

LC-MSによるマラカイトグリーン ロイコマラカイトグリーンの分析

Analysis of Malachite Green and Leucomalachite Green by LC-MS

有機色素であるマラカイトグリーンは観賞魚の白点病や尾腐れ病の治療薬（抗菌剤）として用いられていますが、国内では養殖魚への使用は認められていません。マラカイトグリーンの分析法としては、平成16年12月16日付厚生労働省食安監発第1216002号「養殖魚に対するマラカイトグリーンの分析法について」が通知されており、定量試験にHPLC法が、確認試験にLC-MS法が記載されています。

一方、マラカイトグリーンは体内でロイコマラカイトグリーンに代謝されるため、これら2成分の同時分析も必要となります。ここではLC-MSによる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同時定量法についてご紹介します。（HPLCによる分析例は、アプリケーションニュースNo.L324およびNo.L329をご参照ください。）

T.Ogura

マラカイトグリーンはアンモニウムイオン構造を、ロイコマラカイトグリーンはジメチルアミノ基を有しているため、イオン化法としては正イオンESIを用いました。これら化合物の分析では移動相のpHが重要であり、イオン化効率やスペクトルパターンおよび保持時間に影響を与えます。検討の結果、ここでは移動相に5 mM ぎ酸アンモニウム (pH3.0) / アセトニトリル = 20/80を用いました。

また、ロイコマラカイトグリーンは紫外線照射によりイオン化効率が低下し、検出および定量に悪影響が見られることから、UV検出器を通過させないようにして分析しました。本条件により、0.8 ppbのマラカイトグリーンおよびロイコマラカイトグリーンを感度よく検出することができ、両成分とも0.8-40 ppbで良好な直線性が得られました。

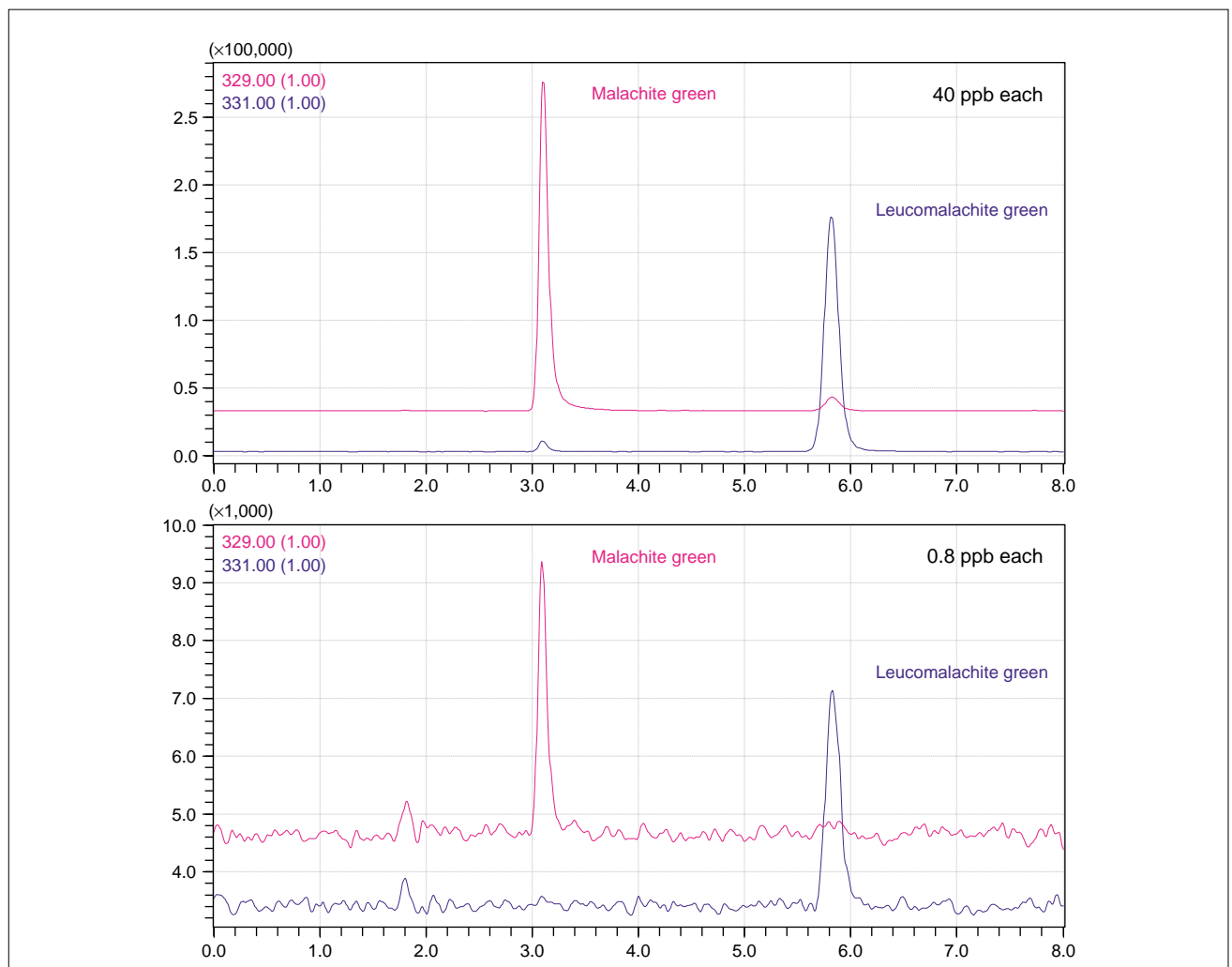


Fig.1 マラカイトグリーンおよびロイコマラカイトグリーンのSIMクロマトグラム
SIM chromatograms of Malachite green and Leucomalachite green.

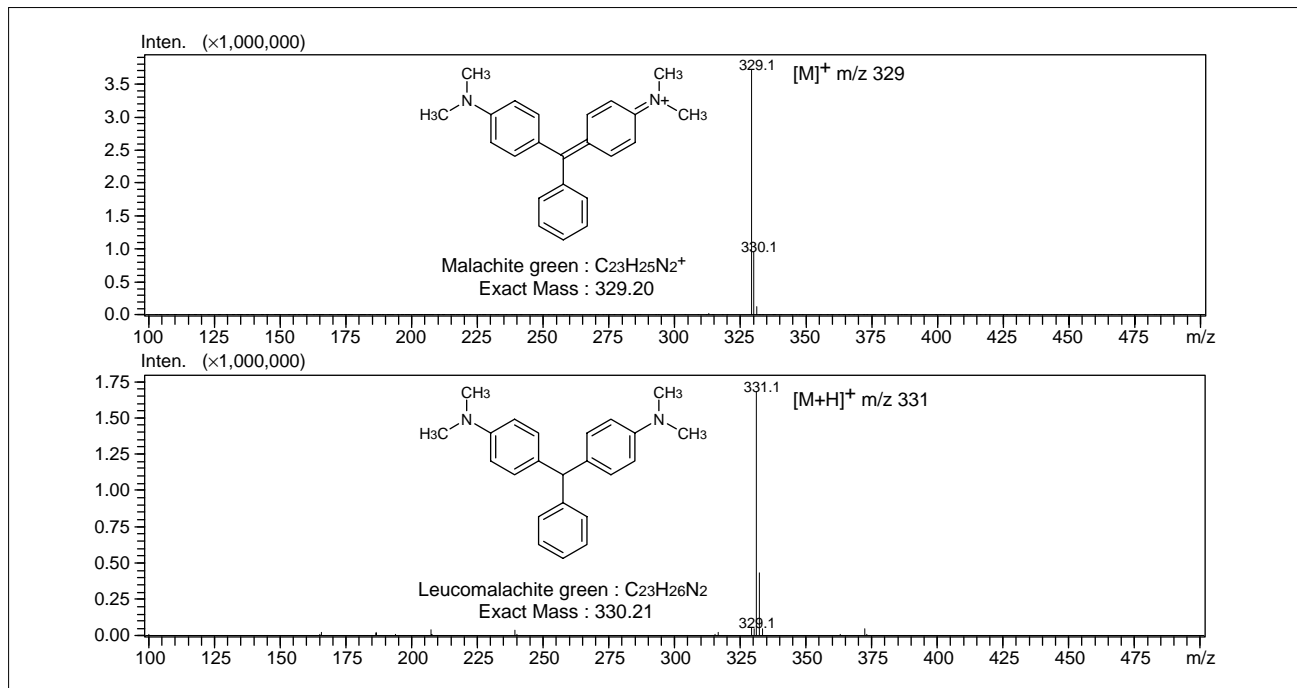


Fig.2 マラカイトグリーンおよびロイコマラカイトグリーンの正イオンESIマススペクトル
Positive ESI mass spectra of Malachite green and Leucomalachite green.

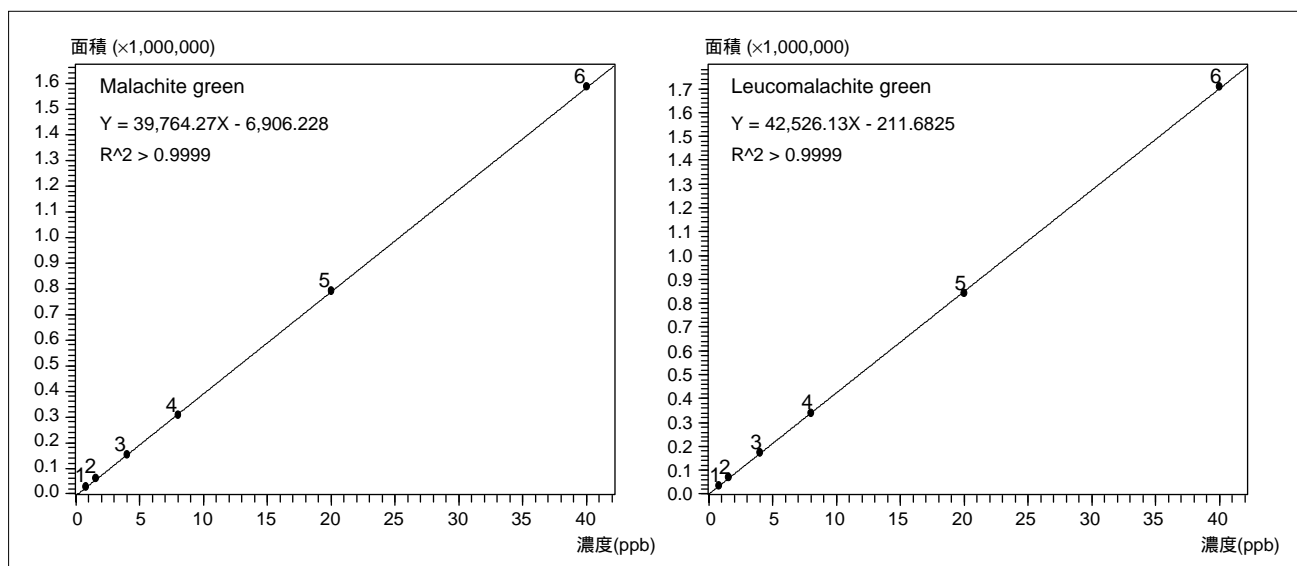


Fig.3 マラカイトグリーンおよびロイコマラカイトグリーンの検量線
Calibration curves of Malachite green and Leucomalachite green.

Table 1 分析条件
Analytical conditions for LC-MS

Column	: Phenomenex Synergi 4u Fusion-RP 80A (2.0 mm I.D. × 150 mmL.)	Nebulizing gas flow	: 1.5 L/min
Mobile phase	: 5 mM ammonium formate buffer (pH 3.0) / acetonitrile = 20 / 80	Drying gas pressure	: 0.1 MPa
Flow rate	: 0.2 mL/min	CDL temperature	: 250 °C
Injection volume	: 2 μL	Block heater temperature	: 200 °C
Column temperature	: 40 °C	CDL, Q-array voltages	: using default values
Probe voltage	: +4.5 kV (ESI-Positive mode)	Scan range	: m/z 100-500
		SIM	: m/z 329 (Malachite Green), m/z 331 (Leucomalachite Green)