

4-クロロ-2-メチルフェノール

4-chloro-2-methylphenol

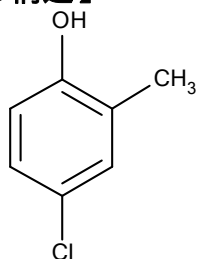
別名：4-chloro-o-cresol

同時分析：クロロメチルフェノール類

2-クロロ-4-メチルフェノール、2-クロロ-5-メチルフェノール、
2-クロロ-6-メチルフェノール、3-クロロ-2-メチルフェノール、
3-クロロ-4-メチルフェノール、4-クロロ-3-メチルフェノール、
5-クロロ-2-メチルフェノール

2-chloro-4-methylphenol、 2-chloro-5-methylphenol、
2-chloro-6-methylphenol、 3-chloro-2-methylphenol、
3-chloro-4-methylphenol、 4-chloro-3-methylphenol、
5-chloro-2-methylphenol

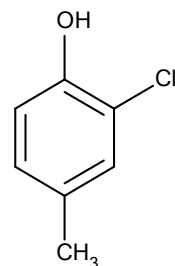
【対象物質の構造】



4-クロロ-2-メチルフェノール
(4C2MP)

CAS 番号：1570-64-5

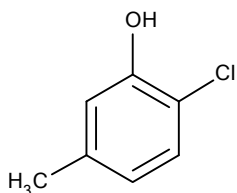
分子式：C₇H₇ClO



2-クロロ-4-メチルフェノール
(2C4MP)

CAS 番号：6640-27-3

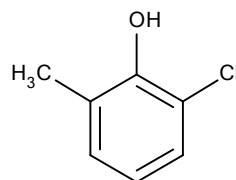
分子式：C₇H₇ClO



2-クロロ-5-メチルフェノール
(2C5MP)

CAS 番号：615-74-7

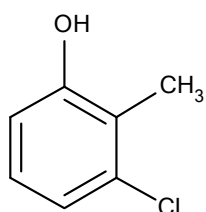
分子式：C₇H₇ClO



2-クロロ-6-メチルフェノール
(2C6MP)

CAS 番号：87-64-9

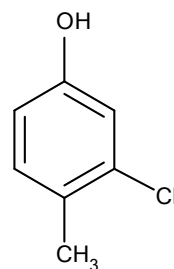
分子式：C₇H₇ClO



3-クロロ-2-メチルフェノール、
(3C2MP)

CAS 番号：3260-87-5

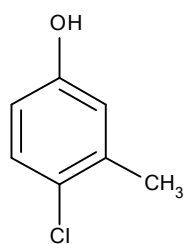
分子式：C₇H₇ClO



3-クロロ-4-メチルフェノール
(3C4MP)

CAS 番号：615-62-3

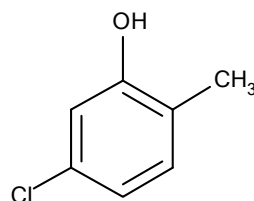
分子式：C₇H₇ClO



4-クロロ-3-メチルフェノール、
(4C3MP)

CAS 番号：59-50-7

分子式：C₇H₇ClO



5-クロロ-2-メチルフェノール、
(5C2MP)

CAS 番号：5306-98-9

分子式：C₇H₇ClO

【物理化学的性状】

物質名	分子量 ¹⁾ (モライ比例 の質量)	比重 ¹⁾ (g/cm ³)	沸点 ²⁾ (°C)	融点 ²⁾ (°C)	蒸気圧 ²⁾ (mmHg)	水溶解度 ²⁾ (mg/L)	log P _{ow} ²⁾
4C2MP	142.58 (142.01854)	1.2 (50°C)	223	51	0.024 (0.032 hPa)* (25°C)	4000 (25°C)	2.78
2C4MP	142.58 (142.01854)	-	195.5	-	-	-	-
2C5MP	142.58 (142.01854)	-	196	45.5	-	-	2.90
2C6MP	142.58 (142.01854)	-	189	-	-	2400 (25°C)	2.80
3C2MP	142.58 (142.01854)	-	225	86	-	-	-
3C4MP	142.58 (142.01854)	-	228	55.5	-	-	-
4C3MP	142.58 (142.01854)	-	235	67	0.05 (0.066 hPa)* (25°C)	3830 (25°C)	3.10
5C2MP	142.58 (142.01854)	-	-	-	-	-	2.63

*: 換算値 (1 mmHg = 1.33 hPa による)

【毒性、用途】

4-クロロ-2-メチルフェノール

[実験動物に対する急性毒性情報]

マウス (経口) LD₅₀ : 1320 mg/kg³⁾

マウス (静脈内注射) LD₅₀ : 56 mg/kg³⁾

[用途]

除草剤原料⁴⁾

出典

- 1) Lide, D.R.(ed), CRC Handbook of Chemistry and Physics 84th Edition
- 2) SRC PhysProp Database (<http://www.srcinc.com/>)
- 3) Hansch, C., A. Leo and D. Hoekman(1995): Exploring QSAR-Hydrophobic, Electronic and Steric Constants, American Chemical Society
- 4) 化学工業日報社

§ 1 分析法 (注1)

(1) 分析法の概要

水質試料に塩酸を加える。ジビニルベンゼン系の固相抽出カラムに通水後、アセトンで測定対象物質を溶出させる。溶出後、濃縮し、誘導體化(エチル化)を行い、シリンジスパイク内標準(以下、「内標準」という)を添加した後、GC/MS-SIM法により測定する。また、同時に、2-クロロ-4-メチルフェノール、2-クロロ-5-メチルフェノール、2-クロロ-6-メチルフェノール、3-クロロ-2-メチルフェノール、3-クロロ-4-メチルフェノール、4-クロロ-3-メチルフェノール、5-クロロ-2-メチルフェノールの分析も可能である(注2)。

(2) 試薬・器具 (注3)

【試薬】

4-chloro-2-methylphenol (4C2MP)	: Sigma-Aldrich 製 (純度 > 97.0%)
2-chloro-4-methylphenol (2C4MP)	: MATRIX SCIENTIFIC 製 (純度 > 97.0%)
2-chloro-5-methylphenol (2C5MP)	: 和光純薬工業製 (純度 > 98.0%)
2-chloro-6-methylphenol (2C6MP)	: Alfa Aesar 製 (純度 > 98.0%)
3-chloro-2-methylphenol (3C2MP)	: Fluorochem Ltd 製

3-chloro-4-methylphenol (3C4MP)	: Fluorochem Ltd 製
4-chloro-3-methylphenol (4C3MP)	: ワコーケミカル製 (純度 > 98.0%)
5-chloro-2-methylphenol (5C2MP)	: ワコーケミカル製 (純度 > 96.0%)
1,2,4,5-テトラクロロベンゼン - ¹³ C ₆	: CIL 製 (純度 > 99%)
アセトン	: 関東化学製 ダイオキシン用
ヘキサン	: 関東化学製 ダイオキシン用
ジクロロメタン	: 関東化学製 ダイオキシン用
エタノール(99.5)	: 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用
硫酸ナトリウム (無水)	: 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用
硫酸ジエチル	: 関東化学製 残留農薬試験・PCB 試験用
水酸化カリウム (粒状)	: 和光純薬工業製 試薬特級
1 mol/L 塩酸	: 和光純薬工業製 容量分析用
精製水	: Milli-Q 水をヘキサン洗浄したもの
固相カートリッジ	: Waters 製 OASIS HLB plus

【試薬の調製】

1 mol/L KOH/エタノール溶液：水酸化カリウム 5.6 g を精製水 5 mL に溶解する。そこへエタノール 95 mL を加えて調製する。

【標準液の調製】

〔標準液〕

クロロメチルフェノール類の標準品を正確に 10.0 mg 量り取り、アセトンで 10.0 mL として、それぞれ 1.00 mg/mL の標準原液を調製する。同時分析を行う場合は、それらを混合してアセトンで希釈し、5.00 µg/mL の標準混合液を調製する。

〔内標準液〕

1,2,4,5-テトラクロロベンゼン-¹³C₆ の標準品を正確に 5.0 mg 量り取り、ヘキサンで 10 mL として 500 µg/mL の内標準原液を調製する。この内標準原液をヘキサンで順次希釈し、10.0 µg/mL の内標準液を調製する。

〔検量線用検量線〕

混合標準液をアセトンで順次希釈し、2.00 ~ 100.0 ng/mL (低濃度領域) 50 ~ 1000 ng/mL (高濃度領域) の標準液を作成する。検量線用標準液を 1 mL 分

取し、【試料の前処理及び試験液の調製】に従い、誘導体化した後、内標準として1,2,4,5-テトラクロロベンゼン-¹³C₆を200 ng/mLになるように添加し、検量線用標準液とする。

【器具】

スクリーキャップ付き試験管 (10 mL)、注射筒 (20 mL)、ガラスビーカー (200 mL)、窒素ガス吹付濃縮装置 (Zymark 製ターボバップ LV)、試験管ミキサー (VORTEX Genius3) (誘導体化と抽出操作の際の攪拌用にあると望ましい)

(3) 分析法

【試料の採取及び保存等】

あらかじめアセトン、ヘキサンで洗浄し、十分に乾燥させたガラス瓶に試料を採取する。その他は、環境省「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成21年3月)に従う。また、保存性試験の結果に示したように、クロロメチルフェノール異性体の同時分析を行う場合は、試料採取後速やかに抽出操作を行わなければならない。

【試料の前処理及び試験液の調製】

水質試料 200 mL に 1 mol/L 塩酸を 1 mL 添加し、固相カートリッジ (OASIS HLB Plus) (注4) に 10 mL/min で試料を通水する。精製水 10 mL でカートリッジを洗浄し、高純度窒素ガスを 20 分間通気し、水分を十分に除去する (注5)。抽出用固相カートリッジをバックフラッシュでアセトン 5 mL で 1 秒間に 1 液程度で 10 mL スクリーキャップ付き試験管に対象物質を溶出させる。窒素気流下で 1 mL まで濃縮し、1 mol/L KOH/エタノール溶液 0.5 mL を加える。更に、誘導体化試薬 (硫酸ジエチル) 0.5 mL を加えた後、直ちに、溶液が混和するよう手で攪拌する (注6)。室温で 30 分間静置させた後、1 mol/L KOH/エタノール溶液 4 mL と精製水 3 mL を加え、良く攪拌し、白濁物を溶かす。ヘキサン 1 mL を加え、30 秒間攪拌し、10 分静置し、ヘキサン相を別の容器に移す。抽出操作を 3 回繰り返し、抽出液に硫酸ナトリウムを加え脱水した後、窒素気流下で 0.5 mL まで濃縮する。濃縮液に内標準液を 20 µL 加え、ヘキサンで 1 mL に定容し、試験液とする。

【空試験液の調製】

試料と同じ量の精製水を用い、【試料の前処理及び試験液の調製】の項に従って操作し、得られた試験液を空試験液とする。

H26年度調査での測定において、GC/MS → GC/MS/MSに変更したところブランクによる妨害を低減できたとの報告があった。(2015年度精査等検討会コメント)

【測定】

〔装置条件〕

〔GC条件〕

使用機種	: Agilent 製 6890N
使用カラム	: Supelco 製 SLB-5ms (60 m × 0.25 mm, 0.25 μm)
カラム温度	: 80°C → 10°C/min → 120°C → 2°C/min → 160°C → 10°C/min → 200°C → 20°C/min → 300°C (5 min)
注入方法	: スプリットレス
注入口温度	: 250°C
試料注入量	: 1 μL
キャリアーガス	: ヘリウム
キャリアーガス流量	: 2 mL/min

〔MS条件〕

使用機種	: JMS-Q1000
インターフェース温度	: 230°C
イオン源温度	: 230°C
イオン化法	: EI-Positive
モニターイオン	(クロロメチルフェノール類はエチル誘導体化物)
4C2MP	: m/z 170 (定量用) m/z 142 (確認用)
2C4MP	: m/z 170 (定量用) m/z 142 (確認用)
2C5MP	: m/z 170 (定量用) m/z 142 (確認用)
2C6MP	: m/z 170 (定量用) m/z 142 (確認用)
3C2MP	: m/z 170 (定量用) m/z 142 (確認用)
3C4MP	: m/z 170 (定量用) m/z 142 (確認用)
4C3MP	: m/z 170 (定量用) m/z 142 (確認用)
5C2MP	: m/z 170 (定量用) m/z 142 (確認用)
1,2,4,5-テトラクロロ ベンゼン- ¹³ C ₆	: m/z 222 (定量用) m/z 220 (確認用)

〔検量線〕

各検量線用標準液 1 μL を GC/MS に注入して分析する。対象物質と内標準物質の濃度比、及び得られたピーク面積比から検量線を作成する。なお、内標準の濃度は 200 ng/mL とする。

〔定量〕

試験液 1 μL を GC/MS に注入し、対象物質と内標準のピーク面積比から試験液中の対象物質と内標準の濃度比を求める。

〔濃度の算出〕

試料水中濃度 C (ng/L) は次式により算出する。

$$C = R \times Q/V$$

R : 検量線から求めた内標準物質濃度に対する対象物質濃度の比

Q : 試料中に添加した内標準物質の量 (ng)

(添加する内標準の濃度 (ng/μL) × 添加する内標準の容量 (μL))

V : 試料水量 (L)

本分析法に従った場合、以下の数値を使用する。

添加した内標準物質の量 : 200 ng

試料量 : 0.200 L

即ち、

$$C = R \times 1000 \text{ (ng/L)}$$

である。

〔装置検出下限値(IDL)〕(注7)

本分析の検討に用いた GC/MS の IDL を表 1 に示す (注 8)。

表 1 IDL の算出結果

物質名	IDL (ng/mL)	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	IDL 試料換算値 (ng/L)
4C2MP	0.43	200	1.00	2.2
2C4MP, 2C5MP, 3C4MP	1.6	200	1.00	8.2
2C6MP	0.42	200	1.00	2.1
3C2MP	0.56	200	1.00	2.8
4C3MP	0.54	200	1.00	2.7
5C2MP	0.43	200	1.00	2.2

〔測定方法の検出下限値 (MDL)及び定量下限値(MQL)〕(注7)

本測定方法における MDL 及び MQL を表 2 に示す (注 9)。

表 2 MDL 及び MQL の算出結果

物質名	試料量 (mL)	最終液量 (mL)	MDL (ng/L)	MQL (ng/L)
4C2MP	200	1.00	3.2	8.2
2C4MP, 2C5MP, 3C4MP	200	1.00	6.7	17
2C6MP	200	1.00	2.6	6.8
3C2MP	200	1.00	2.3	5.8
4C3MP	200	1.00	4.8	12
5C2MP	200	1.00	2.3	5.8

注 解

- (注 1) 本分析法では、機器分析をエチル誘導体化物で行っているが、IDL、MDL 等での濃度表示は全て、フェノール体としての濃度で表示している（以下、§2 解説以降も同様である）。
- (注 2) 他に異性体として、3-クロロ-5-メチルフェノール、2-クロロ-3-メチルフェノールが存在するが、標準試薬が入手できなかったため、分析対象化合物外とした。
- (注 3) 各試薬は、当研究所で入手しやすかったものであり、同等以上のものであれば製造元は問わない。
- (注 4) 固相カートリッジは、10 mL のアセトンと 10 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 5) 脱水が不十分の場合は、固相カートリッジが膨潤し、冷却されているため、常温に戻るまで高純度窒素ガスの通気を続ける。
- (注 6) 硫酸ジエチル添加後、すぐに溶液が白濁し固化が始まる。硫酸ジエチル添加直後に素早く溶液を攪拌する。
- (注 7) 2C4MP, 2C5MP, 3C4MP は、ピークが分離出来なかったため、合算して定量した。クロロメチルフェノール類の同時分析を行う場合は、ピークの分離性に注意すること。
- (注 8) IDL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き」(平成 21 年 3 月)により、表 3 に従って算出した。また、図 1 に IDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 3 IDL の算出結果

物質名	4C2MP	2C4MP, 2C5MP, 3C4MP*2	2C6MP	3C2MP	4C3MP	5C2MP
試料量 (mL)	200	200	200	200	200	200
最終液量 (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	2.00	6.00	2.00	2.00	2.00	2.00
注入量 (μL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
結果 1 (ng/mL)	2.30	7.85	2.34	1.95	2.53	2.54
結果 2 (ng/mL)	2.26	6.90	1.98	1.70	2.56	2.40
結果 3 (ng/mL)	1.99	6.90	2.18	2.04	2.27	2.26
結果 4 (ng/mL)	2.22	7.00	2.17	2.14	2.28	2.32
結果 5 (ng/mL)	2.30	7.12	2.12	2.03	2.47	2.34
結果 6 (ng/mL)	2.15	6.65	2.11	2.06	2.20	2.18
結果 7 (ng/mL)	2.14	6.59	2.12	2.07	2.46	2.35
平均値 (ng/mL)	2.194	7.001	2.146	1.999	2.396	2.341
標準偏差 (ng/mL)	0.110	0.420	0.108	0.143	0.140	0.110
IDL (ng/mL)*1	0.43	1.6	0.42	0.56	0.54	0.43
IDL 試料換算値 (ng/L)	2.2	8.2	2.1	2.8	2.7	2.2
S/N 比	13	12	7.0	6.5	7.5	10
CV (%)	5.0	6.0	5.0	7.2	5.8	4.7

*1 : $IDL = t(n-1, 0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*2 : ピークが分離できなかったため合算して定量

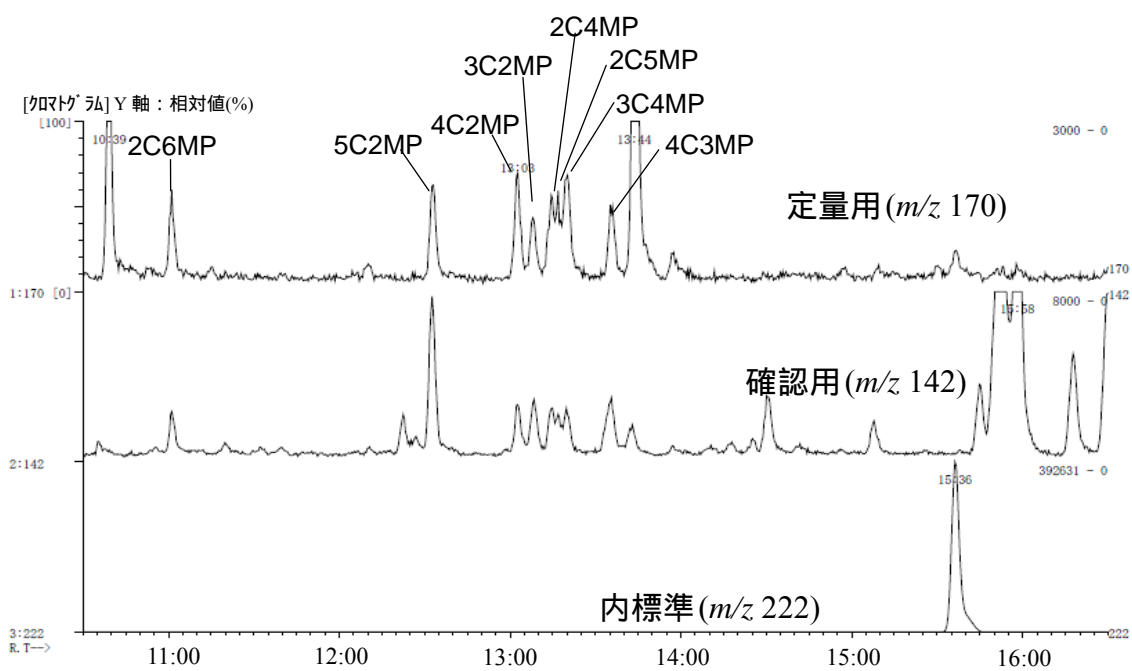


図 1 IDL 測定時のマスクロマトグラム

(注9)MDL および MQL は、「化学物質環境実態調査実施の手引き（平成 21 年 3 月）により、表 4 に従って算出した。また、図 2 に MDL 測定時のクロマトグラムを示す。

表 4 MDL 及び MQL の算出結果（河川水）

物質名	2C4MP, 2C5MP, 2C6MP 3C2MP 4C3MP 5C2MP 3C4MP ^{*5}					
	4C2MP	2C5MP, 3C4MP ^{*5}	2C6MP	3C2MP	4C3MP	5C2MP
試料量 (mL)	200	200	200	200	200	200
標準添加量 (ng)	2.00	6.00	2.00	2.00	2.00	2.00
試料換算濃度 (ng/L)	10	30	10	10	10	10
最終液量 (mL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
注入液濃度 (ng/mL)	2.00	6.00	2.00	2.00	2.00	2.00
注入量 (μL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
操作ブランク (ng/L) ^{*1}	ND	ND	ND	ND	ND	ND
無添加試料 (ng/L) ^{*2}	ND	ND	ND	ND	ND	ND
結果 1 (ng/L)	11.6	37.1	10.0	10.9	14.5	11.4
結果 2 (ng/L)	9.88	34.1	10.2	10.30	13.1	11.9
結果 3 (ng/L)	9.46	31.3	10.1	10.70	12.9	11.1
結果 4 (ng/L)	10.9	33.1	8.34	9.82	12.0	11.5
結果 5 (ng/L)	10.3	33.6	9.72	10.70	13.3	11.0
結果 6 (ng/L)	11.6	34.0	8.96	10.40	10.7	11.9
結果 7 (ng/L)	10.6	33.7	9.58	11.70	11.8	12.7
平均値 (ng/L)	10.62	33.84	9.557	10.65	12.61	11.64
標準偏差 (ng/L)	0.816	1.72	0.679	0.584	1.23	0.583
MDL (ng/L) ^{*3}	3.2	6.7	2.6	2.3	4.8	2.3
MQL (ng/L) ^{*4}	8.2	17	6.8	5.8	12	5.8
S/N 比	8.0	8.7	4.0	6.0	7.0	7.3
CV (%)	7.7	5.1	7.1	5.5	10	5.0

*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 (n=1)

*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 (n=2)

*3：MDL = $t(n-1,0.05) \times \sigma_{n-1} \times 2$

*4：MQL = $\sigma_{n-1} \times 10$

*5：ピークが分離できなかったため合算して定量

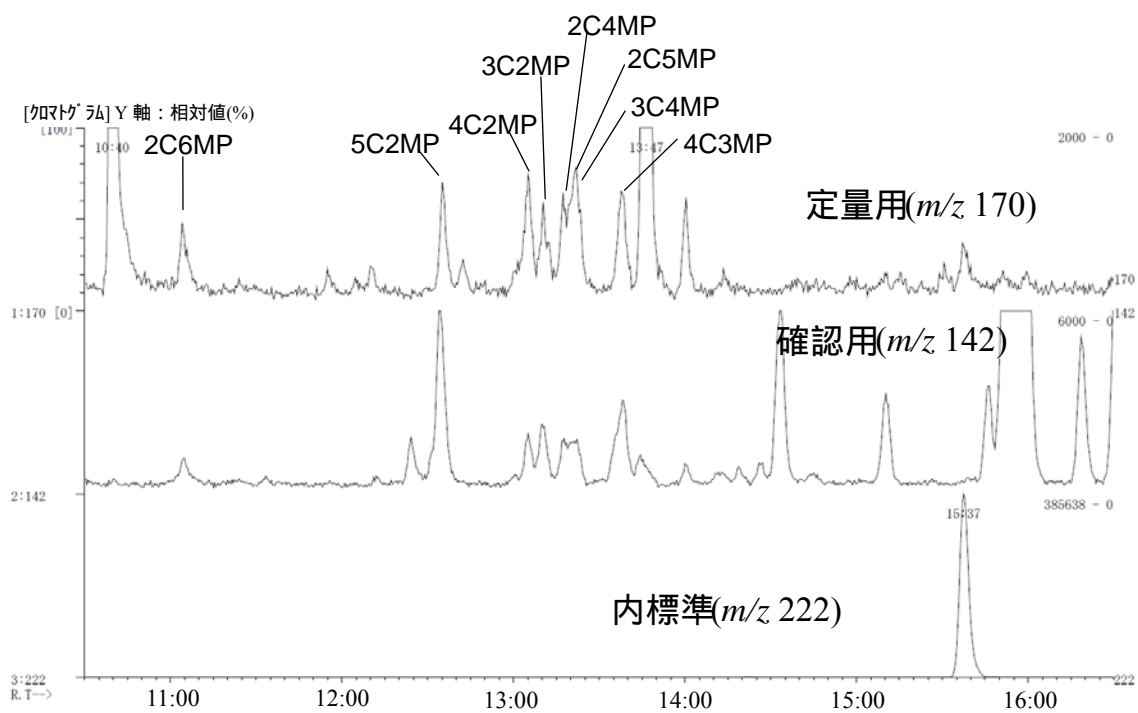


図2 MDL測定時のマスクロマトグラム

§2 解 説

【分析法】 〔フローチャート〕

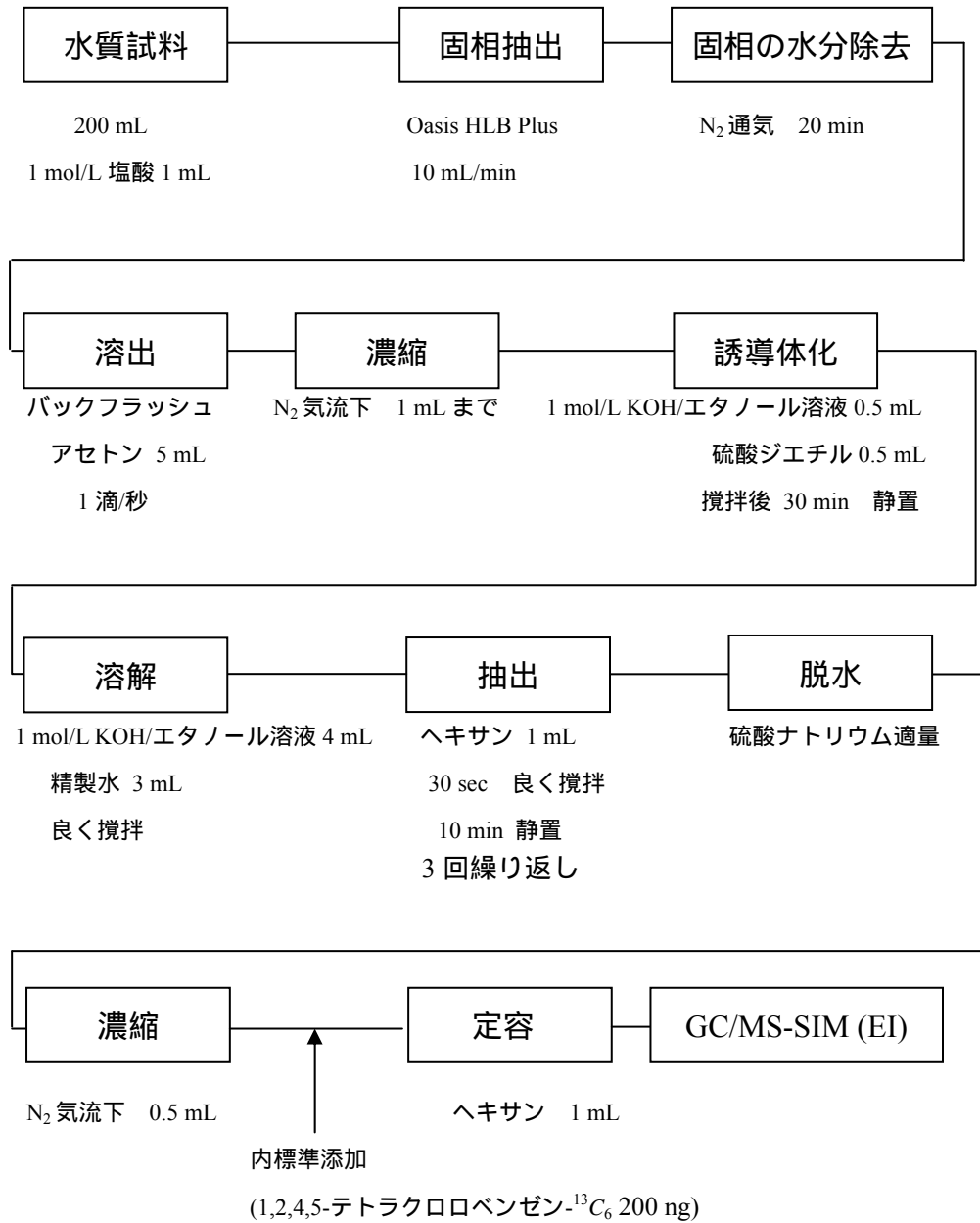


図 3 分析法のフローチャート

〔検量線〕

検量線を図 4-1 ~ 4-6 に、検量線作成用データを表 5-1 ~ 5-6 に示す。

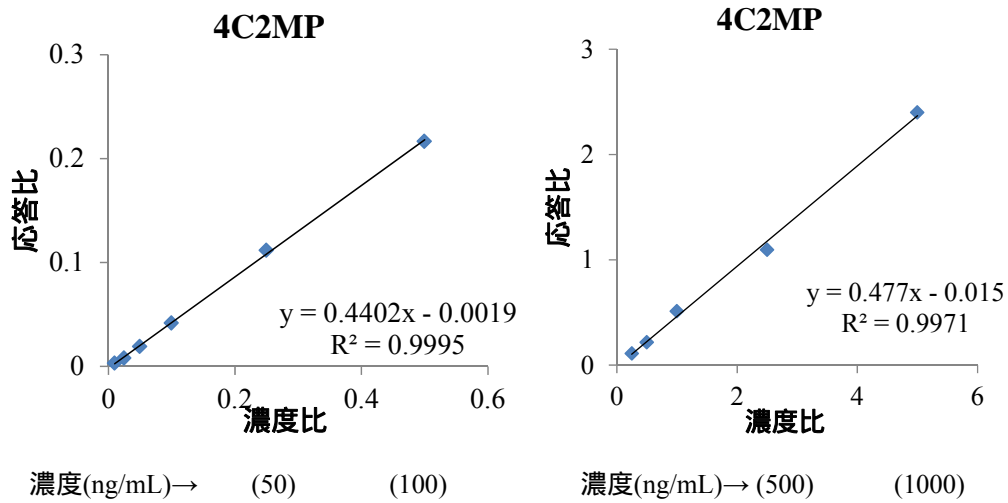


図 4-1 4C2MP の検量線 (濃度範囲 2.00 ~ 100 ng/mL (図左)、50.0 ~ 1000 ng/mL (図右))、内標準 200 ng/mL

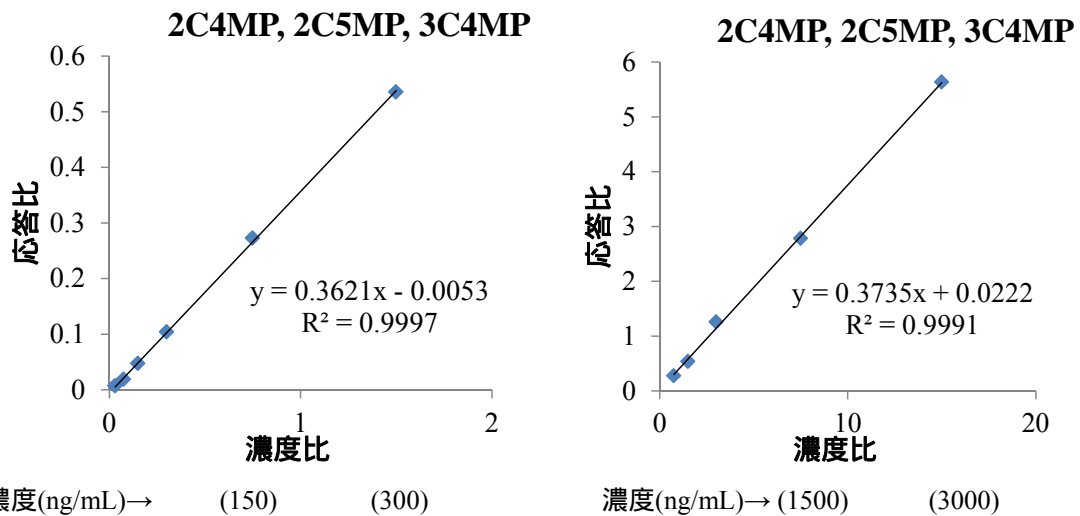
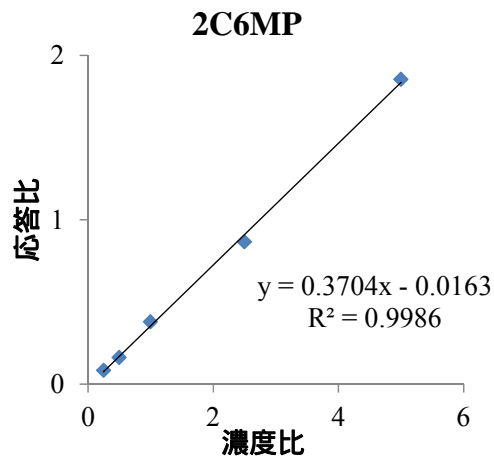
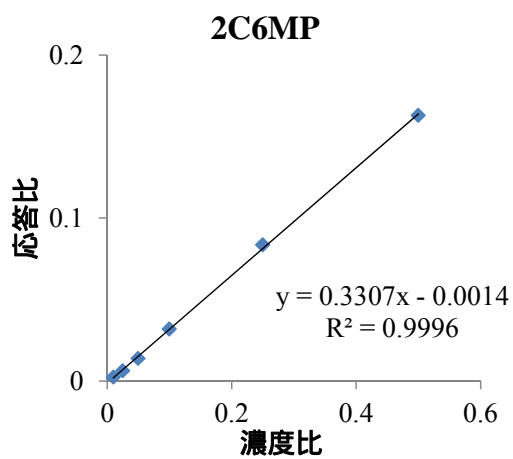


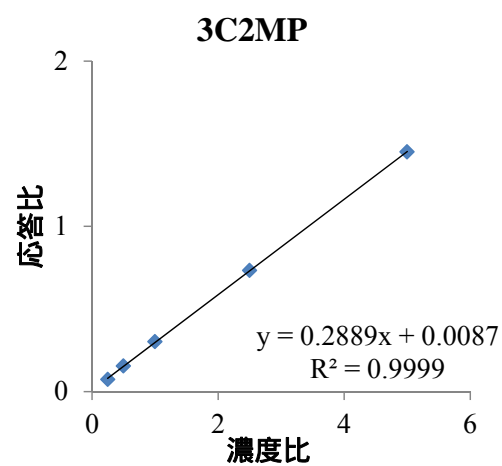
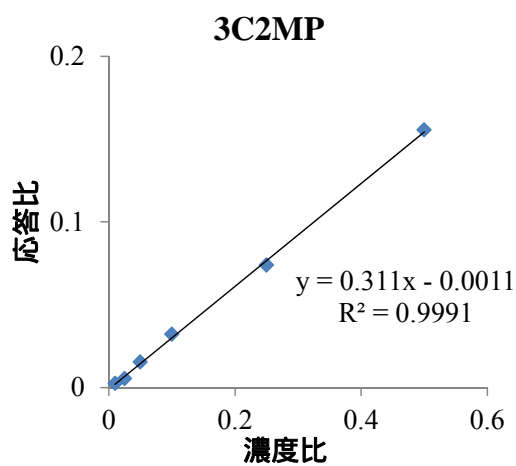
図 4-2 2C4MP, 2C5MP, 3C4MP の検量線 (濃度範囲 6.00 ~ 300 ng/mL (図左)、150 ~ 3000 ng/mL (図右))、内標準 200 ng/mL



濃度(ng/mL)→ (50) (100)

濃度(ng/mL)→ (500) (1000)

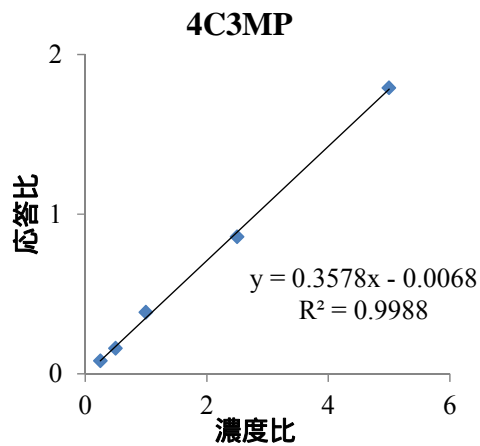
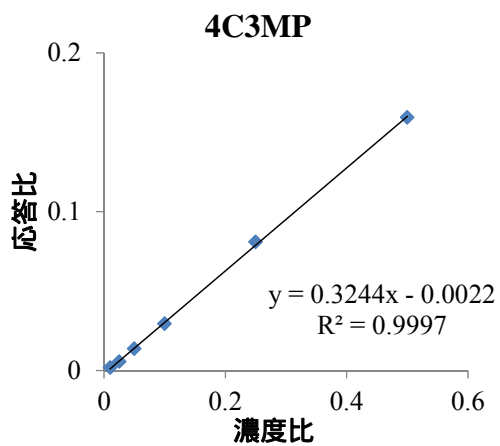
図 4-3 2C6MP の検量線 (濃度範囲 2.00 ~ 100 ng/mL (図左)、50.0 ~ 1000 ng/mL (図右))、内標準 200 ng/mL



濃度(ng/mL)→ (50) (100)

濃度(ng/mL)→ (500) (1000)

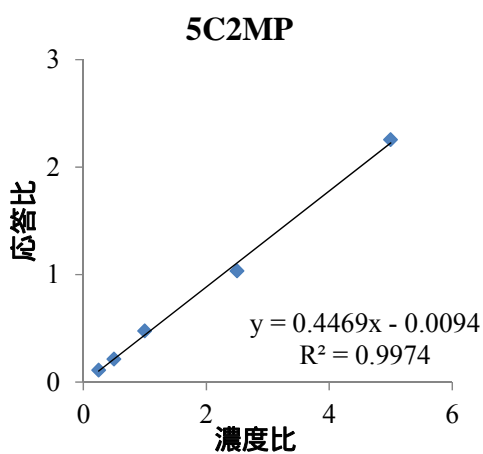
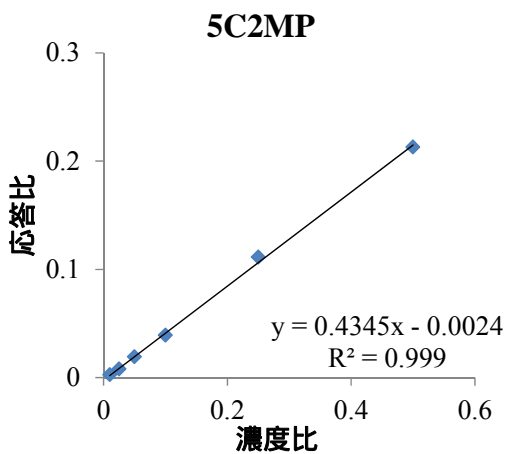
図 4-4 3C2MP の検量線 (濃度範囲 2.00 ~ 100 ng/mL (図左)、50.0 ~ 1000 ng/mL (図右))、内標準 200 ng/mL



濃度(ng/mL)→ (50) (100)

濃度(ng/mL)→ (500) (1000)

図 4-5 4C3MP の検量線 (濃度範囲 2.00 ~ 100 ng/mL (図左)、50.0 ~ 1000 ng/mL (図右))、内標準 200 ng/mL



濃度(ng/mL)→ (50) (100)

濃度(ng/mL)→ (500) (1000)

図 4-6 5C2MP の検量線 (濃度範囲 2.00 ~ 100 ng/mL (図左)、50.0 ~ 1000 ng/mL (図右))、内標準 200 ng/mL

表 5-1 4C2MP 検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s)(m/z 170)	内標準物質 (A _{is})(m/z 222)*	
0.01	2.00	5603	1821224	0.003077
0.03	5.00	17621	2201715	0.008003
0.05	10.0	35657	1859007	0.01918
0.10	20.0	75092	1800817	0.04170
0.25	50.0	214334	1918026	0.1117
0.50	100	503106	2321626	0.2167
1.0	200	1292026	2525651	0.5116
2.5	500	3292850	3004280	1.096
5.0	1000	6017859	2506022	2.401

* : 内標準濃度 200 ng/mL

表 5-2 2C4MP, 2C5MP, 3C4MP 検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s)(m/z 170)	内標準物質 (A _{is})(m/z 222)*	
0.03	6.00	12559	1821224	0.006896
0.08	15.0	41006	2201715	0.01863
0.15	30.0	87493	1859007	0.04706
0.30	60.0	187004	1800817	0.1038
0.75	150	522033	1918026	0.2722
1.50	300	1242118	2321626	0.5350
3.0	600	3177469	2525651	1.258
7.5	1500	8356664	3004280	2.782
15	3000	14105748	2506022	5.629

* : 内標準濃度 200 ng/mL

表 5-3 2C6MP 検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s)(m/z 170)	内標準物質 (A _{is})(m/z 222)*	
0.01	2.00	4282	1821224	0.002351
0.03	5.00	13853	2201715	0.006292
0.05	10.0	25806	1859007	0.01388
0.10	20.0	57534	1800817	0.03195
0.25	50.0	160227	1918026	0.0835
0.50	100	378369	2321626	0.1630
1.0	200	959796	2525651	0.3800
2.5	500	2600104	3004280	0.865
5.0	1000	4643588	2506022	1.853

* : 内標準濃度 200 ng/mL

表 5-4 3C2MP 検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s)(m/z 170)	内標準物質 (A _{is})(m/z 222)*	
0.01	2.00	4242	1821224	0.002329
0.03	5.00	11585	2201715	0.005262
0.05	10.0	28551	1859007	0.01536
0.10	20.0	57717	1800817	0.03205
0.25	50.0	141617	1918026	0.0738
0.50	100	360691	2321626	0.1554
1.0	200	762637	2525651	0.3020
2.5	500	2202669	3004280	0.733
5.0	1000	3636621	2506022	1.451

* : 内標準濃度 200 ng/mL

表 5-5 4C3MP 検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s)(m/z 170)	内標準物質 (A _{is})(m/z 222)*	
0.01	2.00	3021	1821224	0.001659
0.03	5.00	11990	2201715	0.005446
0.05	10.0	25152	1859007	0.01353
0.10	20.0	52599	1800817	0.02921
0.25	50.0	155023	1918026	0.0808
0.50	100	369663	2321626	0.1592
1.0	200	974473	2525651	0.3858
2.5	500	2580554	3004280	0.859
5.0	1000	4488786	2506022	1.791

* : 内標準濃度 200 ng/mL

表 5-6 5C2MP 検量線作成用データ

濃度比	標準液濃度 (ng/mL) (C _s)	応答値		応答比 (A _s /A _{is})
		対象物質 (A _s)(m/z 170)	内標準物質 (A _{is})(m/z 222)*	
0.01	2.00	4400	1821224	0.002416
0.03	5.00	16911	2201715	0.007681
0.05	10.0	35209	1859007	0.01894
0.10	20.0	69986	1800817	0.03886
0.25	50.0	213201	1918026	0.1112
0.50	100	494314	2321626	0.2129
1.0	200	1199788	2525651	0.4750
2.5	500	3104418	3004280	1.033
5.0	1000	5650628	2506022	2.255

* : 内標準濃度 200 ng/mL

〔標準物質のクロマトグラム〕

標準液測定時のクロマトグラムを図5に示す。

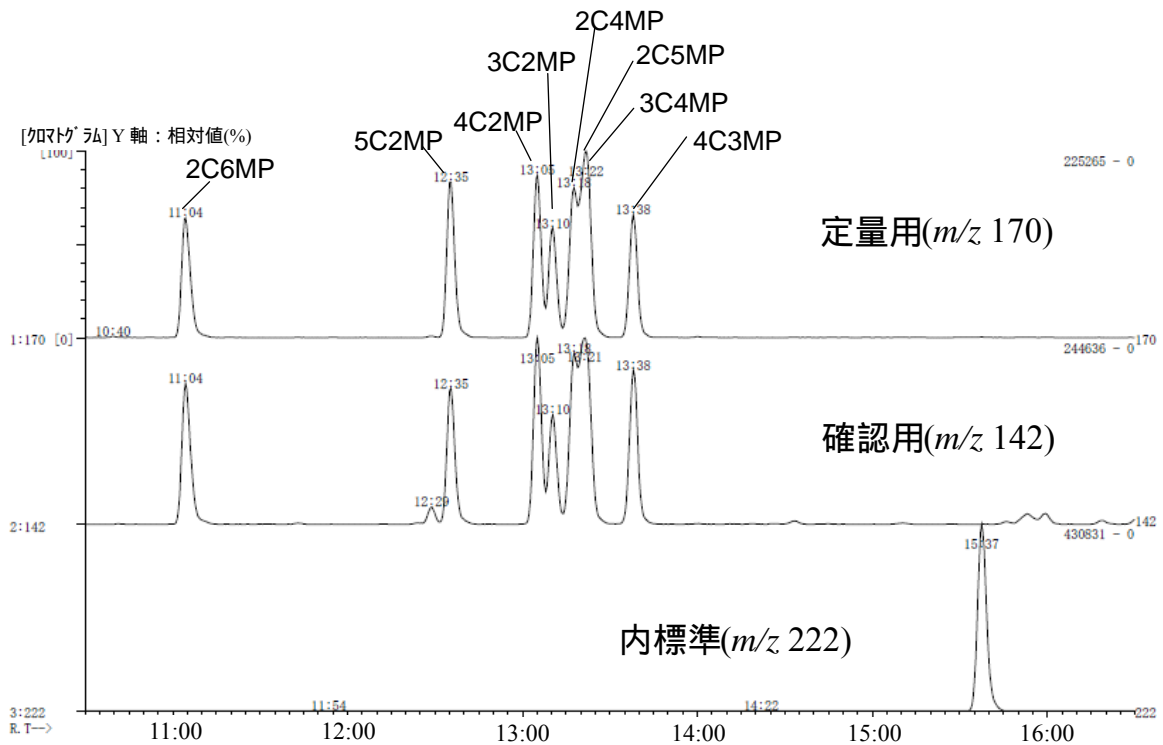


図5 標準液測定時のマスククロマトグラム (クロロメチルフェノール類 200 ng/mL)

〔マススペクトル〕

4C2MP エチル誘導体化物、1,2,4,5-テトラクロロベンゼン-¹³C₆ 及び各異性体エチル誘導体化物のマススペクトルを図6~14に示す。

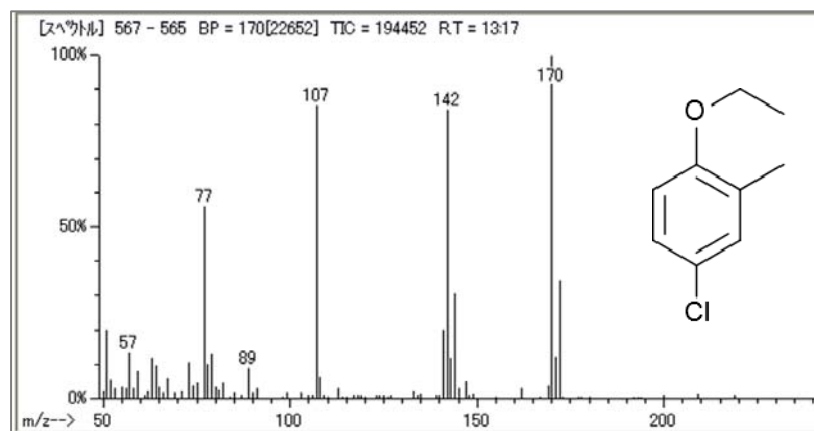


図6 4C2MP エチル誘導体化物のマススペクトル

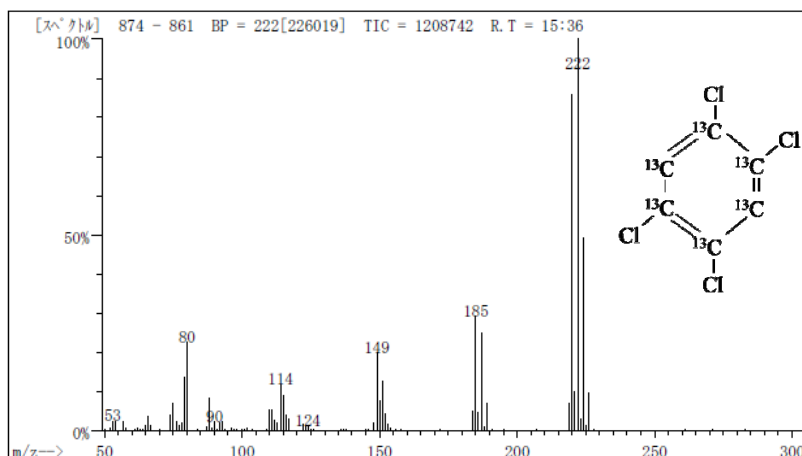


図7 1,2,4,5-テトラクロロベンゼン- $^{13}\text{C}_6$ のマススペクトル

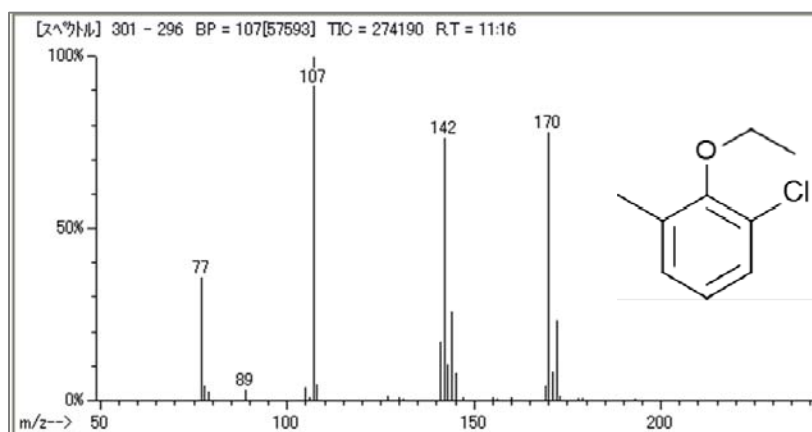


図8 2C6MP エチル誘導体化物のマススペクトル

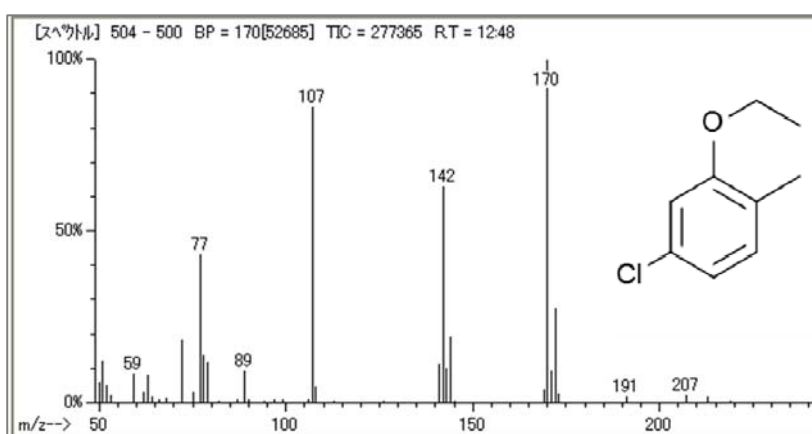


図9 5C2MP エチル誘導体化物のマススペクトル

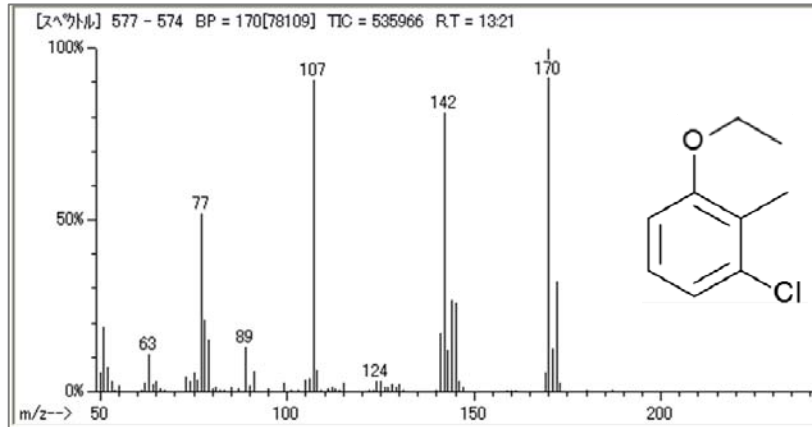


図 10 3C2MP エチル誘導体化物のマススペクトル

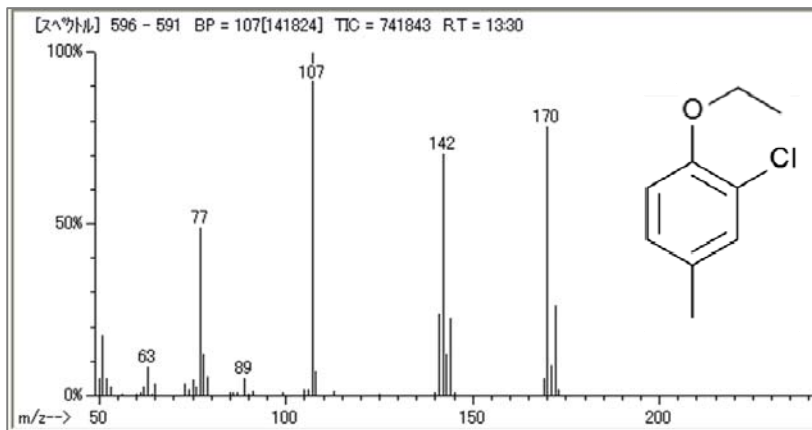


図 11 2C4MP エチル誘導体化物のマススペクトル

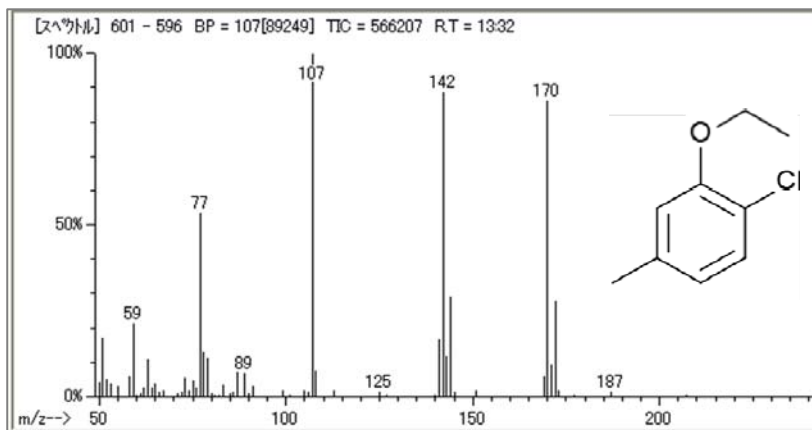


図 12 2C5MP エチル誘導体化物のマススペクトル

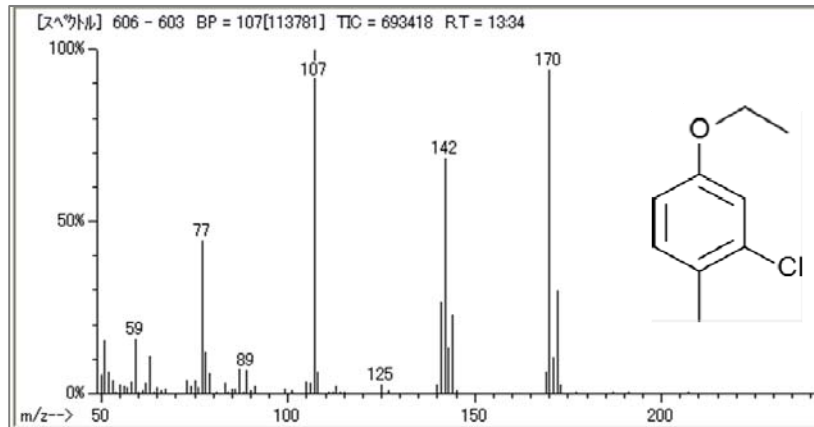


図 13 3C4MP エチル誘導体化物のマススペクトル

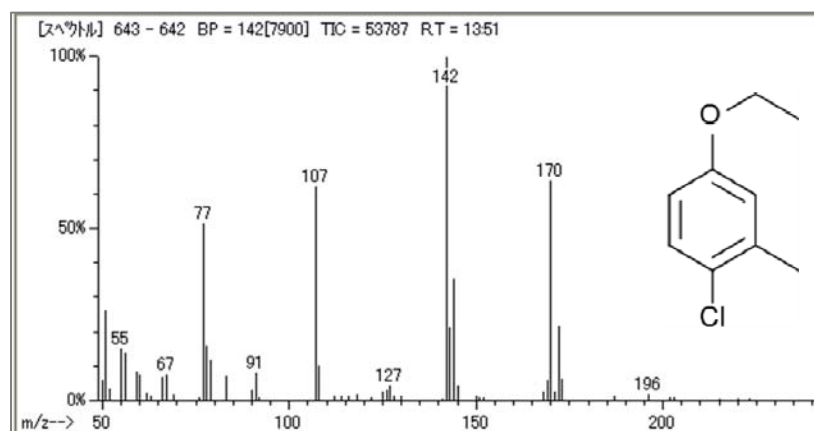


図 14 4C3MP エチル誘導体化物のマススペクトル

〔操作ブランク試験〕

操作ブランク試験において、クロロメチルフェノール類は検出されなかった。

〔添加回収試験〕

河川水及び海水の標準物質の添加回収試験結果を表 6 に示す。また、添加回収試験時のクロマトグラムを図 15、16 に示す。なお、無添加分析時のクロマトグラムは【環境試料の分析例】に示す。

表6 添加回収試験結果

試料	物質名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	試験 数	検出 濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動 係数 (%)	
河川水	4C2MP	200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	0.89	89	3.3	
	2C4MP, 2C5MP, 3C4MP	200	0	1	-	-	-	
		200	600*	5	2.7	90	5.5	
	2C6MP	200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	0.88	88	2.8	
	3C2MP	200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	0.89	89	7.5	
	4C3MP	200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	0.9	90	3.2	
	5C2MP	200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	0.9	90	3.4	
	海水	4C2MP	200	0	1	-	-	-
			200	200	5	0.94	94	7.3
2C4MP, 2C5MP, 3C4MP		200	0	1	-	-	-	
		200	600*	5	2.7	90	6.2	
2C6MP		200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	0.89	89	8.5	
3C2MP		200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	1.01	101	6.6	
4C3MP		200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	0.94	94	8.2	
5C2MP		200	0	1	-	-	-	
		200	200	5	0.94	94	6.3	

*2C4MP, 2C5MP, 3C4MP は、3 物質の合算値。

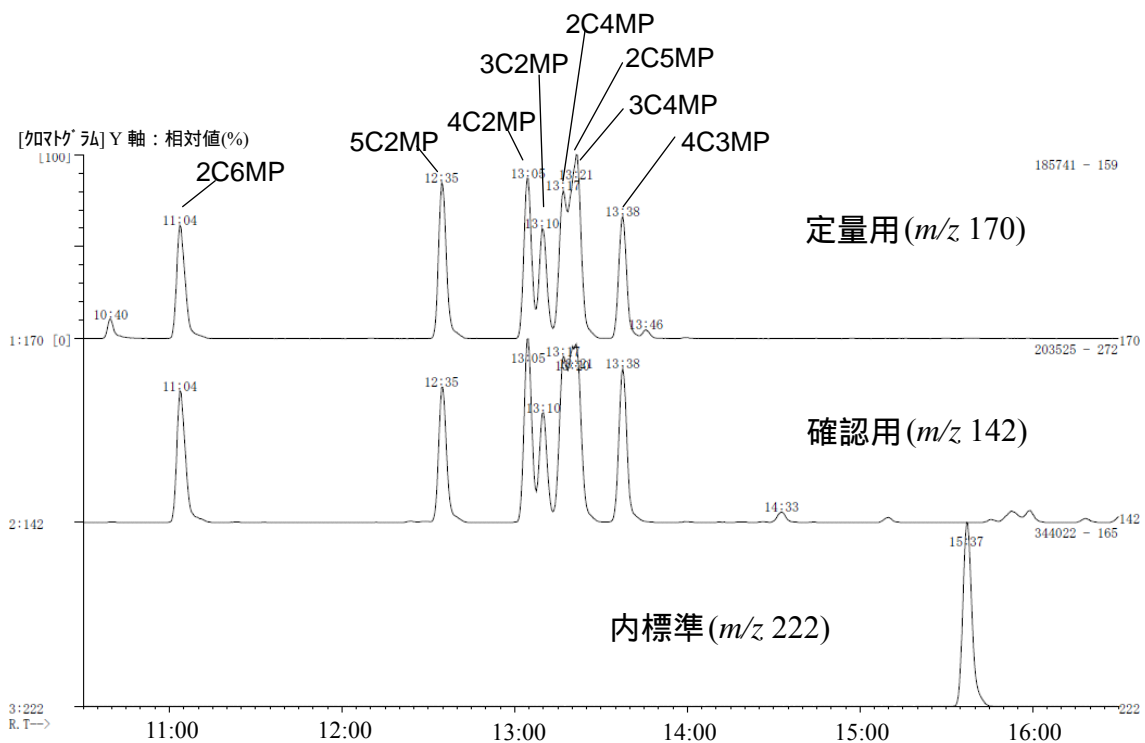


図 15 河川水添加回収試験 (クロロメチルフェノール類添加量 200 ng)

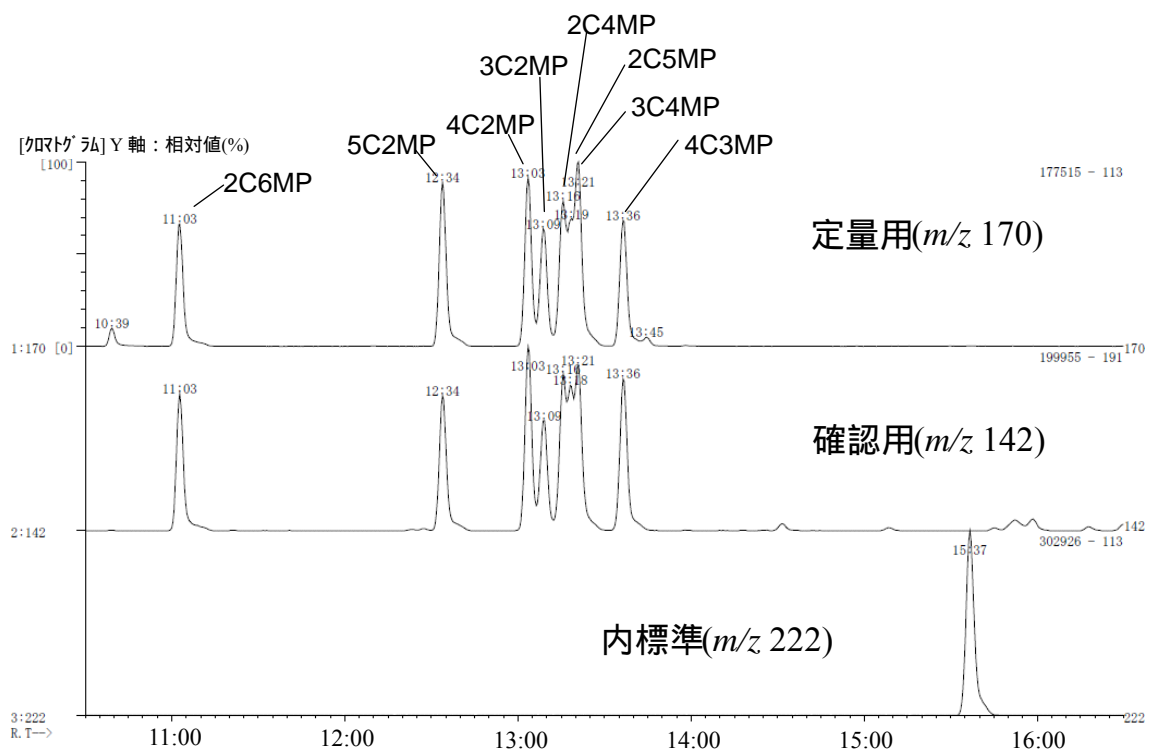


図 16 海水添加回収試験 (クロロメチルフェノール類添加量 200 ng)

〔分解性スクリーニング試験〕

分解性スクリーニング試験の結果を表7に示す。分解性スクリーニング試験では、全異性体について分解性は確認されなかった。

表7 分解性スクリーニング試験の結果

物質名	pH	試験数	初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	1時間後の 残存率 (%)	7日後の残存率 (%)	
					暗所	明所
4C2MP	5	2	0.2	93	102	-
	7			98	106	98
	9			95	103	-
2C4MP, 2C5MP, 3C4MP	5	2	0.6*	93	101	-
	7			91	102	103
	9			93	102	-
2C6MP	5	2	0.2	91	98	-
	7			98	106	97
	9			95	95	-
3C2MP	5	2	0.2	96	100	-
	7			100	104	93
	9			100	104	-
4C3MP	5	2	0.2	88	107	-
	7			97	108	100
	9			99	110	-
5C2MP	5	2	0.2	101	102	-
	7			106	111	102
	9			102	105	-

*2C4MP, 2C5MP, 3C4MP は、3物質の合算値。

〔環境水の保存性試験〕

試料保存性試験の結果を表 8 に示す。4C2MP 以外の異性体は、保存性が悪い物質がある。4C2MP と他の異性体の同時分析を行う場合は、試料採取後に速やかに前処理を行う必要がある。

表 8 環境水の保存性試験結果

試料	物質名	試験数	初期濃度 ($\mu\text{g/L}$)	7 日後の残存率 (%) 冷暗所
河川水	4C2MP	2	0.2	72
	2C4MP, 2C5MP, 3C4MP	2	0.6*	22
	2C6MP	2	0.2	61
	3C2MP	2	0.2	31
	4C3MP	2	0.2	5
	5C2MP	2	0.2	16
	4C2MP	2	0.2	103
海水	2C4MP, 2C5MP, 3C4MP	2	0.6*	72
	2C6MP	2	0.2	97
	3C2MP	2	0.2	43
	4C3MP	2	0.2	37
	5C2MP	2	0.2	97

*2C4MP, 2C5MP, 3C4MP は、3 物質の合算値。。

〔標準液の保存性試験〕

作成した標準液を再度測定し、保存性を確認した。結果を表 9 に示す。表中の値は初期濃度を 100%とした場合の残存率である。

表 9 標準液の保存性試験結果 (n=1)

物質名	2C4MP, 4C2MP 2C5MP, 2C6MP 3C2MP 4C3MP 5C2MP 3C4MP						
	設定濃度 (ng/mL)	200	600*	200	200	200	200
残存率 (%)	7日後	105	102	100	101	101	101
	1ヶ月後	91	87	97	91	97	91

*2C4MP, 2C5MP, 3C4MP は、3 物質の合算値。

〔試験液の安定性試験〕

添加回収試験用の試験液を再度測定し、試験液の保存性を確認した。結果を表 10 に示す。表中の値は初期濃度を 100%とした場合の残存率である。

表 10 試験液の保存性試験結果 (n=1)

物質名	試料量 (mL)	添加量 (ng)	最終液量 (mL)	1ヶ月後残存率 (%)	
				河川水	海水
4C2MP	200	200	1	91	92
2C4MP, 2C5MP, 3C4MP	200	600*	1	91	88
2C6MP	200	200	1	91	89
3C2MP	200	200	1	88	101
4C3MP	200	200	1	93	94
5C2MP	200	200	1	94	94

*2C4MP, 2C5MP, 3C4MP は、3 物質の合算値。

〔環境試料の分析〕

河川水（兵庫県 加古川大橋）及び海水試料（神戸沖）からは、クロロメチルフェノール類は MDL 未満であった。環境試料の測定時のクロマトグラムを図 17、18 に示す。

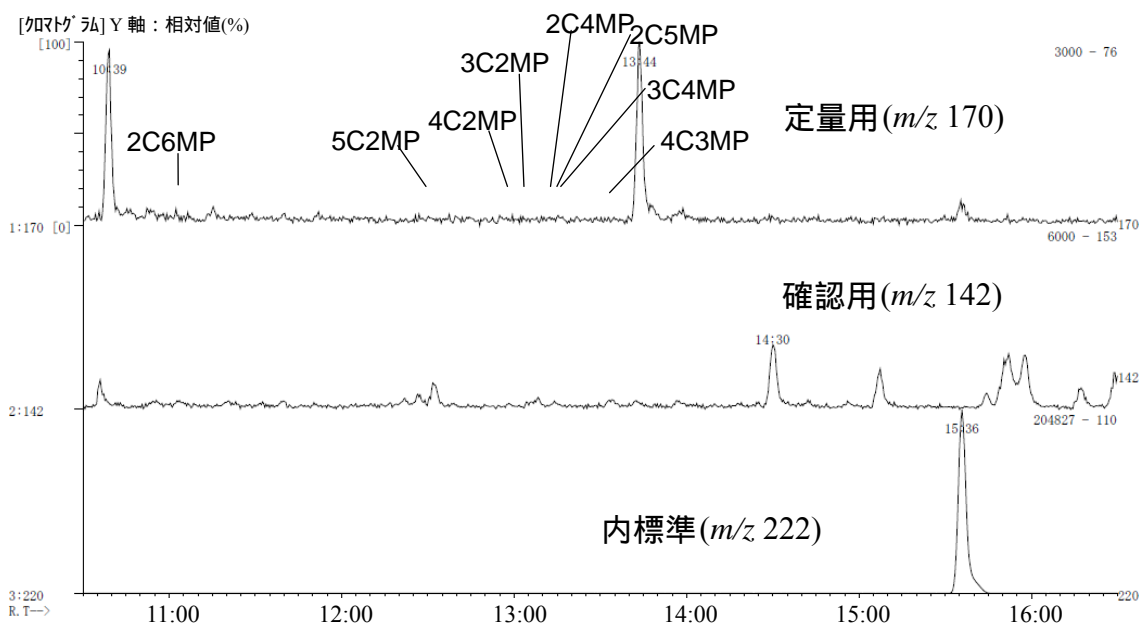


図 17 河川水試料のマスクロマトグラム

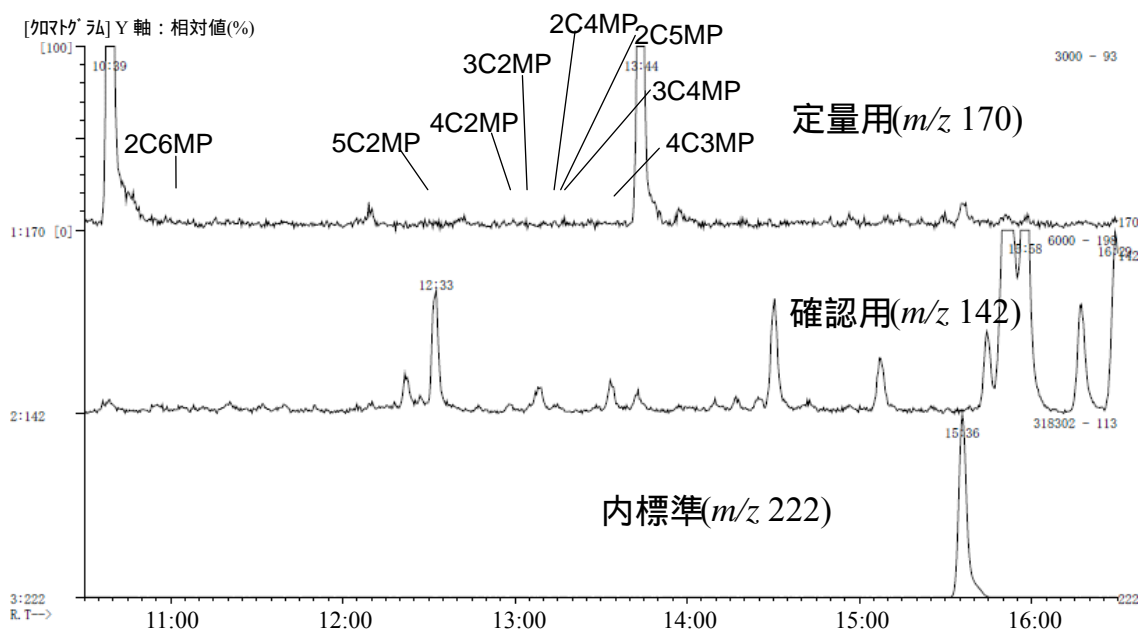


図 18 海水試料のマスクロマトグラム

【評価】

本法は水質中の4-クロロ-2-メチルフェノール（別名：4-chloro-o-cresol）の分析に適用できる。検量線は、低濃度領域用(2～100 ng/mL)で $R^2 > 0.999$ 、高濃度領域用(50～1000 ng/mL)で $R^2 > 0.995$ であり、良好な直線性が得られた。また、本法のMDLは3.2 ng/L、MQLは8.2 ng/Lであり、水質試料200 mLに200 ngを添加した回収率試験の結果も良好であった（河川水：89%、海水：94%）。

以上より、水質試料中に3.2 ng/Lレベルで存在する4-クロロ-2-メチルフェノールの検出が可能である。また、異性体の（2-クロロ-4-メチルフェノール、2-クロロ-5-メチルフェノール、2-クロロ-6-メチルフェノール、3-クロロ-2-メチルフェノール、3-クロロ-4-メチルフェノール、4-クロロ-3-メチルフェノール、5-クロロ-2-メチルフェノール）についても本法で同時分析可能であるが、保存性に問題のある化合物もあるため、同時分析する際には試料採取後速やかに分析することが望ましい。また、他に異性体として、3-クロロ-5-メチルフェノール、2-クロロ-3-メチルフェノールが存在するが、本法による分離は確認されていない。このため、4-クロロ-2-メチルフェノールが検出された場合、異なる極性のカラムで分析するなどにより、同定を確認する必要がある。

【参考文献】

環境省環境管理局水環境部企画課：要調査項目等調査マニュアル（水質、底質、水生生物） p45-58（平成16年3月）

【連絡先】

所属先名称：公益財団法人ひょうご環境創造協会 兵庫県環境研究センター

所属先住所：〒654-0037 神戸市須磨区行平町 3-1-27

TEL：078-735-6918 FAX：078-735-7817

担当者名：竹峰秀祐

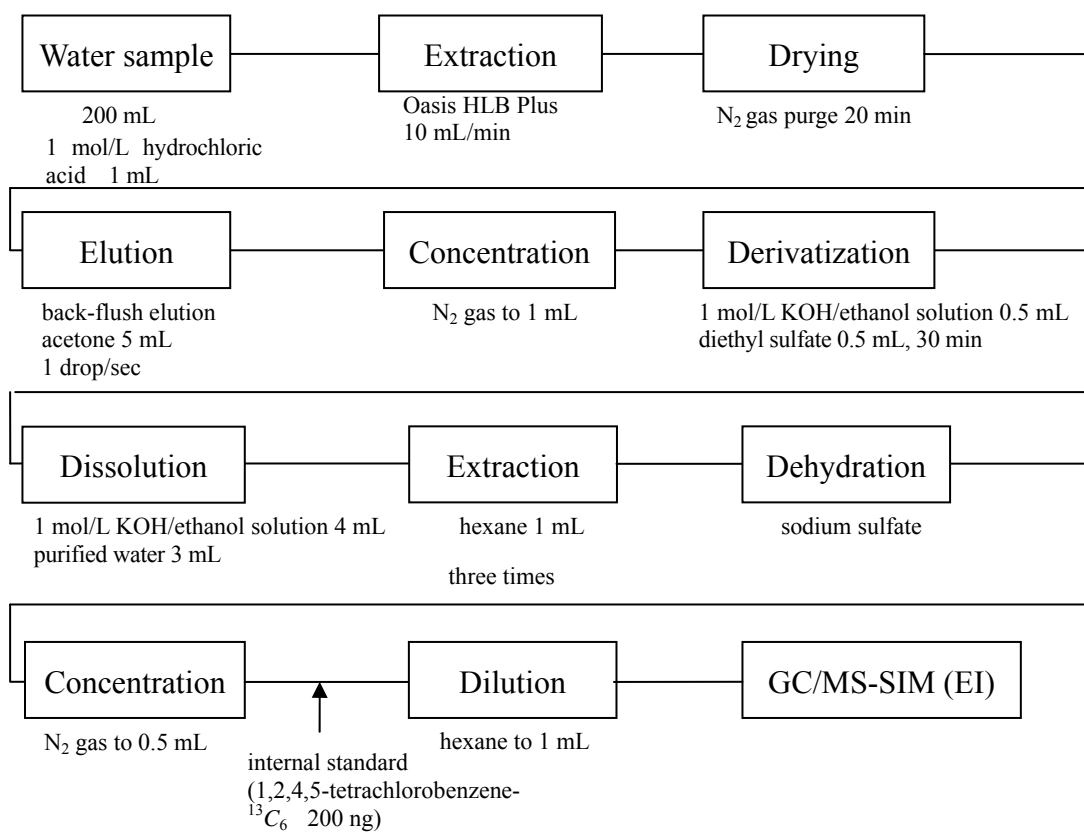
E-mail：takemine-s@hies-hyogo.jp

4-chloro-2-methylphenol (4-chloro-o-cresol)

This method has been developed for determination of 4-chloro-2-methylphenol (4C2MP) in water samples by Gas Chromatograph / Mass Spectrometry (GC/MS).

Analysis is conducted using 200 mL of each sample spiked with 1 mL of 1 mol/L hydrochloric acid. The sample is extracted with a solid-phase extraction cartridge (OASIS HLB Plus) pre-conditioned with 10 mL of acetone and 10 mL of purified water. The cartridge is washed with 10 mL of purified water, dried with high purity nitrogen gas, and eluted to a test tube with 5 mL of acetone using back-flush elution. The eluate is concentrated to 1 mL under a gentle nitrogen stream, mixed with 0.5 mL of 1 mol/L KOH/ethanol solution, and derivatized using 0.5 mL diethyl sulfate. After keeping at room temperature for 1 hr, the solution is mixed with 4 mL of 1 mol/L KOH/ethanol solution and 3 mL of purified water, and shaken. Subsequently, adding 1 mL of hexane, the ethyl derivatives is extracted by liquid-liquid extraction. The eluate is dehydrated with sodium sulfate after repeating the extraction process three times, and concentrated to 0.5 mL with a gentle nitrogen stream. The concentrated solution is mixed with 20 μ L internal standard solution (10.0 μ g/mL of 1, 2, 4, 5-tetrachlorobenzene-¹³C₆ in acetone), and diluted to 1 mL with hexane. The final solution is analyzed by GC/MS using electron impact ionization (EI).

The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 3.2 and 8.2 ng/L, respectively. The averages of recoveries (n=5) using 200 mL of water sample spiked with 200 ng (4C2MP) are 89 % (river water, 1 σ = 3.3 %) and 94 % (sea water, 1 σ = 7.3%).



物質名	分析法フローチャート	備考
<p>4-クロロ-2-メチルフェノール</p> <p>(別名: 4-chloro-o-cresol)</p> <p>同時分析: クロロフェノール類: 他7異性体</p>	<p>【水質】</p> <pre> graph TD A["水質試料 200 mL 1 mol/L 塩酸 1 mL"] --> B["固相抽出 Oasis HLB Plus 10 mL/min"] B --> C["固相の水分除去 N2 通気 20 min"] C --> D["溶出 バックフラッシュ アセトン 5 mL 1 滴/秒"] D --> E["濃縮 N2 気流下 1 mL まで"] E --> F["誘導体化 1 mol/L KOH/エタノール溶液 0.5 mL 硫酸ジエチル 0.5 mL 攪拌後 30 min 静置"] F --> G["濃縮 N2 気流下 0.5 mL"] G --> H["定容 内標準添加 (1,2,4,5-テトラクロロベンゼン-13C6 200 ng) ヘキサン 1 mL"] H --> I["GC/MS-SIM (EI)"] J["溶解 1 mol/L KOH/エタノール溶液 4 mL 精製水 3 mL 良く攪拌"] --> K["抽出 ヘキサン 1 mL 30 sec 良く攪拌 10 min 静置 3 回繰り返す"] K --> L["脱水 硫酸ナトリウム適量"] L --> G </pre>	<p>分析原理: GC/MS EI-positive</p> <p>検出下限値: 【水質】 3.2 ng/L</p> <p>分析条件: 機器 GC:Agilent 製 6890N MS:日本電子製 JMS-Q1000</p> <p>カラム SLB-5ms 60 m × 0.25 mm, 0.25 μm (Supelco 製)</p>

図3 分析法のフローチャート