



LCMSMS ile

gıdalarda multivitamin analizi

Konu

Gıdalarda yağda ve suda çözünen vitaminlerin LCMSMS ile eş zamanlı analizi.

Vitaminler, büyüme ve metabolizma için vücut tarafından küçük miktarlarda ihtiyaç duyulan kompleks organik bileşiklerdir. Dengeli beslenmenin önemli bir parçası olan vitaminler et, balık, tavuk, süt ve süt ürünleri gibi hayvansal kaynaklı ve sebze, meyve ve tahıllar gibi bitkisel kaynaklı gıdalarda doğal olarak bulunur veya işlenmiş gıdalara besin değerlerini artırmak için eklenebilir. Birçok vitamin tanımlanmıştır ve her biri vücudun işleyişinde belirli bir rol oynar.

Bildiği gibi vitaminler HPLC-UV ve LC-MS analiz yöntemleri ile rapor edilmektedir. Analiz

yöntemlerine bakıldığında yağda çözünen vitaminler normal faz kromatografi yöntemi kullanılarak, suda çözünen vitaminler ise ters faz kromatografi yöntemi kullanılarak analiz edilirler.

Laboratuvarlar, hem yağda çözünen hem de suda çözünen vitamin analizleri için daha hızlı sonuç verebilecek analiz yöntemlerine ve daha az zahmetli numune hazırlama yöntemlerine ihtiyaç duymaktadır.

Bu çalışmada daha kolay numune hazırlama yöntemleri ile multivitaminlerin eş zamanlı çalışıldığı bir LCMSMS metodu geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmalarımız Ant Teknik Demo Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

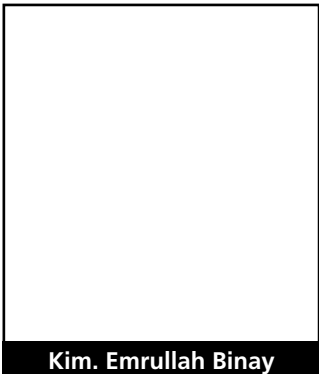
Metod ve Materyaller

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

LCMS-8045 ile yağda ve suda çözünen vitaminlerden toplam 11 tanesinin kantitatif analizi gerçekleştirilmektedir.

Kullanılan Ekipman ve Kimyasallar

1. LCMSMS
2. ESI iyon kaynağı
3. UHPLC
4. UHPLC kolonu
5. Otomatik pipet
6. Ultra saf su sistemi
7. Analitik terazi
8. Santrifüj
9. Vorteks
10. Vakum manifold sistemi
11. SPE kartuş (silika bazlı)
12. Metanol
13. Etanol
14. Formik asit
15. Naylon şırınga ucu filtre (0.22 µm)
16. Çalışma standartları



Kim. Emrullah Binay



Kim. Erhan Çakan

MRM Geçişleri

(7 MRM Suda Çözünen, 4 MRM Yağda Çözünen)

Compound	Transition
Vit B1 (Thiamine)	265,1>144,1 265,1>122,2
Vit B3 (Nicotinic Acid)	124>78,1 124>80,2
Vit B3 (Nicotinamide)	123,1>53,1 123,1>80,2
Vit B6 (Pyridoxine)	170,1>134,2 170,1>152,1
Vit B5 (D-Pantothenic acid)	220,05>90,15 220,05>72,10
Vit B12 (Cyanocobalamin)	678,6>147,1 678,6>359,1
Vit B2 (Riboflavin)	377,1>243,2 377,1>172,1
Vit D3 (Cholecalciferol)	385,3>259,2 385,3>159,2
Vit D2 (Ergocalciferol)	397,3>107,2 397,3>69,2
Vit E (a-Tocopherol)	431,2>137,1 431,2>165,2
Vit A (Retinol)	269,2>91,2 269,2>93,2

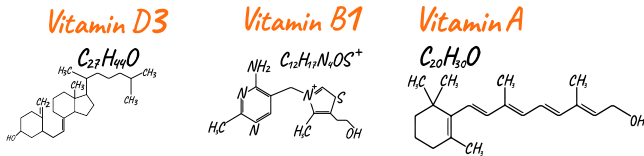
Numune ve Çözeltilerin Hazırlanması

Suda çözünen vitaminlerin numune hazırlığı;

1 g (yem, bebek maması) numunesi tartılır. Basit ekstraksiyon işlemleri uygulanır. Son hacim cihaza verilmeden önce 0.22 µm naylon filtre ile süzülür. LCMSMS ile analiz edilir.

Yağda çözünen vitaminlerin numune hazırlığı;

1.5 g numune üzerine 20 mL etanol eklenir. SPE kartuştan geçirilerek LCMSMS ile analiz edilir.



Analitik Koşullar

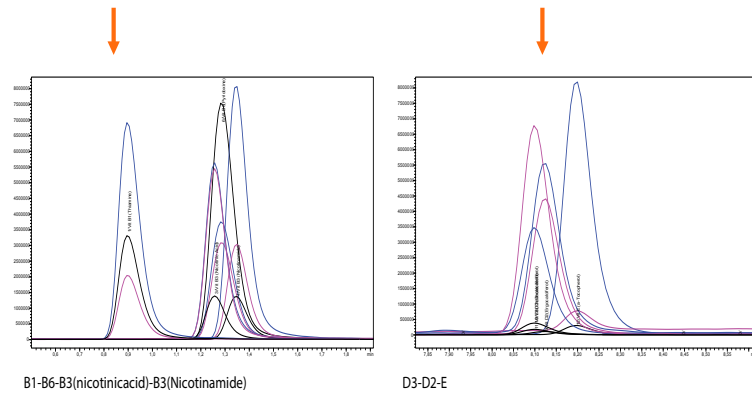
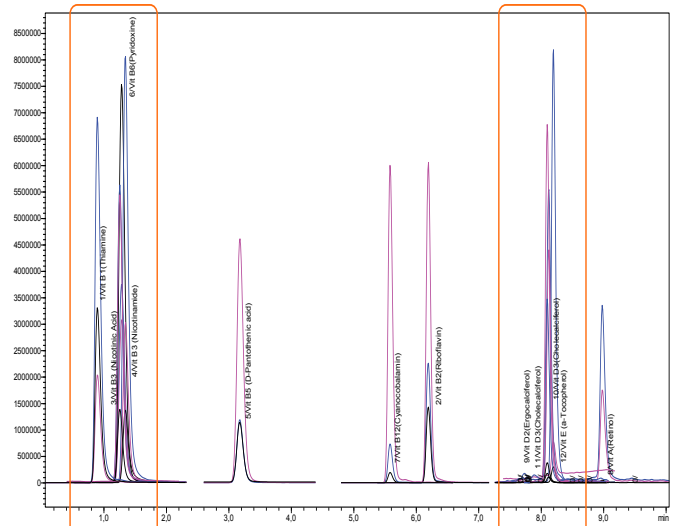
Cihaz	: Shimadzu LCMSMS
Model	: LCMS-8045
İyon Kaynağı	: ESI, MRM Modu
Nebulizing Gas Flow	: 3 L/dk
Heating Gas Flow	: 10 L/dk
Interface Temperature	: 300 °C
DL Temperature	: 250 °C
Heating Block Temperature	: 400 °C
Drying Gas Flow	: 10 L/dk
UHPLC Sistemi	: Nexera X2 (LC-30A)
UHPLC Kolonu	: Raptor Biphenyl (100mmx2.1mm, 2.7 µm)
Mobil Faz A	: Su (0.1% Formik Asit)
Mobil Faz B	: Metanol (0.1% Formik Asit)
Akış Hızı	: 0.3 mL/dk Gradient
Kolon Fırını Sıcaklığı	: 60 °C
Enjeksiyon Hacmi	: 3 µL



LCMS-8045
Sıvı Kromatografi Triple Quadrupole Kütle Spektrometre

Sonuçlar ve Değerlendirme

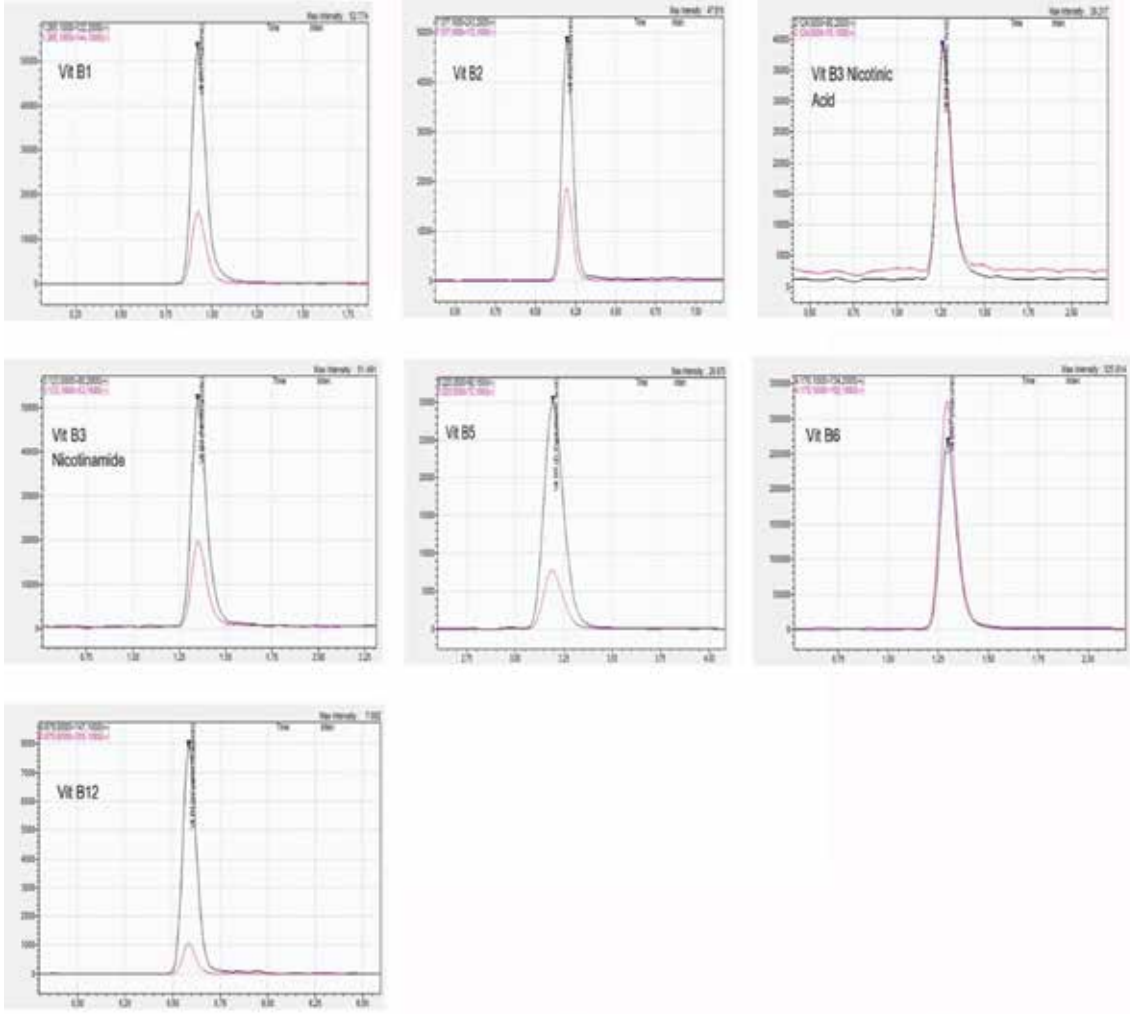
1. Kromatogramlar



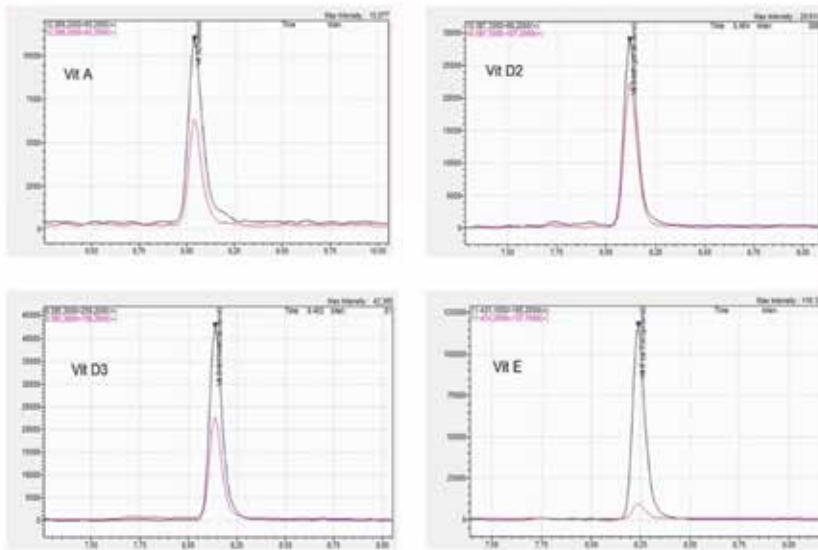
B1-B6-B3(nicotinicacid)-B3(Nicotinamide)

D3-D2-E

Şekil 1. Toplam İyon Kromatogramı (TIC)

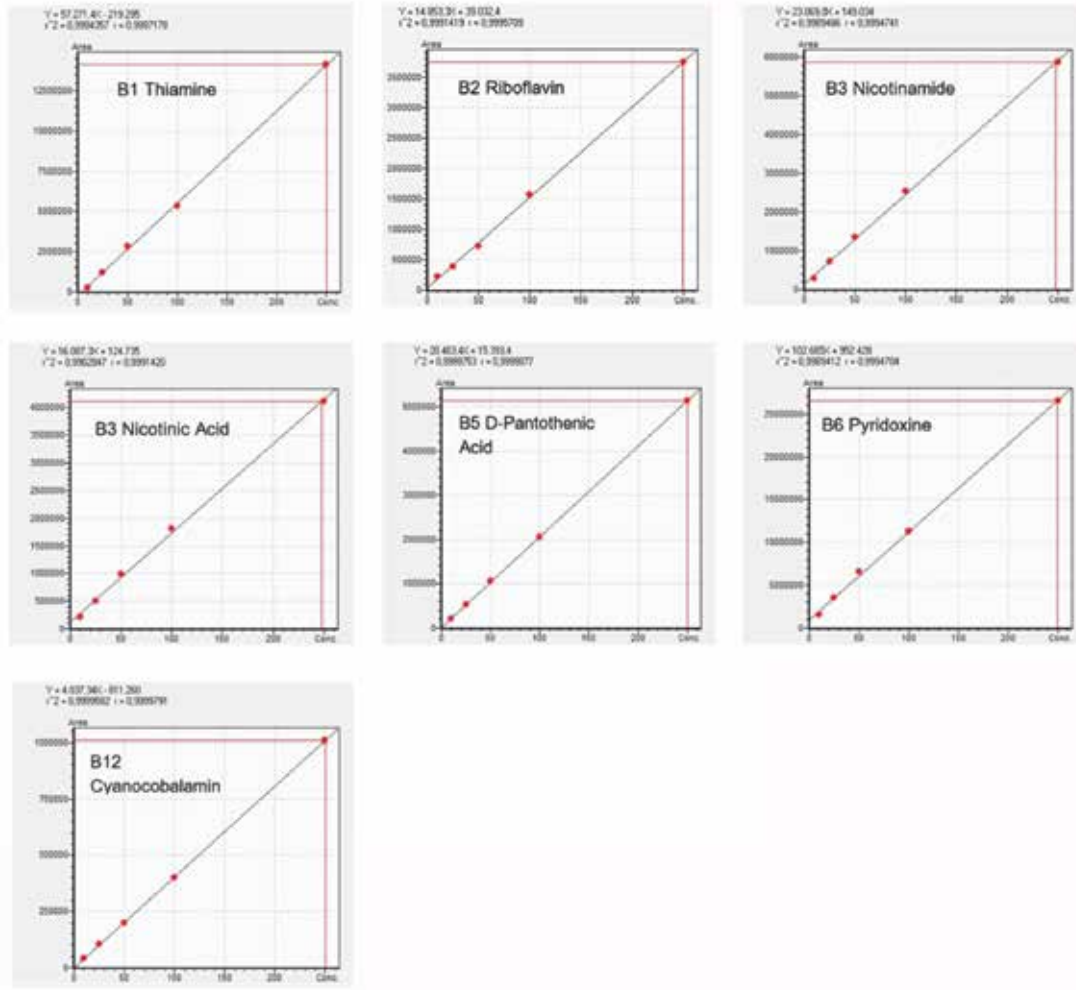


Şekil 2. Yem ve süt tozunda, suda çözünen vitaminlerin 25 ng/mL spike çalışması.
B1, B2, B3 Nicotinic acid, B3 Nicotinamide, B5, B12 vitaminleri (geri kazanım %85-95)

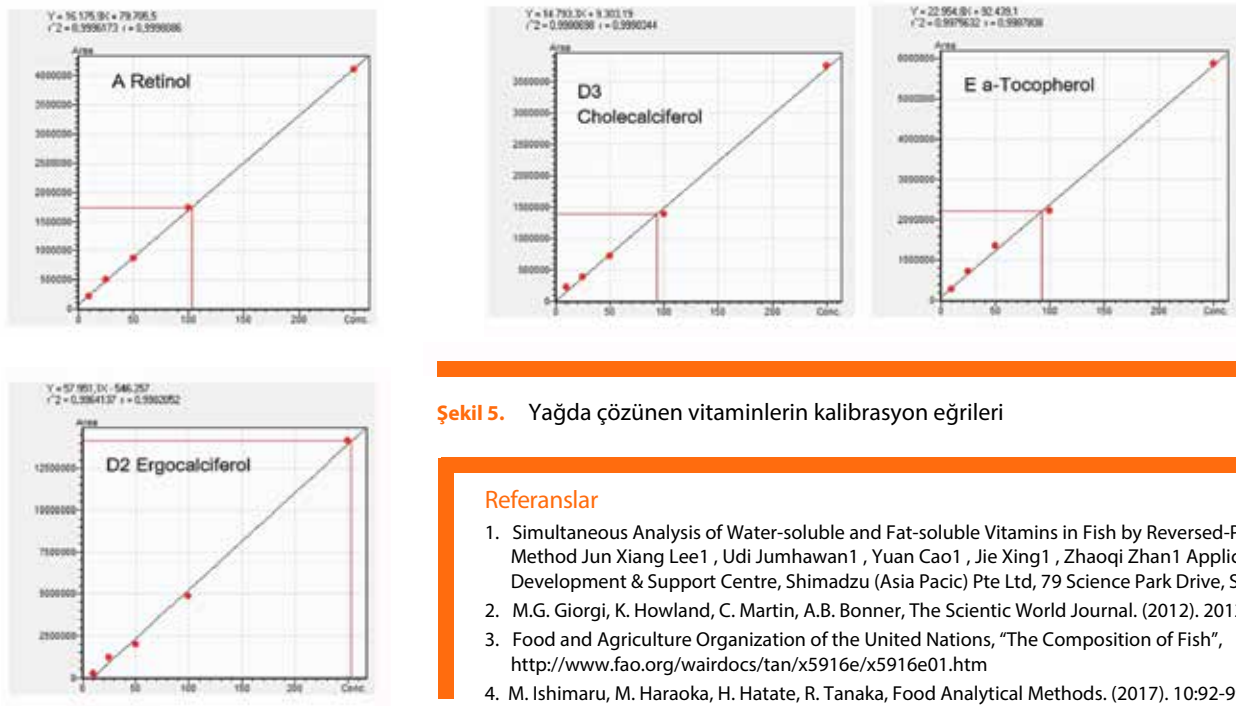


Şekil 3. Süt tozunda, yağda çözünen vitaminlerin 50 ng/mL spike çalışması.
A, D2, D3, E vitaminleri (geri kazanım %80-%95)

2. Kalibrasyon Eğrileri



Şekil 4. Suda çözünen vitaminlerin kalibrasyon eğrileri



Şekil 5. Yağda çözünen vitaminlerin kalibrasyon eğrileri

Referanslar

1. Simultaneous Analysis of Water-soluble and Fat-soluble Vitamins in Fish by Reversed-Phase LC-MS/MS Method Jun Xiang Lee¹, Udi Jumahwan¹, Yuan Cao¹, Jie Xing¹, Zhaoqi Zhan¹ Application Development & Support Centre, Shimadzu (Asia Pac) Pte Ltd, 79 Science Park Drive, Singapore 2017
2. M.G. Giorgi, K. Howland, C. Martin, A.B. Bonner, The Scientific World Journal. (2012). 2012: 359721.
3. Food and Agriculture Organization of the United Nations, "The Composition of Fish", <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5916e/x5916e01.htm>
4. M. Ishimaru, M. Haraoka, H. Hatate, R. Tanaka, Food Analytical Methods. (2017). 10:92-99