

# LC-MS/MS による魚及び消毒液中のクロロフェノール類分析法

佐藤秀樹・常松順子・松永美樹・河野嘉了・田中志歩

福岡市保健環境研究所保健科学課

## Analysis of Chlorophenol Compounds in Fish and Disinfectant by LC-MS/MS

Hideki SATO, Junko TSUNEMATSU, Miki MATSUNAGA,  
Yoshinori KAWANO and Shiho TANAKA

Health Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

### 要約

市内保健所から異臭事案対応のため、魚及び殺菌目的で使用する次亜塩素酸ナトリウム溶液中のクロロフェノール類 5 項目の分析依頼があったことから分析法の検討を行った。高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計を用い、LC 条件は逆相クロマトグラフィーを用いたグラジエント分析とした。MS 条件は、APCI 法を用いることで臭気の閾値が低い項目にも対応できるようにした。試験溶液の調製は、魚ではメタノール抽出後、HLB カートリッジで精製を行い、次亜塩素酸ナトリウム溶液では L-アスコルビン酸で遊離残留塩素を除去後、ろ過を行った。クロロフェノール類 5 項目の定量下限を求めたところ、0.033~0.081 ng/g となり、臭気の閾値が 1 ng/g と最も低い 2,6-ジクロロフェノールを分析するのに十分な感度が得られた。性能評価試験として、クロロフェノール類 5 項目をそれぞれ 1 ng/g と 10 ng/g になるよう添加し、5 併行で添加回収試験を行ったところ、良好な結果が得られたことから、有効な分析法であることが確認できた。

**Key Words** : クロロフェノール chlorophenol , 魚 fish, 次亜塩素酸ナトリウム sodium hypochlorite, 高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 LC-MS/MS

### 1 はじめに

食品の異味異臭は、健康被害につながる腐敗や異物混入などの衛生事案と混同されるおそれがあり、実際には安全性に問題がなくても、社会問題化しやすい事案である<sup>1)</sup>。クロロフェノール類は、異臭の原因物質として知られており、食品で検出した事例として、塩蔵マッシュルーム（食品に付着したフェノールと次亜塩素酸又は残留塩素との反応で生成と推定）<sup>2)</sup>、人参（人参成分と次亜塩素酸ナトリウム溶液との反応で生成）<sup>3)</sup>、甘納豆（製造所内配管のシール材・塗料から溶出したフェノール類と残留塩素が反応し生成と推定）<sup>4)</sup>などの報告があり、次亜塩素酸又は残留塩素存在下でのクロロフェノール類生成が推定されている。次亜塩素酸ナトリウム溶液による殺菌は、大量調理施設衛生管理マニュアル

<sup>5)</sup>において、魚介類、食肉類、野菜、果物に対して必要に応じ使用することが示されており、一般的に使用されている。

市内保健所から、魚の下処理において殺菌目的で使用する次亜塩素酸ナトリウム溶液と魚中の成分との反応によるクロロフェノール類生成を検証するため、魚及び次亜塩素酸ナトリウム溶液中のクロロフェノール類 5 項目の分析依頼があった。そこで、2-クロロフェノール（以下、「2-MCP」とする。）、4-クロロフェノール（以下、「4-MCP」とする。）、2,4-ジクロロフェノール（以下、「2,4-DCP」とする。）、2,6-ジクロロフェノール（以下、「2,6-DCP」とする。）、2,4,6-トリクロロフェノール（以下、「2,4,6-TCP」とする。）の高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計（以下、「LC-MS/MS」とする。）を用いた分析法の検討を行ったの

で報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 試料

魚の種類は保健所の依頼に基づきサケとし、市販のサケ切身をフードプロセッサで混合均質化したものを試料とした。

次亜塩素酸ナトリウム溶液は、高杉製薬社製 6%次亜塩素酸ナトリウムを、超純水で希釈し試料とした。濃度は、大量調理施設衛生管理マニュアルで、魚介類の殺菌に使用するときの濃度として示された 200 mg/L とした。

### 2.2 標準品・試薬等

混合標準液：富士フィルム和光純薬社製 1,000 mg/L フェノール類 6 種混合標準液（アセトン溶液）を用いた。

混合標準溶液：混合標準液をメタノールで希釈し、10 mg/L を調製した。

添加回収用混合標準溶液：混合標準溶液をメタノールで希釈し、10 ng/mL, 100 ng/mL, 1,000 ng/mL を調製した。

検量線用混合標準溶液：混合標準溶液をメタノール及び超純水（1：1）混液で希釈し、0.05～10 ng/mL の範囲内で段階的に調製した。

マトリックス添加検量線用混合標準溶液：検量線用混合標準溶液 100  $\mu$ L に、魚試料から調製した試験溶液 900  $\mu$ L を加え、0.1～1 ng/mL の範囲で調製した。

メタノール：試験溶液調製時の試料からの抽出時には、関東化学社製残留農薬試験用を用いた。標準溶液調製、試験溶液調製時の精製工程以後及び LC-MS/MS の移動相用には日本ハネウェル社製 LC-MS 用を用いた。

1 mol/L 塩酸：富士フィルム和光純薬社製容量分析用を用いた。

L-アスコルビン酸：関東化学社製特級を用いた。

蒸留水：アドバンテック東洋社製 RFD240 により製造した蒸留水を用いた。

超純水：アドバンテック東洋社製 RFU666HA により製造した超純水を用いた。

### 2.3 装置・器具等

振とう機：タイテック社製 RECIPRO SHAKER SR-2w

遠心機：久保田製作所製 フロア型冷却遠心機 S700FR

超音波洗浄器：アズワン社製 MCS-10

吸引マニホールド：ジーエルサイエンス社製イナートセップ吸引マニホールド

HLB カートリッジ：ジーエルサイエンス社製 InertSep HLB FF（粒子径 60  $\mu$ m, 充填量 200 mg, カートリッジサイズ 20 mL）を用い、あらかじめメタノール 10 mL 及び蒸留水 10 mL でコンディショニングした後、使用した。

メンブレンフィルター：アドバンテック東洋社製の 13 HP020AN（孔径 0.2  $\mu$ m）

PP 製遠沈管：エッペンドルフ社製コニカルチューブ（50 mL 容, 15 mL 容）

バイアル：アジレント・テクノロジー社製 2 mL 不活性化ガラス

LC-MS/MS：

LC部；エービー・サイエックス社製 EXION LC AD SYSTEM

MS部；エービー・サイエックス社製 QTRAP6500+

### 2.4 測定条件

LC-MS/MS の測定条件を表 1 に、対象化合物の測定イオン等を表 2 に示す。

### 2.5 定量

検量線用混合標準溶液、各試験溶液 20  $\mu$ L を LC-MS/MS へ注入し、絶対検量線法でクロロフェノール類を定量した。なお、添加回収試験において、添加回収用混合標準溶液添加前の試料（以下、「ブランク」とする。）で定量値に影響を及ぼすピーク（添加濃度に相当するピーク面積値の 10%以上<sup>6)</sup>）を認める場合は、マトリックス添加検量線用混合標準溶液を用いて定量した。

### 2.6 定量下限値の算出

検量線用混合標準溶液 0.1 ng/mL を 10 回繰り返し測定し、得られたクロマトグラムの S/N 比が 10 以上であることを確認した後、分析値の標準偏差の 10 倍を試料換算することで定量下限値を算出した。

### 2.7 試験溶液の調製

#### 2.7.1 魚試料

試料 5 g を 50 mL 容 PP 製遠沈管に量り取り、メタノール 10 mL を加え、5 分間超音波及び 5 分間振とう抽出を行った後、3,000  $\times$  g で 10 分間遠心分離し、上清をデカンテーションで 100 mL 比色管に採取した。残渣にメタノール 10 mL を加え、同様に抽出操作し、遠心分離後の上清を合わせた。これに蒸留水約 70 mL を加え、1 mol/L 塩酸で pH2 程度に調整後、蒸留水で 100 mL に定容した。この全量を HLB カートリッジに負荷し、蒸留

水 5 mL で洗浄した。通液後の HLB カラムを 3,000 ×g で 5 分間遠心機にて脱水した後、10 分間吸引マニホールドで通気乾燥を行った。メタノールを正確に 5 mL 加え、シリンジを用い全量を 15 mL 容 PP 製遠沈管に溶出した。溶出液に正確に超純水を 5 mL 添加し、転倒混和後、0.2 μm メンブレンフィルターでろ過したものを試験溶液とした。試験溶液は、必要に応じメタノール及び超純水 (1 : 1) 混液で希釈することとした。分析フローを図 1 に示す。

### 2.7.2 次亜塩素酸ナトリウム溶液試料

次亜塩素酸ナトリウム溶液試料に L-アスコルビン酸を適量添加し、DPD 試薬で遊離残留塩素の除去を確認した後、0.2 μm メンブレンフィルターでろ過した。ろ液 0.5 mL にメタノール 0.55 mL 添加し、1 mol/L 塩酸 0.05 mL で pH2 程度に調整したものを試験溶液とした。試験溶液は、必要に応じメタノール及び超純水 (1 : 1) 混液で希釈することとした。分析フローを図 2 に示す。

## 2.8 試料マトリックスの分析への影響

クロロフェノール類を含まない魚試料を用いて調製した試験溶液 900 μL と 100 ng/mL 検量線用混合標準溶液 100 μL を混合し、10 ng/mL マトリックス添加混合標準溶液とした。これと同濃度の検量線用混合標準溶液に対するピーク面積比を求めて試料マトリックスの分析への影響を確認した。

## 2.9 添加回収試験

### 2.9.1 魚試料

魚試料に添加回収用混合標準溶液を 1 ng/g 及び 10 ng/g になるように添加し、30 分間放置後、「2.7 試験溶液の調製」に従い、5 併行で操作を行い、試験溶液を調製した。

### 2.9.2 次亜塩素酸ナトリウム溶液試料

試料に添加回収用混合標準溶液を 1 ng/mL 及び 10 ng/mL になるように添加し、30 分間放置後、「2.7 試験溶液の調製」に従い、5 併行で操作を行い、試験溶液を調製した。

表 1 LC-MS/MS 測定条件

分析カラム	ジーエルサイエンス社製 InertSustain C18 HP (2.1 mm×100 mm, 3 μm)
流速	0.3 mL/min
注入量	20 μL
カラム温度	40 °C
移動相	A液：超純水 B液：メタノール
グラジエント条件	B液：40%(0 min)→90% (6 min) →90% (8 min) →40% (8.01 min) →40% (10 min)
測定モード	MRM
イオン化モード	APCI (-)
カーテングス (CUR)	30 psi
脱溶媒温度 (TEM)	400°C
ネブライザーガス (GS1)	20 psi
ターボガス (GS2)	0 psi
コリジョンガス (CAD)	9 psi
イオンスプレー電圧 (IS)	-4,500 V

表 2 対象化合物の測定イオン等

No.	化合物名	保持時間 (min)	Q1(m/z)	定量イオン			確認イオン		
				Q3(m/z)	DP(V)	CE(V)	Q3(m/z)	DP(V)	CE(V)
1	2-MCP	3.4	126.8	34.9	-41	-33	90.9	-41	-21
2	4-MCP	3.8	126.8	34.9	-41	-30	90.9	-41	-21
3	2,4-DCP	4.9	160.8	34.9	-47	-36	124.9	-47	-30
4	2,6-DCP	4.3	160.8	34.9	-47	-36	124.9	-47	-33
5	2,4,6-TCP	5.8	194.8	35.0	-67	-42	158.8	-67	-33

DP : Declustering Potential CE : Collision Energy

### 3 結果及び考察

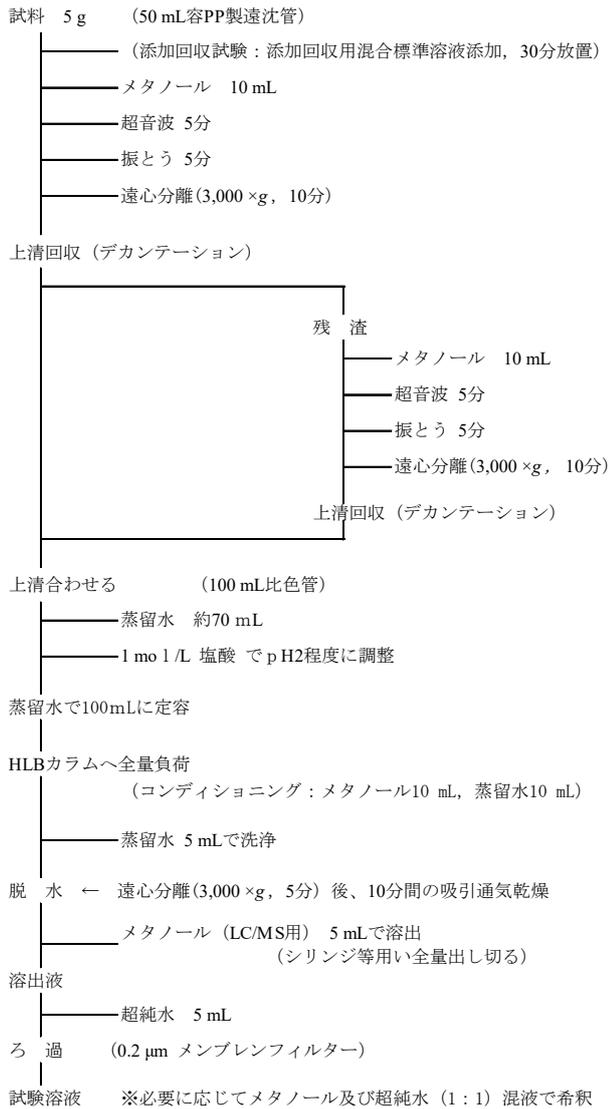


図1 魚試料の試験溶液調製法

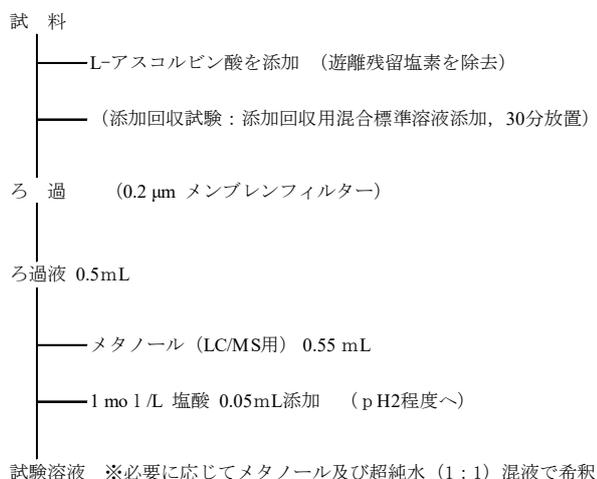


図2 次亜塩素酸ナトリウム溶液試料の試験溶液調製法

#### 3.1 MS 及び LC 条件の検討

MS 条件について石井ら<sup>2)</sup>は、クロロフェノール類をエレクトロスプレー (ESI) 法で分析した場合、強度の高い特徴的なプロダクトイオンスペクトルが得られないこと、2-MCP のイオン化効率が悪く数 ng/g の測定が不可能なことを報告している。今回の測定対象がタンパク質や脂質などのマトリックス成分を含む魚であり、閾値が低い臭気物質を分析対象としているため、選択性と低濃度分析が可能な方法が求められる。そこで、水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法<sup>7)</sup> (以下、「告示検査法」とする。)を参考に、強度の高いプロダクトイオンスペクトルの取得が可能な大気圧化学イオン化 (APCI) 法 (ネガティブモード) でイオン化させ、MRM モードで分析することとした。

LC 条件は、告示検査法<sup>7)</sup>を参考に、移動相は超純水とメタノールを使用し、分析カラムは ODS カラムを使用することとした。ODS カラムは、農薬等の検査で日常的に使用しているジーエルサイエンス社製 InertSustain C18 HP (2.1×100 mm, 3 μm) を選択することで、突発的に発生する苦情・相談にも対応できるようにした。

測定する試験溶液はメタノール 100%溶液で測定した場合、5 項目すべてで良好な形状のピークが得られず、分離も不十分であった。告示検査法<sup>7)</sup>では、試験溶液の調製をメタノールの 4 倍量の精製水を加えて行うこととしているが、今回は食品中の微量のクロロフェノール類を分析するため、希釈倍率を抑えたメタノール及び超純水 (1:1) 混液で調製した。この条件で検量線用混合標準溶液 0.1 ng/mL を分析したところ、各項目のピークの分離度は改善し、良好なピーク形状及び感度が得られることを確認した。クロマトグラムを図 3 に示す。

#### 3.2 検量線

検量線用混合標準溶液を「2.4 測定条件」に従い分析し、各項目の定量イオンのピーク面積値を用いて、絶対検量線を作成した。その結果、0.05~10 ng/mL の範囲で直線性が確認でき、決定係数は 0.999 以上であった。検量線を図 4 に示す。

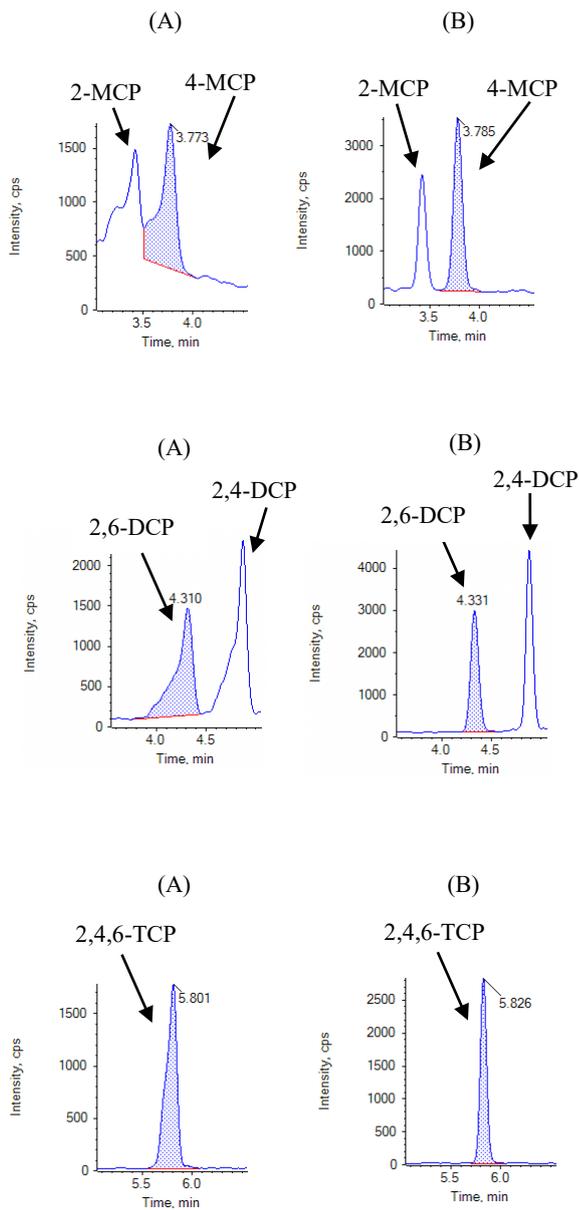


図3 0.1 ng/mL クロロフェノール類のクロマトグラム  
(A)100%メタノールで調製  
(B)メタノール及び超純水 (1:1) 混液で調製

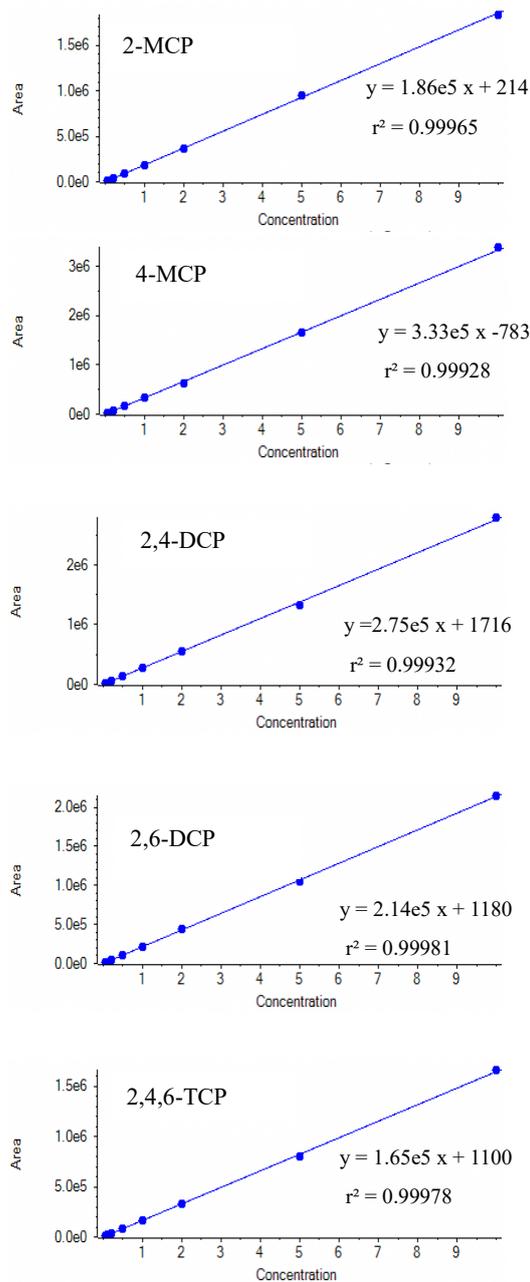


図4 検量線

### 3.3 定量下限値の算出

クロロフェノール類の臭気の閾値は、深谷ら<sup>3)</sup>が調理缶詰モデルを用いて検討しており、2-MCP 及び 2,6-DCP で 1~10 ng/g, 4-MCP 及び 2,4-DCP で 10~100 ng/g, 2,4,6-TCP で 1,000~10,000 ng/g と報告している。

10 回の繰り返し分析値から定量下限値を求めた結果及び分析した 0.1 ng/mL 検量線用混合標準溶液の S/N 比を表 3 に示す。いずれの項目も臭気の閾値より低濃度を十分に測定可能な定量下限値であった。

表 3 定量下限値の算出結果 (n=10)

項目名	2-MCP	4-MCP	2,4-DCP	2,6-DCP	2,4,6-TCP
平均値(ng/mL)	0.104	0.101	0.096	0.096	0.095
標準偏差	0.0026	0.0041	0.0017	0.0025	0.0022
併行精度 RSD%	2.5	4.0	1.7	2.6	2.4
定量下限値(ng/g) (試料換算: 魚)	0.052	0.081	0.033	0.051	0.045
定量下限値(ng/mL) (試料換算: 次亜※1)	0.057	0.089	0.037	0.056	0.049
S/N 比 (平均) ※2	108	145	190	124	920

※1 次亜塩素酸ナトリウム溶液      ※2 0.1 ng/mL 検量線用混合標準溶液

### 3.4 前処理方法の検討

#### 3.4.1 魚試料の前処理

魚試料の前処理方法は、石井ら<sup>2)</sup>の試験溶液調製方法を参考にした。保健所の依頼が魚表面でクロロフェノール類が生成することを想定したものであったことから、不要なマトリックス成分の溶出を抑えるため、最初の抽出方法をホモジナイズから超音波抽出に変更し、HLB カートリッジからメタノール溶出後の濃縮作業を省略して、前処理の簡易化・迅速化を検討した。使用する試薬や器具を少なくすることで、突発的に分析が必要になった時にも対応しやすくなるようにした。

まず、試料からの抽出方法の検討を行った。超音波抽出の時間は、その後の振とう抽出時間と同じ5分間とした。クロロフェノール類は臭気物質でもあるため、抽出方法による揮発等の損失の有無を確認することとした。具体的には、10 ng/mL 標準溶液（メタノール溶液）10 mL を5分間超音波処理した検体、30秒ホモジナイズした検体及び5分間振とうした検体をそれぞれ調製し分析した。分析後の確認は、各検体を同量の超純水で希釈したものを分析するため、5 ng/mL 検量線用混合標準溶液のピーク面積値と比較した。結果を表4に示す。いずれの抽出方法でも混合標準溶液と同等のピーク面積値となり、結果に影響がないことが確認できたため、抽出方法は、超音波と振とう抽出の組み合わせを採用した。

表4 各抽出方法によるピーク面積値

	ピーク面積値			5 ng/mL 標準溶液
	超音波 (5分)	ホモジナイズ (30秒)	振とう (5分)	
2-MCP	8.6×10 <sup>4</sup>	8.5×10 <sup>4</sup>	8.6×10 <sup>4</sup>	8.3×10 <sup>4</sup>
4-MCP	1.5×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>5</sup>
2,4-DCP	1.4×10 <sup>5</sup>	1.3×10 <sup>5</sup>	1.4×10 <sup>5</sup>	1.3×10 <sup>5</sup>
2,6-DCP	1.0×10 <sup>5</sup>	9.8×10 <sup>4</sup>	9.5×10 <sup>4</sup>	9.4×10 <sup>4</sup>
2,4,6-TCP	7.4×10 <sup>4</sup>	7.5×10 <sup>4</sup>	7.5×10 <sup>4</sup>	7.4×10 <sup>4</sup>

次に、精製工程に用いる HLB カートリッジの水分除去・乾燥の検討を行った。石井ら<sup>2)</sup>は HLB カートリッジ (200 mg) からのクロロフェノール類のメタノール溶出において、固相に残存する水分を10分間吸引通気で除去・乾燥することで固相に有機溶媒が浸透しやすくなり、回収率が約10%向上したと報告している。小高ら<sup>8)</sup>は、酢酸エチル溶出 (GC/MS による分析) ではあるが、測定結果の良好な再現性を得るためには、HLB カートリッジ (225 mg) を90分間程度の空気通気により乾燥する必要があると報告している。90分間の乾燥時間は長いため、10分間の吸引通気前に、遠心機で3,000 ×g、5分間の脱水を加えることで、短時間で HLB カートリッジの脱水・乾燥を行い、回収率の向上を検討

した。具体的には、10 ng/mL 混合標準溶液 (20%メタノール溶液) 5 mL を HLB カートリッジに負荷し、蒸留水 5 mL で洗浄後、10分間吸引通気した場合と10分間吸引通気前に遠心機脱水を加えた場合の回収率を比較した (n=1)。溶出はメタノール 5 mL で行い、これに5 mL の超純水を加えたものを検体とした。表5に示す結果のとおり、遠心機脱水を加えることで、回収率が向上したことから、前処理に遠心機脱水を加えることとした。

表5 固相の脱水・乾燥方法の違いによる回収率

	回収率 (%)	
	吸引通気のみ	遠心機+吸引通気
2-MCP	89	97
4-MCP	95	100
2,4-DCP	87	100
2,6-DCP	93	96
2,4,6-TCP	86	94

#### 3.4.2 次亜塩素酸ナトリウム溶液試料の前処理

試料は、魚の漬け込み殺菌に用いた次亜塩素酸ナトリウム溶液であり、「3.3 定量下限値の算出」の結果から閾値として最も低濃度の1 ng/mL を十分に測定可能であることから濃縮作業は行わず、メンブレンフィルターによるろ過のみの前処理とした。酸性物質であるクロロフェノール類の解離を抑制するために、ろ過した試料0.5 mL に対し、メタノール0.55 mL と1 mol/L 塩酸0.05 mL 加えたものを試験溶液とした。

#### 3.5 魚試料マトリックスの分析への影響

魚試料のタンパク質や脂質等マトリックス成分によるイオン化抑制又は促進の影響を調べた。

結果を表6に示す。ピーク面積比は0.95~1.15であり、イオン化への影響はほとんどないと考えられた。

表6 各10 ng/mL 混合標準溶液でのピーク面積比

	2-MCP	4-MCP	2,4-DCP	2,6-DCP	2,4,6-TCP
面積比 (a/b) ※	1.06	1.02	0.95	1.04	1.15

※a: マトリックス添加混合標準溶液, b: 検量線用混合標準溶液

#### 3.6 添加回収試験結果

クロロフェノール類の閾値付近での回収率を確認するため、添加濃度は1 ng/g (1 ng/mL) とその10倍量とした。魚ブランク試験溶液の2-MCP, 4-MCP のピーク面積値が、0.5 ng/g 検量線用混合標準溶液 (1 ng/g 添加試料の試験溶液濃度に相当) のピーク面積値の18%程度検出したことから、魚試料への1 ng/g 添加時の定量は全

成分でマトリックス添加検量線用混合標準溶液を用い、それ以外は検量線用混合標準溶液を用いた。

評価は、精度管理の一般ガイドライン<sup>9)</sup>に準じて、回収率を評価した。

表 7~10 に結果を、図 5~10 に試料ブランクと 1 ng/g 又は 1 ng/mL 添加試料のクロマトグラムを示す。クロロフェノール類 5 項目すべてにおいて回収率の目標値 (70~120%) を満たすことを確認した。

以上の結果から、今回検討した分析法は、魚試料及び次亜塩素酸ナトリウム溶液試料中のクロロフェノール類 5 項目の分析に有効な方法であることが確認できた。

表 7 魚試料へ 1 ng/g 添加時の回収試験結果 (n=5)

	回収率 (%)	併行精度 (RSD%)
2-MCP	92	4.4
4-MCP	97	4.1
2,4-DCP	94	2.8
2,6-DCP	93	3.4
2,4,6-TCP	87	5.9

表 8 魚試料へ 10 ng/g 添加時の回収試験結果 (n=5)

	回収率 (%)	併行精度 (RSD%)
2-MCP	88	5.8
4-MCP	95	4.2
2,4-DCP	89	4.1
2,6-DCP	95	2.7
2,4,6-TCP	90	4.0

表 9 次亜塩素酸ナトリウム溶液試料へ 1 ng/mL 添加時の回収試験結果 (n=5)

	回収率 (%)	併行精度 (RSD%)
2-MCP	102	4.7
4-MCP	100	2.3
2,4-DCP	105	2.7
2,6-DCP	109	2.4
2,4,6-TCP	118	2.2

表 10 次亜塩素酸ナトリウム溶液試料へ 10 ng/mL 添加時の回収試験結果 (n=5)

	回収率 (%)	併行精度 (RSD%)
2-MCP	103	2.4
4-MCP	102	1.6
2,4-DCP	104	0.8
2,6-DCP	111	1.2
2,4,6-TCP	118	1.4

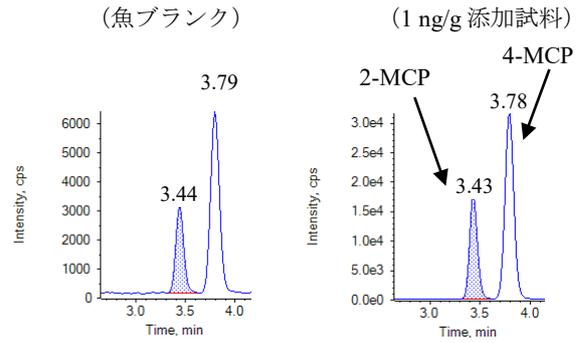


図 5 魚ブランクと 1 ng/g 添加試料 (2-MCP, 4-MCP)

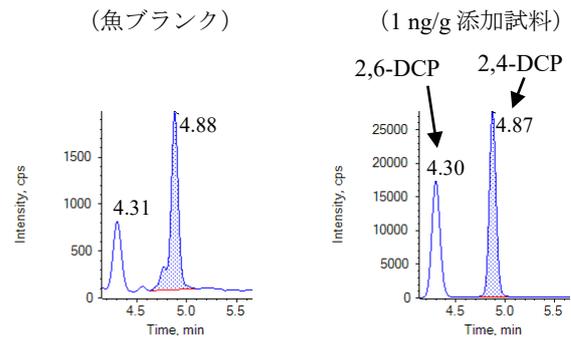


図 6 魚ブランクと 1 ng/g 添加試料 (2,4-DCP, 2,6-DCP)

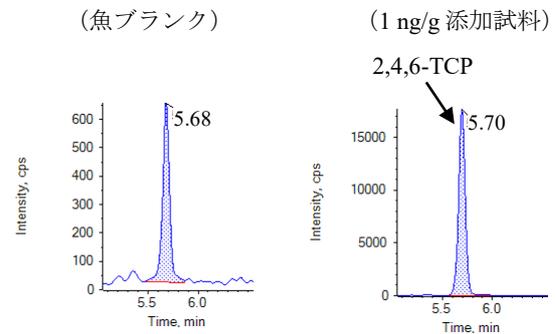


図 7 魚ブランクと 1 ng/g 添加試料 (2,4,6-TCP)

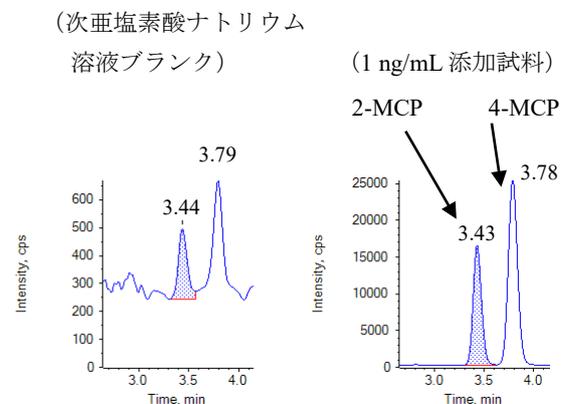


図 8 次亜塩素酸ナトリウム溶液ブランクと 1 ng/mL 添加試料 (2-MCP, 4-MCP)

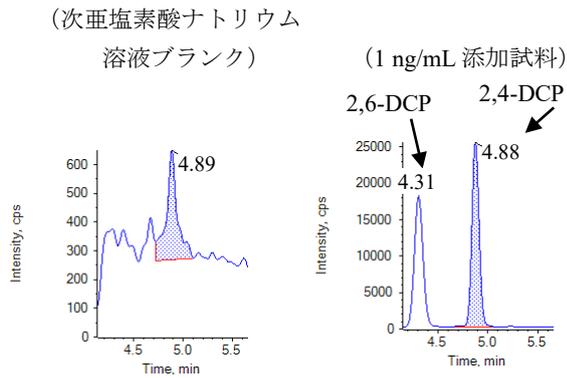


図9 次亜塩素酸ナトリウム溶液ブランクと  
1 ng/mL 添加試料 (2,4-DCP, 2,6-DCP)

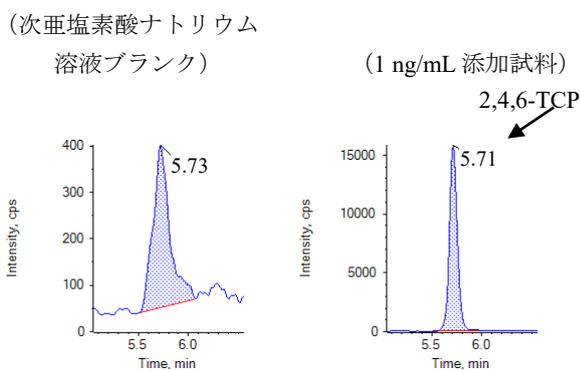


図10 次亜塩素酸ナトリウム溶液ブランクと  
1 ng/mL 添加試料 (2,4,6-TCP)

#### 4 まとめ

魚試料及び次亜塩素酸ナトリウム溶液試料中に含まれるクロロフェノール類 5 項目 (2-MCP, 4-MCP, 2,4-DCP, 2,6-DCP, 2,4,6-TCP) を LC-MS/MS で定量分析する方法を検討した。LC-MS/MS 分析におけるイオン化法で、農薬分析等多くの分析で使用される ESI 法は、クロロフェノール類に対しては強度の高い特徴的なプロダクトイオンスペクトルが得られず、十分な感度が得られない項目があるとの報告<sup>2)</sup>があることから、APCI 法を用いた。これにより、5 項目すべてで強度の高いプロダクトイオンスペクトルが得られた。

魚試料の前処理法は、石井ら<sup>2)</sup>の方法を参考としたが、魚表面で次亜塩素酸ナトリウム溶液との反応によりクロロフェノール類が生成することを想定した検討であるため、試料からの抽出方法をホモジナイズと振とう抽出を組み合わせた方法から変更し、超音波と振とう抽出を組み合わせた方法とした。また、HLB カートリッジを

用いた精製工程では、固相の水分除去・乾燥方法で、吸引マニホールドによる通気乾燥前に遠心機での脱水を加えることで、回収率が向上した。次亜塩素酸ナトリウム溶液試料の前処理法は、精製や濃縮作業は行わず、フィルターろ過を行い、酸性物質であるクロロフェノール類の解離を抑制するための pH 調整のみ行ったものを試験溶液とした。

分析法の性能評価として、臭気の閾値で最も低濃度の 1 ng/g (1 ng/mL) とその 10 倍濃度の 2 濃度での添加回収試験を行った結果、クロロフェノール類 5 項目はいずれの濃度でも精度管理の一般ガイドライン<sup>9)</sup>の回収率の目標値 (70~120%) を満たした。

以上の結果により、今回検討した分析法は、魚試料及び次亜塩素酸ナトリウム溶液試料中のクロロフェノール類 5 項目を定量分析するのに有効な方法であることが確認できた。

#### 文献

- 1)厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課長通知 薬生食監発 0614 第 3 号：牛乳等における異味異臭疑い事案の調査について、平成 30 年 6 月 14 日
- 2)石井里枝，他：食品を汚染したクロロフェノール類の LC/MS による分析，食衛誌 Vol.49(5)，356~360，2008
- 3)深谷哲也，他：人参の次亜塩素酸ナトリウム処理による 2,6-ジクロロフェノールの生成，日本食品工業学会誌，Vol.40(4)，244~249，1993
- 4)荻原勉，他：クロロフェノール類を異臭の原因物質とした甘納豆の苦情事例，東京健安研セ年報，54，227~230，2003
- 5)厚生省生活衛生局長通知 衛食第 85 号：大規模食中毒対策等について，平成 9 年 3 月 24 日
- 6)厚生労働省通知食安発第 1115001 号：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて，平成 19 年 11 月 15 日
- 7)厚生労働省告示 第 261 号：水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法，平成 15 年 7 月 22 日
- 8)小高陽子，他：飲料水中のフェノール類分析過程における水分除去操作の影響，千葉衛研報告，29，56~59，2005
- 9)厚生省生活衛生局食品保健課長通知 衛食第 117 号：食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について，平成 9 年 4 月 1 日