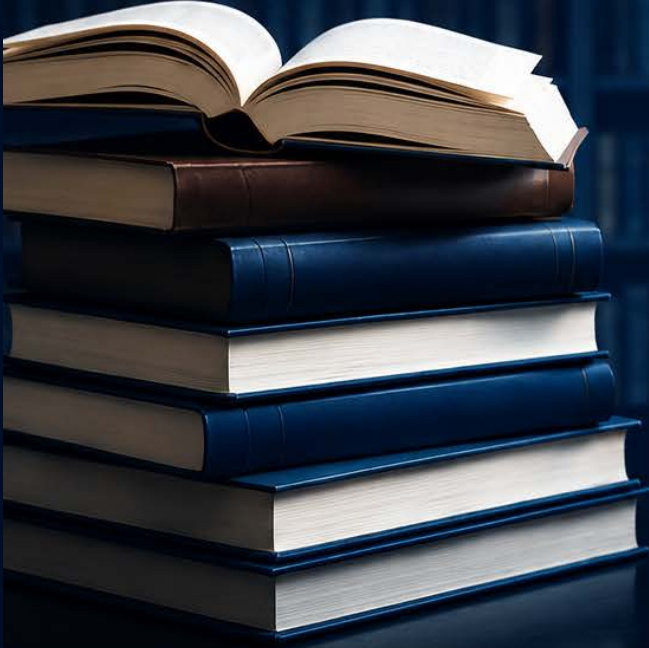


ECZACILIKTA ANALİTİK KİMYA ALANINDA
GÜNCEL KONULAR VE
AKADEMİK DEĞERLENDİRMELER

Editör: Doç.Dr. Gülbin ERDOĞAN



yaz
yayınları

**Eczacılıkta Analitik Kimya Alanında
Güncel Konular ve Akademik Değerlendirmeler**

Editör

Doç.Dr. Gülbin ERDOĞAN

yaz
yayınları

2026

**Eczacılıkta Analitik Kimya Alanında
Güncel Konular ve Akademik
Değerlendirmeler**

Editör: Doç.Dr. Gülbin ERDOĞAN

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayımlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-5450-10-4

Ekim 2026 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3

İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

İÇİNDEKİLER

HPLC-Based Profiling of Antioxidant Phytochemicals in Plant Extracts: Activity- Composition Relationships	1
<i>Fatma Sena ALTAY, Duygu TAŞKIN</i>	
Bitkisel Ürünlerde Pirolizidin Alkaloidleri.....	16
<i>Aslıhan SÜMER</i>	

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

HPLC-BASED PROFILING OF ANTIOXIDANT PHYTOCHEMICALS IN PLANT EXTRACTS: ACTIVITY- COMPOSITION RELATIONSHIPS

Fatma Sena ALTAY¹

Duygu TAŞKIN²

1. INTRODUCTION

Plants produce various secondary metabolites that play a role in protection against environmental and biological stresses. Among these compounds, phenolic compounds constitute an important group, and some exhibit antioxidant properties. With the increasing interest in natural antioxidant sources in recent years, the antioxidant activities of plant extracts are evaluated using various spectrophotometric methods. Despite their usefulness in assessing the antioxidant potential of an extract as a whole, these approaches cannot independently determine which constituents are responsible for the observed activity or establish their individual concentrations (Gulçin, 2025; Asnin, 2016).

Therefore, Reverse Phase High-Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC), frequently used in the phytochemical analysis of plant extracts, allows for the separation, identification, and quantification of phytochemical compounds present in extracts under appropriate conditions. Correlating the compositional data obtained by HPLC with the antioxidant activity results determined by spectrophotometric

¹ BPharm, University of Health Sciences Turkey, Pharmacy Faculty, Department of Analytical Chemistry, ORCID: 0009-0007-4318-9703.

² Doç. Dr., University of Health Sciences Turkey, Pharmacy Faculty, Department of Analytical Chemistry, ORCID: 0000-0002-5279-0900.

methods allows for the evaluation of the relationship between the chemical composition of extracts and antioxidant activity, and the identification of compounds that may contribute to the activity (Asnin, 2016). However, it should be noted that such relationships are correlation-based and do not demonstrate causality on their own.

Furthermore, chromatographic fingerprints obtained by RP-HPLC contribute to standardization and quality control studies by enabling the evaluation of characteristic chemical profiles of plant extracts and comparison of different samples or production batches (Lisjak, Špoljarević, Ravlić, Lončarić, & Galić, 2026; Munteanu, & Apetrei, 2021; Njoya, 2021).

2. PLANT ANTIOXIDANTS AND CHEMICAL BASIS

2.1. Phenolic and Flavonoid Compounds

Natural antioxidant compounds encompass a broad group including phenolic compounds such as phenolic acids, flavonoids, tannins, coumarins, stilbenes, and lignans, as well as carotenoids and some vitamins. A significant portion of phenolic compounds are synthesized in plants as secondary metabolites. Flavonoids, phenolic acids, and carotenoids are among the main groups of plant-derived natural antioxidant compounds. Since many plants phenolic compounds cannot be synthesized by the human organism, they are obtained through the diet and are therefore considered exogenous antioxidants (Gulçin, 2025). Synthetic antioxidants, on the other hand, have been used in the past as preservatives, especially in food and pharmaceutical products, due to their strong antioxidant properties; however, their use has been limited to a certain extent due to concerns about the safety of some compounds, and interest in natural antioxidant sources has increased (Gulçin, 2025; Ordoñez, Gomez, Vattuone,

& Isla, (2006)). Flavonoids, one of the important groups of phenolic antioxidants, are polyphenolic compounds commonly found in plants (Gulçin, 2025; Shen et al. 2022). The antioxidant effects of flavonoids are associated with various mechanisms such as scavenging free radicals, chelation of metal ions, modulation of antioxidant defense systems, and regulation of the activities of some enzymes involved in oxidative processes (Gulçin, 2025; Shen et al., 2022). Due to these properties, flavonoids are among the important dietary components. Because of their widespread presence in plant-based foods, daily flavonoid intake is reported to reach several hundred milligrams; however, the absorption of flavonoids from the gastrointestinal system is generally limited depending on the structure of the compound (Gulçin, 2025).

2.2. Biochemical Basis of Antioxidant Activity

While reactive oxygen and nitrogen species can occur physiologically during normal metabolic processes in the organism, they can also increase as a result of various environmental and lifestyle-related factors. Ultraviolet rays, ionizing radiation, cigarette smoke, pesticides and air pollutants are among the main external factors that can increase the formation of these species. The disruption of the balance between the formation of reactive species and antioxidant defense mechanisms in favor of oxidants is defined as oxidative stress.

Increased oxidative stress can lead to oxidative damage to cellular components such as proteins, lipids, and nucleic acids. This damage can contribute to the disruption of cellular functions, cell death, and the formation of mutations through damage to DNA. The fact that oxidative stress may play a role in the pathogenesis of various diseases has increased scientific interest in antioxidant compounds (Gulçin, 2025). Although the use of synthetic antioxidants was initially emphasized, safety concerns

regarding some synthetic compounds have contributed to increased research on natural antioxidant sources (Ordoñez et al., 2006). Studies reveal that various natural antioxidant compounds can show potential protective effects on biological processes related to oxidative stress (Gulçin, 2025; Shen et al., 2022).

3. HPLC-BASED PHYTOCHEMICAL PROFILING

3.1. RP-HPLC Principle and General Approach

HPLC is a high-resolution chromatographic technique that enables the separation of components in complex samples by taking advantage of the different interactions between the stationary and mobile phases. Due to the chemically complex structure of plant extracts, HPLC is widely used in the separation, identification, and quantitative determination of phenolic acids, flavonoids, and other phytochemical compounds (Zeng et al., 2008; Ordoñez et al., 2006).

In RP-HPLC, the stationary phase usually consists of silica-based columns modified with hydrophobic alkyl chains, while the mobile phase consists of mixtures of water and organic solvents (Kumar, Jawla, & Yadav, 2013). Because plant extracts contain numerous compounds with different polarities and columns like C18 allow for the separation of a wide range of analytes, RP-HPLC is one of the most commonly used HPLC approaches in phytochemical profiling. In RP-HPLC, the retention of analytes in the column is primarily dependent on the interactions between the hydrophobic character of the analytes and the stationary phase. In general, more hydrophobic compounds exhibit longer retention, while more polar compounds may elute earlier under suitable conditions. However, retention behavior is not solely dependent on the polarity of the analyte but is also influenced by the composition of the mobile phase, pH, ionization status, column chemistry, and other

chromatographic parameters (Ganesh, Poorna Basuri, Sahini, & Nalini, 2022).

Elution can be performed under isocratic or gradient conditions. Gradient elution is frequently preferred, especially for obtaining multi-component phytochemical profiles, due to the wide range of polarity of plant extracts.

3.2. Analytical Conditions (Mobile Phase, Column, and Detection)

In RP-HPLC methods, solvents such as water, methanol, ethanol, acetonitrile (ACN), isopropanol, and tetrahydrofuran can be used as the mobile phase. Among these, methanol and acetonitrile are the most commonly used organic solvents in the analysis of plant extracts. Ethanol is considered a more environmentally friendly alternative due to its similar chromatographic properties (Garcia-Alvarez-Coque, Baeza-Baeza & Ramis-Ramos, 2016; Ganesh et al., 2022).

If the analytes contain ionizable groups, the pH of the mobile phase is an important parameter because it affects the ionization status of the analytes and thus their retention behavior in the column. Therefore, controlling the mobile phase pH using a suitable buffer system is important for ensuring reproducible chromatographic conditions throughout the analysis. Since changes in the mobile phase composition and the ratio of organic solvents can affect the chromatographic behavior, especially of ionizable analytes, it is necessary to maintain pH control throughout the analysis. In RP-HPLC, buffer systems such as acetate and phosphate, as well as basic additives such as diethylamine or triethylamine, can be used depending on the method (Ganesh et al., 2022).

The column is one of the key components determining the separation performance in RP-HPLC (Kumar, Jawla, & Yadav, 2013; Bhalariao, Shelke, & Borkar, 2023). The capacity factor,

efficiency, and selectivity of the column are affected by the physicochemical characteristics of the stationary phase, as well as the column dimensions, particle properties, and chromatographic operating conditions (Kumar et al., 2013). The most common support material in RP-HPLC columns is silica. The silica surface can be chemically modified with different alkyl or aromatic groups to impart hydrophobic character. C8 and especially C18 bound phases are commonly used in the phytochemical analysis of plant extracts (Kumar et al., 2013; Garcia-Alvarez-Coque et al., 2016).

The column inner diameter is an important parameter affecting the sample loading capacity and optimum volumetric flow rate of the column. Columns with a larger inner diameter generally allow for higher sample loading capacities and higher volumetric flow rates while maintaining the same linear velocity. Column length, on the other hand, affects separation efficiency and analysis time. Generally, longer columns can provide higher separation capacity but may lead to longer analysis times. Therefore, column size is determined by considering the complexity of the sample to be analyzed and the required separation performance (Kumar et al., 2013).

The detector enables the detection of analytes separated from the column and the determination of their quantities under appropriate calibration conditions (Kumar et al., 2013; Eser & Serpici Dinçel, 2018)

The graph obtained by recording the detector signal against time is called a chromatogram; the x-axis shows the retention time, and the y-axis shows the detector response. Commonly used detectors in HPLC analysis of plant extracts include ultraviolet/visible (UV/Vis), photodiode array (DAD), and fluorescence (FLD) detectors (Eser & Serpici Dinçel, 2018). DAD offers an advantage, especially in the analysis of multi-

component plant extracts, due to its ability to perform simultaneous absorbance measurements at different wavelengths and provide information about the UV-Vis spectra of analytes.

3.3. Quantification and Reference Standards

In addition to the separation and identification of compounds, HPLC is also used in the quantification of compounds when appropriate analytical conditions are provided. Quantification by HPLC is based on evaluating the relationship between the chromatographic signal of the analyte and the analyte concentration. Although the peak area or peak height of the analyte can be used in quantitative analysis, the peak area is often preferred in practice (Asnin, 2016).

In quantification, a calibration curve is created using standard solutions prepared from appropriate reference standards. Standard solutions at different concentrations are injected into the chromatographic system and the resulting peak areas are recorded. The calibration data obtained by taking the peak area on the y-axis and the analyte concentration on the x-axis is evaluated by linear regression analysis. The calibration line is generally expressed as $y = ax + b$. Here y is the analytical response, x is the analyte concentration, a is the slope of the line, and b is the point where the line intersects the y-axis. The suitability of the calibration line is determined by evaluating whether the relationship between analyte concentration and analytical response is linear within the operating range (Asnin, 2016).

The suitability and purity of the reference standards used in quantification are important for the reliability of the results. In the quantification of certain phenolic acids and flavonoids in herbal extracts, appropriate reference standards corresponding to the compound to be determined are used. In appropriate cases, a known amount of an internal standard can be added to standard

solutions and test solutions to help control variations that may occur during analysis (Visconti, Boccard, Feinberg, & Rudaz, 2023).

4. ANTIOXIDANT ACTIVITY TESTS AND CORRELATION WITH HPLC DATA

3.2. Common Antioxidant Tests: DPPH, ABTS, FRAP and CUPRAC

The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging method, one of the commonly used methods in antioxidant activity measurements, uses a DPPH radical that is insoluble in water; soluble in organic solvents, ethanol, methanol and their aqueous solutions; and is a purple substance that gives its maximum absorbance at 515 nm. When reduced by antioxidant substances, it takes on a colorless-light yellow color, and this change can be easily measured with a spectrophotometer. It is based on both electron transfer (ET) and hydrogen atom transfer (HAT) (Njoya, 2021). It is a method used in the determination of antioxidant activity due to the stable structure of the DPPH radical and the similarity of its reaction mechanism to peroxides (Munteanu, & Apetrei, 2021).

The Iron (III) ion reducing antioxidant capacity method (FRAP) is an ET (electron transfer) based method that relies on the reduction of Iron (III) ions to Iron (II) ions by antioxidant agents, requiring an acidic environment for the dissolution of iron ions. As a result of the reaction, the conversion of light yellow to Prussian blue is measured at 593 nm by spectrophotometer (Njoya, 2021).

The ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) test, like the DPPH radical scavenging method, has an ET/HAT-based mechanism. It is used for the determination of

antioxidant capacity. This method is based on the spectrophotometric monitoring of the conversion of the blue-green ABTS radical cation, which gives maximum absorbance at 736 nm, to its colorless neutral form by antioxidants. This method is preferred in the determination of antioxidant capacity because it can be applied in both hydrophilic and hydrophobic environments (Njoya, 2021).

The CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) method is a spectrophotometric method based on determining the capacity of antioxidants to reduce Cu(II) ions to Cu(I) ions. The resulting Cu(I) forms a colored complex with neocuproine and is measured spectrophotometrically. The method can be used especially in evaluating the reducing capacity of hydrophilic and lipophilic antioxidants and can provide complementary information to other spectrophotometric methods in determining the total antioxidant capacity of plant extracts (Apak et al., 2008).

Although tests such as FRAP, DPPH, and ABTS are fast, simple, low-cost, and reproducible, they do not provide sufficient information on their own due to their different limitations. Therefore, results should be compared using more than one method and evaluated taking into account the phytochemical profile obtained with analytical methods such as HPLC (Pisoschi, Pop, Cimpeanu, & Predoi, 2016).

3.3. Correlation of Compounds Determined by HPLC with Antioxidant Activity

4.2.1. Simple correlation approaches

In the same plant extract, antioxidant activity can be determined by spectrophotometric methods and phytochemical compounds can be determined by HPLC. The relationship between the antioxidant activity and the amounts of compounds determined by HPLC results can be evaluated using statistical

methods. Based on the obtained correlations, an evaluation can be made about compounds that may contribute to antioxidant activity (Pisoschi et al., 2016).

4.2.2. Limitations of Correlation Approaches

While a consistent relationship may be found between the amounts of phenolic compounds determined by HPLC and the antioxidant activity results, situations may also arise where the phenolic compound content and antioxidant activity do not always coincide. This situation may be related to synergistic or antagonistic interactions between the compounds present in the extract (Pisoschi et al., 2016). Furthermore, the extraction method, the properties of the solvents used, and the hydrophilic or hydrophobic character of the compounds can affect the chemical composition of the extract and the obtained antioxidant activity results. Therefore, when evaluating the correlations between the amounts of compounds determined by HPLC and antioxidant activity, these factors should be taken into account, and the results should not be interpreted solely based on correlation coefficients (Lisjak et al., 2026).

5. HPLC CHROMATOGRAPHIC FINGERPRINTING APPROACH AND QUALITY CONTROL

5.1. Concept of Chromatographic Fingerprinting

A chromatographic fingerprint is a chromatographic pattern that reflects the characteristic phytochemical profile of a plant material or extract (Li et al., 2008). Since the biological effects of herbal medicines may not always be explained by a single component, it is reported that the combined effect of multiple components may be involved, and synergistic or antagonistic interactions may exist between these components.

Therefore, in the standardization of herbal products, evaluating only the quantity of a single compound may not adequately reflect the overall chemical profile of the product. The chromatographic fingerprinting approach allows for the evaluation of activity-composition relationships and the consideration of the overall phytochemical profile of the extract in standardization studies (Li et al., (2008); Noviana, Indrayanto, & Rohman, 2022).

Herbal medicines are expected to be consistent in terms of quality and composition among batches within the determined specifications and acceptance criteria (Noviana at al., 2022). In this context, chromatographic fingerprints can be used in the characterization of herbal materials and preparations, evaluation of batch consistency, and quality control studies (Zeng et al., 2008).

5.2. Standardization and Quality Control of Herbal Extracts

Quality control studies are important to ensure that herbal medicines are consistent in terms of quality, safety, and composition within the specified specifications and acceptance criteria (Li et al., 2008; Noviana at al., 2022). Chromatographic fingerprinting reveals the characteristic phytochemical profile of the herbal material or extract, allowing for comparison of the chemical profiles of different samples and production batches. Since factors such as plant growing conditions, geographical origin, harvest time, plant part used, and extraction conditions can affect the phytochemical composition, chromatographic profile differences that may arise due to these factors can be evaluated using the fingerprinting approach (Noviana at al., 2022). This approach contributes to determining the chemical properties of herbal extracts, evaluating batch consistency, standardization, and quality control studies.

6. CONCLUSION

Plant-derived phenolic compounds, especially flavonoids, are among the important phytochemical compounds in terms of antioxidant activity due to their chemical properties. Spectrophotometric assays are commonly employed to assess the antioxidant activity of plant-derived compounds. Nevertheless, such assays cannot independently establish the chemical identity or accurately determine the concentration of the individual constituents present in the extract. Therefore, it is important to consider activity tests together with phytochemical composition data in the evaluation of antioxidant activity. The complex phytochemical composition of plant extracts can be investigated using HPLC, which facilitates the chromatographic separation and quantitative assessment of phenolic acids, flavonoids, and a variety of other phytoconstituents. Correlating the composition data obtained by HPLC with antioxidant activity results allows for the evaluation of compounds that may contribute to the activity. However, correlation results should not be considered as causality, and possible interactions between extraction conditions and compounds should be taken into account. Standardization and quality control studies are important in determining the quality characteristics of plant extracts and ensuring consistency between production batches. In this context, chromatographic fingerprinting obtained via HPLC allows for the evaluation of the characteristic phytochemical profile of the extract and the comparison of different samples or batches, thus contributing to standardization and quality control studies. In this respect, HPLC-based phytochemical profiling can be considered an important analytical approach in characterizing the composition of plant extracts, evaluating the relationships between antioxidant activity and composition, and monitoring quality characteristics.

REFERENCES

- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. et al. (2008) Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay. *Microchimica Acta*, 160, 413–419 . <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0777-0>
- Asnin, L.D. (2016). Peak measurement and calibration in chromatographic analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 81, 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.01.006>
- Bhalerao, A., Shelke, S. & Borkar V. (2023). Advances, Applications, and Challenges in RP HPLC Method Development. *International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology (IJARSCT)*. 3(1) 111-123. <https://doi.org/10.48175/ijarsct-9017>
- ESER, B. & SEPICI DİNÇEL, A. (2018). Kromatografiye Giriş, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Kullanımında Basit İpuçları. *Journal of Health Services and Education*; 2(2): 51-57. <https://doi.org/10.26567/JOHSE.2018250150>
- Ganesh, V., Poorna Basuri, P., Sahini, K. & Nalini, C.N. (2023). Retention behaviour of analytes in reversed-phase high performance liquid chromatography—A review. *Biomedical Chromatography*. 37(7). <https://doi.org/10.1002/bmc.5482>
- Garcia-Alvarez-Coque, M.C., Baeza-Baeza, J.J., & Ramis-Ramos, G., (2016). Reversed phase liquid chromatography. In Anderson, J., Berthod, A., Pino, V. & Stalcup, A.M. (Eds.), *Analytical Separation Science*, 5 Volume Set (pp.159-181.) Wiley.

<https://www.wiley.com/en-us/shop/general-chemistry/analytical-separation-science5-volume-set-p-9783527333745>

- Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. Archives of Toxicology. 99, 1893- 1997. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2>
- Kumar, A., Jawla, S. & Yadav, G. (2013). Recent Analytical Method Developed by RPHPLC. Global Journal of Pharmacology. 7 (3): 232-240. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjp.2013.7.3.7579>
- Li, S., Han, Q., Qiao, C., Song, J., Lung Cheng, C., & Xu, H. (2008). Chemical markers for the quality control of herbal medicines: an overview. Chinese medicine, 3, 7. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-3-7>
- Lisjak, M., Špoljarević, M., Ravlić, J., Lončarić, Z., & Galić, L. (2026). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity: Analytical Methods and Current Knowledge—A Review. Methods and Protocols, 9(2), 60. <https://doi.org/10.3390/mps9020060>
- Munteanu, I.G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. International Journal of Molecular Sciences, 22(7):3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Njoya, E.M. (2021). Chapter 31 - Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. Cancer (Second Edition), Academic Press, 349-357. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819547-5.00031-6>
- Noviana, E., Indrayanto, G., & Rohman, A. (2022). Advances in Fingerprint Analysis for Standardization and Quality Control of Herbal Medicines. Frontiers in pharmacology, 13, 853023. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.853023>

- Ordoñez, A.A.L., Gomez, J.D., Vattuone, M.A. & Isla, M.I. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistry*, 97, 452–458. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.024>
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Cimpeanu, C., & Predoi, G. (2016). Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 9130976. <https://doi.org/10.1155/2016/9130976>
- Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., & Jin, B. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 383, 132531. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>
- Visconti, G., Boccard, J., Feinberg, M., & Rudaz, S. (2023) From fundamentals in calibration to modern methodologies: A tutorial for small molecules quantification in liquid chromatography–mass spectrometry bioanalysis. *Analytica Chimica Acta*.1240 340711. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340711>
- Zeng, Z., Chau, F. T., Chan, H. Y., Cheung, C. Y., Lau, T. Y., Wei, S., Mok, D. K., Chan, C. O., & Liang, Y. (2008). Recent advances in the compound-oriented and patternoriented approaches to the quality control of herbal medicines. *Chinese Medicine*, 3, 9. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-3-9>

BİTKİSEL ÜRÜNLERDE PİROLİZİDİN ALKALOİDLERİ

Ashhan SÜMER¹

1. GİRİŞ

Pirolizidin alkaloidleri (PA'lar), başta Boraginaceae, Asteraceae ve Fabaceae familyalarına ait türler olmak üzere çeşitli bitki türleri tarafından doğal olarak üretilen toksik bileşiklerdir. Bu alkaloidlerin, çiçekli bitkilerin yaklaşık %3'ünde bulunduğu tahmin edilmektedir (Cheeke, 1988). Tıbbi ve aromatik bitkiler, PA üreten yabani otlarla birlikte hasat edildiklerinde bu bileşiklerle kontamine olabilmektedirler. Yanlışlıkla tüketilen PA'lar hepatotoksik özellik göstererek karaciğer hasarına neden olabilirler; ayrıca bazı PA'ların genotoksik ve kanserojen potansiyeli de bulunmaktadır (Smith & Culvenor, 1981). Literatürde, PA maruziyetiyle ilişkili olabileceği düşünülen karaciğer hastalıkları ile ilgili çok sayıda çalışma yer almaktadır (Fu, 2017; Wiedenfeld, 2011).

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesinin (EFSA) Gıda Zincirindeki Bulaşanlar Bilimsel Paneli (CONTAM Paneli), Kasım 2011'de gıda ve yemlerde PA kontaminasyonunun halk sağlığı açısından oluşturabileceği riskler ile ilgili bilimsel görüşünü yayımlamıştır (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain, 2011). Panel, PA'ların kanserojen risk limiti olarak vücut ağırlığı başına günlük 237 µg/kg düzeyinde bir referans noktası belirlemiş ve PA maruziyetinin insan sağlığı açısından

¹ Doç. Dr., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Avrupa Sağlık Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi & Hamidiye Eczacılık Fakültesi, ORCID: 0000-0003-3948-528X.

potansiyel bir endişe oluşturabileceği sonucuna varmıştır. Bu endişenin özellikle çay ve bitki infüzyonlarını sık tüketen kişilerde ve genç yaş gruplarında önem taşıdığı belirtilmiştir. Dolayısıyla tıbbi bitkilerde, bitki çaylarında ve baharatlarda PA bulunması, Avrupa Birliği mevzuatına göre gıda ve farmasötik ürünlerin güvenliği açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu kapsamda Avrupa Farmakopesi tarafından belirlenen kontrol ve analiz yöntemleri ile Avrupa pazarında satılan bitkisel ürünlerde PA kontaminasyonunun tespiti ve miktar tayini ürün güvenliğinin ve mevzuata uygunluğun sağlanması açısından önemli hâle getirmektedir.

Avrupa, özellikle Akdeniz kökenli otlar olmak üzere çok sayıda tıbbi ve aromatik bitkiyi kendi sınırları içinde üretmekle birlikte, talebi karşılamak için uluslararası ticarete ve özellikle gelişmekte olan ülkelerden yapılan ithalata ihtiyaç duymaktadır. Gelişmekte Olan Ülkelerden İthalatı Teşvik Merkezi (CBI) tarafından Birleşmiş Milletler Comtrade verileri temel alınarak yayımlanan bilgilere göre, Avrupa'nın baharat ve ot ithalatı 2024 yılında toplam 676.000 tona ulaşmış; bunun 399.000 tonu gelişmekte olan ülkelere gerçekleştirilmiştir (CBI, 2026). Avrupa'nın gelişmekte olan ülkelere ithal ettiği başlıca baharat ve otlar arasında acı biber ve paprika, karabiber, zerdeçal ve tarçının yanı sıra kekik, çemen otu tohumu, defne yaprağı, mercanköşk, biberiye, adaçayı ve köri yaprağı gibi çeşitli baharat ve aromatik bitkiler bulunmaktadır.

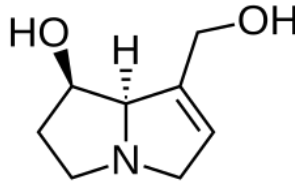
Türkiye, 2024 yılında Avrupa pazarına başta kekik, adaçayı ve kimyon olmak üzere, yaklaşık 6.665 ton çeşitli baharat ve ot tedarik etmiştir. Bu miktar, ilgili ürün kategorisinde Avrupa'nın gelişmekte olan ülkelere yaptığı ithalatın yaklaşık

%22'sine karşılık gelmekte ve Türkiye'yi bu kategorideki en büyük tedarikçi konumuna getirmektedir. Bununla beraber, Avrupa Birliği pazarına erişimdeki sıkı ürün güvenliği ve

mevzuat uygunluğu gereklilikleri ihracatın geliştirilmesi açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır (CBI, 2025). Son yıllarda Türkiye'den Avrupa'ya ihraç edilen bitkisel ve tarım ürünlerinde; kimyasal güvenlik standartlarına uyumsuzluk, izin verilen sınırları aşan pestisit kalıntıları ve PA'lar gibi toksinlerin varlığı ürün iadelerini gündeme getirmektedir. Avrupa Komisyonu (EC) tarafından işletilen Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi (RASFF), gıda ve yem güvenliğiyle ilgili riskler hakkında yetkili makamlar arasında hızlı bilgi alışverişini sağlamak amacıyla oluşturulmuştur. Tábuas ve arkadaşlarının (2024) aktardığı RASFF Portalı verilerine göre, 2020 yılından itibaren gıdalarda PA kontaminasyonuna ilişkin 77 bildirim yapılmış ve bunların 67'si ciddi risk kapsamında değerlendirilmiştir. Bildirimlerde öne çıkan ürün grupları kurutulmuş kekik ve kimyon olmuş; bildirimlere konu olan ürünlerin menşe ülkeleri arasında Türkiye ilk sırada yer almıştır (Tábuas et al., 2024). Dolayısıyla, Türkiye'de PA'ların güvenilir ve doğrulanmış analitik yöntemlerle miktar tayininin yapılması, Türk bitkisel ürün üreticilerinin PA kontaminasyonunu kontrol etmeleri, ve Avrupa Birliği mevzuatına uyum sağlanması Türkiye'nin ihracat pazarlarındaki konumunu koruması açısından kritik öneme sahiptir.

2. PİROLİZİDİN ALKALOİDLERİNİN TAYİNİ

Alkaloidler, en az bir azot atomu içeren, genellikle amin tipi veya heterosiklik halka yapısında bulunan ve bazik kimyasal özellikler gösteren, doğal kaynaklı organik bileşiklerden oluşan geniş ve çeşitli bir gruptur. Çoğu alkaloid acı tada sahiptir veya ağız yoluyla alındığında toksik etki gösterebilir. Pirolizidin, heterosiklik yapıda bir organik bileşiktir ve pirolizidin alkaloidleri (PA'lar) olarak adlandırılan alkaloid grubunun temel iskeletini oluşturur. Bu grupta yer alan retronesinin yapısal formülü Şekil 1'te gösterilmektedir.



Şekil 1. Bir pirolizidin alkaloidinin yapısal formülü.

Gıdalarda, bitkisel ve takviye edici ürünlerde PA'ların ve bunların N-oksitlerinin (PANO'lar) güvenilir biçimde tayin edilebilmesi için numune hazırlama ve ekstraksiyon işlemleri kritik öneme sahiptir. Numune hazırlama genellikle homojenizasyonla başlar. Ardından metanol veya asetonitril gibi polar çözücülerle, gerektiğinde su ya da asit çözeltileri kullanılarak ekstraksiyon gerçekleştirilir (Tábuas et al., 2024). İnfüzyon ve katı-sıvı ekstraksiyonu yaygın olarak kullanılan tekniklerdir. Karıştırma, santrifüjleme ve ultrasonikasyon gibi işlemler ekstraksiyon verimini artırmak amacıyla uygulanırlar. Ekstraksiyon sonrasında numuneler genellikle santrifüjlenmekte ve filtrelenmekte; matriksten kaynaklanan girişimleri azaltmak amacıyla katı faz ekstraksiyonu (SPE), QuEChERS veya tuz destekli sıvı-sıvı ekstraksiyonu (SALLE) gibi yöntemlerle ilave temizleme işlemleri gerçekleştirilmektedir. Hem PA'ların hemde PANO'ların yeterli geri kazanımını ve analizlerin güvenilirliğini sağlamak için ekstraksiyon koşullarının ve temizleme işlemlerinin numune matriksine ve hedef bileşiklere göre optimize edilmesi gerekmektedir.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile kütle spektrometrisi (HPLC–MS), PA analizinde en yaygın kullanılan yaklaşımlar arasında yer almaktadır. Bu yöntemin önemli bir avantajı, serbest PA'nın yanı sıra bunların PANO'ları da tayin edilebilmesidir (Cramer et al., 2013; Dzuman et al., 2020; Fuente-Ballesteros et al., 2024; Han et al., 2022; León et al., 2022).

Avrupa Farmakopesi Komisyonu, Kasım 2020'deki 168. oturumunda, 2.8.26 Contaminant Pyrrolizidine Alkaloids başlıklı genel bölümü kabul etmiştir. Bu bölüm, çeşitli matrislerde 28 PA'nın tayinine uygun bir analitik prosedürü örnek olarak açıklamaktadır. Söz konusu prosedür sadece belirli matrisler için valide edilmiş olduğundan, bölümde belirtilen validasyon gerekliliklerini karşılayan ve kromatografiyi tandem kütle spektrometrisi (MS/MS) veya yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisiyle (HRMS) birleştiren diğer yöntemlerin de kullanılmasına da izin verilmektedir. Validasyon amacıyla, tanımlanmış matris gruplarına ait en az bir temsilci matris (kurutulmuş nane yaprağı gibi) kullanılır. Temsilci matris için validasyon gereklilikleri karşılandığında, yöntemin aynı matris grubundaki diğer örnekler (başka yaprak örnekleri) için de geçerli olduğu kabul edilmektedir.

Gaz kromatografisi–kütle spektrometrisi (GC–MS) de PA analizinde kullanılan tekniklerden biridir. Bazı çalışmalarda bu yöntemin tespit sınırlarının sıvı kromatografisi yöntemleriyle karşılaştırılabilir düzeyde olduğu bildirilmiştir (Bah et al., 1994; Kempf et al., 2010; Sixto et al., 2019; Witte et al., 1992). Bununla birlikte, GC–MS analizinden önce PANO'ların karşılık gelen serbest bazlara indirgenmesi gerekmektedir.

Enzim bağlantılı immünosorbent analiz (ELISA) yöntemi de, yüksek duyarlılığı ve nispeten az numune temizleme işlemi gerektirmesi nedeniyle PA analizinde kullanılabilir (Kodikara et al., 2026; Oplatowska et al., 2014; Roeder & Pflueger, 1995). Yöntemin uygulanabilirliği, kullanılan antikorların belirli PA yapılarıyla sınırlı olan özgüllüğüne bağlıdır.

Genel olarak tüm bu yöntemlerle güvenilir nitel ve nicel analiz yapılabilmesi için uygun referans standartların

kullanılması önemlidir; çünkü farklı PA'lar, kullanılan analiz tekniğine ve dedektöre bağlı olarak farklı yanıtlar verebilirler.

3. TÜRK BİTKİSEL ÜRÜNLERİNİN ANALİZİ

Gıda ve bitkisel ürünlerdeki kontaminasyon; biyolojik, kimyasal ve fiziksel kaynaklardan meydana gelebilmekte ve üretimden depolamaya kadar tedarik zincirinin farklı aşamalarında ortaya çıkabilmektedir (European Commission, 2008). PA kontaminasyonu özellikle üretim ve hasat aşamalarında, PA üreten yabancı otların kültür bitkileriyle birlikte toplanması sonucunda oluşabilmektedir. Tarla toprağında bulunan yabancı ot tohumları ve komşu alanlardaki yabancı bitkiler de kontaminasyon riski oluşturabilmektedir. Riskin düzeyi, bitki türüne ve kullanılan hasat teknolojisine bağlıdır (Steinhoff, 2022)

Türkiye'de yapılan çalışmalar, PA kontaminasyonunun bitkisel çaylar, takviye edici gıdalar ve baharatlarda izlenmesi gerektiğini göstermektedir. Gürbüz'ün (2021) çalışmasında, internette ve aktarlardan temin edilen 34 bitkisel çay LC-Q-ToF/MS yöntemiyle incelenmiş; 28 PA'nın analizi için valide edilen yöntemle 11 farklı PA tespit edilmiştir. PA içerdiği bilinen bitkilerden hazırlanan ürünler dışındaki 31 örneğin 14'ünde (%44) en az bir PA saptanmış, 17 örnekte ölçülen düzeyler 2,70 ng/g ile 9,37 µg/g arasında değişmiştir. En yüksek konsantrasyonlar *Symphytum officinale* (karakafes otu) örneklerinde belirlenmiştir.

Gumus (2023), Türkiye'de ticari olarak satılan çay, bitki infüzyonu ve otlarda PA'ları, PANO'ları ve tropan alkaloidlerini LC-Q-ToF/MS ile incelemiştir. Her örnekte en az bir PA veya PANO tespit edilmiş; ortalama konsantrasyonlar siyah çayda 142,4 ng/g, yeşil çayda 434,5 ng/g, papatya çayında 421,1 ng/g ve nane çayında 308,4 ng/g olarak bildirilmiştir. En yüksek PA konsantrasyonu, bir papatya çayı örneğinde 1.054,5 ng/g olarak

ölçülmüştür. Bu bulgular, ticari bitkisel ürünlerde kontaminasyonun ürün türüne ve örneğe göre değişebildiğini ortaya koymaktadır.

Kekik özelinde, Korkmaz ve Küplülü (2022), Denizli'de yetiştirilen *Origanum onites* örneklerinden üç işlenmiş ve paketlenmiş, sekiz işlenmemiş olmak üzere toplam 11 örneği LC-Q-ToF/MS yöntemiyle analiz etmiştir. İşlenmiş örneklerde 1–5 µg/kg aralığında kantifikasyon belirlenirken işlenmemiş örneklerde PA veya PANO saptanmaması, kontaminasyonun hasat ya da işleme sırasında yabancı ot ve tohum parçalarının ürüne karışmasıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Uluslararası ölçekte yapılan bir araştırmada ise Kaltner ve arkadaşları (2020), 36 ülkeden 15 baharat ve ot kategorisinde toplam 305 örneği incelemiş ve Türkiye menşeli kekik ile kimyonda yüksek PA ve PANO konsantrasyonları bildirmiştir. Türkiye menşeli kekik örneklerinde ölçülen en yüksek konsantrasyon 24.600 µg/kg olmuş; diğer örneklerde 18.100,

8.300 ve 6.800 µg/kg düzeyleri kaydedilmiştir. Türkiye menşeli kimyon örneklerinde de 4.310 ve 536 µg/kg gibi yüksek değerler bildirilmiştir. Örneklerde başlıca kontaminantlar, özellikle europin ve N-oksidi olmak üzere, heliotrin tipi alkaloidlerdir. Araştırmacılar kontaminasyonun PA üreten yabancı otların hasat sırasında kültür bitkileriyle birlikte toplanmasından kaynaklanabileceğini belirtmiş; yabancı ot kontrolünün ve üretim aşamalarında çalışanların eğitiminin önemini vurgulamıştır.

Genel olarak bu çalışmalar, Türkiye'de bitkisel çaylar, takviye edici gıdalar, kekik ve kimyon gibi ürünlerde PA kontaminasyonunun bulunduğunu, bunların önlenmesi için valide edilmiş analitik yöntemlere daha fazla analize gerek olduğunu göstermektedir.

4. AB VE TÜRKİYE'DE YASAL MEVZUAT

Avrupa Birliği'nde gıdalardaki bulaşanlarla (kontaminasyon) ilgili temel ilkeler, 315/93/AET sayılı Konsey Tüzüğü ile belirlenmiştir. Bu düzenleme, üretim, işleme, taşıma, depolama veya çevresel bulaşma sonucunda gıdalarda bulunan istenmeyen maddeleri bulaşan olarak tanımlamaktadır.

Komisyon Tüzüğü (AB) 2023/915, gıdalardaki çeşitli bulaşanlar için maksimum düzeyleri belirlemektedir. Bunlar arasında mikotoksinler, metaller, kalıcı organik kirleticiler, işleme kaynaklı bulaşanlar ve PA'lar gibi bitkisel toksinler bulunmaktadır. Tüzüğün Ek I, Bölüm 2.4'ünde PA'lar için belirli gıda gruplarına yönelik maksimum düzeyler düzenlenmiştir. Genel olarak kurutulmuş otlar için sınır 400 µg/kg olup kurutulmuş hodan, yaban kerevizi, mercanköşk ve kekik için 1.000 µg/kg'dır. Kurutulmuş bitki çaylarında genel sınır 200 µg/kg, kekik, nane, papatya ve melisa gibi belirtilen bitkilerde ise 400 µg/kg'dır. Kurutulmuş Camellia sinensis çayı için sınır 150 µg/kg, bitkisel preparat içeren takviye edici gıdalar için genel sınır ise 400 µg/kg'dır.

AB'nin 2017/625 sayılı Tüzüğü, resmî kontroller kapsamında elde edilen analiz sonuçlarının güvenilirliğini ve karşılaştırılabilirliğini desteklemek amacıyla Avrupa Birliği Referans Laboratuvarları (EURL) ve Ulusal Referans Laboratuvarları (NRL) sistemini düzenlemektedir. Bu laboratuvarlar, analitik yöntemlerin uyumlaştırılması, laboratuvarlar arası karşılaştırmalar ve teknik destek yoluyla PA analizlerinin tutarlılığına katkıda bulunur. Böylece bitkisel ürünlerde PA düzeylerinin güvenilir biçimde belirlenmesi ve mevzuata uygunluğun değerlendirilmesi desteklenir.

Türkiye'de PA'lara ilişkin düzenlemeler esas olarak Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği kapsamında ele alınmaktadır. Yönetmelik, kurutulmuş otlar, çaylar, bitki

infüzyonları ve bitkisel preparat içeren takviye edici gıdalar gibi belirli ürün gruplarında PA'lar için maksimum düzeyler belirlemektedir. Gıdalardaki bitki toksinlerinin resmî kontrolüne yönelik numune alma ve analiz metodu kriterleri ise Türk Gıda Kodeksi'nin 2025/8 sayılı Tebliği ile düzenlenmektedir. Bu düzenlemeler birlikte, PA kontaminasyonunun izlenmesi ve ürünlerin geçerli yasal sınırlarla uyumunun değerlendirilmesi için bir çerçeve oluşturmaktadır.

5. SONUÇ

PA içeren baharat, çay, ve bitkisel tıbbi ürünlerin tüketimi, hem akut hem de kronik sağlık sorunlarına sebep olabilirler. Bunların varlığı Avrupa Birliği'ne yönelik ihracatta önemli sorunlara yol açabilir ve Türkiye'nin ihracat pazarlarındaki konumunu etkileyebilirler. Mevcut mevzuat ve kontrol mekanizmalarının etkin biçimde uygulanması için valide edilmiş analitik yöntemlerle denetimlerin güçlendirilmesi gerekmektedir. Kalite analizlerinde Avrupa Farmakopesi'nin 2.8.26 “Contaminant Pyrrolizidine Alkaloids” genel bölümü, PA analizleri için önemli bir referans sunmaktadır. Avrupa Birliği'ne ihraç edilecek ürünlerin ilgili AB maksimum düzeylerine ve resmî kontrol gerekliliklerine uygunluğu değerlendirilmelidir.

Bilimsel çalışmalar, Türkiye'de bitkisel çaylar, takviye edici gıdalar, kekik ve kimyon gibi ürünlerde PA kontaminasyonunun bulunduğunu göstermektedir. Kontaminasyonun hasat ya da işleme sırasında yabani ot ve tohum parçalarının ürüne karışmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir Hammadde kabulü sırasında, özellikle risk temelli bir yaklaşımla, önceki parti analiz sonuçları ve üretim sürecine ilişkin bilgiler dikkate alınarak ham bitkisel materyaller PA analizi açısından önceliklendirilmelidir Üretim aşamalarında PA kontaminasyonu riski, uygun önleyici uygulamalarla

azaltılabilir. Yetiştirme planlaması sırasında toprakta bulunan yabancı ot tohumları ve komşu tarlalardaki PA üreten bitkiler dikkate alınmalı; uygun tarla seçimi, tarla kenarlarının biçilmesi ve gerekli durumlarda herbisitlerin kontrollü kullanımı sağlanmalıdır. Hasat sırasında PA içeren yabancı otların kültür bitkileriyle birlikte toplanması kontaminasyona neden olabileceğinden, hasat zamanı, kullanılan ekipman ve kesim yüksekliği gibi uygulamalar optimize edilmelidir.

KAYNAKÇA

- Bah, M., Bye, R., & Pereda-Miranda, R. (1994). Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in the Mexican medicinal plant *Packera candidissima* (Asteraceae: Senecioneae). *Journal of Ethnopharmacology*, 43(1), 19–30.
- CBI. (2025, October 25). Entering the European market for thyme. <https://www.cbi.eu/market-information/spices-herbs/thyme/market-entry>
- CBI. (2026, February 4). What is the demand for spices and herbs on the European market? <https://www.cbi.eu/market-information/spices-herbs/what-demand>
- Cheeke, P. R. (1988). Toxicity and metabolism of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Animal Science*, 66(9), 2343–2350.
- Cramer, L., Schiebel, H. M., Ernst, L., & Beuerle, T. (2013). Pyrrolizidine alkaloids in the food chain: Development, validation, and application of a new HPLC-ESI-MS/MS sum parameter method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(47), 11382–11391.
- Dzuman, Z., Jonatova, P., Stranska-Zachariasova, M., Prusova, N., Brabenec, O., Novakova, A., ... Hajslova, J. (2020). Development of a new LC-MS method for accurate and sensitive determination of 33 pyrrolizidine and 21 tropane alkaloids in plant-based food matrices. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412(26), 7155–7167.
- Edgar, J. A., Molyneux, R. J., & Colegate, S. M. (2015). Pyrrolizidine alkaloids: Potential role in the etiology of cancers, pulmonary hypertension, congenital anomalies, and liver disease. *Chemical Research in Toxicology*, 28(1), 4–20.

- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. (2011). Scientific opinion on pyrrolizidine alkaloids in food and feed. EFSA Journal, 9, 2406.
- European Commission. (2008). Food contaminants. https://ec.europa.eu/food/system/files/2016-10/cs_contaminants_factsheet_en.pdf
- Fu, P. P. (2017). Pyrrolizidine alkaloids: Metabolic activation pathways leading to liver tumor initiation. Chemical Research in Toxicology, 30(1), 81–93.
- Fuente-Ballesteros, A., Brabenec, O., Tsagkaris, A. S., Ares, A. M., Hajslova, J., & Bernal, J. (2024). Comprehensive overview of the analytical methods for determining pyrrolizidine alkaloids and their derived oxides in foods. Journal of Food Composition and Analysis, 125, 105758.
- Gumus, Z. P. (2023). Assessment of toxic pyrrolizidine and tropane alkaloids in herbal teas and culinary herbs using LC-Q-ToF/MS. Foods, 12(19), 3572.
- Gürbüz, M. N. S. (2021). Takviye edici gıdalarda ve bitkisel çaylarda pirolizidin alkaloidlerinin miktar tayini ve toksikolojik açıdan değerlendirilmesi [Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi].
- Han, H., Jiang, C., Wang, C., Wang, Z., Chai, Y., Zhang, X., ... Chen, H. (2022). Development, optimization, validation and application of ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the analysis of pyrrolizidine alkaloids and pyrrolizidine alkaloid N-oxides in teas and weeds. Food Control, 132, 108518.
- Kaltner, F., Rychlik, M., Gareis, M., & Gottschalk, C. (2020). Occurrence and risk assessment of pyrrolizidine alkaloids

in spices and culinary herbs from various geographical origins. *Toxins*, 12(3), 155.

Kempf, M., Heil, S., Haßlauer, I., Schmidt, L., von der Ohe, K., Theuring, C., ... Beuerle, T. (2010). Pyrrolizidine alkaloids in pollen and pollen products. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(2), 292–300.

Kodikara, C., Drul, D., Bandara, N., & Tittlemier, S. A. (2026). Comparative evaluation of total ergot alkaloids determination by ELISA and UHPLC-MS/MS in wheat: Implications of cross-reactivity and matrix effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 74(25), 20015.

Korkmaz, S. D., & Küplülü, Ö. (2022). Denizli ilinde üretilen kekiklerde (*Origanum onites*) pirolizidin alkaloidlerinin LC-MS Q-TOF yöntemi ile belirlenmesi. *Journal of Turkish Veterinary Medical Society*, 93(2), 115–123.

León, N., Miralles, P., Yusà, V., & Coscolla, C. (2022). A green analytical method for the simultaneous determination of 30 tropane and pyrrolizidine alkaloids and their N-oxides in teas and herbs for infusions by LC-Q-Orbitrap HRMS. *Journal of Chromatography A*, 1666, 462835.

Oplatowska, M., Elliott, C. T., Huet, A. C., McCarthy, M., Mulder, P. P., Von Holst, C., ... Campbell, K. (2014). Development and validation of a rapid multiplex ELISA for pyrrolizidine alkaloids and their N-oxides in honey and feed. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(3), 757–770.

Roeder, E., & Pflueger, T. (1995). Analysis of pyrrolizidine alkaloids: A competitive enzyme-linked immunoassay (ELISA) for the quantitative determination of some toxic pyrrolizidine alkaloids. *Natural Toxins*, 3(4), 305–309.

- Sixto, A., Pérez-Parada, A., Niell, S., & Heinzen, H. (2019). GC-MS and LC-MS/MS workflows for the identification and quantitation of pyrrolizidine alkaloids in plant extracts, a case study: *Echium plantagineum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(4), 500–503.
- Smith, L. W., & Culvenor, C. C. J. (1981). Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Natural Products*, 44(2), 129–152.
- Steinhoff, B. (2022). Pyrrolizidine alkaloid contamination in medicinal plants: Regulatory requirements and their impact on production and quality control of herbal medicinal products. *Planta Medica*, 88(2), 125–129.
- Tábuas, B., Cruz Barros, S., Diogo, C., Cavaleiro, C., & Sanches Silva, A. (2024). Pyrrolizidine alkaloids in foods, herbal drugs, and food supplements: Chemistry, metabolism, toxicological significance, analytical methods, occurrence, and challenges for future. *Toxins*, 16(2), 79.
- Wiedenfeld, H. (2011). Plants containing pyrrolizidine alkaloids: Toxicity and problems. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28(3), 282–292.
- Witte, L., Rubiolo, P., Bicchi, C., & Hartmann, T. (1992). Comparative analysis of pyrrolizidine alkaloids from natural sources by gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochemistry*, 32(1), 187–196.

ECZACILIKTA ANALİTİK KİMYA ALANINDA
GÜNCEL KONULAR VE
AKADEMİK DEĞERLENDİRMELER

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com