

# 試 験 報 告 書

o-sec.-ブチルフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

(試験番号：第10013号)

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

# 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
2.1 供試生物	5
2.2 供試する幼体を得るための飼育方法	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, 恒温室及び測定機器等	6
3.4 試験濃度の設定	6
3.5 試験水の調製	6
3.6 試験水の分析	6
3.7 試験操作	7
4 結果の算出	7
4.1 親ミジンコの半数致死濃度(LC <sub>50</sub> )	7
4.2 50 %繁殖阻害濃度(EC <sub>50</sub> )	8
4.3 最大無作用濃度(NOEC)及び最小作用濃度(LOEC)	8
5 結果及び考察	9
5.1 試験結果の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	9
5.2 試験水の被験物質濃度	9
5.3 ミジンコの観察結果	9
5.4 LC <sub>50</sub> 値	10
5.5 EC <sub>50</sub> 値	10
5.6 NOEC及びLOEC	10
5.7 試験水のpH, DO, 水温及び硬度	10
Table 1~11	11~24
Figure 1, 2	15, 18
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	累積産仔数結果表

## 陳述書

試験委託者： 環境庁

試験の表題： o-sec.-ブチルフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する  
繁殖阻害試験

試験番号： 第10013号

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

2000 年 5月 30日

財団法人 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： o-sec.-ブチルフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する  
繁殖阻害試験

試験番号： 第10013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	1999年 1月20日 ～2000年 5月30日	1999年 1月20日 ～2000年 5月30日
試験報告書監査	2000年 5月30日	2000年 5月30日

2000 年 5 月 30 日

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

信頼性保証責任者



## 試験概要

### 1 表題

o-sec.-ブチルフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

### 2 試験目的

o-sec.-ブチルフェノールについて、オオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験を行い、21日間後の最大無作用濃度 (NOEC) と最小作用濃度 (LOEC) を求め、可能な限り 50%繁殖阻害濃度 (EC<sub>50</sub>) 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 211「オオミジンコによる繁殖試験」(1998年9月採択) に準拠した。

### 4 適用GLP

本試験は環境庁GLP規則「生態影響試験実施に関する基準」に従い実施した。

### 5 試験委託者

- 1) 名 称：環境庁
- 2) 住 所：東京都千代田区霞ヶ関 1丁目 2番 2号
- 3) 委託責任者：企画調整局環境保健部環境安全課環境リスク評価室室長補佐

### 6 試験受託者

- 1) 名 称：財団法人 日本食品分析センター
- 2) 所 在 地：東京都渋谷区元代々木町52番 1号
- 3) 代 表 者：

### 7 試験施設

- 1) 名 称：財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所
- 2) 所 在 地：東京都多摩市永山 6丁目11番10号
- 3) 名 称：財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所別館
- 4) 所 在 地：東京都多摩市永山 6丁目21番 6号

8 試験関係者

試験責任者

[Redacted]

(2000年5月30日)

生物担当責任者

[Redacted]

(2000年5月30日)

([Redacted] 2000年4月1日異動)

生物系試験担当者

[Redacted]

(2000年5月30日)

[Redacted]

(2000年5月30日)

[Redacted]

(2000年5月30日)

[Redacted]

(2000年5月30日)

[Redacted]

(2000年5月30日)

分析担当責任者

[Redacted]

(2000年5月30日)

理化学系分析担当者

[Redacted]

(2000年5月30日)

[Redacted]

(2000年5月30日)

[Redacted]

(2000年5月30日)

9 試験期間

試験開始日：平成11年 1月20日

試験終了日：平成12年 5月30日

曝露期間：平成12年 4月12日～平成12年 5月 3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

o-sec.-ブチルフェノールのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

### 試験番号

第 1 0 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 211「オオミジンコによる繁殖試験」(1998年9月採択)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質：o-sec.-ブチルフェノール
- 2) 曝露方法：半止水式(48時間毎，試験水の全量を交換)
- 3) 曝露期間：21日間
- 4) 連 数：1濃度区 10連
- 5) 供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 6) 生 物 数：10頭／濃度区(1連 1頭，1濃度区 10頭)
- 7) 試験水量：80 ml／1連
- 8) 試験水温：20±1℃
- 9) 照 明：室内光(1, 200 lx以下)，16時間明／8時間暗
- 10) 給 餌：*Chlorella vulgaris*
- 11) 給 餌 量：ミジンコ1頭当たり約0.15 mgC(有機体炭素含量)／日の割合で与えた。
- 12) 試験濃度：対照区，0.0032，0.010，0.032，0.10，0.32，1.0及び3.2 mg/l
- 13) 試験水中の被験物質の分析：高速液体クロマトグラフ法(曝露開始時及び2日後の換水前，6日後の換水後及び8日後の換水前，14日後の換水後及び16日後の換水前)

### 結 果

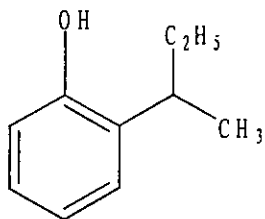
下記の結果は設定濃度より算出した。

- 1) 親ミジンコの半数致死濃度(LC<sub>50</sub>)  
LC<sub>50</sub>(21 days)：1.8 mg/l (Binominal法)
- 2) 50 %繁殖阻害濃度(EC<sub>50</sub>)  
EC<sub>50</sub>(21 days)：1.0 mg/l以上
- 3) 最大無作用濃度(NOEC)  
NOEC(21 days)：0.32 mg/l (Dunnett法の多重比較)
- 4) 最小作用濃度(LOEC)  
LOEC(21 days)：1.0 mg/l (Dunnett法の多重比較)

## 1 被験物質

### 1.1 名称, 構造式及び物理化学的性状

- 1) 名 称 : o-sec.-ブチルフェノール (別名 : 2-sec.-ブチルフェノール)
- 2) 英 名 : o-sec.-Butylphenol, (CAS No. 89-72-5)
- 3) 構造式 :



- 4) 化学式 :  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$
- 5) 分子量 : 150.22
- 6) 安定性 : 安定
- 7) pKa : -
- 8) logPow : -
- 9) 水への溶解度 : 不溶
- 10) 蒸気圧 : -

### 1.2 供試試料

- 1) 供給者 : XXXXXXXXXX
- 2) 入手日 : 1998年12月14日
- 3) ロット番号 : DLJ5725
- 4) 外 観 : 無色透明液体
- 5) 純 度 : 98.4 %
- 6) 供給量 : 100 g

### 1.3 被験物質の確認及び保管条件下での安定性

#### 1) 保管方法

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

#### 2) 被験物質の確認及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, 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

### 2.1 供試生物

試験に供したオオミジンコ (*Daphnia magna*) を下記に示した。供試ミジンコは生後24時間以内の幼体を用いた。

供試ミジンコは基準物質(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, 48時間 $EC_{50}$ 値は0.49 mg/l(平成11年11月17日実施)であった。

- 1) 和 名 : オオミジンコ
- 2) 学 名 : *Daphnia magna*
- 3) 発育段階 : 生後24時間以内
- 4) 入 手 先 : 国立環境研究所(1998年6月23日)より入手したものを, 財団法人日本食品分析センターにおいて継代飼育している種である。

### 2.2 供試する幼体を得るための飼育方法

継代中のものから幼体を抱えた肉眼的に健康かつ十分な大きさの雌成体を選別し, 別に用意した容器に移した。翌日, 産出された幼体を順化用容器(1 l容ガラス製ビーカー)に分け, この幼体を供試ミジンコ(以下「ミジンコ」と称す。)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, ミジンコに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。

- 1) 飼 育 水 : 希釈水(3.2参照)
- 2) 飼育密度 : 20~50頭/l(成熟個体の場合は, 25頭以下/l)
- 3) 飼育水温 :  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 4) 照 明 : 室内光(1,200 lx以下), 16時間明/8時間暗
- 5) 給 餌 : *Chlorella vulgaris*
- 6) 給 餌 量 : ミジンコ1頭当たり約0.15 mgC(有機体炭素)/日

## 3 試験方法

### 3.1 試験条件

- 1) 曝露方法 : 半止水式(48時間毎, 試験水の全量を交換)
- 2) 曝露期間 : 21日間
- 3) 連 数 : 1濃度区 10連
- 4) 生 物 数 : 10頭/濃度区(1連 1頭, 1濃度区 10頭)
- 5) 試験水量 : 80 ml/1連
- 6) 試験水温 :  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 7) 照 明 : 室内光(1,200 lx以下), 16時間明/8時間暗
- 8) 給 餌 : *Chlorella vulgaris*
- 9) 給 餌 量 : ミジンコ1頭当たり約0.15 mgC(有機体炭素)/日

### 3.2 希釈水

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

試験に使用した希釈水のpH及び硬度はそれぞれ7.6~7.9及び87~88 mg/l(CaCO<sub>3</sub>換算)であった。

### 3.3 試験容器、恒温室及び測定機器等

- 1) 試験容器：100 ml容ガラス製密閉ネジ口耐熱瓶
- 2) 恒温室：21.84R-4410[日立冷熱株式会社]
- 3) 温度計：AP-210[安立計器株式会社]
- 4) pH計：HM-14P[東亜電波工業株式会社]
- 5) 溶存酸素計：D0-14P[東亜電波工業株式会社]
- 6) 残留塩素比色測定器：OT-I型[理研光学株式会社]

### 3.4 試験濃度の設定

被験物質のミジンコに対する48時間半数遊泳阻害濃度(48hr-EiC<sub>50</sub>値)が4.0 mg/lであったため、3.2 mg/l以下の濃度を公比3.2で7段階設定した。各濃度区は以下の通りであった。

対照区、0.0032, 0.010, 0.032, 0.10, 0.32, 1.0及び3.2 mg/l

### 3.5 試験水の調製

被験物質を水に溶解させて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。対照区は希釈水のみとした。

### 3.6 試験水の分析

全濃度区について、曝露開始時及び2日後の換水前、6日後の換水後及び8日後の換水前、14日後の換水後及び16日後の換水前の試験水を採取した。

試験水の採取は、曝露開始時及び換水後では分析用を含めた量の試験水を調製し、そこから100 ml採取して分析用試験水とした。また、換水前は各濃度区の試験容器(10連中4連)から試験水を適量採取し、等量混合して100 mlを分析用試験水とした。

分析用試験水は速やかに遠心分離等の方法により残餌等を除去し、高速液体クロマトグラフを用いて分析を行った。試験水の分析に際しては、標準溶液のピーク高さを用いて検量線を作成し、試験水より得られたピーク高さから試験水中の被験物質濃度を算出した。なお、詳細は付属資料-2に示した。

### 3.7 試験操作

曝露開始時に順化用容器から生後24時間以内のミジンコの幼体を採取し、試験に用いた。

各試験水のpH、溶存酸素濃度(DO)、水温及び硬度を測定後、比較的広口のガラスビペットを用いてミジンコを各試験容器に1頭ずつ(1濃度区当たり10頭)投入し、親ミジンコとした。各試験容器を $20 \pm 1^\circ\text{C}$ の恒温室に設置した(試験条件は3.1参照)。48時間換水毎に親ミジンコを新しい試験水に移しかえ、21日間曝露した。なお、曝露期間中は毎日一定量の給餌を行った(3.1参照)。

#### 3.7.1 ミジンコの観察

##### 1) 親ミジンコ

曝露開始より毎日、死亡、遊泳阻害及び外観の異常の有無を観察して、記録した。観察後に死亡個体は試験容器から取り除いた。

##### 2) 産出幼体

曝露開始より毎日、幼体の生存数を計数し、死亡幼体及び墮胎卵の発生等についてはその有無を観察し記録した。なお、計数及び観察後に幼体等は全て試験容器から取り除いた。また、最初の幼体産出日を初産日として記録した。

#### 3.7.2 水質測定

試験水の水質を曝露開始時及び2日後の換水前、6日後の換水後及び8日後の換水前、14日後の換水後及び16日後の換水前に測定した。

試験水のpH、DO及び水温は全濃度区(各1試験容器)、硬度は対照区及び最高濃度区について測定した。なお、pHはガラス電極法、DOは隔膜電極法及び硬度は滴定法で行った。

## 4 結果の算出

### 4.1 親ミジンコの半数致死濃度(LC<sub>50</sub>)

各濃度区の親ミジンコの死亡数と供試個体数(10頭)を用いて、統計的手法により21日後のLC<sub>50</sub>値を算出した。

なお、統計解析にはToxdat multi-method program(EPA/600/4-85/013, p. 205-216)を用いた。

#### 4.2 50 %繁殖障害濃度 (EC<sub>50</sub>)

##### 4.2.1 平均累積産仔数

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

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

$\overline{TF}$  : 平均累積産仔数

p : 21日間生存した親ミジンコの数

m : 21日間生存した親ミジンコの全数

n : 幼体観察回数

ne : 観察最終回

Fpn : p親ミジンコの n回目の幼体数(但し, 生存幼体)

##### 4.2.2 繁殖障害率

繁殖障害率を以下の式により算出した。

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

In : 繁殖障害率(%)

$\overline{TFc}$  : 対照区の平均累積産仔数

$\overline{TFt}$  : t濃度区の平均累積産仔数

##### 4.2.3 EC<sub>50</sub>値

片対数グラフを用いて横軸(対数)に濃度を縦軸に21日後の各濃度区の繁殖障害率をプロットし, 統計的手法を用いてEC<sub>50</sub>値を算出した。

なお, 統計解析にはユックムス統計ライブラリーを用いた。

#### 4.3 最大無作用濃度 (NOEC) 及び最小作用濃度 (LOEC)

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

なお, 統計解析にはユックムス統計ライブラリーを用いた。

## 5 結果及び考察

### 5.1 試験結果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 試験水の被験物質濃度

曝露開始時、6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0.00310～0.941 mg/l、0.00296～0.958 mg/l及び0.00331～0.966 mg/l(設定濃度：0.0032～1.0 mg/l)であり、設定濃度に対する割合は91～105 %であった。

それらの2日後の換水前における被験物質濃度はそれぞれ0.00280～0.905 mg/l、0.00311～0.952 mg/l及び0.00341～0.962 mg/lであり、設定濃度に対する割合は88～107 %であった。

また、開始時後8日目で全死亡した濃度は3.2 mg/l(設定濃度)であり、その曝露開始時及び6日後の換水後における試験水中の被験物質濃度は、3.11及び3.19 mg/l(設定濃度に対する割合：97及び100 %)であった。それらの2日後の換水前及び曝露終了時における被験物質濃度は、2.99及び3.15 mg/l(設定濃度に対する割合：93及び98 %)であった。

よって、実測濃度は設定濃度の±20 %を維持できた。

[Table 1-1, 1-2, 1-3, 1-4 (p.11～13), 付属資料-2]

### 5.3 ミジンコの観察結果

#### 1) 親ミジンコの死亡数及び死亡率

曝露終了時の死亡数及び死亡率は、0.0032～1.0 mg/l濃度区(以下設定濃度)で0頭(0 %)であり、3.2 mg/l濃度区では10頭(100 %)であった。

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

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

#### 2) 初産日

0.0032～1.0 mg/l濃度区における親ミジンコの平均初産日は8.7～9.0日後であった。また、3.2 mg/l濃度区では親ミジンコが8日後までに全て死亡した。なお、対照区の親ミジンコの平均初産日は9.0日後であった。

[Table 3 (p.16), 付属資料-3]

#### 3) 平均累積産仔数

各濃度区における21日間の平均累積産仔数の最小値は1.0 mg/l濃度区の69.1頭であり、最大値は0.032 mg/l濃度区の121.6頭であった。

対照区の21日間の平均累積産仔数は110.8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。

[Table 4 (p.17), Figure 2 (p.18), 付属資料-3]

4) 親ミジンコの大きさ及び状態

0.0032～1.0 mg/l濃度区の親ミジンコの大きさ等は対照区と比較して同等であった。また、3.2 mg/l濃度区では大きさが3日後以降に対照区と比較して小さかった。

5.4 LC<sub>50</sub>値

被験物質の設定濃度に基づく21日間の親ミジンコのLC<sub>50</sub>値は1.8 mg/l(Binominal法)であった。

[Table 5 (p.19)]

5.5 EC<sub>50</sub>値

被験物質の設定濃度に基づく21日間のEC<sub>50</sub>値は1.0 mg/l以上であった。

[Table 6 (p.19)]

5.6 NOEC及びLOEC

21日間のNOECは0.32 mg/l(以下設定濃度)で、LOECは1.0 mg/lであった。

[Table 7 (p.20)]

5.7 試験水のpH, D0, 水温及び硬度

曝露期間における濃度区のpHは7.6～8.7であり、変動は1.5以下であった。

D0は8.3～9.8 mg/lであり、全ての濃度区で飽和溶存酸素濃度(20.0℃の飽和溶存酸素濃度: 8.8 mg/l)の60 %以上が維持された。

水温は19.1～21.0℃であり、設定範囲内(20±1℃)であった。

硬度は最高試験濃度において86～87 mg/lであった。

以上のことから、pH, D0, 水温及び硬度はミジンコの生育条件として適切な範囲であったと考察した。

[Table 8 (p.21), Table 9 (p.22), Table 10 (p.23), Table 11 (p.24)]

以 上

Table 1-1. Measured concentrations of the test solution of o-sec.-Butylphenol in the 21-day reproduction test on *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

Nominal Concentration (mg/l)	Measured concentration(mg/l)		Time-weighted Mean (mg/l)	Percentage of nominal	
	0 day Fresh	2 days Old		0 day Fresh	2 days Old
Control	< 0.002	< 0.002	---	---	---
0.0032	0.00310	0.00280	0.00295	97	88
0.010	0.00949	0.00971	0.00960*	95	97
0.032	0.0305	0.0305	0.0305*	95	95
0.10	0.0908	0.0915	0.0912*	91	92
0.32	0.310	0.306	0.308	97	96
1.0	0.941	0.905	0.923	94	91
3.2	3.11	2.99	3.05	97	93

Table 1-2. Measured concentrations of the test solution of o-sec.-Butylphenol in the 21-day reproduction test on *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

Nominal Concentration (mg/l)	Measured concentration(mg/l)		Time-weighted Mean (mg/l)	Percentage of nominal	
	6 days Fresh	8 days Old		6 days Fresh	8 days Old
Control	< 0.002	< 0.002	---	---	---
0.0032	0.00296	0.00311	0.00304*	93	97
0.010	0.00952	0.00958	0.00955*	95	96
0.032	0.0302	0.0306	0.0304*	94	96
0.10	0.100	0.0992	0.0996	100	99
0.32	0.324	0.323	0.324	101	101
1.0	0.958	0.952	0.955	96	95
3.2	3.19	3.15	3.17	100	98

Fresh: Start of renewal period

Old: End of renewal period

\* : Arithmetic mean

Table 1-3. Measured concentrations of the test solution of o-sec.-Butylphenol  
in the 21-day reproduction test on *Daphnia magna*  
under the semi-static test conditions

Nominal Concentration (mg/l)	Measured concentration(mg/l)		Time-weighted Mean (mg/l)	Percentage of nominal	
	14 days Fresh	16 days Old		14 days Fresh	16 days Old
Control	< 0.002	< 0.002	---	---	---
0.0032	0.00331	0.00341	0.00336*	103	107
0.010	0.00955	0.00962	0.00959*	96	96
0.032	0.0317	0.0327	0.0322*	99	102
0.10	0.0956	0.0964	0.0960*	96	96
0.32	0.336	0.333	0.334	105	104
1.0	0.966	0.962	0.964	97	96

Fresh: Start of renewal period

Old: End of renewal period

\* : Arithmetic mean



Table 1-4. The time-weighted mean value on measured concentrations of the test solution of o-sec.-Butylphenol at each period in the 21-day reproduction test on *Daphnia magna* under the semi-static test conditions

Nominal Concentration (mg/l)	The time-weighted mean value on measured concentration (mg/l)			Percentage of nominal		
	0-7 days	0-14 days	0-21 days	0-7 days	0-14 days	0-21 days
0.0032	0.00295	0.00299	0.00311	92	93	97
0.010	0.00960	0.00958	0.00958	96	96	96
0.032	0.0305	0.0305	0.0310	95	95	97
0.10	0.0912	0.0954	0.0956	91	95	96
0.32	0.308	0.316	0.322	96	99	101
1.0	0.923	0.939	0.947	92	94	95
3.2	3.05	3.11	---- <sup>D</sup>	95	97	---- <sup>D</sup>

D : The parent animal died during a 21-day testing period.

Table 2-1. The cumulative number of deaths among the parent animals

Nominal Concentration (mg/l)	The cumulative number of deaths																						
	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
0.0032		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.010		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.032		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.10		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.32		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.2		0	0	0	2	7	9	9	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Table 2-2. The cumulative percentage mortality of the parent animals

Nominal Concentration (mg/l)	Mortality (%)						
	Days	1	2	4	7	14	21
Control		0	0	0	0	0	0
0.0032		0	0	0	0	0	0
0.010		0	0	0	0	0	0
0.032		0	0	0	0	0	0
0.10		0	0	0	0	0	0
0.32		0	0	0	0	0	0
1.0		0	0	0	0	0	0
3.2		0	0	70	90	100	100

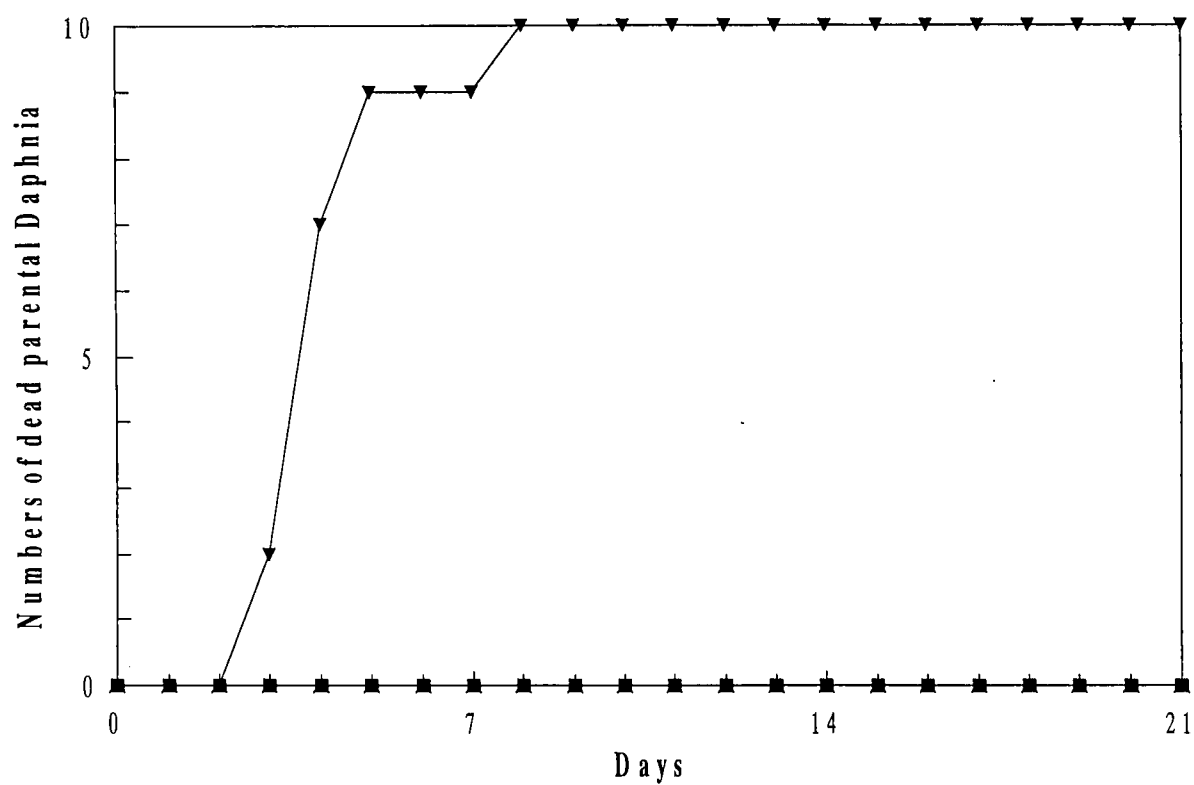


Figure 1. Cumulative numbers of dead parental Daphnia

■ Control    ▲ 0.0032    × 0.010    ⊞ 0.032  
 ⊕ 0.10    △ 0.32    ▽ 1.0    ▼ 3.2

Table 3. The time(days) to first brood

Vessel No.	Nominal concentration(mg/l)							
	Control	0.0032	0.010	0.032	0.10	0.32	1.0	3.2
1	9	9	9	9	8	9	9	D
2	9	9	9	9	8	9	9	D
3	9	9	9	9	8	9	8	D
4	9	9	9	9	9	9	8	D
5	9	9	9	9	9	9	10	D
6	9	9	9	9	9	9	9	D
7	9	9	9	8	9	9	10	D
8	9	9	8	9	9	9	9	D
9	9	9	8	9	9	8	9	D
10	9	9	9	9	9	9	9	D
Mean	9.0	9.0	8.8	8.9	8.7	8.9	9.0	--

-- : No broods during a 21-day testing period.

D : The parent animal died during a 21-day testing period.

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

Nominal Conc. (mg/l)	Mesured Conc. (mg/l)	Days																
		0	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Control	----	0.0	0.0	0.0	6.9	6.9	6.9	26.8	26.8	26.8	58.2	58.2	58.2	86.4	86.4	86.4	110.8	
0.0032	0.00311	0.0	0.0	0.0	13.6	13.6	13.6	30.6	30.6	30.6	66.7	66.7	66.7	91.2	91.2	91.2	114.9	
0.010	0.00958	0.0	0.0	0.9	9.3	9.3	13.3	25.9	25.9	33.3	59.3	59.3	67.9	91.2	91.2	93.8	117.3	
0.032	0.0310	0.0	0.0	1.0	12.9	12.9	14.9	30.9	30.9	34.8	67.2	67.2	70.9	97.2	97.2	99.2	121.6	
0.10	0.0956	0.0	0.0	2.6	11.0	11.0	16.8	31.6	31.6	41.8	62.7	62.7	71.9	90.1	90.1	95.9	111.2	
0.32	0.322	0.0	0.0	1.5	10.3	10.3	11.3	31.1	31.1	34.4	63.0	63.0	65.7	89.6	89.6	92.0	117.0	
1.0	0.947	0.0	0.0	1.2	3.4	4.3	5.7	12.2	16.9	21.1	35.9	39.3	44.3	54.6	56.2	59.2	69.1	
3.2	3.11	0.0	0.0	0.0	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	

---: The parent animal died

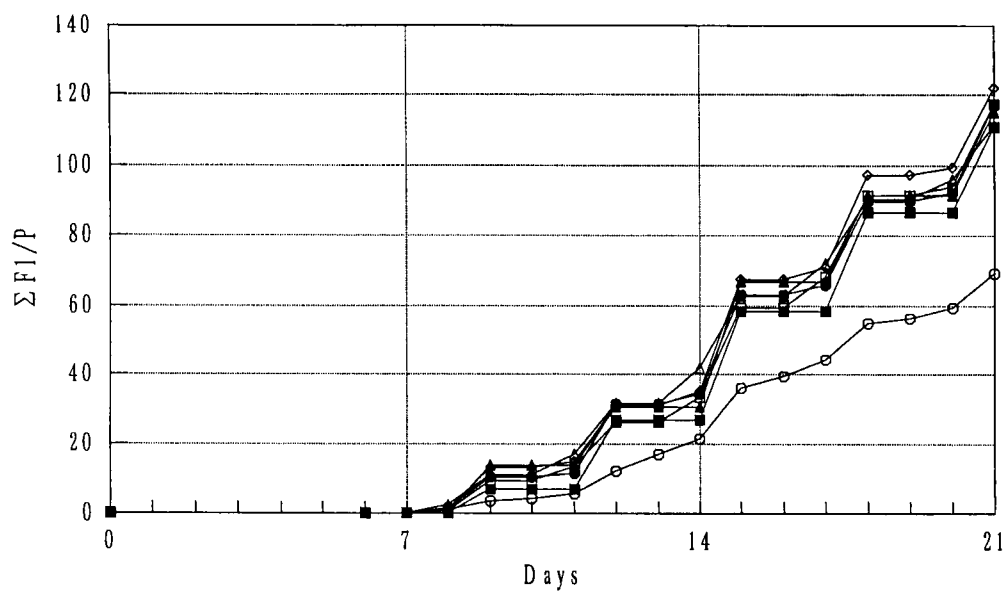


Figure 2. Mean cumulative numbers of living offspring per parent animal alive at the end of the test ( $\Sigma F1/P$ )

■ Control    ▲ 0.0032    □ 0.010    ◇ 0.032    △ 0.10    ● 0.32    ○ 1.0    × 3.2

Table 5. Calculated LC<sub>50</sub> value on the parent animals  
(based on the nominal concentration)

Exposure Period (days)	LC <sub>50</sub> (mg/l)	95 % Confidence limits (mg/l)	Statistical Method
21	1.8	not calculated	Binominal

Table 6. Calculated EC<sub>50</sub> value for inhibition of reproduction  
(based on the nominal concentration)

Exposure Period (days)	EC <sub>50</sub> (mg/l)	95 % Confidence limits (mg/l)	Statistical Method
21	> 1.0	-----	-----

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

Vessel No.	Cont.	Nominal concentration, mg/l (Measured concentration, mg/l)						
		0.0032 (0.00311)	0.010 (0.00958)	0.032 (0.0310)	0.10 (0.0956)	0.32 (0.322)	1.0 (0.947)	3.2 (3.11)
1	115	105	119	113	93	139	79	D
2	118	104	99	119	130	120	77	D
3	106	120	109	132	113	123	90	D
4	123	104	114	123	105	119	58	D
5	110	110	111	120	118	115	48	D
6	120	91	105	118	114	105	65	D
7	109	126	125	126	120	110	58	D
8	111	151	130	135	105	117	84	D
9	101	126	139	128	116	109	75	D
10	95	112	122	102	98	113	57	D
Mean	110.8	114.9	117.3	121.6	111.2	117.0	69.1	---
S. D.	8.7	16.7	12.1	9.6	11.0	9.5	13.8	---
Inhibition rate(%)	---	-3.7	-5.9	-9.7	-0.4	-5.6	37.6	---
Significant difference*1	---	NS	NS	NS	NS	NS	**	---

D: Not calculated because the parental *Daphnia magna* was dead.

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

\*: Significant ( $p < 0.05$ )

\*\*: Significant ( $p < 0.01$ )

NS: Not significant ( $p \geq 0.05$ )

No observed effective concentration (NOEC): 0.32 mg/l (as the nominal concentration)

Lowest observed effective concentration (LOEC): 1.0 mg/l

(as the nominal concentration)



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

Days	Nominal Conc. (mg/l)	pH							
		Control	0. 0032	0. 010	0. 032	0. 10	0. 32	1. 0	3. 2
0	Fresh	7. 9	7. 9	7. 9	7. 9	7. 9	7. 9	7. 9	7. 9
2	Old	9. 0	8. 7	8. 6	8. 6	8. 6	8. 6	8. 5	8. 4
2	Fresh	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7
4	Old	8. 7	8. 7	8. 6	8. 7	8. 6	8. 6	8. 6	8. 6
4	Fresh	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 6	7. 6
6	Old	8. 3	8. 6	8. 6	8. 7	8. 6	8. 6	8. 7	8. 7
6	Fresh	7. 5	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7	7. 7
8	Old	8. 6	8. 5	8. 4	8. 3	8. 3	8. 4	8. 4	8. 5
8	Fresh	7. 6	7. 6	7. 6	7. 6	7. 6	7. 6	7. 6	— <sup>d</sup>
10	Old	8. 4	8. 4	8. 6	8. 4	8. 4	8. 2	8. 4	— <sup>d</sup>
10	Fresh	7. 6	7. 7	7. 7	7. 7	7. 8	7. 7	7. 7	— <sup>d</sup>
12	Old	7. 9	8. 0	8. 2	8. 1	8. 1	8. 0	8. 0	— <sup>d</sup>
12	Fresh	7. 7	7. 8	7. 8	7. 8	7. 8	7. 8	7. 8	— <sup>d</sup>
14	Old	7. 8	7. 7	7. 9	7. 9	7. 8	7. 8	8. 1	— <sup>d</sup>
14	Fresh	7. 6	7. 8	7. 8	7. 8	7. 8	7. 8	7. 8	— <sup>d</sup>
16	Old	7. 9	8. 0	7. 9	7. 9	8. 0	7. 9	7. 9	— <sup>d</sup>
16	Fresh	7. 9	7. 9	7. 9	8. 0	8. 0	7. 9	8. 0	— <sup>d</sup>
18	Old	7. 6	7. 9	8. 0	8. 0	7. 9	7. 8	8. 0	— <sup>d</sup>
18	Fresh	7. 6	7. 7	7. 7	7. 8	7. 8	7. 8	7. 8	— <sup>d</sup>
20	Old	7. 7	8. 2	8. 3	8. 3	8. 3	8. 2	8. 1	— <sup>d</sup>
20	Fresh	7. 8	7. 9	7. 9	7. 9	7. 9	7. 9	7. 9	— <sup>d</sup>
21	Old	7. 8	8. 4	8. 3	8. 1	8. 2	8. 2	8. 1	— <sup>d</sup>

Fresh: Start of renewal period

Old: End of renewal period

d : No measurement was made because all *Daphnia magna* were dead at this period.

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

Days	Nominal Conc. (mg/l)	DO (mg/l)							
		Control	0.0032	0.010	0.032	0.10	0.32	1.0	3.2
0	Fresh	9.6	9.4	9.4	9.4	9.4	9.2	9.3	9.4
2	Old	9.6	9.5	9.5	9.4	9.4	9.4	9.3	9.3
2	Fresh	9.4	9.2	9.2	9.2	9.2	9.2	9.2	9.2
4	Old	9.1	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5
4	Fresh	9.6	9.7	9.6	9.7	9.7	9.7	9.7	9.7
6	Old	9.9	9.8	9.7	9.6	9.7	9.7	9.6	9.8
6	Fresh	9.1	9.4	9.3	9.6	9.4	9.5	9.4	9.4
8	Old	9.3	9.3	9.3	9.3	9.2	9.2	9.2	9.3
8	Fresh	9.3	9.4	9.5	9.4	9.5	9.5	9.5	— <sup>d</sup>
10	Old	9.0	9.2	9.4	9.3	9.1	9.0	9.1	— <sup>d</sup>
10	Fresh	9.0	9.3	9.3	9.3	9.3	9.2	9.3	— <sup>d</sup>
12	Old	8.9	9.0	9.0	9.1	9.0	9.0	8.9	— <sup>d</sup>
12	Fresh	9.2	9.1	9.4	9.5	9.4	9.4	9.5	— <sup>d</sup>
14	Old	8.6	8.3	8.6	8.5	8.4	8.5	9.1	— <sup>d</sup>
14	Fresh	9.0	9.1	9.1	9.1	9.1	9.1	9.1	— <sup>d</sup>
16	Old	9.1	8.5	8.4	8.5	8.5	8.4	8.4	— <sup>d</sup>
16	Fresh	9.6	9.1	9.0	9.0	8.9	9.0	9.0	— <sup>d</sup>
18	Old	8.6	8.8	8.9	8.9	8.7	8.7	8.9	— <sup>d</sup>
18	Fresh	9.0	9.2	9.1	9.2	9.2	9.3	9.3	— <sup>d</sup>
20	Old	9.2	9.0	9.1	9.3	9.1	9.0	9.1	— <sup>d</sup>
20	Fresh	9.3	9.4	9.4	9.4	9.4	9.4	9.4	— <sup>d</sup>
21	Old	8.6	9.2	9.1	8.8	9.1	9.0	8.7	— <sup>d</sup>

Fresh: Start of renewal period

Old: End of renewal period

d : No measurement was made because all *Daphnia magna* were dead at this period.

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

Days	Nominal Conc. (mg/l)	Temperature (°C)							
		Control	0.0032	0.010	0.032	0.10	0.32	1.0	3.2
0	Fresh	20.4	21.0	20.6	21.0	21.0	21.0	21.0	21.0
2	Old	19.9	20.2	20.2	20.2	20.2	20.2	20.3	20.2
2	Fresh	19.9	20.5	20.4	20.4	20.4	20.4	20.4	20.3
4	Old	20.2	20.2	20.2	20.2	20.1	20.1	20.1	20.1
4	Fresh	20.1	20.2	20.2	20.2	20.1	20.2	20.2	20.2
6	Old	19.9	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8	19.8
6	Fresh	19.9	19.4	19.2	19.2	19.3	19.4	19.3	19.3
8	Old	20.2	20.2	20.1	20.2	20.2	20.2	20.2	20.3
8	Fresh	20.3	19.2	19.1	19.1	19.1	19.1	19.1	— <sup>d</sup>
10	Old	20.8	20.3	20.2	20.2	20.2	20.2	20.2	— <sup>d</sup>
10	Fresh	20.8	20.3	20.3	20.2	20.2	20.2	20.2	— <sup>d</sup>
12	Old	19.9	20.3	20.4	20.3	20.4	20.4	20.4	— <sup>d</sup>
12	Fresh	19.7	19.6	19.7	19.8	19.9	19.9	20.1	— <sup>d</sup>
14	Old	19.9	19.7	19.7	19.7	19.7	19.7	19.7	— <sup>d</sup>
14	Fresh	19.9	19.8	19.9	19.8	19.8	19.8	19.8	— <sup>d</sup>
16	Old	20.1	20.0	20.0	20.0	20.0	19.9	19.9	— <sup>d</sup>
16	Fresh	20.2	20.3	20.3	20.3	20.3	20.2	20.2	— <sup>d</sup>
18	Old	20.1	20.1	20.2	20.2	20.2	20.2	20.2	— <sup>d</sup>
18	Fresh	20.0	20.2	20.2	20.2	20.2	20.1	20.2	— <sup>d</sup>
20	Old	20.1	19.9	20.0	20.0	19.9	20.0	20.0	— <sup>d</sup>
20	Fresh	20.1	19.4	19.3	19.3	19.3	19.3	19.3	— <sup>d</sup>
21	Old	19.9	19.7	20.0	19.9	20.0	20.0	19.9	— <sup>d</sup>

Fresh: Start of renewal period

Old: End of renewal period

d : No measurement was made because all *Daphnia magna* were dead at this period.

Table 11. Total hardness (as CaCO<sub>3</sub>) of the test solutions  
in the 21-day reproduction test on *Daphnia magna*  
under the semi-static test conditions

Days	Total hardness (as CaCO <sub>3</sub> , mg/l)			
	Nominal Conc. (mg/l)	Control	Highest Conc.	
			1.0	3.2
0	Fresh	87	—	87
2	Old	87	—	87
6	Fresh	87	—	86
8	Old	87	—	87
14	Fresh	86	86	— <sup>d</sup>
16	Old	87	87	— <sup>d</sup>

Fresh: Start of renewal period

Old: End of renewal period

d : No measurement was made because all *Daphnia magna* were  
dead at this period.

## 付属資料－ 1

希积水の水質  
(全 2 頁)

Water Quality of Dilution Water--1

Parameter	Concentration
Coliform group	ND
Cadmium	< 0.001 mg/l
Mercury	< 0.0001 mg/l
Selenium	< 0.001 mg/l
Lead	< 0.005 mg/l
Arsenic	< 0.001 mg/l
Chromium(VI)	< 0.005 mg/l
Cyanide	< 0.005 mg/l
Nitrate and Nitrite	0.2 mg/l
Fluoride	0.20 mg/l
Carbon tetrachloride	< 0.0002 mg/l
1,2-Dichloroethane	< 0.0002 mg/l
1,1-Dichloroethylene	< 0.001 mg/l
Dichloromethane	0.002 mg/l
cis-1,2-Dichloroethylene	< 0.001 mg/l
Tetrachloroethylene	< 0.001 mg/l
1,1,2-Trichloroethane	< 0.0005 mg/l
Trichloroethylene	< 0.001 mg/l
Benzene	< 0.001 mg/l
Chloroform	< 0.001 mg/l
Dibromochloromethane	< 0.001 mg/l
Bromochloromethane	< 0.001 mg/l
Bromoform	< 0.001 mg/l
Trihalomethanes	< 0.001 mg/l
1,3-Dichloropropene	< 0.0002 mg/l
Simazine	< 0.0002 mg/l
Thiram	< 0.0005 mg/l
Thiobencarb	< 0.001 mg/l

Date : February 8, 2000

— continue —

# Water Quality of Dilution Water-2

Parameter	Concentration
Zinc	< 0.005 mg/l
Iron	< 0.03 mg/l
Copper	< 0.01 mg/l
Sodium	30 mg/l
Manganese	< 0.005 mg/l
Chloride	49 mg/l
Total hardness (as CaCO <sub>3</sub> )	87 mg/l
Total residue	180 mg/l
Surface active agents (anionic)	< 0.02 mg/l
1,1,1-Trichloroethane	< 0.001 mg/l
Phenols	< 0.005 mg/l
Permanganate reduction substances	1.1 mg/l
pH Value	7.9
Taste	normal
Odor	normal
Color	< 1°
Turbidity	< 1°
Phosphorus	< 0.01 mg/l
Aluminium	< 0.05 mg/l
Nickel	< 0.001 mg/l
Tin	< 0.1 mg/l
Free residual chlorine	< 0.01 mg/l
Bromide	< 0.5 mg/l
Sulfide	< 0.01 mg/l
Ammonium	< 0.05 mg/l
Electric conductivity	350 μS/cm
Alkalinity (as CaCO <sub>3</sub> )	46 mg/l
Potassium	7.1 mg/l
Calcium	20 mg/l
Magnesium	8.7 mg/l
PCB	< 0.0005 mg/l
Organophosphate	< 0.02 mg/l

Date : February 8, 2000

## 付属資料一 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

#### 1-1 試料溶液の調製

##### 1) 対照区の試験水

試験水50 mlを200 mlの分液漏斗に正確に量り、ヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にはさらにヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、2 %ジエチレングリコール-アセトン溶液0.5 mlを加え、減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1 mlまで濃縮し、室温で窒素ガスを通じて乾固した。得られた残留物をアセトニトリル-水(7:3 V/V)2 mlに溶解し、これを試料溶液とした。

##### 2) 0.0032 mg/l濃度区及び0.010 mg/l濃度区の試験水

試験水40 mlを200 mlの分液漏斗に正確に量り、ヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にはさらにヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、2 %ジエチレングリコール-アセトン溶液0.5 mlを加え、減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1 mlまで濃縮し、室温で窒素ガスを通じて乾固した。得られた残留物をアセトニトリル-水(7:3 V/V)2 mlに溶解し、これを試料溶液とした。

##### 3) 0.032 mg/l濃度区、0.10 mg/l濃度区及び0.32 mg/l濃度区の試験水

試験水10 mlを200 mlの分液漏斗に正確に量り、ヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にはさらにヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、2 %ジエチレングリコール-アセトン溶液0.5 mlを加え、減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1 mlまで濃縮し、室温で窒素ガスを通じて乾固した。得られた残留物をアセトニトリル-水(7:3 V/V)2 mlに溶解し、これを試料溶液とした。

##### 4) 1.0 mg/l濃度区の試験水

試験水10 mlを200 mlの分液漏斗に正確に量り、ヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にはさらにヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、2 %ジエチレングリコール-アセトン溶液0.5 mlを加え、減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1 mlまで濃縮し、室温で窒素ガスを通じて乾固した。得られた残留物をアセトニトリル-水(7:3 V/V)10 mlに溶解し、これを試料溶液とした。

##### 5) 3.2 mg/l濃度区の試験水

試験水10 mlを200 mlの分液漏斗に正確に量り、ヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。静置後、ヘキサン層を分取し、水層にはさらにヘキサン20mlを加えて5分間振とうした。ヘキサン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水後、2 %ジエ

チレングリコール-アセトン溶液0.5 mlを加え、減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1 mlまで濃縮し、室温で窒素ガスを通じて乾固した。得られた残留物をアセトニトリル-水(7:3 V/V)20 mlに溶解し、これを試料溶液とした。

#### 1-2 標準溶液の調製

標準品0.025 gを精密に量りとり、アセトニトリルに溶解して50 mlとし、これを標準原液とした。この標準原液からアセトニトリル-水(7:3 V/V)を用いて適宜希釈し、0.05, 0.25, 1及び2 µg/mlの標準溶液を調製した。

#### 1-3 定量

試料溶液40 µlを高速液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク高さと検量線から試料溶液中のo-sec.-ブチルフェノール濃度を求め、試験水中のo-sec.-ブチルフェノール濃度を算出した。

### 2 高速液体クロマトグラフ操作条件

機 種 : LC-10AD[株式会社 島津製作所]

検 出 器 : SPD-10A[株式会社 島津製作所]

カ ラ ム : LUNA 5 µ C18(2) φ 4.6 mm×25 cm, 孔径 5 µm

移 動 相 : アセトニトリル-水-リン酸 (700:300:2 V/V/V)

測定波長 : 270 nm

流 速 : 0.8 ml/min

温 度 : 40℃

注 入 量 : 40 µl

データ処理装置 : C-R4A[株式会社 島津製作所]

### 3 検量線

1-2で調製した標準溶液40 µlを高速液体クロマトグラフに注入し、注入量(ng)と得られたピーク高さから検量線を作成した。

### 4 添加回収試験

#### 4-1 低濃度添加

飼育水に濃度が0.0032 mg/lになるようにo-sec.-ブチルフェノールを添加し、この溶液を用いて添加回収試験を行った。試験は平行測定3回で実施し、回収率は98.4 %, 102.0 %, 101.7 %(平均100.7 %)であった。

#### 4-2 高濃度添加

飼育水に濃度が3.2 mg/lになるようにo-sec.-ブチルフェノールを添加し、この溶液を用いて添加回収試験を行った。試験は平行測定3回で実施し、回収率は94.1 %, 94.3 %, 94.3 %(平均94.2 %)であった。

Figure 1. Calibration curve of o-sec.-butylphenol by HPLC analysis

Amount (ng)	Peak height (μV)
80	16,419
40	8,229
10	2,039
2	429

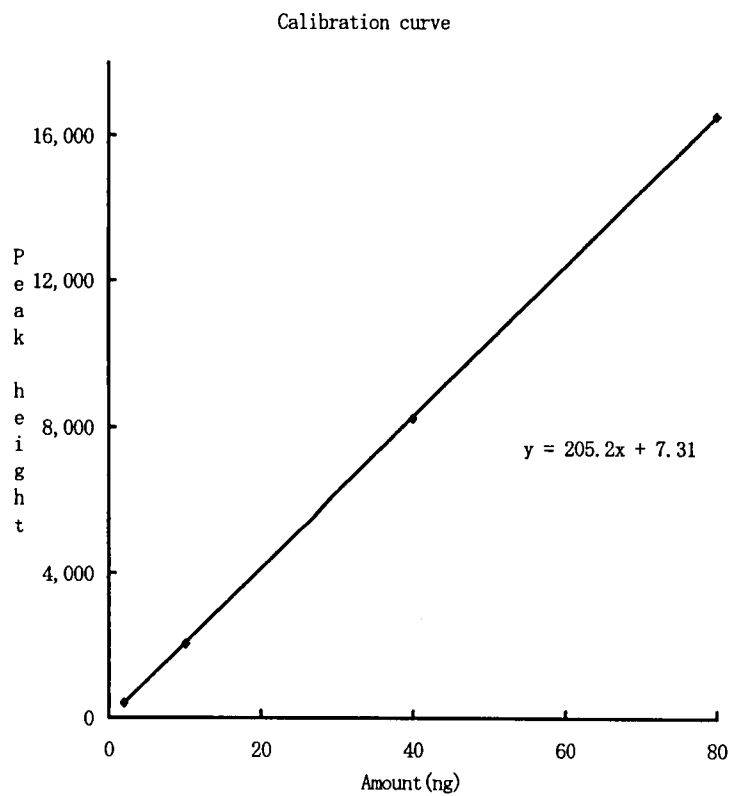
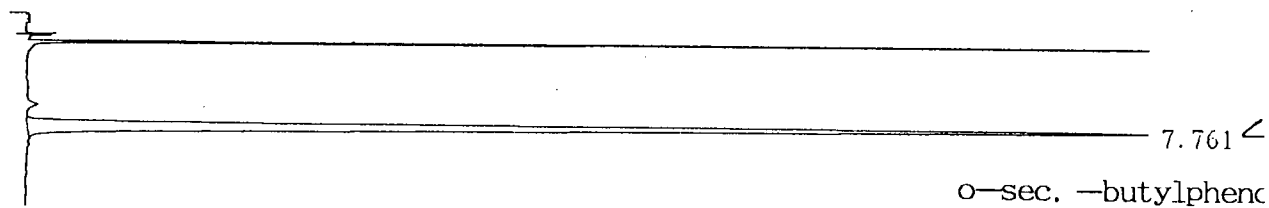


Figure 2. Representative chromatogram

Standard (2 µg/ml): 0 day

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=3 クロマト=2:BUP801.C01 00/04/12 15:58:21



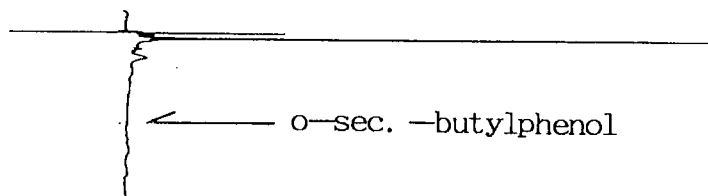
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.761	147190	16419			100	
TOTAL			147190	16419			100	

Control: 0 day

\* 波形処理/計算エラー\* Ch=1, 1: 生ピークがありません。

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=7 クロマト=2:BUP801.C05 00/04/12 16:51:22



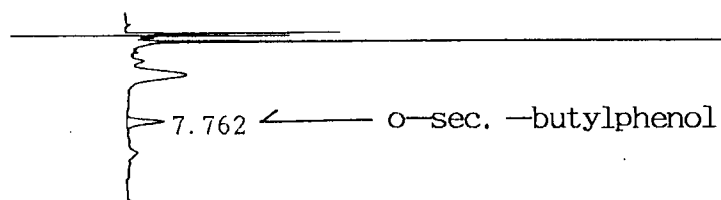
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
TOTAL			0	0			0	

注意 1: 有 CALERROR: 1

Test solution (0.0032 mg/l): 0 day

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=8 クロマト=2:BUP801.C06 00/04/12 17:02:50

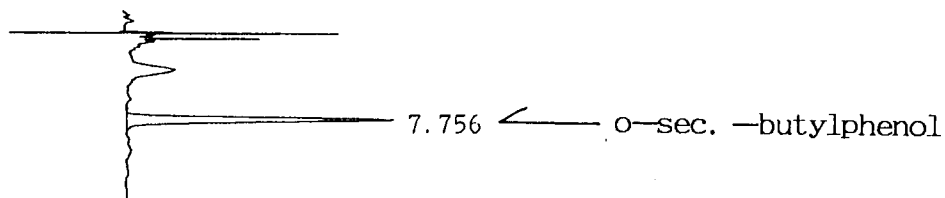


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.762	4590	516			100	
TOTAL			4590	516			100	

Test solution (0.10 mg/l): 0 day

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=11 クロマト=2:BUP801.C09 00/04/12 17:36:44

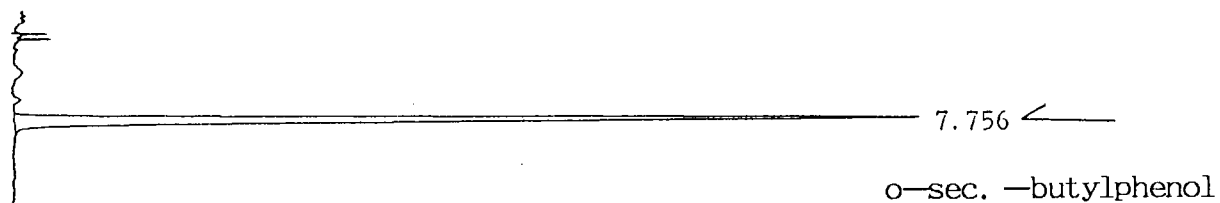


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.756	32907	3734			100	
TOTAL			32907	3734			100	

Test solution (3.2 mg/l): 0 day

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=14 クロマト=2:BUP801.C12 00/04/12 18:10:43

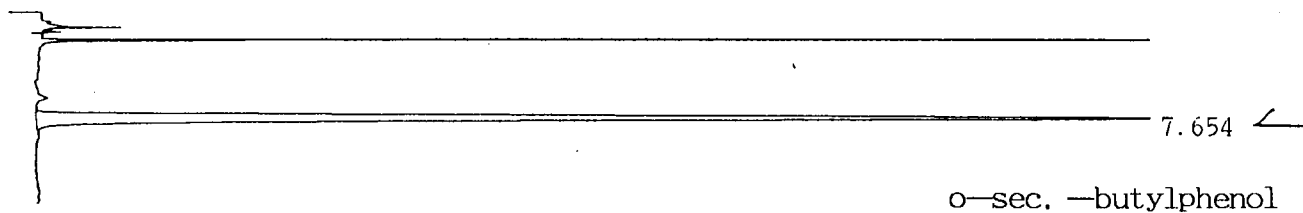


**\*\* 定量計算結果 \*\***

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.756	113495	12773			100	
TOTAL			113495	12773			100	

Standard (2 µg/ml): 8 days

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=37 クロマト=2:BUP804.C01 00/04/20 14:19:59

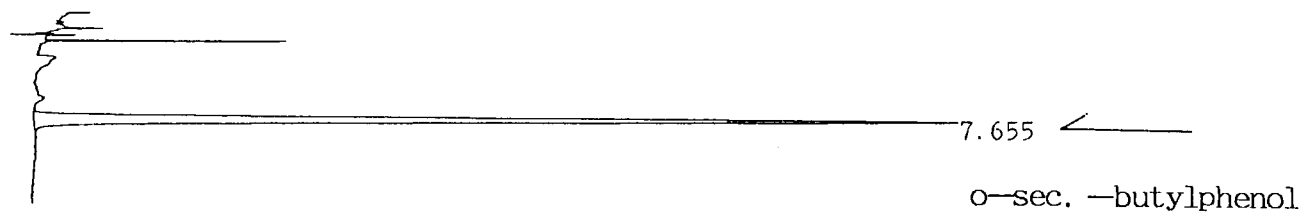


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.654	147882	16490			100	
TOTAL			147882	16490			100	

Test solution (3.2 mg/l): 8 days

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=48 クロマト=2:BUP804.C12 00/04/20 16:30:10

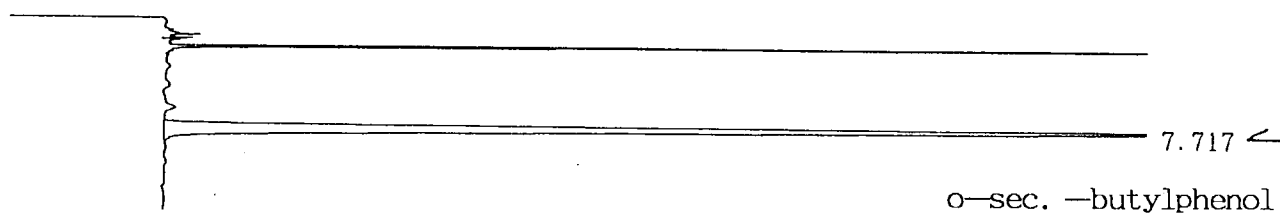


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.655	114552	12964			100	
TOTAL			114552	12964			100	

Standard (2 µg/ml): 16 days

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=1 クロマト=2:BUP806.C01 00/04/28 15:51:09



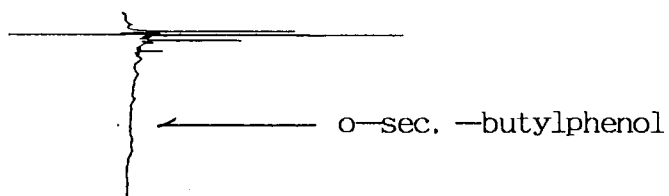
\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.717	147732	16376			100	
TOTAL			147732	16376			100	

Control: 16 days

\* 波形処理/計算エラー\* Ch=1, 1: 生ピークがありません。

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=5 クロマト=2:BUP806.C05 00/04/28 16:36:28



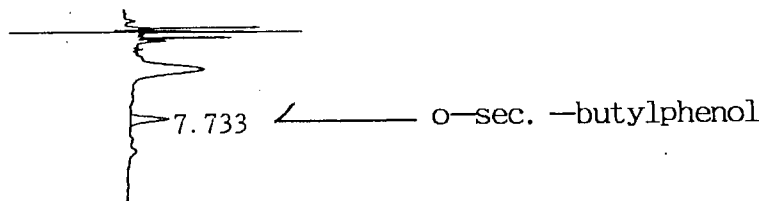
\*\* 定量計算結果 \*\* 注意 エラー有 CALERROR: 1

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
TOTAL			0	0			0	



Test solution (0.0032 mg/l): 16 days

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=6 クロマト=2:BUP806.C06 00/04/28 16:47:48

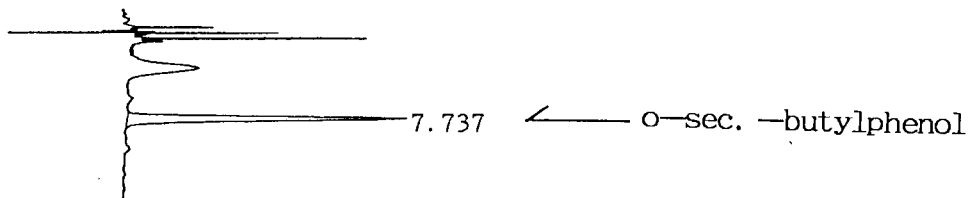


\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.733	4661	533			100	
TOTAL			4661	533			100	

Test solution (0.10 mg/l): 16 days

CHROMATOPAC C-R4A CH=1 REPORT No.=9 クロマト=2:BUP806.C09 00/04/28 17:21:50



\*\* 定量計算結果 \*\*

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	7.737	34513	3924			100	

## 付属資料－ 3

累積産仔数結果表  
(全 8 頁)

Appendix 3-1 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: o-sec.-Butylphenol,					Chemical conc.:					0 mg/l,		Dispersant conc.:					0 mg/l)						
Rep. No.	Counts		Time																					Total		
			4/13 1d	4/14 2d	4/15 3d	4/16 4d	4/17 5d	4/18 6d	4/19 7d	4/20 8d	4/21 9d	4/22 10d	4/23 11d	4/24 12d	4/25 13d	4/26 14d	4/27 15d	4/28 16d	4/29 17d	4/30 18d	5/1 19d	5/2 20d	5/3 21d			
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	16	0	0	32	0	0	39	0	0	23			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	21	21	21	53	53	53	92	92	92	115	115		
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	22	0	0	34	0	0	26	0	0	26			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	32	32	32	66	66	66	92	92	92	118	118		
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	22	0	0	36	0	0	24	0	0	20			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	26	26	26	62	62	62	86	86	86	106	106		
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	23	0	0	32	0	0	33	0	0	28			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	30	30	30	62	62	62	95	95	95	123	123		
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	20	0	0	27	0	0	24	0	0	31			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	28	28	28	55	55	55	79	79	79	110	110		
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	20	0	0	35	0	0	31	0	0	25			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	29	29	29	64	64	64	95	95	95	120	120		
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	27	0	0	29	0	0	20	0	0	24			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	36	36	36	65	65	65	85	85	85	109	109		
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	19	0	0	30	0	0	32	0	0	28			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	21	21	21	51	51	51	83	83	83	111	111		
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	19	0	0	32	0	0	26	0	0	17			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	26	26	26	58	58	58	84	84	84	101	101		
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	11	0	0	27	0	0	27	0	0	22			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	19	19	19	46	46	46	73	73	73	95	95		

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

Appendix 3-2 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: o-sec.-Butylphenol,						Chemical conc.:		0.0032 mg/l,		Dispersant conc.:		0 mg/l)											
Rep. No.	Counts		Time																					Total		
			4/13 1d	4/14 2d	4/15 3d	4/16 4d	4/17 5d	4/18 6d	4/19 7d	4/20 8d	4/21 9d	4/22 10d	4/23 11d	4/24 12d	4/25 13d	4/26 14d	4/27 15d	4/28 16d	4/29 17d	4/30 18d	5/1 19d	5/2 20d	5/3 21d			
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	14	0	0	33	0	0	27	0	0	21			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	24	24	24	57	57	57	84	84	84	105	105		
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	8	0	0	16	0	0	41	0	0	19	0	0	20			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	24	24	24	65	65	65	84	84	84	104	104		
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	16	0	0	20	0	0	31	0	0	23	0	0	30			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	16	16	16	36	36	36	67	67	67	90	90	90	120	120		
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	12	0	0	10	0	0	27	0	0	23	0	0	32			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	22	22	22	49	49	49	72	72	72	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	0	11	0	0	23	0	0	35	0	0	19	0	0	22			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	34	34	34	69	69	69	88	88	88	110	110		
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	8	0	0	15	0	0	30	0	0	18	0	0	20			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	23	23	23	53	53	53	71	71	71	91	91		
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	18	0	0	21	0	0	47	0	0	26	0	0	14			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	18	18	18	39	39	39	86	86	86	112	112	112	126	126		
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	23	0	0	19	0	0	42	0	0	41	0	0	26			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	23	23	23	42	42	42	84	84	84	125	125	125	151	151		
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	21	0	0	39	0	0	23	0	0	26			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	17	38	38	38	77	77	77	100	100	100	126	126		
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	13	0	0	11	0	0	36	0	0	26	0	0	26			
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	24	24	24	60	60	60	86	86	86	112	112		

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

Appendix 3-3 Result of Reproduction Test

(Test chemical: o-sec.-Butylphenol, Chemical conc.: 0.010 mg/l, Dispersant conc.: 0 mg/l)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			4/13	4/14	4/15	4/16	4/17	4/18	4/19	4/20	4/21	4/22	4/23	4/24	4/25	4/26	4/27	4/28	4/29	4/30	5/1	5/2	5/3	
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	18	0	0	24	0	0	31	0	0	34	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	30	30	30	54	54	54	85	85	85	119	119
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	4	0	0	13	0	0	33	0	0	27	0	0	22	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	17	17	17	50	50	50	77	77	77	99	99
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	11	0	0	19	0	0	30	0	0	23	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	30	30	30	60	60	60	83	83	83	109	109
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	4	0	0	11	0	0	41	0	0	32	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	15	15	15	56	56	56	88	88	88	114	114
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	5	0	0	14	0	0	30	0	0	39	0	0	23	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	19	19	19	49	49	49	88	88	88	111	111
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	13	0	0	16	0	0	33	0	0	22	0	0	21	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	29	29	29	62	62	62	84	84	84	105	105
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	23	0	0	35	0	0	25	0	0	25	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	17	40	40	40	75	75	75	100	100	100	125	125
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	0	15	0	0	37	0	0	47	0	0	26	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	20	20	20	57	57	57	104	104	104	130	130	
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	4	0	0	25	0	0	37	0	0	39	0	0	0	34	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	29	29	29	66	66	66	105	105	105	105	139	139
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	12	0	0	34	0	0	34	0	0	24	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	18	18	18	30	30	30	64	64	64	98	98	98	122	122

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

Appendix 3-4 Result of Reproduction Test

(Test chemical: o-sec.-Butylphenol, Chemical conc.: 0.032 mg/l, Dispersant conc.: 0 mg/l)

Rep. No.	Counts		Time																				Total
			4/13 1d	4/14 2d	4/15 3d	4/16 4d	4/17 5d	4/18 6d	4/19 7d	4/20 8d	4/21 9d	4/22 10d	4/23 11d	4/24 12d	4/25 13d	4/26 14d	4/27 15d	4/28 16d	4/29 17d	4/30 18d	5/1 19d	5/2 20d	5/3 21d
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	22	0	0	44	0	0	21	0	0	11
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	37	37	37	81	81	81	102	102	102	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	0	12	0	0	19	0	0	31	0	0	25	0	0	32
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	31	31	31	62	62	62	87	87	87	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	0	12	0	0	28	0	0	37	0	0	26	0	0	29
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	40	40	40	77	77	77	103	103	103	132
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	5	0	0	9	0	0	42	0	0	39	0	0	28
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	14	14	14	56	56	56	95	95	95	123
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	12	0	0	15	0	0	38	0	0	30	0	0	25
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	27	27	27	65	65	65	95	95	95	120
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	15	0	0	16	0	0	34	0	0	36	0	0	17
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	31	31	31	65	65	65	101	101	101	118
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	10	0	0	20	0	0	39	0	0	37	0	0	20	0
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	30	30	30	69	69	69	106	106	106	126	126
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	21	0	0	36	0	0	35	0	0	28
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	36	36	36	72	72	72	107	107	107	135
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	23	0	0	15	0	0	34	0	0	27	0	0	29
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	23	23	23	38	38	38	72	72	72	99	99	99	128
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	10	0	0	15	0	0	28	0	0	24	0	0	25
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	25	25	25	53	53	53	77	77	77	102

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

## Appendix 3-5 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: o-sec.-Butylphenol,							Chemical conc.: 0.10 mg/l,		Dispersant conc.: 0 mg/l)														
Rep. No.	Counts		Time																					Total		
			4/13 1d	4/14 2d	4/15 3d	4/16 4d	4/17 5d	4/18 6d	4/19 7d	4/20 8d	4/21 9d	4/22 10d	4/23 11d	4/24 12d	4/25 13d	4/26 14d	4/27 15d	4/28 16d	4/29 17d	4/30 18d	5/1 19d	5/2 20d	5/3 21d			
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	17	0	0	29	0	0	25	0	0	18	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	21	21	21	50	50	50	75	75	75	93	93	93	
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	21	0	0	40	0	0	40	0	0	18	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	32	32	32	72	72	72	112	112	112	130	130	130	
3	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	20	0	0	33	0	0	27	0	0	22	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	31	31	31	64	64	64	91	91	91	113	113	113	
4	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	25	0	0	27	0	0	22	0	0	19		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	37	37	37	64	64	64	86	86	86	105	105	
5	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	24	0	0	32	0	0	22	0	0	28		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	36	36	36	68	68	68	90	90	90	118	118	
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	18	0	0	35	0	0	33	0	0	19		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	27	27	27	62	62	62	95	95	95	114	114	
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0	20	0	0	31	0	0	23	0	0	25		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	21	21	41	41	41	72	72	72	95	95	95	120	120	
8	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	23	0	0	33	0	0	18	0	0	20		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	34	34	34	67	67	67	85	85	85	105	105	
9	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	17	0	0	29	0	0	38	0	0	24		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	25	25	25	54	54	54	92	92	92	116	116	
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	21	0	0	22	0	0	26	0	0	18		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	32	32	32	54	54	54	80	80	80	98	98	

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

Appendix 3-6 Result of Reproduction Test

(Test chemical: o-sec.-Butylphenol, Chemical conc.: 0.32 mg/l, Dispersant conc.: 0 mg/l)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			4/13	4/14	4/15	4/16	4/17	4/18	4/19	4/20	4/21	4/22	4/23	4/24	4/25	4/26	4/27	4/28	4/29	4/30	5/1	5/2	5/3	
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d	
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	29	0	0	37	0	0	33	0	0	32	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	37	37	37	74	74	74	107	107	107	139	139
2	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	20	0	0	28	0	0	31	0	0	34	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	27	27	27	55	55	55	86	86	86	120	120
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	15	0	0	11	0	0	34	0	0	39	0	0	24	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	26	26	26	60	60	60	99	99	99	123	123
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	12	0	0	22	0	0	31	0	0	23	0	0	31	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	34	34	34	65	65	65	88	88	88	119	119
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	6	0	0	26	0	0	34	0	0	23	0	0	26	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	32	32	32	66	66	66	89	89	89	115	115
6	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	23	0	0	32	0	0	24	0	0	16	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	33	33	33	65	65	65	89	89	89	105	105
7	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	21	0	0	27	0	0	22	0	0	28	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	33	33	33	60	60	60	82	82	82	110	110
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	3	0	0	25	0	0	32	0	0	23	0	0	34	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	28	28	28	60	60	60	83	83	83	117	117
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	15	0	0	10	0	0	33	0	0	27	0	0	24	0	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	25	25	25	58	58	58	85	85	85	109	109	109
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	15	0	0	21	0	0	31	0	0	21	0	0	25	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	36	36	36	67	67	67	88	88	88	113	113

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



Appendix 3-7 Result of Reproduction Test

			(Test chemical: o-sec.-Butylphenol,							Chemical conc.: 1.0 mg/l,			Dispersant conc.: 0 mg/l)												
Rep. No.	Counts		Time																					Total	
			4/13 1d	4/14 2d	4/15 3d	4/16 4d	4/17 5d	4/18 6d	4/19 7d	4/20 8d	4/21 9d	4/22 10d	4/23 11d	4/24 12d	4/25 13d	4/26 14d	4/27 15d	4/28 16d	4/29 17d	4/30 18d	5/1 19d	5/2 20d	5/3 21d		
1	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	20	0	0	29	0	0	14	0	0	14		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	22	22	22	51	51	51	65	65	65	79		
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	4	0	0	11	0	0	14	0	0	23	0	0	25		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	15	15	15	29	29	29	52	52	52	77		
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	6	0	0	17	0	0	35	0	0	26	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	12	12	12	29	29	29	64	64	64	90	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	6	0	0	8	0	0	25	0	0	15	0	0	4	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	14	14	14	39	39	39	54	54	54	58	58		
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	3	0	0	21	0	0	16	0	0	8	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	24	24	24	40	40	40	48	48	48		
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	7	0	0	5	0	0	24	0	0	12	0	0	17		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	12	12	12	36	36	36	48	48	48	65		
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	6	0	0	26	0	0	18	0	0	8	0	0		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	32	32	32	50	50	50	58	58	58		
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	3	0	0	7	0	0	32	0	0	18	0	0	24		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	10	10	10	42	42	42	60	60	60	84		
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	4	0	0	13	0	0	24	0	0	23	0	0	11		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	17	17	17	41	41	41	64	64	64	75		
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	2	0	0	9	0	0	25	0	0	13	0	0	8		
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	11	11	11	36	36	36	49	49	49	57		

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

Appendix 3-8 Result of Reproduction Test

(Test chemical: o-sec.-Butylphenol,

Chemical conc.: 3.2 mg/l,

Dispersant conc.: 0 mg/l)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			4/13 1d	4/14 2d	4/15 3d	4/16 4d	4/17 5d	4/18 6d	4/19 7d	4/20 8d	4/21 9d	4/22 10d	4/23 11d	4/24 12d	4/25 13d	4/26 14d	4/27 15d	4/28 16d	4/29 17d	4/30 18d	5/1 19d	5/2 20d	5/3 21d	
1	P generation	Live	1	1	1	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	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	
2	P generation	Live	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	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	
3	P generation	Live	1	1	1	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	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	
4	P generation	Live	1	1	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	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	
5	P generation	Live	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	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	
6	P generation	Live	1	1	1	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	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	
7	P generation	Live	1	1	1	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	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	
8	P generation	Live	1	1	1	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	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	
9	P generation	Live	1	1	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	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	
10	P generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	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	

The time (days) to first brood: 1; -- day, 2; -- day, 3; -- day, 4; -- day, 5; -- day.

6; -- day, 7; -- day, 8; -- day, 9; -- day, 10; -- day.