

## 藻類生長阻害試験に係る化審法テストガイドラインの変更について

### 1. 基本的考え方

TG201 の改訂内容は、最新の科学的知見に基づく内容面での修正から形式的な修正まで多岐にわたるが、それを踏まえて化審法テストガイドライン（以下「化審法 TG」という。）を変更するに当たっては、まずは現行の化審法 TG を基本としつつ、TG201 改訂版に照らして修正が必要な点について改定を行うこととする。

具体的な化審法 TG と TG201 の相違点及び化審法 TG の改定案については以下の表のとおり。また、化審法 TG の改定案全文については別紙のとおり。

### 2. 化審法 TG と TG201 の相違点及び化審法 TG 改定案

項目	現行の化審法 TG	TG201 改訂版	化審法 TG 改定（案）	補足説明
目的等		ANNEX 1		
	細胞濃度（培地 1mL 当たりの細胞の数）	<u>Biomass</u> is the dry weight of living matter present in a population expressed in terms of a given volume; e.g., mg algae/liter test solution. Usually “biomass” is defined as a mass, but in this test this word is used to refer to mass per volume. Also in this test, surrogates for biomass, such as cell counts, fluorescence, etc. are typically measured and the use of the term “biomass” thus refers to these surrogate measures as well.	生物量	TG201 に合わせて修正

項目	現行の化審法 TG	TG201 改訂版	化審法 TG 改定（案）	補足説明
供試生物	1 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> （旧名 <i>Selenastrum capricornutum</i> ）が推奨されるが、 <i>Scenedesmus subspicatus</i> など、他の種を用いてもよい。	ANNEX 2 <u>Green algae</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (formerly known as <i>Selenastrum capricornutum</i>)</li> <li>• <i>Desmodesmus subspicatus</i> (formerly known as <i>Scenedesmus subspicatus</i>)</li> </ul> <u>Diatoms</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Navicula pelliculosa</i>,</li> </ul> <u>Cyanobacteria</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Anabaena flos-aquae</i>,</li> <li>• <i>Synechococcus leopoliensis</i>,</li> </ul>	1 <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> （旧名 <i>Selenastrum capricornutum</i> ）が推奨されるが、 <i>Desmodesmus subspicatus</i> （旧名 <i>Scenedesmus subspicatus</i> ）など、他の種を用いてもよい。	<i>Scenedesmus subspicatus</i> は旧名であるため、新しい種名に変更。 珪藻（Diatoms）、ラン藻 2 種（Cyanobacteria）については、「他の種を用いてもよい。」から読み取れるため、特に追記はしない。  ただし、珪藻、ラン藻については、これまでこれらを用いて評価がなされたことが無く、その試験結果を用いて緑藻と同様に評価をできるか検討が必要。
培地	3	19、ANNEX 3	3	

項目	現行の化審法 TG	TG201 改訂版	化審法 TG 改定（案）	補足説明
	次の組成の培地又はこれと同程度の組成の培地が推奨される。 (OECD 培地のみの記載)	Two alternative growth media, the OECD and the AAP medium, are recommended.	変更なし	OECD 培地が「推奨される」のであって AAP 培地等他の培地を用いても構わない。但し、OECD 培地は、AAP 培地と比較して 被験物質とのインターアクションが少なく、buffer 作用のある NaHCO <sub>3</sub> が多く含まれ (APP:15mg/L、OECD:50mg/L) 密閉系での試験がしやすいことから、化審法では OECD 培地のみの記載とする。
	リン酸水素二カリウム 1.6 mg/L 塩化鉄 ( ) 六水和物 0.08 mg/L	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1.60 mg/L FeCl <sub>3</sub> •6(H <sub>2</sub> O) 0.0640 mg/L	リン酸二水素カリウム 1.6 mg/L 塩化鉄 ( ) 六水和物 0.064 mg/L	TG201 に合わせて修正
	これらを混合の上、塩酸又は水酸化ナトリウム水溶液を用いて pH を 8.3 に調整し、滅菌する。	The pH of the medium is obtained at equilibrium between the carbonate system of the medium and the partial pressure of CO <sub>2</sub> in atmospheric air. An approximate relationship between pH at 25 °C and the molar bicarbonate concentration is: pH <sub>eq</sub> = 11.30 + log[HCO <sub>3</sub> ] (中略) and with 50 mg NaHCO <sub>3</sub> /L, pH <sub>eq</sub> = 8.1 (OECD medium).	この培地は大気との平衡状態で pH は 8.1 となる。	TG201 に合わせて修正  注) pH 調整に塩酸や水酸化ナトリウム水溶液は使用してはならない。

項目	現行の化審法 TG	TG201 改訂版	化審法 TG 改定（案）	補足説明
前培養	4 指数増殖期の前培養液	26 ensure that the algae are in the exponential growth phase	4 指数増殖期の藻類	より適切な語句に修正
	暴露開始前に2～3日間以上、試験と同条件で前培養を行う。	an inoculum culture in the test medium is prepared 2-4 days before start of the test.	暴露開始前に2～4日間、試験と同条件で前培養を行う。	TG201 に合わせて修正
暴露期間	6 - 1 72 時間以上とする。	32 Test duration is normally 72 hours. However, shorter or longer test durations may be used provided that all validity criteria in paragraph 11 can be met.	6 - 1 原則として72 時間とする。	TG201 に合わせて修正。暴露期間が短い或いは長いものについても、試験の有効性（11）を満たしていれば問題ない。
	初期細胞	6 - 2	21	6 - 2

項目	現行の化審法 TG	TG201 改訂版	化審法 TG 改定（案）	補足説明
濃度	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> では $5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ cells/mL とすることが推奨される。	The following initial cell concentrations are recommended: <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> : $5 \times 10^3 - 10^4$ cells/ml <i>Desmodesmus subspicatus</i> $2.5 \times 10^3$ cells/ml <i>Navicula pelliculosa</i> $10^4$ cells/ml <i>Anabaena flos-aquae</i> $10^4$ cells/ml <i>Synechococcus leopoliensis</i> $5 \times 10^4 - 10^5$ cells/ml	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> では $5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ cells/mL、 <i>Desmodesmus subspicatus</i> では $2 \sim 5 \times 10^3$ cells/mL とすることが推奨される。	供試生物に 2 種記載があるため、 <i>Desmodesmus subspicatus</i> の濃度を追加。珪藻、ラン藻 2 種については、記載しない。
試験濃度	6 - 3 0 ~ 90% の生長阻害を起こす範囲が含まれることが望ましい。	22 The concentration series should preferably cover the range causing 5-75 % inhibition of algal growth rate.	6 - 3 0 ~ 75% の生長阻害を起こす範囲が含まれることが望ましい。	化審法では NOEC を求める必要があるため、「5」は採用せず、「0」のままとする。「75」は TG201 に合わせて修正。
連数	6 - 4 対照区については 6 連で	23 The number of control replicates must be at least three, and ideally should be twice the number of replicates used for each test concentration.	6 - 4 対照区（または助剤対照区）については 6 連で	語句を補足
被験物質	9 - 1	37	9 - 1	

項目	現行の化審法 TG	TG201 改訂版	化審法 TG 改定（案）	補足説明
濃度の測定	暴露期間中に初期濃度より 20%以上低下することが予測される場合は、	it is likely that exposure concentrations will vary less than 20% from nominal values during the test.	暴露期間中に設定濃度より 20%以上低下することが予測される場合は、	TG201 に合わせて修正（現行化審法 TG の記載誤り）
限度試験	1 0 ----- 生長の平均値	42 ----- The response variables in the control and treatment group may be analysed using a statistical test to compare means, e.g. a Student's t-test.	1 0 ----- 生長速度等の平均値	TG201 に合わせて語句を補足
試験の有効性	1 1 ----- 次の条件が満たされる場合、試験は有効とみなされる。	11 ----- For the test to be valid, the following performance criteria should be met:	1 1 ----- <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> 及び <i>Desmodesmus subspicatus</i> では、次の条件が満たされる場合、試験は有効とみなされる。	供給生物名 2 種を標記。
	対照区の		対照区（または助剤対照区）の	語句を補足。

項目	現行の化審法 TG	TG201 改訂版	化審法 TG 改定 (案)	補足説明
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> では、対照区の細胞数が暴露期間中に少なくとも 16 倍に増殖すること。	<p>The biomass in the control cultures should have increased exponentially by a factor of at least 16 within the 72-hour test period.</p> <p>The test period may be shortened to at least 48 h to maintain unlimited, exponential growth during the test as long as the minimum multiplication factor of 16 is reached.</p>	対照区 (または助剤対照区) の生物量が暴露期間中に少なくとも 16 倍に増殖すること。	<p>一つ上の項目に種名を入れたのでここでは種名は削除。</p> <p>注) 48h の試験であっても、指数増殖をしており、16 倍に到達していれば試験は有効である。</p>
	対照区の繰り返し間の生長速度の変動係数が 15% を超えないこと。	The coefficient of variation of average specific growth rates during the whole test period in replicate control cultures must not exceed 7% in tests with <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> and <i>Desmodesmus subspicatus</i> .	対照区 (または助剤対照区) の繰り返し間の生長速度の変動係数が 7% を超えないこと。	TG201 に合わせて修正
結果の算出方法	1 2 面積法と速度法の両方を用いて計算することが望ましい。	46 (速度法と収量法の記載あり。) (a) Average specific growth rate: this response variable is calculated on the basis of the logarithmic increase of biomass during the test period, expressed per day	1 2 面積法に関する記載をすべて削除。	TG201 で面積法が不採用とされたことに合わせて面積法に関する記載は削除。 なお、収量法 (Yield) については、特定の国 (アメリカ) における運用のために TG201 に盛り込まれた

項目	現行の化審法 TG	TG201 改訂版	化審法 TG 改定（案）	補足説明
		(b)Yield: this response variable is the biomass at the end of the test minus the starting biomass.		経緯があり、我が国で用いられた実績等も無いことから、化審法では採用しない。（なお、アメリカでは速度法と収量法の両方が提出される。）
結果の取扱い	1 2 - 1 初期濃度の ±20% 以内に保たれていたことが証明できる場合には、初期濃度に基づいて結果の算出を行うことができる。	39 If there is evidence that the concentration of the substance being tested has been satisfactorily maintained within ± 20 % of the nominal or measured initial concentration throughout the test, analysis of the results can be based on nominal or measured initial values.	1 2 - 1 設定濃度または初期実測濃度の ±20% 以内に保たれていたことが証明できる場合には、設定濃度または初期実測濃度に基づいて結果の算出を行うことができる。	正しい語句に修正
生長速度の比較	1 2 - 2 $\mu_{i-j} = \frac{\ln N_j - \ln N_i}{t_j - t_i}$	48 $\mu_{i-j} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i}$	1 2 - 2 $\mu_{i-j} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i}$	TG201 に合わせて修正
	試験の有効性を調べるためには、対照区の 1 日ごとの生長速度を求め、毎日の生長速度の変動係数が暴露期間を通じて 35% を超えないことを確認する。		削除	1 1 と内容が重複しているため削除



## 藻類生長阻害試験（改定案）

### 目的

本試験は、指数増殖期の藻類を被験物質に暴露し、対照区に対する生長阻害率を測定することにより、藻類の生長に対する被験物質の毒性を明らかにすることを目的とする。なお、本試験において生長とは暴露期間中の生物量細胞濃度（~~培地 1mL 当たりの細胞の数~~）の増加をいう。

### 1 供試生物

*Pseudokirchneriella subcapitata*（旧名 *Selenastrum capricornutum*）が推奨されるが、*Desmodesmus subspicatus*（旧名 *Scenedesmus subspicatus*）など、他の種を用いてもよい。なお、これらの2種以外の種を使用する場合には、暴露期間中、指数増殖期が維持されることが確認されていなければならない。

### 2 試験容器及び機器

本試験では次に示す試験容器及び機器を用いる。

#### 2 - 1 試験容器

試験容器等、試験溶液と接触する器具はすべてガラス製又は化学的に不活性な材質でできたものを用いる。試験容器は、空気に接する面が十分確保できるものを用いる。例えば、100mLの容量の試験溶液には250mLの三角フラスコが適している。

被験物質が揮散しやすい物質の場合は、密栓付フラスコを使用するなど適切な対応を行う。

#### 2 - 2 培養装置

培養は、温度、照明条件を一定に維持できる培養器又は培養室において行う。

#### 2 - 3 生物量細胞濃度計測数装置

生物量細胞濃度の計測数は、例えば、粒子計数装置、顕微鏡下での血球計算盤の使用、蛍光光度計、分光光度計又は比色計を用いて行う。なお、分光光度計を使用して低濃度の細胞濃度を測定する場合は、少なくとも4cmの光路長のセルを使用する。

### 3 培地

次の組成の培地又はこれと同程度の組成の培地が推奨される。

- ・ 塩化アンモニウム 15 mg/L
- ・ 塩化マグネシウム六水和物 12 mg/L
- ・ 塩化カルシウム二水和物 18 mg/L
- ・ 硫酸マグネシウム七水和物 15 mg/L
- ・ リン酸二水素三カリウム 1.6 mg/L
- ・ 塩化鉄（ ）六水和物 0.064~~0.08~~ mg/L
- ・ エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム二水和物 0.1 mg/L
- ・ ホウ酸 0.185 mg/L
- ・ 塩化マンガン四水和物 0.415 mg/L

下線部が挿入部分、二重取消線が削除部分を示す。

- ・ 塩化亜鉛 0.003 mg/L
- ・ 塩化コバルト六水和物 0.0015 mg/L
- ・ 塩化銅二水和物 0.00001 mg/L
- ・ モリブデン酸二ナトリウム二水和物 0.007 mg/L
- ・ 炭酸水素ナトリウム 50 mg/L

~~この培地は大気との平衡状態で~~れらを混合の上、~~塩酸又は水酸化ナトリウム水溶液を用いて~~ pH はを 8.1 となる ~~に調整し、滅菌する。~~

#### 4 前培養

藻類を試験条件にじゅん化させ、試験に用いる指数増殖期の藻類前培養液を得るため、暴露開始前に 2 ~ ~~48~~ 日間~~以上~~、試験と同条件で前培養を行う。前培養液に接種する藻類の生物量を調整し、暴露開始時に指数増殖期になるようにする。

#### 5 試験溶液

各濃度の試験溶液の調製は、必要量の被験物質を培地で直接溶解するか、あるいは、適切な濃度の被験物質の原液を調製し、原液を培地で希釈することにより行う。この他、試験溶液の調製に関しては、総則の 2 試験溶液の調製によるものとする。

#### 6 試験条件

##### 6 - 1 暴露期間

原則として 72 時間~~以上~~とする。

##### 6 - 2 初期生物量細胞濃度

試験での初期生物量細胞濃度は、藻類が暴露期間中指数関数的な増殖を維持できるように十分低くする。乾燥重量が 0.5mg/L を超えないように設定する。例えば、*Pseudokirchneriella subcapitata* では  $5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$  cells/mL、*Desmodesmus subspicatus* では  $2 \sim 5 \times 10^3$  cells/mL とすることが推奨される。他の種を使う時は乾燥重量生物量で同程度となるようにする。

##### 6 - 3 試験濃度

少なくとも 5 濃度区を等比級数的にとる。この濃度範囲で、0 ~ ~~75~~90% の生長阻害を起こす範囲が含まれることが望ましい。なお、100mg/L 以上の濃度で試験を行う必要はない。

別に対照区をおく。やむを得ず助剤を使用した場合は、対照区に加え助剤対照区を設ける。

##### 6 - 4 連数 (繰り返し)

各試験濃度区について 3 連とする。対照区 (または助剤対照区) については 6 連で試験を実施することが望ましい。

##### 6 - 5 培養方法

- ・ 温度 21 ~ 24 の範囲内で設定し、培養器又は培養室内の変動は  $\pm 2$  以内とする。
- ・ 照明 60-120  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$  (白色又は昼光色の蛍光灯を用い、連続的かつ均一に照射する。)
- ・ 培養方法 振とう培養 (被験物質が揮発性でない場合は、試験容器は通気性のよい蓋を

下線部が挿入部分、二重取消線が削除部分を示す。

用いる。暴露期間中、藻類は懸濁状態にしておく必要がある。)

## 7 被験物質への暴露の開始

各試験容器に、6 - 2 に基づき設定した~~生物量細胞濃度~~になるように前培養した藻類を接種して暴露を開始する。

## 8 ~~生物量細胞濃度~~の測定

各試験容器の~~生物量細胞濃度~~は、少なくとも暴露開始後 24、48 及び 72 時間後に測定する。滅菌した培地を粒子計測装置のバックグラウンドや分光光度計等のブランクとして用いる。

## 9 被験物質濃度等の測定

### 9 - 1 被験物質濃度の測定

被験物質の濃度は、少なくとも最低及び最高試験濃度区並びに予測される EC<sub>50</sub> 付近の試験濃度区について暴露開始時及び終了時に測定することとする。また、暴露期間中に~~設定~~初期濃度より 20%以上低下することが予測される場合は、すべての試験濃度区について暴露開始時及び終了時に測定することが望ましい。さらに、揮発性あるいは吸着性の強い物質など、暴露期間中に著しく濃度が低下することが予測されるものについては、暴露期間中 24 時間間隔で分析を追加することが望ましい。

### 9 - 2 試験環境の測定

試験溶液の pH を暴露開始時及び終了時に測定する。暴露期間中、対照区の pH は通常の場合、1.5 以上変動してはならない。

## 10 限度試験

100mg/L 又は水溶解限度のより低い方の濃度で被験物質が毒性を示さないことが予想される場合等には、この濃度で限度試験を行い、NOEC 等がこの濃度より大きいことを示すことができる。前述の試験条件および有効性の基準は、限度試験にも適用するが、試験の連数は 2 倍に増やすこととする。対照区と試験濃度区の生長~~速度等~~の平均値を比較するために、t 検定等の統計解析を行う。

## 11 試験の有効性

Pseudokirchneriella subcapitata 及び Desmodesmus subspicatus では、次の条件が満たされる場合、試験は有効とみなされる。

- ~~Pseudokirchneriella subcapitata~~ では、対照区 (または助剤対照区) の~~生物量細胞数~~が暴露期間中に少なくとも 16 倍に増殖すること。
- 対照区 (または助剤対照区) の毎日の生長速度の変動係数が暴露期間を通じて 35%を超えないこと。
- 対照区 (または助剤対照区) の繰り返し間の生長速度の変動係数が ~~71.5%~~ 71.5%を超えないこと。

## 1 2 結果の算出方法

### 1 2 - 1 結果の取扱い

結果の算出は、原則として被験物質の実測濃度の適切な平均値に基づいて行う。暴露期間中、被験物質濃度が設定濃度または初期実測濃度の ± 20%以内に保たれていたことが証明できる場合には、設定濃度または初期実測濃度に基づいて結果の算出を行うことができる。

各試験濃度区と対照区の生物量細胞濃度を暴露期間と被験物質濃度とともに表にする。各試験濃度と対照区の生物量細胞濃度の平均値を時間に対してプロットし、生長曲線を描く。このとき、対照区の生長曲線が、暴露期間を通じて指数増殖期にあることを確認する。

被験物質濃度と影響の関係は、1 2 - 2 及び~~1 2 - 3~~に示す~~両方~~の方法を用いて計算することが望ましい。

### 1 2 - 2 生長速度の比較

指数関数的に増殖しているときの生長速度は次のようにして計算される。

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i}$$

ここで、

$\mu_{ij}$  =  $t_i$ 時から  $t_j$ 時までの期間の生長速度。通常、日当たり ( $d^{-1}$ )で表す。

~~$X_{Ni}$~~  =  $t_i$ 時の生物量実測細胞濃度 (cells/mL)。試験開始時 ( $t_0$ )の生物量細胞濃度については設定値を用いる。

~~$X_{Nj}$~~  =  $t_j$ 時の生物量実測細胞濃度 (cells/mL)。

$t_i$  = 暴露開始後  $i$  回目に生物量細胞濃度を測定した時間 ( $d$ )

$t_j$  = 暴露開始後  $j$  回目に生物量細胞濃度を測定した時間 ( $d$ )

EC<sub>50</sub>を算出する場合は、暴露開始時から 72 時間後までの暴露期間を通じた生長速度を求める。~~試験の有効性を調べるためには、対照区の一日ごとの生長速度を求め、毎日の生長速度の変動係数が暴露期間を通じて 35%を超えないことを確認する。~~

なお、生長速度は、生物量実測細胞濃度の対数を時間に対してプロットし、その回帰直線の傾きから導くこともできる。

各試験濃度区における生長 (速度) 障害率 ( $I_\mu$ ) は、対照区の生長速度の平均値 ( $\mu_c$ ) と各試験濃度区での生長速度の平均値 ( $\mu_T$ ) との間の差として次のように計算する。

$$I_\mu = \frac{\mu_c - \mu_T}{\mu_c} \times 100$$

### ~~1 2 - 3 生長曲線下の面積の比較~~

~~生長曲線の下~~の面積は次の式に従って計算される。

下線部が挿入部分、二重取消線が削除部分を示す。

$$A = \frac{N_1 - N_0}{2} \times t_1 + \frac{N_1 + N_2 - 2N_0}{2} \times (t_2 - t_1) + \frac{N_{n-1} + N_n - 2N_0}{2} \times (t_n - t_{n-1})$$

ここで、 $A$  面積

$N_0$  暴露開始時( $t_0$ )の設定細胞濃度(cells/mL)

$N_t$   $t_t$ 時の実測細胞濃度(cells/mL)

$N_n$   $t_n$ 時の実測細胞濃度(cells/mL)

$t_t$  暴露開始後最初に細胞濃度を測定した時間

$t_n$  暴露開始後  $n$  回目に細胞濃度を測定した時間

各試験濃度区における生長阻害率( $I_A$ )は、対照区の生長曲線下の面積( $A_c$ )と各試験濃度区での生長曲線下の面積( $A_t$ )との間の差として次のようにして計算する。

$$I_A = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100$$

## 1 2 - 3 4 毒性値の算出

$I_\mu$ 又は $I_A$ の値を被験物質濃度の対数に対してプロットする。その回帰式等を用いて 50% 阻害濃度を求める。 $I_\mu$ より導かれた  $EC_{50}$  は  $ErC_{50}$ 、 $I_A$ より導かれた  $EC_{50}$  は  $EbC_{50}$  と表す。

なお、生長速度での小さな変化は生物量にすると大きな変化になることから、 $EbC_{50}$  と  $ErC_{50}$  は数値として比較できるものではない。

また、対照区と各試験濃度区の  $\mu_{0-3d}$  又は  $A$  の値について、分散分析と多重比較を行い、それぞれの場合について NOEC を求める。

## 1 3 結果のまとめ

試験の結果は様式 7 によりまとめ、最終報告書を添付するものとする。

[ 様式 7 ]

藻類生長阻害試験結果報告書

1 . 一般的事項

新規化学物質等の名称 ( IUPAC命名法による )			
別 名			
C A S 番 号			
構 造 式 又 は 示 性 式 ( い ず れ も 不 明 な 場 合 は 、 そ の 製 法 の 概 要 )			
分 子 量			
試 験 に 供 し た 新 規 化 学 物 質 の 純 度 ( % )			
試 験 に 供 し た 新 規 化 学 物 質 の ロ ッ ト 番 号			
不 純 物 の 名 称 及 び 含 有 率			
蒸 気 圧			
対 水 溶 解 度			
1 - オ ク タ ノール / 水 分 配 係 数			
融 点			
沸 点			
常 温 に お け る 性 状			
安 定 性			
溶 媒 に 対 す る 溶 解 度 等	溶 媒	溶 解 度	溶 媒 中 の 安 定 性

[ 備 考 ] 物理化学的性状は、可能な限り記入すること。

- 1 . 「蒸気圧」の欄には、被験物質の蒸気圧を記入すること。
- 2 . 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入すること。
- 3 . 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、被験物質の溶媒に対する溶解度及びその溶媒中での安定性を記入すること。

下線部が挿入部分、二重取消線が削除部分を示す。

## 2. 試験溶液の被験物質濃度の分析方法

項目	方 法
分析方法	
前処理法	
定量条件	

### [ 備 考 ]

1. 「分析方法」の欄には、実測した分析法を具体的に記入すること。
2. 「前処理法」の欄には、分析を行う前に実施した処理の概要を記入すること。藻類においては細胞の分離手法を明記すること。
3. 「定量条件」の欄には、分析に用いた機器や温度・溶離液等の分析の条件を記入すること。

下線部が挿入部分、二重取消線が削除部分を示す。

### 3 . 試験材料及び方法

項目		内容	
<u>試験方法</u>			
試験生物	種 (学名・株名)		
	入手先		
	対照物質への感受性 (EC <sub>50</sub> ) (対照物質名)		
前培養	前培養の期間		
	培地名		
	環境条件 (水温、光強度)		
試験条件	試験容器		
	培地名		
	暴露期間	年 月 日 ~ 年 月 日	
	試験濃度 (設定値)	(公比)	
	初期細胞濃度	cells/mL	
	連数	試験濃度区	
		対照区	
	試験溶液量		
	助剤	助剤の有無	
		種類	
		濃度	
		助剤対照区の連数	
	培養方式 (振とう培養、 静置培養、連続培養等)		
	水温又は培養温度		
照明 (光強度・時間等)			
結果の算出 方法	速度法		
	<del>面積法</del>		

#### [ 備 考 ]

- 1 . 「対照物質への感受性」の欄には、試験生物の感受性検定の結果を記入 (対照物質を明記した上でEC<sub>50</sub> を記入) すること。
- 2 . 「試験濃度 (設定値)」の欄には、試験に用いた被験物質の濃度をすべて掲げ、その公比も記入すること。
- 3 . 「試験条件」の「試験容器」の欄には、材質及び容量を記入すること。なお、被験物質が揮発性を有する場合は「密閉の有無」を記載すること。
- 4 . 「結果の算出方法」の欄には、毒性値 (EC<sub>50</sub>及びNOEC)の算出に用いた統計解析手法 (例えば、probit法、ANOVA等) を記入すること。



下線部が挿入部分、二重取消線が削除部分を示す。

#### 4 . 試 験 結 果 及 び 考 察

項 目	内 容
毒性値	0-72hErC <sub>50</sub> = mg/L <del>0-72hEbC<sub>50</sub>= mg/L</del> NOEC (速度法) = mg/L <del>NOEC (面積法) = mg/L</del>
試験濃度	1.設定値 2.実測値
考察及び特記事項	

#### [ 備 考 ]

~~1. 毒性値の欄には、0-72時間の速度法又は面積法でのEC<sub>50</sub>又はNOECを記入すること。~~

~~1~~ 2. 「試験濃度」の欄には、毒性値 (EC<sub>50</sub>及びNOEC)を算出するために用いた濃度が「設定値」か、あるいは「実測値」かを明記すること。

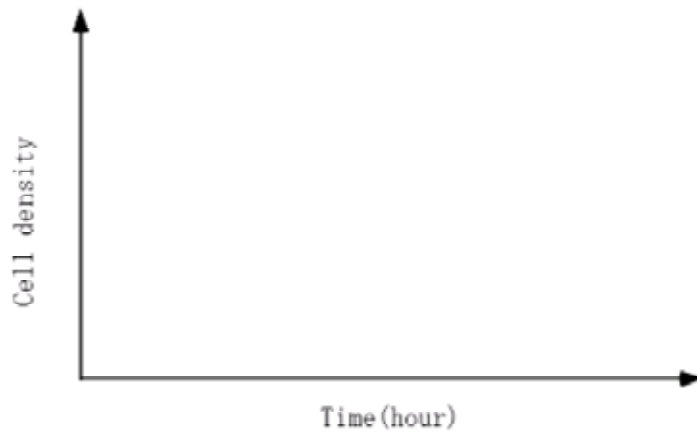
~~2~~ 3. 「考察及び特記事項」の欄には、被験物質の物理的・化学的特性を踏まえて、毒性値の特徴や試験の有効性に関して考察すること。また、試験における異常な事項や本試験法から逸脱した事項等については、試験結果への影響等を記載すること。

#### 5 . 藻 類 の 生 長 曲 線 及 び 濃 度 - 生 長 阻 害 率 曲 線

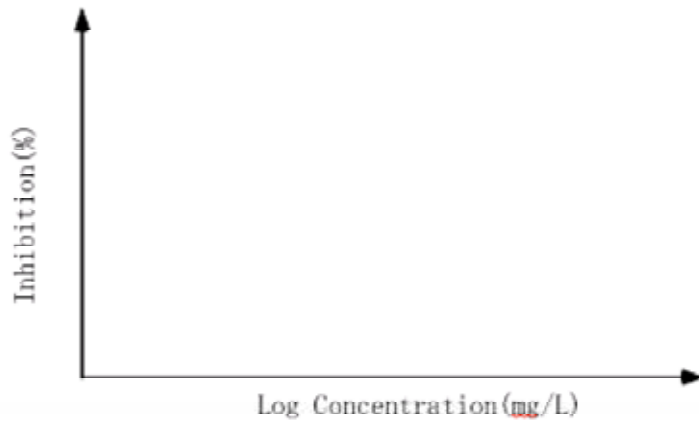
暴露期間中の 生長曲線 (例図1) 及び 各試験濃度での生長阻害率を示した図 (例図2) を添付すること。 ~~なお、濃度-生長阻害率曲線は、速度法又は面積法のそれぞれについて描くものとする。~~

下線部が挿入部分、二重取消線が削除部分を示す。

例図 1 藻類の生長曲線



例図 2 藻類の濃度 - 生長阻害率曲線 (生長速度又は生長曲線下の面積)



6 . その他

試験実施施設	名 称	
	所 在 地	電話 ( ) FAX ( )
試験責任者	職 氏 名	
	経 験 年 数	
試験番号		
試験期間	年 月 日 から 年 月 日 まで	

[ 備 考 ]

- 1 . 本様式への記載は、最終報告書より転記して作成すること。
- 2 . 最終報告書と同じ試験番号を記入すること。
- 3 . 本様式の作成責任者は、本様式の欄外に、所属及び氏名を記載すること。