

LC/MS/MSによる乳製品中のジシアンジアミドの分析

Analysis of Dicyandiamide in Milk products by LC/MS/MS

2012年に、ニュージーランド産乳製品からジシアンジアミドが検出されるという事例が報告されました。また、過去にも、乳製品からメラミンやその代謝物であるシアヌル酸が検出される事例が報告されています。これらの含窒素低分子化合物は、乳製品のタンパク質含量を水増しする目的で混入されることもあり、FDAでは、上記化合物の他に、尿素、シロマジン、ビウレット等を注意が必要な物質としてリストアップしています。本報では、親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)を用いた、これら高極性化合物の分離例を紹介します。また、市販のミルクパウダーに、ジシアンジアミドを添加し、前処理後、分析を行った例についても紹介します。

分離カラムには、TSKgel Amide-80 3 μ mを使用しました。溶離液には、ギ酸アンモニウム水溶液/アセトニトリル混合溶媒を用いました。図1に、代表的な含窒素低分子化合物6種のMRMクロマトグラムを示します。各化合物ともに、良好なピーク形状のクロマトグラムが得られています。ジシアンジアミドに関して、0.1~10 μ g/Lの濃度範囲で、良好な検量線が得られました(図3)。本分析条件での定量下限値として、0.07 μ g/L(S/N=10)が得られました。この値は、図4に示す前処理を行った場合、試料中の濃度に換算して、0.02 μ g/gに相当します。市販のミルクパウダーに、ジシアンジアミドを1.0 μ g/gの濃度になるように添加後、前処理を行って測定したクロマトグラムを図2に示します。添加濃度を1.0 μ g/gとして回収率を確認した結果、回収率は87.5%、RSD値は3.2%(n=5)となりました。

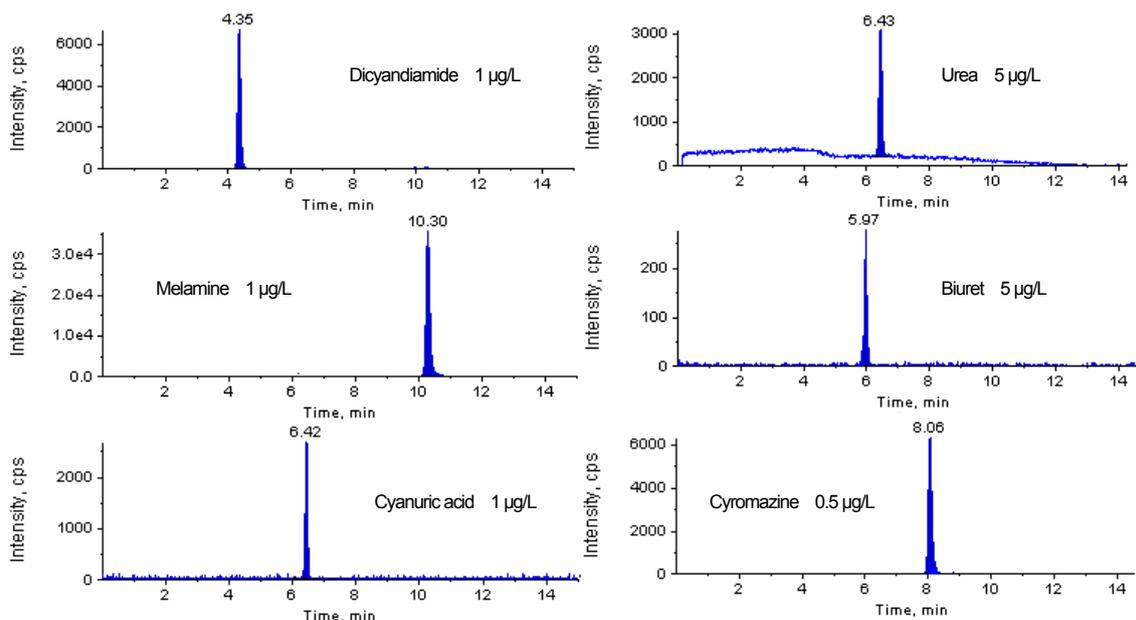


図1 標準物質のMRMクロマトグラム

表 1 分析条件

LC	Instrument	: Agilent 1200SL series (Agilent Technologies)
	Column	: TSKgel Amide-80 3 μ m (2.0 mmI.D. x 15 cm)
	Eluent	: A; 10 mmol/L Ammonium formate (pH 3.75) B; Acetonitrile
	Gradient	: B conc. (0.0 min) 95 % \rightarrow (10.0 min) 70 % \rightarrow (10.1-15.0 min) 50 % \rightarrow (15.1-18 min) 95 %
	Flow rate	: 0.2 mL/min
	Column temp.	: 40 $^{\circ}$ C
MS/MS	Instrument	: QTRAP (AB SCIEX)
	Ionization	: ESI-Positive (Dicyandiamide, Melamine, Urea, Biuret, Cyromazine) : ESI-Negative (Cyanuric acid)
	Mode	: MRM
	m/z	: 85/68 (Dicyandiamide), 127/85 (Melamine), 61/44 (Urea), 104/61 (Biuret), 167/125 (Cyromazine) : 128/42 (Cyanuric acid)

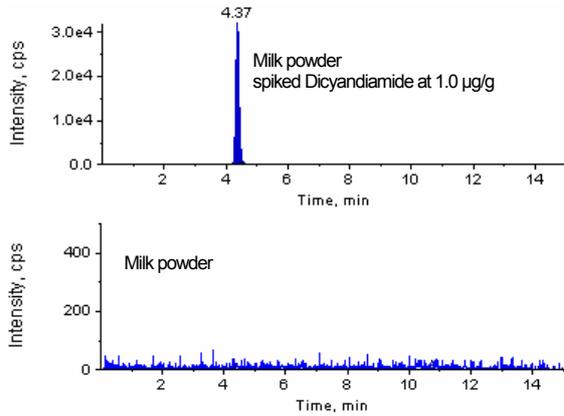


図 2 ミルクパウダーのMRMクロマトグラム

上段: 標準物質を添加(1 μ g/g) 下段: コントロール

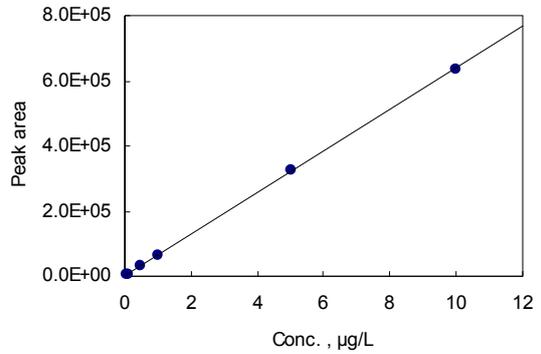


図 3 ジシアンジアミドの検量線

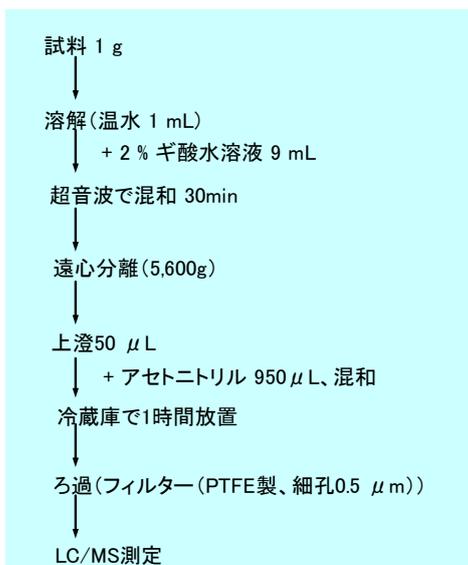


図 4 前処理条件

Conc. Spiked in Milk powder (μ g/g)	Recovery (%)	RSD(n=5)
1.0	88.5	3.2
5.0	95.2	2.7

表 2 回収率及び再現性