

環境省殿

本写しは原本と相違ありません

(株)三菱化学安全科学研究所
横浜研究所 運営管理者

最 終 報 告 書

4,4'-オキシビス（ベンゼンスルホニルヒドラジド）の
オオミジンコ（*Daphnia magna*）に対する繁殖阻害試験

（試験番号：A020358-3）

2004年 2月27日

株式会社三菱化学安全科学研究所

陳 述 書

株式会社三菱化学安全科学研究所

横浜研究所

試 験 委 託 者 : 環境省

表 題 : 4,4'-オキシビス (ベンゼンスルホニルヒドラジド) のオオミ
ジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試 験 番 号 : A020358-3

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、本報告書はその
結果を正しく記載したものである。

また、本試験は下記のGLPに従って実施したものである。

日本国環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室長通知
「生態影響試験実施に関する基準の改正について」(別添)「生態影響試験実
施に関する基準」(環保安第242号, 2001年)

2004年 2月27日

試験責任者



信 頼 性 保 証 書

株式会社三菱化学安全科学研究所

横浜研究所

試 験 委 託 者 : 環境省

表 題 : 4,4'-オキシビス (ベンゼンスルホニルヒドラジド) のオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試 験 番 号 : A020358-3

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

記

実 施 事 項		実 施 日	運営管理者および 試験責任者への報告日
試験計画書監査		2003年 3月14日	2003年 3月14日
試験の査察	試験液の調製	2003年 6月17日	2003年 6月17日
	シリンジの投入	2003年 6月17日	2003年 6月17日
	シリンジの観察	2003年 7月 8日	2003年 7月 8日
最終報告書監査		2004年 2月27日	2004年 2月27日

2004年 2月27日

信頼性保証部門担当者

■■■■■

■■■■■

■■■■■

■■■■■

試験実施概要

1. 表 題 : 4,4'-オキシビス(ベンゼンスルホニルヒドラジド)のオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験
(試験番号:A020358-3)
2. 試験目的 : 被験物質のオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験を行い、21日間の最小作用濃度(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 : OECD 化学品テストガイドライン No. 211「オオミジンコ繁殖試験」(1998年)
4. 適用GLP : 日本国環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室長通知「生態影響試験実施に関する基準の改正について」(別添)「生態影響試験実施に関する基準」(環保安第242号, 2001年)
5. 試験委託者 : 環境省
〒100-8975 東京都千代田区霞が関一丁目2-2
委託責任者 総合環境政策局環境保健部環境安全課
環境リスク評価室 室長補佐 XXXXXXXXXX
6. 試験受託者 : 株式会社三菱化学安全科学研究所
〒105-0014 東京都港区芝二丁目1番30号
7. 試験施設 : 株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所
〒227-0033 神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

8. 試験責任者： [redacted]
生態科学研究部
(2003年 9月 1日付, グループ再編により名称変更)

9. 試験担当者： [redacted] [redacted] (2004年 2月27日)
(試験実施, 分析実施)

[redacted] [redacted] (2004年 2月27日)
(試験実施, 報告書作成)

[redacted] [redacted] (2004年 2月27日)
(試験実施)

[redacted] [redacted] (2004年 2月27日)
(試験実施)

[redacted] [redacted] (2004年 2月27日)
(試験実施)

[redacted] [redacted] (2004年 2月27日)
(分析実施)

10. 試験日程： 試験開始日 2003年 3月14日
実験開始日 2003年 6月17日
実験終了日 2003年 7月 8日
試験終了日 2004年 2月27日

11. 保管： 試験計画書, 生データ, 被験物質, 記録文書および最終報告書は, 横浜研究所の保管施設に保管する。
保管期間は, 最終報告書作成後10年間とし, 以後の保管は試験委託者と協議の上, 決定する。
ただし, 被験物質については, 最終報告書作成後10年間または品質低下をおこさないで安定に保存しうる期間のいずれか短い方の期間とする。

目 次

	頁
要 約	7
1 被験物質	9
1.1 名称, 構造式および物理化学的性状	9
1.2 供試試料	9
1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性	10
2 供試生物	10
3 試験方法	11
3.1 試験条件	11
3.2 希釈水	11
3.3 試験容器および恒温槽等	11
3.4 試験濃度の設定	12
3.5 試験液の調製	12
3.6 試験液の分析	13
3.7 試験操作	13
4 結果の算出	14
4.1 阻害濃度算出に用いる被験物質濃度の決定	14
4.2 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) の算出	14
4.3 50%繁殖阻害濃度 (EC50) の算出	14
4.4 最大無作用濃度 (NOEC) および最小作用濃度 (LOEC)	15
5 結果および考察	16
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	16
5.2 試験液中の被験物質濃度	16
5.3 ミジンコの観察結果	16
5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)	17
5.5 50%繁殖阻害濃度 (EC50)	17
5.6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOEC) および最小作用濃度 (LOEC) ...	17
5.7 試験液の水温, 溶存酸素濃度, pH および硬度	17
5.8 試験計画書からの逸脱事項	17
Table 1~11	18~27
Figure 1, 2	20, 23
付属資料-1 希釈水の組成	28~29
付属資料-2 試験液の分析	30~37
付属資料-3 ミジンコの観察結果	38~45
付属資料-4 結果の算出	46~48

要 約

試 験 委 託 者 : 環境省

表 題 : 4,4'-オキシビス (ベンゼンスルホニルヒドラジド) のオオミジンコ
(*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試 験 番 号 : A020358-3

試 験 方 法 :

- 1) 適用ガイドライン: OECD 化学品テストガイドライン No. 211「オオミジンコ繁殖試験」(1998年)
- 2) 暴 露 方 式 : 半止水式 (毎日試験液の全量を交換)
水面をテフロンシートで被覆
- 3) 供 試 生 物 : オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴 露 期 間 : 21日間
- 5) 試 験 濃 度 : 対照区, 助剤対照区, 0.400, 0.850, 1.80, 3.80, 8.00 mg/L
(設定値) (公比: 2.1)
助剤濃度一定: 100 μ L/L (ジメチルホルムアミド 使用)
- 6) 試 験 液 量 : 80 mL/容器
- 7) 連 数 : 10容器/試験区
- 8) 供 試 生 物 数 : 10頭/試験区 (1頭/容器)
- 9) 試 験 温 度 : 20 \pm 1 $^{\circ}$ C
- 10) 照 明 : 室内光, 16時間明 (800 lux以下) / 8時間暗
- 11) 分 析 法 : 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)

試 験 結 果 :

1) 試験液中の被験物質濃度

試験液の分析の結果、測定値の設定値に対する割合は、調製時において 81～93%，換水前において 32～39%であった。水中で加水分解したと考えられるが、詳細は確認できなかった。なお、クロマトグラム上に分解物と思われるピークが何本か検出された。

2) 21日間暴露後の結果

	(mg/L)	95%信頼区間 (mg/L)
親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)	>4.47	算出不可
50%繁殖阻害濃度 (EC50)	2.48	2.31～3.63
最大無作用濃度 (NOEC)	2.13	—
最小作用濃度 (LOEC)	4.47	—

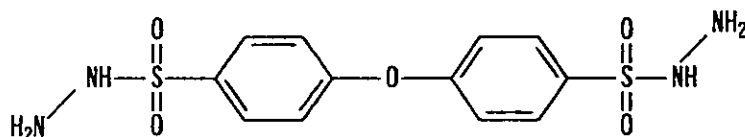
1 被験物質

1.1 名称、構造式および物理化学的性状

名称： 4,4'-オキシビス（ベンゼンスルホニルヒドラジド）（略称 OB SH）

CAS No： 80-51-3

構造式：



分子式： $C_{12}H_{14}N_4O_5S_2$

分子量^{*1}： 358.4

分解温度^{*1}： 150～165℃（自己反応性物質、白煙を発生して分解）

溶解度^{*1}： ジメチルスルホキシド；易溶， ケトン類；反応して溶解

水溶解度^{*1,*2}： 0.02g/100g（20℃）^{*1}

25.7mg/L^{*2}（精製水^{*3}， 20℃， 48時間攪拌， HPLC測定）

比重^{*1}： 1.525

*1： 供給者提供資料

*2： 当社測定値

*3： JIS K0557 A4グレードの水， ヤマト科学製 超純水製造装置 WR600A

1.2 供試試料

純度^{*1}： 99.3 wt%

[不純物： 4,4'-オキシビス（ベンゼンスルホン酸）及び 4,4'-オキシビス（ベンゼンスルホニルクロライド）を微量に含有する]

ロット番号^{*1}： 403650

供給者：

受領量^{*1}： 100 g

受領日： 2002年12月12日

外観： 白色微粉末

*1： 供給者提供資料

1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性

試験開始前に、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、被験物質の特性が認められることを確認した。

試験期間中、被験物質は当研究所の試験物質保管用冷蔵庫（保管条件：冷蔵、暗所）内に保管した。また、試験終了時にも赤外吸収スペクトルを測定し、試験開始時に測定したスペクトルと比較した。その結果、スペクトルに変化はなかったことより被験物質は保管中は安定であったと判断された。

2 供試生物

- 1) 和名： オオミジンコ
- 2) 学名： *Daphnia magna*
- 3) 入手先： 環境庁国立環境研究所（現 独立行政法人国立環境研究所）
- 4) 入手日： 1995年 7月18日
- 5) 感受性： 定期的（約6ヶ月毎）に基準物質（重クロム酸カリウム、試薬特級）による急性遊泳阻害試験を行い、供試生物の感受性を調べている。1998年6月以降の48時間の半数遊泳阻害濃度（EC50）は、以下の通りである。

平均値±標準偏差＝0.75±0.17 mg/L, n=10
(最小値～最大値＝0.57～1.02 mg/L)

- 6) 生育段階： 雌の幼体（24時間以内令）
- 7) 供試生物を得るための親ミジンコの飼育条件：
 - 飼育水： 希釈水（3.2 参照）
 - 飼育密度： 1頭／80mL（25頭／2L）以下
 - 飼育容器： 2L ガラス製容器
 - 水温： 20±1℃
 - 溶存酸素濃度： 飽和濃度の60％以上
 - pH： 6.7～8.5
 - 照明： 室内光，16時間明（800 lux以下）／8時間暗
 - 飼育期間： 2003年 5月27日～2003年 6月17日
 - 暴露開始前2週間の親の死亡率： < 5％
 - 休眠卵および雄の発生： 無し
 - 餌の種類： *Chlorella vulgaris*（単細胞緑藻類）
(藻類培養液を遠心分離し、希釈水に置換して使用)
 - 給餌量： 0.2 mg C（有機炭素含量）／頭／日
 - 飼育水の交換： 定期的に（3回／週）交換。幼体は極力、毎日除去。

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式： 半止水式（毎日試験液の全量を交換）
水面をテフロンシートで被覆
- 2) 暴露期間： 21日間
- 3) 試験液量： 80 mL／容器
- 4) 連数： 10容器／試験区
- 5) 供試生物数： 10頭／試験区（1頭／容器）
- 6) 試験温度： $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 7) 溶存酸素濃度： 飽和濃度の60％以上
（暴露期間中のエアレーションは実施していない）
- 8) pH： 試験液のpH調整は行わなかった
- 9) 硬度： 約 250 mg/L (CaCO_3 換算)
- 10) 照明： 室内光，16時間明（800 lux 以下）／8時間暗
- 11) 給餌： 種類：*Chlorella vulgaris*（単細胞緑藻類）
（藻類培養液を遠心分離し，希釈水に置換して使用）
量：0.15 mg C（有機炭素含量）／頭／日

3.2 希釈水

OECD 化学品テストガイドライン No. 211 「オオミジンコ繁殖試験」に記載されている調製水，Elendt M4 を用いた。組成を付属資料－1 に示した。

3.3 試験容器および恒温槽等

- 1) 試験容器： 100mL容ガラスビーカー（試験容器には蓋をし，水面をテフロンシートで覆った）
- 2) 恒温槽： 塩ビ製水槽（恒温装置，タイテック製 ケルニットCL-80F型）
- 3) 水温計： 横河電機製 2455 02型 No. 1
- 4) 溶存酸素計： 電気化学計器製 DOL-10型 No. 2
- 5) pH計： 東亜電波工業製 HM-40V型 No. 1
- 6) 硬度測定キット： 共立理化学研究所製 WAD-TH

3.4 試験濃度の設定

オオミジンコに対する急性遊泳阻害試験の結果（48時間 EC_{50} 値：5.46 mg/L（設定値），2.91 mg/L（測定値））および不採用とした繁殖試験結果に基づき，本試験濃度を次のように決定した。

対照区，助剤対照区，0.400，0.850，1.80，3.80，8.00 mg/L（公比：2.1）

3.5 試験液の調製

試験液調製時の希釈水は，調製前に暴気を行い，恒温槽内で $20 \pm 1^\circ\text{C}$ とした。

以下の表の通りに各濃度区毎に被験物質原液－ⅠおよびⅡを調製した。

		被験物質原液－Ⅰ
調製方法	被験物質採取量	4000 mg
	定容液	ジメチルホルムアミド
	定容量	20 mL
	被験物質濃度	200000 mg/L
調製頻度		暴露開始時
保管条件等		保管せず
上記条件下での安定性		—

		被験物質原液－Ⅱ				
濃度区 (mg/L)		0.400	0.850	1.80	3.80	8.00
調製方法	被験物質採取量 (mg) (被験物質原液－Ⅰ 採取量 (μL))	80.0 (400)	170 (850)	360 (1800)	760 (3800)	1600 (8000)
	定容液	ジメチルホルムアミド				
	定容量	20mL	20mL	20mL	20mL	20mL
	被験物質濃度 (mg/L)	4000	8500	18000	38000	80000
調製頻度		暴露開始時				
保管条件等		冷蔵，暗所				
上記条件下での安定性		21 日以上安定				

試験液は，各被験物質原液－Ⅱを $100 \mu\text{L}$ ずつ採取し，それぞれ希釈水で 1.0 L に定容（助剤濃度： $100 \mu\text{L/L}$ ）した。1 濃度区につき 10 個の試験容器に各 80 mL 入れた。

対照区は希釈水のみとし，助剤対照区には助剤のみを含むもの（助剤濃度： $100 \mu\text{L/L}$ ）を調製した。

調製時の試験液の状態（外観）は全試験区において無色透明であった。

3.6 試験液の分析

全試験区各1試験容器について、暴露期間中3回、換水前後の各試験液0.75 mLを採取し、アセトニトリルを等量添加し混合後、HPLCにより分析した。各試験液の被験物質濃度は、標準溶液のピーク面積との比から定量し、21日間の時間加重平均を求めた。詳細は付属資料-2に示した。

3.7 試験操作

試験液の水温、溶存酸素濃度、pHおよび硬度を測定後、ガラスピペットを用いて供試ミジンコを投入し、その時点を暴露開始時とした。ミジンコ投入の際、試験液量に対するピペット内の飼育水が全量で1%以内となるようにした。その後、換水毎にミジンコを新しい試験液に移しかえ、21日後まで飼育した。暴露期間中は毎日一定量の給餌を行った(3.1参照)。また、以下の要領で、ミジンコの観察および水質測定を行った。

1) ミジンコの観察：

親ミジンコ：生死、遊泳状態および外観の異常の有無を毎日観察して記録した。死亡個体があれば除去した。

産出幼体：最初の産仔から毎日、幼体の生存数を計数して除去した。死亡幼体、墮胎卵、休眠卵の発生等の有無を観察して記録した。最初の幼体産出日(初産日)を記録した。

2) 水質測定：水温、溶存酸素濃度、pHおよび硬度を、全試験区各1試験容器について、暴露期間中に4回、換水前後に測定した。

4 結果の算出

4.1 阻害濃度算出に用いる被験物質濃度の決定

阻害濃度の算出に用いる被験物質濃度は、測定値（平均）とした。

4.2 親ミジンコの半数致死濃度（LC50）の算出

21日間の各試験区における、親ミジンコの死亡数と供試個体数（10頭）から死亡率（％）を求め、以下の方法で半数致死濃度（21d-LC50）を可能な限り決定した。

最高濃度区における死亡率	≥ 50%	< 50%
LC50の決定方法	Binomial法, Moving average法, Probit法での算出結果から適切と判断されたものを採用。 可能な限り95%信頼区間を算出。	推定される濃度領域を記載する
死亡数の経時変化グラフの記載	記載する。	記載する。

4.3 50%繁殖阻害濃度（EC50）の算出

助剤対照区に対する各濃度区での生存親1頭当たりの平均累積産仔数（生存幼体）から繁殖率％（A）を求め、繁殖阻害率％（100-A）を算出し、以下の方法で21日間の50%繁殖阻害濃度（21d-EC50）を可能な限り決定した。

観察された阻害率の最大値	≥ 50%	< 50%
EC50の決定方法	Logistic 曲線による回帰分析（Logit 法） 95%信頼区間を算出。	推定される濃度領域を記載する
平均累積産仔数の濃度区別の経時変化のグラフの記載	記載する。	記載する。

*：親が死亡した場合は算出から除外する。例えば産仔の有無に関わらず21日間で親が全部死亡した区は繁殖阻害率は求めない。

4.4 最大無作用濃度 (NOEC) および 最小作用濃度 (LOEC) *

各試験容器毎の21日間の生存親1頭当たりの累積産仔数を算出し、各濃度区と助剤対照区との有意差の有無を以下の方法（統計的手法**）により求め、最大無作用濃度 (NOEC) および 最小作用濃度 (LOEC) を決定した。

* 最大無作用濃度 (NOEC) : 助剤対照区に比べ、有意な繁殖阻害が認められない最高濃度

最小作用濃度 (LOEC) : 助剤対照区に比べ、有意な繁殖阻害が認められる最低濃度

** 統計的手法（産仔の有無に関わらず親が死亡した場合は算出から除外）

多群の比較 (助剤対照区以外に2群以上ある)	
Bartlett の等分散検定	
等分散が認められる場合	等分散が認められない場合
一元配置分散分析 (ANOVA) パラメトリックの Dunnett, Williams または Scheffe の多重比較検定	Kruskal-Wallisの検定 ノンパラメトリックの Dunnett, Williams または Scheffe の多重比較検定
Yukms ソフトウェア Statlight「#4 多群の比較」 (Yukms Corp, 東京)	

5 結果および考察

5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

該当する事象はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露期間中に3回、換水前後の試験液中の被験物質濃度を測定した。その結果を Table 1, クロマトグラムを付属資料-2に示した。

試験液の分析(3.6 参照)の結果、測定値の設定値に対する割合は、調製時において81~93%, 換水前において32~39%であった。水中で加水分解したと考えられるが、詳細は確認できなかった。なお、クロマトグラム上に分解物と思われるピークが何本か検出された。

5.3 ミジンコの観察結果

親ミジンコの死亡数および死亡率

暴露期間中の各試験区における親ミジンコの累積死亡数および死亡率を Table 2-1, Table 2-2 および Figure 1 に示した。

対照区および助剤対照区における親ミジンコの死亡率は、暴露終了時で0%および10%であり、試験成立条件である20%以下の基準を満たした。最高濃度区における死亡率は暴露終了時で0%であった。

初産日

各試験区における親ミジンコの初産日を Table 3 に示した。

対照区および助剤対照区における親ミジンコの初産日は、暴露開始8日後であり、正常な範囲内と判断された。最高濃度区においては全親ミジンコが初産のないまま暴露終了を迎えた。

平均累積産仔数

暴露期間中の各試験区における親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数を Table 4 および Figure 2 に示した。

対照区および助剤対照区における21日間での親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は92頭および107頭であり、試験成立条件である60頭以上の基準を満たした。

最高濃度区においては全親ミジンコが初産のないまま暴露終了を迎えた。

休眠卵の発生等

暴露期間を通して、全試験区において休眠卵の発生は認められなかった。

5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)

21日間暴露の親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) を Table 5 および以下に、算出結果を付属資料－4に示した。

21日間 LC50 : >4.47 mg/L (95%信頼区間 : 算出不可)

5.5 50%繁殖阻害濃度 (EC50)

21日間暴露の50%繁殖阻害濃度 (EC50) を Table 6 および以下に、算出結果を付属資料－4に示した。

21日間 EC50 : 2.48 mg/L (95%信頼区間 : 2.31~3.63mg/L)

5.6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOEC) および最小作用濃度 (LOEC)

親ミジンコ1頭あたりの累積産仔数に及ぼす21日間暴露の最大無作用濃度 (NOEC) および最小作用濃度 (LOEC) を Table 7 および以下に、算出結果を付属資料－4に示した。

21日間 NOEC : 2.13 mg/L

21日間 LOEC : 4.47 mg/L

5.7 試験液の水温、溶存酸素濃度、pH および硬度

暴露期間中における試験液の水温を Table 8、溶存酸素濃度を Table 9、pHを Table 10、硬度を Table 11 に示した。

水温はすべての試験区で $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ で、溶存酸素濃度はすべての試験液槽で飽和溶存酸素濃度 (20.0°C の飽和溶存酸素濃度 : 8.8mg/L) の60%以上であり、いずれも試験基準を満たした。pHはミジンコの飼育環境として適正範囲 (6.0~9.0で1.5の変動内) 内であった。また硬度も適正範囲内 (約250 mg/L) であった。

5.8 試験計画書からの逸脱事項

該当する事象はなかった。

以 上

Table 1-1 Measured Concentration of the Test Substance in Test Water during a 21-day Exposure Period
(*Daphnia* Reproduction Inhibition Test under the Semi-Static Test Condition)

Nominal Concentration (mg/L)	Date→	Measured Concentration (mg/L)						TWM* ¹ (mg/L)	% of Nominal
		0 New	1 Old	7 New	8 Old	14 New	15 Old		
Control		<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	-	-
Solvent control		<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	<0.002	-	-
0.400		0.370	0.155	0.335	0.143	0.327	0.129	0.229	57
0.850		0.779	0.332	0.706	0.298	0.760	0.288	0.495	58
1.80		1.59	0.684	1.68	0.633	1.60	0.674	1.07	59
3.80		3.32	1.33	3.28	1.32	3.09	1.29	2.13	56
8.00		7.05	2.74	6.94	2.69	6.53	2.72	4.47	56

Table 1-2 Measured Concentration as a Percentage of Nominal

Nominal Concentration (mg/L)	Date→	Measured Concentration as a Percentage of Nominal					
		0 New	1 Old	7 New	8 Old	14 New	15 Old
0.400		93	39	84	36	82	32
0.850		92	39	83	35	89	34
1.80		88	38	93	35	89	37
3.80		87	35	86	35	81	34
8.00		88	34	87	34	82	34

New: Freshly prepared test solution

Old: Old test solution before renewal

*1: Time-weighted mean measured concentration during 21 days.

	Concentration (mg/L)			% of Nominal		
	Min.	~	Max.	Min.	~	Max.
New	0.327	~	7.05	81	~	93
Old	0.129	~	2.74	32	~	39

Table 2-1 Cumulative Number of Dead Parental *Daphnia*

Nominal conc.	Measured conc. ^{*1}	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
Solvent control	--	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0.400 mg/L	0.229 mg/L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.850 mg/L	0.495 mg/L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
1.80 mg/L	1.07 mg/L	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3.80 mg/L	2.13 mg/L	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
8.00 mg/L	4.47 mg/L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

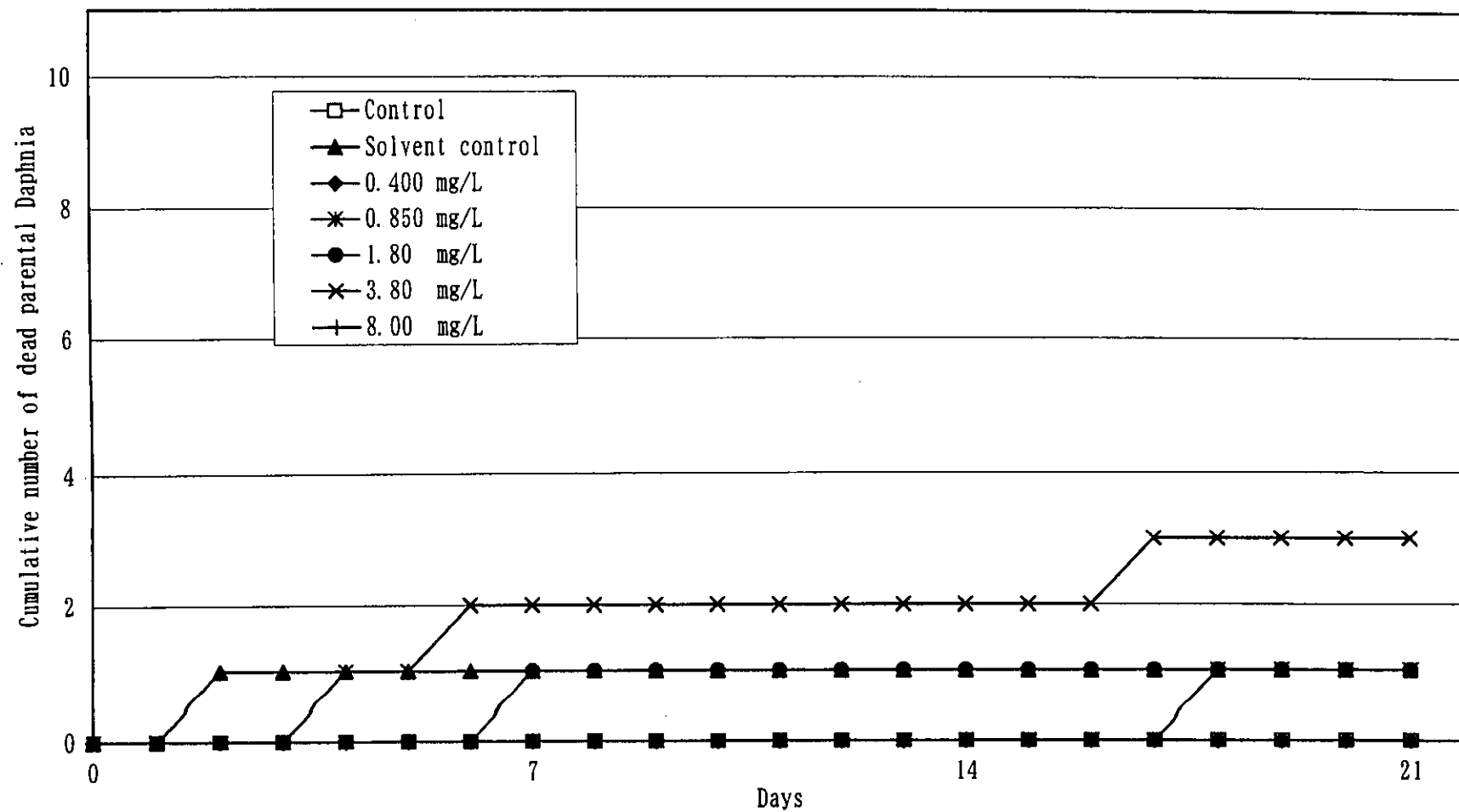
*1: Time-weighted mean measured concentration

Table 2-2 Mortality (%) of Parental *Daphnia*

Nominal conc.	Measured conc. ^{*1}	Days					
		1	2	4	7	14	21
Control	--	0	0	0	0	0	0
Solvent control	--	0	10	10	10	10	10
0.400 mg/L	0.229 mg/L	0	0	0	0	0	0
0.850 mg/L	0.495 mg/L	0	0	0	0	0	10
1.80 mg/L	1.07 mg/L	0	0	0	10	10	10
3.80 mg/L	2.13 mg/L	0	0	10	20	20	30
8.00 mg/L	4.47 mg/L	0	0	0	0	0	0

*1: Time-weighted mean measured concentration

Figure 1 Cumulative Number of Dead Parental *Daphnia*



Values in legend are given in the nominal concentration.

Table 3 Time (Days) to First Brood Production

Vessel No.	Nominal Concentration, mg/L (Measured Concentration*1, mg/L)						
	Control	Solvent control	0.400 (0.229)	0.850 (0.495)	1.80 (1.07)	3.80 (2.13)	8.00 (4.47)
1	8	8	8	8	8	-	*
2	8	8	8	8	-	11	*
3	8	8	8	8	8	11	*
4	8	8	8	8	8	8	*
5	8	-	8	8	8	8	*
6	8	8	8	8	8	8	*
7	8	8	8	8	8	8	*
8	8	8	8	8	8	-	*
9	8	8	8	8	8	12	*
10	8	8	8	8	8	8	*
Min	8	8	8	8	8	8	>21
Max	8	8	8	8	8	12	>21

*1: Time-weighted mean measured concentration

-: The parental *Daphnia* was dead before first brood production.

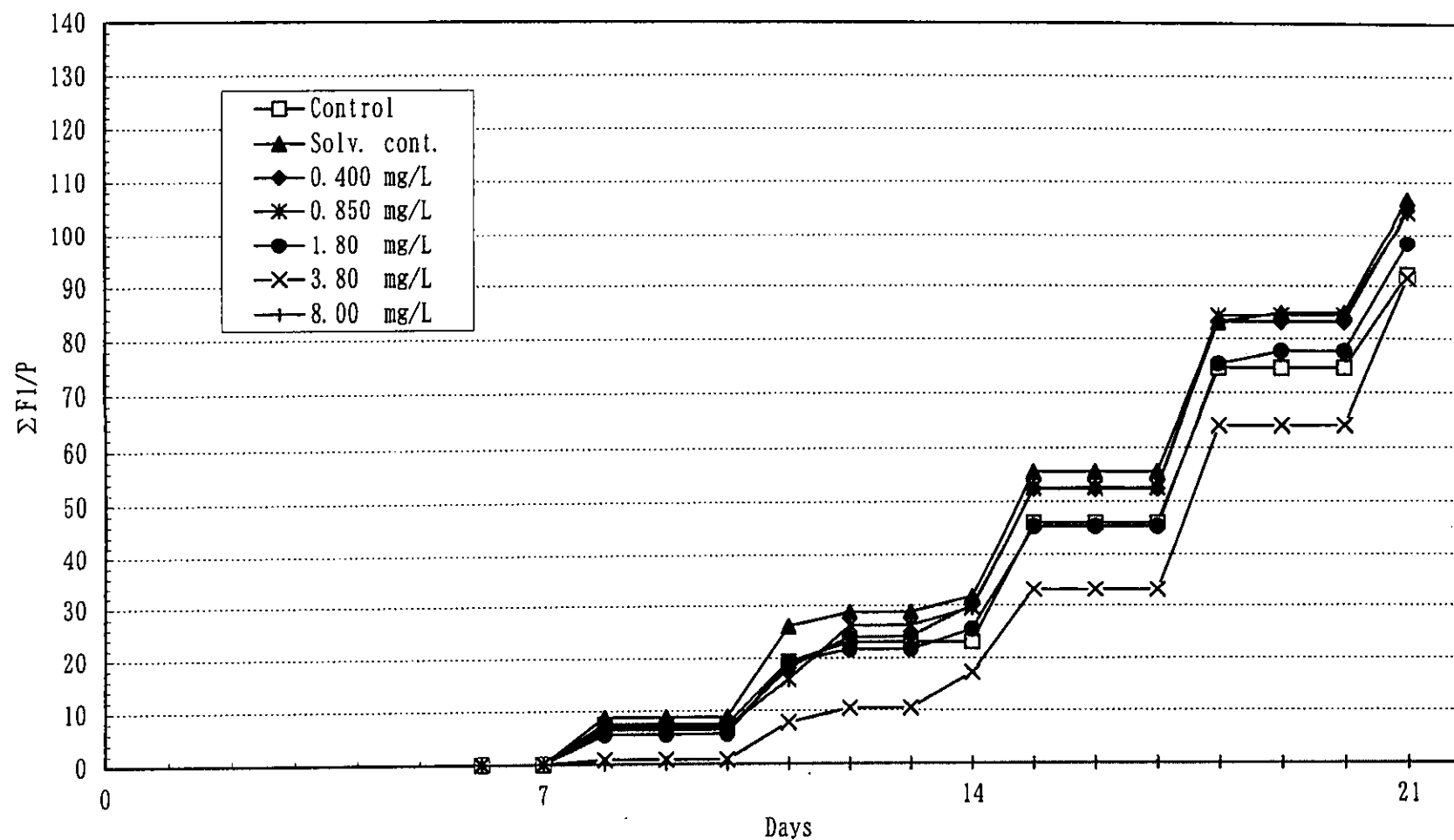
*: No brood production for 21 days.

Table 4 Mean Cumulative Number of Juveniles Produced per Adult Alive for 21 Days ($\Sigma F1/P$)

Nominal Conc.	Measured conc. *1	Days															
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	--	0.0	0.0	7.5	7.5	7.5	19.3	23.0	23.0	23.0	46.0	46.0	46.0	74.5	74.5	74.5	92.1
Solv. cont.	--	0.0	0.0	8.8	8.8	8.8	26.1	28.8	28.8	31.8	55.6	55.6	55.6	83.1	84.9	84.9	106.6
0.400 mg/L	0.229 mg/L	0.0	0.0	6.4	6.4	6.4	18.1	24.0	24.1	30.0	52.4	52.4	52.4	83.2	83.2	83.2	104.4
0.850 mg/L	0.495 mg/L	0.0	0.0	6.9	6.9	6.9	15.9	26.2	26.2	29.6	52.6	52.6	52.6	84.3	84.4	84.4	103.9
1.80 mg/L	1.07 mg/L	0.0	0.0	5.6	5.6	5.7	19.2	21.7	21.7	25.4	45.3	45.3	45.3	75.3	77.7	77.7	98.1
3.80 mg/L	2.13 mg/L	0.0	0.0	0.9	0.9	0.9	7.7	10.4	10.4	17.1	33.1	33.1	33.1	64.0	64.0	64.0	91.4
8.00 mg/L	4.47 mg/L	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*1: Time-weighted mean measured concentration

Figure 2 Time Course of $\Sigma FI/P$ for Each Concentration Level



Values in legend are given in the nominal concentration.

Table 5 Calculated LC50 Values for Parental *Daphnia*

Exposure Period (day)	LC50 (mg/L)	95% Confidence limits (mg/L)	Statistical method
21	> 4.47	--	--

--: Could not be determined

The LC50 value and its 95% confidence limits could not be determined by statistical method because the mortality of parental *Daphnia* at the maximum concentration level was less than 50%.

Table 6 Calculated EC50 Values for Inhibition of Reproduction

Exposure Period (day)	EC50 ^{*1} (mg/L)	95% Confidence limits (mg/L)	Statistical method
21	2.48	2.31 - 3.63	Logit

*1: Using the concentrations of 2.13 - 4.47 mg/L

Table 7 Cumulative Number of Juveniles Produced per Adult Alive for 21 Days in Each Test Vessel and Results of Statistical Comparison of the Mean Values (by Williams' s Multicomparison Test)

Vessel No.	Nominal Concentration, mg/L (Measured Concentration ^{*1} , mg/L)						
	Control	Solv. cont.	0.400 (0.229)	0.850 (0.495)	1.80 (1.07)	3.80 (2.13)	8.00 (4.47)
1	77	103	113	129	111	D	0
2	102	134	119	116	D	95	0
3	90	84	98	87	86	77	0
4	98	115	104	D	118	86	0
5	74	D	117	122	106	78	0
6	74	95	103	90	68	104	0
7	94	115	116	91	103	103	0
8	109	88	77	107	83	D	0
9	93	114	115	92	112	97	0
10	110	111	82	101	96	D	0
Mean	92.1	106.6	104.4	103.9	98.1	91.4	0.0
S. D.	13.5	15.7	14.9	15.4	16.3	11.2	0.0
Inhibition rate (%)			2.0	2.5	7.9	14.2	100.0
Significant difference			-	-	-	-	**

*1: Time-weighted mean measured concentration.

D: Were not included for calculation because the parental *Daphnia* was dead during a 21-day testing period.

-: Indicates no significant difference.

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

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

No Observed Effect Concentration (NOEC): 2.13 mg/L
Lowest Observed Effect Concentration (LOEC): 4.47 mg/L

Table 8 Temperature during a 21-day Period under the Semi-Static Condition

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration* ¹ (mg/L)	Date→	Temperature (°C)								Min.	Max.
			0 new	1 old	7 new	8 old	14 new	15 old	20 new	21 old		
Control	--		19.8	19.8	19.9	20.0	20.0	20.0	19.8	19.8	19.8	20.0
Solvent control	--		19.8	19.8	20.0	20.0	20.0	20.0	19.8	19.9	19.8	20.0
0.400	0.229		19.9	19.8	20.0	20.0	20.0	20.0	19.8	19.8	19.8	20.0
0.850	0.495		19.9	19.8	20.0	20.0	20.0	20.0	19.8	19.6	19.6	20.0
1.80	1.07		19.9	19.9	20.0	20.0	19.9	19.9	19.8	19.6	19.6	20.0
3.80	2.13		20.0	19.9	20.0	20.0	19.9	19.9	19.8	19.6	19.6	20.0
8.00	4.47		19.9	19.9	20.0	20.0	19.9	20.0	19.8	19.6	19.6	20.0
Total											19.6	20.0

*1: Time-weighted mean measured concentration
 new: freshly prepared test solution, old: old test solution before renewal

Table 9 Dissolved Oxygen Concentration (D.O.) during a 21-day Period under the Semi-Static Condition

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration* ¹ (mg/L)	Date→	D.O. (mg/L)								Min.	Max.
			0 new	1 old	7 new	8 old	14 new	15 old	20 new	21 old		
Control	--		8.8	8.7	8.8	8.4	8.8	7.6	8.8	7.6	7.6	8.8
Solvent control	--		8.8	8.7	8.8	8.3	8.8	7.6	8.8	7.6	7.6	8.8
0.400	0.229		8.8	8.7	8.8	8.2	8.8	7.7	8.8	7.6	7.6	8.8
0.850	0.495		8.7	8.6	8.7	8.2	8.8	7.6	8.8	7.7	7.6	8.8
1.80	1.07		8.7	8.8	8.7	8.2	8.8	7.8	8.8	7.6	7.6	8.8
3.80	2.13		8.7	8.6	8.8	8.2	8.8	7.6	8.8	7.6	7.6	8.8
8.00	4.47		8.7	8.5	8.7	8.2	8.8	7.7	8.8	7.3	7.3	8.8
Total											7.3	8.8

*1: Time-weighted mean measured concentration
 new: freshly prepared test solution, old: old test solution before renewal

Table 10 pH during a 21-day Period under the Semi-Static Condition

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration* ¹ (mg/L)	Date→	pH								Min.	Max.
			0 new	1 old	7 new	8 old	14 new	15 old	20 new	21 old		
Control	--		8.3	8.1	8.2	7.8	8.2	7.7	8.3	7.7	7.7	8.3
Solvent control	--		8.2	8.1	8.2	7.8	8.2	7.7	8.3	7.7	7.7	8.3
0.400	0.229		8.3	8.1	8.3	7.8	8.2	7.6	8.3	7.7	7.6	8.3
0.850	0.495		8.3	8.1	8.3	7.7	8.2	7.6	8.3	7.6	7.6	8.3
1.80	1.07		8.3	8.1	8.3	7.7	8.2	7.7	8.3	7.6	7.6	8.3
3.80	2.13		8.3	8.0	8.3	7.7	8.2	7.6	8.2	7.6	7.6	8.3
8.00	4.47		8.2	8.0	8.3	7.7	8.2	7.6	8.2	7.5	7.5	8.3
Total											7.5	8.3

*1: Time-weighted mean measured concentration

new: freshly prepared test solution, old: old test solution before renewal

Table 11 Total Hardness (as CaCO₃) during a 21-day Period under the Semi-Static Condition

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration* ¹ (mg/L)	Date→	Total hardness (as CaCO ₃ , mg/L) ^a								Min.	Max.
			0 new	1 old	7 new	8 old	14 new	15 old	20 new	21 old		
Control	--		255	250	260	260	265	265	265	265	250	265
Solvent control	--		255	255	265	260	265	260	265	265	255	265
0.400	0.229		255	260	265	265	265	265	265	265	255	265
0.850	0.495		255	260	265	260	265	265	265	265	255	265
1.80	1.07		255	255	260	260	260	265	260	265	255	265
3.80	2.13		255	260	265	260	260	265	265	265	255	265
8.00	4.47		255	255	260	260	260	265	265	265	255	265
Total											250	265

*1: Time-weighted mean measured concentration

a: These values were determined by a total hardness measurement kit.

The same lot of this kit showed approximately 10~15 mg/L higher value than the theoretical standard value.

new: freshly prepared test solution, old: old test solution before renewal

付属資料－ 1

希釈水の組成

Table A-1 Elendt M4 medium recommended by OECD Guideline No. 211
used as dilution water

Macro nutrients	Concentration (mg/L)
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	293.8
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	123.3
KCl	5.80
NaHCO_3	64.8
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	10.0
NaNO_3	0.274
KH_2PO_4	0.143
K_2HPO_4	0.184

Trace elements	Concentration ($\mu\text{g/L}$)
H_3BO_3	2859.5
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	360.5
LiCl	306.0
RbCl	71.0
$\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	152.0
NaBr	16.0
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	63.0
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	16.8
ZnCl_2	13.0
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10.0
KI	3.25
Na_2SeO_3	2.19
NH_4VO_3	0.575
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2500
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	995.5

Vitamines	Concentration ($\mu\text{g/L}$)
Thiamine hydrochloride	75.0
Cyanocobalamine (B12)	1.00
Biotine	0.750

付属資料－ 2

試験液の分析

1 試験液の分析方法

- 1) 各試験液を 0.75mLを測定用バイアルに採取し、アセトニトリルを等量添加し混合後、HPLCにより分析した。クロマトグラムの例をFigure A-2-2 (2), (3), (5), (6) に示した。
- 2) アセトニトリルで調製した標準溶液0.75 mLを、測定用バイアルに採取し、精製水を等量添加し混合後、HPLCにより分析した。クロマトグラムの例をFigure A-2-2 (1), (4) に示した。
- 3) 各試験液の被験物質濃度は、各分析時に測定した標準溶液のピーク面積を用いて、一点検量法により定量した。

なお、暴露開始前に試験濃度範囲の全域にわたって検量線を作成し、直線性を確認している。（「3 検量線」参照）

2 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 測定条件

(装置)

高速液体クロマトグラフ:	Agilent 1100 型 カラムスイッチング 装置付 (No2)
ワークステーション:	Agilent 1100 シリーズ ケミステーション (Windows NT)
デガッサ:	G1322A 型
送液ポンプ:	G1311A 型 (クォータリポンプ, 分析用)
	G1311A 型 (クォータリポンプ, 濃縮用)
オートサンプラ:	G1313A 型
カラムオープン:	G1316A 型 (カラムスイッチングバルブ)
フォトダイオードアレイ検出器:	G1315B 型

(条件)

カラム:	分析用	GLサイエンス製 Inertsil ODS-3V 5 μ m 4.6mm i.d. \times 150mm
	濃縮用	GLサイエンス製 Inertsil ODS-3 5 μ m 4mm i.d. \times 10mm
カラムオープン:	40 $^{\circ}$ C	
溶離液:	分析用	アセトニトリル/0.1% リン酸=25/75 (v/v)
	濃縮用	アセトニトリル/0.1% リン酸=10/90 (v/v)
流速:	分析用	1.0mL/min
	濃縮用	0 ~ 3 min 2.5 mL/min
		3 ~ 13 min 0.05mL/min
		13 ~ 15 min 2.5 mL/min
カラムスイッチングバルブ:	0min (濃縮側), 3min (分析側), 13min (濃縮側)	
測定波長:	247nm	
試料注入量:	500 μ L	

3 検量線

アセトニトリルを用い, 0, 0.00500~5.00 mg/Lの標準溶液を調製した。この標準溶液を一定量採取し等量の精製水で希釈したものをHPLCで測定した。横軸に濃度 (mg/L) を, 縦軸にピーク面積 (count) をとり, 検量線を作成した。検量線の最小二乗法による直線回帰式の相関係数は, 1.00と良好であった。作成した検量線をFigure A-2-1に示した。

4 検出限界

最小検出ピーク面積を 0.1 countに設定し、これに相当する試験液中の被験物質濃度 0.002 mg/Lを検出限界とした。

5 添加回収試験

分析前処理は「1 試験液の分析方法」に示したように、試験液を採取する操作だけであるので、添加回収試験の必要はなかった。したがって、回収率の補正は行わなかった。

Figure A-2-1 Calibration curve

No	Concentration (mg/L)	Peak Area (Count)
1	0	0
2	0.00500	0.5
3	0.0100	0.9
4	0.0200	1.7
5	0.0500	4.4
6	0.100	8.5
7	0.200	17.0
8	0.500	41.7
9	1.00	85.0
10	2.00	167.6
11	5.00	425.1

$$Y = 84.8X$$

$$r = 1.00$$

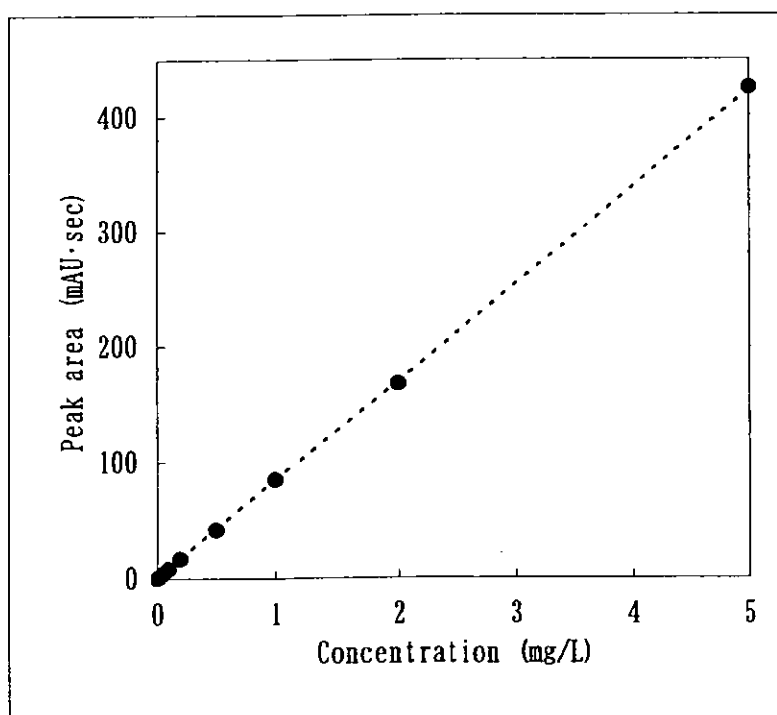
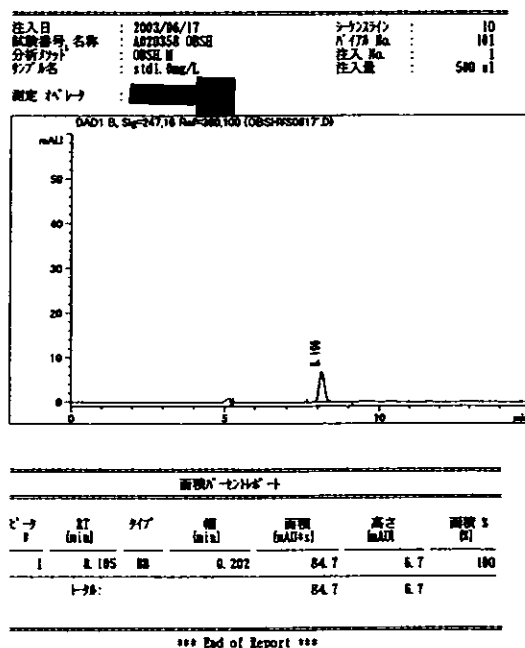


Figure A-2-2 Representative chromatograms

(1) Standard 1.00 mg/L ; Day 0



(2) Solvent Control ; Day 0

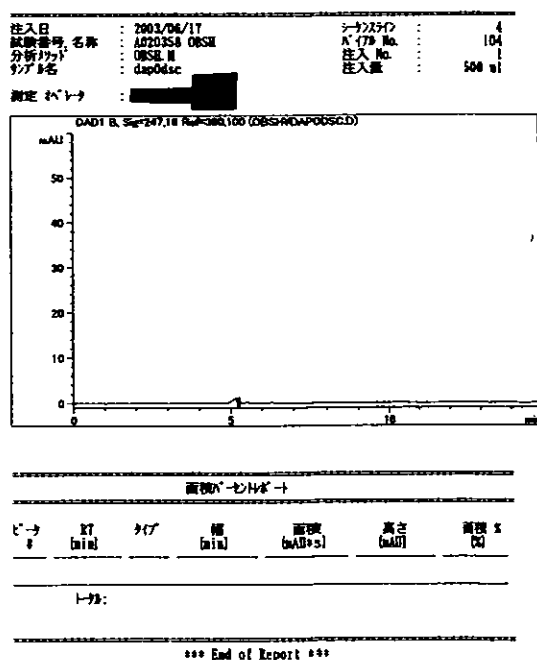
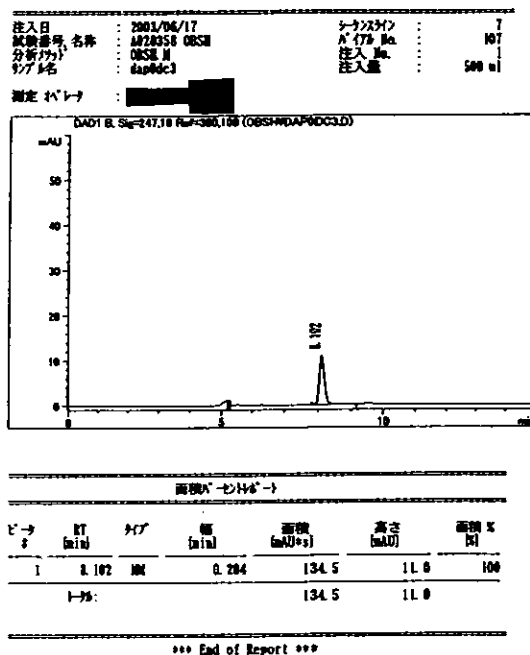


Figure A-2-2 Continued

(3) 1.80 mg/L nominal ; Day 0



(4) Standard 1.00 mg/L ; Day 1

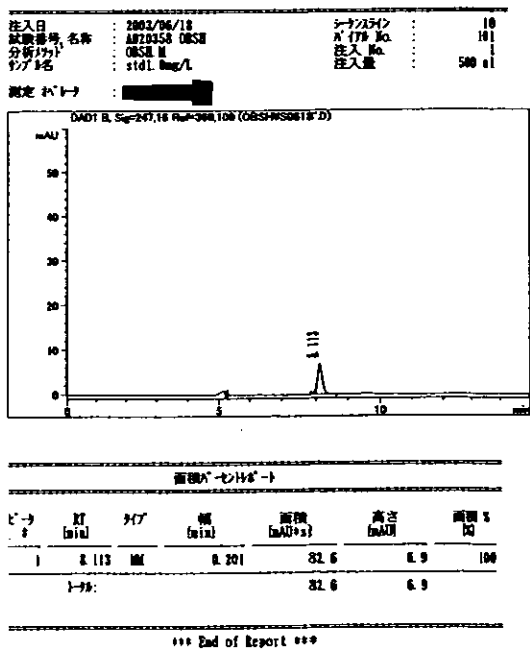
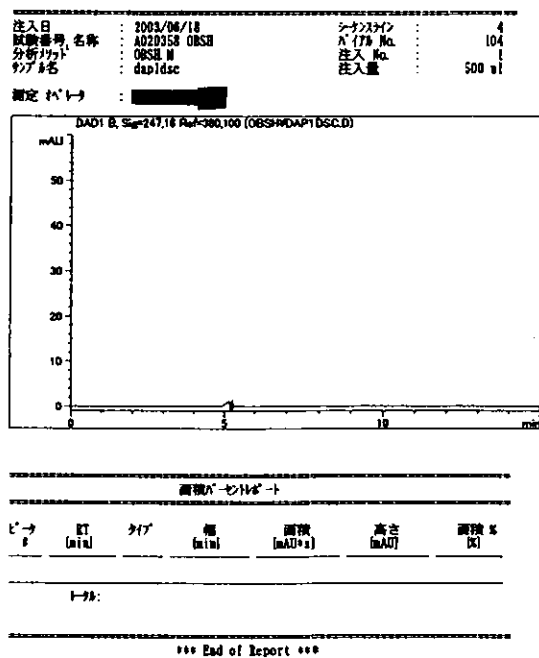
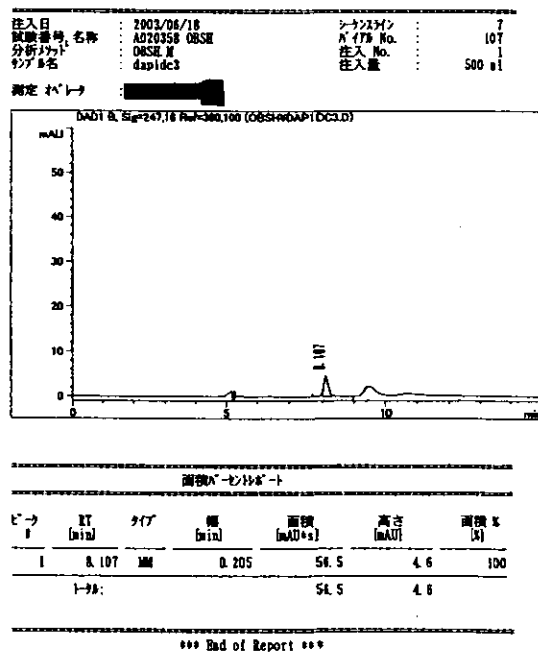


Figure A-2-2 Continued

(5) Solvent Control ; Day 1



(6) 1.80 mg/L nominal ; Day 1



付属資料－3

ミジンコの観察結果

Appendix 3-1 Result of reproduction test

Test chemical: OBSH

(Untreated control)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			6/18	6/19	6/20	6/21	6/22	6/23	6/24	6/25	6/26	6/27	6/28	6/29	6/30	7/1	7/2	7/3	7/4	7/5	7/6	7/7	7/8	
			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	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	0	0	0	0	0	14	0	0	5	6	0	0	24	0	0	28	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	19	25	25	25	49	49	49	77	77	77	77	
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	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	10	1	0	0	24	0	0	33	0	0	28	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	16	17	17	17	41	41	41	74	74	74	102	
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	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	15	0	0	0	17	0	0	29	0	0	25	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	19	19	19	19	36	36	36	65	65	65	90	
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	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	24	0	0	0	15	0	0	27	0	0	23	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	33	33	33	33	48	48	48	75	75	75	98	
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	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	3	17	0	0	25	0	0	22	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	10	27	27	27	52	52	52	74	74	74	74	
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	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	3	12	0	0	24	0	0	28	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	10	22	22	22	46	46	46	74	74	74	74	
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	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	9	0	0	0	25	0	0	29	0	0	24	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	16	16	16	16	41	41	41	70	70	70	94	
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	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	16	0	0	0	28	0	0	33	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	22	22	22	22	50	50	50	83	83	83	109	
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	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	14	0	0	0	22	0	0	27	0	0	25	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	19	19	19	19	41	41	41	68	68	68	93	
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	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	19	1	0	0	26	0	0	29	0	0	25	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	29	30	30	30	56	56	56	85	85	85	110	

Appendix 3-2 Result of reproduction test

Test chemical: OBSH

(Solvent control)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			6/18	6/19	6/20	6/21	6/22	6/23	6/24	6/25	6/26	6/27	6/28	6/29	6/30	7/1	7/2	7/3	7/4	7/5	7/6	7/7	7/8	
			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	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	0	0	0	0	0	4	0	0	14	3	0	0	26	0	0	30	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	18	21	21	21	47	47	47	77	77	77	103	103
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	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	30	0	0	0	32	0	0	36	0	0	25	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	41	41	41	41	73	73	73	109	109	109	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	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	21	0	0	27	0	0	11	16	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	9	30	30	30	57	57	57	68	84	84	84	84
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	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	24	0	0	0	28	0	0	30	0	0	24	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	33	33	33	33	61	61	61	91	91	91	115	115
5	P generation	Live	1	0																				
	F1 generation	Live	0	0																				
	Cumulative reproductivity		0	0																				--
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	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	8	0	0	27	0	0	0	27	0	0	28	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	13	13	13	40	40	40	40	67	67	67	95	95
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	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	19	0	0	0	28	0	0	30	0	0	23	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	34	34	34	34	62	62	62	92	92	92	115	115
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	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	11	0	0	0	21	0	0	25	0	0	24	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	18	18	18	18	39	39	39	64	64	64	88	88
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	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	24	0	0	0	27	0	0	32	0	0	24	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	31	31	31	31	58	58	58	90	90	90	114	114
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	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	26	0	0	0	25	0	0	27	0	0	21	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	38	38	38	38	63	63	63	90	90	90	111	111

-- : Were not included for calculation because the parental *Daphnia* was dead during a 21-day testing period.

Appendix 3-3 Result of reproduction test

Test chemical: OBSH

(Concentration 1)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			6/18	6/19	6/20	6/21	6/22	6/23	6/24	6/25	6/26	6/27	6/28	6/29	6/30	7/1	7/2	7/3	7/4	7/5	7/6	7/7	7/8	
			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	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	0	0	0	0	0	7	0	0	12	0	0	0	34	0	0	38	0	0	22	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	19	19	19	19	53	53	53	91	91	91	113	113
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	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	22	0	0	0	28	0	0	32	0	0	28	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	31	31	31	31	59	59	59	91	91	91	119	119
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	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	22	1	0	28	0	0	20	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	23	24	24	52	52	52	72	72	72	98	98
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	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	15	0	0	25	1	0	0	32	0	0	28	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	18	18	18	43	44	44	44	76	76	76	104	104
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	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	21	0	0	34	0	0	0	29	0	0	28	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	26	26	26	60	60	60	60	89	89	89	117	117
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	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	11	0	0	0	25	0	0	36	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	16	16	16	16	41	41	41	77	77	77	103	103
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	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	18	0	0	0	27	0	0	31	0	0	27	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	31	31	31	31	58	58	58	89	89	89	116	116
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	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	18	0	0	26	0	0	30	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	21	21	21	47	47	47	77	77	77	77	77
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	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	18	0	0	0	27	0	0	34	0	0	27	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	27	27	27	27	54	54	54	88	88	88	115	115
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	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	19	0	0	28	0	0	26	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	9	28	28	28	56	56	56	82	82	82	82	82

Appendix 3-4 Result of reproduction test

Test chemical: OBSH

(Concentration 2)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			6/18	6/19	6/20	6/21	6/22	6/23	6/24	6/25	6/26	6/27	6/28	6/29	6/30	7/1	7/2	7/3	7/4	7/5	7/6	7/7	7/8	
			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	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	0	0	0	0	0	11	0	0	24	0	0	0	32	0	0	35	0	0	27	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	35	35	35	35	67	67	67	102	102	102	129	129
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	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	16	1	0	0	32	0	0	34	1	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	22	23	23	23	55	55	55	89	90	90	116	116
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	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	25	0	0	23	0	0	33	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6	31	31	31	54	54	54	87	87	87	87	87
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	28	0	0	0	21	0	0	2				
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	36	36	36	36	57	57	57	59				--
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	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	21	0	0	30	3	0	0	31	0	0	29	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	29	29	29	59	62	62	62	93	93	93	122	122
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	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	29	0	0	28	0	0	26	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7	36	36	36	64	64	64	90	90	90	90	90
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	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	14	0	0	9	0	0	34	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	8	22	22	22	31	31	31	65	65	65	91	91
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	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	23	0	0	28	0	0	30	0	0	23	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	26	26	26	54	54	54	84	84	84	107	107
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	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	7	0	0	0	26	0	0	33	0	0	23	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	10	10	10	10	36	36	36	69	69	69	92	92
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	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	13	1	0	0	26	0	0	30	0	0	21	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	23	24	24	24	50	50	50	80	80	80	101	101

-- : Were not included for calculation because the parental *Daphnia* was dead during a 21-day testing period.

Appendix 3-5 Result of reproduction test

Test chemical: OBSH

(Concentration 3)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			6/18	6/19	6/20	6/21	6/22	6/23	6/24	6/25	6/26	6/27	6/28	6/29	6/30	7/1	7/2	7/3	7/4	7/5	7/6	7/7	7/8	
			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	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	0	0	0	0	0	4	0	0	9	0	0	30	4	0	0	36	0	0	28	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	13	13	13	43	47	47	47	83	83	83	111	111
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	0															
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0															
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0															--
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	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	7	0	0	0	11	0	0	35	0	0	28	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	12	12	12	12	23	23	23	58	58	58	86	86
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	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	23	0	0	0	30	0	0	31	0	0	23	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	34	34	34	34	64	64	64	95	95	95	118	118
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	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	22	0	0	0	19	0	0	30	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	31	31	31	31	50	50	50	80	80	80	106	106
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	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	22	0	0	15	0	0	6	21	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	26	26	26	41	41	41	47	68	68	68	68
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	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	20	0	0	0	24	0	0	36	0	0	20	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	23	23	23	23	47	47	47	83	83	83	103	103
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	0	0	0	0	0	0	0	5	0	1	8	0	0	4	26	0	0	31	0	0	8	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	6	14	14	14	18	44	44	44	75	75	75	83	83
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	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	25	0	0	0	23	0	0	34	0	0	25	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	30	30	30	30	53	53	53	87	87	87	112	112
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	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	8	0	0	0	27	0	0	31	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	12	12	12	12	39	39	39	70	70	70	96	96

-- : Were not included for calculation because the parental *Daphnia* was dead during a 21-day testing period.

Appendix 3-6 Result of reproduction test

Test chemical: OBSH

(Concentration 4)

Rep. No.	Counts	Time																					Total
		6/18 1 d	6/19 2 d	6/20 3 d	6/21 4 d	6/22 5 d	6/23 6 d	6/24 7 d	6/25 8 d	6/26 9 d	6/27 10 d	6/28 11 d	6/29 12 d	6/30 13 d	7/1 14 d	7/2 15 d	7/3 16 d	7/4 17 d	7/5 18 d	7/6 19 d	7/7 20 d	7/8 21 d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	0															
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0															
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0															--
2	P generation	Live	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	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	7	22	0	0	27	0	0	25	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	21	43	43	43	70	70	70	95	95
3	P generation	Live	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	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	8	0	0	35	0	0	27	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7	15	15	15	50	50	50	77	77
4	P generation	Live	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	0	0	0	0	0	3	0	0	0	5	0	0	24	0	0	30	0	0	24
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	8	8	8	32	32	32	62	62	62	86	86
5	P generation	Live	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	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0	12	2	0	0	31	0	0	28
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	5	5	5	17	19	19	19	50	50	50	78	78
6	P generation	Live	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	0	0	0	0	0	1	0	0	14	0	0	28	0	0	34	0	0	27	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	15	15	15	15	43	43	43	77	77	77	104	104
7	P generation	Live	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	0	0	0	0	0	1	0	0	9	0	0	28	1	0	0	31	0	0	33
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	10	10	10	38	39	39	39	70	70	70	103	103
8	P generation	Live	1	1	1	0																	
	F1 generation	Live	0	0	0	0																	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0																		--
9	P generation	Live	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	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	27	0	0	28	0	0	28	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	41	41	41	69	69	69	97	97
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0					
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	30	0	0					
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	32	32	32					--

-- : Were not included for calculation because the parental *Daphnia* was dead during a 21-day testing period.

Appendix 3-7 Result of reproduction test

Test chemical: OBSH

(Concentration 5)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			6/18	6/19	6/20	6/21	6/22	6/23	6/24	6/25	6/26	6/27	6/28	6/29	6/30	7/1	7/2	7/3	7/4	7/5	7/6	7/7	7/8	
			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	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

付属資料－ 4

結果の算出

Table A-4-1 Calculation of the EC50 (Representative, 21days)

Logit method					Filename : A358-2.DAT				
No.	DOSE	N	R	Percent	Y	Y (nw)	y	Y	Y - Y
1	4.470	100.000	99.900	0.999	99.900	6.9(0.100)	6.907	6.907	-0.000
2	2.130	100.000	14.200	0.142	14.200	-1.8(12.184)	-1.799	-1.799	0.000

first	
Chi-SQR Cal.....	2.4953e-013
Chi-SQR [0.05,df=1]...	0
beta.....	11.7441
alpha.....	-10.6788
Stimulate Value D10...	2.05895
D90...	2.9933
D50...	2.48255
95percent Confidence limit	g= 0.51155
by fieller.....	2.31039- 3.63039

Table A-4-2 Calculation of the NOEC, LOEC (Representative, 21days)

Input Data Table

No.	Solvent Control (Group1)	Conc. 1 (Group2)	Conc. 2 (Group3)	Conc. 3 (Group4)	Conc. 4 (Group5)	Conc. 5 (Group6)
1	103	113	129	111	*	0
2	134	119	116	*	95	0
3	84	98	87	86	77	0
4	115	104	*	118	86	0
5	*	117	122	106	78	0
6	95	103	90	68	104	0
7	115	116	91	103	103	0
8	88	77	107	83	*	0
9	114	115	92	112	97	0
10	111	82	101	96	*	0

Group	Samples	Mean	S. E.	S. D.	Variance	
1	9	106.5556	5.2311	15.6932	246.2778	
2	10	104.4000	4.7004	14.8633	220.9333	
3	9	103.8889	5.1490	15.4470	238.6111	
4	9	98.1111	5.4351	16.3052	265.8611	
5	7	91.4286	4.2362	11.2080	125.6190	
6	10	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
Method	vs	Side	Stat.	0.0500	0.0100	0.0010 Prob.
Bartlett test			0.65535.0000	11.0705	>15.0863	20.5152
Method	vs	Side	Stat.	0.05	0.01	0.001 Prob.
Kruskal-Wallis test			0.27.5223	>11.0705	15.0863	20.5152 0.0000
Method (ノンパラメトリック)	vs	Side	Stat.	0.05	0.01	0.001 Prob.
Williams (1971, 1972, 1977)	1 vs 2	2	0	1.9587	2.5735	999.9900 999.9900
Williams (1971, 1972, 1977)	1 vs 3	2	0.2029	2.0137	2.6043	999.9900 999.9900
Williams (1971, 1972, 1977)	1 vs 4	2	0.7667	2.0305	2.6122	999.9900 999.9900
Williams (1971, 1972, 1977)	1 vs 5	2	1.5473	2.0386	2.6151	999.9900 999.9900
Williams (1971, 1972, 1977)	1 vs 6	2	4.2758	2.0425	>2.6171	999.9900 999.9900 **