

アプリケーションノート

MaxPeak High Performance Surfaces テクノロジーを用いたビタミン B 群の LC-MS/MS 分析の改善

Jinchuan Yang, Paul D. Rainville

Waters Corporation



要約

Waters MaxPeak High Performance Surfaces (HPS) は、液体クロマトグラフィーにおける分析種と金属表面の間の相互作用を緩和する有効なソリューションです。このアプリケーションノートでは、MaxPeak HPS がビタミン B 群の LC-MS/MS 分析に及ぼす効果を調査し、栄養ドリンクおよびビタミン B 複合栄養補助食品中のビタミン B 群の同時分析において、MaxPeak HPS を使用することで得られる主なメリットを実証しています。主なメリットとして、従来の LC システムのセットアップと比較して、レスポンスと感度の向上、ピークテーリングの低減、検量線の直線性の向上、キャリアオーバーの解消などが挙げられます。Waters ACQUITY Premier ソリューションを用いたリボフラビン、チアミン、ニコチンアミド、フラビンモノヌクレオチド、ピリドキサール 5'-リン酸、5-メチルトetraヒドロ葉酸の感度が 3 ~ 10 倍向上していることが分かりました。栄養ドリンクおよびビタミン B 複合栄養補助食品中のビタミン B 群の LC-MS/MS 同時分析における分析性能（精度および再現性）も示しています。ビタミン B の分析において、ACQUITY Premier ソリューション（システムおよびカラム）は、従来の液体クロマトグラフィーソリューションと比較して、感度の向上、ピークテーリングの低減、検量線の直線性の向上、キャリアオーバーの解消などの明らかな優位性を示しました。

アプリケーションのメリット

- Waters ACQUITY Premier ソリューションによりビタミン B の LC-MS/MS 分析が改善
- 6 種類のビタミン B について、MaxPeak HPS を使用した場合、従来のステンレススチール製表面より感度が 3 ~ 10 倍向上
- Waters ACQUITY Premier ソリューションにより、レスポンスの向上、ピークテーリングの低減、キャリアオーバーの減少を実現

はじめに

ビタミン B 群には、8 種類のビタミン B、すなわちチアミン (B₁)、リボフラビン (B₂)、ナイアシン (B₃)、パントテン酸 (B₅)、ピリドキシン (B₆)、ビオチン (B₇)、葉酸 (B₉)、シアノコバラミン (B₁₂) が含まれます。それぞれのビタミン B には、異なる形態（ビタマー）があります。最近では、フラビンモノヌクレオチド (FMN) やピリドキサール 5'-リン酸 (PLP) などの新しいビタミン B ビタマーが栄養補助食品に配合されています。このようなリン酸を含む化合物は、多くの場合「天然」ビタミン B またはコエンザイムビタミン B と呼ばれ、人体に吸収されやすいと考えられています。ビタミン B 群およびそのビタマーの構造を図 1 に示します。リン酸を含む化合物とステンレススチール表面の間の相互作用、並びにそれらが高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に及ぼす悪影響が報告されています¹⁻²。このような相互作用により、重大なピークテーリングやピーク高さの低下、キャリアオーバーが発生することがあり、HPLC 分析の正確性および信頼性の低下につながります。分析種と金属の相互作用の問題に対処するための回避策がいくつかあります。ただし、これらの回避策にはそれぞれ固有の限界があり³、より優れたアプローチが求められています。

Waters ACQUITY Premier ソリューション（システムおよびカラムを含む）に採用されている Waters MaxPeak

High Performance Surfaces (HPS) テクノロジーは、分析種-金属間相互作用を緩和する有効な方法です。有機酸、オリゴヌクレオチド、ペプチド、糖鎖、リン脂質の HPLC 分析で MaxPeak HPS を使用することにより、大幅な改善が見られています⁴⁻⁷。このアプリケーションノートでは、タンデム質量分析計を搭載した液体クロマトグラフィー (LC-MS/MS) を使用して、ビタミン B 群の分析における MaxPeak HPS の効果について調査しています。MaxPeak HPS をビタミン B 群 (非リン酸型のビタミン B を含む) の分析に適用することの利点は、栄養ドリンクおよび栄養補助食品サンプル中のビタミン B 群の同時 LC-MS/MS 分析で明らかになりました。

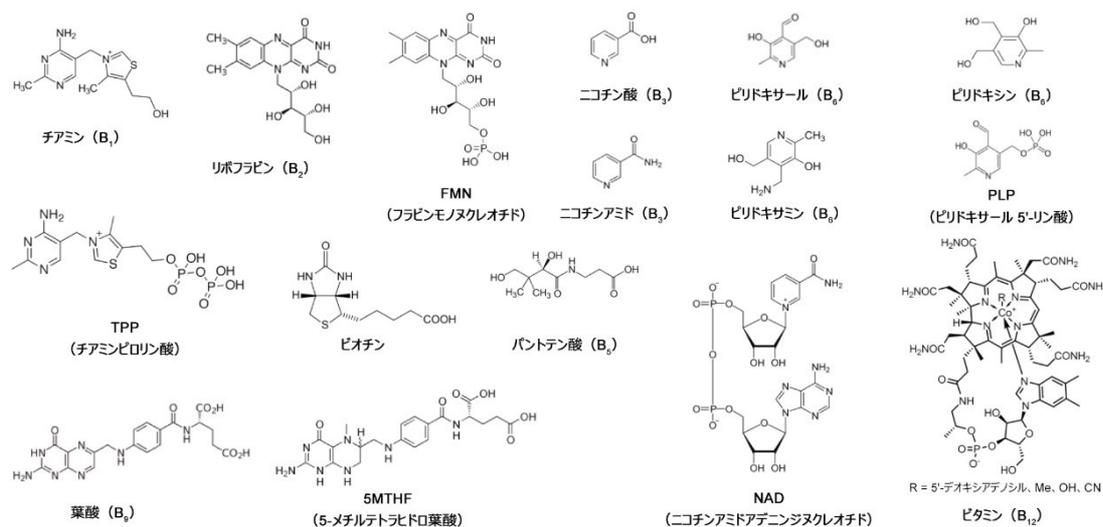


図 1. ビタミン B 群およびそのビタマーの構造

実験方法

すべてのサンプル前処理は、照明を薄暗くした環境で、琥珀色のガラス容器を使用して行いました。

標準試料の前処理

チアミン、チアミンピロリン酸 (TPP)、リボフラビン、フラビンモノヌクレオチド (FMN)、ニコチン酸、ニコチンアミド、パントテン酸、ピリドキシン、ピリドキサミン、ピリドキサル、ピリドキサル 5'-リン酸 (PLP)、ビオチン、葉酸、5-メチルテトラヒドロ葉酸 (5MTHF)、シアノコバラミン (CN B₁₂)、メチルコバラミン (Me B₁₂)、アデノシルコバラミン (Aden B₁₂) は Sigma-Aldrich (ミズーリ州セントルイス) から購入しました。安定同位体標識ビタミン B の ¹³C₅、¹⁵N-葉酸、¹³C₄、¹⁵N₂-リボフラビン、¹³C₄-チアミン、²H₄-ビオチン、¹³C₆、¹⁵N-パントテン酸、²H₂-ピリドキシン、および ²H₄-ニコチン酸は、Isosciences (isosciences.com、ペンシルベニア州アンブラー) から購入しました。個々のビタミン B 原液を調製するには、個々のビタミンを脱イオン水に濃度 0.5 mg/mL (有効数字 3 桁まで記録) になるように希釈しました。ただし、リボフラビンおよびビオチンについては、混合原液として調製し、リボフラビンおよびビオチン標準品のそれぞれについて、濃度 0.05 mg/mL (

有効数字 3 桁まで記録) になるように希釈しました。葉酸原液の希釈には、溶解を補助するため、少量 (1 ~ 2 滴) の水酸化アンモニウム溶液 (28 ~ 30% NH₃) が必要になる場合があります。PLP 原液は、希釈を促進するため 50°C に加熱しました。

個々の原液のアリコートを下のように脱イオン水で希釈することにより、中間的なビタミン B 混合溶液 3 種を調製しました。1 つ目は CN B₁₂ (0.1 mg/mL) および Me B₁₂ (0.1 mg/mL) の中間標準混合溶液、2 つ目はチアミン (0.01 mg/mL)、パントテン酸 (0.1 mg/mL)、ピリドキシン (0.01 mg/mL)、ニコチンアミド (0.1 mg/mL)、ニコチン酸 (0.1 mg/mL)、ピリドキサル (0.01 mg/mL) の中間標準混合溶液、3 つ目は葉酸 (0.1 mg/mL) および 5MTHF (0.1 mg/mL) の中間標準混合溶液です。作業用標準溶液は、これらの中間的なビタミン B 混合溶液と残りの個々の標準原液を混合し、脱イオン水で様々な濃度レベルに希釈して調製しました。

個々の安定同位体標識ビタミン B 標準原液は、個々のビタミン B 標準原液について以前記載した方法と同様の方法で調製しました。すべての安定同位体標準原液の混合溶液は、個々の原液から、適量の原液を脱イオン水と混合し、各標準試料について 0.02 mg/mL の濃度になるように調整しました。ただし、¹³C₅、¹⁵N-葉酸は 0.2 mg/mL の濃度になるように調製しました。この安定同位体標準混合原液を脱イオン水で 10 倍に希釈して、中間的な安定同位体混合溶液を調製し、その後これを作業用の標準溶液およびサンプル溶液に、内部標準として 0.1 µg/mL になるように添加しました。ただし、¹³C₅、¹⁵N-葉酸は、最終溶液が 1 µg/mL になるように添加しました。

サンプル前処理

Red Bull、Monster Energy、Rockstar などの主要ブランドの栄養ドリンク (ED) は、最寄りの販売店で購入しました。これらを 0.45 µm GMF メンブレンシリンジフィルターでろ過しました。低濃度ビタミン B (CN B₁₂) については、ろ液のアリコートを希釈せずに分析しました。ろ液の別のアリコートを脱イオン水で 50 倍 (容量比 1: 50) に希釈し、他のビタミン B について分析しました。ビタミン B 複合栄養補助食品 (DS、液体) も試験しました。DS を 50 µL 取り、まず脱イオン水 200 mL で希釈し、次に 0.45 µm GMF メンブレンシリンジフィルターでろ過し、脱イオン水を用いて様々な希釈倍率 (容量比 0.95: 1、1: 10、1: 100) で更に希釈してから分析しました。

分析条件

LC 条件

LC システム:	ACQUITY Premier システム
MS システム:	Xevo TQ-S microMS システム
分析時間:	9.0 分
カラム:	ACQUITY Premier BEH C ₁₈ カラム、1.7 µm、2.1 × 100 mm (製品番号: 186009453)

バイアル: LCMS 品質証明アンバーガラス製 Max Recovery バイアル (製品番号 600000755CV)

温度: 40 °C

移動相: A: 20 mM ギ酸アンモニウム水溶液 (pH 5.0)
B: メタノール

流速: 0.35 mL/分

注入量: 2 µL

グラジエントプログラム

時間 (分)	流速 (mL/分)	A%	B%
初期条件	0.35	99	1
0.5	0.35	99	1
2.5	0.35	92	8
5	0.35	10	90
6	0.35	10	90
6.1	0.35	99	1
9	0.35	99	1

MS 条件

極性: ES+

キャピラリー電圧: 1.4 kV

コーン電圧: 70V

ソース温度: 150 °C

脱溶媒温度: 350 °C

コーンガス流量: 350 L/時間

脱溶媒ガス流量: 650 L/時間

MRM パラメーター (定量的トレースは太字)

化合物	分子イオン (m/z)	フラグメントイオン (m/z)	コーン電圧 (V)	コリジョンエネルギー (eV)
CN B ₁₂	678.3	147.1	85	35
CN B ₁₂	678.3	359.1	85	35
メチル B ₁₂	673.7	147.1	10	45
メチル B ₁₂	673.7	359.2	10	25
アデノシル B ₁₂	791.1	359.2	50	28
アデノシル B ₁₂	791.1	486.6	50	33
リボフラビン	377.2	243.2	90	20
リボフラビン	377.2	172	90	20
チアミン	265.1	122	35	13
チアミン	265.1	144	35	13
TPP	425.2	122.1	20	23
TPP	425.2	303.8	20	15
ピオチン	245.1	227.1	50	13
ピオチン	245.1	97	50	13
パントテン酸	220.2	90.1	50	18
ピリドキシン	170.1	134	50	21
ピリドキシン	170.1	152.2	50	21
ニコチン酸	124.1	78	75	18
ニコチン酸	124.1	80	75	18
ニコチンアミド	123.1	80	70	18
ニコチンアミド	123.1	78.1	70	18
NAD	664.4	428.2	70	45
NAD	664.4	542.4	70	23
葉酸	442.2	176.2	70	40
葉酸	442.2	295.2	70	15
FMN	457.2	359.2	70	25
FMN	457.2	439.3	70	25
PLP	248.1	150	50	25
PLP	248.1	168.1	50	25
ピリドキサル	168	150.1	10	14
ピリドキサル	168	93.9	10	25
ピリキサミン	169.1	152.1	20	15
ピリキサミン	169.1	134	20	25
5MTHF	460.2	313.2	70	18
5MTHF	460.2	194.2	70	33
¹³ C ₄ , ¹⁵ N ₂ -リボフラビン	383	249	20	20
¹³ C ₄ -チアミン	269.1	122	35	13
¹³ C ₆ , ¹⁵ N ₂ -パントテン酸カルシウム	224.2	94.1	50	18
² H ₂ -ピリドキシン	172.1	136	50	21
² H ₄ -ニコチン酸	128.1	84	75	18
¹³ C ₆ , ¹⁵ N-葉酸	448.2	295.2	70	15

結果および考察

この試験では、乳児用調製粉乳および関連する栄養食品中の総ビタミン（B₁、B₂、B₃、B₆）の同時測定に、AOAC 公定分析法 2015.14 で用いられている LC-MS/MS 条件8を、わずかな修正を2つ加えて使用しました。移動相 A の pH は、一貫性のある結果を得るために pH 5.0 に調整しました。追加のビタミン（B₅、B₇、B₉、B₁₂）を含む 18 種類のビタミンの MRM トランジションおよび MS 検出のパラメーターを、Xevo TQ-S micro MS システム用に最適化しました。

ビタミン B の分析における MaxPeak HPS の効果

ビタミン B の分析における MaxPeak HPS の効果を調べるための比較試験では、2 種類の LC システムセットアップを使用しました。1 つは ACQUITY Premier システムと ACQUITY Premier BEH C₁₈ カラム（1.7 μm、2.1 × 100 mm）（「HPS セットアップ」）で構成し、もう 1 つは ACQUITY UPLC H-Class PLUS システムと ACQUITY UPLC BEH C₁₈ カラム（1.7 μm、2.1 × 100 mm）（「SOP セットアップ」）で構成しました。HPS セットアップには MaxPeak HPS を使用し、SOP セットアップには従来のステンレススチール表面を使用していることを除き、この 2 つの LC システムは同一です。比較試験における装置の変動を最小限に抑えるために、これら 2 つのシステムで同じ Xevo TQ-S micro MS システムを使用しました。

MaxPeak HPS によるレスポンスの向上

HPS セットアップを使用した場合、18 種類のビタミンの大部分で、より高いピーク強度およびより大きなピーク面積が観察されました。図 2 に、両方の LC セットアップでの、標準混合溶液（濃度 1 μg/mL）の 7 回の繰り返し注入で得られたピーク面積の比較プロットを示します。このデータは、システムとカラムが新品である時（これまでシステムにビタミン B 群を注入したことがない状態）に取得しました。18 種類のビタミンすべてについて、HPS セットアップでは SOP セットアップのピーク面積と同等またはそれ以上のピーク面積が得られています。図 3A に、両方の LC セットアップで標準混合溶液の初回の注入により得られた FMN、チアミン、PLP、パントテン酸のクロマトグラムの比較を示します。これらの化合物のピーク強度は、HPS セットアップの方が顕著に大きくなりました。この LC-MS/MS レスポンスの大きな差は、表面（特にステンレススチール）が分析種への曝露によりコンディショニングされたため、ビタミン B を繰り返し注入した後では緩和されましたが、LC-MS システムを長期間使用した後でも差は明らかでした（図 3B を参照）。図 3B に、両方の LC 装置で得られた DS サンプルのビタミン B のクロマトグラムの比較を示します。図 3B のクロマトグラムを取得した時点で、いずれの LC 装置でも既に 100 回を超える注入が行われていました。これらのビタミン B について、HPS と SOP のセットアップの間に、ピーク強度にはあまり差が見られませんでした。ピーク高さの差は依然として明白でした。また、SOP セットアップでは、チアミンのピークテーリングが顕著に見られました（図 3B）。



図 2. HPS セットアップと SOP セットアップで得られた、ビタミン B 群およびそのピタマーの LC-MS/MS ピーク面積の比較。ステンレススチール表面（SOP、青色のバー）で得られたピーク面積を、MaxPeak HPS（HPS、オレンジ色のバー）で得られたピーク面積と並べてプロットしています。

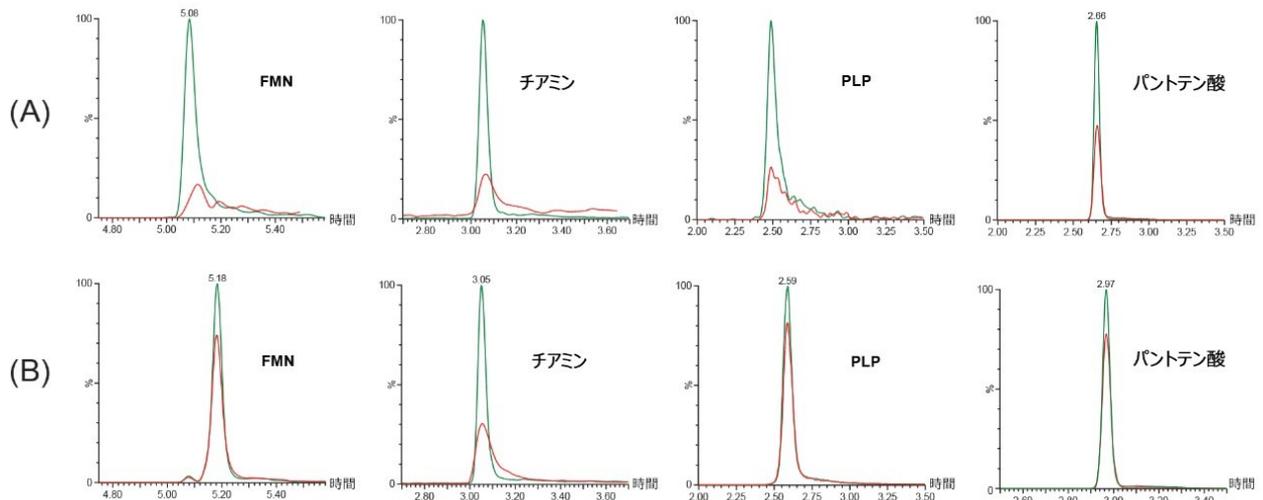


図 3. HPS セットアップ（緑線）と SOP セットアップ（赤線）で得られた FMN、チアミン、PLP、パントテン酸の LC-MS クロマトグラムの比較。（A）同じ標準混合液を新品の LC システムに初回注入して観察された結果。（B）長く使用した LC システムでの同じ DS サンプルのビタミン B 分析で観察された結果。

MaxPeak HPS による感度の向上

ビタミン B の LC-MS/MS 分析において、SOP セットアップよりも HPS セットアップの方でより高い感度が得られました。標準混合溶液を使用し、シグナル対ノイズ比 (S/N) を 10 として定量限界 (LOQ) を推定しました。表 1 に、ED サンプルおよび DS サンプルの同時ビタミン B 分析において、両方の LC セットアップで得られた LOQ 値

とキャリブレーションの結果を示します。HPS セットアップの LOQ は、SOP セットアップの LOQ と同等またはより良好です。HPS セットアップでは、6 種類のビタミン B の LOQ が 3 ~ 10 倍向上していました。HPS セットアップでは、キャリブレーションの直線性 (R^2) もより良好でした (表 1)。

ビタミン類	LOQ (ng/mL)	範囲 (ng/mL)	R^2	LOQ (ng/mL)	範囲 (ng/mL)	R^2	多項式フィッティングの次数	I.S.
	HPS			SOP				
シアノコバラミン	10	10-3,000	0.99	10	10-3,000	0.97	1st	なし
メチルコバラミン	10	10-10,000	0.995	10	10-10,000	0.99	1st	なし
リボフラビン	3	3-10,000	0.9993	10	10-10,000	0.998	1st	$^{13}\text{C}_4$ $^{15}\text{N}_2$ -リボフラビン
チアミン	3	3-1,000	0.9991	10	10-1,000	0.99	1st	$^{13}\text{C}_4$ -チアミン
ピオチン	3	3-3,000	0.9991	3	3-3,000	0.99	1st	なし
パントテン酸	10	10-10,000	0.99	10	10-10,000	0.99	1st	$^{13}\text{C}_3$ ^{15}N -パントテン酸
ピリドキシン	1	1-1,000	0.998	1	1-1,000	0.998	1st	$^2\text{H}_2$ -ピリドキシン
ニコチン酸	30	30-10,000	0.993	30	30-10,000	0.99	2nd	$^2\text{H}_2$ -ニコチン酸
ニコチンアミド	10	10-3,000	0.997	30	30-10,000	0.99	2nd	$^2\text{H}_2$ -ニコチン酸
葉酸	100	100-10,000	0.99	100	100-10,000	0.93	1st	$^{13}\text{C}_5$ ^{15}N -葉酸
FMN	100	100-100,000	0.995	300	300-30,000	0.95	1st	なし
PLP	100	100-30,000	0.991	300	300-3,000	0.96	2nd	$^2\text{H}_2$ -ピリドキシン
ピリドキサル	3	3-300	0.9993	3	3-300	0.99	2nd	$^2\text{H}_2$ -ピリドキシン
5-M-THF	10	10-10,000	0.9991	100	100-3,000	0.98	1st	なし

表 1. 2 つの LC セットアップでのビタミン B の LOQ およびキャリブレーションの結果

MaxPeak HPS によるキャリーオーバーの解消

図 4 に、キャリーオーバー試験において、HPS および SOP のシステムセットアップで得られたビタミン B 群の LC-MS/MS クロマトグラムの比較を示しています。リボフラビン、ピリドキサル、5MTHF、MeB₁₂ の SOP システムセットアップでのブランク注入では残留ピークが検出されましたが、HPS システムセットアップでは残留ピークは検出されませんでした。

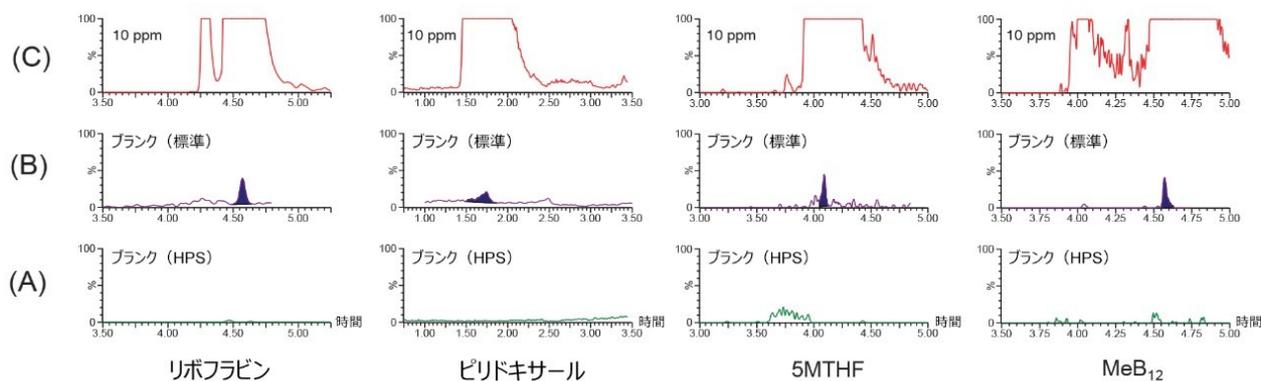


図 4. リボフラビン、ピリドキシン、5-メチル-THF、メチルコバラミンについて、HPS セットアップ (A) 、SOP セットアップ (B) 、および 10 ppm 標準溶液の注入直後 (C) での blanks 注入で得られた LC-MS クロマトグラムの比較。SOP システムセットアップ (B) では、これら 4 種のビタミンについて、10 ppm のピーク (C) の 0.03 ~ 0.1% のレベルの小さい残留ピークが観察されました。HPS システム (A) では残留ピークは観察されませんでした。

栄養ドリンクおよび栄養補助食品サンプルの分析

ED およびビタミン B 複合 DS に含まれるビタミン B を、Xevo TQ-S micro MS システムと組み合わせた HPS セットアップを用いて分析しました。図 5 および 6 に、ED および DS についてのビタミン B のクロマトグラムを示します。18 種類のビタミン B すべてがこれらのサンプルに配合されているわけではなく、サンプル中に存在するビタミン B のみを分析しました。

栄養ドリンク

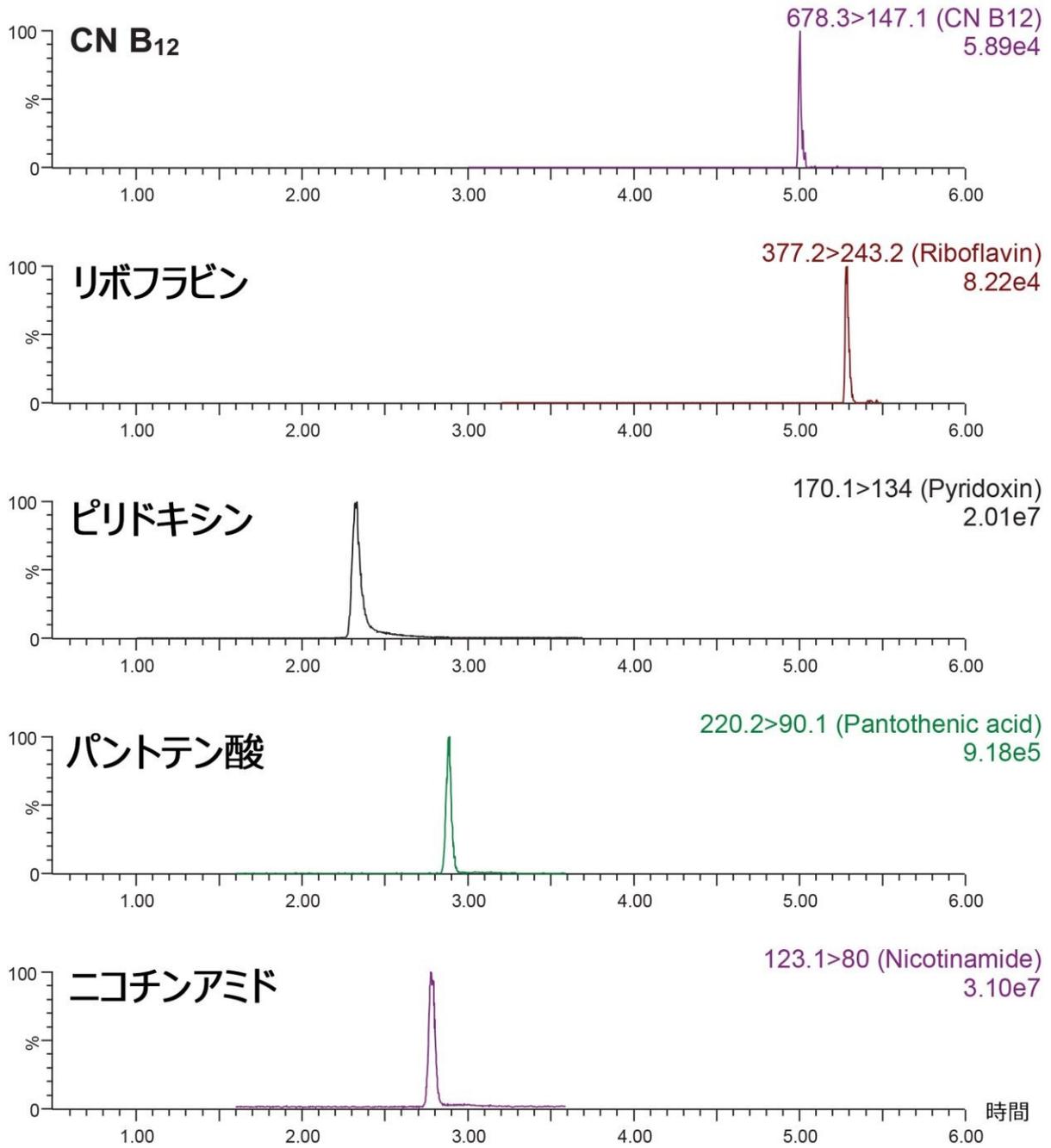


図 5. 栄養ドリンクサンプル中のビタミン B のクロマトグラム

栄養補助食品

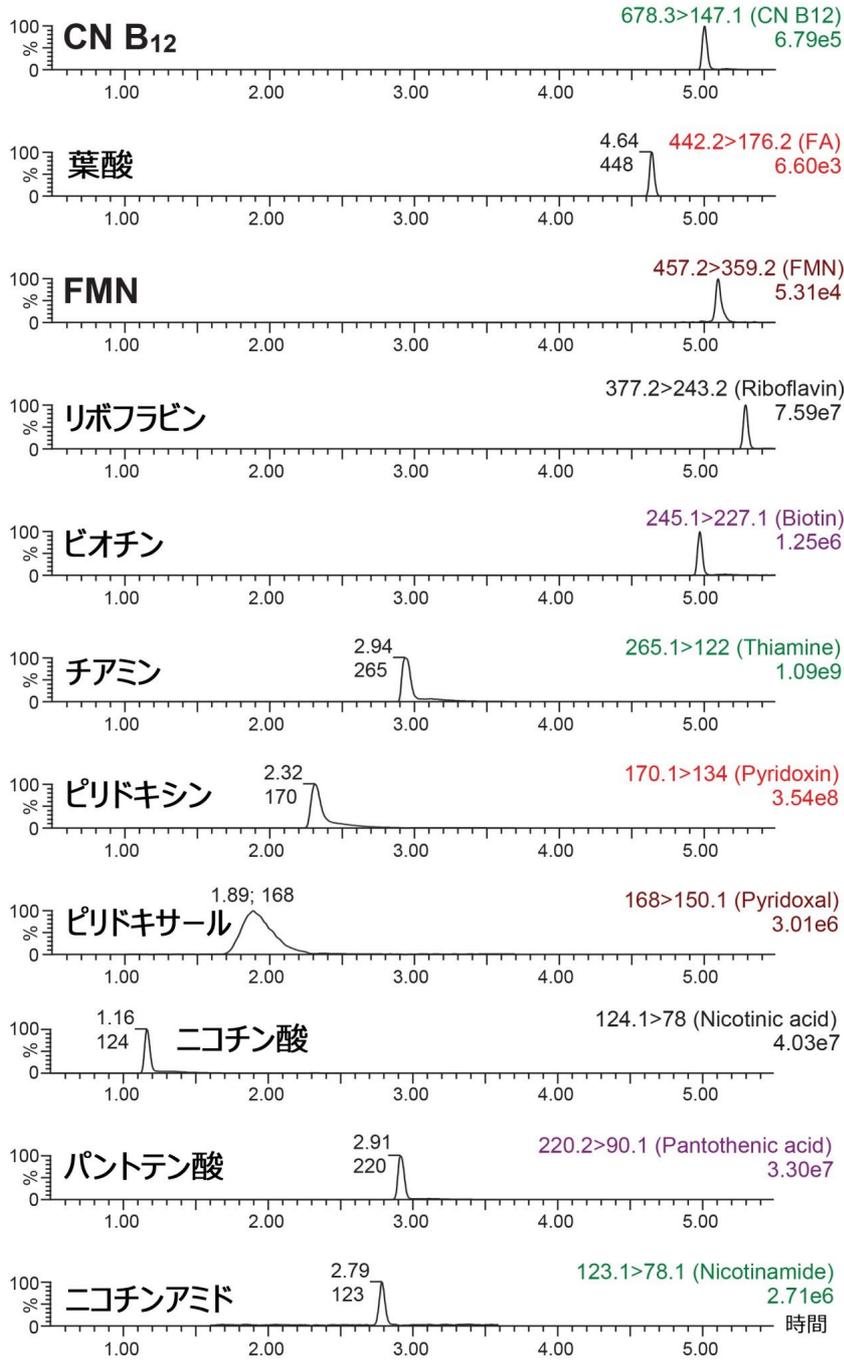


図 6. ビタミン B 複合栄養補助食品サンプル中のビタミン B のクロマトグラム

表 2 に、分析結果と ED サンプル中のビタミン B の表示値または申告値を示します。LC-MS/MS 分析の正確度を、ED1 サンプルのスパイク実験により評価しました。これらのビタミン B について、回収率は 91%~107% でした。表示値と比較したところ、ビタミン B の測定値は ED1 および ED2 については表示値の 90% ~ 124% の範囲、

ED3 については 138% ~ 180% の範囲です。通常、食品中の強化栄養素には 25 ~ 50% の過剰添加が用いられます。ED3 中の比較的高いビタミン B 含有量は、この製品に過剰添加されていることを示しています。ほとんどのビタミン B の分析再現性は 7% RSD を下回っていました。ただし、ED2 中のシアノコバラミンの RSD (最大 17%) とニコチンアミドの結果の 1 つ (11%) はこれより高い値でした。シアノコバラミンの RSD が高いのは、ED1 および ED3 のシアノコバラミン濃度が非常に低い (LOQ 付近) ことで説明できます。表 3 に、ビタミン B 複合 DS の分析と添加回収試験の結果を示します。12 種類のビタミンについて、優れた回収率が得られました (78% ~ 122%)。これらのビタミン B の再現性は、全体として 7% RSD 以内でした。

サンプル		シアノコバラミン (B ₁₂) (µg/1 回分)	リボフラビン (B ₂) (mg/1 回分)	パントテン酸 (B ₅) (mg/1 回分)	ピリドキシン (B ₆) (mg/1 回分)	ニコチン酸アミド (B ₃) (mg/1 回分)
ED1	ラベル表示値	2.88	—	3.5	5.96	22.4
	測定値	3.59	0.23	4.97	7.03	23.54
	RSD (%) (n=4)	10%*	7%	1%	3%	3%
	測定/ラベル表示値	124%	—	142%	118%	105%
	添加量	2.14	0.18	15.66	1.49	20.84
	回収率 (%)	96%	103%	95%	107%	91%
ED2	ラベル表示値	12	3.38	—	4.08	40
	測定値	10.8	3.89	—	4.43	43.3
	RSD (%) (n=3)	1%	3%	—	3%	11%
	測定/ラベル表示値	90%	115%	—	109%	108%
ED3	ラベル表示値	2.4	1.3	5	1.7	16
	測定値	3.78	1.79	8.99	2.74	22.75
	RSD (%) (n=3)	17.4%*	5%	4%	7%	5%
	測定/ラベル表示値	158%	138%	180%	161%	142%

注：* B₁₂の内容物は約 3×LOQ レベルで低濃度でした。

表 2. 栄養ドリンクの分析と添加回収試験の結果

サンプル	DS						
	ラベル表示値	測定値 (平均)	RSD (%) (n=3)	添加量	測定値 (スパイク後)	RSD (%) (n=3)	回収率 (%)
シアノコバラミン (B ₁₂) (μg/1 回分)	1000	2124	7.00%	378	2453	6.90%	87%
メチルコバラミン (B ₁₂) (μg/1 回分)	0	0	—	347	270	13%	78%
葉酸 (B ₉) (μg/1 回分)	0	0	—	355	323	0.40%	91%
5MTHF (B ₉) (μg/1 回分)	0	0	—	400	374	1.40%	94%
FMN (B ₂) (mg/1 回分)	1.7	2.86	10%	0.8	3.73	4.30%	107%
PLP (B ₆) (mg/1 回分)	0	0	—	44	54	3.10%	122%
リボフラビン (B ₂) (mg/1 回分)	0	0.159	9.50%	0.43	0.57	1.30%	95%
チアミン (B ₁) (mg/1 回分)	0	0	—	31	29	5.80%	92%
ピオチン (B ₇) (μg/1 回分)	0	0	—	441	448	5.20%	102%
パントテン酸 (B ₅) (mg/1 回分)	30*	0	—	36	44	6.80%	120%
ピリドキシン (B ₆) (mg/1 回分)	2	2.53	4.20%	4.03	7.09	2.10%	113%
ニコチン酸アミド (B ₃) (mg/1 回分)	20	25	1.00%	—	—	—	—
ニコチン酸 (B ₃) (mg/1 回分)	0	0	—	40	39	4.40%	98%

注：*B₅ (D-パントテノールとして)。

表 3. ビタミン B 複合栄養補助食品の分析と添加回収試験の結果

結論

このアプリケーションノートでは、18 種類のビタミン B 群の LC-MS/MS 分析における MaxPeak HPS の効果について調査を行い、従来のステンレススチール表面と比べて、ビタミン B の分析に MaxPeak HPS を使用することに持続的なメリットがあることが示されました。ビタミン B の LC-MS/MS 分析で得られた主なメリットとして、大きいレスポンス、ピークテーリングの低減、感度の向上、検量線の直線性の向上、キャリアオーバーの低減などが挙げられます。このようなメリットは、新品の装置を使用する段階で顕著に表れました。LC システムおよびカラムを長期間にわたって使用した後は、MaxPeak HPS と従来のステンレススチール表面の間の差は縮まりましたが、市販の ED およびビタミン B 複合 DS におけるビタミン B の分析では、差が依然として明白に見られました。ED および DS サンプルにおける分析法バリデーションでは、優れた正確度と再現性を有することが示されました。Waters ACQUITY Premier ソリューションは、ビタミン B 群の分析において、感度、正確度、精度の点で、従来の LC ソリューションと比較して明らかな優位性を示しました。

参考文献

1. Wakamatsu, A.; Morimoto, K.; Shimizu, M.; Kudoh, S. A Severe Peak Tailing of Phosphate Compounds Caused by Interaction with Stainless Steel Used for Liquid Chromatography and Electrospray Mass

- Spectrometry. *J. Sep. Sci.* 2005, 28, 1823–1830.
2. Asakawa, Y.; Tokida, N.; Ozawa, C.; Ishiba, M.; Tagaya, O.; Asakawa, N. Suppression Effects of Carbonate on the Interaction between Stainless Steel and Phosphate Groups of Phosphate Compounds in High-Performance Liquid Chromatography and Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2008, 1198–1199, 80–86.
 3. Lauber, M.; Walter, T. H.; DeLano, M.; Gilar, M.; Boissel, C.; Smith, K.; Birdsall, R.; Rainville, P.; Belanger, J.; Wyndham, K. Low Adsorption HPLC Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces. Waters White Paper, [720006930EN](#) <
<https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=135074404&lcid=135074403>> 2020.
 4. Birdsall, R. E.; Kellet J.; Ippoliti, S.; Ranbaduge, N.; Shion, H.; Yu, Y. Q. Increasing Chromatographic Performance of Acidic Peptides in RPLC-MS-based Assays with ACQUITY Premier featuring MaxPeak HPS Technology. Waters Application Notes, [720007003EN](#) <
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/increasing-chromatographic-performance-of-acidic-peptides-in-rplc-ms-based-assays-with-acquity-premier-featuring-maxpeak-hps-technology.html>> 2020.
 5. Boissel, C.; Walter, T. H. Improved Peak Shape and Wide Selectivity Range with ACQUITY Premier Columns. Waters Application Notes, [720007014EN](#) <
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/improved-peak-shape-and-wide-selectivity-range-with-acquity-premier-columns.html>> 2020.
 6. Smith, K. M. and Rainville, P. Utilization of MaxPeak High Performance Surfaces for Improved Separation and Recovery of Analytes Associated with the Tricarboxylic Acid Cycle. Waters Application Notes, [720006727EN](#) <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/tca-cycle-analytes-by-mixed-mode-chromatography-mass-spectrometry.html>> 2020.
 7. Brennan, K.; Lame, M. L.; Donegan, M.; Rainville, P. D. Improved Oligonucleotide SPE-LC-MS Analysis Using MaxPeak High Performance Technology. Waters Application Notes, [720007019EN](#) <
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/improved-oligonucleotide-spe-lc-ms-analysis-using-maxpeak-high-performance-technology.html>> 2020.
 8. Official Methods of Analysis (2019) 21st Ed., AOAC INTERNATIONAL, Rockville, MD, Method 2015.14. www.eoma.aoc.org <<http://www.eoma.aoc.org/>> [accessed on June 19, 2020].

ACQUITY Premier システム <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

ACQUITY Premier ソリューション <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135071970>>

Xevo TQ-S micro タンデム四重極型質量分析計 <<https://www.waters.com/134798856>>

720007264JA、2021 年 5 月

© 2021 Waters Corporation. All Rights Reserved.