



Application phare : Les mycotoxines dans la poudre de cacahuète sur Raptor Biphenyl

Analyse LC-MS/MS de mycotoxines dans la poudre de cacahuète en moins de 6 minutes

- Analyse rapide : meilleure productivité du laboratoire.
- L'excellente séparation des 12 mycotoxines réglementées permet une quantification précise.
- Préparation rapide et simple des échantillons (dilution filtration-injection).

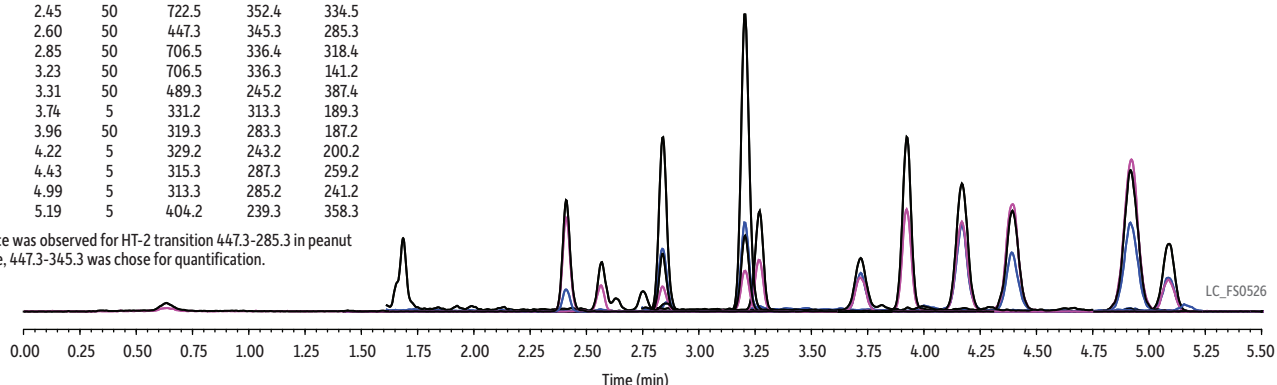
Certains champignons susceptibles de se développer sur des produits agricoles produisent des métabolites toxiques appelés mycotoxines. Les procédés modernes de traitement des aliments ne permettent pas d'éliminer complètement ces composés. Des protocoles de surveillance stricts ont donc été mis en place. Idéalement, une méthode universelle d'analyse des mycotoxines permettrait un « screening » très efficace. Une telle méthode est cependant très compliquée à développer, en raison des différences entre les propriétés physico-chimiques des mycotoxines, de l'efficacité de l'extraction et des effets de matrice. Zhang et al. a ont publié une étude impliquant plusieurs laboratoires [1] dans le but de proposer aux laboratoires une méthode d'analyse qui pourrait être largement appliquée à l'analyse de diverses mycotoxines dans un grand nombre de matrices. Nous nous sommes inspirés de ces travaux pour développer la méthode LC-MS/MS ci-après qui permet de séparer 12 mycotoxines réglementées par la FDA dans les limites de pression des instruments HPLC classiques.

Dans cet exemple, les mycotoxines ont été analysées dans une matrice de poudre de cacahuète. L'utilisation d'une colonne relativement courte, la sélectivité de la phase Biphenyl stationnaire et l'efficacité des particules de 2,7 µm à surface poreuse des colonnes Raptor ont permis d'excellentes séparations dans le cadre d'une analyse rapide de 5 minutes 30 (durée totale du cycle : 7 minutes). La mycotoxine HT-2 coéluant avec un composé de matrice partageant la même transition MRM (447.3-285.3) la plus abondante, une transition moins abondante (447.3-345.3) a été choisie pour l'analyse quantitative. Un tampon ammonium a été utilisé afin de favoriser l'ionisation des mycotoxines et augmenter ainsi la sensibilité. La colonne Raptor Biphenyl a donné d'excellents résultats pour les 12 mycotoxines étudiées dans les travaux cités, mais pour des listes plus longues de composés contenant des mycotoxines isobariques de structure similaire, la phase Raptor FluoroPhenyl peut constituer un meilleur choix. La sélectivité de la colonne Raptor Fluorophenyl est mise en évidence dans une analyse de 20 mycotoxines qu'il est possible de consulter sur le site www.restek.fr en saisissant LC_FS0511 dans la barre de recherche.

La méthode décrite ici s'est révélée extrêmement précise pour les 12 mycotoxines réglementées par la FDA qui ont été évaluées lors d'une étude de validation couvrant un certain nombre de matrices (y compris plusieurs sources de semoule de maïs et de farine de riz brun, en plus de l'exemple de la poudre de cacahuète présenté ici). Restek tient à remercier le Dr Zhang pour son assistance technique au cours de ce projet.

Peaks	tr (min)	Conc. (ng/g)	Precursor Ion	Product Ion 1	Product Ion 2
1. Deoxynivalenol	0.62	50	297.3	249.3	231.2
2. Fumonisin B1	2.45	50	722.5	352.4	334.5
3. HT-2	2.60	50	447.3	345.3	285.3
4. Fumonisin B3	2.85	50	706.5	336.4	318.4
5. Fumonisin B2	3.23	50	706.5	336.3	141.2
6. T2	3.31	50	489.3	245.2	387.4
7. Aflatoxin G2	3.74	5	331.2	313.3	189.3
8. Zearalenone	3.96	50	319.3	283.3	187.2
9. Aflatoxin G1	4.22	5	329.2	243.2	200.2
10. Aflatoxin B2	4.43	5	315.3	287.3	259.2
11. Aflatoxin B1	4.99	5	313.3	285.2	241.2
12. Ochratoxin A	5.19	5	404.2	239.3	358.3

Matrix interference was observed for HT-2 transition 447.3-285.3 in peanut powder. Therefore, 447.3-345.3 was chosen for quantification.



Column: Raptor Biphenyl (cat.# 9309A52); Dimensions: 50 mm x 2.1 mm ID; Particle Size: 2.7 µm; Pore Size: 90 Å; Guard Column: Raptor Biphenyl EXP guard column cartridge 5 mm, 2.1 mm ID, 2.7 µm (cat.# 9309A0252); Temp.: 40 °C; Inj. Vol.: 5 µL; **Mobile Phase:** A: Water, 2 mM ammonium formate, 0.1% formic acid; B: Methanol, 2 mM ammonium formate, 0.1% formic acid; **Gradient (%B):** 0.00 min (30%), 0.6 min (30%), 0.7 min (50%), 3.00 min (70%); 4.5 min (75%); 5.0 min (90%); 5.2 min (75%); 6.00 min (75%); 6.01 min (30%); 7.00 min (30%); **Flow:** 0.5 mL/min; **Detector:** MS/MS; Ion Mode: ESI+; Mode: MRM; **Instrument:** UHPLC; **Notes:** Weighed 1.00 gram of peanut powder in a 50 mL centrifuge tube and added 2.00 mL of water. Vortexed at 3000 rpm for 5 min followed by the addition of 4.0 mL of extraction solvent (50:50 water:acetonitrile, v/v). The tube was then vortexed at 3000 rpm for 5 min followed by centrifugation for 15 min at 4200 rpm. 475 µL of the supernatant was filtered through a Thomson SINGLE StEP Nano filter vial (0.2 µm, cat.# 25882). The sample was then fortified with 25 µL of a standard solution prepared in water at 1000 ng/mL (100 ng/mL for aflatoxins and ochratoxin A) as part of the matrix-matched calibration curve. Vortexed at 3000 rpm for 1 min prior to analysis.

References

1. K. Zhang, M.R. Schaab, G. Southwood, E.R. Tor, L.S. Aston, W. Song, B. Eitzer, S. Majumdar, T. Lapainis, H. Mai, K. Tran, A. El-Demerdash, V. Vega, Y. Cai, J.W. Wong, A.J. Krynitsky, T.H. Begley, A collaborative study: determination of mycotoxins in corn, peanut butter, and wheat flour using stable isotope dilution assay (SIDA) and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65 (33) (2017) 7138-7152. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27983809>.

Colonnes Raptor Biphenyl LC (USP L11)

Longueur	2.1 mm Réf.	3.0 mm Réf.	4.6 mm Réf.
Particules de 1.8 µm			
30 mm	9309232	—	—
50 mm	9309252	930925E	—
100 mm	9309212	930921E	—
150 mm	9309262	—	—
Particules de 2,7 µm			
30 mm	9309A32	9309A3E	9309A35
50 mm	9309A52	9309A5E	9309A55
100 mm	9309A12	9309A1E	9309A15
150 mm	9309A62	9309A6E	9309A65
Particules de 5 µm			
30 mm	—	930953E	—
50 mm	9309552	930955E	9309555
100 mm	9309512	930951E	9309515
150 mm	9309562	930956E	9309565
250 mm	—	—	9309575



Cartouches pour précolonne Raptor EXP

- Remplacement de la cartouche sans outils et sans contraintes sur les tubes (système à « écrou libre »).
- Les ferrules hybrides brevetées en titane peuvent être réutilisées sans compromettre l'étanchéité du joint à haute pression.
- Connexions garanties sans volume mort avec tout raccord femelle de type 10-32.

Description	Taille des particules	Qté	5 x 2.1 mm Réf.	5 x 3.0 mm Réf.	5 x 4.6 mm Réf.
Cartouches Raptor Biphenyl EXP	UHPLC	Lot de 3	9309U0252	9309U0253	
Cartouches Raptor Biphenyl EXP	2.7 µm	Lot de 3	9309A0252	9309A0253	9309A0250
Cartouches Raptor Biphenyl EXP	5 µm	Lot de 3	930950252	930950253	930950250

Pression max. : 1 034 bars/15 000 psi* (UHPLC) ; 600 bars/8 700 psi (2.7 µm) ; 400 bars/5 800 psi (5 µm)

*Pour optimiser sa durée de vie, la pression maximale recommandée pour les particules UHPLC est de 830 bar/12 000 psi.

Ferrule EXP, brevet US N° 8201854, Optimize Technologies. Supports EXP, brevet US N° 8696902, clé EXP2, brevet US N° D766055. Autres brevets US et étrangers, en cours. Le préfixe Opti- est une marque déposée d'Optimize Technologies, Inc.



Support de cartouche à connexion directe EXP

Description	Qté	Réf.
Support de raccordement EXP Direct pour les cartouches de garde EXP (inclut un raccord à tête hexagonale et 2 ferrules)	L'unité	25808

Pression max. : 1 400 bars/20 000 psi.

Ferrule EXP, brevet US N° 8201854, Optimize Technologies. Supports EXP, brevet US N° 8696902, clé EXP2, brevet US N° D766055. Autres brevets US et étrangers, en cours. Le préfixe Opti- est une marque déposée d'Optimize Technologies, Inc.

