



LCMSMS ile Baharatta

Pirolizidin Alkaloidleri (PA) Analizi

Baharatta Pirolizidin Alkaloidleri (PA) kalıntı miktarlarının LCMSMS ile analizi.



Kimya Mühendisi Fatih ŞENOL
Ant Teknik Cihazlar Ltd. Şti.



Yük. Kimyager Emrullah Binay
Ant Teknik Cihazlar

Pirolizidin Alkaloidleri (PA) Boraginaceae, Asteraceae ve Fabaceae familyalarındaki bitki türlerinde üretilen ikincil metabolitlerdir. Bitkiler bu toksik bileşikleri otçul böceklerle karşı bir savunma mekanizması olarak üretirler. Dünya genelinde neredeyse her habitatta

PA içeren bitkiler bulunmaktadır, iklim değişiklikleri nedeniyle de yayılımları devam etmektedir. Baharatlarda bulunabildikleri gibi, bitkilerden ballara transfer olabildikleri, gıda takviyelerinde ve hatta bitki çaylarında da bulunabildikleri bilinmektedir. PA

içeren bu gibi ürünlerin aşırı ya da uzun süreli tüketilmesi durumunda, Alman Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (BfR) tarafından ciddi karaciğer hasarlarına neden oldukları tespit edilmiştir.

Intermedine N-oxide,
Lycopsamine N-oxide,
Monocrataline, Europine,
Heliotrine N-oxide, Seneciphylline,
Senecionine, Senecivernine,
Monocrataline N-oxide, Europine
N-oxide, Seneciphylline N-oxide,
Erucifoline, Senecionine N-oxide,
Senecivernine N-oxide, Jacobine,
Retrorsine, Trichodesmine,
Erucifoline N-oxide, Senkirkine,
Retrorsine N-oxide, Jacobine
N-oxide, Echimidine, Lasiocarpine,
Echimidine N-oxide,

METOD VE MATERYALLER

Çalışmamız, Shimadzu marka LCMS-8045 model LCMSMS ile yapılmıştır.

KULLANILAN EKİPMAN VE KİMYASALLAR

1. LCMSMS
2. HPLC kolonu
3. Hassas terazi (0.001 g hassasiyette)
4. Otomatik pipet seti (0.1-1 mL, 10-100 µL)
5. Laboratuvar cam malzemeleri
6. Vorteks
7. Santrifüj
8. Ultra saf su cihazı
9. Falcon tüp 50 mL
10. 15 mL'lik cam tüp
11. Vial
12. Pirolizidin alkaloidleri (PA) standartları
13. Azot altında uçurma düzeneği
14. SPE kartuş
15. SPE vakum manifold
16. Şırınga ucu filtre
17. Amonyum format
18. Formik asit
19. Ultra saf su
20. Metanol
21. Sülfirik asit

ANALİTİK KOŞULLAR

Cihaz	: Shimadzu LCMSMS
Model	: LCMS-8045
İyon Kaynağı	: ESI, MRM Modu
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/dk
Drying Gas Flow	: 10 L/dk
Heating Gas Flow	: 10 L/dk
Interface Temperature	: 300 °C
DL Temperature	: 250°C
Heating Block Temperature	: 400°C
UHPLC Sistemi	: LC-40XR
UHPLC Kolonu	: GL Sciences InertSustainSwift C18 (100mm, 4.6mm, 3µm)
Mobil Faz A	: Su (0.1% Formik Asit/ 5 mM Amonyum Format)
Mobil Faz B	: Metanol (0.1% Formik Asit)
Akış Hızı	: 0.75 mL/dk Gradient
Kolon Fırını Sıcaklığı	: 40 °C
Enjeksiyon Hacmi	: 5 µL
Enjeksiyon Süresi	: 12 dk

NUMUNE VE ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

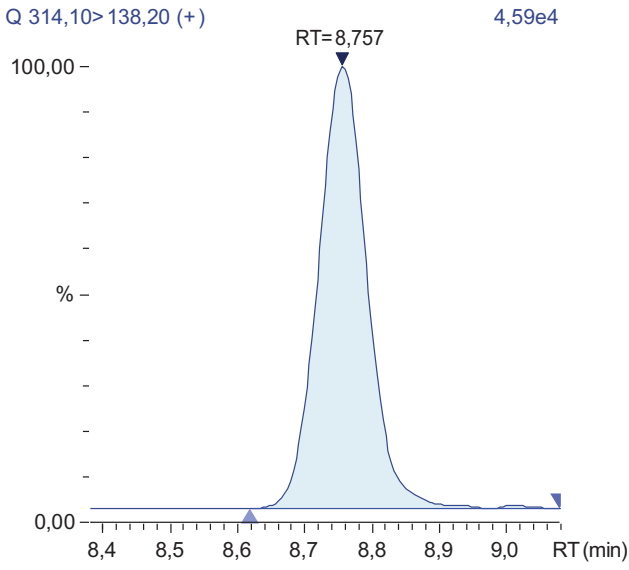
Baharat numunesi 0.05 M'lık Sülfirik asit (Suda) çözeltisiyle iki kez ultrasonik ortamda ekstrakte edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernetanta C18 kartuş ile SPE işlemi uygulanarak clean-up işlemi yapılmıştır. Kartuştan metanol ile alınan PA'lar azot ortamında kurutulduktan sonra metanol/su karışımı ile toplanmışlardır. Numune, son olarak 0.22 µm'lik şırınga ucu filtrelerden süzülerek LCMSMS sistemine enjekte edilmiştir.



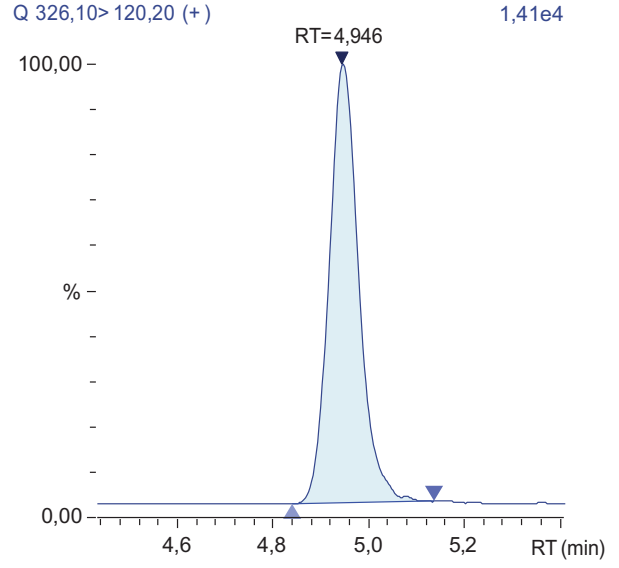
LCMS-8045
Sıvı Kromatografi Triple Quadrupole Kütle Spektrometre

SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

1.KROMATOGRAMLAR

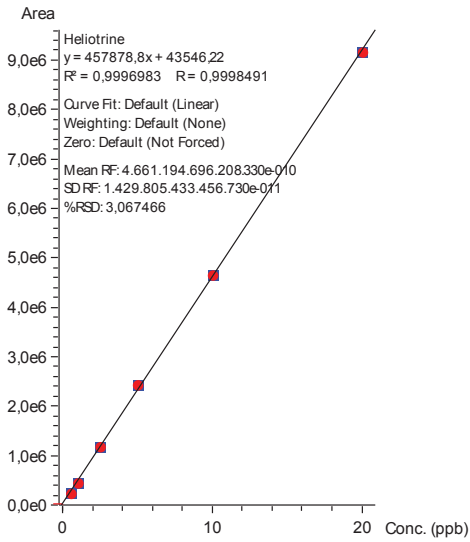


Şekil 1. Baharat matrisinde 0,5 ppb Heliotrine Std enjeksiyon

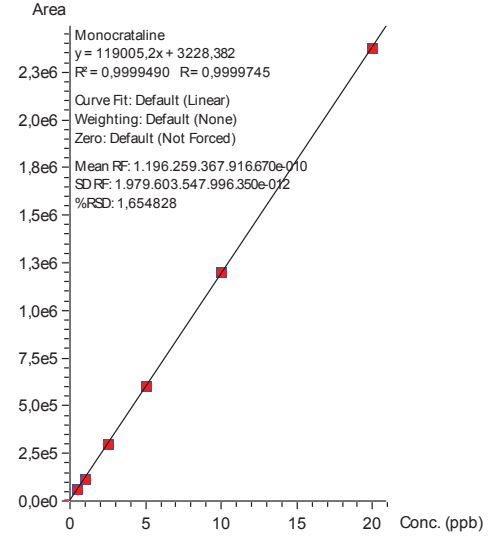


Şekil 2. Baharat matrisinde 0,5 ppb Monocrataline Std enjeksiyonu

2.KALİBRASYON EĞRİLERİ



Şekil 3. Baharat matrisinde Heliotrine kalibrasyon eğrisi



Şekil 4. Baharat matrisinde Monocrataline kalibrasyon eğrisi

REFERANS

Determination of pyrrolizidine alkaloids (PA) in plant material by SPE-LC-MS/MS, Method Protocol BfR-PA-Tea-2.0/2014

Ant Teknik Aplikasyon Notu, GDA057, LCMSMS ile Baharatta Pirolizidin Alkaloidleri (PA) Analizi, Nisan 2022