

LC/MS/MSを用いたマラカイトグリーンおよびロイコマラカイトグリーンの高感度定量分析

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社 SIDアプリケーション部 ライフサイエンスMSグループ
編集発行：マーケティングコミュニケーションズ

LCMS10001

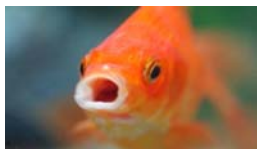
Key Words

- LC/MS/MS
- ポジティブリスト制度
- マラカイトグリーン
- ロイコマラカイトグリーン
- サバ

はじめに

マラカイトグリーンは緑色の合成色素で、染料として絹・羊毛・綿・紙等の染色に、また合成抗菌剤として観賞魚の水カビ病の治療などに広く利用されている化合物です。しかし、遺伝毒性、発がん性が疑われる物質との類似性が指摘されているため、近年食用動物への使用が制限されてきています。日本においても、薬事法の一部改正及びそれに伴う動物用医薬品等取締規則の一部改正により、平成17年7月31日を以って全ての食用水産用動物に対するの使用が禁止となりました。しかしながら最近でも、中国産のうなぎやサバなどからの検出事例が問題になっており、食品中への残留が強く懸念されている化合物のひとつでもあります。

ここでは、トリプル四重極LC/MS/MSを用いて、サバ実試料中のマラカイトグリーン(MG)と、その代謝物であるロイコマラカイトグリーン(LMG)を測定した例についてご紹介します。



分析条件

HPLC/ 資生堂Nanospace SI-2

- カラム :Hypersil GOLD C18 100 × 2.1 mm, 3 μm
- 移動相A :10 mM 酢酸アンモニウム水溶液
- 移動相B :アセトニトリル
- グラジエント条件 :10%B(0 min)→100%B(20 min)
- 流速 :300 μL/min
- 注入量 :2.0 μL
- カラム温度 :40℃
- Divert Valve 設定 :0-5 min/ Waste, 5 min-/ Detect

MS/ TSO Quantum Ultra

- イオン化法 :Positive ESI
- スプレー電圧 :500 V
- シースガス :60
- イオンスイープガス :0
- Auxガス :40
- イオンソースファーストステージ温度 :380℃
- ベーパーライザー温度 :350℃
- コリジョンガス, ガス圧力 :Ar, 1.5 mTorr
- スキマーオフセット :10 V
- 分解能(FWHM) :Q1/ 0.7 u, Q3/ 0.7 u

SRM条件

	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Collision Energy (eV)
マラカイトグリーン	329	313	38
マラカイトグリーン-d5 (IS)	334	318	38
ロイコマラカイトグリーン	331	239	30
ロイコマラカイトグリーン-d6 (IS)	337	240	34

標準品の結果

内部標準を用いて作成した検量線(0.5~100 ppb)と、標準品溶液0.5 ppbのクロマトグラムを以下に示します。

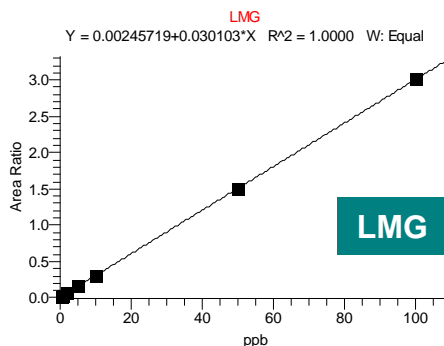
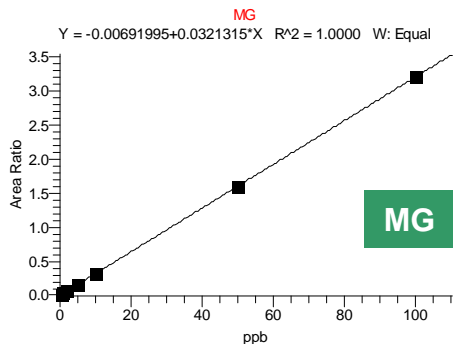


図1. 検量線(内部標準法, 0.5~100 ppb)

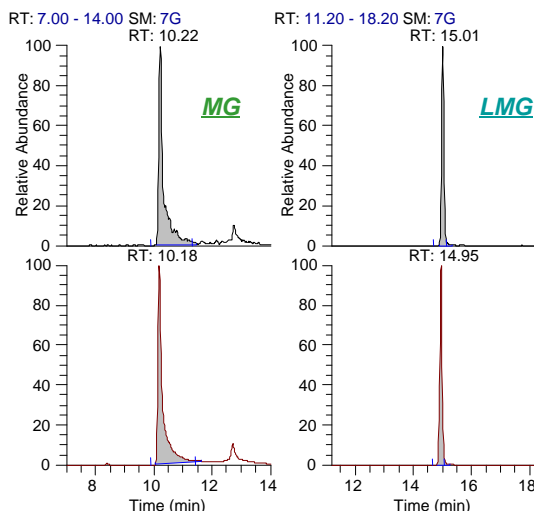


図2. MGおよびLMG 0.5 ppbのクロマトグラム

(上段; 定量イオン, 下段; 内部標準)

検量線の直線性は、MG, LMGともに相関係数 $R^2=1.000$ と非常に良好でした。

MGおよびLMGについて、標準品溶液をアセトニトリルでさらに希釈し、低濃度領域での感度を確認しました。MG、LMGともに0.05 ppbでも良好にピークを確認することが可能でした。

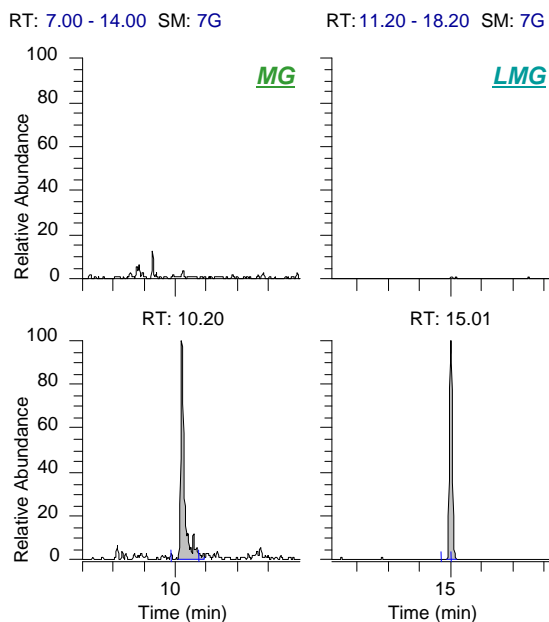


図3. MGおよびLMG 0.05 ppbのクロマトグラム
(上段; 溶媒ブランク (ACN), 下段; STD 0.05 ppb)
※ 定量イオンのみを表示しています。

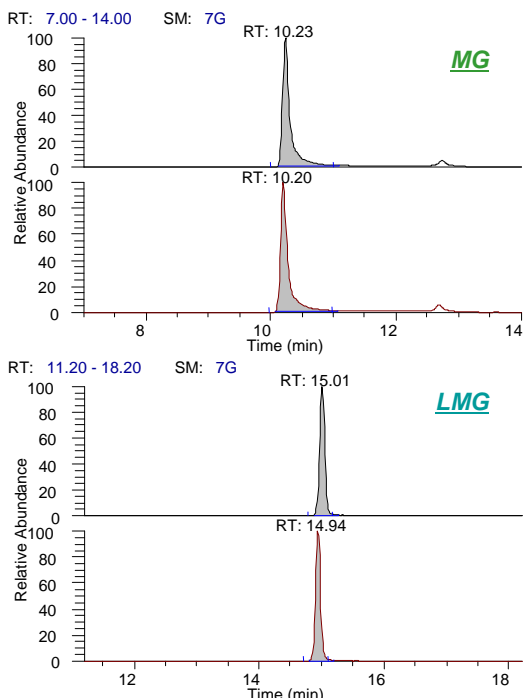


図4. 10 ppb添加実試料中のMGおよびLMGのクロマトグラム
(上段; 定量イオン, 下段; 内部標準)

実試料での結果

サバ実試料に10 ppbのMGおよびLMGを添加して測定に供しました。前処理は、告示法に基づいて実施しました。添加回収の結果と、実試料のクロマトグラムを次に示します。なお、実試料の間にQCサンプルとして標準品溶液1 ppbを測定し、感度の変動がないか確認を行いました。

Sample Name	Area	ISTD Area	定量値 (ppb)	回収率 (%)
実試料-1	5990833	18281061	10.414	104.1
1 ppb STD	398229	17257195	0.934	
実試料-2	6073935	18550137	10.406	104.1
1 ppb STD	361159	15865136	0.924	
実試料-3	5837935	18755883	9.902	99.0
1 ppb STD	453836	17303291	1.032	

表1. MGの定量結果

回収率は平均で、MG; 102%, LMG; 97% (データ不掲載) と良好な結果を得ることができました。また、標準品溶液と比較して、実試料のISTD Areaはほぼ同等であることから、イオン化抑制の影響をほとんど受けていないことが分かります。QCサンプルの感度も安定しており、複雑なマトリクスを有するサンプルにおいても、問題なく連続測定が可能でした。

まとめ

サバは、たんぱく質や脂肪を豊富に含み、複雑なマトリクスを持つ代表的なサンプルですが、Thermo Fisher Scientific社製トリプル四重極LC/MS/MSシステム TSQ Quantum Ultraを用いて測定することで、イオン化抑制の影響を受けずに、良好な回収率で測定を行うことが可能でした。



LCMS10001

サーモフィッシャー
サイエンティフィック株式会社

フリーダイヤル
0120-753-670

FAX
0120-753-671

E-mail
info-jp@thermofisher.com

www.thermoscientific.jp
(日本)
www.thermoscientific.com
(グローバル)

©2006 Thermo Fisher Scientific Inc. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

Specification, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.

Thermo
SCIENTIFIC