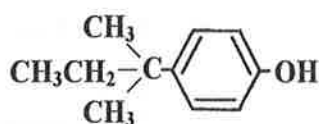
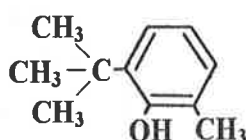


**4-tert-ペンチルフェノール****4-tert-Pentylphenol****4-n-ペンチルフェノール****4-n-Pentylphenol****6-tert-ブチル-o-クレゾール****6-tert-Butyl-o-cresol****6-tert-ブチル-m-クレゾール****6-tert-Butyl-m-cresol****2-tert-ブチル-p-クレゾール****2-tert-Butyl-p-cresol****【対象物質の構造】** $C_{11}H_{16}O$ **4-tert-Pentylphenol**

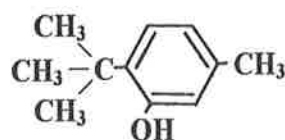
CAS 番号 80-46-6

 $C_{11}H_{16}O$ **4-n-Pentylphenol**

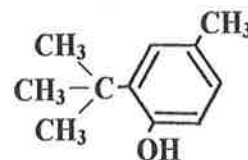
14938-35-3

 $C_{11}H_{16}O$ **6-tert-Butyl-o-cresol**

CAS 番号 2219-82-1

 $C_{11}H_{16}O$ **6-tert-Butyl-m-cresol**

88-60-8

 $C_{11}H_{16}O$ **2-tert-Butyl-p-cresol**

2409-55-4

**【物理化学的性状】**

| 物質名                | 分子量    | 融点(°C) | 蒸気圧(mmHg)    | 水溶解度(mg/L) | log P <sub>ow</sub> |
|--------------------|--------|--------|--------------|------------|---------------------|
| 4-tert-ペンチルフェノール   | 164.25 | 95     | 0.002(補外値)   | 168        | 3.91(計算値)           |
| 4-n-ペンチルフェノール      | 164.25 | 23     | 0.00229(計算値) | 84.8(計算値)  | 4.06                |
| 6-tert-ブチル-o-クレゾール | 164.25 | 31     | 0.0297(計算値)  | 307(計算値)   | 3.97(計算値)           |
| 6-tert-ブチル-m-クレゾール | 164.25 | 46.5   | 0.00804(計算値) | 221(計算値)   | 3.97(計算値)           |
| 2-tert-ブチル-p-クレゾール | 164.25 | 51.5   | 0.025(補外値)   | 184(計算値)   | 3.97(計算値)           |

引用元: <http://www.syrres.com/esc/physdemo.htm>

## 【毒性、用途】

- ・ 4-*tert*-ペンチルフェノール

毒性：LD<sub>50</sub> ウサギ(経皮) 2000 mg/kg、ラット(経口) 1830 mg/kg

用途：衛生材料・農薬(農薬全般(中間体を含む))・化学合成原料等(合成中間体)

(引用元：[http://w-chemdb.nies.go.jp/kis-plus/Q\\_allkis.asp?ks\\_cd=3535](http://w-chemdb.nies.go.jp/kis-plus/Q_allkis.asp?ks_cd=3535))

- ・ 4-*n*-ペンチルフェノール

毒性：TD<sub>Lo</sub> マウス(経皮、12 週) 4100 mg/kg

用途：化学合成原料等(合成中間体)

(引用元：[http://w-chemdb.nies.go.jp/kis-plus/Q\\_allkis.asp?ks\\_cd=3532](http://w-chemdb.nies.go.jp/kis-plus/Q_allkis.asp?ks_cd=3532))

- ・ 6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾール

毒性：LD<sub>50</sub> ラット(経口) オス 320-800 mg/kg、メス 130-320 mg/kg

用途：ブチレートハイドロキシトルエン(抗酸化剤)の類似化合物

(引用元：<http://wwwdb.mhlw.go.jp/ginc/dbfile1/paper/paper88-60-8a.html>)

## §1 分析法

### (1) 分析法概要

水質は、試料500 mLを逆相系固相カートリッジ(Sep-Pak Plus C18)に通水し、メタノール5 mLで溶出する。濃縮後、メタノール/水(1:1 v/v)で 1 mLに定容し、LC/MS-SIM(ESI-)で分析を行う。

底質は、湿泥試料約10 g(乾泥換算試料量として5 g相当)をメタノールで振とう・超音波抽出し、メタノール／ヘキサン分配、5%塩化ナトリウム水溶液で希釈しジクロロメタン抽出、グラファイトカーボンカラム及び陰イオン交換カラムでクリーンアップした後、メタノールで1mLに定容し、LC/MS-SIM(ESI-)で分析を行う。

### (2) 試薬・器具

#### 【試薬】

4-*tert*-ペンチルフェノール：和光純薬製（含量 97%）

4-*n*-ペンチルフェノール：和光純薬製（含量 98%）

4-*n*-ペンチルフェノール-*d*<sub>4</sub>：林純薬製（含量 99.9%）

6-*tert*-ブチル-*o*-クレゾール：東京化成工業製

6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾール：和光純薬製（含量 96%）

2-*tert*-ブチル-*p*-クレゾール：和光純薬製

メタノール：LC/MS 用

ヘキサン、アセトン、ジクロロメタン、トルエン：残留農薬・PCB試験用、5000倍濃縮検定品

塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム：残留農薬・PCB試験用

精製水：ミリポア製 Milli-Q Gradientにより調製

固相カートリッジ：Sep-Pak Plus C18 (Waters社製)

グラファイトカーボンカートリッジカラム：ENVI-Carb C、1 g/12 mL (SUPELCO社製)

陰イオン交換カートリッジカラム：BOND ELUT Jr SAX、500 mg (VARIAN社製)

#### 【試薬の安定性・毒性】

メタノール：引火性。吸入、摂取すると有毒。眼、皮膚を刺激する。皮膚吸収の恐れあり。

急性毒性；LD<sub>50</sub>(経口、ラット) 5628 mg/kg。LD<sub>Lo</sub>(経口、ヒト) 340 mg/kg。

#### 【器具】

コンセンレーター：Waters社コンセンレーター Concentrator Plus(注1)

吹付け式試験管濃縮装置：水質抽出液の濃縮に用いる。

ロータリーエバポレータ（恒温槽付き）：底質抽出液の濃縮に用いる。

振とう器：分液ロートの振とうや底質からの抽出に用いる。

超音波洗浄器：底質試料の超音波照射に用いる。

遠心分離機：底質試料の抽出液の分離に用いる。

マイクロシリンジ：サロゲート化合物の添加に用いる。

注射筒(5 mL)：固相カートリッジからの溶出に用いる。

注射筒(10 mL)：陰イオン交換カラムクリーンアップで用いる。

マイクロメスフラスコ(1 mL)：試料液の定容に用いる。

試料採取瓶(水質:1 L・細口瓶、底質:500 mL・広口瓶)、分液ロート(500 mL、200 mL、100 mL)、トールビーカー(200 mL)、ナス型フラスコ(200 mL)、遠心沈殿管(50 mL)、KD濃縮器受器(20 mL)、スピッツ型共栓付試験管(10 mL又は13 mL)、メスシリンダー、パスツールピペット：アセトンで洗浄し、乾燥して用いる。

### (3) 分析法

#### 【試料の採取及び保存】

環境省「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」に従う。

なお、水質は試料採取後直ちにアスコルビン酸を1 Lあたり1 g添加する。

#### 【試料の前処理及び試料液の調製】

##### 〔水質〕

アスコルビン酸が添加された試料500 mLにサロゲート溶液(2 µg/mL、メタノール)を5 µL添加し十分に混和した後、コンディショニングした固相カートリッジ

(注2)に10 mL/minで通水する。通水終了後の固相カートリッジに精製水 15 mLを通して洗浄した後、窒素ガスを5分間通気して間隙水を除き、メタノール5 mLを用いて溶出する。溶出液は40 °C以下で窒素ガスを吹き付けて濃縮した後、メタノール/水(1:1 v/v)で1 mLに定容(注3)し、試料液とする。

#### 〔底質〕

湿泥試料約10g(乾泥換算試料量として5 g相当)(注4)を50 mL遠心沈殿管に採取し、サロゲート溶液(2 µg/mL、メタノール)を5 µL添加し十分に混和する。メタノール30 mLを加えた後、密栓して10分間振とうし、10分間超音波抽出を行った後、遠心分離(2500 rpm、10分)を行い、上澄み液を100 mL容の分液ロートに移す。残渣にメタノール30 mLを加え、振とう(注5)・超音波抽出・遠心分離操作をもう一度繰り返し、上澄み液を合わせる。これにメタノール飽和ヘキサン20 mLを加えて10分間振とうし、静置する(注6)。メタノール層を予め5%塩化ナトリウム水溶液200 mLを入れた500 mL容分液ロートに移し、ジクロロメタン50 mLを加えて振とう抽出を行い、抽出液は200 mL容分液ロートに移す。ジクロロメタン50 mLによる抽出を再度行い、抽出液は合わせた後、精製水50 mLを用いて水洗する。ジクロロメタン層を採取し、20 mLのヘキサンを加えた後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ヘキサンを用いて200 mL用のナス型フラスコに移す。抽出液は、ロータリーエバポレータを用いて35 °Cで蒸発乾固寸前まで濃縮し、更に濃縮液にヘキサン10 mLを加え、約1 mLまで減圧濃縮し、共存するジクロロメタンを留去する(注7)。

予めトルエン5 mL、アセトン5 mL、ヘキサン10 mL(5 mL×2)で洗浄したグラファイトカーボンカートリッジカラム(ENVI-Carb C、1 g/12 mL)(注8)にKD濃縮器受器(20 mL)をセットした後、試料液をカラムに負荷し、液面をカラムベッドまで下げてから、ヘキサン4 mLで濃縮容器及びカラム壁面を洗い込み、10%アセトン含有ヘキサン5 mLで溶出する。溶出液を、ロータリーエバポレータを用いて約1 mL以下まで濃縮し、更に窒素吹きつけにより乾固(注7)した後、ヘキサン1 mLに溶解する。

予め20%アセトン含有ヘキサン10 mL及びヘキサン20 mLで洗浄した陰イオン交換カートリッジカラム(BOND ELUT Jr SAX、500 mg)(注8)に試料液を負荷し、液面をカラムベッドまで下げてから、ヘキサン9 mLで濃縮容器及びカラム壁面を洗い込み(この洗浄液は廃棄)、スピッツ型共栓付試験管をセットした後、20%アセトン含有ヘキサン8 mLで溶出する。溶出液を窒素吹きつけにより濃縮乾固し、メタノールを用いて1 mLに定容し(注9)、測定用試料液とする。

#### 【空試験液の調製】

水質は試料と同じ量の精製水にアスコルビン酸0.5 gを加え、底質は試料の含水量に相当する精製水(5 mL)を用い、【試料の前処理及び試料液の調製】の項に

従って操作し、得られた試料液を空試験液とする。

#### 【標準液の調製】

- ・ネイティブ物質 (4-*tert*-ペンチルフェノール、4-*n*-ペンチルフェノール、6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾール、6-*tert*-ブチル-*o*-クレゾール、2-*tert*-ブチル-*p*-クレゾール)

標準試薬25 mgを正確に秤取り、アセトン25 mLに溶解し1000 mg/Lの標準原液とする。標準原液を水質用はメタノール/水(1:1 v/v)、底質用はメタノールで順次希釈し、1~50 ng/mL (6-*tert*-ブチル-*o*-クレゾールは40~2000 ng/mL)の検量線用標準液を作成する。

- ・サロゲート溶液 (4-*n*-ペンチルフェノール- $d_4$ )

標準試薬10 mgを正確に秤取り、メタノール10 mLに溶解し1000 mg/Lの標準原液とする。標準原液をメタノールで希釈し、2  $\mu$ g/mL(注10)の添加用液を作成する。

#### 【測定】

[LC/MS条件] (注11)

(LC条件)

使用機種：Waters社製 Alliance2695

カラム(注12)：Atlantis T3 C18 3  $\mu$ m 2.1 mm  $\phi$ ×150 mm L (Waters社製)

移動相(注12)：A：水、B：メタノール

0~1 min A：B=50：50

1~40 min A：50→37 B：50→63 linear gradient

40~40.1 min A：37→0 B：63→100 linear gradient

40.1~48 min A：B=0：100

48~48.5 min A：0→50 B：100→50 linear gradient

48.5~61 min A：B=50：50

流量：0.2 mL/min

カラム温度：40 °C

注入量：10  $\mu$ L (注13)

(MS条件)

使用機種：Micromass Quattro micro API

Cone：37 V、Capillary：3 kV、SourceTemp：100 °C、DesolvationTemp：500 °C、

DesolvationGas：600 L/hr、ConeGas：50 L/hr

イオン化法：ESI Negative

モニターイオン(注14~16)：163 (M-H)<sup>-</sup>、164 (確認用)

4-*n*-ペンチルフェノール- $d_4$  167 (M-H)<sup>-</sup>

〔検量線〕

検量線用標準溶液10 μLをLC/MSに注入し、得られた標準物質のピーク面積とサロゲート物質のピーク面積の比から検量線を作成する。

〔定量〕

試料液10 μLをLC/MSに注入し、対象物質とサロゲート物質の面積比から、対象物質の検出量を求める。

〔濃度の算出〕

$$\text{水質試料中の濃度}(\text{ng/L}) = \text{検出量}(\text{pg}) \times \frac{\text{固相抽出後の最終液量 (mL)}}{\text{LC/MS注入量}(\mu\text{L}) \times \text{分析試料量 (L)}}$$

〔装置検出下限 (IDL)〕

本分析に用いたLC/MSのIDLを下表に示す (注17)。

| 物質                    | IDL<br>(ng/mL) | 試料量        |               | 最終<br>液量<br>(mL) | IDL試料換算値     |                  |
|-----------------------|----------------|------------|---------------|------------------|--------------|------------------|
|                       |                | 水質<br>(mL) | 底質<br>(g-dry) |                  | 水質<br>(ng/L) | 底質<br>(ng/g-dry) |
| 4-tert-Pentylphenol   | 0.57           | 500        | 5             | 1                | 1.1          | 0.11             |
| 4-n-Pentylphenol      | 0.54           | 500        | 5             | 1                | 1.1          | 0.11             |
| 6-tert-Butyl-o-cresol | 30             | 500        | 5             | 1                | 60           | 6.0              |
| 6-tert-Butyl-m-cresol | 0.62           | 500        | 5             | 1                | 1.2          | 0.12             |
| 2-tert-Butyl-p-cresol | 0.62           | 500        | 5             | 1                | 1.2          | 0.12             |

〔測定方法の検出下限 (MDL)、定量下限 (MQL)〕

本測定方法における検出下限及び定量下限を次に示す (注19)。

(水質)

| 物質                    | 試料量<br>(mL) | 最終液量<br>(mL) | 検出下限値<br>(MDL)(ng/L) | 定量下限値<br>(MQL)(ng/L) |
|-----------------------|-------------|--------------|----------------------|----------------------|
| 4-tert-Pentylphenol   | 500         | 1            | 1.1                  | 2.9                  |
| 4-n-Pentylphenol      | 500         | 1            | 1.0                  | 2.6                  |
| 6-tert-Butyl-o-cresol | 500         | 1            | 63                   | 160                  |
| 6-tert-Butyl-m-cresol | 500         | 1            | 1.9                  | 4.9                  |
| 2-tert-Butyl-p-cresol | 500         | 1            | 1.9                  | 4.9                  |

(底質)

| 物質                    | 試料量<br>(g-dry) | 最終液量<br>(mL) | 検出下限値(MDL)<br>(ng/g-dry) | 定量下限値(MQL)<br>(ng/g-dry) |
|-----------------------|----------------|--------------|--------------------------|--------------------------|
| 4-tert-Pentylphenol   | 5              | 1            | 0.28                     | 0.72                     |
| 4-n-Pentylphenol      | 5              | 1            | 0.16                     | 0.42                     |
| 6-tert-Butyl-o-cresol | 5              | 1            | 16                       | 40                       |
| 6-tert-Butyl-m-cresol | 5              | 1            | 0.26                     | 0.67                     |
| 2-tert-Butyl-p-cresol | 5              | 1            | 0.25                     | 0.64                     |

## 注 解

- (注1) クロスコンタミネーション防止のため、減圧で使用した。
- (注2) 固相カートリッジは、10 mLのメタノールと20 mLの精製水でコンディショニングしたものを使用する。
- (注3) 乾固可能な場合は、乾固した後、メタノール/水(1:1 v/v)を正確に1mL加える。水が残るため乾固しにくい場合は、約0.2 mLまで濃縮しメタノール/水(1:1 v/v)を加えて1 mLに定容する。
- (注4) 予め水分含量を測定しておき、乾泥として5 gに相当する量を求めておく。
- (注5) 遠心沈殿管中の残渣は、振とう操作のみでは完全に混合しないため、ステンレス製スパーテル等を用いて十分に攪拌、分散させてから振とうする。
- (注6) メタノール・ヘキサン分配は鉱物油、脂肪等の除去のために行う
- (注7) ジクロロメタン、アセトン等が残存すると、カラムクロマトグラフィーの溶離パターンが変化する場合がある。
- (注8) カラムは、ロットによって溶離パターンが変化する場合があるので、予め、溶離パターン、コンタミネーション及び妨害物質の有無等を必ず確認しておくこと。
- (注9) 底質は、メタノール/水(1:1 v/v)に溶解しない成分が残存する場合があるため、メタノールに溶解する。
- (注10) 5  $\mu$ L添加すると測定試料中濃度は10 ng/mLとなる。装置の感度等を考慮して適宜添加液濃度や添加量を変更する。
- (注11) LC/MSの条件は、本測定に使用した機種（Waters Alliance2695+Quattro micro API）特有のものである。
- (注12) 下記の条件でも対象5物質のクロマト分離は可能であり、当初はこの条件で分析法を検討したが、4-*tert*-ペンチルフェノールのピークに夾雑物質のピークが重なる場合があったので、カラム及び移動相を変更することとし、夾雑物のピークと分離した。

カラム：Atlantis dC18 3  $\mu$ m 2.1 mm  $\phi$ ×150 mm L (Waters社製)

移動相：A：水、B：メタノール

0～1min      A：B=50：50

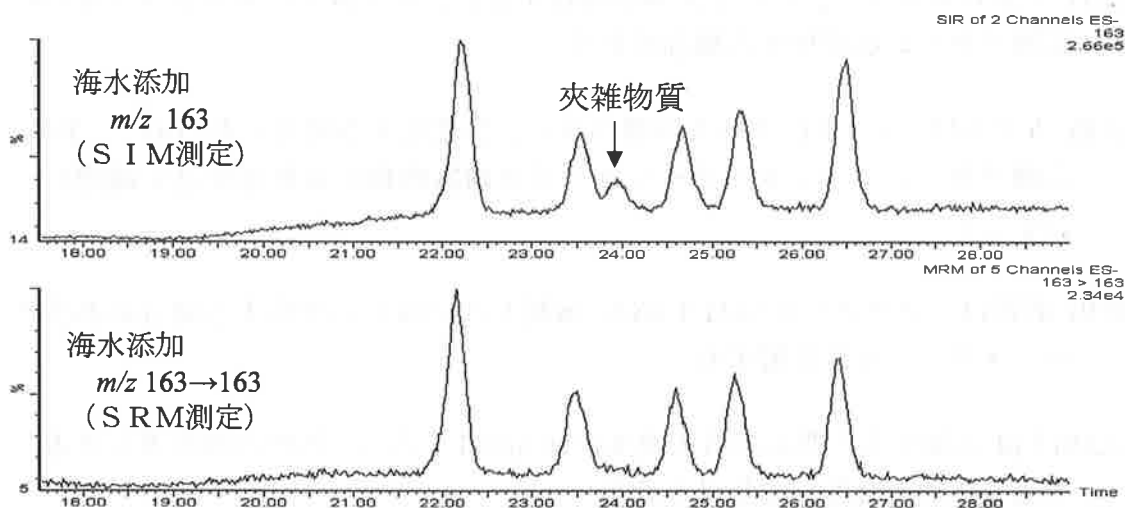
1~25 min      A : 50→30    B : 50→70    linear gradient  
 25~27 min    A : B = 30 : 70  
 27~27.1 min   A : 30→0    B : 70→100 linear gradient  
 27.1~35 min   A : B = 0 : 100  
 35~35.5 min   A : 0→50    B : 100→50 linear gradient  
 35.5~48 min   A : B = 50 : 50

(注13) 感度が不足した場合は、メタノール/水(1:1 v/v)溶液を最大100  $\mu$ Lまで注入できる。

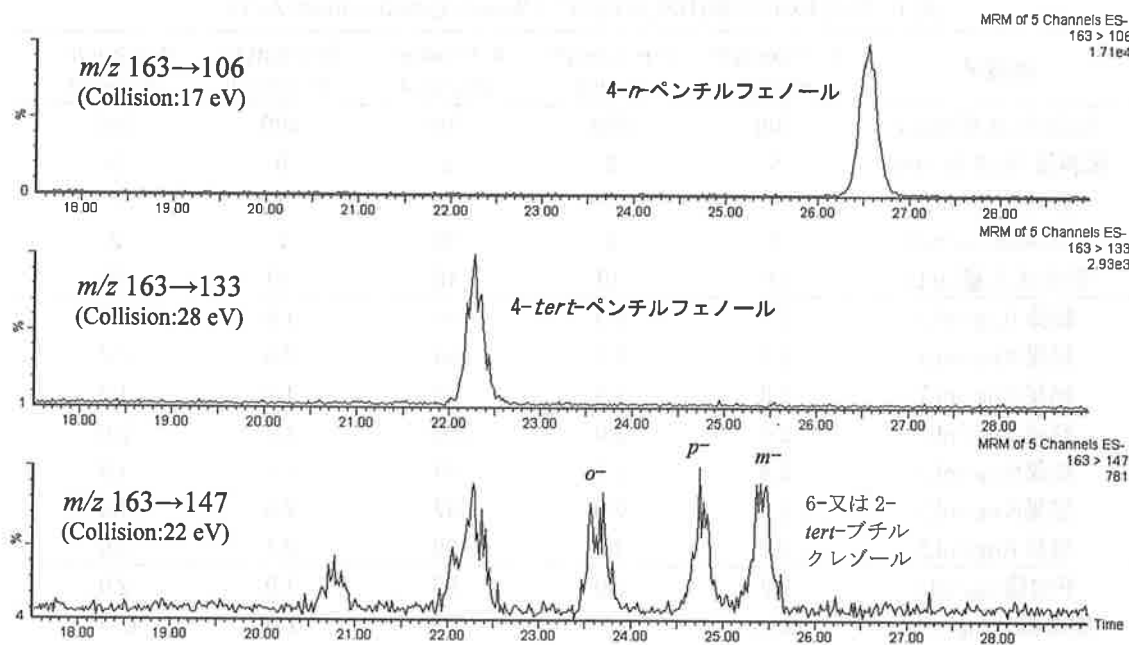
(注14) 対象物質のピーク強度は $m/z$  163が強いが、 $m/z$  164の方がベースラインが低いので、 $m/z$  164の方がS/N比が大きい場合がある。

(注15) SRM法の163→163、164→164、167→167(Collision:15 eV)も使用できる。

SIM法では6-tert-ブチル-o-クレゾールの近辺に夾雑物質のピークが現れることがあるが、夾雑物質のピークやバックグラウンドを小さくすることができる。



(注16) その他のプロダクトイオンとして次のものがあり、対象物質やMSの機種によっては使用できる可能性が考えられる。



(注17) 装置検出下限(IDL)は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成17年3月)に従って、表1のとおり算出した。(注18)

表1 装置検出下限(IDL)の算出 (Waters Quattro micro API)

| 物質名                    | 4-t-pentyl-phenol | 4-n-pentyl-phenol | 6-t-butyl-o-cresol | 6-t-butyl-m-cresol | 2-t-butyl-p-cresol |
|------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 試料量(水質)(mL)            | 500               | 500               | 500                | 500                | 500                |
| 試料量(底質)(g-dry)         | 5                 | 5                 | 5                  | 5                  | 5                  |
| 最終液量(mL)               | 1                 | 1                 | 1                  | 1                  | 1                  |
| 注入濃度(ng/mL)            | 2                 | 2                 | 80                 | 2                  | 2                  |
| 装置注入量(μL)              | 10                | 10                | 10                 | 10                 | 10                 |
| 結果1(ng/mL)             | 2.1               | 2.3               | 97                 | 1.8                | 2.3                |
| 結果2(ng/mL)             | 2.1               | 2.1               | 94                 | 2.0                | 2.2                |
| 結果3(ng/mL)             | 2.3               | 1.9               | 78                 | 1.7                | 1.9                |
| 結果4(ng/mL)             | 2.1               | 2.0               | 102                | 1.8                | 2.0                |
| 結果5(ng/mL)             | 2.4               | 2.1               | 97                 | 1.7                | 1.9                |
| 結果6(ng/mL)             | 2.4               | 2.0               | 92                 | 2.0                | 1.9                |
| 結果7(ng/mL)             | 2.1               | 1.9               | 89                 | 2.1                | 2.0                |
| 平均値(ng/mL)             | 2.2               | 2.0               | 93                 | 1.9                | 2.0                |
| 標準偏差(ng/mL)            | 0.15              | 0.14              | 7.7                | 0.16               | 0.16               |
| IDL(ng/mL)             | 0.57              | 0.54              | 30                 | 0.62               | 0.62               |
| IDL試料換算値(水質)(ng/L)     | 1.1               | 1.1               | 60                 | 1.2                | 1.2                |
| IDL試料換算値(底質)(ng/g-dry) | 0.11              | 0.11              | 6.0                | 0.12               | 0.12               |
| S/N                    | 14                | 11                | 5.2                | 7.2                | 5.6                |
| CV(%)                  | 6.6               | 6.8               | 8.3                | 8.6                | 7.9                |

※IDL=t(n-1,0.05) × σ n-1 × 2

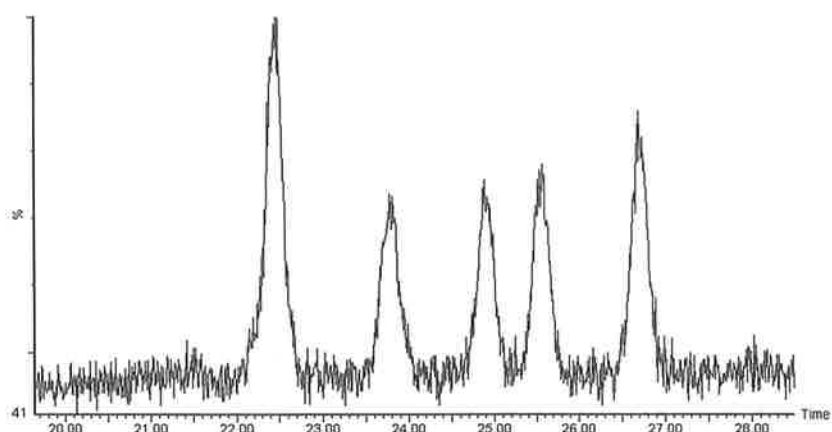


図1 IDL測定時のクロマトグラム

(注18) カラム及び移動相は、(注12)の条件。

(注19) 測定方法の検出下限 (MDL) 及び定量下限 (MQL) は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成17年3月) により、次のとおり算出した。(注18)

表 2-1 測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出 (水質)

| 物質名                         | 4-t-pentyl-phenol | 4-n-pentyl-phenol | 6-t-butyl-o-cresol | 6-t-butyl-m-cresol | 2-t-butyl-p-cresol |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 試料                          | 海水                | 海水                | 海水                 | 海水                 | 海水                 |
| 試料量(mL)                     | 500               | 500               | 500                | 500                | 500                |
| 標準添加量(ng)                   | 2                 | 2                 | 80                 | 2                  | 2                  |
| 試料換算濃度(ng/L)                | 4                 | 4                 | 160                | 4                  | 4                  |
| 最終液量(mL)                    | 1                 | 1                 | 1                  | 1                  | 1                  |
| 注入濃度(ng/mL)                 | 2                 | 2                 | 80                 | 2                  | 2                  |
| 装置注入量(μL)                   | 10                | 10                | 10                 | 10                 | 10                 |
| 操作ブランク平均(ng/L) <sup>①</sup> | 0                 | 0                 | 0                  | 0                  | 0                  |
| 無添加平均(ng/L) <sup>②</sup>    | 0                 | 0                 | 0                  | 0                  | 0                  |
| 結果1(ng/L)                   | 3.8               | 3.7               | 111                | 4.6                | 5.3                |
| 結果2(ng/L)                   | 3.8               | 3.8               | 158                | 4.8                | 4.5                |
| 結果3(ng/L)                   | 3.2               | 4.0               | 122                | 5.4                | 4.2                |
| 結果4(ng/L)                   | 4.0               | 4.3               | 146                | 5.3                | 4.2                |
| 結果5(ng/L)                   | 3.8               | 3.9               | 143                | 4.9                | 5.4                |
| 結果6(ng/L)                   | 3.6               | 4.2               | 125                | 5.6                | 4.9                |
| 結果7(ng/L)                   | 3.3               | 4.4               | 128                | 6.0                | 4.7                |
| 平均値(ng/L)                   | 3.6               | 4.0               | 133                | 5.2                | 4.7                |
| 標準偏差(ng/L)                  | 0.29              | 0.26              | 16                 | 0.49               | 0.49               |
| MDL(ng/L)                   | 1.1               | 1.0               | 63                 | 1.9                | 1.9                |
| MQL(ng/L)                   | 2.9               | 2.6               | 160                | 4.9                | 4.9                |
| S/N                         | 13                | 10                | 4.6                | 6.0                | 5.4                |
| CV(%)                       | 8.1               | 6.5               | 12.2               | 9.4                | 10.2               |

表 2-2 測定方法の検出下限(MDL)及び定量下限(MQL)の算出 (底質)

| 物質名                             | 4-t-pentyl-phenol | 4-n-pentyl-phenol | 6-t-butyl-o-cresol | 6-t-butyl-m-cresol | 2-t-butyl-p-cresol |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 試料                              | 海底泥               | 海底泥               | 海底泥                | 海底泥                | 海底泥                |
| 試料量(g-dry)                      | 5                 | 5                 | 5                  | 5                  | 5                  |
| 標準添加量(ng)                       | 10                | 10                | 400                | 10                 | 10                 |
| 試料換算濃度(ng/g-dry)                | 2                 | 2                 | 80                 | 2                  | 2                  |
| 最終液量(mL)                        | 1                 | 1                 | 1                  | 1                  | 1                  |
| 注入濃度(ng/mL)                     | 10                | 10                | 400                | 10                 | 10                 |
| 装置注入量(μL)                       | 10                | 10                | 10                 | 10                 | 10                 |
| 操作ブランク平均(ng/g-dry) <sup>①</sup> | 0                 | 0                 | 0                  | 0                  | 0                  |
| 無添加平均(ng/g-dry) <sup>②</sup>    | 0                 | 0                 | 0                  | 0                  | 0                  |
| 結果1(ng/g-dry)                   | 1.82              | 1.84              | 43.5               | 1.83               | 2.04               |
| 結果2(ng/g-dry)                   | 1.95              | 1.94              | 49.3               | 1.87               | 1.90               |
| 結果3(ng/g-dry)                   | 1.88              | 1.91              | 51.1               | 1.95               | 2.07               |
| 結果4(ng/g-dry)                   | 1.73              | 1.92              | 40.9               | 1.96               | 2.07               |
| 結果5(ng/g-dry)                   | 1.77              | 1.98              | 51.8               | 1.78               | 1.96               |
| 結果6(ng/g-dry)                   | 1.86              | 1.90              | 50.9               | 1.83               | 2.04               |
| 結果7(ng/g-dry)                   | 1.83              | 1.91              | 48.3               | 1.83               | 1.98               |
| 平均値(ng/g-dry)                   | 1.83              | 1.91              | 48.0               | 1.86               | 2.01               |
| 標準偏差(ng/g-dry)                  | 0.072             | 0.04              | 4.2                | 0.067              | 0.06               |
| MDL(ng/g-dry)                   | 0.28              | 0.16              | 16                 | 0.26               | 0.25               |
| MQL(ng/g-dry)                   | 0.72              | 0.42              | 40                 | 0.67               | 0.64               |
| S/N                             | 27                | 28                | 6.8                | 15                 | 14                 |
| CV(%)                           | 3.9               | 2.2               | 8.7                | 3.6                | 3.2                |

※MDL=  $t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$  ※MQL=  $\sigma_{n-1} \times 10$ 

①操作ブランク平均: 試料マトリクスのみがない状態で他は同様の操作を行い測定した値の平均値

②無添加平均: MDL算出用試料に標準を添加していない状態で含まれる濃度の平均値

## § 2 解説

### 【分析法】

〔フローチャート〕

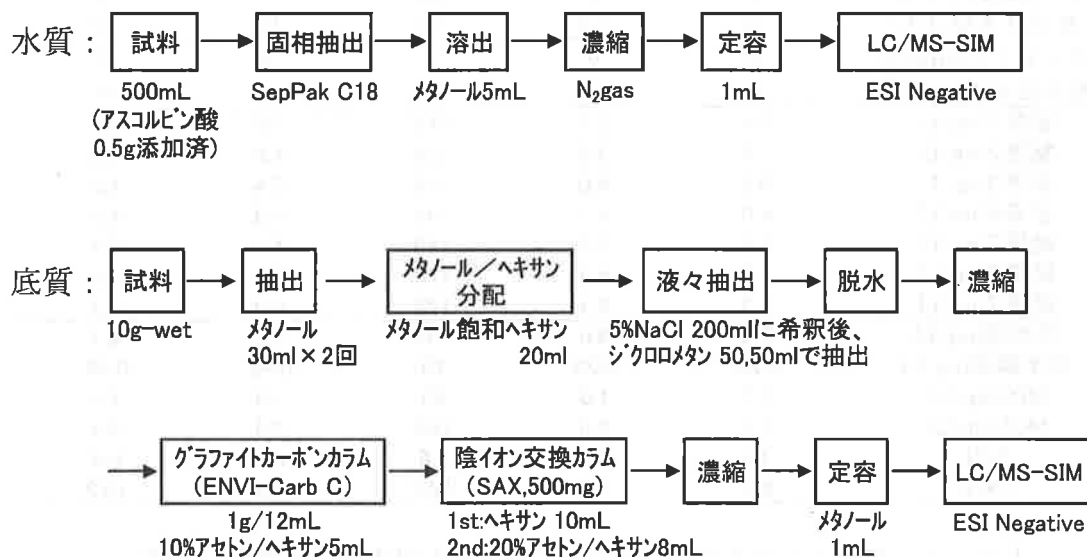


図2 分析フロー図

### 〔検量線及びマススペクトル〕

検量線及びマススペクトル図等を次に示す。

Compound name: 4-*tert*-pentyl-phenol  
Coefficient of Determination: R<sup>2</sup> 0.999736  
Calibration curve: 0.173206 \* x  
Response type: Internal Std (RefS), Area \* (IS Conc./IS Area)  
Curve type: Linear, Origin: Force, Weighing: Null, Axis trans: None

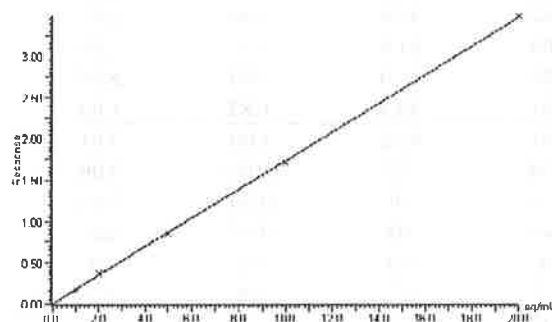


図3-1 4-*tert*-ペンチルフェノールの検量線  
検量線  
(1~20 ng/mL)

Compound name: 4-*n*-pentyl-phenol  
Coefficient of Determination: R<sup>2</sup> 0.999741  
Calibration curve: 0.156448 \* x  
Response type: Internal Std (RefS), Area \* (IS Conc./IS Area)  
Curve type: Linear, Origin: Force, Weighing: Null, Axis trans: None

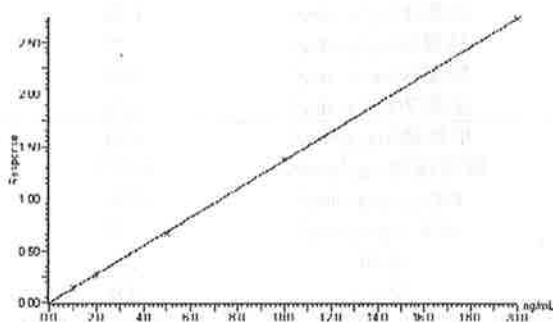


図3-2 4-*n*-ペンチルフェノールの  
(1~20 ng/mL)

Compound name: 6-*tert*-butyl-*o*-cresol  
 Calibration/Determination: R<sup>2</sup>: 0.9947/0.99  
 Calibration curve: 8.02656 \* x  
 Response type: Internal Std (Ref5), Area \* (IS Conc./IS Area)  
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighing: Null, Axis: Force: None

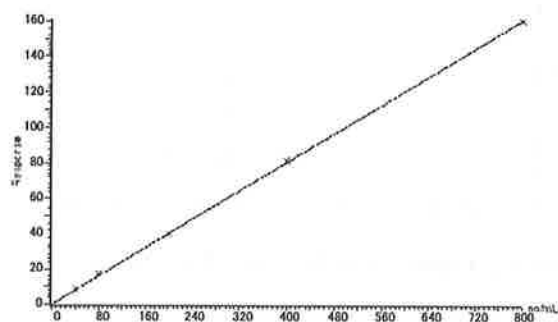


図3-3 6-*tert*-ブチル-*o*-クレゾールの検量線  
 (40~800 ng/mL)

Compound name: 6-*tert*-butyl-*m*-cresol  
 Calibration/Determination: R<sup>2</sup>: 0.9947/0.99  
 Calibration curve: 0.143/16 \* x  
 Response type: Internal Std (Ref5), Area \* (IS Conc./IS Area)  
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighing: Null, Axis: Force: None

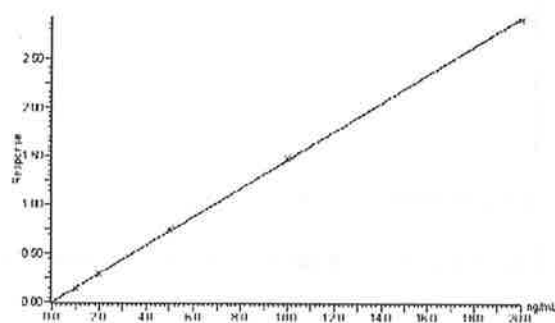


図3-4 6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾールの検量線  
 (1~20 ng/mL)

Compound name: 2-*tert*-butyl-*p*-cresol  
 Calibration/Determination: R<sup>2</sup>: 0.9947/0.99  
 Calibration curve: 0.143/16 \* x  
 Response type: Internal Std (Ref5), Area \* (IS Conc./IS Area)  
 Curve type: Linear, Origin: Force, Weighing: Null, Axis: Force: None

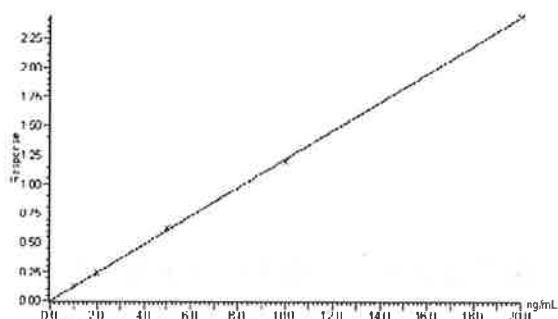


図3-5 2-*tert*-ブチル-*p*-クレゾールの検量線  
 (1~20 ng/mL)

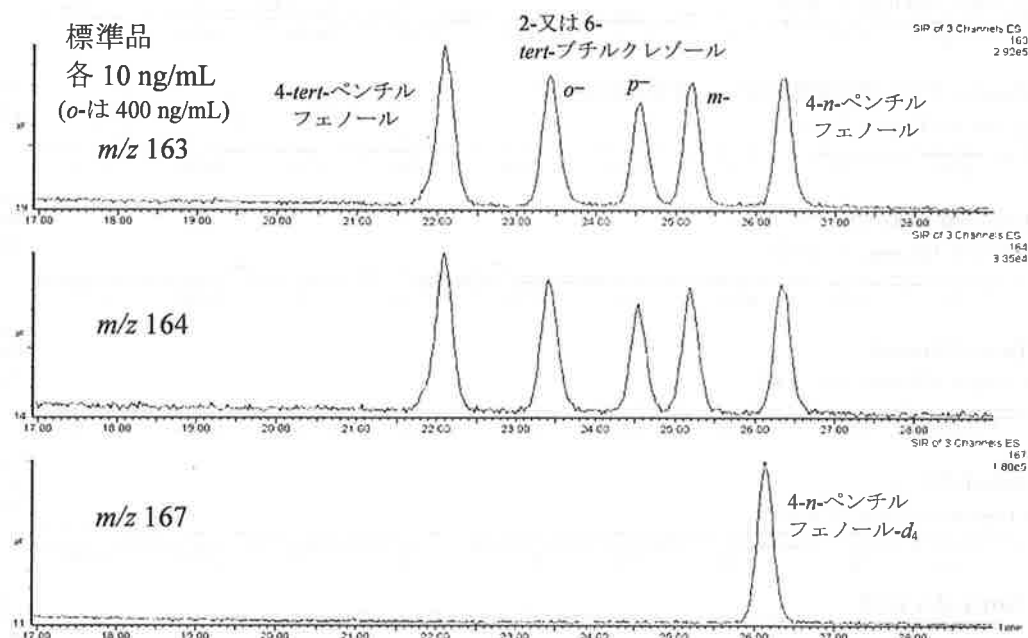


図4-1 標準品のクロマトグラム (注18)

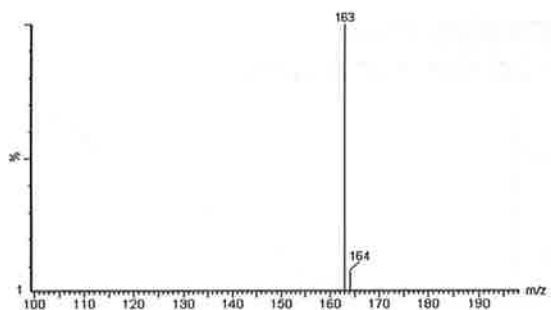


図4-2-1 6-tert-ブチル-*m*-クレゾールのマススペクトル

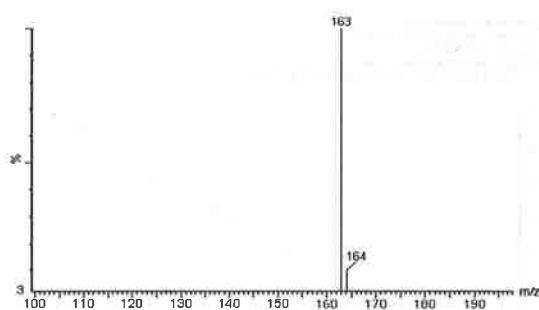


図4-2-2 4-tert-ブチルフェノールのマススペクトル

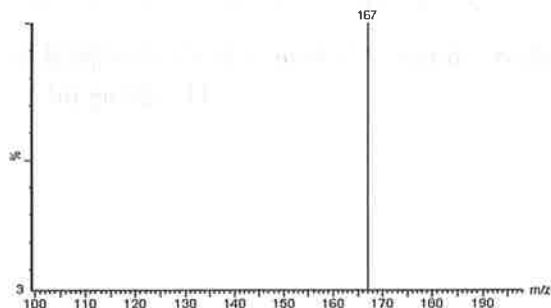


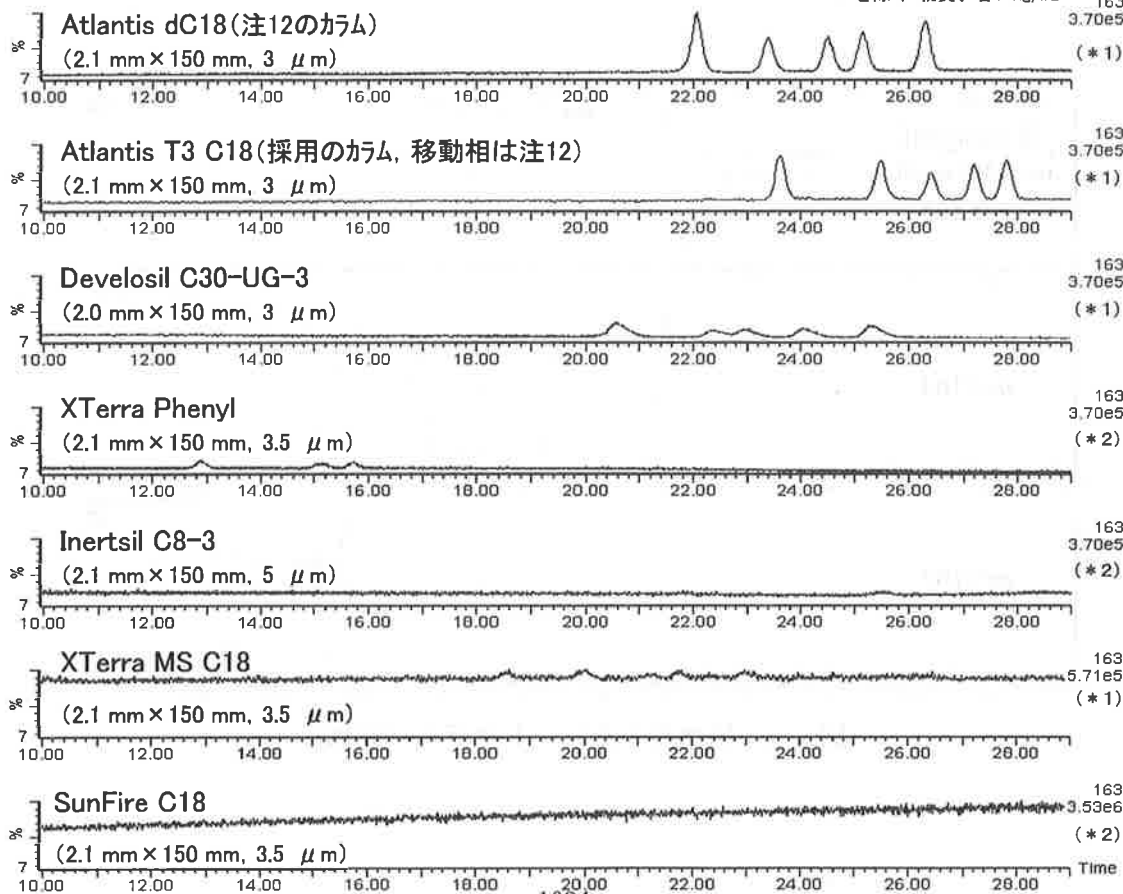
図4-2-3 4-*n*-ブチルフェノール-*d*<sub>4</sub>のマススペクトル

#### [LCカラムの検討]

ODS系カラムの Atlantis dC18 及び T3 C18 ではシャープなピークとなったが、C30、C8、Phenyl ではブロードとなり、ODS系カラムでも XTerraMS 及び SunFire ではピークと比較してカラムバックが高かった。

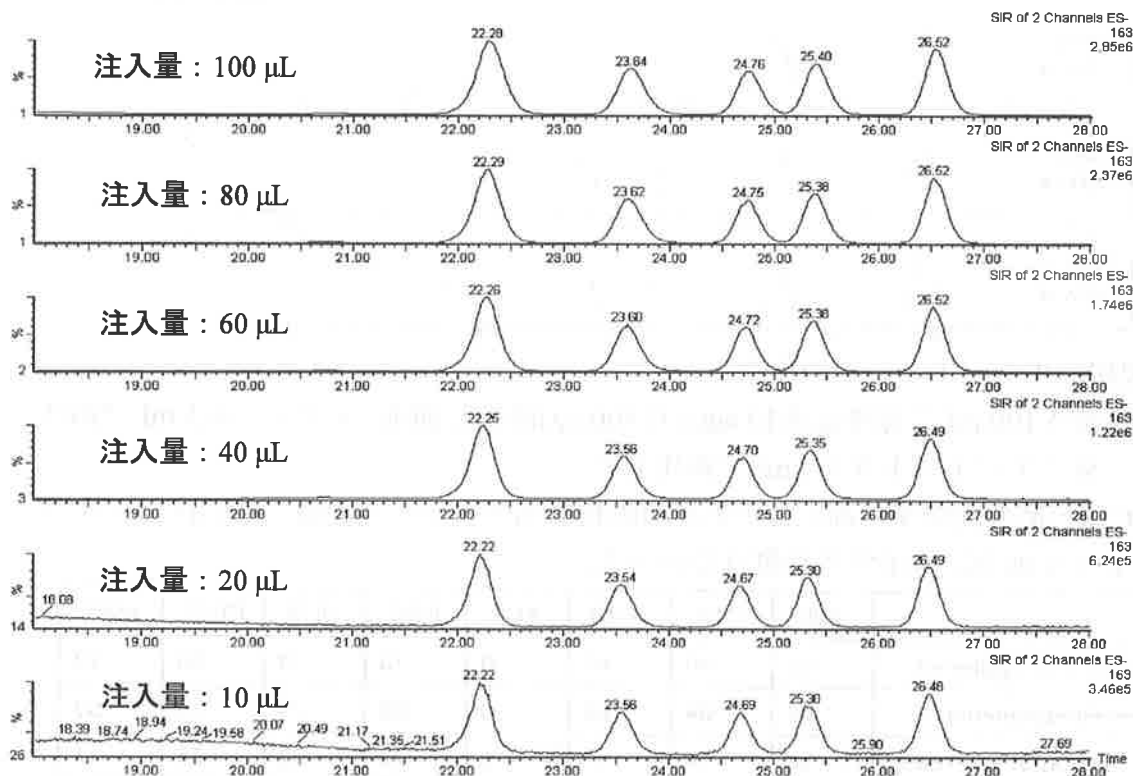
\* 1 : 5物質、各10ng/mL、o-は400ng/mL

\* 2 : o-を除く4物質、各10ng/mL



### 〔試料注入量の検討〕

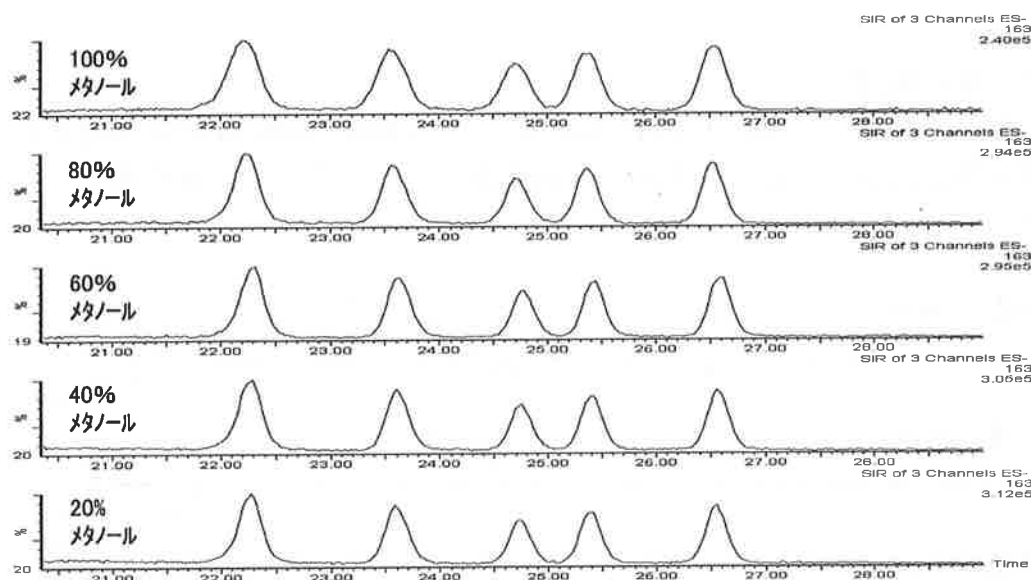
注入溶媒をメタノール/水(1:1 v/v)とした場合は、10  $\mu$ L~100  $\mu$ Lの注入量でピーク形状の変化は見られなかったので、感度が不足した時に注入量を増やすことが可能である。



### 〔注入液のメタノール濃度の検討〕

メタノール濃度が上がるにつれピーク幅がやや広がる傾向が見られたが、ピーク形状が崩れたり、感度に影響することはなかった。(注入量10  $\mu$ L)

底質試料では、メタノール/水(1:1 v/v)では溶解できない成分があったので、試料液をメタノール溶液とした。



#### [固相抽出カートリッジの検討]

精製水100 mLに標準品各10 ng(*o*-は400 ng)添加し通水、メタノール5 mLで溶出後、更にアセトニトリル5 mLで溶出した。

C18が最も回収率が高く、いずれの固相でもメタノール5 mLで溶出し、アセトニトリル画分に溶出する物質はなかった。

|                                | C8 | C18 | tC18 | AC2 | PS2 | HLB | PLS3 | MAX |
|--------------------------------|----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|
| 4-tert-Pentylphenol            | 63 | 90  | 67   | 0   | 73  | 74  | 80   | 72  |
| 4-n-Pentylphenol               | 63 | 84  | 65   | 0   | 69  | 74  | 79   | 67  |
| 6-tert-butyl- <i>o</i> -cresol | 58 | 74  | 57   | 0   | 23  | 32  | 54   | 11  |
| 6-tert-butyl- <i>m</i> -cresol | 61 | 83  | 64   | 0   | 53  | 60  | 73   | 26  |
| 2-tert-butyl- <i>p</i> -cresol | 62 | 83  | 63   | 0   | 53  | 61  | 71   | 27  |

また、4-*n*-ペンチルフェノール-*d*<sub>4</sub>を用いた相対回収率は表のとおりで、サロゲートとして使用できると判断された。

|                                | 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール- <i>d</i> <sub>4</sub> をサロゲートに用いた相対回収率 |     |      |     |     |     |      |     |
|--------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|
|                                | C8                                                            | C18 | tC18 | AC2 | PS2 | HLB | PLS3 | MAX |
| 4-tert-Pentylphenol            | 96                                                            | 103 | 97   | —   | 102 | 98  | 101  | 106 |
| 4-n-Pentylphenol               | 96                                                            | 96  | 94   | —   | 97  | 99  | 99   | 99  |
| 6-tert-butyl- <i>o</i> -cresol | 88                                                            | 85  | 82   | —   | 33  | 42  | 68   | 16  |
| 6-tert-butyl- <i>m</i> -cresol | 93                                                            | 95  | 92   | —   | 74  | 80  | 91   | 39  |
| 2-tert-butyl- <i>p</i> -cresol | 94                                                            | 96  | 91   | —   | 75  | 82  | 89   | 40  |

#### [メタノール／ヘキサン分配の検討]

ヘキサン層への分配はわずかであった。

|               | 4- <i>t</i> -ペンチル<br>フェノール | 6- <i>t</i> -ブチル-<br><i>o</i> -クレゾール | 2- <i>t</i> -ブチル-<br><i>p</i> -クレゾール | 6- <i>t</i> -ブチル-<br><i>m</i> -クレゾール | 4- <i>n</i> -ペンチル<br>フェノール |
|---------------|----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| ヘキサン層への分配率(%) | 1.7                        | 3.2                                  | 2.5                                  | 1.7                                  | 1.7                        |

(メタノール60 mL、精製水5 mL(試料の含水相当)、メタノール飽和ヘキサン20 mLを加え振とう。)

# [液々抽出の検討]

ジクロロメタンの方がヘキサンよりも回収率が高かった。

|         | 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール | 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール | 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール | 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール | 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール |
|---------|------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| ジクロロメタン | 93                     | 78                                | 86                                | 84                                | 98                     |
| ヘキサン    | 77                     | 70                                | 84                                | 82                                | 89                     |

(精製水100 mL、ジクロロメタン又はヘキサン10 mL×1回で振とう抽出)

また、メタノールが含まれていた場合も、74～97%の回収率で抽出された。

|        | 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール | 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール | 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール | 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール | 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール |
|--------|------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------|
| 回収率(%) | 92                     | 74                                | 79                                | 85                                | 97                     |

(メタノール60 mL、5%塩化ナトリウム水溶液200 mL、ジクロロメタン50 mL×2回で振とう抽出)

# [カラムクリーンアップの検討]

各溶出溶媒5 mLずつを用いてイオン交換系カラムの溶出試験を行った。

## Sep-Pak Plus NH2

Sep-Pak Plus NH2カラムでは、6-*t*-ブチル-*o*-クレゾールは一部がヘキサン画分に溶出したが、ほとんどはジクロロメタン画分に溶出した。

| 物質名                               | ヘキサン | ジクロロメタン | アセトン | メタノール | 合計  |
|-----------------------------------|------|---------|------|-------|-----|
| 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール            |      | 97      |      |       | 97  |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール | 27   | 61      |      |       | 88  |
| 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール |      | 100     |      |       | 100 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール |      | 97      |      |       | 97  |
| 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール            |      | 101     |      |       | 101 |

(標準品10 ng (*o*-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

## BOND ELUT Jr NH2 (500 mg)

カラムでは、ペンチルフェノール類は一部がアセトン画分に溶出し、Waters製品よりも吸着力が強かった。

## BOND ELUT Jr NH2

| 物質名                               | ヘキサン | ジクロロメタン | アセトン | メタノール | 合計  |
|-----------------------------------|------|---------|------|-------|-----|
| 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール            |      | 75      | 24   |       | 100 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール |      | 88      |      |       | 88  |
| 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール |      | 100     |      |       | 100 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール |      | 98      |      |       | 98  |
| 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール            |      | 74      | 26   |       | 100 |

(標準品10 ng (*o*-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

## BOND ELUT Jr PSA (500 mg)

カラムでは、*t*-ブチルクレゾール類はジクロロメタン画分に溶出したが、ペンチルフェノール類は一部がアセトン画分に溶出した。

## BOND ELUT Jr PSA

| 物質名                               | ヘキサン | ジクロロメタン | アセトン | メタノール | 合計  |
|-----------------------------------|------|---------|------|-------|-----|
| 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール            |      | 85      | 16   |       | 100 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール |      | 87      |      |       | 87  |
| 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール |      | 97      |      |       | 97  |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール |      | 93      |      |       | 93  |
| 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール            |      | 81      | 17   |       | 98  |

(標準品10 ng (*o*-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

BOND ELUT Jr SAX (500 mg)カラムでは、全ての物質がジクロロメタン画分に溶出した。

BOND ELUT Jr SAX

| 物質名                | ヘキサン | ジクロロメタン | アセトン | メタノール | 合計 |
|--------------------|------|---------|------|-------|----|
| 4-tert-ペンチルフェノール   |      | 88      |      |       | 88 |
| 6-tert-ブチル-o-クレゾール |      | 82      |      |       | 82 |
| 2-tert-ブチル-p-クレゾール |      | 87      |      |       | 87 |
| 6-tert-ブチル-m-クレゾール |      | 87      |      |       | 87 |
| 4-n-ペンチルフェノール      |      | 98      |      |       | 98 |

(標準品10 ng(o-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

BOND ELUT Jr SAX (500 mg)でジクロロメタン/ヘキサンで溶出した場合、物質によって溶出する画分が異なった。

BOND ELUT Jr SAX (ジクロロメタン/ヘキサン)

| 物質名                | ヘキサン | 10%<br>ジクロロメタン | 20%<br>ジクロロメタン | 50%<br>ジクロロメタン | 100%<br>ジクロロメタン | 合計 |
|--------------------|------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----|
| 4-tert-ペンチルフェノール   |      |                |                | 48             | 47              | 95 |
| 6-tert-ブチル-o-クレゾール |      | 69             |                |                |                 | 69 |
| 2-tert-ブチル-p-クレゾール |      |                |                | 83             |                 | 83 |
| 6-tert-ブチル-m-クレゾール |      |                | 10             | 74             |                 | 84 |
| 4-n-ペンチルフェノール      |      |                |                | 42             | 54              | 96 |

(標準品10 ng(o-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

BOND ELUT Jr SAX (500 mg)でアセトン/ヘキサンで溶出した場合、大部分は10%アセトン/ヘキサン画分に溶出した。

BOND ELUT Jr SAX (アセトン/ヘキサン)

| 物質名                | ヘキサン | 10%<br>アセトン | 20%<br>アセトン | 50%<br>アセトン | 100%<br>アセトン | 合計 |
|--------------------|------|-------------|-------------|-------------|--------------|----|
| 4-tert-ペンチルフェノール   |      | 92          |             |             |              | 92 |
| 6-tert-ブチル-o-クレゾール |      | 71          |             |             |              | 71 |
| 2-tert-ブチル-p-クレゾール |      | 87          | 1           |             |              | 88 |
| 6-tert-ブチル-m-クレゾール |      | 87          | 1           |             |              | 88 |
| 4-n-ペンチルフェノール      |      | 93          |             |             |              | 93 |

(標準品10 ng(o-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

BOND ELUT Jr SAX(500 mg)は、第1分画であるヘキサン分画に溶出せず、10%アセトン含有ヘキサンまたはジクロロメタンで目的物質を溶出可能であった。また、カラムから溶出する妨害成分を予め20%アセトンヘキサン10 mLで洗浄し、更にヘキサン20 mLで洗浄することによりカラムの活性度を回復できる利点があった。溶離液として20%アセトン含有ヘキサン及びジクロロメタンが使用可能であったが、底質抽出液のクリーンアップ効果は20%アセトン含有ヘキサンを使用した場合の方がジクロロメタン溶出よりも着色物質の溶出が少なく、また、底質中の単体硫黄は第1分画(ヘキサン)に溶出した。なお、目的物質はSAXカラムから10%アセトン含有ヘキサンで溶出可能であったが、ロットにより溶出が遅くなる場合があったため、20%アセトン含有ヘキサン8 mLを溶離液とした。

BOND ELUT Jr SAX(500 mg)の溶離パターン(溶出が遅いロット)

10%アセトン/ヘキサンでの溶離パターン

|                    | ヘキサン<br>10mL | 10%アセトン<br>/ヘキサン<br>0-2mL | 10%アセトン<br>/ヘキサン<br>2-4mL | 10%アセトン<br>/ヘキサン<br>4-6mL | 10%アセトン<br>/ヘキサン<br>6-8mL | 10%アセトン<br>/ヘキサン<br>8-10mL | 合計 |
|--------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----|
| 4-tert-ペンチルフェノール   |              |                           |                           |                           | 6                         | 24                         | 31 |
| 6-tert-ブチル-o-クレゾール |              | 11                        | 45                        |                           |                           |                            | 56 |
| 2-tert-ブチル-p-クレゾール |              |                           | 2                         | 54                        | 35                        |                            | 91 |
| 6-tert-ブチル-m-クレゾール |              |                           | 2                         | 63                        | 25                        |                            | 90 |
| 4-n-ペンチルフェノール      |              |                           |                           |                           | 3                         | 28                         | 31 |

20%アセトン/ヘキサンでの溶離パターン

|                    | ヘキサン<br>10mL | 20%アセトン<br>/ヘキサン<br>0-2mL | 20%アセトン<br>/ヘキサン<br>2-4mL | 20%アセトン<br>/ヘキサン<br>4-6mL | 20%アセトン<br>/ヘキサン<br>6-8mL | 20%アセトン<br>/ヘキサン<br>8-10mL | 合計 |
|--------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----|
| 4-tert-ペンチルフェノール   |              |                           | 57                        | 23                        | 1                         |                            | 82 |
| 6-tert-ブチル-o-クレゾール |              | 63                        |                           |                           |                           |                            | 63 |
| 2-tert-ブチル-p-クレゾール |              | 32                        | 51                        |                           |                           |                            | 83 |
| 6-tert-ブチル-m-クレゾール |              | 37                        | 46                        |                           |                           |                            | 83 |
| 4-n-ペンチルフェノール      |              |                           | 64                        | 27                        | 3                         |                            | 94 |

ジクロロメタンでの溶離パターン

|                    | ヘキサン<br>10mL | ジクロロ<br>メタン<br>0-2mL | ジクロロ<br>メタン<br>2-4mL | ジクロロ<br>メタン<br>4-6mL | ジクロロ<br>メタン<br>6-8mL | ジクロロ<br>メタン<br>8-10mL | 合計 |
|--------------------|--------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----|
| 4-tert-ペンチルフェノール   |              |                      | 15                   | 48                   | 20                   | 1                     | 84 |
| 6-tert-ブチル-o-クレゾール |              | 72                   |                      |                      |                      |                       | 72 |
| 2-tert-ブチル-p-クレゾール |              |                      | 72                   | 3                    |                      |                       | 76 |
| 6-tert-ブチル-m-クレゾール |              |                      | 77                   |                      |                      |                       | 77 |
| 4-n-ペンチルフェノール      |              |                      | 4                    | 61                   | 25                   | 2                     | 91 |

汚濁の著しい底質試料では、SAXカラム処理のみでは第2分画が着色すること、また、SAXカラムへの負荷量の削減を目的に、グラファイトカーボン系カラムによるクリーンアップを検討した。当初、ENVI-Carb (0.25 g)を検討したが、カラムから妨害物質が溶出したため、ENVI-Carb C (1 g/12 mL)を採用した。なお、ENVI-Carb/NH<sub>2</sub>、ENVI-Carb/PSA等のカラムについても検討したが、溶出速度が遅く、6-tert-ブチル-o-クレゾールの回収率が低いなどの欠点があり、採用しなかった。

各溶出溶媒5 mLずつを用いてグラファイトカーボン系カラムの溶出試験を行った。

ENVI-Carb(0.25 g)カラムでは、4-*n*-ペンチルフェノールはジクロロメタン画分に、その他の物質ヘキサン画分とジクロロメタン画分の両方に溶出した。

ENVI-Carb

| 物質名                               | ヘキサン | ジクロロメタン | アセトン | ベンゼン | 合計 |
|-----------------------------------|------|---------|------|------|----|
| 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール            | 72   | 20      |      |      | 91 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール | 39   | 9       |      |      | 48 |
| 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール | 62   | 13      |      |      | 76 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール | 61   | 8       |      |      | 70 |
| 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール            |      | 96      |      |      | 96 |

(標準品10 ng(*o*-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

ENVI-Carb C(1 g)カラムでは、4-*n*-ペンチルフェノールはジクロロメタン画分に、その他の物質はヘキサン画分に溶出したが、いずれの物質も次の画分に残った。

ENVI-Carb C

| 物質名                               | ヘキサン | ジクロロメタン | アセトン | ベンゼン | 合計 |
|-----------------------------------|------|---------|------|------|----|
| 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール            | 87   | 6       |      |      | 93 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール | 69   | 3       |      |      | 72 |
| 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール | 81   | 7       |      |      | 87 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール | 80   | 4       |      |      | 83 |
| 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール            |      | 95      | 3    |      | 98 |

(標準品10 ng(*o*-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

ENVI-Carb でアセトン/ヘキサンで溶出した場合、ヘキサン又は10%アセトン/ヘキサン画分に溶出した。

ENVI-Carb (アセトン/ヘキサン)

| 物質名                               | ヘキサン | 10%アセトン | 20%アセトン | 50%アセトン | 100%アセトン | 合計  |
|-----------------------------------|------|---------|---------|---------|----------|-----|
| 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール            | 92   | 11      |         |         |          | 103 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール | 80   |         |         |         |          | 80  |
| 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール | 113  |         |         |         |          | 113 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール | 100  |         |         |         |          | 100 |
| 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール            |      | 90      |         |         |          | 90  |

(標準品10ng(*o*-は400ng)負荷し、各溶出溶媒5mLずつで順に溶出)

ENVI-Carb C (1 g)カラムは、ENVI-Carbと類似の溶離パターンで、10%アセトン/ヘキサン5 mLで溶出でき、妨害物質の溶出も無かった。

ENVI-Carb C (10%アセトン/ヘキサン)

|                                   | 10%アセトン/ヘキサン |        |         | 合計 |
|-----------------------------------|--------------|--------|---------|----|
|                                   | 0-5mL        | 5-10mL | 10-15mL |    |
| 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール            | 99           |        |         | 99 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール | 77           |        |         | 77 |
| 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール | 98           |        |         | 98 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール | 87           |        |         | 87 |
| 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール            | 91           |        |         | 91 |

(標準品10 ng(*o*-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

ENVI-Carb / NH<sub>2</sub>でアセトン/ヘキサンで溶出した場合、10%及び20%アセトン/ヘキサン画分に溶出した。

ENVI-Carb / NH<sub>2</sub>

| 物質名                               | ヘキサン | 10%アセトン | 20%アセトン | 50%アセトン | 100%アセトン | 合計 |
|-----------------------------------|------|---------|---------|---------|----------|----|
| 4- <i>t</i> -ペンチルフェノール            |      | 42      | 36      |         |          | 77 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>o</i> -クレゾール |      | 47      |         |         |          | 47 |
| 2- <i>t</i> -ブチル- <i>p</i> -クレゾール |      | 99      |         |         |          | 99 |
| 6- <i>t</i> -ブチル- <i>m</i> -クレゾール |      | 98      |         |         |          | 98 |
| 4- <i>n</i> -ペンチルフェノール            |      | 8       | 87      |         |          | 95 |

(標準品10 ng(*o*-は400 ng)負荷し、各溶出溶媒5 mLずつで順に溶出)

[添加回収実験結果]

海水(瀬戸内海, 岡山県水島沖)、海底泥(水島沖及び東京湾)への標準物質添加回収実験結果を表3-1～表3-3に示す。

表3-1 添加回収実験結果(海水)

| 試料名 | 物質名                   | 試料量<br>(mL) | 添加量<br>(ng) | 測定<br>回数 | 絶対検量線法             |            |                 | サロゲート法             |            |                 |
|-----|-----------------------|-------------|-------------|----------|--------------------|------------|-----------------|--------------------|------------|-----------------|
|     |                       |             |             |          | 検出<br>濃度<br>(ng/L) | 回収率<br>(%) | 変動<br>係数<br>(%) | 検出<br>濃度<br>(ng/L) | 回収率<br>(%) | 変動<br>係数<br>(%) |
| 海水  | 4-tert-Pentyl-phenol  | 500         | 無添加         | 2        | ND                 | —          | —               | ND                 | —          | —               |
|     |                       | 500         | 2           | 7        | 3.1                | 78         | 8.3             | 3.6                | 90         | 8.1             |
|     |                       | 500         | 10          | 2        | 15                 | 76         | 1               | 21                 | 105        | 1               |
|     | 4-n-Pentyl-phenol     | 500         | 無添加         | 2        | ND                 | —          | —               | ND                 | —          | —               |
|     |                       | 500         | 2           | 7        | 3.5                | 86         | 6.8             | 4.0                | 100        | 6.5             |
|     |                       | 500         | 10          | 2        | 14                 | 71         | 1               | 20                 | 98         | 1               |
|     | 6-tert-Butyl-o-cresol | 500         | 無添加         | 2        | ND                 | —          | —               | ND                 | —          | —               |
|     |                       | 500         | 80          | 7        | 110                | 69         | 14              | 130                | 83         | 12              |
|     |                       | 500         | 400         | 2        | 580                | 73         | 4               | 810                | 101        | 4               |
|     | 6-tert-Butyl-m-cresol | 500         | 無添加         | 2        | ND                 | —          | —               | ND                 | —          | —               |
|     |                       | 500         | 2           | 7        | 4.5                | 112        | 13              | 5.2                | 130        | 9.4             |
|     |                       | 500         | 10          | 2        | 13                 | 64         | 2               | 18                 | 88         | 2               |
|     | 2-tert-Butyl-p-cresol | 500         | 無添加         | 2        | ND                 | —          | —               | ND                 | —          | —               |
|     |                       | 500         | 2           | 7        | 4.0                | 100        | 11              | 4.7                | 118        | 10              |
|     |                       | 500         | 10          | 2        | 13                 | 65         | 4               | 18                 | 90         | 4               |

表3-2 添加回収実験結果(海底泥・水島沖)

| 試料名          | 物質名                   | 試料量<br>(g-dry) | 添加量<br>(ng) | 測定<br>回数 | 絶対検量線法                 |            |                 | サロゲート法                 |            |                 |
|--------------|-----------------------|----------------|-------------|----------|------------------------|------------|-----------------|------------------------|------------|-----------------|
|              |                       |                |             |          | 検出<br>濃度<br>(ng/g-dry) | 回収率<br>(%) | 変動<br>係数<br>(%) | 検出<br>濃度<br>(ng/g-dry) | 回収率<br>(%) | 変動<br>係数<br>(%) |
| 海底泥<br>(水島沖) | 4-tert-Pentyl-phenol  | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 10          | 7        | 1.76                   | 88         | 5.5             | 1.83                   | 92         | 3.5             |
|              | 4-n-Pentyl-phenol     | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 10          | 7        | 1.83                   | 92         | 4.7             | 1.91                   | 96         | 2.2             |
|              | 6-tert-Butyl-o-cresol | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 400         | 7        | 46.1                   | 58         | 12              | 48.0                   | 60         | 8.7             |
|              | 6-tert-Butyl-m-cresol | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 10          | 7        | 1.79                   | 89         | 6.3             | 1.86                   | 93         | 3.6             |
|              | 2-tert-Butyl-p-cresol | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 10          | 7        | 1.93                   | 96         | 5.0             | 2.01                   | 101        | 3.2             |

表 3 - 3 添加回収実験結果 (海底泥・東京湾)

| 試料名          | 物質名                   | 試料量<br>(g-dry) | 添加量<br>(ng) | 測定<br>回数 | 絶対検量線法                 |            |                 | サロゲート法                 |            |                 |
|--------------|-----------------------|----------------|-------------|----------|------------------------|------------|-----------------|------------------------|------------|-----------------|
|              |                       |                |             |          | 検出<br>濃度<br>(ng/g-dry) | 回収率<br>(%) | 変動<br>係数<br>(%) | 検出<br>濃度<br>(ng/g-dry) | 回収率<br>(%) | 変動<br>係数<br>(%) |
| 海底泥<br>(東京湾) | 4-tert-Pentyl-phenol  | 5              | 無添加         | 2        | 0.76                   | —          | 2.2             | 0.80                   | —          | 1.9             |
|              |                       | 5              | 20          | 4        | 4.45                   | 92         | 3.8             | 4.68                   | 97         | 2.7             |
|              | 4-n-Pentyl-phenol     | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 20          | 4        | 3.61                   | 90         | 2.2             | 3.80                   | 95         | 1.9             |
|              | 6-tert-Butyl-o-cresol | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 800         | 4        | 170                    | 106        | 8.9             | 179                    | 112        | 6.9             |
|              | 6-tert-Butyl-m-cresol | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 20          | 4        | 3.75                   | 94         | 2.5             | 3.95                   | 99         | 2.0             |
|              | 2-tert-Butyl-p-cresol | 5              | 無添加         | 2        | ND                     | —          | —               | ND                     | —          | —               |
|              |                       | 5              | 20          | 4        | 3.73                   | 93         | 1.9             | 3.92                   | 98         | 1.8             |

[分解性スクリーニング試験結果]

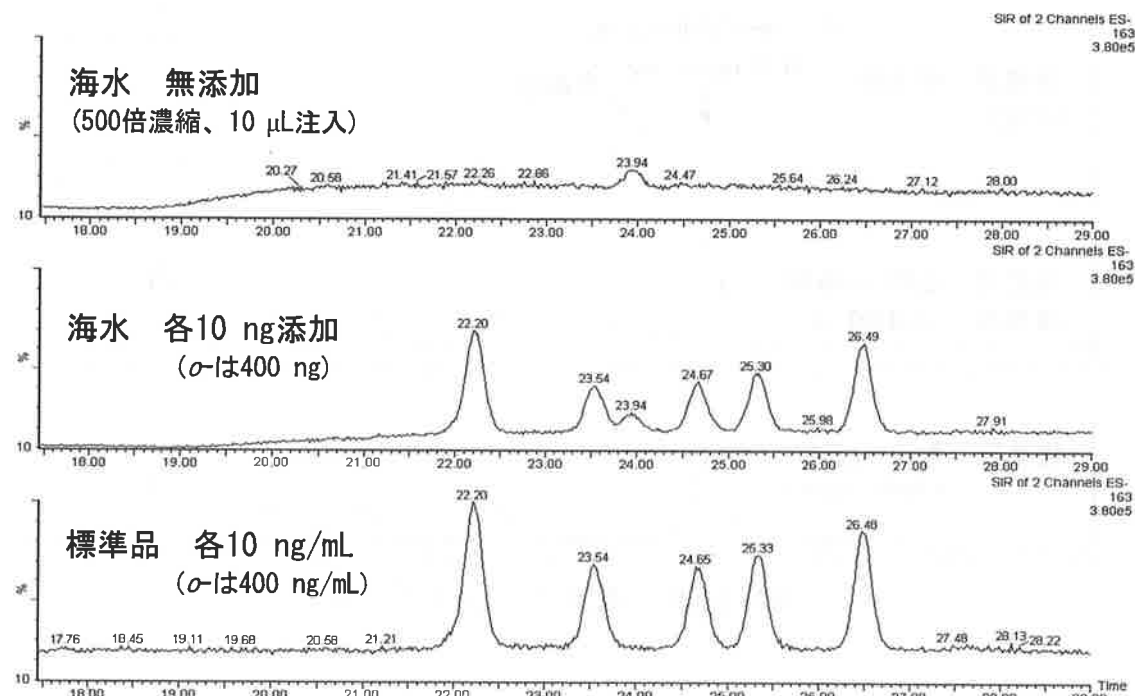
分解性スクリーニング試験結果を表 4 に示す。

表 4 分解性スクリーニング試験

| 物質名                    | pH | 初期濃度<br>( $\mu$ g/L) | 1時間後の<br>残存率(%) | 5日後の残存率 |       |
|------------------------|----|----------------------|-----------------|---------|-------|
|                        |    |                      |                 | 暗所(%)   | 明所(%) |
| 6-tert-ブチル-<br>m-クレゾール | 5  | 0.1                  | 100             | 87      | —     |
|                        | 7  | 0.1                  | 100             | 83      | 66    |
|                        | 9  | 0.1                  | 100             | 82      | —     |
| 6-tert-ブチル-<br>o-クレゾール | 5  | 4                    | 100             | 86      | —     |
|                        | 7  | 4                    | 100             | 85      | 61    |
|                        | 9  | 4                    | 100             | 81      | —     |
| 2-tert-ブチル-<br>p-クレゾール | 5  | 0.1                  | 100             | 90      | —     |
|                        | 7  | 0.1                  | 100             | 87      | 71    |
|                        | 9  | 0.1                  | 100             | 79      | —     |
| 4-tert-ペンチル<br>フェノール   | 5  | 0.1                  | 100             | 91      | —     |
|                        | 7  | 0.1                  | 100             | 84      | 81    |
|                        | 9  | 0.1                  | 100             | 73      | —     |
| 4-n-ペンチル<br>フェノール      | 5  | 0.1                  | 100             | 87      | —     |
|                        | 7  | 0.1                  | 100             | 77      | 68    |
|                        | 9  | 0.1                  | 100             | 75      | —     |

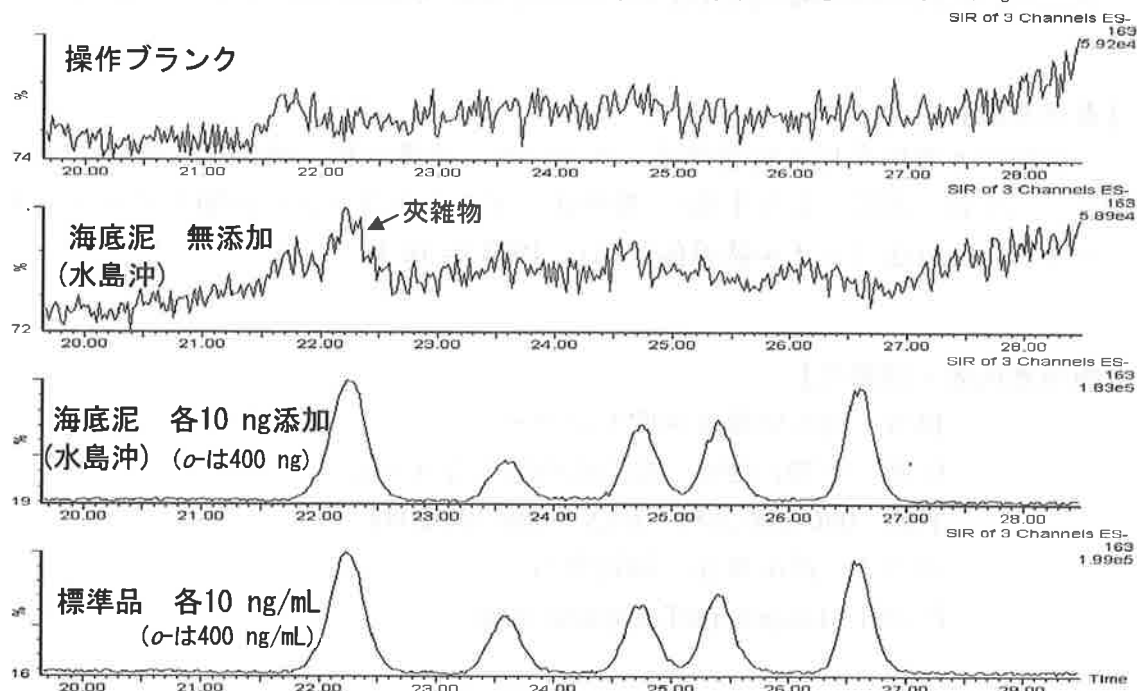
[環境試料の分析例]

海水(瀬戸内海、岡山県水島沖)からは検出されなかった。



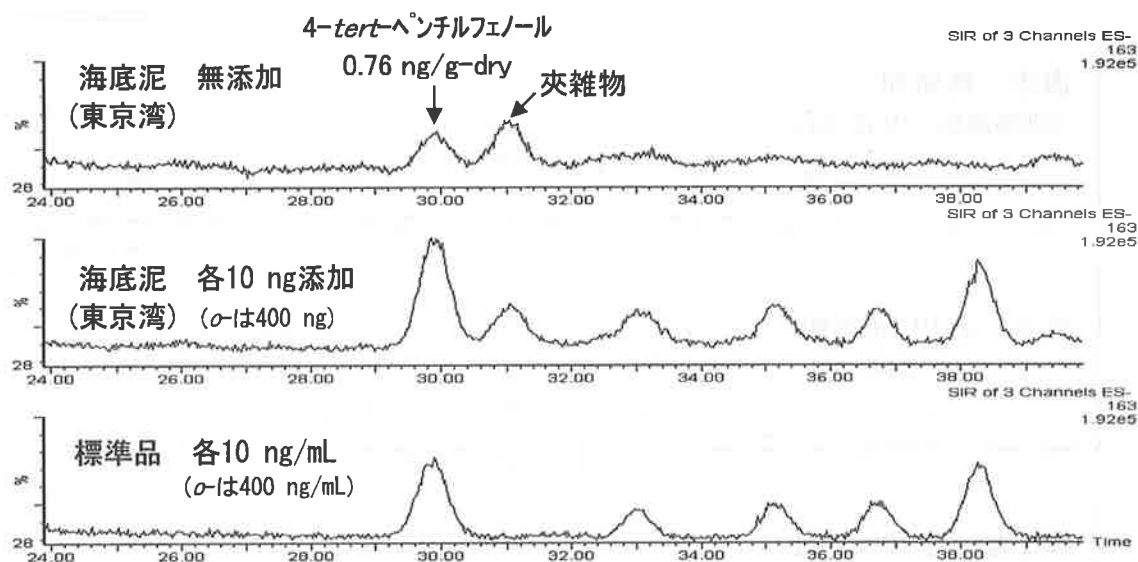
海水(水島沖)のクロマトグラム (注18)

海底泥(瀬戸内海、岡山県水島沖)から、(注12)の条件では4-*tert*-ペンチルフェノールと考えられるMD Lの半分程度の痕跡が見られたが、カラムと移動相を変更した新しい条件で確認したところ対象物質とは異なるものであった。



海底泥(水島沖)のクロマトグラム (注18)

海底泥(東京湾)から、4-*tert*-ペンチルフェノールが検出された。  
(カラム及び移動相を変更し、夾雑物とピーク分離(【測定】欄の条件))



海底泥(東京湾)のクロマトグラム

#### 【評価】

本法により、4-*tert*-ペンチルフェノール、4-*n*-ペンチルフェノール、6-*tert*-ブチル-*m*-クレゾール及び2-*tert*-ブチル-*p*-クレゾールを水試料で5 ng/Lレベル、底質試料で1 ng/g-dryレベルで、6-*tert*-ブチル-*o*-クレゾールを水試料で200 ng/Lレベル、底質試料で40 ng/g-dryレベルで定量が可能である。

#### 【参考文献】

環境庁水質保全局水質管理課：外因性内分泌攪乱化学物質調査暫定マニュアル(水質、底質、水生生物)、参考法：アルキルフェノール類とビスフェノールAの分析法(エチル誘導体化法)、1998年10月

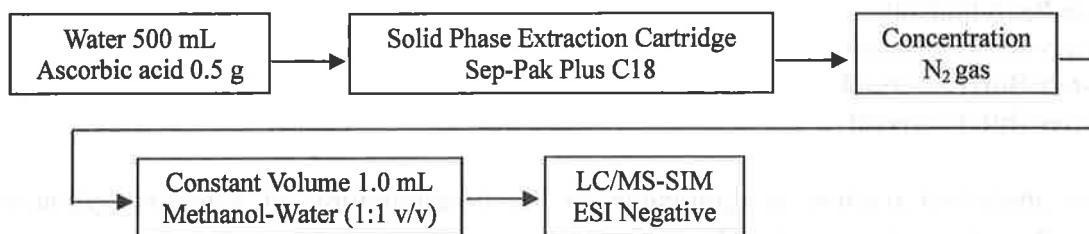
#### 【担当者氏名・連絡先】

担当 岡山県環境保健センター  
住所 〒701-0298 岡山市内尾739-1  
TEL : 086-298-2681 FAX : 086-298-2088  
担当者 浦山豊弘、劔持堅志  
E-mail : kanpo@pref.okayama.lg.jp

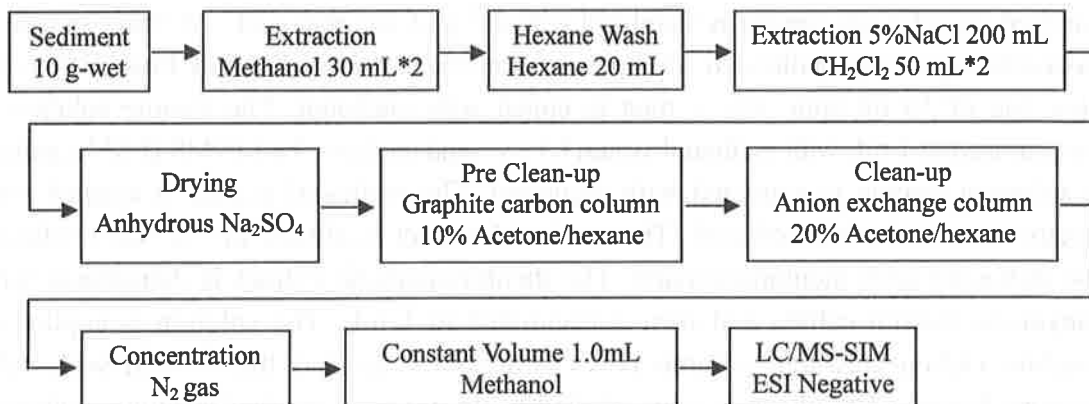
**4-*tert*-Pentylphenol**  
**4-*n*-Pentylphenol**  
**6-*tert*-Butyl-*o*-cresol**  
**6-*tert*-Butyl-*m*-cresol**  
**2-*tert*-Butyl-*p*-cresol**

An analytical method is applicable to the determination of 4-*tert*-pentylphenol, 4-*n*-Pentylphenol, 6-*tert*-butyl-*o*-cresol, 6-*tert*-butyl-*m*-cresol and 2-*tert*-butyl-*p*-cresol in water and sediment by liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS). Five hundred mL of water sample is stabilized with 0.5 g of ascorbic acid. A water sample is passed through a preconditioned solid phase extraction cartridge (Sep-Pak Plus C18) at the flow rate of 10 mL/min. The extract is eluted with methanol. The sample solution is concentrated to 1 mL with methanol-water(1:1v/v), and analyzed by LC/MS (ESI Negative). A sediment sample is extracted with methanol. The methanol extract is washed with hexane saturated with methanol. The methanol extract is diluted to 5% NaCl solution and extracted with dichloromethane. The dichloromethane extract is dehydrated with anhydrous sodium sulfate and then concentrated to 1 mL. The solution is applied to graphite carbon cartridge column (ENVI-Carb C, 1 g) and then eluted with 10% Acetone/hexane. The eluate is concentrated to dryness and applied to anion exchange cartridge column (SAX, 500 mg). The column is washed with 10 mL of hexane and then eluted with 8 mL of 20% acetone/hexane. The eluate is concentrated to 1 mL with methanol, and analyzed by LC/MS (ESI Negative). The recoveries and method detection limits (MDL) of 4-*tert*-pentylphenol, 4-*n*-pentylphenol, 6-*tert*-butyl-*o*-cresol, 6-*tert*-butyl-*m*-cresol, 2-*tert*-butyl-*p*-cresol from surface water samples are 76-78, 71-86, 69-73, 64-112, 65-100% and 1.1, 1.0, 63, 1.9, 1.9 ng/L. And those from sediment samples were 88-92, 90-92, 58-106, 89-94, 93-96% and 0.28, 0.16, 16, 0.26, 0.25 ng/L.

### Water sample



### Sediment sample



| 物質名                                                                                                                                                                  | 分析法フローチャート                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 備考                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4- <i>tert</i> -ペンチル<br>フェノール<br>4- <i>n</i> -ペンチル<br>フェノール<br>6- <i>tert</i> -ブチル-<br>o-クレゾール<br>6- <i>tert</i> -ブチル-<br>m-クレゾール<br>2- <i>tert</i> -ブチル-<br>p-クレゾール | <p>水質：</p> <pre>           graph LR             A[試料 500 mL] --&gt; B[抽出]             B --&gt; C[溶出]             C --&gt; D[濃縮]             D --&gt; E[定容]             E --&gt; F[LC/MS]           </pre> <p>アスコルビン酸 0.5 g      固相カートリッジ      メタノール 5 mL<br/>Sep-Pak Plus C18</p> <p>濃縮: N<sub>2</sub>ガス      定容: 1 mL      LC/MS: ESI-</p> <p>底質：</p> <pre>           graph LR             G[試料 10 g-wet] --&gt; H[抽出]             H --&gt; I[メタノール/ヘキサン分配]             I --&gt; J[液々抽出]             J --&gt; K[脱水]             K --&gt; L[濃縮]             L --&gt; M[グラファイトカーボンカラム]             M --&gt; N[陰イオン交換カラム]             N --&gt; O[濃縮]             O --&gt; P[定容]             P --&gt; Q[LC/MS]           </pre> <p>抽出: メタノール 30 mL×2回      分配: メタノール飽和ヘキサン 20 mL</p> <p>液々抽出: 5%NaCl 200 mL      脱水: ジクロロメタン 50 mL×2回      濃縮: ENVI-Carb C, 1 g/12 mL      カラム: 10%アセトン/ヘキサン 5 mL</p> <p>陰イオン交換カラム: SAX, 500 mg      濃縮: 1st:ヘキサン 10 mL      定容: 2nd:20%アセトン/ヘキサン 8 mL      LC/MS: ESI-</p> | <p>LC/MS<br/>ESI-</p> <p>カラム<br/>Atlantis T3<br/>C18</p> <p>長さ<br/>150 mm</p> <p>内径<br/>2.1 mm φ</p> <p>粒径<br/>3 μm</p> <p>検出下限(MDL)<br/>&lt;水質&gt;</p> <p>4-<i>tert</i>-ペンチル<br/>フェノール<br/>1.1 ng/L</p> <p>4-<i>n</i>-ペンチル<br/>フェノール<br/>1.0 ng/L</p> <p>6-<i>tert</i>-ブチル-<br/>o-クレゾール<br/>63 ng/L</p> <p>6-<i>tert</i>-ブチル-<br/>m-クレゾール<br/>1.9 ng/L</p> <p>2-<i>tert</i>-ブチル-<br/>p-クレゾール<br/>1.9 ng/L</p> <p>&lt;底質&gt;</p> <p>4-<i>tert</i>-ペンチル<br/>フェノール<br/>0.28 ng/g-dry</p> <p>4-<i>n</i>-ペンチル<br/>フェノール<br/>0.16 ng/g-dry</p> <p>6-<i>tert</i>-ブチル-<br/>o-クレゾール<br/>16ng/g-dry</p> <p>6-<i>tert</i>-ブチル-<br/>m-クレゾール<br/>0.26 ng/g-dry</p> <p>2-<i>tert</i>-ブチル-<br/>p-クレゾール<br/>0.25 ng/g-dry</p> |