

環境庁殿

最 終 報 告 書

Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験

(試験番号：92177)

2000 年 3 月 31 日作成

化学物質常態研究機構

久留米工業所

陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者： 環境庁

表 題： Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳
阻害試験

試 験 番 号： 92177

本試験は環境庁のGLP規則に従って実施したものである。

2000 年 3 月 31 日

運営管理者

A large black rectangular redaction box covering the signature area of the document.

信 頼 性 保 証 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者： 環境庁

表 題： Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳
阻害試験

試験番号： 92177

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、本最終報告書には試験に
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
いることを下記の通り確認した。

監査又は査察内容	実施日	報告日(試験責任者)	報告日(運営管理者)
試験計画書監査	1999 年 12 月 7 日	1999 年 12 月 7 日	1999 年 12 月 7 日
試験実施状況査察	2000 年 1 月 5 日	2000 年 1 月 7 日	2000 年 1 月 13 日
試験実施状況査察	2000 年 1 月 7 日	2000 年 1 月 7 日	2000 年 1 月 13 日
最終報告書監査	2000 年 3 月 31 日	2000 年 3 月 31 日	2000 年 3 月 31 日

2000 年 3 月 31 日

信頼性保証業務担当者

試験実施概要

1 表 題

Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験

2 試験目的

Di- α -cumyl peroxideについて、オオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験を行い、24及び48時間後の半数遊泳阻害濃度(EiC50)及び最大無作用濃度(NOECi)を求める。

3 試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン No.202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」(1984年)に準拠した。

4 適用GLP

本試験は環境庁のGLP規則に準拠した。

5 試験委託者

名 称： 環境庁

住 所： (〒100-8975)東京都千代田区霞が関 1-2-2

試験委託責任者： 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 [REDACTED]

6 試験受託者

名 称： 財団法人 化学物質評価研究機構

住 所： (〒112-0004)東京都文京区後楽 1-4-25

7 試験施設

名 称： 財団法人 化学物質評価研究機構

実施施設名： 久留米事業所

住 所： (〒830-0023)福岡県久留米市中央町 19-14

運営管理者： [REDACTED]

8 試験関係者

試験責任者

[REDACTED]

試験担当者

生物試験担当

[REDACTED]

分 析 担 当

[REDACTED]

9 最終報告書の作成

2000 年 3 月 31 日

試験責任者

氏名

[REDACTED]

10 試験日程

試験開始日

1999 年 12 月 7 日

試験終了日

2000 年 3 月 31 日

暴露期間

2000 年 1 月 5 日 ~ 2000 年 1 月 7 日

11 記録及び試資料の保管

試験に関する下記の記録及び試資料は、最終報告書作成後10年間、久留米事業所試資料保管施設に保管する。その後の保管については別途試験委託者と協議の上定める。

- 1) 試験計画書、同変更等の記録
- 2) 最終報告書
- 3) 生データ
- 4) 信頼性保証業務担当者の監査・査察記録
- 5) 被験物質
- 6) その他必要なもの

目 次

	頁
要 旨	1
1 被 験 物 質	3
1.1 名称、構造式及び物理化学的性状	3
1.2 供 試 試 料	3
1.3 被験物質の確認及び保管条件下での安定性	4
2 試 験 生 物	4
3 試 験 方 法	5
3.1 試 験 条 件	5
3.2 希 釈 水	5
3.3 試験容器及び恒温槽等	5
3.4 試験濃度の設定	5
3.5 試験液の調製	6
3.6 被験物質の分析	6
3.7 試 験 操 作	6
3.8 数値の取扱い	6
4 結果の算出	6
5 結果及び考察	7
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	7
5.2 試験液中の被験物質濃度	7
5.3 半数遊泳阻害濃度(EiC50)	7
5.4 最大無作用濃度(NOECi)及び100%阻害最低濃度	7
5.5 試験液の水温、溶存酸素濃度(DO)及びpH	8
5.6 試験液の状態	8
Table 1～7	9～14
Figure 1	15

付属資料－1 希釈水の水質

付属資料－2 試験液の分析方法及び分析チャート

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題

Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する急性遊泳阻害試験

試験番号

92177

試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン No.202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」(1984年)に準拠して実施した。

- 1) 被 験 物 質： Di- α -cumyl peroxide
- 2) 試 験 生 物： オオミジンコ(*Daphnia magna*)
- 3) 生 物 数： 20頭／試験区(1連に付き5頭で1試験区20頭)
- 4) 暴 露 期 間： 48時間
- 5) 暴 露 方 式： 半止水式
- 6) 試 験 濃 度： 1.00、0.667、0.444、0.296、0.198 mg/L(公比：1.5)、助剤対照区及び対照区
- 7) 連 数： 1試験区に付き4連
- 8) 試 験 液 量： 1試験容器(1連)に付き100 mL
- 9) 試 験 水 温： 20 \pm 1 $^{\circ}$ C
- 10) 照 明： 室内光、16時間明／8時間暗
- 11) 試験液中の被験物質の分析： 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)
(暴露開始時、換水前)

結 果

1) 試験液中の被験物質濃度

被験物質の測定濃度が設定の $\pm 20\%$ を超えたため、各影響濃度の算出には測定濃度(時間加重平均値)を採用した。

2) 24時間暴露後の結果

半数遊泳阻害濃度(EiC50) : 0.420 mg/L(95%信頼限界 : 0.289~0.607 mg/L)

最大無作用濃度(NOECi) : 0.289 mg/L

100%阻害最低濃度 : 0.607 mg/L

3) 48時間暴露後の結果

半数遊泳阻害濃度(EiC50) : 0.262 mg/L(95%信頼限界 : 0.202~0.289 mg/L)

最大無作用濃度(NOECi) : 0.202 mg/L

100%阻害最低濃度 : 0.399 mg/L

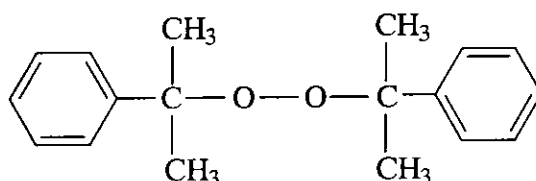
1 被 験 物 質

本最終報告書においてDi- α -cumyl peroxideは、次の名称及び品質等を有するものとする。供試試料に関する情報については供給者提供の添付資料等によった。

1.1 名称、構造式及び物理化学的性状

- 1) 名 称 : Di- α -cumyl peroxide
(CAS番号 80-43-3)

- 2) 構 造 式 :



- 3) 分 子 式 : $C_{18}H_{22}O_2$
 4) 分 子 量 : 270.37
 5) 沸 点 : 不明
 6) 融 点 : $39\sim 41^{\circ}\text{C}^*$
 7) 比 重(d_{20}^{20}) : 1.02^*
 8) 安 定 性 : 不明
 9) 1-オクタノール／水分配係数(logP) : 不明
 10) pKa : 不明
 11) 水への溶解度 : $<1\text{ g/L}(23^{\circ}\text{C})^*$
 12) 蒸 気 圧 : 不明

情 報 源

* : Richardson, M. L. et al "The Dictionary of Substances and their Effects" Royal Society of Chemistry, 1993.

1.2 供 試 試 料

- 1) 純 度 : 98%
 2) ロット番号 : 12603PS
 3) 供 給 者 : XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX
 4) 供 給 量 : 100 g
 5) 入 手 日 : 1999 年 12 月 17 日
 6) 外 観 : 白色結晶性薄片

1.3 被験物質の確認及び保管条件下での安定性

被験物質は久留米事業所の冷蔵庫に保管した。

入手した被験物質について赤外吸収スペクトルを測定し、被験物質の特性が認められることを確認した。暴露終了後にも同様にスペクトルを測定し、暴露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。

以上の結果から、被験物質は暴露終了時まで安定であったと確認された。

2 試験生物

- 1) 和 名： オオミジンコ
- 2) 学 名： *Daphnia magna* (Clone A)
- 3) 入 手 先： 英国Sheffield大学(所在地；Sheffield S10 2UQ, United Kingdom)
- 4) 入 手 日： 1990 年 7 月 9 日
- 5) 入手後の管理： 継代飼育(最大飼育期間；31日間)
- 6) 感受性の確認： 基準物質(二クロム酸カリウム、試薬特級、和光純薬工業株式会社)による48時間の半数遊泳阻害濃度(EiC50)=0.234 mg/L[久留米事業所における1998年1月以降のEiC50：0.128～0.234 mg/L(n=4)の範囲にある。]
- 7) 親 の 順 化： 順化期間；1999 年 12 月 6 日～2000 年 1 月 6 日
暴露開始前2週間の親の死亡率は5%以下で休眠卵及び雄の発生は認められなかった。(順化条件は以下に示す。)
- 8) 供 試 令： 生後24時間令以内の幼体

順 化 条 件

- 1) 飼 育 水： 希釈水(3.2参照)
- 2) 飼 育 密 度： 10～30頭／800 mL飼育水
- 3) 水 温： 20±1℃
- 4) 照 明： 室内光、16時間明／8時間暗
- 5) 餌： *Chlorella vulgaris*
- 6) 給 餌 量： ミジンコ1頭当たり0.1～0.2 mgC(有機炭素含量)／日

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式： 被験物質を含む試験液へ試験生物を暴露する薬浴方式を用いた。試験は、24時間後に試験液の全量を交換する半止水式で行った。
- 2) 暴露期間： 48時間
- 3) 連数： 1試験区に付き4連
- 4) 生物数： 20頭／1試験区(1連に付き5頭で1試験区20頭)
- 5) 試験液量： 1試験容器に付き100 mL
- 6) 試験水温： $20\pm 1^{\circ}\text{C}$
- 7) 照明： 室内光、16時間明／8時間暗
- 8) 給餌： 無給餌

3.2 希釈水

脱塩素水(久留米市水道水を活性炭処理し、残留塩素等を除去した後、充分通気し、温度調節したもの)を使用した。希釈水使用時には、オルトトリジン法により、残留塩素濃度が 0.02 mg/L 以下であることを確認した。希釈水の水質は付属資料-1に示した。

3.3 試験容器及び恒温槽等

- 1) 試験容器： 100 mLガラスビーカーを用いた。
- 2) 恒温槽： 加温冷却機によって試験容器内の水温が $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ に維持可能な恒温槽を用いた。
- 3) 水温計： 検定済ガラス製棒状温度計
- 4) pH計： ガラス電極式水素イオン濃度計HM-14P型(東亜電波工業)
- 5) 溶存酸素計： 溶存酸素計 58型(Yellow Springs Instrument Co., Inc.)

3.4 試験濃度の設定

本試験に先立って行った予備試験の結果から試験濃度は 1.00 mg/L を最高濃度として公比1.5で5濃度区(1.00 、 0.667 、 0.444 、 0.296 及び 0.198 mg/L)を設定した。また、濃度区と同一濃度($100\text{ }\mu\text{L/L}$)のジメチルスルホキシド(DMSO)を含む助剤対照区及び希釈水のみのも対照区を設けた。

3.5 試験液の調製

必要量の被験物質にDMSOを加え溶解し、10,000 mg/Lの試験原液を調製した。試験液は、調製容器に入れた希釈水を攪拌しながら必要量の試験原液を添加し、調製した。この試験液を各試験容器に分割した。

3.6 被験物質の分析

暴露開始時及び換水前(24時間後)に各試験区の1試験容器の中層より試験液を採取した後、HPLCにより分析した。試験液中の被験物質の分析に際しては、標準溶液(濃度0.0500 mg/L)の測定を行い、そのピーク面積比から定量した。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(DO)、pHを測定後、試験生物を投入し、その時点を暴露開始時とした。先端が比較的広口のガラスピペットを用いて試験生物を投入した。その際、試験液量に対して、ピペット内の飼育水は全量で1%以内を目安とした。

暴露開始24及び48時間後にミジンコの遊泳阻害数の観察を行った。試験液を穏やかに動かした後、15秒間泳げない場合、遊泳阻害されたとみなした(ただし、遊泳とは水中を泳げることを意味し、水底を這って動くものは阻害に含めた。水面で動くものについては水滴を落とす等の操作でミジンコを強制的に水中に沈めると遊泳することもあるが、再び浮上する場合は遊泳阻害に含めた。また、正常な遊泳でない場合でも15秒間に1回でも水中を遊泳した場合は、阻害に含めなかった)。

水温、DO、pHは、暴露開始時及び換水前(24時間後)に、全試験区(ただし、各1試験容器)の試験液について測定した。ただし、開始時の水質は水質測定用に別途調製したものを測定した。

3.8 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8202-1985 参考 3 規則 Bによった。

4 結果の算出

各濃度区でのミジンコの遊泳阻害数と供試個体数(20頭)から遊泳阻害率(%)を算出し、Binomial法により半数遊泳阻害濃度(EiC50)を算出した。また、その95%信頼限界も算出した。

ミジンコが遊泳阻害を受けない最高濃度を最大無作用濃度(NOECi)とした。

全てのミジンコが遊泳阻害を受ける最低濃度を100%阻害最低濃度とした。

なお、被験物質の測定濃度が設定の±20%を超えたため、上記の結果の算出には測定濃度(時間加重平均値)を用いた。

5 結果及び考察

5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

該当する要因はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時及び換水前(24時間後)に試験液中の被験物質濃度を測定した。その結果をTable 1に示した。

被験物質の測定濃度の設定に対する割合は、暴露開始時で77.4～84.9%、換水前(24時間後)で42.9～58.7%であった。

5.3 半数遊泳阻害濃度(EiC50)

各時間における遊泳阻害率及びEiC50をそれぞれTable 2及びTable 3に、濃度－遊泳阻害率曲線をFigure 1に示した。

48時間暴露の助剤対照区及び対照区の遊泳阻害率は0%、水面に浮いたミジンコは0%であり、試験成立条件を満たした。

遊泳阻害は、24時間では0.399と0.607 mg/Lで、48時間では0.289～0.607 mg/Lでみられた。24時間EiC50は0.289～0.607 mg/L、48時間EiC50は0.202～0.399 mg/Lを用いて算出した。

以上の結果から、以下の結論を得た。

24時間EiC50： 0.420 mg/L(95%信頼限界：0.289～0.607 mg/L)

48時間EiC50： 0.262 mg/L(95%信頼限界：0.202～0.289 mg/L)

5.4 最大無作用濃度(NOECi)及び100%阻害最低濃度

最大無作用濃度(NOECi)及び100%阻害最低濃度をTable 4に示した。

遊泳阻害は24時間では0.399と0.607 mg/Lで、48時間では0.289～0.607 mg/Lでみられた。

以上の結果から、以下の結論を得た。

24時間NOECi： 0.289 mg/L

48時間NOECi： 0.202 mg/L

24時間100%阻害最低濃度： 0.607 mg/L

48時間100%阻害最低濃度： 0.399 mg/L

5.5 試験液の水温、溶存酸素濃度(DO)及びpH

試験液の水温をTable 5、DOをTable 6、pHをTable 7に示した。

暴露期間中に測定した水温は20.2～20.5℃であり、 $20\pm1^{\circ}\text{C}$ の範囲であった。DOは8.6～8.8 mg/Lであり、飽和溶存酸素濃度の60%以上であった(20.0℃の飽和溶存酸素濃度：8.84 mg/L)。pHは7.7～7.8であった。

以上のことから、水温、DO及びpHについては、ミジンコの試験環境として適正範囲であったと考えられる。

5.6 試験液の状態

調製時の試験液は無色透明で、その状態は換水前まで変わらなかった。

以 上

Table 1. Concentrations of di- α -cumyl peroxide in acute immobilization test using *Daphnia magna* under semi-static conditions

Nominal concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L) (Percentage of nominal)		
	0-hour ^{a)}	24-hour ^{b)}	Mean ^{c)}
Control	n.d.	n.d.	n.d.
Solvent control	n.d.	n.d.	n.d.
0.198	0.155 (78.1)	0.107 (54.2)	0.130 (65.5)
0.296	0.232 (78.5)	0.174 (58.7)	0.202 (68.1)
0.444	0.377 (84.9)	0.216 (48.7)	0.289 (65.2)
0.667	0.516 (77.4)	0.301 (45.1)	0.399 (59.8)
1.00	0.828 (82.8)	0.429 (42.9)	0.607 (60.7)

n.d. : < 0.0100 mg/L

a) fresh solutions

b) expired solutions

c) The values are expressed as time-weighted means calculated by the following equation:

$$(C_0 - C_{24}) / (\ln C_0 - \ln C_{24})$$

where

C_0 : the measured concentration at 0-hour

C_{24} : the measured concentration at 24-hour

$\ln C_0$: the natural logarithm of C_0

$\ln C_{24}$: the natural logarithm of C_{24} .

Table 2. Immobility of *Daphnia magna* exposed to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)	Number of immobilized <i>Daphnia</i> (Percent immobility)	
	24-hour	48-hour
Control	0 (0)	0 (0)
Solvent control	0 (0)	0 (0)
0.130	0 (0)	0 (0)
0.202	0 (0)	0 (0)
0.289	0 (0)	15 (75)
0.399	8 (40)	20 (100)
0.607	20 (100)	20 (100)

The values include dead *Daphnia* .

Table 3. Calculated EiC50 values for *Daphnia magna* exposed to di- α -cumyl peroxide based on measured concentrations

Exposure time (hour)	EiC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)	Statistical method
24	0.420	0.289 – 0.607	Binomial
48	0.262	0.202 – 0.289	Binomial

Table 4. No observed effect concentration (NOECi) of di- α -cumyl peroxide and lowest concentration in 100% immobility based on measured concentrations

Exposure time (hour)	No observed effect concentration (NOECi) (mg/L)	Lowest concentration in 100% immobility (mg/L)
24	0.289	0.607
48	0.202	0.399

Table 5. Temperature of test solutions during 48-hour semi-static exposure of *Daphnia magna* to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)		Temperature (°C)	
		0-hour	24-hour
Control	new	20.2	
	old		20.5
Solvent control	new	20.3	
	old		20.4
0.130	new	20.3	
	old		20.4
0.202	new	20.3	
	old		20.4
0.289	new	20.4	
	old		20.4
0.399	new	20.4	
	old		20.4
0.607	new	20.4	
	old		20.4

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours exposure

Table 6. Dissolved oxygen concentrations of test solutions during 48-hour semi-static exposure of *Daphnia magna* to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)		Dissolved oxygen concentration (mg/L)	
		0-hour	24-hour
Control	new	8.8	
	old		8.6
Solvent control	new	8.8	
	old		8.6
0.130	new	8.8	
	old		8.6
0.202	new	8.8	
	old		8.6
0.289	new	8.8	
	old		8.7
0.399	new	8.8	
	old		8.7
0.607	new	8.8	
	old		8.8

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours exposure

Table 7. pH values of test solutions during 48-hour semi-static exposure of *Daphnia magna* to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)		pH	
		0-hour	24-hour
Control	new	7.8	
	old		7.7
Solvent control	new	7.7	
	old		7.7
0.130	new	7.7	
	old		7.7
0.202	new	7.7	
	old		7.7
0.289	new	7.7	
	old		7.7
0.399	new	7.7	
	old		7.7
0.607	new	7.7	
	old		7.7

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours exposure

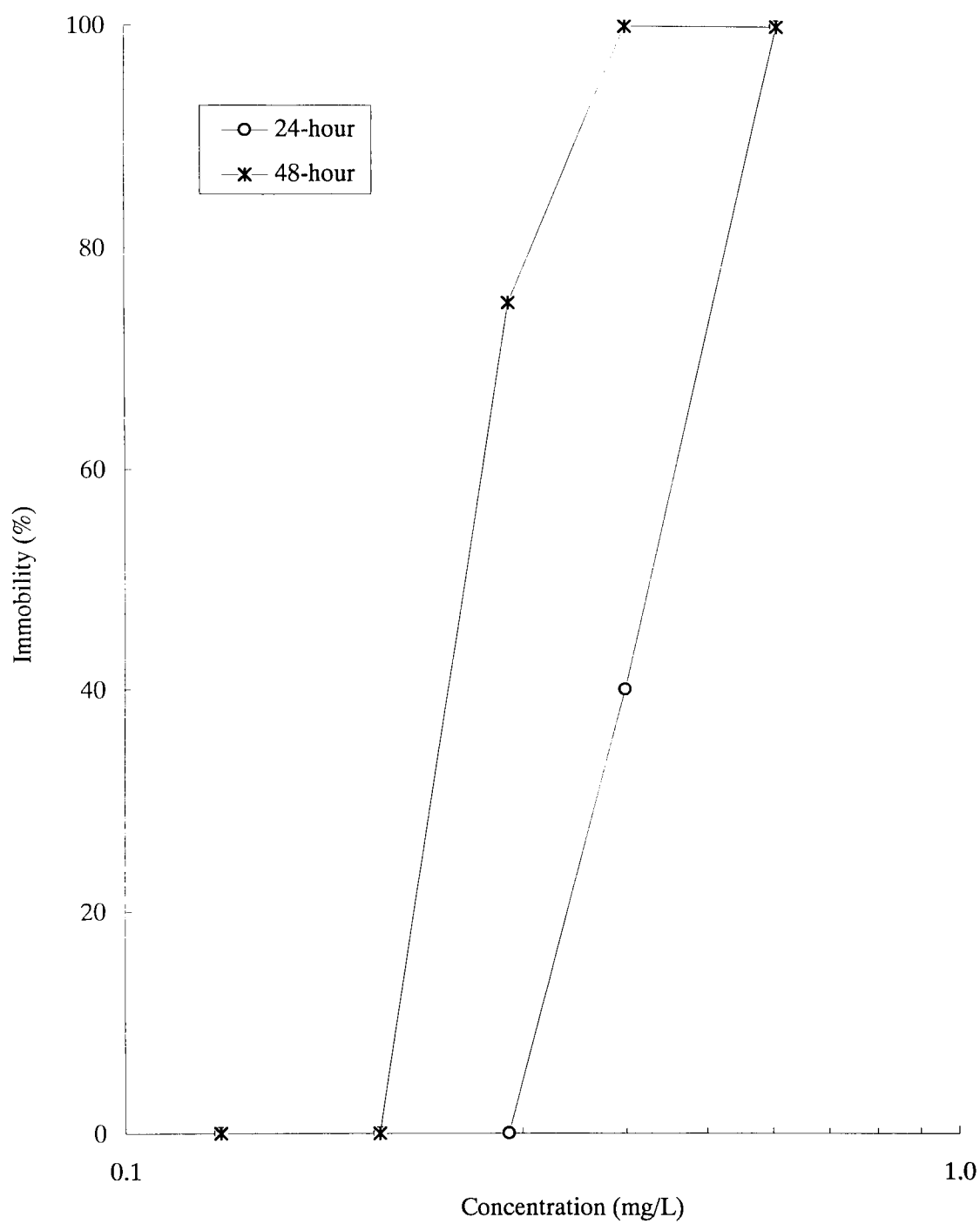


Figure 1. Concentration - toxicity curve of di- α -cumyl peroxide in *Daphnia magna* .

付属資料－1

希釈水の水質

(全 2 頁)

Appendix 1. Water quality of dilution water

Parameter	Concentration	Lower limit of detection
pH	7.5	
COD (mg/L)	0.5	
Coliform group bacteria (MPN/100 mL)	0	
Total phosphorus (mg/L)	0.007	
Total mercury (mg/L)	n.d.	0.0005
Copper (mg/L)	n.d.	0.005
Cadmium (mg/L)	n.d.	0.005
Zinc (mg/L)	n.d.	0.01
Lead (mg/L)	n.d.	0.005
Aluminium (mg/L)	n.d.	0.1
Nickel (mg/L)	n.d.	0.01
Total chromium (mg/L)	n.d.	0.02
Manganese (mg/L)	n.d.	0.01
Tin (mg/L)	n.d.	0.5
Iron (mg/L)	0.02	
Cyanide (mg/L)	n.d.	0.1
Free chlorine (mg/L)	n.d.	0.01
Bromide ion (mg/L)	n.d.	0.1
Fluoride (mg/L)	n.d.	0.15
Sulfide ion (mg/L)	n.d.	0.1
Ammonia nitrogen (mg/L)	0.01	
Arsenic (mg/L)	n.d.	0.002
Selenium (mg/L)	n.d.	0.002
Evaporation residue (mg/L)	117	
Electric conductivity ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	157	
Total hardness (as CaCO_3) (mg/L)	73.5	
Alkalinity (mg/L)	30.0	
Sodium (mg/L)	11.1	
Potassium (mg/L)	3.49	
Calcium (mg/L)	13.4	
Magnesium (mg/L)	9.72	

Appendix 1. (continued)

Parameter		Concentration	Lower limit of detection
1,2-Dichloropropane	(mg/L)	n.d.	0.006
Diazinon	(mg/L)	n.d.	0.0005
Isoxathion	(mg/L)	n.d.	0.0008
Fenitrothion (MEP)	(mg/L)	n.d.	0.0003
Isoprothiolane	(mg/L)	n.d.	0.004
Oxine cupper	(mg/L)	n.d.	0.004
Chlorothalonil (TPN)	(mg/L)	n.d.	0.004
Propyzamide	(mg/L)	n.d.	0.0008
EPN	(mg/L)	n.d.	0.0006
Dichlorvos (DDVP)	(mg/L)	n.d.	0.001
Fenobucarb (BPMC)	(mg/L)	n.d.	0.002
Iprobenfos (IBP)	(mg/L)	n.d.	0.0008
Chlornitrofen (CNP)	(mg/L)	n.d.	0.0005
Thiram	(mg/L)	n.d.	0.0006
Simazine (CAT)	(mg/L)	n.d.	0.0003
Thiobencarb	(mg/L)	n.d.	0.002
PCB	(mg/L)	n.d.	0.0005

n.d. : not detected

Date of measurement : August 6, 1999

付属資料－2

試験液の分析方法及び分析チャート

(全 5 頁)

試 験 名 : ミジンコ急性遊泳阻害試験

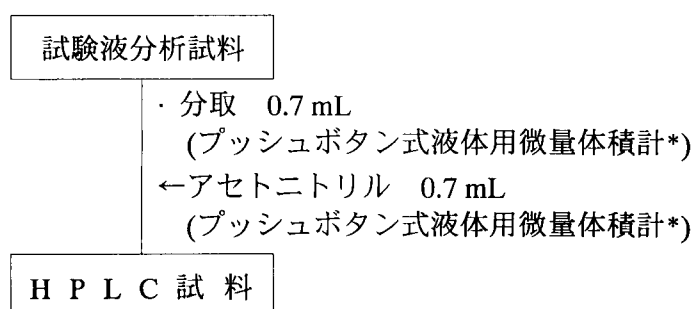
被験物質名 : Di- α -cumyl peroxide

1) 試験液の分析方法

(1) 試験液の前処理操作

採取した溶液はそのまま若しくは脱塩素水で希釈して試験液分析試料とし、以下のフロースキームに従い高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によって分析した。

フロースキーム



* エッペンドルフ社製

HPLC試料中の被験物質濃度は、クロマトグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた。

(2) 被験物質溶液の調製

被験物質100 mgを電子分析天びんで正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して1,000 mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリルで希釈して1.00 mg/Lの被験物質溶液を調製した。

(3) 標準溶液の調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための標準溶液の調製は次のようにして行った。1.00 mg/Lの被験物質溶液をアセトニトリル/脱塩素水 1/1(v/v)になるように希釈して0.0500 mg/Lの標準溶液とした。

2) 定量条件

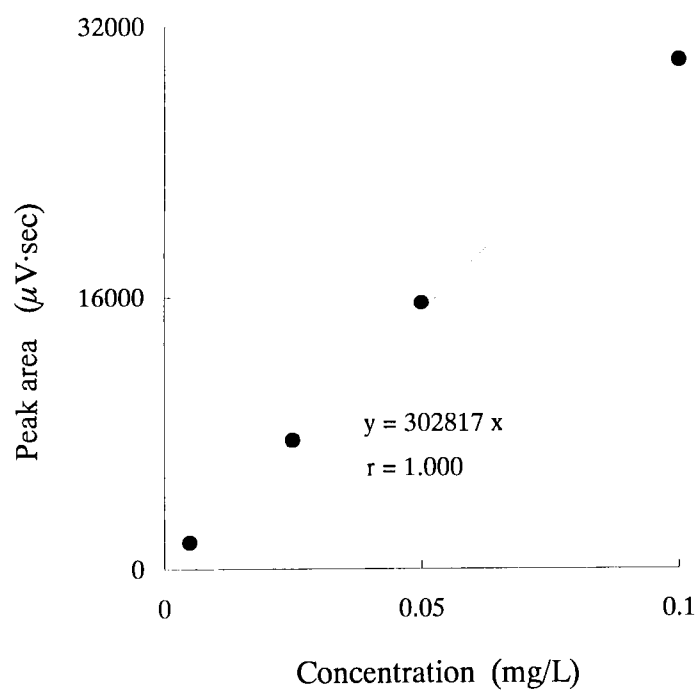
機 器	高速液体クロマトグラフ
ポンプ	島津製作所製 LC-10AD
検出器	島津製作所製 SPD-10AV
オートインジェクター	島津製作所製 SIL-10A _{XL}
カラム	L-column ODS 15 cm×4.6 mmφ ステンレス製
カラム温度	40℃
溶離液	アセトニトリル/蒸留水 9/1 (v/v)
流量	1.0 mL/min
測定波長	210 nm
注入量	100 μ L
感度	
検出器	1 AU/1 V
記録計	ATTEN 2 ³

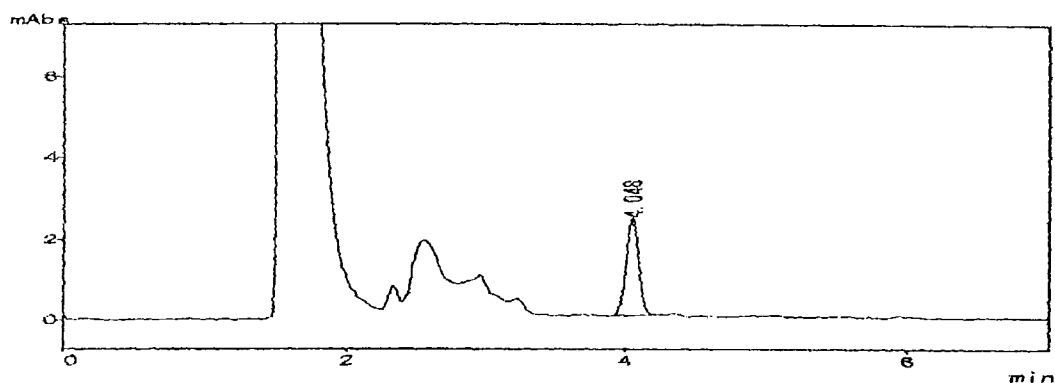
3) 検量線の作成

1)(3)の標準溶液の調製と同様にして0.00500、0.0250、0.0500及び0.100 mg/Lの標準溶液を調製した。これらを2)の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのクロマトグラム上のピーク面積と濃度により、検量線を作成した。

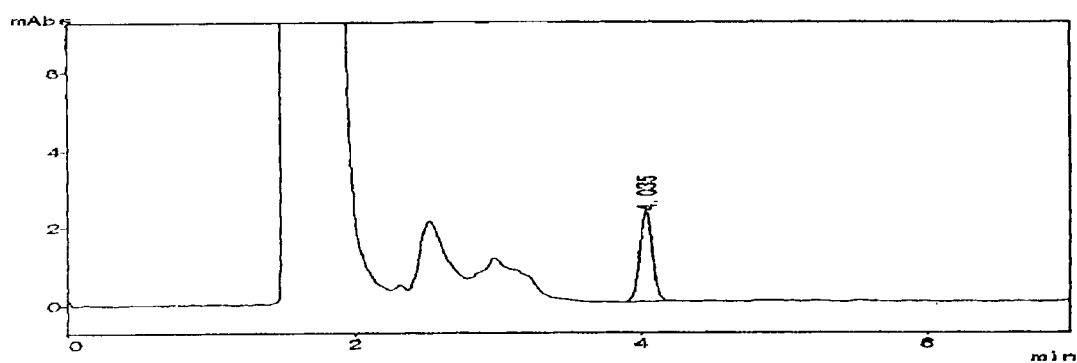
Input data

Run	Concentration (mg/L)	Peak area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)
1	0.00500	1550
2	0.0250	7604
3	0.0500	15626
4	0.100	30029

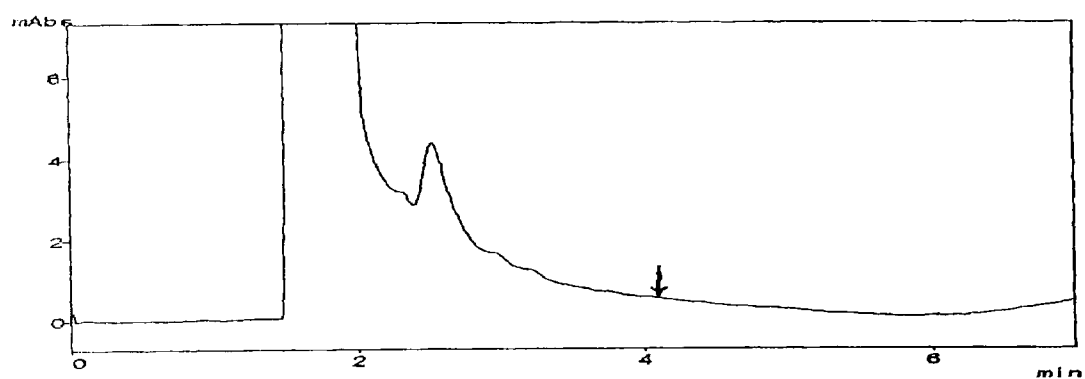
Appendix 2-1. Calibration curve of di- α -cumyl peroxide by HPLC analysis.



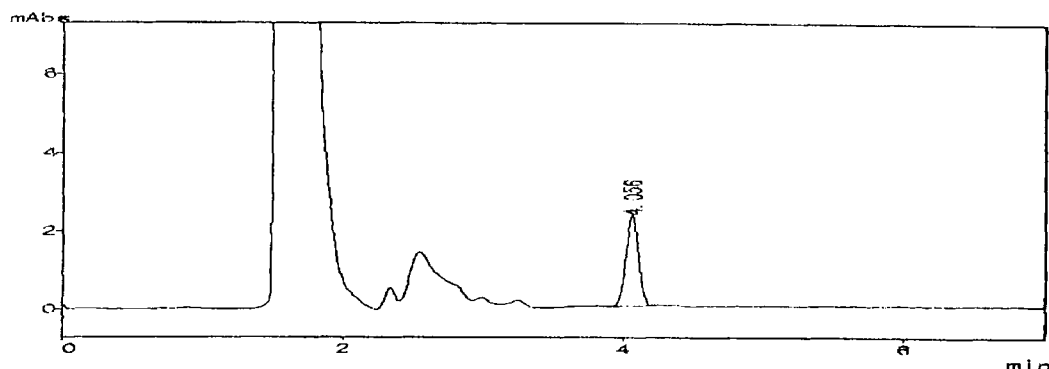
Appendix 2-2. Representative HPLC chromatogram of 0.0500 mg/L di- α -cumyl peroxide standard at 0-hour.



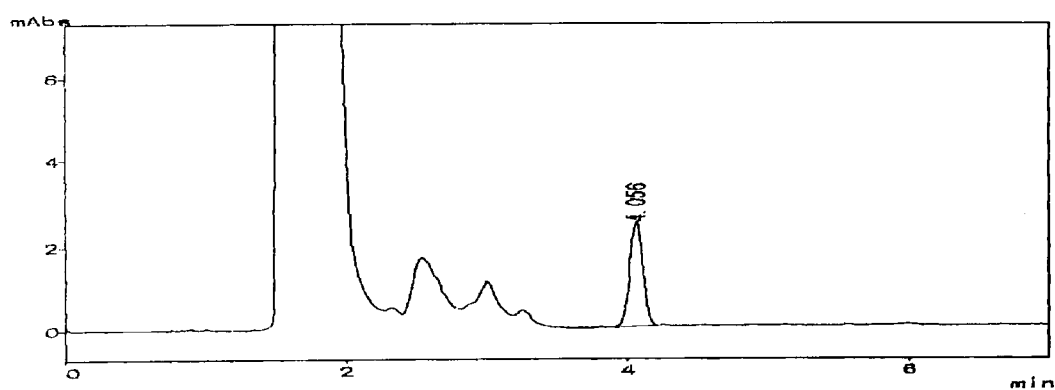
Appendix 2-3. Representative HPLC chromatogram of di- α -cumyl peroxide in 0.444 mg/L test solution at 0-hour.



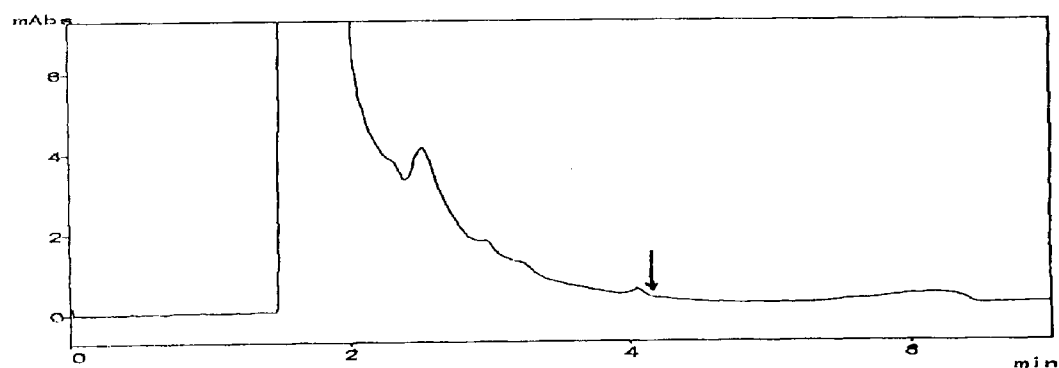
Appendix 2-4. Representative HPLC chromatogram of solvent control solution at 0-hour.



Appendix 2-5. Representative HPLC chromatogram of 0.0500 mg/L di- α -cumyl peroxide standard at 24-hour.



Appendix 2-6. Representative HPLC chromatogram of di- α -cumyl peroxide in 0.444 mg/L test solution at 24-hour.



Appendix 2-7. Representative HPLC chromatogram of solvent control solution at 24-hour.