

UYGULAMA NOTU

Sıvı Kromatografi Kütle Spektrometre

M031

LCMSMS ile Bebek Mamasında Multitoksin Analizi - 2

HAZIRLAYAN

Dr. Engin Bayram
Ant Teknik Cihazlar Ltd. Şti.

KONU:

Bebek mamasında multitoksinlerin (DON, FB1, HT2Toxin, Citrinin ve ZON) LCMSMS ile analizi.

ÇALIŞMANIN AMACI:

İnsanlar ve hayvanlar için yüksek toksisiteye sahip olabilen mikotoksinler, gıda üretiminin bütün basamaklarında, üretim sonrası depolama aşamasında ortaya çıkabilir ve bunun da ekonomi, gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından oldukça kritik sonuçları olabilir.

Mikotoksinleri üreten küf mantarlarının, çoğunlukla ilgili gıdaya özel olması, immünoafinite kromatografisi (numune hazırlık)-HPLC metodlarının, mikotoksinlerin birçoğunun (özellikle de aflatoksinlerin) analizlerinde, halihazırda en yaygın olarak kullanılan teknikler olması sonucunu doğurmuştur.

Eğer analizde, tekil bir gıda gurubu hedefleniyorsa (sadece fındık, buğday, bebek devam sütü vb.) bahsedilen teknikler rahatlıkla tercih edilebilirler ancak konu kompleks gıdalara geldiğinde (bebek maması, tıbbi amaçlı bebek diyet ürünleri, kakaolu fındık kreması vb.) durum karmaşık bir hal alacaktır.

Bu tür gıdalar, birer karışım olduğundan ve içerdikleri bitkisel/hayvansal gıdaların kaynakları da farklı olduğundan birer mikotoksin kokteyli olabilirler ve her bir mikotoksin grubunun analizi de ayrı bir numune hazırlık aşaması demektir.

Özetle kompleks gıda maddesi ile karşılaşıldığında analiz süresi uzayacak ve analiz maliyeti artacaktır.

LC-MSMS yöntemi kullanılarak multi-bileşen içeren kompleks bir gıda maddesinin analizini, numune hazırlığı tek metoda indirgeyerek, tek enjeksiyon ile gerçekleştirmek mümkündür.

METOD VE MATERYALLER:**Numune hazırlık:**

Gerçek numuneler: Tahıl katkılı bebek maması numunesinden 5 gr tartılır, numune üzerine 20mL Su:Asetonitril (1:4, 0.2%(v/v) asetik asit içeren) eklenir, 35 dakika çalkalanır, santrifüj edilir (4000rpm, 10 dakika) ve 0,22µm'lik şırınga ucu filtreden süzülerek sisteme enjekte edilir.

Standard hazırlık:

Sertifikalı analit standartları, DON, FB1, HT2Toxin, Citrinin ve ZON içermeyen mama ekstraktı ile, uygun derişimlere seyreltilir.

ANALİTİK KOŞULLAR:

MS Koşulları;

Cihaz	: Shimadzu
Model	: LCMS-8060 TQ
Interface Temp	: 350 °C
Block Heater Temp	: 400 °C
DL Temp	: 250°C
Nebulizing Gas	: 2.5 L/min
Drying Gas	: 5 L/min
Heating Gas	: 15 L/min
Source/Polarity	: HESI(+)

MRM Transitions

ID#	Name	m/z	Ref. Ions
1	DON	296.90>249.10	296.90>231.10
2	FB1	722.10>334.30	722.10>352.30
3	HT2Toxin	442.00>263.10	442.00>215.10
4	FB2	706.10>336.30	706.10>318.30
5	T2Toxin	484.00>185.10	484.00>215.20
6	Citrinin	250.90>233.10	250.90>205.00
7	ZON	317.00>175.10	317.00>131.20



LC Koşulları;

Cihaz	: Shimadzu
Model	: Nexera X2 UHPLC
Kolon	: Raptor Biphenyl (2.7um, 100x2.1mm)
Mobil Phase A	: Water (2mM Ammonium Formate, 0.2% Formic Acid)
Mobil Phase B	: Methanol (2mM Ammonium Formate, 0.2% Formic Acid)
Akış Hızı	: 0.4 mL/min (Gradient Program)
Enjeksiyon Hacmi	: 5 uL

SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME:

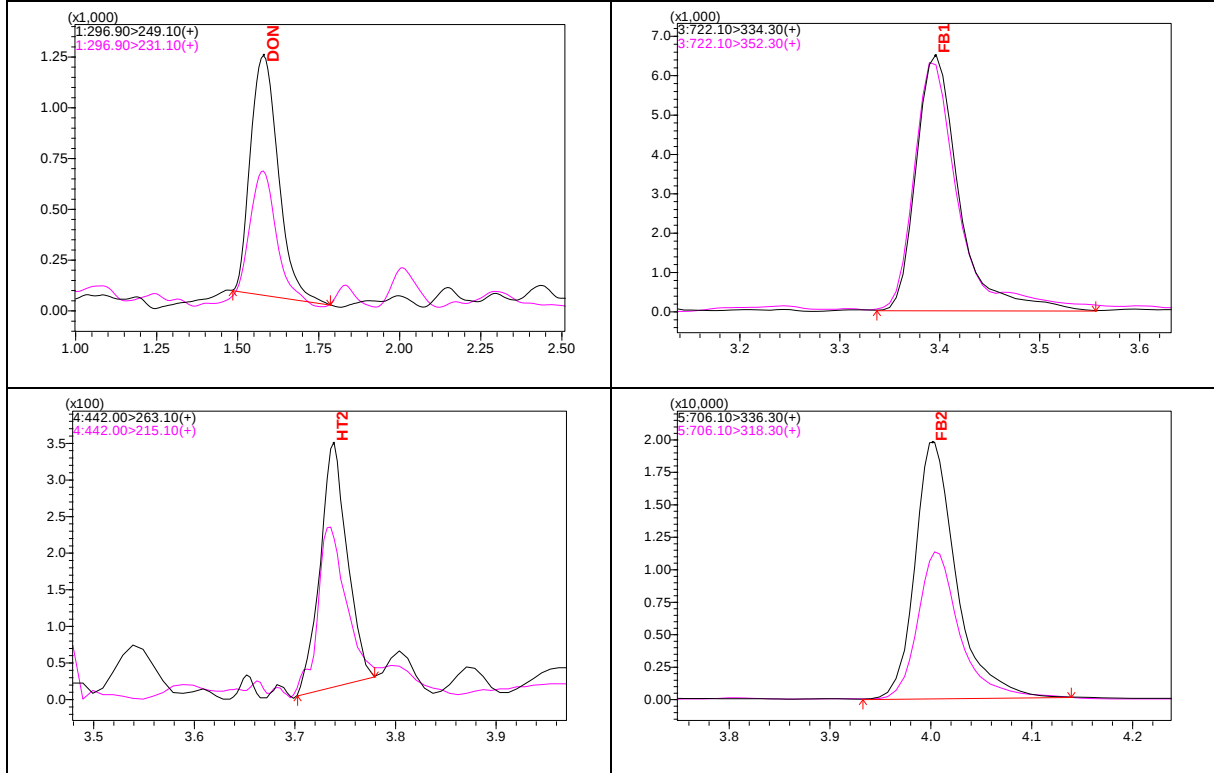
İlgili toksinlerin LOQ seviyesinde hazırlanan geri kazanım numunesine ait derişim ve S/N değerleri aşağıda verilmiştir.

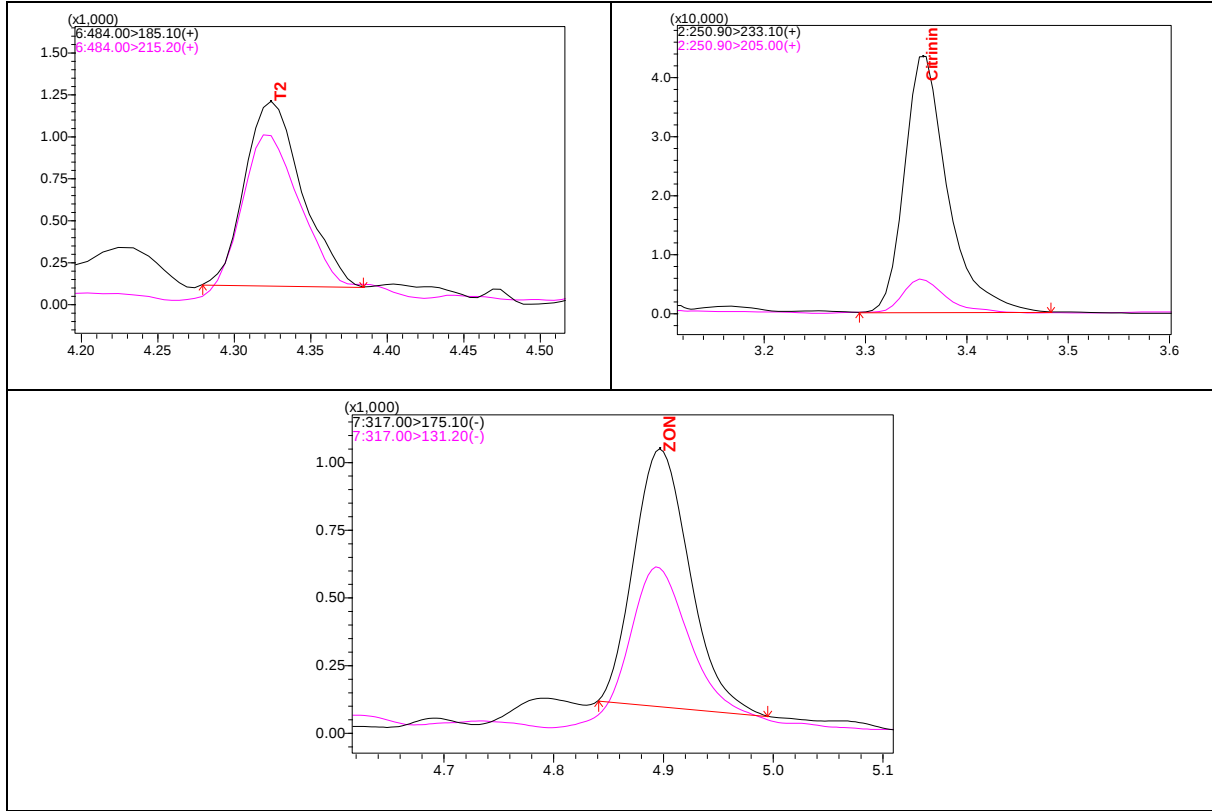
Mikotoksin	Cihaz Kal. Sev. (ug/L)	Derişim (Spiked ug/L)	S/N
DON	0.625	5	50.74
FB1	1.25	10	227.02
HT2Toxin	0.625	5	17.87
FB2	1.875	3	517.06
T2Toxin	0.125	1	53.58
Citrinin	0.25	2	137.94
ZON	0.125	1	73.28

Kromatogramlar

Kalibrasyon Çözeltisi, Kantitatif Kromatogram

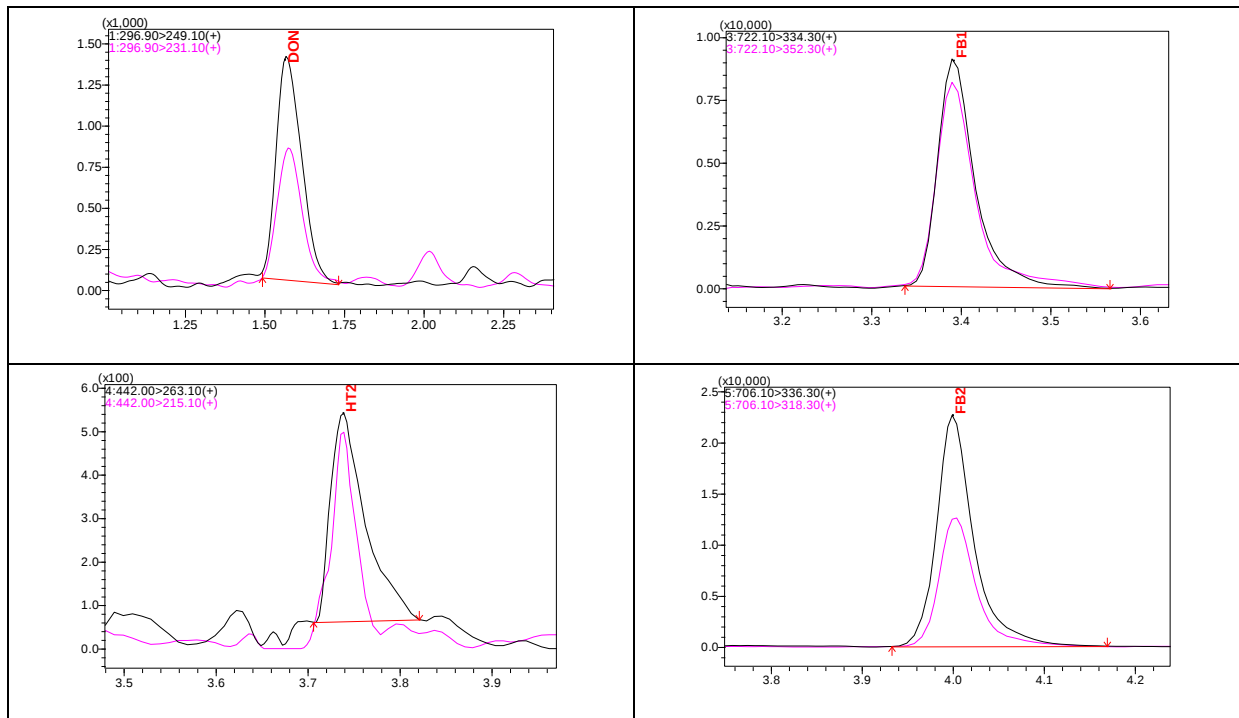
Mikotoksin	DON	FB1	HT2Toxin	FB2	T2Toxin	Citrinin	ZON
Cihaz Kal. Sev. (ug/L)	0.625	1.25	0.625	1.875	0.125	0.25	0.125

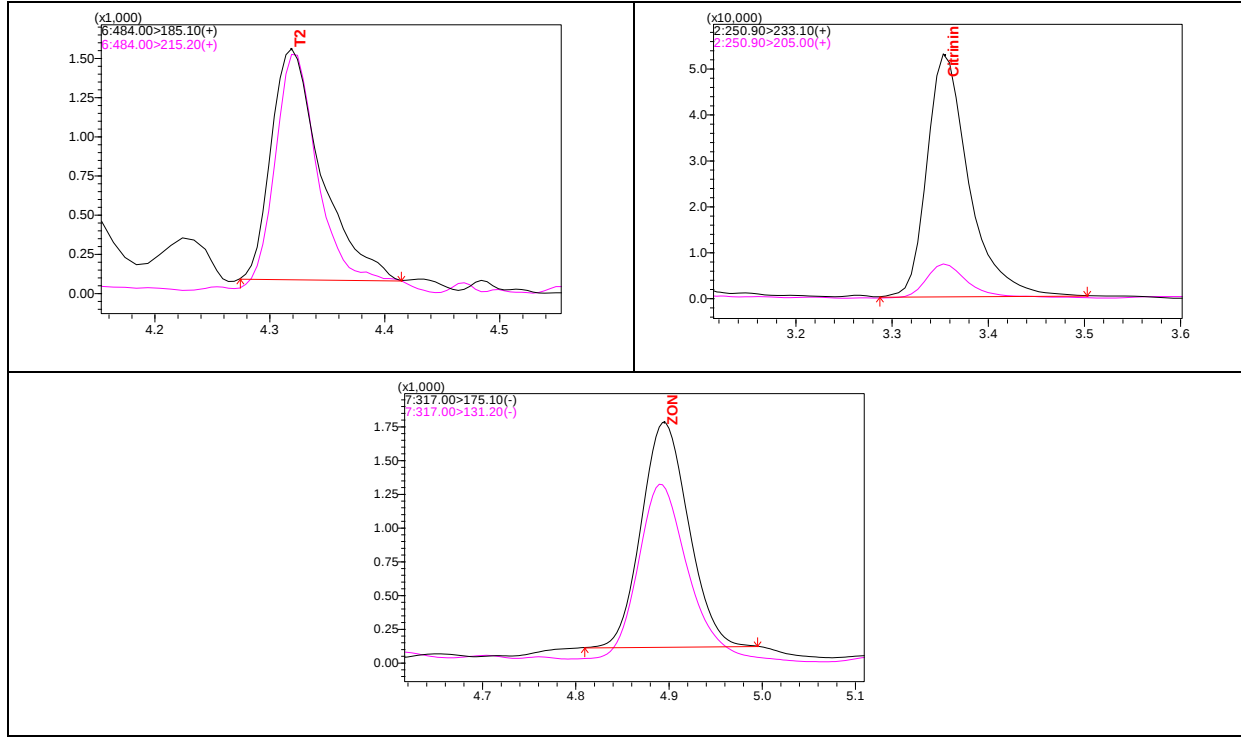




Geri Kazanım Numunesi, Kantitatif Kromatogramlar

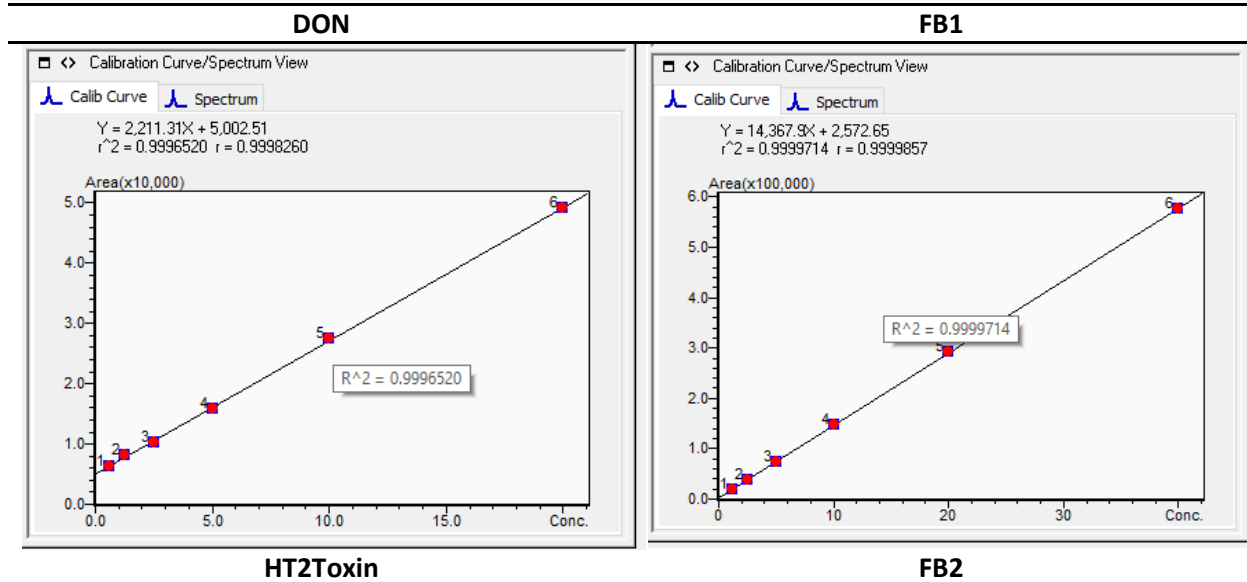
Mikotoksin	DON	CIT	FB1	HT2	FB2	T2	ZON
Spike Sev. (ug/L)	5	2	10	5	3	1	1

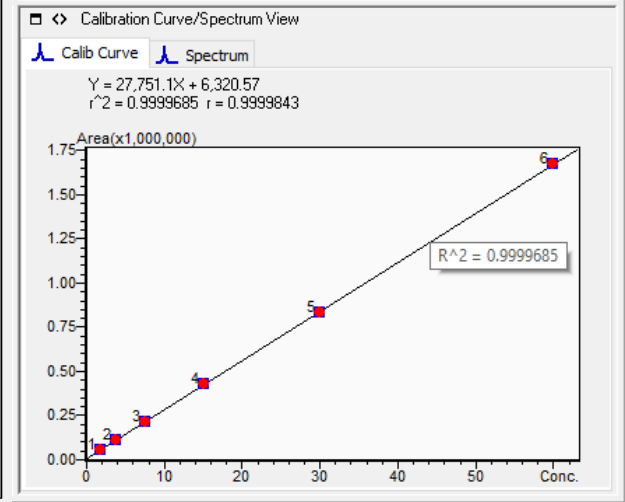
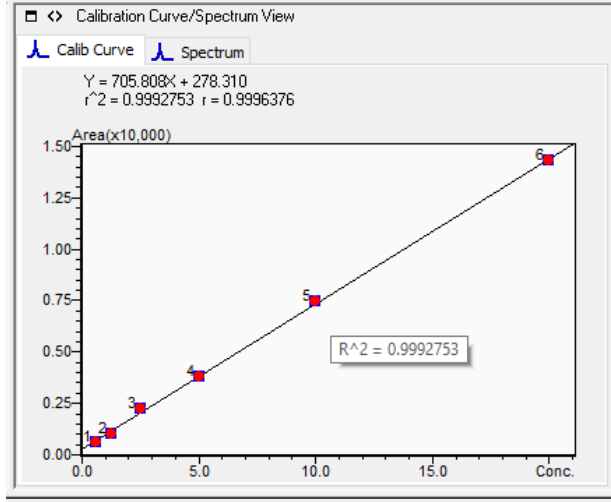




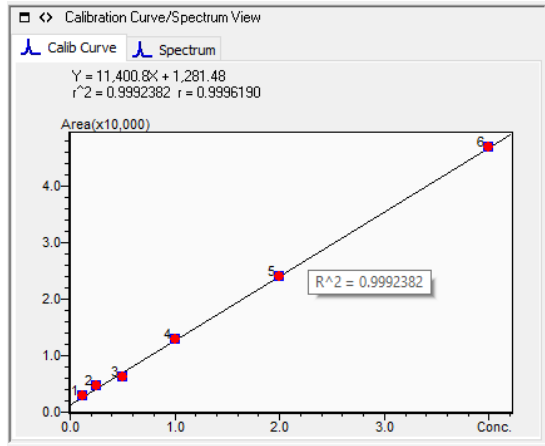
Kalibrasyon Eğrileri (ug/L)

ID#	Name	Conc.(1)	Conc.(2)	Conc.(3)	Conc.(4)	Conc.(5)	Conc.(6)
1	DON	0.625	1.25	2.5	5	10	20
2	Citrinin	0.25	0.5	1	2	4	8
3	FB1	1.25	2.5	5	10	20	40
4	HT2	0.625	1.25	2.5	5	10	20
5	FB2	1.875	3.75	7.5	15	30	60
6	T2	0.125	0.25	0.5	1	2	4
7	ZON	0.125	0.25	0.5	1	2	4

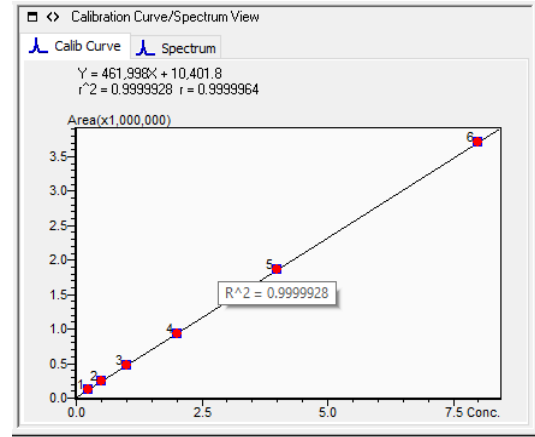




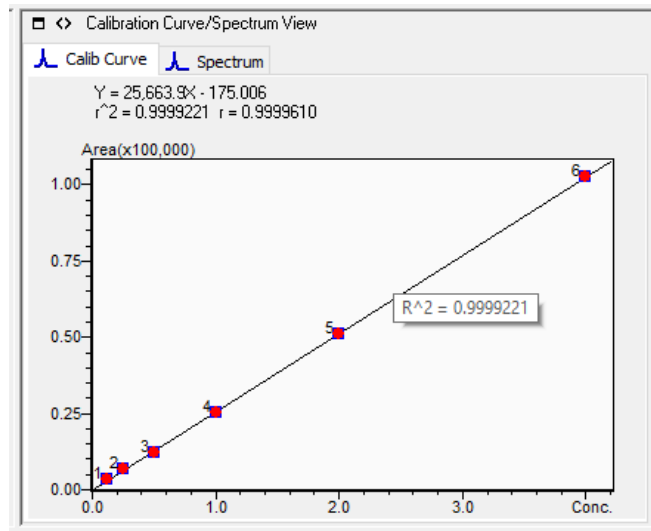
T2Toxin



Citrinin



ZON



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.