

LC/MS/MS を用いたうなぎ中マラカイトグリーン 及びロイコマラカイトグリーンの迅速分析法の検討

○小西賢治、栢木春奈、佐々野僚一
株式会社アイスティサイエンス

【目的】現在マラカイトグリーン（以下 MG）は水カビなどの治療薬として鑑賞魚に用いられるが、食用の養殖魚への使用は禁止されている。また、MG は光分解性があり、迅速な分析法が求められている。そこで、MG 及びその代謝物であるロイコマラカイトグリーン（以下 LMG）の迅速分析法を検討したのでここに報告する。

【方法】1. 試料:ウナギ蒲焼, 2. 対象成分:MG, LMG, 使用試薬:マラカイトグリーンシュウ酸塩標準品、ロイコマラカイトグリーン標準品（和光純薬社製）、添加濃度:試料中濃度0.1ppm, 4. 固相カートリッジ:Smart-SPE C18-30,SCX-30（アイスティサイエンス社製）

試料 10g
|
| クエン酸・リン酸Buffer(pH 3) 4mL
| ACN 10mL
ホモジナイズ
|
| 食塩 1g
| 無水硫酸マグネシウム 4g
| 攪拌（手で振とう, 1分）
| 遠心分離(5分, 3000rpm)
| 冷凍(30分)
| ACN層
| 分取 1mL(試料1g相当)
| 固相 C18-30mg(精製)
| 洗液 ACN 0.5mL
| 固相 SCX-30mg(保持)
| 洗液 ACN 0.9mL
| 溶出 アンモニア/ACN
| (1/9) 1mL
| 溶出液
| 水で1mLに定容
LC/MS/MS

4. 測定条件

| | |
|---------|---|
| 装置 | LC:Prominence (SHIMADZU) MS:API3200 (AB SCIEX) |
| カラム | Atlantis(粒径3µm, φ2.1×150mm) (Waters) |
| 移動相 | A液 0.1%ギ酸水 B液 アセトニトリル |
| 分析時間 | 20分(Pos+) |
| 流速 | 0.2mL/min, 注入量 5µL |
| イオン化モード | ESI(+) |
| 測定モード | MRM |

【結果と考察】

1. 抽出操作の簡便化

抽出は告示法を参考に、アセトニトリル及びクエン酸・リン酸緩衝液を用いた。抽出操作の簡便化を目的として、塩析及び遠心分離による液液分配を行なった結果、アセトニトリル層と試料層の間に脂肪層ができた。30分冷凍することで、脂肪層を固化させ、n-ヘキサンを使用せずに抽出と同時に脱脂することができた。

2. 少量の固相による精製

抽出液中に含まれる脂質や低極性物質を取り除く目的で固相C18による精製を行なった。また、固相SCXの少量化にともない少量の溶媒での溶出が可能となり、溶出液の減圧濃縮操作が不要となったため操作性が向上した。操作時間も短く、非常に簡便であった。

3. 添加回収試験

うなぎの蒲焼を用いて添加回収試験を行った結果、MGは80%以上と良好な回収率が得られ、LMGは50%以上やや低めの回収率となった。

参考文献

1)厚生労働省通知職安鑑発第1013003号：食品中のマラカイトグリーンの試験法等について、平成18年10月13日