



การตรวจวิเคราะห์สาร Mycotoxin ง่ายๆ ด้วยเทคนิค LC-HRMS

ผู้จัดทำ : พงศกร โพธิ์ถาวร

การตรวจวิเคราะห์สารไมโคท็อกซินในปัจจุบัน มีด้วยกันหลายวิธี ในแอปพลิเคชันฉบับนี้ จะนำเสนอการตรวจวัดสารไมโคท็อกซินด้วยเทคนิค LC-HRMS โดยทำการสกัด Acetonitrile/DI/CH₃COOH กรองแล้วฉีดเข้าสู่ LC-HRMS โดยตรง ทำให้ลดขั้นตอนการสกัดสารด้วยวิธีที่ยุ่งยาก โดยทั่วไปที่ใช้เครื่อง LC-MS/MS ชนิดทริปเปิ้ลควอดรูโพล รายงานผลการวิเคราะห์ฉบับนี้ แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการตรวจวัดสารในกลุ่มไมโคท็อกซิน จำนวน 15 ชนิด ที่ความเข้มข้นระดับppb ด้วย uHPLC รุ่น Ultimate 3000 RSLC และแมสสเปคโตรมิเตอร์ชนิด HRMS รุ่น Q-Exactive ด้วยประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ในหลากหลายรูปแบบ สามารถทำให้การออกแบบการทดลองได้อย่างจำเพาะ ในฉบับนี้ จะแสดงการวิเคราะห์โดยใช้ FullScan/AIF เพื่อทำการตรวจหาไมโคท็อกซิน พร้อมวิเคราะห์ปริมาณ โดยที่ยังคงคุณสมบัติของ Full Scan และเพิ่มฟังก์ชันการทำ MS/MS ลงไปด้วยเพื่อการยืนยันไอออนโดยสารกลุ่มไมโคท็อกซินที่ใช้ในการทดลองนี้ มีดังนี้



	ชื่อสาร	ชื่อย่อ	สูตรโครงสร้าง		Full Scan	MS/MS
1	Aflatoxin B1	AFB1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	[M+H] ⁺	313.07066	285.07548
2	Aflatoxin B2	AFB2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	[M+H] ⁺	315.08631	287.09149
3	Aflatoxin G1	AFG1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	[M+H] ⁺	329.06558	311.05545
4	Aflatoxin G2	AFG2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	[M+H] ⁺	331.08123	245.08102
5	Diacetoxyscirpenol	DAS	C ₁₉ H ₂₆ O ₇	[M+NH ₄] ⁺	384.20168	307.15308
6	Deoxynivalenol	DON	C ₁₅ H ₂₀ O ₆	[M+H] ⁺	297.13326	265.25223
7	Fumonisin B1	FB1	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅	[M+H] ⁺	722.39575	352.31989
8	Fumonisin B2	FB2	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	[M+H] ⁺	706.40083	336.32513
9	Fusarenon-X	FUSX	C ₁₇ H ₂₂ O ₈	[M+H] ⁺	355.13874	263.12741
10	HT-2 toxin	HT2	C ₂₂ H ₃₂ O ₈	[M+NH ₄] ⁺	442.24354	215.10625
11	Neosolaniol	NEO	C ₁₉ H ₂₆ O ₈	[M+NH ₄] ⁺	400.19659	185.09589
12	Nivalenol	NIV	C ₁₅ H ₂₀ O ₇	[M+H] ⁺	313.12818	311.2941
13	Ochratoxin	OTA	C ₂₀ H ₁₈ NO ₆ Cl	[M+H] ⁺	404.08954	358.08353
14	T-2 Toxin	T2	C ₂₄ H ₃₄ O ₉	[M+NH ₄] ⁺	484.25411	305.13861
15	Zearalenone	ZON	C ₁₈ H ₂₂ O ₅	[M+H] ⁺	319.154	301.14371

Condition ของการวิเคราะห์

uHPLC : Ultimate 3000 RSLC (Thermo Scientific)

Column: Hypersil Gold C18, 100x2.1 mm, 1.9 µM

Mobile Phase: ACN (A), 10 mM NH₄COOH (B)

Flow Rate: 0.3 µL/min

Time	%A	%B
0.00	10	90
4.00	90	10
4.10	10	90
5.00	10	90

Mass Spectrometer: Q-Exactive (Thermo Scientific)

Mode: Full Scan-AIF

Polarity: Positive

Scan Parameters:

S-Lens: 55

Spray voltage: 3500 Volt

Sheath gas: 48 AU

Auxiliary gas: 11 AU

Sweep gas: 2 AU

Vaporized temperature: 400 องศาเซลเซียส

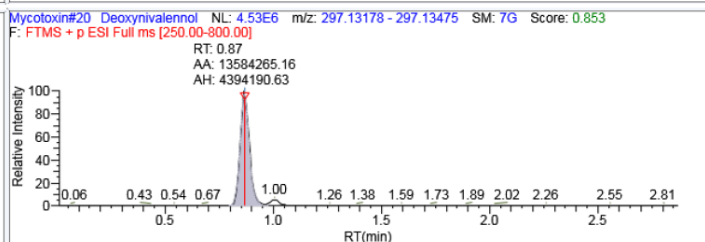
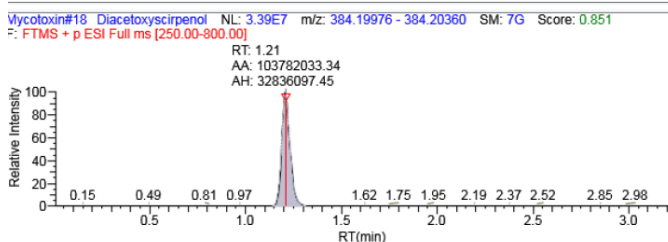
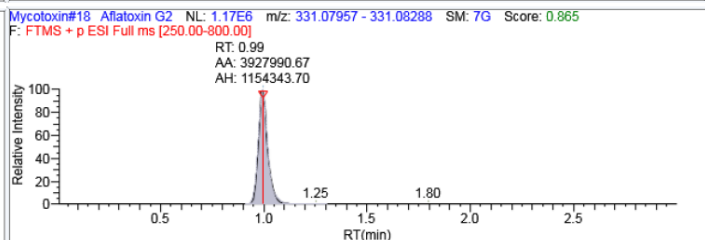
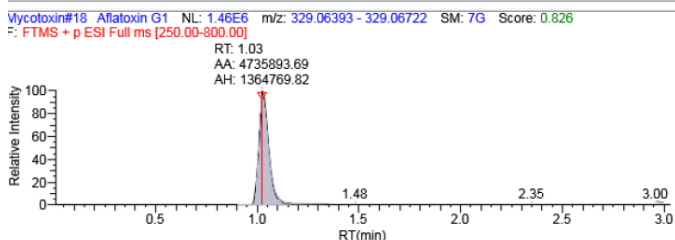
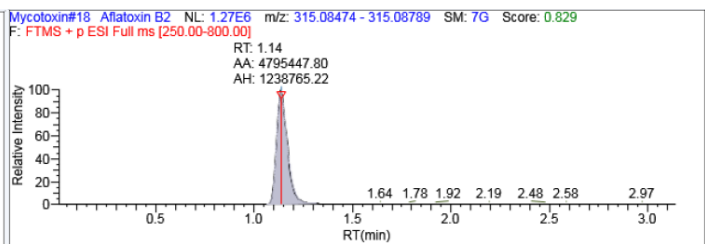
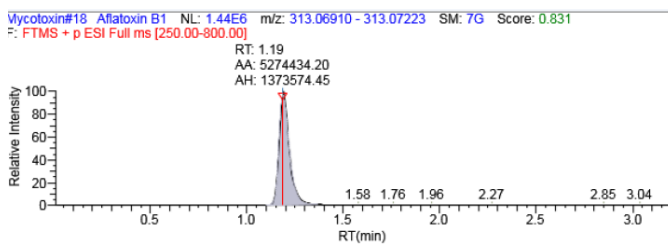
Capillary temperature: 350 องศาเซลเซียส

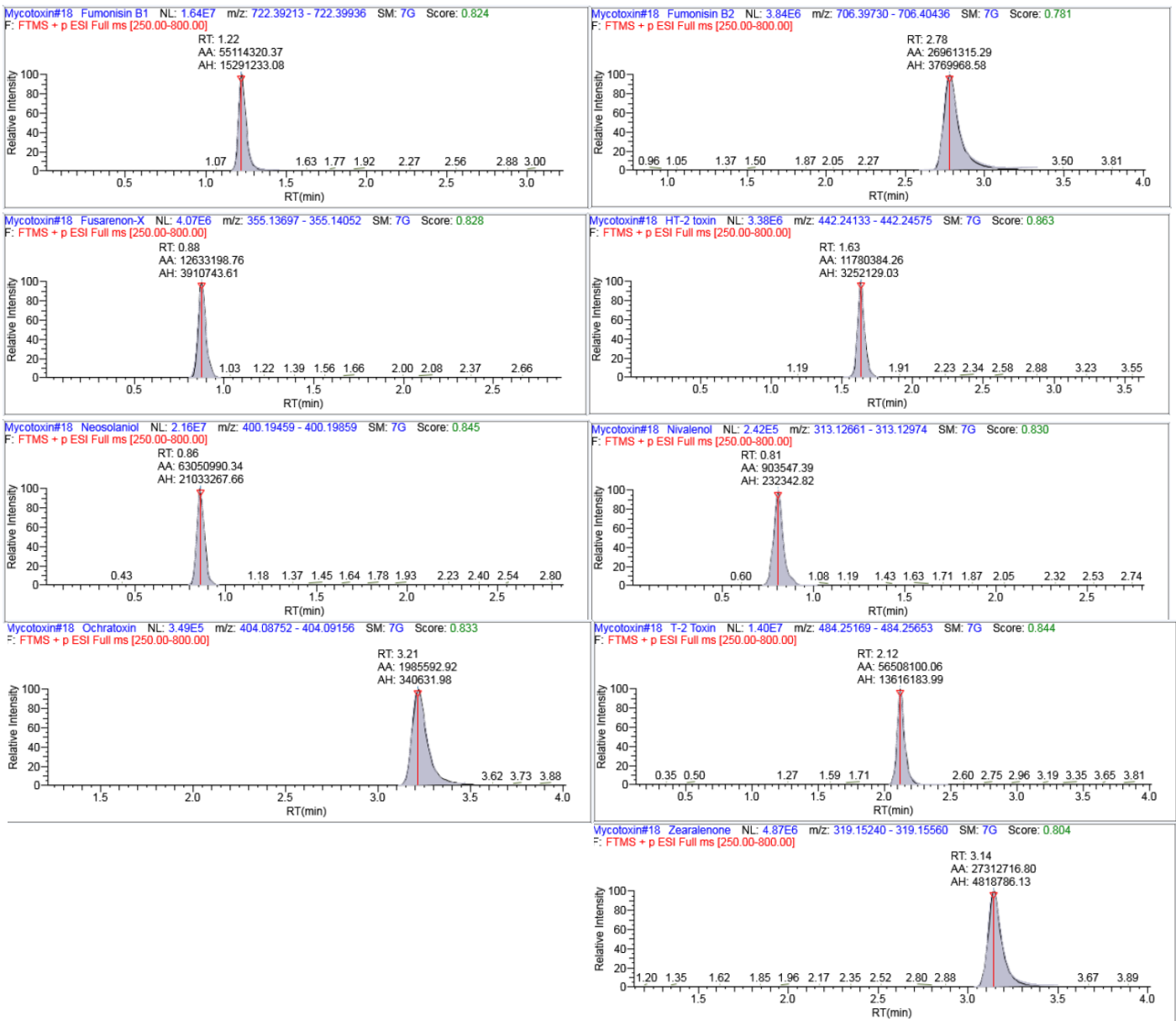
ผลการวิเคราะห์

ตารางแสดงค่าสมการของเส้น Calibration Curve และค่า LO

ของกลุ่มสารไมโคท็อกซินทั้ง 15 ชนิด

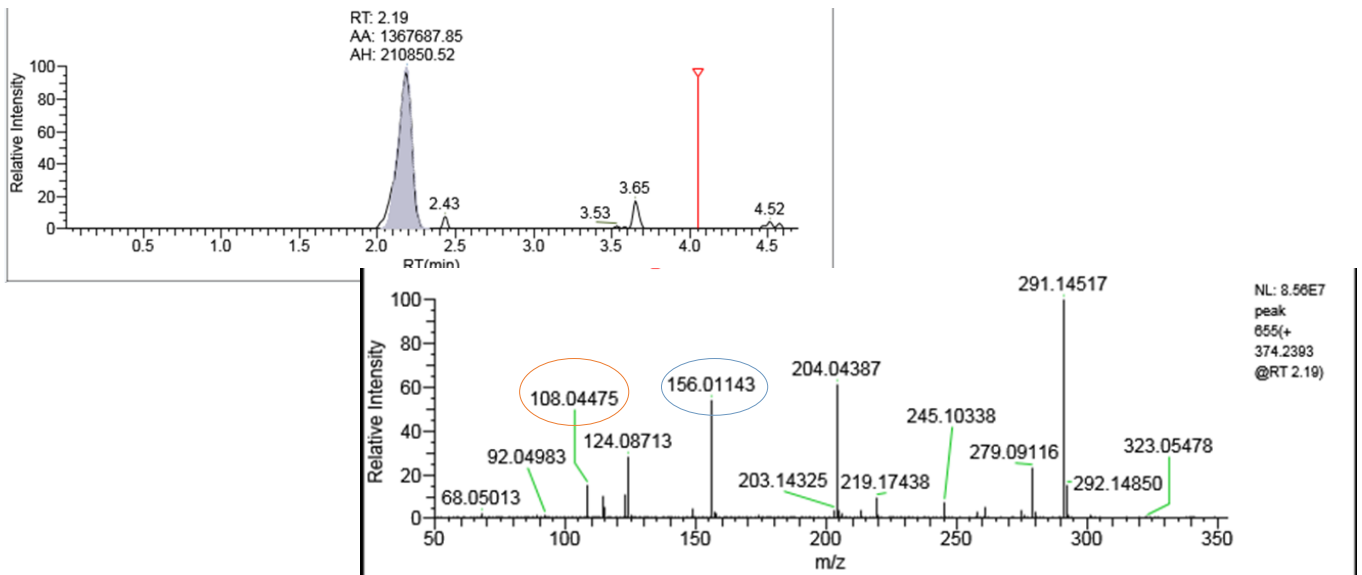
ชนิดของสาร	R ²	LOQ (ppb)
Aflatoxin B1	0.9972	0.23
Aflatoxin B2	0.9982	0.17
Aflatoxin G1	0.9958	0.16
Aflatoxin G2	0.9926	0.20
Diacetoxyscirpenol	0.9951	4.7
Deoxynivalenol	0.9922	7.1
Fumonisin B1	0.9978	7.5
Fumonisin B2	0.9970	39.1
Fusarenon-X	0.9938	6.5
HT-2 toxin	0.9986	14.3
Neosolaniol	0.9897	5.1
Nivalenol	0.9911	4.0
Ochratoxin	0.9912	0.73
T-2 Toxin	0.9889	9.2
Zearalenone	0.9958	8.4





สำหรับกรณีวิเคราะห์ผลการ Screening เมื่อทำการทดสอบโดยการ Spike ด้วยยา Sulfamethoxazole จำนวน 100 ppb ลงไป โดยใช้ฟังก์ชัน Unknown Screening ด้วยโปรแกรม ExactFinder และ Xcalibur ได้ผลการวิเคราะห์พร้อมโครมาโตแกรมดังนี้

⇒ พบพีคของตัวยา Sulfamethoxazole ที่ 2.19 นาที ยืนยันผลด้วย product ไอออน คือ 156.01143 และ 108.04475



สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์สารกลุ่มไมโคท็อกซินจำนวน 15 ชนิดโดยใช้หลักการวิเคราะห์แบบ HRMS โดยใช้เครื่อง Q-Exactive สามารถทำได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 5 นาที ด้วยฟังก์ชัน Full Scan/AIF โดยฟังก์ชันดังกล่าวเป็นลักษณะเฉพาะของเครื่องรุ่นนี้ โดยการสร้าง Calibration Curve จะถูกสร้างจาก Full Scan และยืนยันผลด้วย MS/MS

นอกจากนี้ ด้วยการวิเคราะห์ลักษณะดังกล่าว ยังสามารถเก็บข้อมูล สำหรับการทำการ Screening ได้อีกด้วย หากสารดังกล่าวสามารถถูกสกัดออกมาได้ด้วยวิธีอย่างง่าย เช่นเดียวกับไมโคท็อกซิน ประโยชน์ของการใช้ฟังก์ชันดังกล่าวทำให้สามารถทำการ Screening สารอื่นๆที่นอกเหนือการวิเคราะห์หรือกลับมาตรวจสอบในภายหลังได้ โดยใช้หลักการวิเคราะห์แบบ MS และ MS/MS แบบ Accurate Mass ในการวิเคราะห์ในฉบับนี้ จะเห็นถึงการตรวจพบตัวยา Sulfamethoxazole ที่ทำการ Spike ลงไปเพื่อตรวจเช็คประสิทธิภาพของการทำการ Screening ไปในตัว ซึ่งสามารถนำไปหาปริมาณต่อไปได้

ติดตามแอปพลิเคชันอื่น ๆ ได้ที่ <https://www.scispec.co.th>



บริษัท ชายนี สเตค จำกัด
10 กาญจนภิเษก ซอย 0010 แยกสอง
เขตบางแค กทม. 10160
โทร 02-454-8533



/scispec



@scispec

ThermoFisher
SCIENTIFIC