

台所用洗剤における食品混入時の対応について — LC/MS/MSによる洗剤の識別方法の検討 —

林(本松) 由美、安井 玉樹*、森崎 澄江

Addressing dishwashing detergents mixed in food — Examination of how to identify dishwashing detergents by LC/MS/MS —

Yumi Hayashi(Motomatsu), Tamaki Yasui* and Sumie Morisaki

Key Words : 食中毒 Food poisoning, 台所用洗剤 Dishwashing detergents,
LC/MS/MS(高速液体クロマトグラフ/タンデム四重極型質量分析法)

要 旨

台所用洗剤が食品中に混入した場合を想定し、洗剤の中に含まれる界面活性剤の検出が可能かどうかと、製品の推定が行えるかをLC/MS/MSにより検討した。

まず、市販の台所用洗剤を測定したところ、使用されている界面活性剤の特有なピークパターンや濃度比がそれぞれ異なることが判明し、購入した19種類の台所用洗剤を定性識別することができた。

次に、食品から界面活性剤の抽出が行えるかを、洗剤添加回収試験により検討した結果、食品からの回収率は76.9~105.5%と良好であった。

以上のことから、台所用洗剤が食品に混入した場合、その原因究明のために残渣物である食品をLC/MS/MSによって測定することが有用であると考えられた。

は じ め に

過去に発生した毒物入りカレー事件や農薬混入ギョウザ事件のように、事件や事故により食品には様々な化学物質が混入するおそれがあり、それを喫食すると人体に深刻な影響をもたらすことがある。

今回、化学物質における食中毒の危機管理体制を整える一環として、2000年から2009年に全国で発生した食中毒状況について調査した¹⁾。その結果、自然毒を除く化学物質による食中毒では、ヒスタミン、洗剤、油脂の酸化物、銅、農薬の順に患者数が多く、今後も同じような事例が発生するおそれがある。なかでも洗剤は、調理場に常備されている身近な存在であり、実際に、調理中に食用油と洗剤を誤って使用した事例があった。洗剤を摂取した場合の中毒症状は、嘔吐、下痢などの消化器症状や泡によ

る呼吸困難、痙攣が報告されている²⁾。

洗剤による中毒発生時に原因を究明する際、洗剤の有効成分である界面活性剤の種類や量を特定することができれば、食品中に混入した洗剤のメーカー名や個々の製品名が判明すると考えた。しかし、分析対象が酸性の強い胃内容物や、油分・糖類の多い食品であるとき、それらから界面活性剤のみを抽出することは困難が予想された。また、界面活性剤の分析には、呈色試験法、薄層クロマトグラフ試験法、赤外吸収スペクトル法などの手法が報告³⁾⁻⁵⁾されているが、これらの方法は煩雑な前処理を必要としたり、あらゆる種類の界面活性剤を一斉に分析することは難しい方法であった。

そこで、安達らの方法⁶⁾を参考に食品中の界面活性剤を抽出し、定性能力に優れているLC/MS/MSを用いて、緊急時に簡便、かつ迅速にスクリーニングできる方法を検討したので報告する。

*豊肥保健所

材料および方法

1 試料及び試薬

1.1 試料

試料は市販の洗剤19種類（イオン社製：検体番号1、2、花王社製：検体番号3～7、サラヤ製：検体番号8、9、三油脂製：検体番号10、ニッサン石鹼製：検体番号11、P&G社製：検体番号12、13、ライオン社製：検体番号14～19）を用いた。

1.2 試薬及び器材

界面活性剤標準品はメーカー（花王株式会社及び川研ファインケミカル株式会社）から提供を受けたもの（脂肪酸アルカノールアミド：AA、アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム：AES、アルキルグリコシド：AG、アルキルアミンオキシド：AO、脂肪酸カリウム：FAT、アルキルヒドロキシスルホベタイン：HSB、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム：LAS、ポリオキシエチレンアルキルエーテル：POE）を使用した。

メタノールはHPLC用（和光）、他はすべて特級試薬（和光）を用いた。

超純水はAUTOPURE WR700により製造したものを使用した。

精製に使用したOasis HLB(60mg、3mL)はWaters社製、フィルターDISMIC-13HPはMillipore社製を使用した。

2 方法

2.1 試料及び標準液の調整

洗剤及び標準品を溶媒〔メタノール：水（7：3）に最終濃度10mMになるよう酢酸アンモニウムを添加したもの〕で1000倍希釈したものを試料溶液とした。

2.2 LC/MS/MS分析条件

LC-MS装置及び測定条件を下記に示した。

LC部

装置：Agilent1200, カラム：Symmetry C18 (2.1mm i.d.×150mm, 粒子径3.5 μ m, Waters Corp.), カラム温度：30 $^{\circ}$ C, 移動相：溶離液A：10mM酢酸アンモニウム, 溶離液B：メタノール, グラジエント条件：溶離液B 65%～95% (0～20min) 後10min保持, 流速：0.2mL/min, 試

料注入量：10 μ L

MS部

装置：Agilent6460, イオン化モード：ESI+, ESI-, Vcap:4000V, Drying gas：10L/min, 350 $^{\circ}$ C, 装置の制御及びソフトウェア：Mass Hunter (Version B.03.01.)

2.3 界面活性剤の測定方法

標準品8種を用いて定量条件を検討するとともに、さらに詳しく標準品の物質構造情報を得るため、分子イオンのプロダクトイオンスキャンを行った。

2.4 市販洗剤の分析

洗剤の1000倍希釈液を用いてm/z100から800までをスキャンモードによりデータを取得し、各洗剤に含有する界面活性剤及び添加剤などのピークパターンを解析することによる定性を行った。

2.5 食品への洗剤添加試験

洗剤が食品に混入する食中毒の場合、高濃度で混入することが予測されるため、食品に添加する洗剤濃度を低くすると、実際の事例に対応できないおそれがあり、さらに、洗剤に入っている添加剤の影響も確認することができなくなる。したがって、代表的な界面活性剤が入っている4種（検体番号3、8、9、10）の洗剤を混合し、1000倍希釈したものを1mLずつ食品に添加し、図1の操作手順に従い処理した。回収率は、最終処理液の界面活性剤成分のピーク面積値から求めた。

添加回収に用いた食品は、油と洗剤を間違えて調理しやすいきんぴらごぼう、ドレッシング及び洗剤容器と外観が似ているはちみつを用いた。

結果と考察

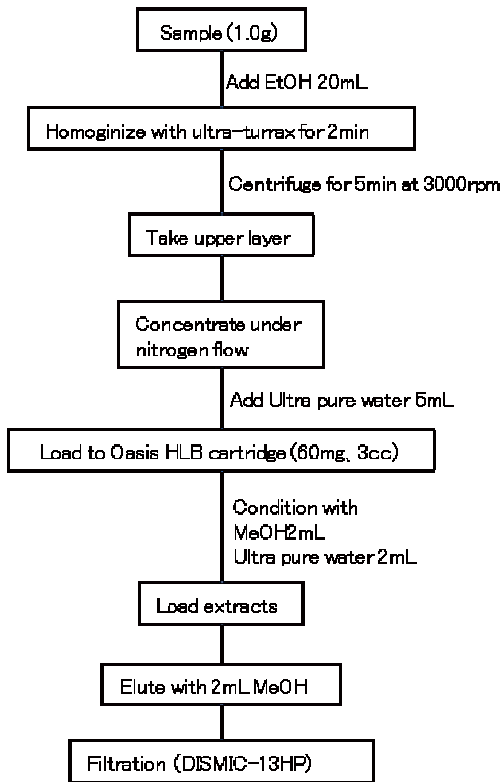


図1 試料前処理法 (フロー)

1 標準品の測定

各標準品の測定条件を設定するにあたって、陽イオン界面活性剤についてはポジティブモード、陰イオン界面活性剤についてはネガティブモードで測定を行ったが、ポジティブモードの中で、非常に感度の悪いものがあった。それについては、プリカーサーイオンをもとに検出されたプロダクトイオンを第二選択まで探索し、測定メソッドに加えて測定した。最終的に決定した測定条件は表1のとおりとなり、この条件を用いて各標準品の検量線を作成した結果、どの成分も相関係数は、0.98以上と良好な値が得られ、その一例を図2に示した。

表1 ターゲットイオンの決定

Polarity	Surfactant	m/z	
		Precursor Ion	Product Ion
Positive mode	AA	316.3	106.1
	AG	338.2	145.0
	AO	258.4	58.2
	HSB	352.3	184.1
Negative mode	AES	353.3	97.0
	FAT	281.3	97.3
	LAS	325.3	183.1

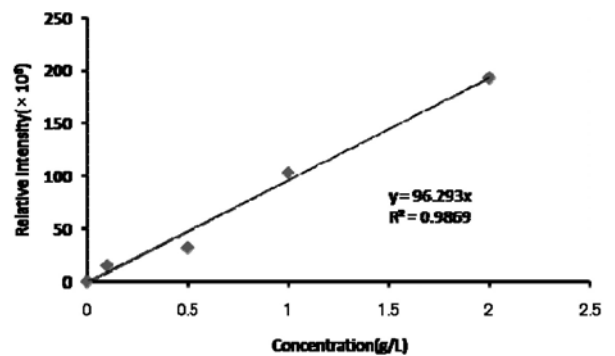


図2 AAの検量線

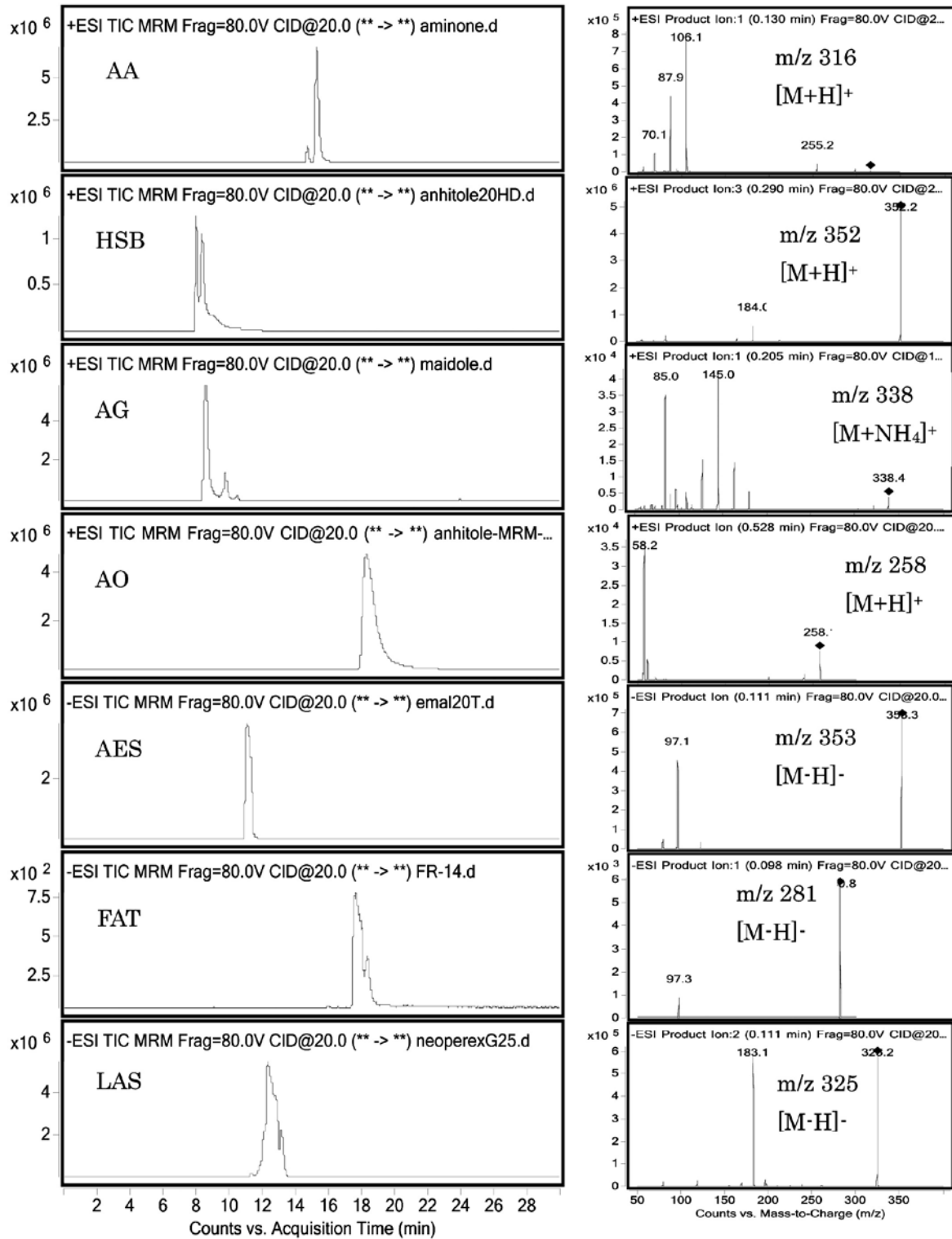


図3 標準品のマススペクトル

定量下限値 (S/N=10) については、最も感度の良いAAが50 μg/mL、最も感度の悪かったFATが100 μg/mLであった。

次に、POEを除く標準品の分子イオンにおけるプロダクトイオンスキャンでは、図3に示したとおり定性に用いることができる良好なパターンが得られた。

なお、POEについては、 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_m-$

$\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{-H}$ [n : 酸化エチレン ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$: m/z 44) の付加モル数を示す、m : アルキル基鎖長 (CH_2 : m/z 14) を示す] で表される複数の化合物があり、図4のトータルイオンクロマトグラム (TIC) に示すように単一ピークを分離することができなかった。また、今回供与された標準品は図4に示したように、少なくとも3種のPOEが確認された。

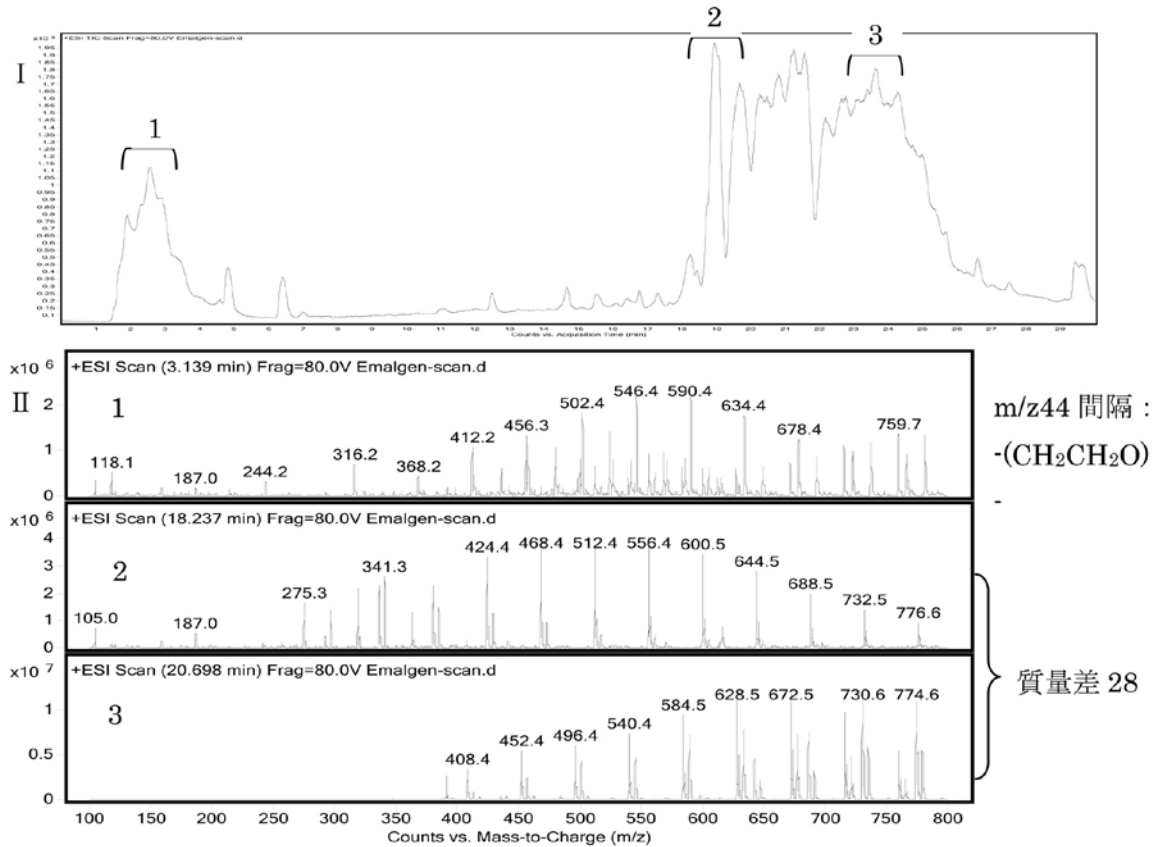


図4 標準品 POE のトータルイオンクロマトグラム (TIC)

2 市販洗剤の分析

19種類の市販洗剤の1000倍希釈液をQ1 スキャンして得られたピークのスペクトルを、標準品と比較し、市販洗剤に含まれる界面活性剤の成分を同定した。さらに、表2のとおり、1で得られたそれぞれの検量線から各界面活性剤の濃度を算出した。この結果は洗剤に表示されていた界面活性剤と一致した。

また、市販洗剤の多くは同じ名前の界面活性剤であっても、複数の界面活性剤を含有しており、含有される界面活性剤特有のピークパターンや濃度比を把握しておくことにより、個々の製品を区別でき、

食品に混入した場合の危機管理対応に利用できるものと思われた。

3 食品への洗剤添加確認試験

マルチプルリアクションモニタリング (MRM) で食品への洗剤添加試験を行った。各試料 (n=3) に1000倍希釈した洗剤を添加し、回収率を求めた結果を表3に示した。

その結果、どの食品においても各界面活性剤ごとの回収率のばらつきは比較的少なく、平均回収率も76.9~105.5%と良好な結果を示した。例として、きんぴらごぼうに混合洗剤を添加したものと、混合

表2 洗剤のパターン解析結果

(Continued)

Selling Agency	No.	m/z	Abundance (X10 ⁹)	RT (min)	Surfactant ² (Conc.%)	
Ibn	1	232.1	82	4	AA(6.4)	
		260.0	68	9		
		297.8	110	12	LAS(10.3)	
		289.2	115	14.9	AA(5.1)	
		459.4	120	16		
		529.8	10.8	17.8		
	344.8	110	23	AA(11)		
	2	232.1	82	4	AA(8.1)	
		260.0	68	9		
		297.8	110	12	LAS(1.1)	
		353.8	110	14	AES(8.0)	
		289.2	115	14.9	AA(2.5)	
		459.4	120	16		
	Kao	3	202.1	80	9.7	
			352.8	140	11	HSB(5.6)
			339.2	60	12	AG(8.5)
			230.2	40	16.5	AO(3.7)
			258.2	120	21	AO(8.9)
515.5			100	21		
4		339.2	70	12	AG(3.7)	
		459.4	120	16.5		
		595.4	22.5	22		
5		332.1	95	8		
		202.1	80	9.7		
		352.2	80	11.2	HSB(10.0)	
		339.2	60	12	AG(2.2)	
		230.2	40	16.5	AO(0.2)	
		258.2	120	21	AO(3.5)	
515.5		100	21			
6		202.1	80	9.7		
		352.2	80	11.2	HSB(3.5)	
	339.2	60	12	AG(1.1)		
	301.2	100	14.6			
	230.2	40	16.5	AO(0.2)		
	258.2	120	21	AO(2.0)		
515.5	100	21				
7	202.1	80	9.7			
	352.2	80	11.2	HSB(3.3)		
	339.2	60	12	AG(1.1)		
	230.2	40	16.5	AO(0.4)		
	258.2	120	21	AO(1.5)		
	515.5	100	21			
Saraya	8	143.2	160	3	FAT	
		171.2	160	6.9	FAT	
		199.8	170	12.8	FAT	
		227.8	150	18.5	FAT(8.1)	
		279.8	160	20		
		255.8	160	22.1	FAT	
	281.4	160	22.4	FAT(14.1)		
	283.4	160	24.7	FAT		
	9	232.8	140	4	AA(5.3)	
		260.8	140	8.7	AA(3.8)	
		288.8	145	14.7	AA(1.8)	
		318.4	130	19.4	AA(7.0)	
344.4		140	23	AA(3.1)		
370.4		140	23.8	AA(2.8)		
372.4	130	26	AA			
353.8	160	15.4	AES(5.6)			
381.8	160	19.2	AES			
sankeyou	10	297.2	150	12.8	LAS(9.7)	
		311.8	160	15.7	LAS(8.1)	
		325.8	160	16.8	LAS(7.8)	
		339.8	160	18.5	LAS(5.6)	
nissan	11	403.4	135	9.5		
		353.4	130	14.2	AES(5.8)	
		381.4	110	18	AES	
		230.2	65	18	AO(1.8)	
		258.2	80	21	AO(0.8)	
524.5	60	21.6				
P&G	12	202.1	14	9.5		
		353.4	90	14.3	AES(2.0)	
		367.4	70	16.3	AES	
		230.2	22	17.4	AO(4.8)	
		381.5	40	18	AES	
		258.2	80	21	AO(0.9)	
	468.8	20.5	22			
	18	211	18	4.5		
		353.4	90	14.3	AES(2.2)	
		367.4	70	16.3	AES	
230.2		22	17.4	AO(6.6)		
381.5	40	18	AES			
258.2	80	21	AO(0.8)			
468.8	20.5	22				
Lalon	14	353.4	90	14	AES(5.6)	
		289.2	60	15	AA(2.1)	
		244.1	72	15.4		
		230.2	55	16	AO(0.8)	
		367.4	70	16.2	AES	
		381.5	40	18	AES	
	258.2	13.5	21	AO(0.3)		
	15	353.4	90	14	AES(5.7)	
		289.2	60	15	AA(3.1)	
		244.1	72	15.4		
		230.2	55	16	AO(6.6)	
		367.4	70	16.2	AES	
		381.5	40	18	AES	
	258.2	13.5	21	AO(0.1)		
	16	353.4	90	14	AES(3.7)	
		289.2	60	15	AA(3.4)	
		244.1	72	15.4		
		230.2	68	16	AO(5.5)	
367.4		70	16.2	AES		
381.5		40	18	AES		
258.2	13.5	21	AO(0.3)			
17	353.4	90	14	AES(4.1)		
	289.2	60	15	AA(3.1)		
	244.1	72	15.4			
	332.2	80	16			
	459.4	90	16			
	367.4	70	16.2	AES		
381.5	40	18	AES			
230.2	50	21				
18	353.4	90	14	AES(5.4)		
	289.2	60	15	AA(2.0)		
	244.1	72	15.4			
	332.2	80	16			
	459.4	90	16			
	367.4	70	16.2	AES		
381.5	40	18	AES			
230.2	5	21				
601.5	49	27				
19	297.1	120	12	LAS(12.3)		
	311.1	100	12.5	LAS(7.2)		
	353.2	130	13.8	AES(6.6)		
	325.1	130	15	LAS(6.8)		
339.1	120	16.6	LAS(7.8)			
381.2	125	18	AES			

表3 食品添加回収試験結果

Surfactant	Recovery (%) mean ± S. D. (n=3)		
	Kimpira	Dressings	Honey
AA	105.3 ± 7.2	101.4 ± 14.1	105.5 ± 2.6
AG	89.1 ± 1.2	76.9 ± 1.8	78.9 ± 3.8
AO	84.0 ± 5.5	79.8 ± 1.7	88.7 ± 9.1
HSB	100.5 ± 0.64	99.9 ± 2.2	101.7 ± 7.0
AES	92.2 ± 1.1	98.0 ± 2.4	103.1 ± 0.42
FAT	96.6 ± 5.8	97.6 ± 3.2	97.7 ± 4.1
LAS	95.5 ± 1.0	97.8 ± 5.3	101.6 ± 10.3

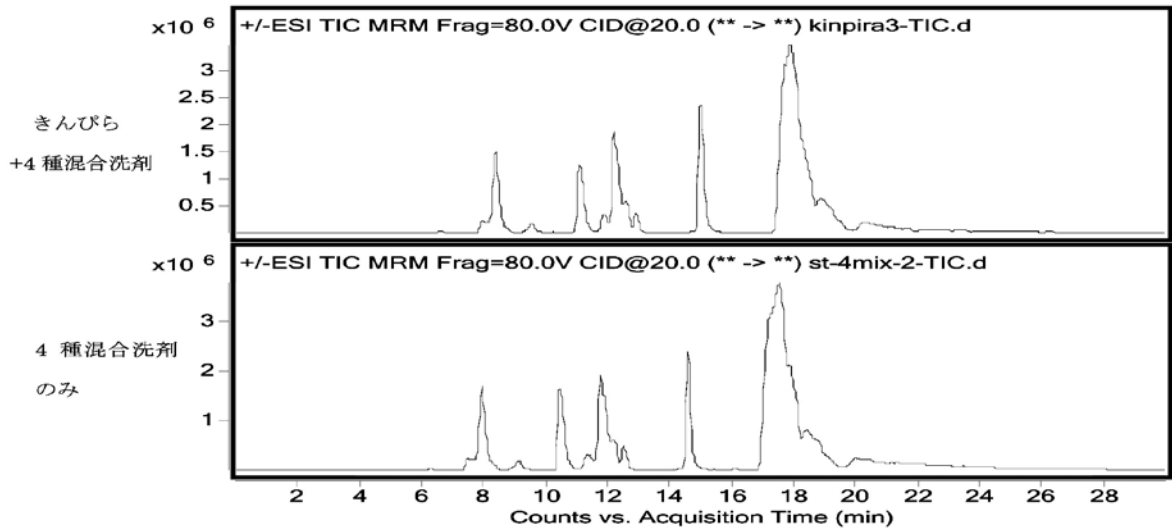


図5 食品中に添加した界面活性剤成分の抽出結果 (TIC)

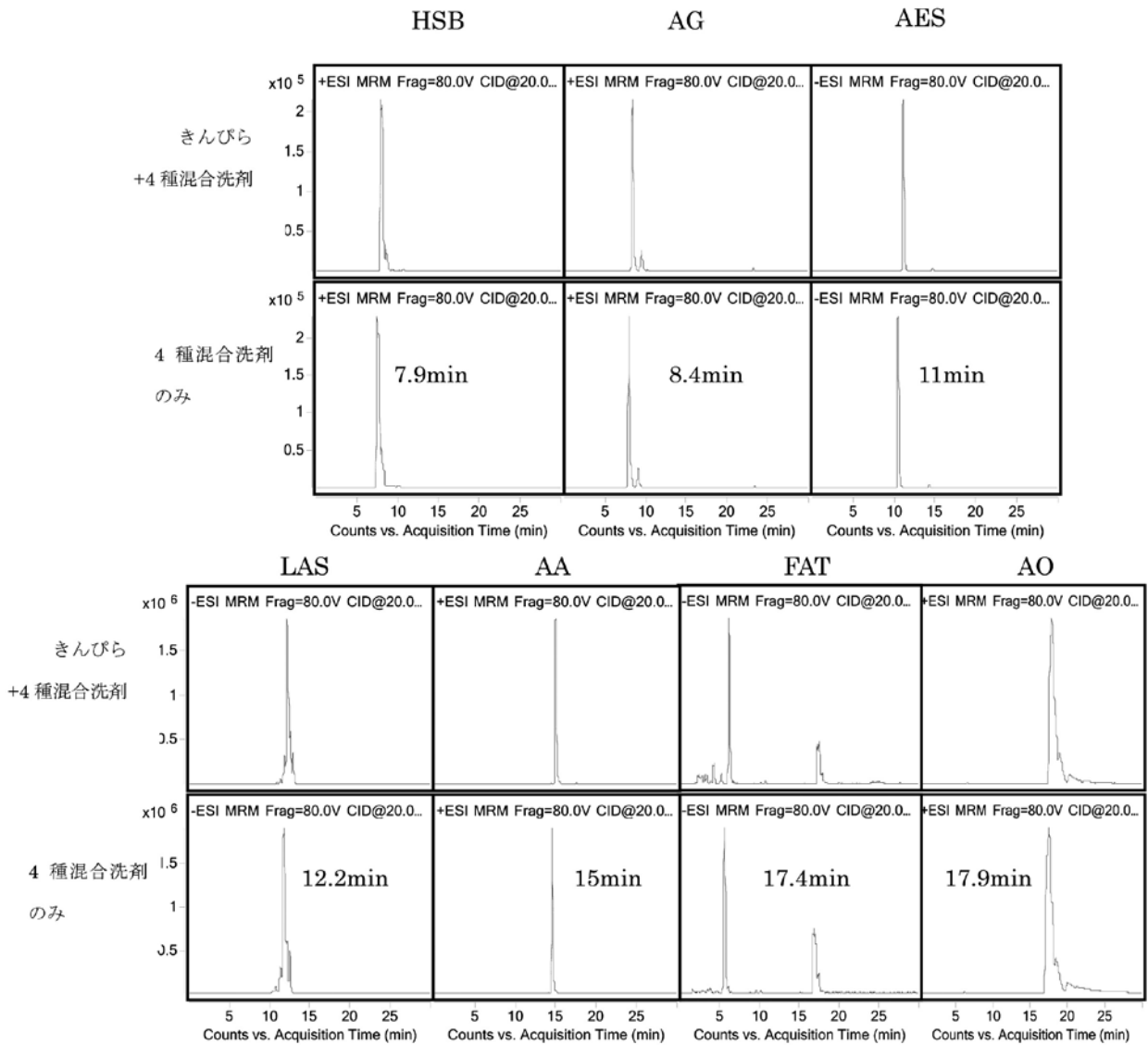


図6 各界面活性剤におけるクロマトグラム

洗剤のみのTICを示し、その各界面活性剤成分における定量イオンのマスキングとリテンションタイムを図5、図6に示した。

以上の結果から、含有される界面活性剤特有のピークの有無やピークパターンにより、個々の製品を区別できると判断した。

また、市販洗剤をパターン解析したことにより、混入した未知洗剤に使用されている界面活性剤成分の推定が可能であると考えられた。

お わ り に

洗剤は多種多様で、洗剤そのものがある場合には各種試験法を適用することができるが、食品中の洗剤を測定する場合、多くの夾雑物が存在するため、極めて分析が困難である。

LC/MS/MSにて詳細に測定条件を設定し、界面活性剤の測定が可能であるかどうか試みたところ、添加回収試験及び市販洗剤を用いた検出結果は良好であった。よって、本方法は緊急対応時のスクリーニング試験法として十分に実用可能であると考えた。

しかしながら、汎用されている成分の1つであるPOEは、LC/MS/MSによる条件設定が不十分であったため、更なる検討が必要であり、今後の課題とする。

文 献

- 1) 安井玉樹、森崎澄江：化学物質による食中毒への危機管理対応について、大分県食品衛生監視員・と畜食鳥検査員・狂犬病予防員研究発表会(2010)抄録集より
- 2) 日本石鹼洗剤工業会ホームページ試料、<http://jsda.org/w/3goingoyou/index22.html>
- 3) 吉田寧子ら：高速液体クロマトグラフ/質量分析法を用いたアルキルフェノールエトキシレート及び関連物質の定量，水環境学会誌，27 41-46 (2004)
- 4) 石綿鉄也、石澤不二雄：洗剤の（臨床）中毒学的スクリーニング法についての検討，中毒研究，14：239-245 (2001)
- 5) 赤外吸収スペクトルによる界面活性剤の分析，Jasco Report，2，6，1-8，1965
- 6) 安達美和、高橋和行：食器用洗剤混入事件のための界面活性剤抽出，法科学技術12(1)，45-51 (2007)