

試 験 報 告 書

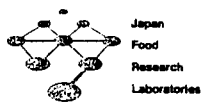
プロピレングリコールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

(試験番号：第 0 7 0 1 3 号)

平成 8 年 3 月 2 9 日 作成

財団法人  日本食品分析センター

 多摩研究所



陳 述 書

試験委託者： 環境庁

試験の表題： プロピレングリコ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 7 0 1 3 号

上記試験は、環境庁 G L P 「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。

1996 年 3 月 29 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： プロピレングリコ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 7 0 1 3 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	1995年11月 7日 ～1996年 3月29日	1995年11月 7日 ～1996年 3月29日
試験報告書監査	1996年 3月29日	1996年 3月29日

1996 年 3 月 29 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



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	6
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 (ErC50) の算出	7
4.3 最大無作用濃度 (NOECr) 及び最小作用濃度 (LOECr)	7
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	9
5.3 ミジンコの観察結果	9
5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)	10
5.5 50%繁殖阻害濃度 (ErC50)	10
5.6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOECr) 及び最小作用濃度 (LOECr) ..	10
5.7 試験水のpH, 溶存酸素濃度及び水温	10
Table 1~10	11~20
Figure 1	15
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

プロピレングリコ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

プロピレングリコールについて、オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験を21日間行い、繁殖状態に対照区と有意差の認められない最高濃度 (NOECr) 及び産仔数を50%減少させると算定される濃度 (50%繁殖阻害濃度: ErC50) を求める。

3. 適用ガイドライン

本試験は、OECD化学品テストガイドライン 202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」(1984年) に準拠した。

4. 適用GLP

本試験は環境庁GLP「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：東京都千代田区霞が関1-2-2

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5-2-1

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6-11-10

8. 試験関係者

試験責任者

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

生物系試験担当者

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

理化学系試験担当者

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

[Redacted Name]

(平成 8 年 3 月 29 日)

9. 試験期間

試験開始日：平成 7 年 11 月 7 日

試験終了日：平成 8 年 3 月 29 日

曝露期間：平成 8 年 1 月 10 日～平成 8 年 1 月 31 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

プロピレングリコ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 7 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）に準拠して実施した。

- 1) 被験物質：プロピレングリコール
- 2) 曝露方法：半止水式（週3回 全量換水）
- 3) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 試験水温： $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 5) 曝露期間：21日間
- 6) 試験水量：400ml
- 7) 連 数：1濃度区 4連
- 8) 生 物 数：40頭／1濃度区（1連につき10頭，1濃度区40頭）
- 9) 照 明：16時間明／8時間暗
- 10) 通 気：有り
- 11) 試験濃度：対照区，100，320及び1,000mg/L
- 12) 試験水中の被験物質の分析：ガスクロマトグラフ法（開始時，2日後の換水前，7日後の換水後，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

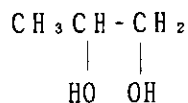
- 1) 21日間の親ミジンコの半数致死濃度
LC50 (21days) = 1,000mg/L以上
- 2) 21日間の50%繁殖阻害濃度
ErC50 (21days) = 1,000mg/L以上
- 3) 最大無作用濃度 (NOECr) = 1,000mg/L
- 4) 対照区と有意差の認められる最低濃度 (LOECr) = 1,000mg/L以上
（上記濃度は，全て設定値に基づく値）

1 被験物質

1.1 名称、構造式及び物理化学的性状

名称：プロピレングリコール

構造式：



分子式：C₃H₈O₂

分子量：76.10

安定性：—

P_{ow}：-1.41~-0.30

pKa：—

水への溶解度：可溶

蒸気圧：0.2mmHg（20℃）

1.2 供試試料

購入先：[REDACTED]

入手先：[REDACTED]

入手日：平成7年11月 1日

ロット番号：703S1954

外 観：無色液体

純 度：99.5%以上

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（室温）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時間以内のオオミジンコ (*Daphnia magna*) の幼体を用いた。

本種は、国立環境研究所より入手したものを、多摩研究所において継代飼育しているものである。

供試ミジンコにおける基準物質（重クロム酸カリウム、試薬特級）による急性遊泳阻害試験の48時間 EC_{50} 値は0.52mg/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（1L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0.1～0.2mgC(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3回，全量換水）
- 2) 温度：20±1℃
- 3) 曝露期間：21日間
- 4) 生物数：40頭/1濃度区（1連 10頭，1濃度区 40頭）
- 5) 試験水量：400ml
- 6) 連数：1濃度区 4連
- 7) 餌：*Chlorella vulgaris*
- 8) 給餌：ミジンコ1頭当たり0.1～0.2mgC(有機体炭素含量)/日の割合で与えた。
- 9) 照明：16時間明／8時間暗
- 10) 通気：有り（被験物質が酸素を消費するため，通気を行った。）

3.2 希釈水

希釈水は脱塩素水（東京都水道水を活性炭処理し，残留塩素を除去したもので，充分通気した。）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7.1～7.7及び75～82mg/L（CaCO₃換算）であった。

3.3 試験容器及び恒温室等

試験容器：500ml容ガラス製密封瓶

恒温室：ER-35VS（日立冷熱株式会社）

温度計：AP-210（安立計器株式会社）

pH計：HM-11P（東亜電波工業株式会社）

溶存酸素計：DO-14P（東亜電波工業株式会社）

3.4 試験濃度の設定

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1,000mg/L以上であったため，1,000mg/L以下の濃度を公比3.2で3段階設定した。各濃度区は以下のとおりである。

（対照区，100，320及び1,000mg/L）

3.5 試験水の調製

被験物質は水に溶解させ，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，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，開始時，2日後の換水前，7日後の換水後，9日後の換水前，14日後の換水後及び16日後の換水前に各濃度区の試験容器（4連）より試験水各5mlを等量混合（計20ml）し，分析用試験水とした。

試験水は，速やかにガスクロマトグラフィー質量分析計（ヘッドスペース法）を用いて分析した。試験水の分析に際しては，標準溶液のピーク面積比を用いて検量線を作成し，試験水より得られたピーク面積比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（DO）及び水温を測定後，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10頭ずつ（1濃度区当たり40頭）投入した。その際，試験水量に対して，ピペット内の飼育水は全量で1%以内を目安とした。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。また，換水前後及び終了時にpH，溶存酸素濃度及び水温を測定した。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

毎日、生存数、遊泳阻害数、大きさと状態（対照区と比較）及び育房内に卵を持つ個体数について観察した。観察後、親ミジンコの死亡個体は取り除いた。

2) 産出幼体

3回／週の頻度で、幼体の生死の数及び大きさ、休眠卵の発生等について観察し、計数後の幼体は取り除いた。また、最初の幼体産出日を記録した。

3.7.2 pH

対照区及び最高濃度区について、換水前後に測定した。

3.7.3 溶存酸素濃度（D0）

全ての試験容器について、換水前後に測定した。

3.7.4 水温

全濃度区（但し、各1試験容器）について、換水前後に測定した。

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（40頭）から死亡率（%）及び半数致死濃度（LC50）を算出した。

4.2 50%繁殖阻害濃度（ErC50）の算出

1) 累積産仔数の算出

各試験容器における親1頭当たりの試験期間中の累積産仔数（TF）及び平均累積産仔数（TF）を以下の式より求めた。

$$TF = \sum_{n=1}^{n_e} \frac{2 \times F_n}{P_{n-1} + P_n}$$

n : 幼体観察回数

F_n : n 回目の幼体数（但し，生存幼体）

P_n : 曝露開始後 n 回目の観察時の親の数

P_{n-1} : $n-1$ 回目の親の数

P_0 : 曝露開始時の親の数

n_e : 最終観察回

（但し， $P_{n-1} + P_n$ が0の場合は無視した。）

$$\overline{TF} = \frac{\sum_{n=1}^m TF_n}{m}$$

TF_n : 各試験容器の累積産仔数

m : 濃度区当たりの系列数（試験容器数：4）

2) ErC50値の算出

14及び21日目の50%繁殖阻害濃度（ErC50）を対照区の平均累積産仔数に対する各濃度区の平均累積産仔数から算出した。

4.3 最大無作用濃度（NOECr）及び最小作用濃度（LOECr）

4.2に示したように各試験容器毎の親1頭当たりの累積産仔数を算出し，全濃度区及び対照区で一元配置分散分析（有意水準 5%）を行った。有意差が認められた場合は各濃度区と対照区とをダネット（Dunnett）法により比較（片側，有意水準 5%）し，対照区と有意差の認められない最高濃度区の濃度を最大無作用濃度（NOECr）及び有意差の認められる最低濃度区の濃度を最小作用濃度（LOECr）とした。

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日後の換水後における試験水中の被験物質濃度はそれぞれ96～924mg/L、92～979mg/L及び92～967mg/L（設定値 100～1,000mg/L）であり、設定値に対する割合は92～108%であった。また、それらの2日後（換水前）の濃度はそれぞれ100～962mg/L、84～973mg/L及び86～1,050mg/L（設定値 100～1,000mg/L）であり、設定値に対する割合は84～109%であった。

[Table 1-1, 1-2 (p.11, 12), 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、1,000mg/L濃度区（以下設定濃度）以下で0頭（0%）であった。なお、対照区での親ミジンコの死亡率は曝露終了時で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.13), 付属資料-3]

2) 初産日

各濃度区における親ミジンコの初産日は8日目であった。なお、対照区での親ミジンコの初産日は8日目であり、試験成立条件である9日以内の基準を満たした。

[Table 3 (p.14), 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1,000mg/L濃度区（以下設定濃度）の86.95頭であり、最大値は320mg/L濃度区の92.63頭であった。なお、対照区の平均累積産仔数は74.35頭であり、試験成立条件である20頭以上の基準を満たした。

[Table 4 (p.15), Figure 1 (p.15)]

4) 親ミジンコの大きさと状態

全濃度区で対照区と比べて親ミジンコの大きさと状態に差は認められなかった。

5) 休眠卵の発生等

各濃度区及び対照区共に休眠卵は発生しなかった。

5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)

プロピレングリコールの設定濃度に基づく21日間の半数致死濃度 (LC50) は 1,000mg/L以上であった。

[Table 5 (p.16)]

5.5 50%繁殖阻害濃度 (ErC50)

14及び21日間の50%繁殖阻害濃度 (ErC50) は, 1,000mg/L以上であった。

[Table 6 (p.16)]

5.6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOECr) 及び最小作用濃度 (LOECr)

親ミジンコ1頭当たりの累積産仔数に及ぼす21日間の最大無作用濃度 (NOECr) は 1,000mg/L (設定濃度) であり, 最小作用濃度 (LOECr) は 1,000mg/L (設定濃度) 以上であった。

[Table 7 (p.17)]

5.7 試験水のpH, 溶存酸素濃度及び水温

21日間の試験期間中のpHは7.4~8.2であった。

溶存酸素濃度 (DO) は6.2~9.6mg/Lであり, すべての試験容器で飽和溶存酸素濃度の60%以上であった (20.0℃の飽和溶存酸素濃度: 8.8mg/L)。

水温は19.0~20.2℃であり, 設定どおりであった。

[Table 8 (p.18) , Table 9 (p.19) , Table 10 (p.20)]

以 上

Table 1-1. Measured Concentrations of Propylene glycol During a 21-day
Exposure of *Daphnia magna* under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)			Percent of Nominal	
	0 day new	2 days old	Geometric Mean	0 day new	2 days old
Control	< 1	< 1	----	----	----
100	96	100	98	96	100
320	312	337	324	98	105
1,000	924	962	943	92	96

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)			Percent of Nominal	
	7 days new	9 days old	Geometric Mean	7 days new	9 days old
Control	< 1	< 1	----	----	----
100	92	84	88	92	84
320	346	349	348	108	109
1,000	979	973	976	98	97

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration (mg/L)			Percent of Nominal	
	14 days new	16 days old	Geometric Mean	14 days new	16 days old
Control	< 1	< 1	----	----	----
100	92	86	89	92	86
320	311	332	321	97	104
1,000	967	1,050	1,010	97	105

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2 days exposure period

Table 1-2. The Mean Value of Exposure each Period for Measured Concentration of Propylene glycol During a 21-day Exposure of *Daphnia magna* under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	The Mean Value of Measured Concentration (mg/L)		
	0-7days	0-14days	0-21days
Control	< 1	< 1	< 1
100	98	93	92
320	324	336	331
1,000	943	960	976

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
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
320	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,000	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
100	0	0	0	0	0	0
320	0	0	0	0	0	0
1,000	0	0	0	0	0	0

Table 3. Time (days) to First Brood Production

Vessel No.	Nominal Concentration (mg/L)			
	Control	100	320	1,000
1	8	8	8	8
2	8	8	8	8
3	8	8	8	8
4	8	8	8	8
mean	8.0	8.0	8.0	8.0

Table 4. Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced Per Adult ($\Sigma F1/P$)

Nominal Conc. (mg/L)	Days									
	0	2	5	7	9	12	14	16	19	21
Control	0	0	0	0	6.90	18.88	28.13	44.68	63.35	74.35
100	0	0	0	0	9.70	25.88	36.25	54.73	80.23	89.60
320	0	0	0	0	7.08	23.23	41.50	52.88	76.90	92.63
1.000	0	0	0	0	10.13	27.35	37.60	56.25	78.48	86.95

Figure 1. Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced Per Adult ($\Sigma F1/P$)

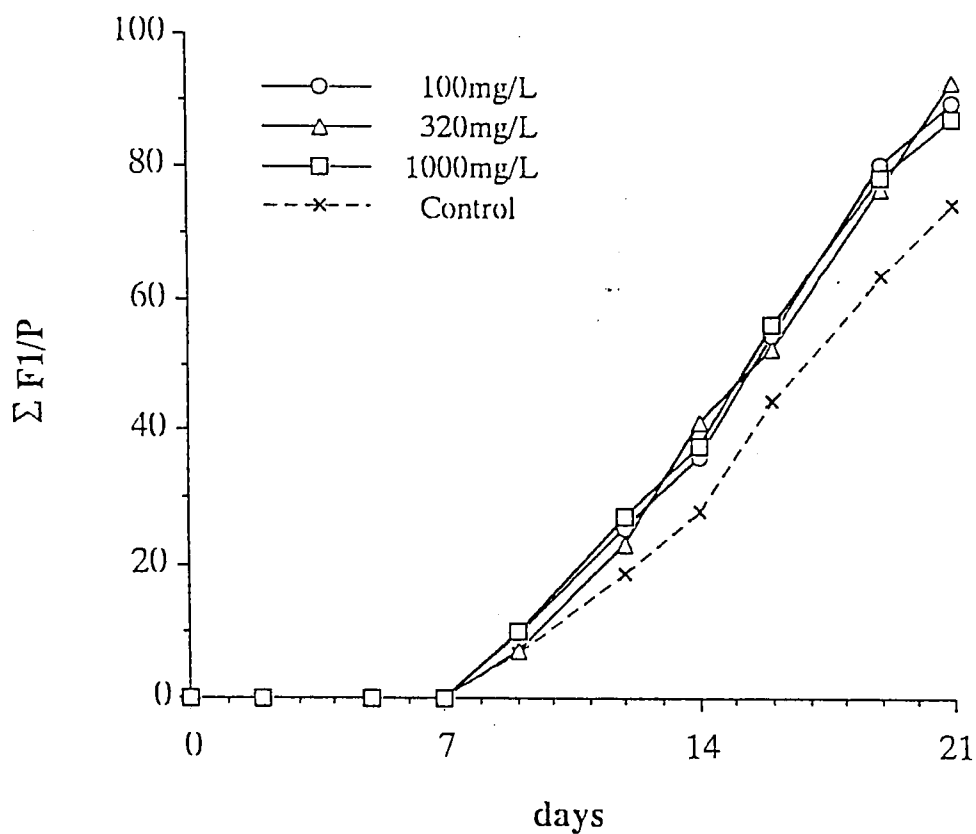


Table 5. Calculated LC50 Values for *Daphnia magna* Exposed to Propylene glycol Based on Nominal Concentration under Semi-Static Test Condition

Exposure Period (days)	LC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
1	> 1,000	not calculated	----
2	> 1,000	not calculated	----
4	> 1,000	not calculated	----
7	> 1,000	not calculated	----
14	> 1,000	not calculated	----
21	> 1,000	not calculated	----

Table 6. Calculated ErC50 Values for Inhibition of Reproduction Exposed to Propylene glycol Based on Nominal Concentration

Exposure Period (days)	ErC50 (mg/L)	95-Percent Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
14	> 1,000	not calculated	----
21	> 1,000	not calculated	----

Table 7. Significance Test of Difference Between the Mean Cumulative Number of Juveniles Produced Per Adult in Control and Test Vessels after 21days

Vessel No.	Nominal Concentration (mg/L)			
	Control	100	320	1,000
1	85.30	91.30	85.90	83.80
2	60.50	88.50	95.90	85.30
3	75.60	81.90	84.50	86.40
4	76.00	96.70	104.20	92.30
Mean	74.35	89.60	92.63	86.95
S. D.	8.89	5.33	8.00	3.22
F-test	F value	2.777	1.235	7.602
	Equality	Yes	Yes	Yes
t-test	t value	-2.548	-2.648	-2.308
	Significant(95%)	No	No	No

Analysis of variance (one-way layout)

ANOVA Table

Source	Sum of Sq.	DF	Mean Sq.	F ratio	f(3, 12, 0.05)
Among	774.0	3	257.98	4.2563	3.490
Within	727.3	12	60.611		
Total	1,501.3	15	---		

Dunnett type multiple comparisons

Comparison groups	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$	Significant difference (95%)
100 mg/L vs. Cont.	- 15.25	No
320 mg/L vs. Cont.	- 18.28	No
1,000 mg/L vs. Cont.	- 12.60	No

No observed effect concentration (NOECr) = 1,000mg/L

Lowest effect concentration (LOECr) = > 1,000mg/L

Table 8. Temperature Values During a 21-day *Daphnia magna* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Temperature (°C)

days	Nominal Concentration (mg/L)			
	Control	100	320	1,000
0 new	19.2	19.5	19.1	19.2
2 old	19.3	19.0	19.1	19.2
2 new	19.6	19.6	19.6	19.6
5 old	19.4	19.3	19.6	19.4
5 new	19.5	19.5	19.4	19.5
7 old	19.8	19.5	20.1	19.4
7 new	19.5	19.6	19.5	19.6
9 old	20.1	19.8	20.1	20.0
9 new	19.4	19.3	19.3	19.3
12 old	19.4	19.5	19.5	19.3
12 new	19.3	19.4	19.5	19.4
14 old	19.6	19.2	19.4	19.5
14 new	19.9	19.6	20.0	19.8
16 old	19.3	19.4	19.3	19.4
16 new	19.2	19.2	19.2	19.2
19 old	20.4	20.2	20.2	20.1
19 new	19.3	19.3	19.3	19.3
21 old	20.2	19.4	19.9	19.3

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2 days exposure

Table 9. Dissolved Oxygen Concentration (DO) During a 21-day *Daphnia magna* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

DO (mg/L)

days	Nominal Concentration (mg/L)			
	Control	100	320	1,000
0 new	9.3-9.4	9.3	9.3	9.2-9.3
2 old	9.7-9.8	9.4-9.5	9.3-9.4	9.2-9.5
2 new	9.4-9.6	9.3-9.4	9.4-9.5	9.5
4 old	8.7-8.8	8.6-8.7	8.6-8.8	8.6-8.7
4 new	8.6-8.7	8.7-8.8	8.7-8.8	8.7
7 old	9.1-9.4	8.9-9.0	8.5-9.1	8.8-9.2
7 new	9.4-9.5	8.8-9.1	9.0-9.2	9.1-9.2
9 old	9.0-9.1	8.2-8.3	7.7-8.7	7.7-8.3
9 new	9.0-9.1	9.0-9.1	9.2	9.0-9.1
12 old	9.2-9.3	8.5-9.0	8.4-8.7	8.6-8.7
12 new	9.4	9.4-9.5	9.4-9.5	9.5-9.6
14 old	8.7-8.8	7.8-8.2	7.8-8.2	7.9-8.3
14 new	9.0-9.1	8.9	9.0	8.8-8.9
16 old	8.8-9.0	6.2-7.9	8.0-8.7	7.8-8.0
16 new	9.2-9.3	9.1-9.2	9.1-9.2	9.0-9.1
19 old	9.0-9.4	8.1-8.4	7.6-8.3	7.9-8.9
19 new	9.3	9.2-9.3	9.2-9.3	9.4
21 old	8.6-8.8	8.0-8.3	8.2-8.6	8.1-8.2

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2 days exposure

Table 10. pH During a 21-day *Daphnia magna* Reproduction Inhibition Test
(Semi-Static Test)

pH		
	days	Nominal Concentration (mg/L)
		Control 1,000
	0 new	7.8 7.7-7.8
	2 old	7.7-7.8 8.2
	2 new	7.7 7.8
	5 old	7.9 7.7
	5 new	7.8 7.8
	7 old	7.5 7.4-7.5
	7 new	7.7-7.8 7.3-7.6
	9 old	7.5-7.6 7.8-7.9
	9 new	7.5-7.6 7.9
	12 old	7.6 7.4-7.5
	12 new	7.5-7.6 7.5-7.6
	14 old	7.5 7.4
	14 new	7.6 7.6
	16 old	7.5-7.6 7.4
	16 new	7.6-7.7 7.6
	19 old	7.5-7.6 7.4-7.5
	19 new	7.6 7.6
	21 old	7.6 7.5-7.6

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2 days exposure

付 属 資 料 ー 1

希 釈 水 の 水 質
(全 1 頁)

Water Quality of Dilution Water

Parameter	Concentration
COD	1.4 mg/L
Phosphorus	< 0.01 mg/L
pH	7.7(22°C)
Coliform organisms	ND
Mercury	< 0.0001 mg/L
Copper	< 0.01 mg/L
Cadmium	< 0.001 mg/L
Zinc	0.010 mg/L
Lead	< 0.005 mg/L
Aluminium	< 0.05 mg/L
Nickel	0.003 mg/L
Chromium(VI)	< 0.005 mg/L
Manganese	< 0.005 mg/L
Tin	< 0.1 mg/L
Iron	< 0.03 mg/L
Cyanide	< 0.1 mg/L
Free residual chlorine	< 0.01 mg/L
Bromide	< 0.5 mg/L
Fluoride	0.14 mg/L
Sulfide	< 0.01 mg/L
Ammonium	0.05 mg/L
Arsenic	< 0.001 mg/L
Selenium	< 0.001 mg/L
Total residue	190 mg/L
Electric conductivity	290 μ S/cm
Total hardness (as CaCO ₃)	86 mg/L
Alkalinity	41 mg/L
Sodium	18 mg/L
Potassium	3.1 mg/L
Calcium	26 mg/L
Magnesium	5.2 mg/L
PCB	< 0.0005 mg/L
Organophosphate	< 0.02 mg/L

Date : November 13, 1995

付 属 資 料 ― 2

試験水の分析方法
(全9頁)

試験水の分析方法

1 試験方法

① 試料溶液の調製

a) 1,000mg/L及び580mg/L濃度区の試験水

試験水5mlを正確に量り、水を用いて100mlに定容し、これを試料溶液とした。

b) 320mg/L, 180mg/L及び100mg/L濃度区の試験水

試験水5mlを正確に量り、水を用いて50mlに定容し、これを試料溶液とした。

c) 対照区の試験水

そのまま試料溶液とした。

② 標準溶液の調製

標準品約0.05gを精密に量りとり、水に溶解して50mlに定容し、これを標準原液とした。この標準原液を水を用いて適宜希釈し、1, 5, 25, 50 μ g/mlの標準溶液を調製した。

③ 定量

①及び②で調製した試料溶液及び標準溶液各々2 μ lを正確に量り、ガスクロマトグラフに注入しプロピレングリコール含量を測定した。

2 ガスクロマトグラフ操作条件

機 種：GC-14A（島津製作所）

検 出 器：FID

カ ラ ム：DB-WAX, ϕ 0.53mm \times 20m, 膜厚 1.0 μ m

温 度：注入口・検出器 250 $^{\circ}$ C

：カラム100 $^{\circ}$ C（1min保持） \rightarrow 5 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 150 $^{\circ}$ C

導 入 系：スプリットレス

ガス圧力：キャリアーガス He 0.7kg/cm², 水素 0.6kg/cm², 空気 0.5kg/cm²

データ処理装置：クロマトパック C-R4A（島津製作所）

3 検量線

1で調製した標準溶液2 μ lをガスクロマトグラフに注入し、ピーク高とプロピレングリコールの注入量から検量線を作成した。

4 添加回収試験

対照区の試験水に濃度が100mg/Lになるようにプロピレングリコールを添加し、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89.4%, 92.7%, 93.3% (平均91.8%) であった。

Figure 1 Calibration Curve of Propylene glycol by GC analysis

Input data		
No.	ng Injected	Peak Hight μV
1	2	295
2	10	1,421
3	50	7,242
4	100	14,982

$$Y(\text{Peak Hight}) = -83.83 + 149.8478 \times (\text{ng Injected})$$

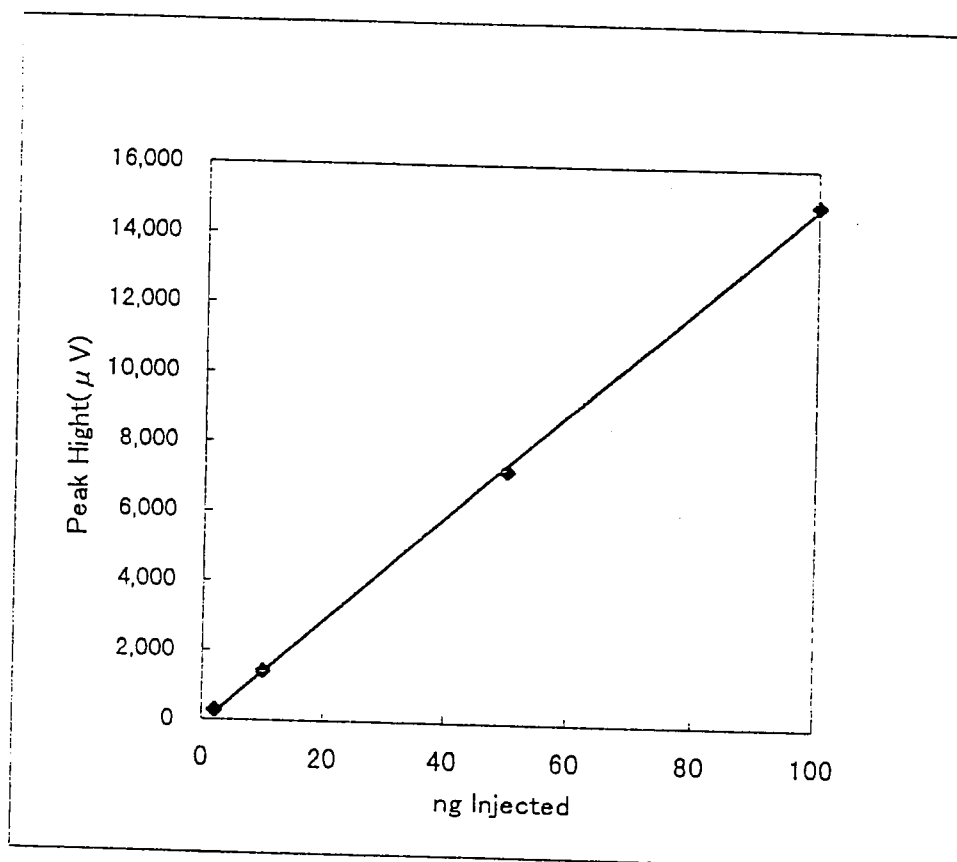
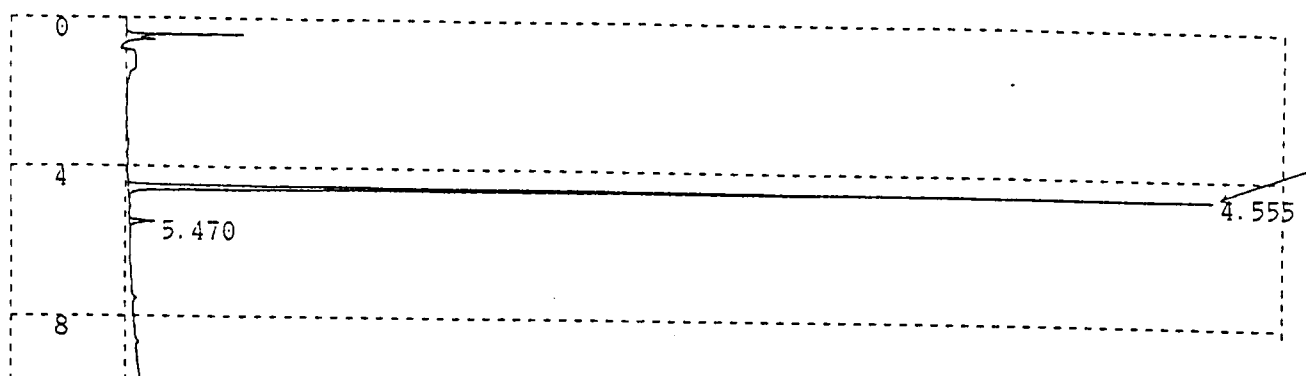


Figure 2 Representative chromatograms

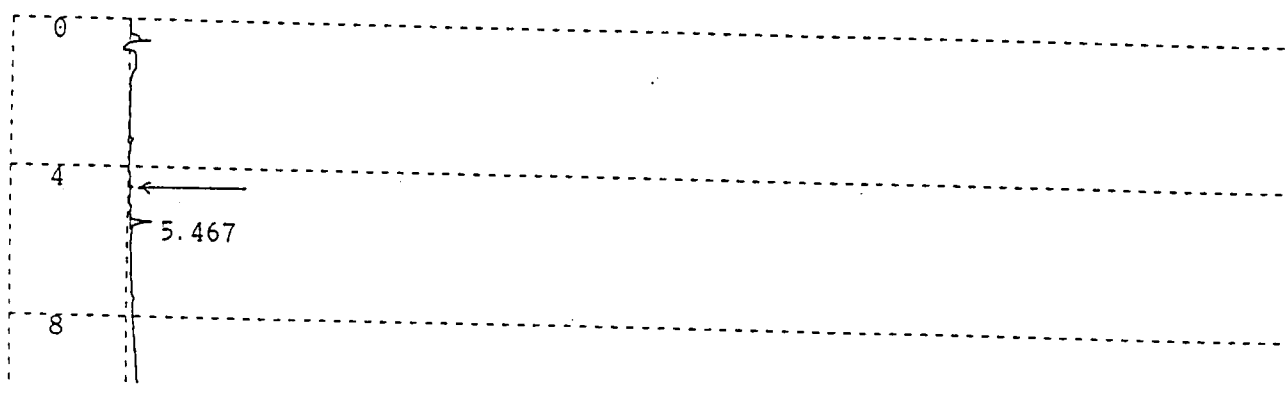
1) Standard (50mg/L) ; 0 day



** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.555	58559	14982		1		
	3	5.47	1940	365				7'0t'vG
TOTAL			60499	15347			0	

2) Control ; 0 day

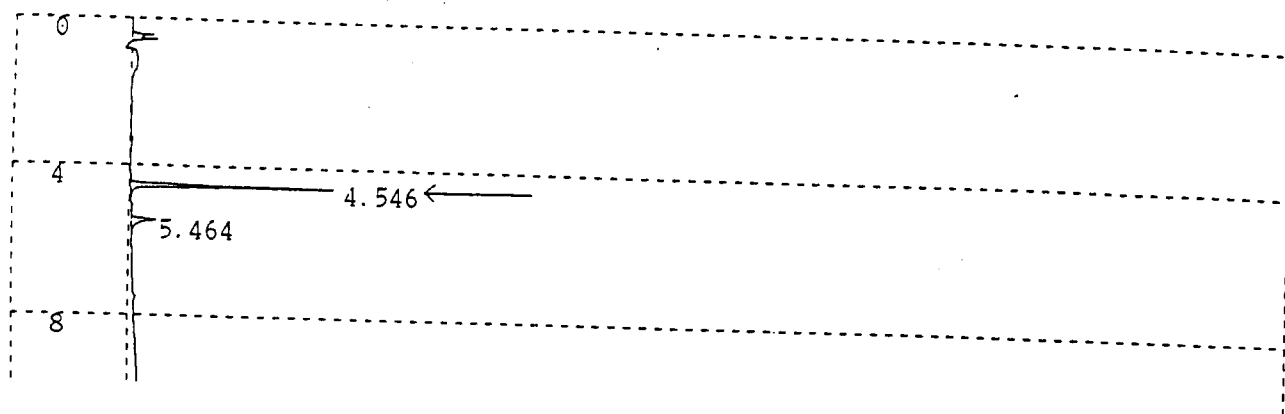


** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	4	5.467	1757	293				
TOTAL			1757	293			0	

Figure 2 Representative chromatograms

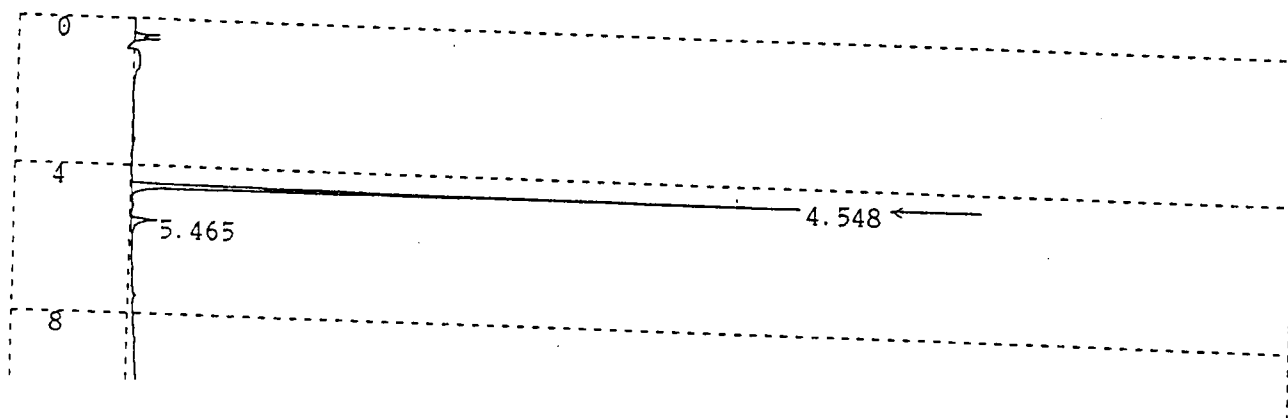
3) test solution (100mg/L); 0 day



** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.546	11112	2792		1		7'0t'レNG
	3	5.464	2468	341				
TOTAL			13580	3134			0	

4) test solution (320mg/L); 0 day

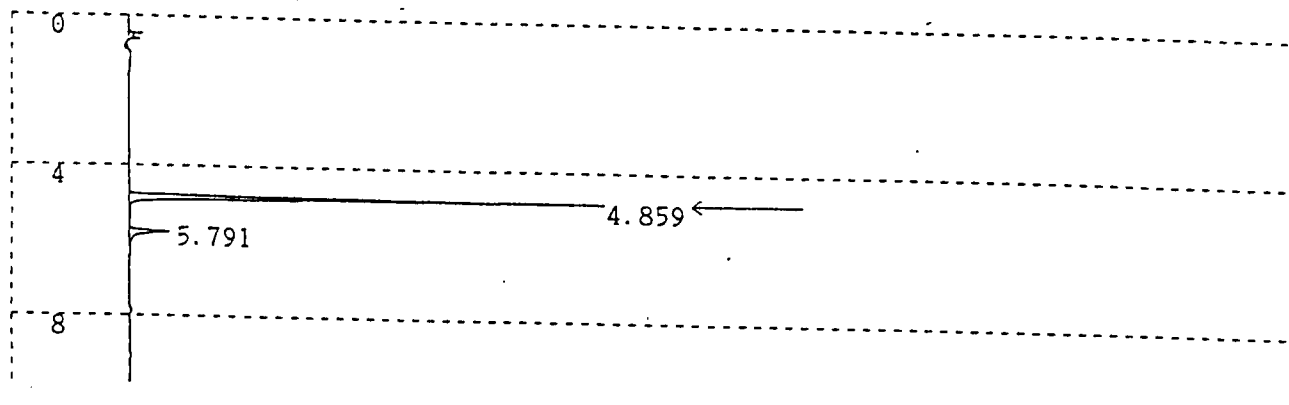


** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.548	37041	9218		1		7'0t'レNG
	3	5.465	2428	352				
TOTAL			39468	9569			0	

Figure 2 Representative chromatograms

5) test solution (1000mg/L); 0 day

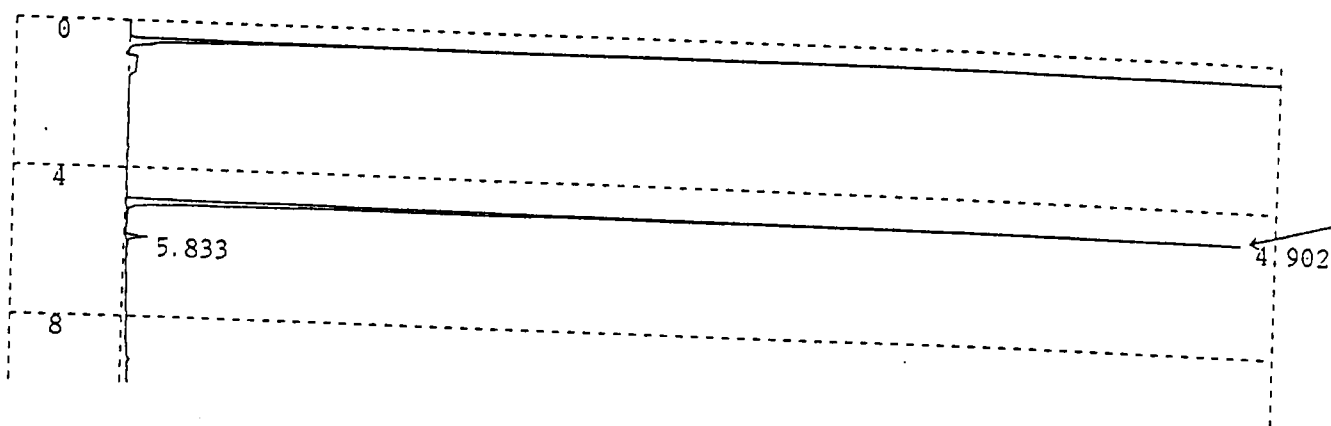


** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.859	29826	6552		1		
	3	5.791	3563	550				7'0t'vG
TOTAL			33388	7103			0	

Figure 2 Representative chromatograms

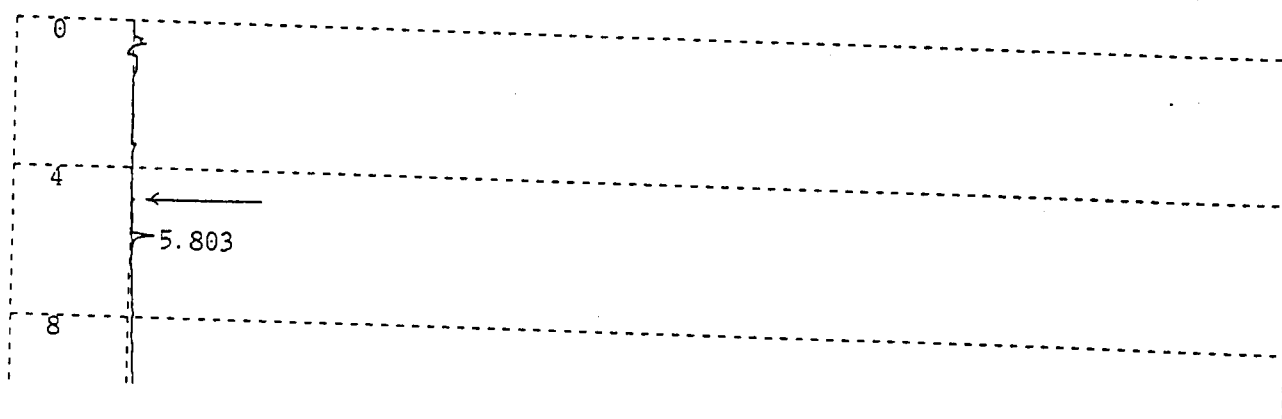
1) Standard (50mg/L) ; 2 days



** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.902	62340	15496		1		
	2	5.833	1466	291				7'0t'vG
TOTAL			63806	15786			0	

2) Control ; 2 days

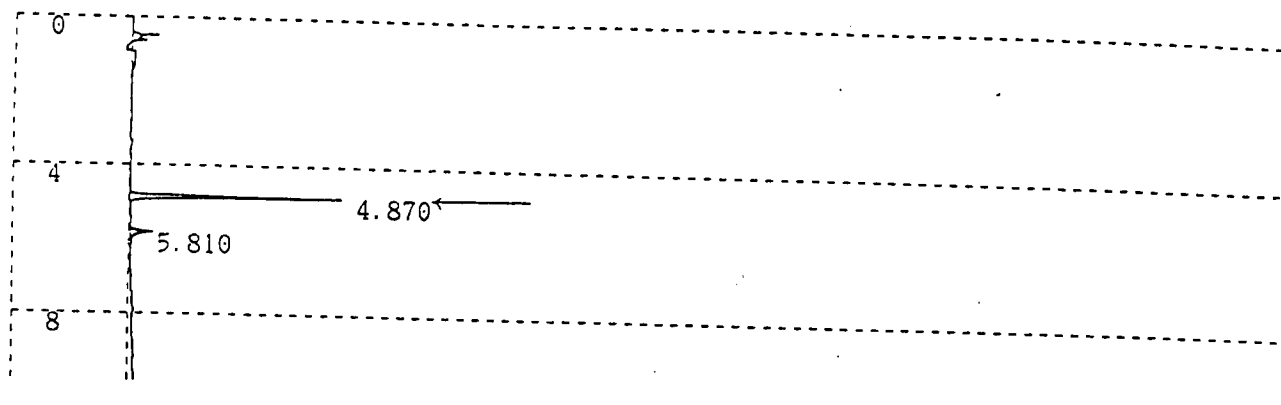


** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	3	5.803	1931	310				
TOTAL			1931	310			0	

Figure 2 Representative chromatograms

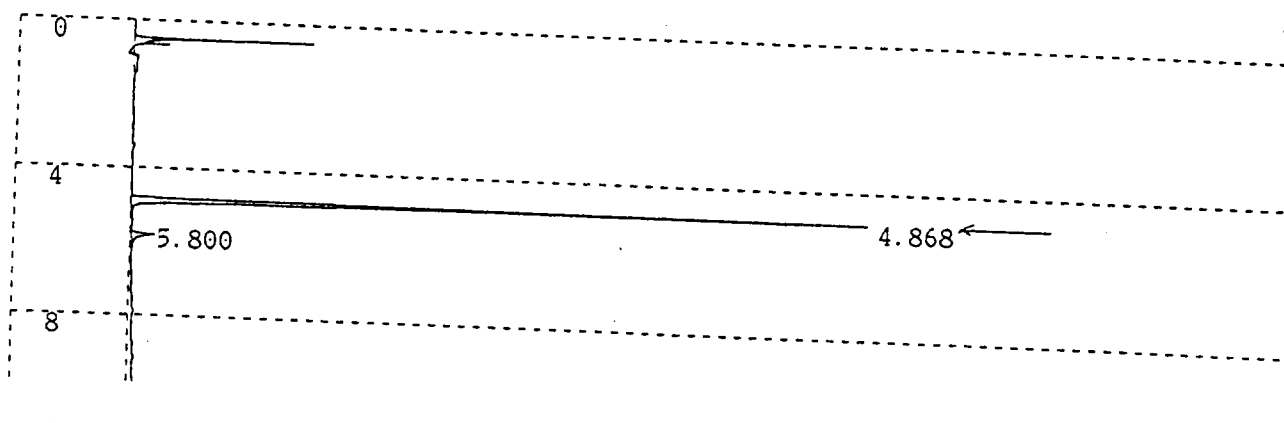
3) test solution (100mg/L) ; 2 days



** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.87	11744	2903		1		7-04-12G
	3	5.81	1622	293				
TOTAL			13365	3196			0	

4) test solution (320mg/L) ; 2 days

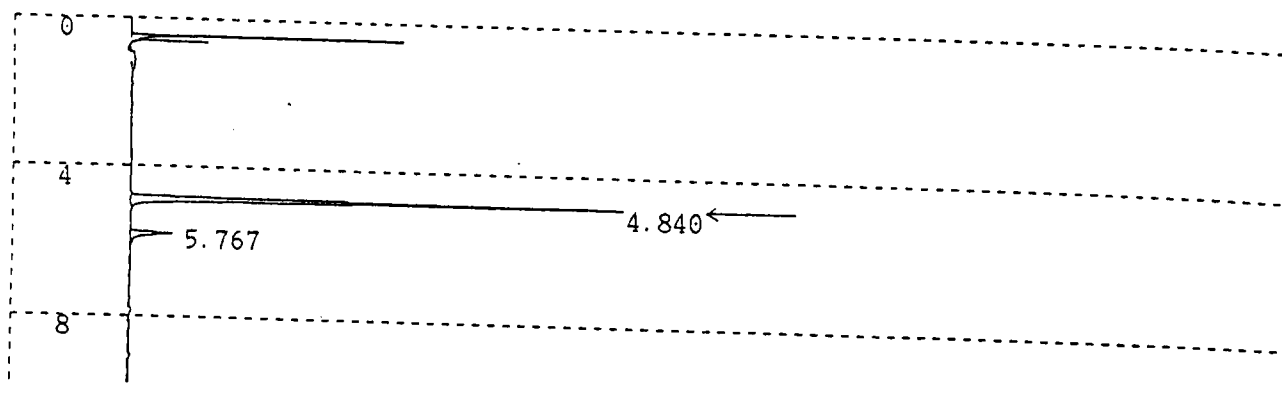


** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	2	4.868	40628	10151		1		7-04-12G
	3	5.8	2051	307				
TOTAL			42679	10458			0	

Figure 2 Representative chromatograms

5) test solution (1000mg/L) ; 2 days



** 定量計算結果 **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	4.84	32324	6835		1		
	2	5.767	3673	559				7'0t'V7G
TOTAL			35997	7394			0	

付 属 資 料 ー 3

ミジンコの観察結果

(全4頁)

Appendix 3-1 Result of Reproduction Test

		(Propylene glycol				Test conc. :		0 mg/L,		Dispersant conc. :		0 mg/L)														
		Time																								
Counts		1/11	1/12	1/13	1/14	1/15	1/16	1/17	1/18	1/19	1/20	1/21	1/22	1/23	1/24	1/25	1/26	1/27	1/28	1/29	1/30	1/31	Total			
No.		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d				
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---			
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---			
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	76	---	---	139	---	113	---	146	---	---	201	---	178	853		
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	2	---	0	---	2	---	---	0	---	2	6		
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	76	---	---	141	---	113	---	148	---	---	201	---	180	859		
Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	7.60	---	---	13.90	---	11.30	---	14.60	---	---	20.10	---	17.80	85.30			
Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	7.60	---	---	21.50	---	32.80	---	47.40	---	---	67.50	---	85.30	---			
2	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---			
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---			
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	65	---	---	75	---	71	---	157	---	---	198	---	39	605		
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	6	---	2	---	---	0	---	0	8		
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	65	---	---	75	---	77	---	159	---	---	198	---	39	613		
Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	6.50	---	---	7.50	---	7.10	---	15.70	---	---	19.80	---	3.90	60.50			
Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	6.50	---	---	14.00	---	21.10	---	36.80	---	---	56.60	---	60.50	---			
3	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---			
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---			
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	67	---	---	120	---	102	---	194	---	---	156	---	117	756		
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	0	0		
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	67	---	---	120	---	102	---	194	---	---	156	---	117	756		
Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	6.70	---	---	12.00	---	10.20	---	19.40	---	---	15.60	---	11.70	75.60			
Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	6.70	---	---	18.70	---	28.90	---	48.30	---	---	63.90	---	75.60	---			
4	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---			
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---			
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	68	---	---	145	---	84	---	165	---	---	192	---	106	760		
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	6	---	1	---	8	---	---	2	---	3	20		
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	68	---	---	151	---	85	---	173	---	---	194	---	109	780		
Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	6.80	---	---	14.50	---	8.40	---	16.50	---	---	19.20	---	10.60	76.00			
Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	6.80	---	---	21.30	---	29.70	---	46.20	---	---	65.40	---	76.00	---			

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

Appendix 3-2 Result of Reproduction Test

(Propylene glycol Test conc.: 100 mg/L, Dispersant conc.: 0 mg/L)

No.	Counts		Time																					Total
			1/11	1/12	1/13	1/14	1/15	1/16	1/17	1/18	1/19	1/20	1/21	1/22	1/23	1/24	1/25	1/26	1/27	1/28	1/29	1/30	1/31	
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	101	---	---	160	---	131	---	105	---	---	321	---	95	913
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	14	---	0	14
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	101	---	---	160	---	131	---	105	---	---	335	---	95	927
	Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	10.10	---	---	16.00	---	13.10	---	10.50	---	---	32.10	---	9.50	91.30
	Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	10.10	---	---	26.10	---	39.20	---	49.70	---	---	81.80	---	91.30	---
2	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	117	---	---	167	---	99	---	205	---	---	228	---	69	885
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	3	---	3	---	0	---	---	0	---	0	6
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	117	---	---	170	---	102	---	205	---	---	228	---	69	891
	Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	11.70	---	---	16.70	---	9.90	---	20.50	---	---	22.80	---	6.90	88.50
	Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	11.70	---	---	28.40	---	38.30	---	58.80	---	---	81.60	---	88.50	---
3	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	80	---	---	161	---	40	---	266	---	---	210	---	62	819
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	2	---	0	---	0	---	---	0	---	0	2
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	80	---	---	163	---	40	---	266	---	---	210	---	62	821
	Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	8.00	---	---	16.10	---	4.00	---	26.60	---	---	21.00	---	6.20	81.90
	Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	8.00	---	---	24.10	---	28.10	---	54.70	---	---	75.70	---	81.90	---
4	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	90	---	---	159	---	145	---	163	---	---	261	---	149	967
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	2	---	0	---	0	---	---	0	---	0	2
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	90	---	---	161	---	145	---	163	---	---	261	---	149	969
	Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.00	---	---	15.90	---	14.50	---	16.30	---	---	26.10	---	14.90	96.70
	Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.00	---	---	24.90	---	39.40	---	55.70	---	---	81.80	---	96.70	---

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

Appendix 3-3 Result of Reproduction Test

(Propylene glycol Test conc.: 320 mg/L, Dispersant conc.: 0 mg/L)

Counts			Time																					Total
			1/11	1/12	1/13	1/14	1/15	1/16	1/17	1/18	1/19	1/20	1/21	1/22	1/23	1/24	1/25	1/26	1/27	1/28	1/29	1/30	1/31	
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
No.			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d	
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	53	---	---	137	---	115	---	167	---	---	225	---	162	859
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	3	---	0	---	0	---	---	0	---	3	6
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	53	---	---	140	---	115	---	167	---	---	225	---	165	865
	Reproductivity/P	---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	5.30	---	---	13.70	---	11.50	---	16.70	---	---	22.50	---	16.20	85.90	
	Cumulative reproductivity	---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	5.30	---	---	19.00	---	30.50	---	47.20	---	---	69.70	---	85.90	---	
2	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	95	---	---	177	---	221	---	49	---	---	285	---	132	959
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	3	---	0	---	0	---	---	0	---	0	3
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	95	---	---	180	---	221	---	49	---	---	285	---	132	962
	Reproductivity/P	---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.50	---	---	17.70	---	22.10	---	4.90	---	---	28.50	---	13.20	95.90	
	Cumulative reproductivity	---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.50	---	---	27.20	---	49.30	---	54.20	---	---	82.70	---	95.90	---	
3	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	40	---	---	143	---	158	---	170	---	---	180	---	154	845
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	1	---	---	2	---	0	---	0	---	---	0	---	0	3
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	41	---	---	145	---	158	---	170	---	---	180	---	154	848
	Reproductivity/P	---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	4.00	---	---	14.30	---	15.80	---	17.00	---	---	18.00	---	15.40	84.50	
	Cumulative reproductivity	---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	4.00	---	---	18.30	---	34.10	---	51.10	---	---	69.10	---	84.50	---	
4	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	95	---	---	189	---	237	---	69	---	---	271	---	181	1,042
		Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	0	0
		Total	---	0	---	---	0	---	0	---	95	---	---	189	---	237	---	69	---	---	271	---	181	1,042
	Reproductivity/P	---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.50	---	---	18.90	---	23.70	---	6.90	---	---	27.10	---	18.10	104.20	
	Cumulative reproductivity	---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.50	---	---	28.40	---	52.10	---	59.00	---	---	86.10	---	104.20	---	

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

Appendix 3-4 Result of Reproduction Test

(Propylene glycol Test conc. : 1.000 mg/L, Dispersant conc. : 0 mg/L)

Counts		Time																					Total	
		1/11	1/12	1/13	1/14	1/15	1/16	1/17	1/18	1/19	1/20	1/21	1/22	1/23	1/24	1/25	1/26	1/27	1/28	1/29	1/30	1/31		
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d	15 d	16 d	17 d	18 d	19 d	20 d	21 d		
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---	
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	98	---	---	177	---	63	---	237	---	---	198	---	65	838
			Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	2	2
			Total	---	0	---	---	0	---	0	---	98	---	---	177	---	63	---	237	---	---	198	---	67
	Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.80	---	---	17.70	---	6.30	---	23.70	---	---	19.80	---	6.50	83.80
Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.80	---	---	27.50	---	33.80	---	57.50	---	---	77.30	---	83.80	---	
2	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---	
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	108	---	---	167	---	64	---	206	---	---	247	---	61	853
			Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	1	---	8	---	0	---	0	---	---	0	---	0	9
			Total	---	0	---	---	0	---	0	---	109	---	---	175	---	64	---	206	---	---	247	---	61
	Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	10.80	---	---	16.70	---	6.40	---	20.60	---	---	24.70	---	6.10	85.30
Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	10.80	---	---	27.50	---	33.90	---	54.50	---	---	79.20	---	85.30	---	
3	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---	
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	95	---	---	176	---	127	---	156	---	---	218	---	92	864
			Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	0	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	0	0
			Total	---	0	---	---	0	---	0	---	95	---	---	176	---	127	---	156	---	---	218	---	92
	Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.50	---	---	17.60	---	12.70	---	15.60	---	---	21.80	---	9.20	86.40
Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	9.50	---	---	27.10	---	39.80	---	55.40	---	---	77.20	---	86.40	---	
4	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	---	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	---	
	F1 generation	Live	---	0	---	---	0	---	0	---	104	---	---	169	---	156	---	147	---	---	226	---	121	923
			Dead	---	0	---	---	0	---	0	---	1	---	0	---	0	---	0	---	---	0	---	1	2
			Total	---	0	---	---	0	---	0	---	105	---	---	169	---	156	---	147	---	---	226	---	122
	Reproductivity/P		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	10.40	---	---	16.90	---	15.60	---	14.70	---	---	22.60	---	12.10	92.30
Cumulative reproductivity		---	0.00	---	---	0.00	---	0.00	---	10.40	---	---	27.30	---	42.90	---	57.60	---	---	80.20	---	92.30	---	

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