



Featured Application: Raptor Biphenylによるピーナッツパウダー中のマイコトキシン分析

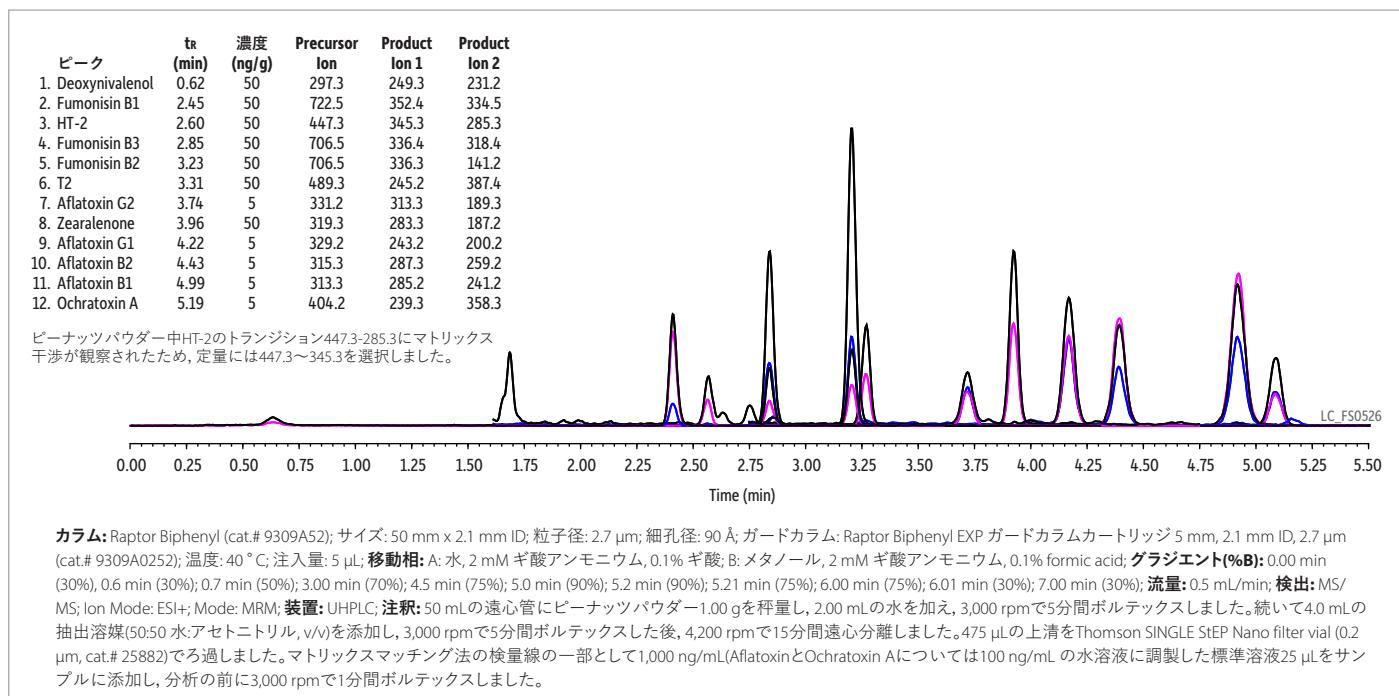
分析時間5.5分の LC-MS/MSを用いたピーナッツパウダー中マイコトキシン分析

- ・より高いサンプルスループットのための高速分析
- ・優れた分離により12種類の規制対象マイコトキシンの精度が向上
- ・迅速で簡単なサンプル調製 (希釀-ろ過-注入)

農産物で繁殖する特定の真菌は、マイコトキシンとして知られる有毒な代謝物を产生します。現代の食品加工工程ではこれらの化合物が存在しても完全に除去できないため、厳しいモニタリング手法が確立されています。マイコトキシン分析の汎用法が開発される際には非常に効率的なスクリーニングが採用されることになるでしょう。しかしマイコトキシンの物理化学的性質の違いや、抽出効率、マトリックス効果によりこのようなメソッドを開発することは非常に困難です。Dr. Zhangらは多様なマトリックス中の様々なマイコトキシンの分析に広く適用できる分析手順を提供することを目的として、複数機関における共同研究[1]を公開しました。この研究にヒントを得て、従来型HPLC機器の耐圧範囲でFDAの規制対象である12種のマイコトキシンを分離する、後述のLC-MS/MS法を開発しました。

この例では、ピーナッツパウダーをマトリックスとしてマイコトキシンを分析しました。比較的短いカラム、Biphenyl固定相の選択性、効率的な2.7 μ mのRaptor表面多孔質(コアシェル)粒子を使用することで5.5分(1サイクルではトータル7分)という高速分析で優れた分離が得られました。マイコトキシンHT-2の感度の良いMRMトランジション447.3-285.3にマトリックス由来化合物の共溶出が観察されたため、定量には447.3-345.3を選択しました。感度向上させるために、マイコトキシンのイオン化を促進するアンモニウム緩衝液を使用しました。参考文献で研究された12種のマイコトキシンにおいてRaptor Biphenylカラムは非常に有効でしたが、類似の構造を持つアイソバリックなマイコトキシンを含む、さらに多数の化合物群においては、充分なクロマトグラフィー分離にRaptor FluoroPhenyl固定相が必要となる場合があります。Raptor FluoroPhenylの選択性についてはRestekのWebサイト Restek.jp より LC_FS0511を検索してご参照ください。

このメソッドは、様々なマトリックス(ここで示したピーナッツパウダーに加えてコーンミールや玄米粉といった複数の由来を含む)を対象としたバリデーション研究で評価された、FDAの規制対象である12種のマイコトキシンに対して、優れた精度と正確さを示しました。Restekはこのプロジェクトを通して技術サポートしていただいたDr. Zhangに感謝申し上げます。



カラム: Raptor Biphenyl (cat.# 9309A52); サイズ: 50 mm x 2.1 mm ID; 粒子径: 2.7 μ m; 細孔径: 90 Å; ガードカラム: Raptor Biphenyl EXP ガードカラムカートリッジ 5 mm, 2.1 mm ID, 2.7 μ m (cat.# 9309A0252); 温度: 40 °C; 注入量: 5 μ L; 移動相: A: 水 2 mM ギ酸アンモニウム, 0.1% ギ酸; B: メタノール, 2 mM ギ酸アンモニウム, 0.1% formic acid; グラジェント(%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 (90%); 5.21 min (75%); 6.00 min (75%); 6.01 min (30%); 7.00 min (30%); 流量: 0.5 mL/min; 検出: MS/MS; Ion Mode: ESI+; Mode: MRM; 装置: UHPLC; 注釈: 50 mLの遠心管にピーナッツパウダー1.00 gを秤量し、2.00 mLの水を加え、3,000 rpmで5分間ボルテックスしました。続いて4.0 mLの抽出溶媒(50:50 水:アセトニトリル, v/v)を添加し、3,000 rpmで5分間ボルテックスした後、4,200 rpmで15分間遠心分離しました。475 μ Lの上清をThomson SINGLE STEP Nano filter vial (0.2 μ m, cat.# 25882)でろ過しました。マトリックスマッチング法の検量線の一部として1,000 ng/mL(AflatoxinとOchratoxin A)については100 ng/mLの水溶液に調製した標準溶液25 μ Lをサンプルに添加し、分析の前に3,000 rpmで1分間ボルテックスしました。

参考資料

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. Krynnitsky, 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>.

Raptor Biphenyl LCカラム (USP L11)

長さ	2.1 mm cat.#	3.0 mm cat.#	4.6 mm cat.#
1.8 µm カラム			
30 mm	9309232	—	—
50 mm	9309252	930925E	—
100 mm	9309212	930921E	—
150 mm	9309262	—	—
2.7 µm カラム			
30 mm	9309A32	9309A3E	9309A35
50 mm	9309A52	9309A5E	9309A55
100 mm	9309A12	9309A1E	9309A15
150 mm	9309A62	9309A6E	9309A65
5 µm カラム			
30 mm	—	930953E	—
50 mm	9309552	930955E	9309555
100 mm	9309512	930951E	9309515
150 mm	9309562	930956E	9309565
250 mm	—	—	9309575



Raptor EXPガードカラムカートリッジ

- 入口と出口の配管を外すことなくカートリッジ交換が可能なFree-Turn構造。工具は不要です。
- 高圧下でのシール性を損なうことなく、繰返し使用できる特許取得済みのチタン製ハイブリッドフェラル。
- あらゆる10-32メスポートに自動調整でZDV(ゼロデッドボリューム)接続が可能。

品名	粒子径	入数	5 x 2.1 mm	5 x 3.0 mm	5 x 4.6 mm
			cat.#	cat.#	cat.#
Raptor Biphenyl EXP ガードカラムカートリッジ	UHPLC	3-pk	9309U0252	9309U0253	—
	2.7 µm	3-pk	9309A0252	9309A0253	9309A0250
	5 µm	3-pk	930950252	930950253	930950250



カートリッジ耐圧: 60 MPa / 600 bar / 8,700 psi (2.7 µm), 40 MPa / 400 bar / 5,800 psi (5 µm)

*カラムの耐久性を最大に保つためのUHPLC用粒子の推奨最大圧力は830 bar/12,000 psi / 83 MPです。

ハイブリッドフェラルは、Optimize Technologies社が米国特許第8201854を取得しています。EXPホルダーは、Optimize Technologies 社が米国特許第8696902を取得しています。EXP2 レンチはOptimize Technologies 社が米国特許第D766055を取得しています。その他、米国および他国の特許についても出願中です。接頭語Opti-はOptimize Technologies社の登録商標です。

EXPダイレクトコネクトホルダー

品名	入数	cat.#
EXPガードカートリッジ用 EXP ダイレクトコネクトホルダー (六角ヘッドフィッティングとフェラル2個を含む)	1	25808

ホルダー耐圧: 20,000 psi (1,400 bar, 140 MPa)

ハイブリッドフェラルは、Optimize Technologies社が米国特許第8201854を取得しています。EXPホルダーは、Optimize Technologies 社が米国特許第8696902を取得しています。EXP2 レンチはOptimize Technologies 社が米国特許第D766055 を取得しています。その他、米国および他国の特許についても出願中です。接頭語Opti-はOptimize Technologies社の登録商標です。

