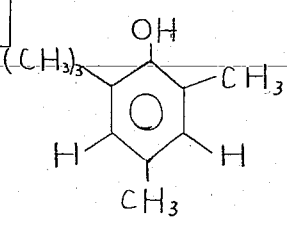


藻類生長阻害試験

1. 供試物質の概要

名称	日本名	6-tert-ブチル-2,4-キシレノール		
	英名	6-tert-Butyl-2,4-xyleneol		
	一般名・商品名			
構造式			分子式・示性式	$(\text{CH}_3)_3\text{CC}_6\text{H}_2(\text{CH}_3)_2\text{OH}$
			分子量	178.27
			水への溶解度	不溶
			蒸気圧	
入手先	東京化成工業株式会社	製造年月日	年 月 日	
	TEL 03 (324) 0573	ロット番号	FAW01	
純度	99.9%	不純物:		
その他の物性等	凝固点が22~23℃, 密度0.961 (20℃), 引火点111℃			

2. 供試藻類の概要

種名及び株番号	Selenastrum capricornutum ATCC 22662
由来	配布・市販機関育種 入手先名称: 国立環境研究所 TEL 0298 (51) 6111
培養方法	規定の方法・その他() *その他の場合、培養方法を添付すること。

3. 試験条件

試験温度	23 ± 1 °C	
培地	規定の培地・その他() *その他の場合、培地組成を添付すること。	
培養装置	メーカー名: 恒温室を使用	型式:
細胞密度計数方法	計数方法	電子粒子計数装置・計算盤と顕微鏡・蛍光光度計・分光光度計・比色計
	測定装置	メーカー名: 日立 型式: 100-40形

試験溶液	状態	無色透明
	保管方法	冷蔵庫(冷暗所)・常温(明・暗所)・その他()
	調製方法	希釈水に直接溶解・溶解補助剤を使用・その他() 助剤名：DMSO 助剤添加方法：被験物質を助剤に溶かして使用
光源	蛍光灯・その他() 光量： 0.72×10^{20} photons/m ² S	照度：4,000 lux

4. 試験結果

- (1) 藻類生長阻害試験結果 (→様式1-1~1-5)
- (2) 各濃度区及び対照区の生長曲線のグラフ (→図1-1)
- (3) 供試物質の濃度と細胞密度の関係を示すグラフ (→図1-2,1-3)

5. その他、特記事項

(様式1-1) 藻類生長阻害試験結果 (予備試験)

供試物質名 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレノール
 試験実施期間 : 平成4年12月16日 ~ 平成4年12月19日 (4日間)
 試験機関名 : 仙台市衛生研究所
 濃度公比 : 10

区分	物質濃度 mg/L	助剤濃度 mg/L	細胞密度及びpH						観察事項 pH変動の理由
			0hr	pH	24hr	48hr	72hr	pH	
対照	0	11		7.3	75759	198369	1322070	8.7	
助剤対照	0	11		7.5	71589	167380	914991	8.6	
1	0.01	11		7.4	71589	172186	1024702	8.5	
2	0.1	11		7.2	69591	141232	729550	8.6	
3	1	11		7.2	65760	95016	241847	8.3	
4	10	11		7.1	60405	67648	71589	7.9	
5	100	11		7.4	58719	58719	58719	7.9	

* 供試物質濃度を測定した場合、その値を()の中に入れて物質濃度欄に記入すること。

藻類の生長に対する影響が観察されなかった濃度	0.01 mg/L
対照と比べ50%以上の生長阻害が観察された濃度	1 mg/L

【本試験の設定濃度及び設定根拠】

公比	設定濃度区 (mg/L)					設定根拠
	1	2	3	4	5	
1.8	1.0	1.7	3.1	5.6	10.0	予備試験の結果より

(様式1-2) 藻類生長阻害試験結果 (本試験①)

供試物質名 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレンール
 試験実施期間 : 平成5年1月13日 ~ 平成5年1月15日 (4日間)
 試験機関名 : 仙台市衛生研究所
 濃度公比 : 1.8

区分	物質濃度 mg/L	助剤濃度 mg/L	連番	細胞密度及び pH						観察事項 pH変動の理由
				0hr	pH	24hr	48hr	72hr	pH	
対照	0	12.3	1		7.4	75759	153751	772050	9.3	
			2		7.4	65760	109465	414143	9.1	
			3		7.4	71589	182217	1566845	9.6	
			平均		7.4	71036	148478	917679	9.3	
助剤 対照	0	12.3	1		7.9	69591	145287	490819	9.0	
			2		7.9	69591	153751	941265	9.2	
			3		7.9	69591	129732	477119	8.6	
			平均		7.9	69591	142923	636401	8.9	
1	1.0	12.3	1		7.7	71589	141232	339691	8.9	
			2		7.7	71589	115842	438269	8.9	
			3		7.7	67648	119168	504913	8.7	
			平均		7.7	70275	125414	427624	8.8	
2	1.7	12.3	1		7.7	71589	115842	359480	8.7	
			2		7.7	65760	100552	359480	8.7	
			3		7.7	67648	126110	450854	8.9	
			平均		7.7	68332	114168	389938	8.8	
3	3.1	12.3	1		7.8	65760	89786	248792	8.4	
			2		7.8	65760	92364	215954	8.2	
			3		7.8	67648	109465	294854	8.4	
			平均		7.8	66389	97205	253200	8.3	
4	5.6	12.3	1		7.7	62140	75759	137289	8.0	
			2		7.7	63924	82475	129732	8.1	
			3		7.7	63924	80173	133457	8.1	
			平均		7.7	63329	79469	133493	8.1	
5	10.0	12.3	1		7.6	63924	73645	89786	7.9	
			2		7.6	63924	71589	89786	7.9	
			3		7.6	62140	73645	92364	7.8	
			平均		7.6	63329	72960	90645	7.9	

* 供試物質濃度を測定した場合、その値を () の中に入れて物質濃度欄に記入すること。

(様式1-3)

藻類生長阻害試験結果 (本試験②)

供試物質名 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレノール
 試験機関名 : 仙台市衛生研究所

区分	濃度 mg/L	連番	面積 A(0-72hr)	阻害率 I _a (%)	比生長速度 μ(24-48hr)	低下率 I _m (%)	比生長速度 μ(24~72hr)	低下率 I _m (%)
対照	0	1	14172840		0.0295		0.0484	
		2	8575116		0.0212		0.0383	
		3	24293484		0.0389		0.0643	
	12.3	平均	15680480		0.0299		0.0503	
	助剤 対照	0	1	10446900		0.0307		0.0407
2			16055388		0.0330		0.0543	
12.3		3	9909180		0.0260		0.0401	
		平均	12137156		0.0299		0.0450	
		1	1.0	1	8583996		0.0283	
2	9157572				0.0201		0.0377	
12.3	3		9942540		0.0236		0.0419	
	平均		9228036	24.0	0.0240	19.5	0.0374	18.4
	2		1.7	1	8212104		0.0201	
2		7705248			0.0177		0.0354	
12.3		3	9460440		0.0260		0.0395	
		平均	8459264	30.3	0.0212	28.7	0.0362	21.3
		3	3.1	1	6118608		0.0130	
2	5786424				0.0142		0.0248	
12.3	3		7188960		0.0201		0.0307	
	平均		6364664	47.6	0.0157	47.0	0.0277	39.5
	4		5.6	1	4357044		0.0083	
2		4470360			0.0106		0.0147	
12.3		3	4459812		0.0094		0.0153	
		平均	4429072	63.5	0.0094	68.5	0.0155	66.3
		5	10.0	1	3779088		0.0059	
2	3729744				0.0047		0.0071	
12.3	3		3767208		0.0071		0.0083	
	平均		3758680	69.0	0.0059	80.3	0.0075	83.8

* 「濃度」の欄は上段に供試物質濃度を下段に助剤濃度を記入すること。

(様式1-4) 藻類生長阻害試験結果 (本試験③)

供試物質名 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレノール
 試験機関名 : 仙台市衛生研究所

【NOEC_b(0-72hr)の算出方法】

No. 1

区分	対照	助剤対照	1	2	3	4	5
物質濃度 mg/L	0	0	1.0	1.7	3.1	5.6	10.0
助剤濃度 mg/L	0	12.3	12.3	12.3	12.3	12.3	12.3
連数	3	3	3	3	3	3	3
Aの平均値	15680480	12137156	9228036	8459264	6364664	4429072	3758680
不偏分散	6.35E+13	1.16E+13	4.65E+11	8.16E+11	5.37E+11	3.72E+9	6.63E+8
対照 との検定	F 検定	自由度 [対照: 2]	2	2	2	2	2
		F 値	136.5	77.78	118.2	16199	95734
		F (0.025)	39.00	39.00	39.00	39.00	39.00
		等分散性	不等分散	不等分散	不等分散	不等分散	不等分散
	t 検定	自由度	2.0	2.1	2.0	2.0	2.0
		t 値	1.398	1.560	2.017	2.449	2.592
		t (0.05)	4.303	4.303	4.303	4.303	4.303
		t (0.01)	9.925	9.925	9.925	9.925	9.925
		有意差 (5%/1%)	無/無	無/無	無/無	無/無	無/無
	助剤対照 との検定	F 検定	自由度 [対照: 2]	2	2	2	2
F 値			24.91	14.20	21.57	2957	17470
F (0.025)			39.00	39.00	39.00	39.00	39.00
等分散性			等分散	等分散	等分散	不等分散	不等分散
t 検定		自由度	4	4	4	2.0	2.0
		t 値	1.451	1.809	2.871	3.922	4.263
		t (0.05)	2.776	2.776	2.776	4.303	4.303
		t (0.01)	4.604	4.604	4.604	9.925	9.925
		有意差 (5%/1%)	無/無	無/無	有/無	無/無	無/無

(様式1-5) 藻類生長阻害試験結果 (本試験④)

供試物質名 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレノール
 試験機関名 : 仙台市衛生研究所

【藻類に対する影響】

EC ₅₀	E _b C ₅₀ (0-72hr)		3.632 mg/L (0.02037 m mol/L)
	E _r C ₅₀ (24-48hr)		3.257 mg/L (0.01827 m mol/L)
	E _r C ₅₀ (24-72hr)		3.592 mg/L (0.02015 m mol/L)
算出方法		プロビット法 ver.3.1 ・ 対数正規分布確率紙 ・ その他 ()	
NOEC	危険率 5%	NOEC _b (0-72hr)	1.7 mg/L (0.0095 m mol/L)
		NOEC _r (24-48hr)	1.7 mg/L (0.0095 m mol/L)
		NOEC _r (24-72hr)	1.7 mg/L (0.0095 m mol/L)
	危険率 1%	NOEC _b (0-72hr)	3.1 mg/L (0.0174 m mol/L)
		NOEC _r (24-48hr)	1.7 mg/L (0.0095 m mol/L)
		NOEC _r (24-72hr)	3.1 mg/L (0.0174 m mol/L)
100%生長阻害を受けた最低濃度		mg/L (m mol/L)	
その他の観察された影響及び それらが認められた濃度		影響: mg/L (m mol/L)	

供試物質名 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレノール
 試験機関名 : 仙台市衛生研究所

【NOEC_r(24-48hr)の算出方法】

No. 2

区 分	対 照	助 剤 対 照	1	2	3	4	5
物質濃度 mg/L	0	0	1.0	1.7	3.1	5.6	10.0
助剤濃度 mg/L	0	12.3	12.3	12.3	12.3	12.3	12.3
連 数	3	3	3	3	3	3	3
μ の平均値	0.0299	0.0299	0.0240	0.0212	0.0157	0.0094	0.0059
不 偏 分 散	7.83×10^{-5}	1.29×10^{-5}	1.71×10^{-5}	1.80×10^{-5}	1.43×10^{-5}	0.13×10^{-5}	0.13×10^{-5}
対 照 との 検 定	F 検 定	自由度 [対照: 2]	2	2	2	2	2
		F 値	4.5676	4.3333	5.4516	56.33	56.33
		F (0.025)	39.00	39.00	39.00	39.00	39.00
		等分散性	等分散	等分散	等分散	不等分散	不等分散
	t 検 定	自由度	4	4	4	2.1	2.1
		t 値	1.0451	1.5254	2.5456	3.9650	4.6512
		t (0.05)	2.776	2.776	2.776	4.303	4.303
		t (0.01)	4.604	4.604	4.604	9.925	9.925
		有意差 (5%/1%)	無/無	無/無	無/無	無/無	有/無
	助 剤 対 照 との 検 定	F 検 定	自由度 [対照: 2]	2	2	2	2
F 値			1.3214	1.3929	1.1071	9.3333	9.3333
F (0.025)			39.00	39.00	39.00	39.00	39.00
等分散性			等分散	等分散	等分散	等分散	等分散
t 検 定		自由度	4	4	4	4	4
		t 値	1.8605	2.6877	4.6868	9.3395	10.956
		t (0.05)	2.776	2.776	2.776	2.776	2.776
		t (0.01)	4.604	4.604	4.604	4.604	4.604
		有意差 (5%/1%)	無/無	無/無	有/有	有/有	有/有

供試物質名 : 6-tert-ブチル-2,4-キシレノール
 試験機関名 : 仙台市衛生研究所

【NOEC_r(24-72hr)の算出方法】

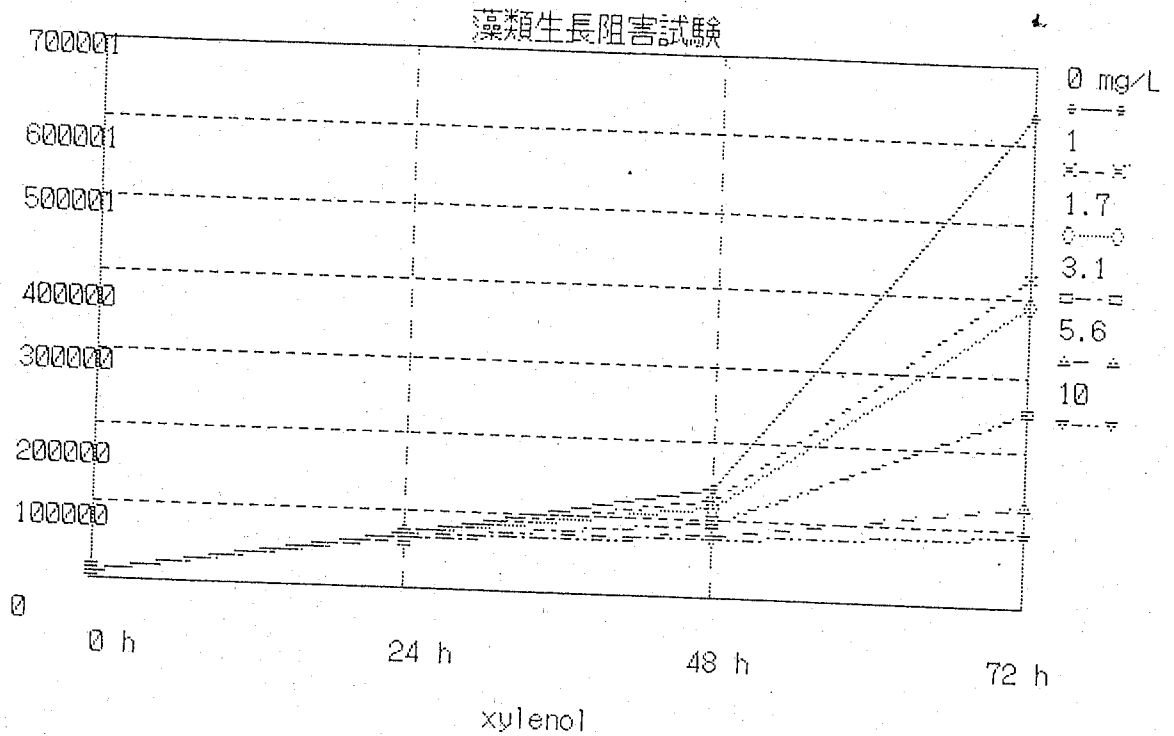
No. 3

区分	対照	助剤対照	1	2	3	4	5
物質濃度mg/L	0	0	1.0	1.7	3.1	5.6	10.0
助剤濃度mg/L	0	12.3	12.3	12.3	12.3	12.3	12.3
連数	3	3	3	3	3	3	3
μの平均値	0.0503	0.0450	0.0374	0.0362	0.0277	0.0155	0.0075
不偏分散	17.1×10^{-5}	6.41×10^{-5}	2.23×10^{-5}	0.91×10^{-5}	0.86×10^{-5}	0.08×10^{-5}	0.04×10^{-5}
対照 との検定	F 検 定	自由度 [対照: 2]	2	2	2	2	2
		F 値	7.6528	18.696	19.693	211.00	369.25
		F (0.025)	39.00	39.00	39.00	39.00	39.00
		等分散性	等分散	等分散	等分散	不等分散	不等分散
	t 検 定	自由度	4	4	4	2	2
		t 値	1.6150	1.8253	2.9191	4.5947	5.6647
		t (0.05)	2.776	2.776	2.776	4.303	4.303
		t (0.01)	4.604	4.604	4.604	9.925	9.925
		有意差 (5%/1%)	無/無	無/無	有/無	有/無	有/無
	助剤対照 との検定	F 検 定	自由度 [対照: 2]	2	2	2	2
F 値			2.8653	7.0000	7.3733	79.000	138.25
F (0.025)			39.00	39.00	39.00	39.00	39.00
等分散性			等分散	等分散	等分散	不等分散	不等分散
t 検 定		自由度	4	4	4	2.1	2.0
		t 値	1.4279	1.7900	3.5116	6.3387	8.0929
		t (0.05)	2.776	2.776	2.776	4.303	4.303
		t (0.01)	4.604	4.604	4.604	9.925	9.925
		有意差 (5%/1%)	無/無	無/無	有/無	有/無	有/無

図 1-1 6-tert-ブチル-2,4-キシノールの各濃度におけるヒゲスルカの増殖曲線

入力データ

区	濃度 (X)	観察数(生存)			
		0 h	24h	48h	72h
1	0	10000	69591	14292	63640
2	1	10000	70275	12541	42762
3	1.7	10000	68332	11416	38993
4	3.1	10000	66389	97205	25320
5	5.6	10000	63329	79469	13349
6	10	10000	63329	72960	90645



計算用データ

区	濃度	計算法:自動選択 阻害率(%)		
		0-72h 面積法	24-48h 速度法	24-72h 速度法
1	0	24.0	19.5	18.4
2	.2304	30.3	28.7	21.3
3	.4913	47.6	47.0	39.5
4	.7481	63.5	68.5	66.3
5	1	69.0	80.3	83.8

図 1-2 tert-ブチル-2,4-キシレンの増殖に対する6-tert-ブチル-2,4-キシレンの効果

区 濃度 解析:PROBIT(推定probit)

log(X)	0-72h		24-48h		24-72h	
	面積法	速度法	面積法	速度法	面積法	速度法
1	4.29(4.27)	4.14(4.08)	4.29(4.27)	4.14(4.08)	4.10(3.89)	4.10(3.89)
2	.23044	4.48(4.57)	4.44(4.50)	4.20(4.35)	4.73(4.87)	5.42(5.39)
3	.49136	4.94(4.91)	4.93(4.96)	5.42(5.39)	5.99(5.89)	
4	.74818	5.35(5.25)	5.48(5.42)	5.85(5.87)		
5	1	5.50(5.57)				

藻類生長阻害 xyleneol

0-72h面積法 Probit= 4.268 + 1.305logX (n= 5)
 LC95= 66.17 LC90= 34.85 LC80= 16.03
 初期取込み一タ 1:濃度 0 2:濃度 .230

24-48h速度法 Probit= 4.083 + 1.786logX (n= 5)
 LC95= 27.14 LC90= 16.99 LC80= 9.638
 初期取込み一タ 1:濃度 0 2:濃度 .230

24-72h速度法 Probit= 3.887 + 2.003logX (n= 5)
 LC95= 23.78 LC90= 15.66 LC80= 9.450
 初期取込み一タ 1:濃度 0 2:濃度 .230

LC50= 3.632 (95%信頼限界: 2.967 <= <= 4.528)
 LC20= .8229 LC10= .3786 LC5= .1994
 3:濃度 .491 4:濃度 .748 5:濃度 1 計算は全一タ範囲

LC50= 3.257 (95%信頼限界: 2.793 <= <= 3.809)
 LC20= 1.101 LC10= .6245 LC5= .3910
 3:濃度 .491 4:濃度 .748 5:濃度 1 計算は全一タ範囲

LC50= 3.592 (95%信頼限界: 3.129 <= <= 4.153)
 LC20= 1.365 LC10= .8237 LC5= .5426
 3:濃度 .491 4:濃度 .748 5:濃度 1 計算は全一タ範囲

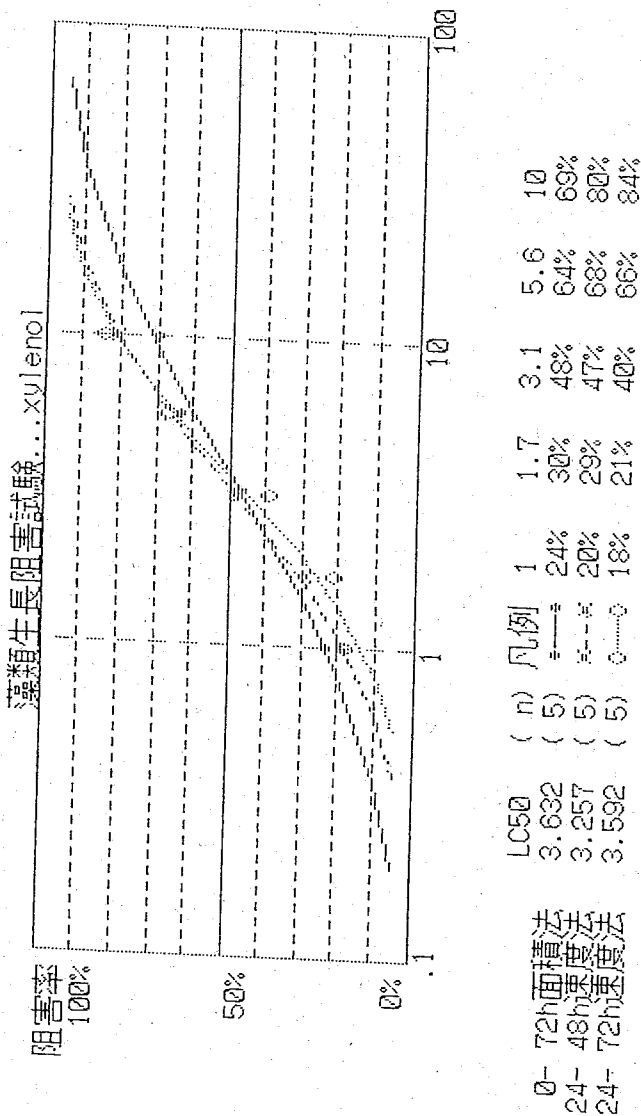


図 1-3 セレストルムの増殖に対する6-tert-ブチル-2,4-キシロールの効果

