

UYGULAMA NOTU

Sıvı Kromatografi Kütle Spektrometre

M021

LCMSMS ile Gıdalarda Steroid Analizi

HAZIRLAYANLAR

Dr. Engin Bayram - Mehmet Bahadır Ülkü
Ant Teknik Cihazlar Ltd. Şti.

KONU:

Steroid hormonların kullanımı beslenme verimi ve hayvan gelişimi üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle, onlarca yıldır besi hayvanı ve diğer amaçlı hayvan yetiştiriciliğinde önemli bir yere sahip olmuştur.. Ancak, aynı zamanda dışarıdan beslenme yolu ile alındığında “Endokrin Bozucu” olan bu ajanlar, kanser, hermafroditizm gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır.

Bu nedenle bu tür ilaçların kullanımı Avrupa Birliği Konseyinin 96/22/EC No’lu direktifi ile yasaklanmış/sınırlanmış ve yine ilgili kurumun 96/23/EC numaralı direktifiyle bu ilaçların, gıda ürünlerindeki kalıntıları izlemeye alınmıştır.

CALIŞMANIN AMACI:

Hayvansal gıdalarda, Endojen ve sentetik steroidler ile non-steroidal β -Agonistlerin kalıntı analizi (tarafından belirlenen MRL değerleri dikkate alınarak, bkz. Tablo-) için HPLC ve MSMS analiz koşullarının optimize edilmesi.

METOD ve MATERYALLER:

Bu çalışmamızda Shimadzu LCMS-8040 Triple Quadrupole sistemi kullanılmıştır.

NUMUNE HAZIRLAMA:

Saf analit standartları, metanol ile seyreltilerek, optimizasyon ve korelasyon eğrisi için gerekli standard karışımlar hazırlanmıştır.



ANALİTİK KOŞULLAR:

MS Koşulları;

Cihaz	: Shimadzu
	: LCMS-8040 TQ
Model	: 3 mL/dk
Spreyleme Gazı Akış Hızı	: 15 mL/dk
Kurutma Gazı Akış Hızı	: 250 °C
DL Sıcaklığı	: 400 °C
HB Sıcaklığı	: ESI (+/-)
Source/polarity	

MRM Transitions-1 (β -Agonist ve Androjenler)

Instrument Parameters View Normal **Advanced** End Time : 17.00 min

MS Interface Data Acquisition LC Time Prog. Pump Column Oven Controller Autosampler AutoPurge

Positive Negative End Time: 11,117 min MS Program Edit Valve and MS Program...

MRM(+) Product Ion Scan(+) Precursor Ion Scan(+) Neutral Loss Scan(+) SIM(+) Scan(+)

CID Gas CID Gas... Attenuation... Loop Time...

Type	Event#	+/-	Compound Name m/z	Time (1,100 min - 11,117 min)
MRM	1	+	Salbutamol 240,00>148,10, 240,00>222,00	
MRM	2	+	Cimbuterol-D9 243,40>116,10, 243,40>144,10, 243,40>16	
MRM	3	+	Cimbuterol 234,00>160,00, 234,00>143,10	
MRM	4	+	Clenbuterol-D9 286,20>169,10, 286,20>204,05	
MRM	5	+	Clenbuterol 277,10>203,00, 276,90>259,10	
MRM	6	+	Bromobuterol 367,00>292,90, 367,00>349,00	
MRM	7	+	Mabuterol-D9 320,20>182,00, 320,20>203,05, 320,20>21	
MRM	8	+	Mabuterol 311,10>237,00, 311,00>292,90	
MRM	9	+	Mapenterol 325,10>237,10, 325,10>307,20	
MRM	10	+	Testosteron-d3 292,00>109,00, 292,00>97,00	
MRM	11	+	Testosteron 289,00>109,00, 289,20>97,00	
MRM	12	+	Methyltestosterone 303,40>96,95, 303,40>109,00	
MRM	13	+	Trenboloneacetate 313,20>253,05, 313,20>199,10, 313,2	
MRM	14	+	MelengesterolAcetate(MGA) 397,30>279,10, 397,30>236,	
MRM	15	+	Progesterone-d9 324,30>100,10, 324,30>113,10	
MRM	16	+	Progesterone 315,20>109,00, 315,10>97,05, 315,20>79,1	

MRM Transitions-2 (Estrojenler)

Instrument Parameters View Normal **Advanced** End Time : 17.00 min

MS Interface Data Acquisition LC Time Prog. Pump Column Oven Controller Autosampler AutoPurge

Positive Negative End Time: 8,635 min MS Program Edit Valve and MS Program...

MRM(-) Product Ion Scan(-) Precursor Ion Scan(-) Neutral Loss Scan(-) SIM(-) Scan(-)

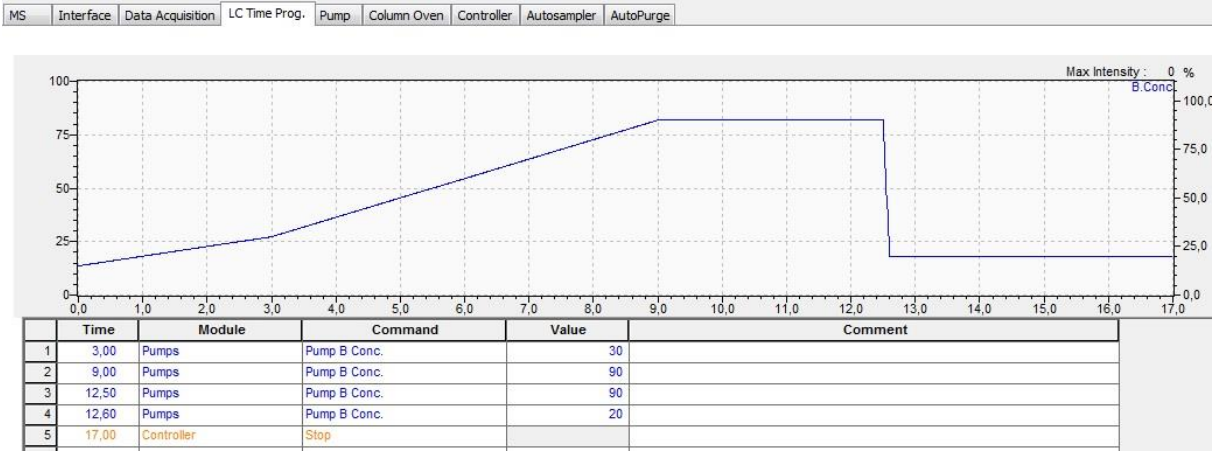
CID Gas CID Gas... Attenuation... Loop Time...

Type	Event#	+/-	Compound Name m/z	Time (2,696 min - 8,635 min)
MRM	1	-	a-Zearalenol 319,10>275,10,	
MRM	3	-	b-Zearaleno(1) 319,10>275,0	
MRM	4	-	a-Zearalano 321,10>277,20,	
MRM	5	-	b-Zearalano 321,10>277,20,	
MRM	6	-	Zearalenone 317,20>175,00,	
MRM	7	-	Zearalanone 319,10>205,10,	
MRM	8	-	17 β -Estradiol 271,10>145,00,	
MRM	9	-	17 α -Estradiol 271,10>145,10,	
MRM	10	-	DES 267,10>251,15, 267,10>2	
MRM	11	-	DIEN 265,20>93,10, 265,20>2	
MRM	12	-	Hexestrol 269,10>134,00, 269	

LC Koşulları-1 (β-Agonist ve Androjenler)

Cihaz : Shimadzu
Model : Nexera X2 UHPLC
Kolon : Phenomenex Kinetex XB-C18 (2.6um, 100x2.1mm)
Mobil Faz A : %0,2 Formik asit %100 suda
Mobil Faz B : %0,2 Formik asit %100 metanolde
Akış Oranı : 0.2 mL/dk (Gradient program)
Enjeksiyon Hacmi : 5 uL

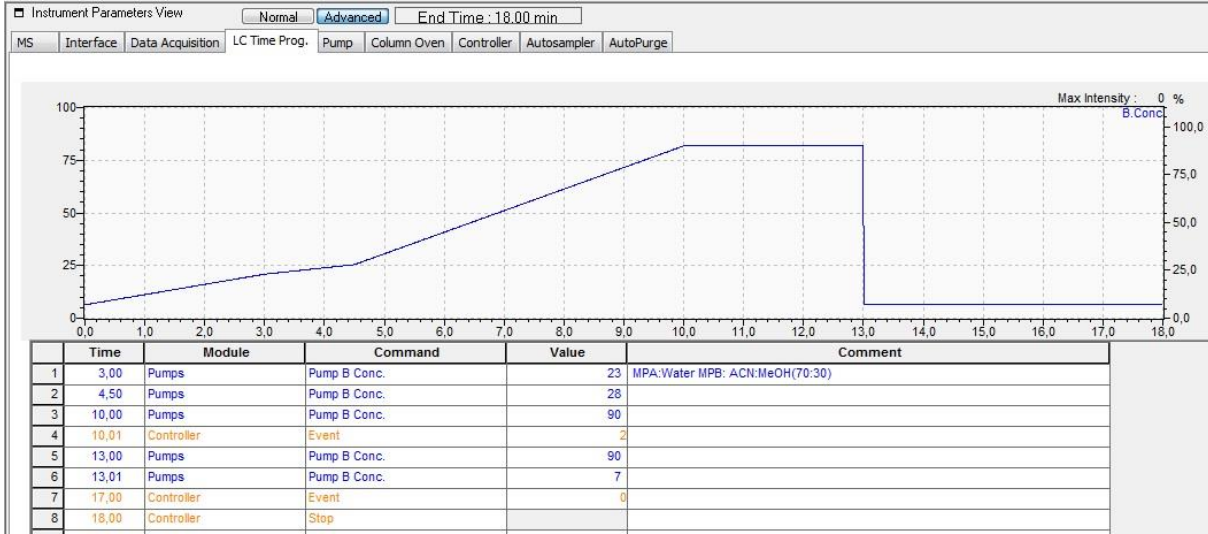
Gradient Programı;



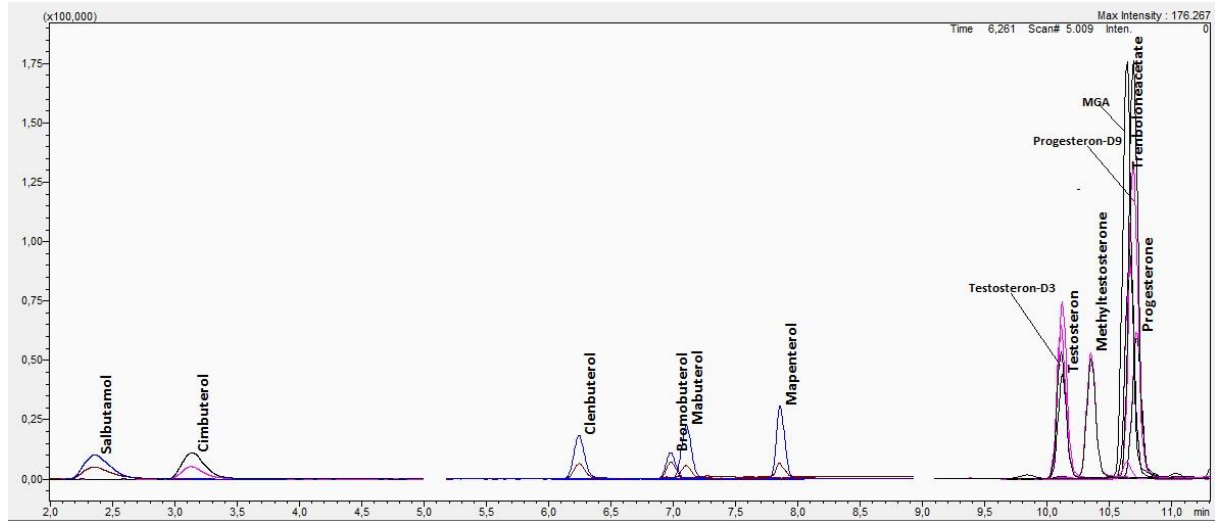
LC Koşulları-2 (Endojen ve Sentetik Estrojenler);

Cihaz : Shimadzu
Model : Nexera X2 UHPLC
Kolon : GL Sciences Inertsustain C18 (1.9um, 100x2.1mm)
Mobil Faz A : Su (%0,2 NH₄OH)
Mobil Faz B : ACN:MeOH (70/30-v/v) (0.2% NH₄OH)
Akış Oranı : 0.2 mL/dk (Gradient program)
Enjeksiyon Hacmi : 5 uL

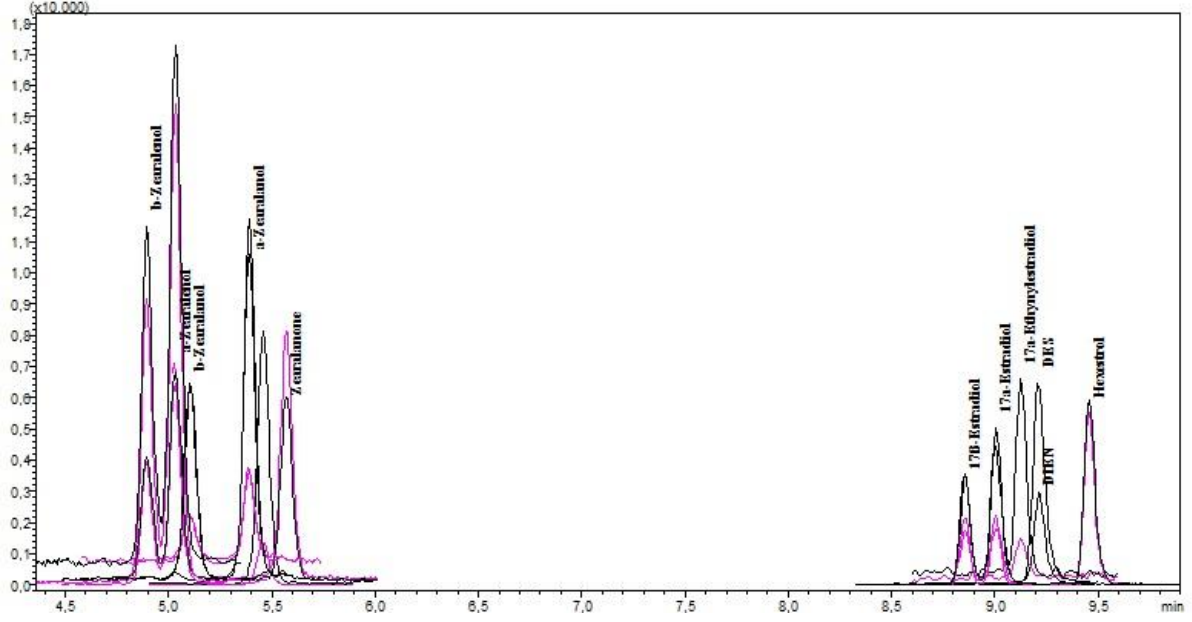
Gradient Programı:



Örnek Kromatogram (β-Agonist (0,5ug/L) ve Androjenler(1ug/L)), Std Karışım



Örnek Kromatogram (Endojen ve Sentetik Estrojenler (1,0ug/L)), Std Karışım



Çalışmalarımız Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü / Toksikoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Desteklerinden dolayı kendilerine teşekkürlerimizi sunarız.

Bu Aplikasyon Notu uygulamanın gerçekleştirildiği tarihe ait bilgiler ışığında oluşturulmuştur.
Bu yayında yer alan bilgilerin referans gösterilerek başka bir yerde kullanılması Ant Teknik'in iznine tabidir.
Aplikasyon Notu Ant Teknik tarafından önceden bildirilmeksizin değiştirilebilir.