

2-クロロフェノールの測定・分析手法に関する検討結果報告書

## 1. はじめに

2-クロロフェノールの物理化学的性状を示した<sup>1)</sup>(表1)。外観は無色の液体で特徴臭がある。

表1 2-クロロフェノールの物理化学的性状

CAS No.	95-57-8	
別名	o-クロロフェノール 2-クロロ-1-ヒドロキシベンゼン	
用途	染色中間物や農薬の原料などに使用されている。	
構造式		
分子量	128.56	
物性	比重	1.3 g/mL(Water = 1)
	沸点	175
	融点	9.3~9.8
	蒸気圧	230Pa(20 )
	形状	常温・常圧では液体。
許容濃度等	日本産業衛生学会	—
	OSHA	—
	NIOSH	—
	ACGIH	—

2-クロロフェノールは、管理濃度および許容濃度が設定されていない。また、その異性体である4-クロロフェノールも同じく設定されていないが、NIOSHの4-クロロフェノールの分析法 methods No.2014<sup>2)</sup>では、対象とする気中濃度の範囲が0.15 ~ 53 ppm(0.8 ~ 280 mg/m<sup>3</sup>)となっている。

リスク評価に係る今後の実態調査において、できるだけ低濃度まで測定可能にするために、NIOSHの測定範囲よりも低く、かつ本分析法で可能な低い濃度範囲について検討を行った。

## 2. 文献調査

現在、2-クロロフェノール測定およびその分析方法に関する公定法が示されていないが、その異性体である4-クロロフェノールの分析手法については、NIOSH Manual of Analytical methods (NMAM) のNo.2014にシリカゲル捕集 - 溶媒抽出 - 高速液体クロマトグラフ法が示されている。

## 3. 捕集および分析条件

2-クロロフェノールの分析測定手法として、固体捕集-溶媒抽出-高速液体クロマトグラフ法で検討を行う。

### 3 - 1 . 試薬類

標準試薬：2-クロロフェノール標準物質（東京化成工業株式会社、 98%）

抽出溶媒：アセトニトリル（関東化学株式会社 高速液体クロマトグラフ用、 99.8%）

### 3 - 2 . 器具等

捕集管：InertSep Slim-J PLS-3 230mg（GLサイエンス株式会社）

吸引ポンプ：ミニポンプ MP-Σ100HN（柴田科学株式会社）

試験管：ガラス製10 mL共栓付き（目盛付き）

シリンジ：ガラス製5 mL（目盛付き）

### 3 - 3 . 捕集方法

捕集管を吸引ポンプに接続し、毎分5Lの吸引速度で試料空気を吸引し、対象成分を捕集する。

### 3 - 4 . 捕集管の前処理

捕集管にシリンジを接続し、約5 mLの抽出溶媒を通した後、純窒素でパージを行い、十分に乾燥させる。

妨害ピークが確認されない場合は、前処理は不要。

### 3 - 5 . 試料の調製

捕集管の捕集方向とは逆向きに抽出溶媒が通るようにシリンジを接続し、5 mLの抽出溶媒を通す。抽出液を試験管に受け、抽出溶媒で試験管の目盛で5 mLに定容し、さらに純水を加えて10 mLに定容する。

### 3 - 6 . 分析条件等

分析機器および分析条件等を示す（表2）。

表2 分析条件等

装置	高速液体クロマトグラフ Agilent 1100Series
カラム	InertSustain C18 ID4.6mm×150mm,5μm
カラム温度	40
移動相	アセトニトリル / 水 = 30 / 70
流量	1 mL/min
注入量	100 μL
検出器	UV
測定波長	275 nm
検量線	絶対検量線法

## 4 . ブランク

本分析条件では、未使用の捕集管に抽出溶媒を通して得られた抽出液から、2-クロロフェノールのピークを妨害するピークが確認された（図1）。これらのピークは、捕集剤を抽出溶媒で洗浄することによりほぼ完全に除去することができた。（図2）。このことから、捕集管はあ

あらかじめ洗浄してからサンプリングに用いることとした。

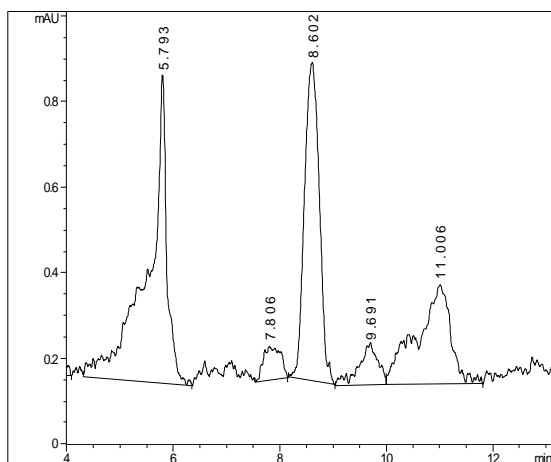


図1 洗浄前のクロマトグラム

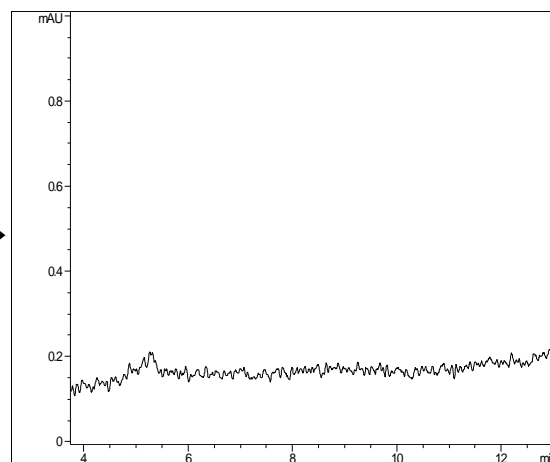


図2 洗浄後のクロマトグラム

## 5. 破過

後述する「10. 添加回収率（通気試験）」の結果より、捕集管は、添加量1319  $\mu\text{g}$ までは破過が生じないことを確認した。

## 6. 脱着率

0.51  $\mu\text{g}$ 、60.9  $\mu\text{g}$ 及び1319  $\mu\text{g}$ の 2-クロロフェノールをそれぞれ添加した捕集管に、室内空気（室温17~18、湿度30~40%）を毎分5 Lの吸引速度で10分間通気し、冷蔵庫（5）で1日間保存した後、分析した（表3）。

いずれの濃度においても、97~101%の良好な脱着率が得られた。

表3 脱着率

添加量 ( $\mu\text{g}$ )	脱着率(%)		
	mean	$\pm$	SD(%)
0.51	97.4	$\pm$	2.6
60.9	100.4	$\pm$	1.0
1319	100.7	$\pm$	0.5

n=5

## 7. クロマトグラム等

2-クロロフェノール標準液（アセトニトリル/水=50/50ベース）のクロマトグラムを図3に、2-クロロフェノールのUV吸収スペクトルを図4に示す。

2-クロロフェノールのUV最大吸収波長は、200 nm付近であるが、妨害の受け易さおよびS/N比などを考慮して、定量波長を275 nmとした。

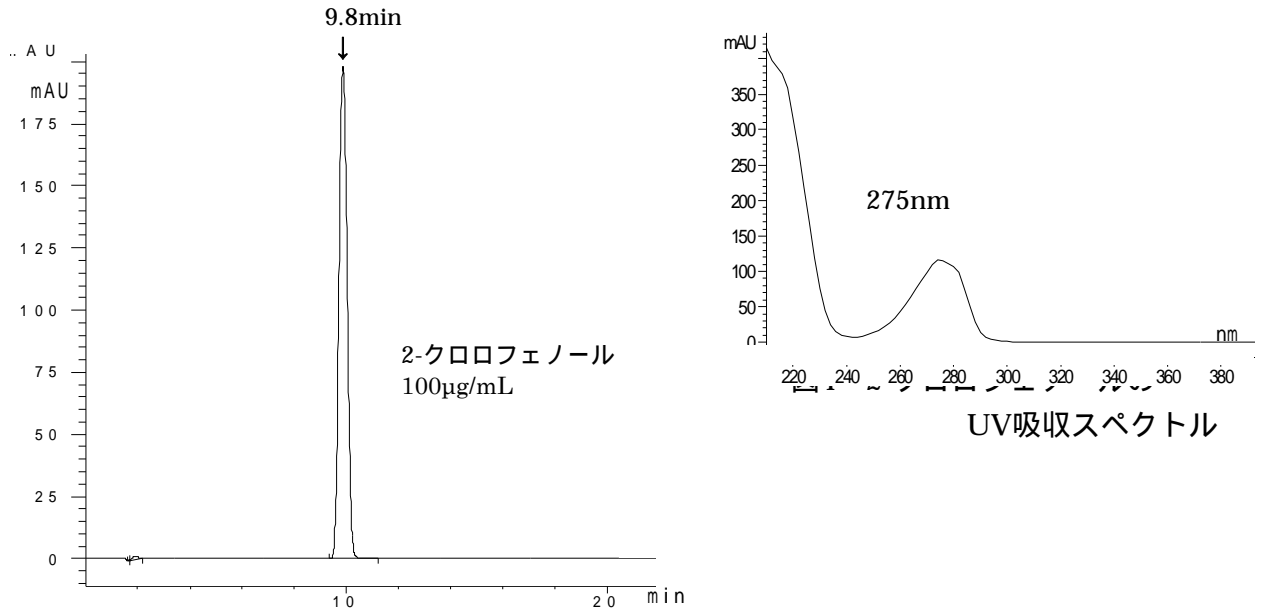


図3 2-クロロフェノール標準液のクロマトグラム

### 8. 検量線

2-クロロフェノールの標準溶液をアセトニトリルで希釈、0.1 ~ 500 µg/mL (0.1、0.2、1.0、2.0、10、20、100、200、500 µg/mL)の9段階の標準系列を調製し、検量線の直線性について確認を行った。

その結果、0.1 ~ 500 µg/mLの範囲で良好な直線性が得られた (図5)。

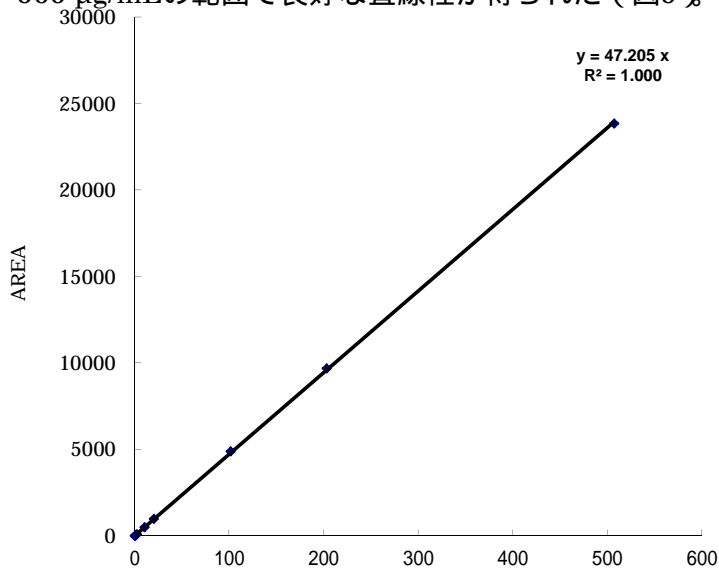


図5 検量線

### 9. 検出下限および定量下限

検量線作成で調製した標準溶液の最低濃度0.1 µg/mL (0.5 L/minで4時間測定した場合:気中濃度0.0042 mg/m<sup>3</sup>)を10サンプル分析し、その標準偏差 (SD) を算出した。得られた標準偏差から検量線を用い、次式より検出下限および定量下限を求めた。

$$\text{検出下限} (\mu\text{g/mL}) = 3\text{SD} / a$$

$$\text{定量下限} (\mu\text{g/mL}) = 10\text{SD} / a$$

aは検量線の傾き

その結果、検出下限および定量下限は表4に示すとおりとなったが、これらの濃度ではクロマトグラム上のピークの十分なS/N比が得られない。よって、本検討における検出下限を0.03  $\mu\text{g/mL}$ 、定量下限を0.1  $\mu\text{g/mL}$ とした。

また、この検出下限の0.03  $\mu\text{g/mL}$ および定量下限の0.1  $\mu\text{g/mL}$ から計算される個人ばく露濃度測定及び作業環境測定における気中濃度を表5に示す。

表4 検出下限および定量下限

測定数	測定値( $\mu\text{g/mL}$ )
1	0.114
2	0.123
3	0.122
4	0.113
5	0.113
6	0.117
7	0.113
8	0.104
9	0.112
10	0.110
平均	0.114
標準偏差(SD)	0.0050
検出下限(3SD)	0.015
定量下限(10SD)	0.050

表5 検出下限および定量下限の気中濃度

液濃度( $\mu\text{g/mL}$ )	気中濃度( $\text{mg/m}^3$ )	
	作業環境測定 採気量:5 L	個人ばく露濃度測定 採気量:120 L
検出下限 0.03	0.030 (0.0057 ppm)	0.0013 (0.00024 ppm)
定量下限 0.1	0.10 (0.019 ppm)	0.0042 (0.00079 ppm)

#### 10 . 添加回収率 (通気試験)

「6 . 脱着率」の操作と同様に、捕集管に2-クロロフェノール0.51  $\mu\text{g}$ 、60.9  $\mu\text{g}$ 及び1319  $\mu\text{g}$ をそれぞれ添加後、室内空気(室温15~16、湿度60~70%)を毎分5 Lの吸引速度で240分間連続通気し、冷蔵庫(5)で1日間保存したものを分析した。

その結果、90%以上の良好な回収率が得られた(表6)。

表6 添加回収率（通気試験）

添加量 ( $\mu\text{g}$ )	回収率(%)		
	mean	$\pm$	SD(%)
0.51	96.0	$\pm$	1.9
60.9	99.3	$\pm$	0.6
1319	100.6	$\pm$	0.9

n = 5

### 1.1 保存性

捕集管に2-クロロフェノール0.51  $\mu\text{g}$ 、60.9  $\mu\text{g}$ および1319  $\mu\text{g}$ をそれぞれ添加後、室内空気（室温17~18℃、湿度30~40%）を毎分5Lの吸引速度で10分間通気した。その後、冷蔵庫（5℃）で保存し、0、1、3、5、7日後にそれぞれ抽出後、分析し、保存性を調べた。

その結果、すべての濃度において、調製日を基準（0日後）として、1、3、5、7日後の保存率は95%以上であり、7日後（8日間）まで保存可能であることが確認された（表7,図6）。

表7 保存性安定性

添加量 ( $\mu\text{g}$ )	保存日数 (日)	保存率(%)		
		mean	$\pm$	SD(%)
0.51	0	99.9	$\pm$	1.4
	1	97.9	$\pm$	3.1
	3	96.8	$\pm$	4.6
	5	101.5	$\pm$	7.1
	7	99.9	$\pm$	3.2
60.9	0	100.5	$\pm$	0.5
	1	100.2	$\pm$	1.4
	3	100.9	$\pm$	0.5
	5	100.3	$\pm$	1.1
	7	100.0	$\pm$	0.2
1319	0	101.1	$\pm$	0.3
	1	100.7	$\pm$	0.6
	3	101.1	$\pm$	0.8
	5	100.1	$\pm$	0.4
	7	100.5	$\pm$	0.4

n=3

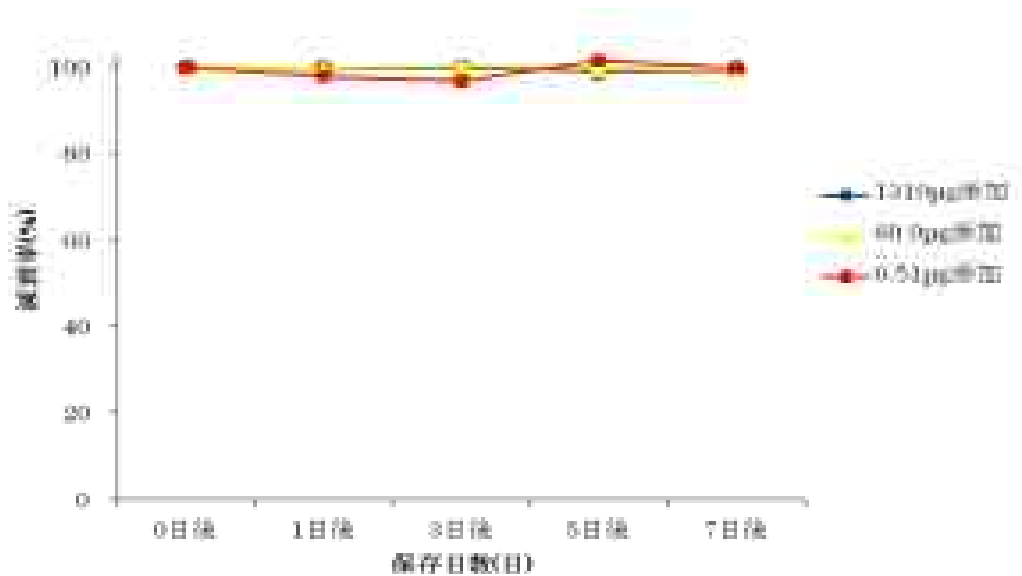


図6 保存安定性

## 1.2. まとめ

検量線は、2-クロロフェノールの標準溶液0.1～500 µg/mL (0.1、0.2、1.0、2.0、10、20、100、200、500 µg/mL)の濃度範囲において、良好な直線性が得られた。

脱着率は97～101%で良好な結果であった。

4時間（採取量120 L）の通気試験において、回収率96～101%で良好な結果であった。

保存性試験において7日後の保存率は95%以上であり、8日間保存可能であることが確認された。

本検討の結果、2-クロロフェノールを低濃度まで良好に測定・分析できることが確認できた。以上の検討結果を標準測定分析法として別紙にまとめた。

## 1.3. 参考文献

- 1) 製品安全データシート 安全衛生情報センター
- 2) NIOSH methods No.2014



(別紙)

2-クロロフェノール標準測定分析法

化学式：C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ClO	分子量：128.56	CASNo：95-57-8
許容濃度等 日本産業衛生学会：未設定 米国産業衛生専門家会議：未設定 管理濃度：未設定	物性等 沸点：175 融点：9.3~9.8 蒸気圧：230Pa(20 ) 形状：常温・常圧では液体。	
別名：o-クロロフェノール、2-クロロ-1-ヒドロキシベンゼン		
サンプリング	分析	
サンプラー：InertSep Slim-J PLS-3 230mg GLサイエンス株式会社 サンプリング流量：0.5L/min サンプリング時間：4時間(120L) 保存性：冷蔵庫(5 )で少なくとも8間は変化 がないことを確認。	分析方法：高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) 脱着：アセトニトリル 5 mL (抽出液と超純水を等量混合する。) 機器：Agilent 1100Series	
精度	分析条件	
脱着率；添加量 0.51µgの場合 97.4±2.6% 60.9µgの場合 100.4±1.0% 1319µgの場合 100.7±0.5%	カラム：InertSustain C18 ID4.6 mm×150 mm, 5 µm カラム温度：40 移動相：アセトニトリル/水 = 30 / 70 流量：1 mL/min 注入量：100 µL 検出器：UV 測定波長：275 nm 分析時のリテンションタイム 対象物質：9.80 min付近	
回収率；添加量(4時間) 0.51µgの場合 96.0±1.9% 60.9µgの場合 99.3±0.6% 1319µgの場合 100.6±0.9%	検量線：0.1 ~ 500 µg/mLの範囲で直線性が 得られている。	
定量下限(10σ) 0.1µg/mL 0.10 mg/m <sup>3</sup> 作業環境測定(採気量：5 L) 0.0042 mg/m <sup>3</sup> ばく露調査測定(採気量：120 L)	定量法：絶対検量線法	
検出下限(3σ) 0.03µg/mL 0.03 mg/m <sup>3</sup> 作業環境測定(採気量：5 L) 0.0013 mg/m <sup>3</sup> ばく露調査測定(採気量：120 L)		
適用：		
妨害：捕集管のブランク試験で2-クロロフェノールの保持時間付近に妨害ピークが存在する場合は、洗浄が必要。		

作成日；平成27年2月28日