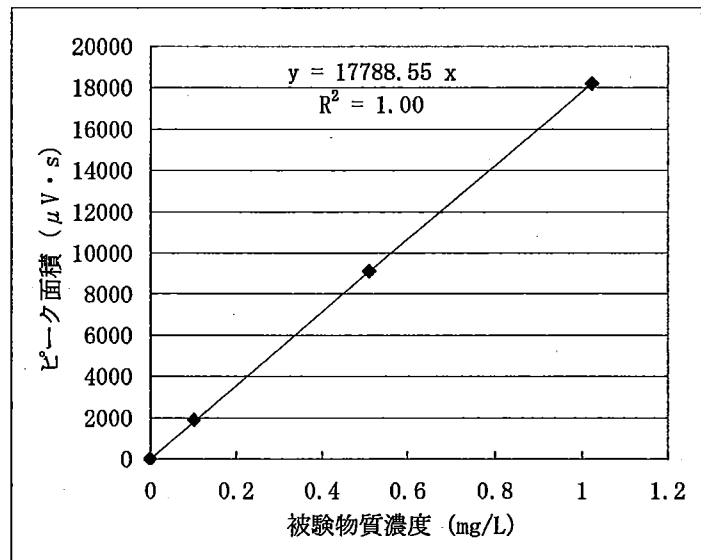


図1 検量線例

4. 添加回収率

1. (4).b)で調製した被験物質標準原液 (1079 mg/L) を試験用水に添加し、濃度が 0.1079 mg/L、1.079 mg/L、10.79 mg/Lにおける、回収率を算出した。

結果を表2 に示す。回収率は 101 ~ 108 %であった。

表2 添加回収率

試料濃度 (mg/L)	n	測定値 (mg/L)	測定値平均 (mg/L)	回収率 (%)
0.1079	1	0.1120	0.116	108
	2	0.1190		
1.079	1	1.079	1.09	101
	2	1.096		
10.79	1	10.92	10.9	101
	2	10.96		

5. 保存安定性

4. の添加回収で調製した 3 濃度の試料溶液 (0.1079 mg/L、1.079 mg/L、10.79 mg/L) を、密閉・遮光条件において 3 日間冷蔵庫で保存し、試料溶液の安定性を確認した。

結果を表 3 に示す。3 日間冷蔵庫保存液の濃度維持率は 97 ~ 102 % であった。

表3 経時変化

開始時測定値 (mg/L)	3日後			
	n	測定値 (mg/L)	測定値平均 (mg/L)	濃度維持率 (%)
0.116	1	0.1061	0.113	97
	2	0.1194		
1.09	1	1.102	1.11	102
	2	1.109		
10.9	1	11.00	11.0	101
	2	11.03		

6. 定量下限値および検出限界値

被験物質濃度 0.1079 mg/L の試料液 50 μ L を HPLC に 7 回注入し、得られた測定値の標準偏差値の 10 倍を定量下限値、3 倍を検出限界値とした。

結果を表 4 に示す。定量下限値は 0.06 mg/L、検出限界値は 0.02 mg/L であった。

表4 定量下限値および検出限界値の算出データ

n	測定値 (mg/L)
1	0.1206
2	0.1082
3	0.1193
4	0.1139
5	0.1066
6	0.1212
7	0.1138
平均値	0.1148
標準偏差(σ_{n-1})	0.00588

定量下限値 = $0.00588 \times 10 \div 0.06$ mg/L

検出限界値 = $0.00588 \times 3 \div 0.02$ mg/L



付 属 資 料 -IV

統 計 解 析 結 果
(EcoTox ver. 2.6d)

魚類 急性毒性試験

2010-生態16

ファイル名= 2030083

更新日: 2011/02/02

区	濃度	連	実測数(影響・死亡)				
	mg/L (log)		0	24	48	72	96 hour
1	0 (-)	1	10	0	0	0	0
2	1.59 (0.20)	1	10	0	0	0	0
3	2.11 (0.32)	1	10	0	0	0	0
4	2.88 (0.46)	1	10	0	0	0	0
5	4.23 (0.63)	1	10	0	1	4	9
6	6.04 (0.78)	1	10	10	10	10	10
7	8.94 (0.95)	1	10	10	10	10	10

[対照に対する] 割合 (%)

区	濃度	影響・死亡			
	mg/L (log)	24	48	72	96 hour
1	1.59 (0.20)	0.00	0.00	0.00	0.00
2	2.11 (0.32)	0.00	0.00	0.00	0.00
3	2.88 (0.46)	0.00	0.00	0.00	0.00
4	4.23 (0.63)	0.00	10.00	40.00	90.00
5	6.04 (0.78)	100.00	100.00	100.00	100.00
6	8.94 (0.95)	100.00	100.00	100.00	100.00

EC50計算に用いたデータ (Probit, Logit法)

区	濃度	影響・死亡				
	mg/L (log)	0	24	48	72	96 hour
1	1.59 (0.20)	10.00	—	—	—	—
2	2.11 (0.32)	10.00	—	—	—	—
3	2.88 (0.46)	10.00	—	0.10	0.10	0.10
4	4.23 (0.63)	10.00	0.10	1.00	4.00	9.00
5	6.04 (0.78)	10.00	9.90	9.90	9.90	9.90
6	8.94 (0.95)	10.00	—	—	—	—

2010-生態16

魚類 急性毒性試験 観察回数=5 濃度区数=7 (mg/L)

繰り返し数 = 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1

データファイル: 2030083 更新日: 2011/02/02

生物量

濃度	繰り返し	0	24	48	72	96	hour
0	(1)	10.000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
1.59	(1)	10.000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
2.11	(1)	10.000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
2.88	(1)	10.000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
4.23	(1)	10.000	0.0000	1.0000	4.0000	9.0000	
6.04	(1)	10.000	10.000	10.000	10.000	10.000	
8.94	(1)	10.000	10.000	10.000	10.000	10.000	

生物量 (%)

濃度	24	48	72	96	hour
1.59	0.00	0.00	0.00	0.00	
2.11	0.00	0.00	0.00	0.00	
2.88	0.00	0.00	0.00	0.00	
4.23	0.00	10.00	40.00	90.00	
6.04	100.00	100.00	100.00	100.00	
8.94	100.00	100.00	100.00	100.00	

E(L)C50 計算 収束判定値=0.0001 最大反復回数=50

===== EC50計算ごとの詳細データ =====

===== プロビット関数 =====

●● 24h Effect E(L)C50 計算 収束までの反復回数=2 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
4.23	10.00	0.100	0.01	1.000	0.626
6.04	10.00	9.900	0.99	1.000	0.781

◎ 回帰式の適合度の検定は、自由度が1のためできない

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ 推定)	標準誤差(SE)	θ 推定/SE
const	-21.16	7.640	-2.770
log(Conc.)	30.08	10.79	2.787
WALD検定	X2値=7.766	自由度=1	有意確率=0.005

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π 推定	残差(割合)
4.23	0.100	0.100	-6E-7	0.010	0.010	-6E-8
6.04	9.900	9.900	5.E-7	0.990	0.990	5.E-8

◎ 診断統計量

濃度	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化 逸脱度残差	標準化 ピアソン残差
mg/L						
4.23	8.E+17	1.000	-2E-6	-2E-6	-48.63	-48.62
6.04	3.E+19	1.000	2.E-6	2.E-6	106.8	106.8

===== EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定 =====

log(EC90)	=	0.6611	(95% Range: 0.5475 - 0.6913)
EC90(mg/L)	=	4.5822	(95% Range: 3.5276 - 4.9120)
log(EC80)	=	0.6757	(95% Range: 0.5748 - 0.7218)
EC80(mg/L)	=	4.7392	(95% Range: 3.7570 - 5.2698)
log(EC50)	=	0.7037	(95% Range: 0.6272 - 0.7802)
EC50(mg/L)	=	5.0546	(95% Range: 4.2381 - 6.0285)
log(EC20)	=	0.7317	(95% Range: 0.6795 - 0.8386)
EC20(mg/L)	=	5.3910	(95% Range: 4.7807 - 6.8964)
log(EC10)	=	0.7463	(95% Range: 0.7068 - 0.8692)
EC10(mg/L)	=	5.5757	(95% Range: 5.0915 - 7.3988)

収束せず

●● 48h Effect E(L)C50 計算 収束までの反復回数=50 収束せず ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
2.88	10.00	0.100	0.01	1.000	0.459
4.23	10.00	1.000	0.10	1.000	0.626
6.04	10.00	9.900	0.99	1.000	0.781

◎ 回帰式の適合度の検定 χ^2 値(P=0.05, df=1)= 3.841 (P=0.01, df=1)= 6.635

X2乗(逸脱度) = 8.257 >= 6.635 ** 適合が悪い

X2乗(ピアソン) = 6.123 >= 3.841 * 適合がよくない

AIC = 21.00

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ 推定)	標準誤差(SE)	θ 推定/SE
const	-5.094	2.761	-1.845

log(Conc.) 7.748 4.154 1.865
WALD検定 X2値=3.479 自由度=1 有意確率=0.062

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π推定	残差(割合)
2.88	0.100	0.624	-0.524	0.010	0.062	-0.052
4.23	1.000	4.045	-3.045	0.100	0.405	-0.305
6.04	9.900	8.307	1.593	0.990	0.831	0.159

◎ 診断統計量

濃度	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化 逸脱度残差	標準化 ピアソン残差
mg/L						
2.88	4.E-4	0.460	-0.843	-0.685	-1.147	-0.932
4.23	9.189	0.709	-2.154	-1.962	-3.990	-3.635
6.04	7.965	0.831	1.705	1.343	4.150	3.269

=====EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定=====

log(EC90)	=	0.4921	(95% Range: 0.4211 - 0.5631)
EC90(mg/L)	=	3.1055	(95% Range: 2.6370 - 3.6572)
log(EC80)	=	0.5489	(95% Range: 0.4697 - 0.6281)
EC80(mg/L)	=	3.5392	(95% Range: 2.9491 - 4.2474)
log(EC50)	=	0.6575	(95% Range: 0.5724 - 0.7622)
EC50(mg/L)	=	4.5450	(95% Range: 3.7359 - 5.7833)
log(EC20)	=	0.7662	(95% Range: 0.6556 - 0.8767)
EC20(mg/L)	=	5.8367	(95% Range: 4.5248 - 7.5289)
log(EC10)	=	0.8229	(95% Range: 0.7042 - 0.9417)
EC10(mg/L)	=	6.6519	(95% Range: 5.0604 - 8.7439)

●● 72h Effect E(L)C50 計算 収束までの反復回数=5 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
2.88	10.00	0.100	0.01	1.000	0.459
4.23	10.00	4.000	0.40	1.000	0.626
6.04	10.00	9.900	0.99	1.000	0.781

◎ 回帰式の適合度の検定 χ^2 値(P=0.05, df=1)= 3.841 (P=0.01, df=1)= 6.635

X2乗(逸脱度) = 0.134 < 3.841 適合する

X2乗(ピアソン) = 0.157 < 3.841 適合する

AIC = 19.83

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ推定)	標準誤差(SE)	θ推定/SE
const	-9.469	3.481	-2.720
log(Conc.)	14.81	5.401	2.742

WALD検定 X2値=7.520 自由度=1 有意確率=0.006

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π推定	残差(割合)
2.88	0.100	0.039	0.061	0.010	0.004	0.006
4.23	4.000	4.238	-0.238	0.400	0.424	-0.024
6.04	9.900	9.821	0.079	0.990	0.982	0.008

◎ 診断統計量

濃度	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化 逸脱度残差	標準化 ピアソン残差
mg/L						
2.88	0.047	0.373	0.261	0.314	0.330	0.397
4.23	0.455	0.853	-0.153	-0.152	-0.398	-0.397
6.04	0.270	0.774	0.206	0.189	0.432	0.397

=====EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定=====

log(EC90) = 0.5528 (95% Range: 0.4939 - 0.6117)
 EC90 (mg/L) = 3.5710 (95% Range: 3.1182 - 4.0896)
 log(EC80) = 0.5825 (95% Range: 0.4593 - 0.5834)
 EC80 (mg/L) = 3.8238 (95% Range: 2.8792 - 3.8317)
 log(EC50) = 0.6393 (95% Range: 0.5694 - 0.7056)
 EC50 (mg/L) = 4.3583 (95% Range: 3.7101 - 5.0769)
 log(EC20) = 0.6961 (95% Range: 0.6795 - 0.8278)
 EC20 (mg/L) = 4.9675 (95% Range: 4.7806 - 6.7268)
 log(EC10) = 0.7258 (95% Range: 0.6485 - 0.8032)
 EC10 (mg/L) = 5.3191 (95% Range: 4.4516 - 6.3558)
 収束せず

●● 96h Effect E(L)C50 計算 収束までの反復回数=50 収束せず ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
2.88	10.00	0.100	0.01	1.000	0.459
4.23	10.00	9.000	0.90	1.000	0.626
6.04	10.00	9.900	0.99	1.000	0.781

◎ 回帰式の適合度の検定 χ^2 値(P=0.05, df=1)= 3.841 (P=0.01, df=1)= 6.635

X2乗 (逸脱度) = 3.564 < 3.841 適合する

X2乗 (ピアソン) = 2.651 < 3.841 適合する

AIC = 16.31

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ 推定)	標準誤差(SE)	θ 推定/SE
const	-6.328	2.812	-2.250
log(Conc.)	10.99	4.703	2.337

WALD検定 X2値=5.461 自由度=1 有意確率=0.019

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π 推定	残差(割合)
2.88	0.100	1.004	-0.904	0.010	0.100	-0.090
4.23	9.000	7.107	1.893	0.900	0.711	0.189
6.04	9.900	9.880	0.020	0.990	0.988	0.002

◎ 診断統計量

濃度 mg/L	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化	
					逸脱度残差	ピアソン残差
2.88	8.366	0.876	-1.198	-0.951	-3.405	-2.704
4.23	10.82	0.800	1.458	1.320	3.260	2.952
6.04	1.E-5	0.324	0.061	0.059	0.074	0.072

===== EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定 =====

log(EC90)	=	0.4592	(95% Range: 0.3482 - 0.5702)
EC90 (mg/L)	=	2.8787	(95% Range: 2.2296 - 3.7167)
log(EC80)	=	0.4992	(95% Range: 0.3786 - 0.6199)
EC80 (mg/L)	=	3.1566	(95% Range: 2.3910 - 4.1673)
log(EC50)	=	0.5758	(95% Range: 0.3985 - 0.6768)
EC50 (mg/L)	=	3.7653	(95% Range: 2.5032 - 4.7510)
log(EC20)	=	0.6524	(95% Range: 0.6382 - 0.9535)
EC20 (mg/L)	=	4.4913	(95% Range: 4.3466 - 8.9837)
log(EC10)	=	0.6924	(95% Range: 0.5251 - 0.8597)
EC10 (mg/L)	=	4.9249	(95% Range: 3.3502 - 7.2397)

===== ロジット関数 =====

●● 24h Effect E(L)C50 計算 収束までの反復回数=2 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
4.23	10.00	0.100	0.01	1.000	0.626
6.04	10.00	9.900	0.99	1.000	0.781

◎ 回帰式の適合度の検定は、自由度が1のためできない

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ 推定)	標準誤差(SE)	θ 推定/SE
const	-41.80	20.57	-2.032
log(Conc.)	59.41	29.05	2.045
WALD検定	X2値=4.181	自由度=1	有意確率=0.041

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π 推定	残差(割合)
4.23	0.100	0.100	2.E-9	0.010	0.010	2.E-10
6.04	9.900	9.900	-1E-7	0.990	0.990	-1E-8

◎ 診断統計量

濃度	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化 逸脱度残差	標準化 ピアソン残差
mg/L						
4.23	2.E+12	1.000	1.E-8	7.E-9	0.159	0.116
6.04	4.E+15	1.000	-3E-7	-3E-7	-5.272	-5.252

=====EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定=====

log(EC90)	=	0.6667	(95% Range: 0.4201 - 0.9133)
EC90(mg/L)	=	4.6420	(95% Range: 2.6311 - 8.1896)
log(EC80)	=	0.6804	(95% Range: 0.4287 - 0.9320)
EC80(mg/L)	=	4.7902	(95% Range: 2.6838 - 8.5500)
log(EC50)	=	0.7037	(95% Range: 0.4434 - 0.9639)
EC50(mg/L)	=	5.0546	(95% Range: 2.7762 - 9.2030)
log(EC20)	=	0.7270	(95% Range: 0.7223 - 1.2600)
EC20(mg/L)	=	5.3336	(95% Range: 5.2760 - 18.199)
log(EC10)	=	0.7407	(95% Range: 0.4668 - 1.0146)
EC10(mg/L)	=	5.5039	(95% Range: 2.9292 - 10.342)

●● 48h Effect E(L)C50 計算 収束までの反復回数=7 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
2.88	10.00	0.100	0.01	1.000	0.459
4.23	10.00	1.000	0.10	1.000	0.626
6.04	10.00	9.900	0.99	1.000	0.781

◎ 回帰式の適合度の検定 χ^2 値(P=0.05, df=1)= 3.841 (P=0.01, df=1)= 6.635

X2乗(逸脱度) = 0.655 < 3.841 適合する

X2乗(ピアソン) = 3.957 >= 3.841 * 適合がよくない

AIC = 13.40

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ 推定)	標準誤差(SE)	θ 推定/SE
const	-25.70	10.16	-2.529
log(Conc.)	37.85	15.55	2.433
WALD検定	X2値=5.921	自由度=1	有意確率=0.015

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π 推定	残差(割合)
2.88	0.100	0.002	0.098	0.010	2.E-4	0.010
4.23	1.000	1.203	-0.203	0.100	0.120	-0.020
6.04	9.900	9.795	0.105	0.990	0.979	0.011

◎ 診断統計量

濃度 mg/L	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化	
			逸脱度残差	ピアソン残差	逸脱度残差	ピアソン残差
2.88	0.048	0.024	0.739	1.965	0.748	1.989
4.23	199.4	0.990	-0.202	-0.197	-2.041	-1.989
6.04	140.1	0.986	0.260	0.235	2.207	1.989

EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定

log (EC90)	=	0.6209	(95% Range: 0.4732 - 0.6584)
EC90 (mg/L)	=	4.1770	(95% Range: 2.9733 - 4.5538)
log (EC80)	=	0.6423	(95% Range: 0.5310 - 0.7226)
EC80 (mg/L)	=	4.3882	(95% Range: 3.3966 - 5.2792)
log (EC50)	=	0.6789	(95% Range: 0.6299 - 0.8323)
EC50 (mg/L)	=	4.7743	(95% Range: 4.2644 - 6.7969)
log (EC20)	=	0.7155	(95% Range: 0.6089 - 0.8222)
EC20 (mg/L)	=	5.1944	(95% Range: 4.0630 - 6.6409)
log (EC10)	=	0.7370	(95% Range: 0.6271 - 0.8468)
EC10 (mg/L)	=	5.4571	(95% Range: 4.2372 - 7.0282)

●● 72h Effect E(L)C50 計算 収束までの反復回数=5 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
2.88	10.00	0.100	0.01	1.000	0.459
4.23	10.00	4.000	0.40	1.000	0.626
6.04	10.00	9.900	0.99	1.000	0.781

◎ 回帰式の適合度の検定

χ^2 値 (P=0.05, df=1)= 3.841 (P=0.01, df=1)= 6.635	
X2乗 (逸脱度) = 0.060 < 3.841 適合する	
X2乗 (ピアソン) = 0.067 < 3.841 適合する	
AIC = 19.76	

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数 (θ 推定)	標準誤差 (SE)	θ 推定/SE
const	-18.72	9.013	-2.077
log (Conc.)	29.31	14.23	2.060
WALD検定	X2値=4.243	自由度=1	有意確率=0.039

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π 推定	残差(割合)
2.88	0.100	0.052	0.048	0.010	0.005	0.005
4.23	4.000	4.100	-0.100	0.400	0.410	-0.010
6.04	9.900	9.848	0.052	0.990	0.985	0.005

◎ 診断統計量

濃度 mg/L	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化	
			逸脱度残差	ピアソン残差	逸脱度残差	ピアソン残差
2.88	0.017	0.330	0.188	0.212	0.230	0.259
4.23	0.512	0.938	-0.065	-0.064	-0.260	-0.259
6.04	0.092	0.732	0.143	0.134	0.277	0.259

EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定

log (EC90)	=	0.5638	(95% Range: 0.4307 - 0.6969)
EC90 (mg/L)	=	3.6627	(95% Range: 2.6956 - 4.9766)
log (EC80)	=	0.5915	(95% Range: 0.4518 - 0.7311)
EC80 (mg/L)	=	3.9036	(95% Range: 2.8300 - 5.3843)
log (EC50)	=	0.6388	(95% Range: 0.5534 - 0.8551)
EC50 (mg/L)	=	4.3526	(95% Range: 3.5764 - 7.1633)
log (EC20)	=	0.6860	(95% Range: 0.5240 - 0.8480)
EC20 (mg/L)	=	4.8534	(95% Range: 3.3423 - 7.0477)
log (EC10)	=	0.7137	(95% Range: 0.5452 - 0.8822)

EC10(mg/L) = 5.1726 (95% Range: 3.5089 - 7.6251)

●● 96h Effect E(L)C50 計算 収束までの反復回数=6 ●●

◎ デザイン行列

濃度	n	y	y/n	Const.	log10(C)
2.88	10.00	0.100	0.01	1.000	0.459
4.23	10.00	9.000	0.90	1.000	0.626
6.04	10.00	9.900	0.99	1.000	0.781

◎ 回帰式の適合度の検定 χ^2 値(P=0.05, df=1)= 3.841 (P=0.01, df=1)= 6.635

X2乗 (逸脱度) = 0.482 < 3.841 適合する

X2乗 (ピアソン) = 1.757 < 3.841 適合する

AIC = 13.22

◎ パラメータ推定

パラメータ名	係数(θ 推定)	標準誤差(SE)	θ 推定/SE
const	-20.37	8.986	-2.267
log(Conc.)	35.73	14.85	2.406
WALD検定	X2値=5.790	自由度=1	有意確率=0.016

◎ 推定値と残差

濃度	Y	Y推定	残差(度数)	Y/n(P)	π 推定	残差(割合)
2.88	0.100	0.188	-0.088	0.010	0.019	-0.009
4.23	9.000	8.818	0.182	0.900	0.882	0.018
6.04	9.900	9.995	-0.095	0.990	0.999	-0.009

◎ 診断統計量

濃度	Cookの距離	てこ比	逸脱度残差	ピアソン残差	標準化	
mg/L					逸脱度残差	ピアソン残差
2.88	36.07	0.976	-0.224	-0.204	-1.454	-1.326
4.23	47.50	0.982	0.183	0.179	1.357	1.326
6.04	0.038	0.042	-0.631	-1.297	-0.645	-1.326

=====EC90%、80%、EC50%、20%、10%の推定=====

log(EC90)	=	0.5086	(95% Range: 0.4060 - 0.6112)
EC90(mg/L)	=	3.2257	(95% Range: 2.5468 - 4.0855)
log(EC80)	=	0.5313	(95% Range: 0.4241 - 0.6385)
EC80(mg/L)	=	3.3987	(95% Range: 2.6553 - 4.3503)
log(EC50)	=	0.5701	(95% Range: 0.3921 - 0.6222)
EC50(mg/L)	=	3.7163	(95% Range: 2.4667 - 4.1896)
log(EC20)	=	0.6089	(95% Range: 0.4996 - 0.7453)
EC20(mg/L)	=	4.0636	(95% Range: 3.1592 - 5.5627)
log(EC10)	=	0.6316	(95% Range: 0.5624 - 0.8173)
EC10(mg/L)	=	4.2816	(95% Range: 3.6512 - 6.5660)

***** END *****

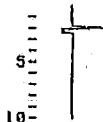
付 属 資 料 - V

濃 度 分 析 HPLC ク ロ マ ト グ ラ ム

検量線

ブランク

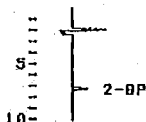
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 14:16



NO PEAKS

0.1024 mg/L

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 14:27



D-2500

01/24/11 14:27

METHOD: 2-BP

TAG: 3 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

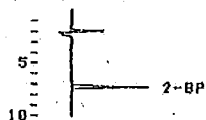
NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.18	1905	177	0.000	BB	2-BP

TOTAL		1905	177	0.000		
-------	--	------	-----	-------	--	--

PEAK REJ : 0
SF : 1.000
SAMP-AMT : 1.000

0.5120 mg/L

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 14:38



D-2500

01/24/11 14:38

METHOD: 2-BP

TAG: 4 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

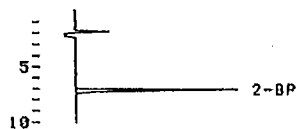
NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.18	9138	893	0.000	BB	2-BP

TOTAL		9138	893	0.000		
-------	--	------	-----	-------	--	--

PEAK REJ : 0
SF : 1.000
SAMP-AMT : 1.000

1.024 mg/L

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 14:50



D-2500

01/24/11 14:50

METHOD: 2-BP

TAG: 5 CH: 1

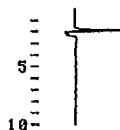
FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.18	18192	1763	0.000	88	2-BP
TOTAL		18192	1763	0.000		
PEAK REJ : 0						
SF : 1.000						
SAMP-AMT : 1.000						

暴露開始時

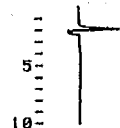
对照区

分析 16-19 N=1
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 15:04



NO PEAKS

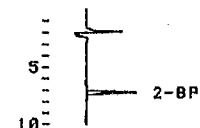
分析 16-19 N=2
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 15:15



NO PEAKS

1.5 mg/L

分析 16-20 N=1
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 15:26



0-2500

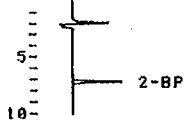
01/24/11 15:26

METHOD: 2-BP TAG: 0 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.18	5808	549	0.000	BB	2-BP
TOTAL		5808	549	0.000		
PEAK REJ : 0						
SF : 1.000						
SAMP-AMT : 1.000						

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 15:38



D-2500

01/24/11 15:38

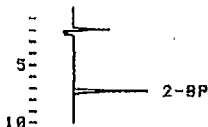
METHOD: 2-BP TAG: 9 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.18	5838	551	0.000	BB	2-BP
TOTAL		5838	551	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

10 mg/L

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 18:18



D-2500

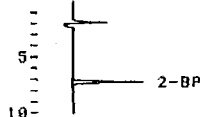
01/24/11 18:18

METHOD: 2-BP TAG: 23 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.18	8135	783	0.000	BB	2-BP
TOTAL		8135	783	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/24/11 18:30



D-2500

01/24/11 18:30

METHOD: 2-BP TAG: 24 CH: 1

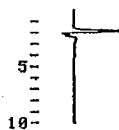
FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.18	8141	786	0.000	BB	2-BP
TOTAL		8141	786	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

48 時間換水前

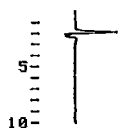
対照区

全数 16-26 n=1
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 15:01



NO PEAKS

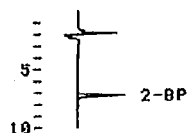
全数 16-26 n=2
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 15:12



NO PEAKS

1.5 mg/L

全数 16-27 x 2/10 n=1
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 15:23



D-2500

01/26/11 15:23

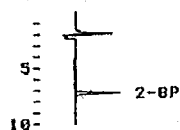
METHOD: 2-BP

TAG: 11 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.20	5216	497	0.000	BB	2-BP
TOTAL		5216	497	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 15:35



D-2500

01/26/11 15:35

METHOD: 2-BP

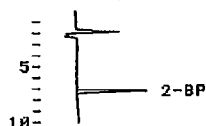
TAG: 12 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.20	5272	496	0.000	00	2-BP
TOTAL		5272	496	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-ANT :		1.000				

10 mg/L

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 17:19



D-2500

01/26/11 17:19

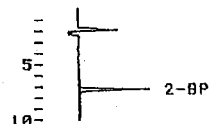
METHOD: 2-BP

TAG: 21 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.20	7902	765	0.000	00	2-BP
TOTAL		7902	765	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-ANT :		1.000				

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 17:31



D-2500

01/26/11 17:31

METHOD: 2-BP

TAG: 22 CH: 1

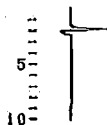
FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.20	7984	769	0.000	00	2-BP
TOTAL		7984	769	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-ANT :		1.000				

48 時間換水後

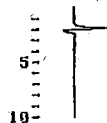
対照区

CH. 1 C.S 2.50 RTT 3 OFFS 0 01/26/11 17:43



NO PEAKS

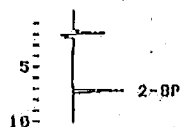
CH. 1 C.S 2.50 RTT 3 OFFS 0 01/26/11 17:54



NO PEAKS

1.5 mg/L

CH. 1 C.S 2.50 RTT 3 OFFS 0 01/26/11 18:05



D-2500

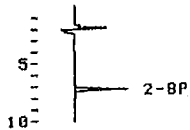
01/26/11 18:05

METHOD: 2-BP TAG: 25 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.20	6200	576	0.000	BD	2-BP
TOTAL		6200	576	0.000		
PEAK REJ		0				
SF		1.000				
SNRP-RHT		1.000				

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 18:17



D-2500

01/26/11 18:17

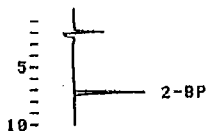
METHOD: 2-BP TAG: 26 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.21	5920	571	0.000	BB	2-BP
TOTAL		5920	571	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

4.6 mg/L

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 19:15



D-2500

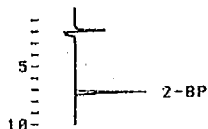
01/26/11 19:15

METHOD: 2-BP TAG: 31 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.21	7880	753	0.000	BB	2-BP
TOTAL		7880	753	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/26/11 19:27



D-2500

01/26/11 19:27

METHOD: 2-BP TAG: 32 CH: 1

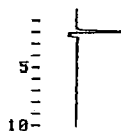
FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.21	8086	754	0.000	BB	2-BP
TOTAL		8086	754	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

96 時間暴露終了時

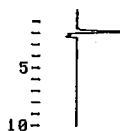
対照区

生検 16-38 n=1
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/28/11 15:49



NO PEAKS

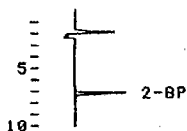
生検 16-38 n=2
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/28/11 16:01



NO PEAKS

1.5 mg/L

生検 16-38 x 2/10 n=1
CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/28/11 16:12



D-2500

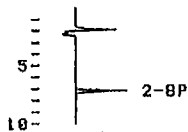
01/28/11 16:12

METHOD: 2-BP TAG: 7 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.16	5774	550	0.000	BB	2-BP
TOTAL		5774	550	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/28/11 16:24



D-2500

01/28/11 16:24

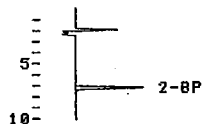
METHOD: 2-BP TAG: 9 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.14	5732	549	0.000	BB	2-BP
TOTAL		5732	549	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

4.6 mg/L

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/28/11 17:22



D-2500

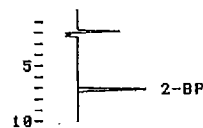
01/28/11 17:22

METHOD: 2-BP TAG: 13 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.16	8015	764	0.000	BB	2-BP
TOTAL		8015	764	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				

CH. 1 C.S 2.50 ATT 3 OFFS 0 01/28/11 17:33



D-2500

01/28/11 17:33

METHOD: 2-BP TAG: 14 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: EXT-STD TABLE: 1 CONC: HEIGHT

NO.	RT	AREA	HEIGHT	CONC	BC	NAME
1	7.16	7659	763	0.000	BB	2-BP
TOTAL		7659	763	0.000		
PEAK REJ :		0				
SF :		1.000				
SAMP-AMT :		1.000				