

Gıda Analizlerinde KÜTLE SPEKTROMETRİ'NİN KULLANIMI



Kimya Mühendisi Fatih Şenol
Servis ve Aplikasyon Uzmanı
Ant Teknik Cihazlar



Gıda sektöründe, gıda güvenliği kapsamında pestisit kalıntıları, mikotoksin, hormonlar, ağır metaller, antibiyotikler vb. analizler; aroma ve tekstür özellikleri kapsamında antioksidanlar, tatlandırıcılar, boyar maddeler, termal özellikler vb. analizler; gıda katkıları kapsamında ise aminoasitler, yağ asitleri, vitaminler, şekerler vb. analizler talep edilmektedir. Analizler için uygun cihazın seçimi, aranan hassasiyet limitleri, elementler, etken maddeler, kalitatif (nitel) veya kantitatif (miktaral) analiz talebi ve kullanıcı beklentileri doğrultusunda belirlenmektedir. Tüketilen ürünlerdeki çok düşük miktarlardaki kalıntıları analiz etmek için verimli ve hızlı analitik yöntemlerin birarada

kullanılması gerekmektedir. Örnek olarak, pestisit kalıntı analizlerinde Gaz Kromatografisi-Üçlü Quadrupole Kütle Spektrometresi (GC-MS/MS), Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GCMS) ve Sıvı Kromatografisi-Üçlü Quadrupole Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) sistemleri günümüzün en önemli

dedeksiyon teknikleridir. Yapılarında Kütle Spektrometresi (MS) ünitesi veya üniteleri bulunan GC ve LC sistemleri eşzamanlı olarak kalitatif ve kantitatif analiz yapma imkanı sağlarlar.

Aşağıdaki yazıda gıda laboratuvarlarında yoğun olarak kullanılan LCMSMS cihazının uygulama alanlarından bazı örnekler yer verilmektedir:

Gıda Numunelerinde Pestisit Analizleri (Üçlü Kuadrupol UHPLC-MS/MS ile 210 Pestisit Analizi)

'Pestisitler ve metabolitleri', insan sağlığına etkileri, doğal kaynaklarda oluşturdukları kirlilik ve ekosistemin dengesini bozmaları gibi nedenlerden

Tablo 1 Çalışılan bileşikler, kimyasal formülleri, CAS numaraları, SRMLeri, alıkonma zamanları, LOD ve R2 değerleri. (Özet Tablo)
http://www.shimadzu.com/an/journal/content_vol1_iss1/reference/table1.pdf adresinden tablonun bütününe ulaşılabilir.

Compound	Formula	CAS	Transition 1	Transition 2	Pear extract				
					RT (min.)	Transition 1 LOD (ppb)	Transition 2 LOD (ppb)	%RSD (10ppb)	R ²
Avermectin B1a	C ₄₈ H ₇₂ O ₁₄	71751-41-2	891 > 305	891 > 567	16.4	0.35	0.56	5.0	0.9975
Acephate	C ₄ H ₁₀ N ₃ O ₃ P ₅	30560-19-1	184 > 143	184 > 49	3.0	0.17	0.31	1.0	0.9999
Acetamiprid	C ₁₀ H ₁₁ CIN ₄	135410-20-7	223 > 126	223 > 99	7.2	0.50	1.00	1.1	0.9979
Acrinathrin	C ₂₆ H ₂₁ F ₆ NO ₅	101007-06-1	559 > 208	559 > 181	16.1	1.32	2.36	4.4	0.9990
Alachlor	C ₁₄ H ₂₀ CINO ₂	15972-60-8	270 > 238	270 > 162	13.4	0.09	0.26	1.5	0.9995
Tricyclazole	C ₉ H ₇ N ₃ S	41814-78-2	190 > 136	190 > 163	8.3	0.10	0.20	2.3	0.9993
Trifloxystrobin	C ₂₀ H ₁₉ F ₃ N ₂ O ₄	141517-21-7	409 > 186	409 > 145	14.6	0.02	0.05	1.2	0.9994
Triflumizole	C ₁₅ H ₁₅ CIF ₃ N ₃ O	68694-11-1	346 > 278	346 > 43	14.8	0.09	0.09	1.3	0.9996
Triflumuron*	C ₁₅ H ₁₀ CIF ₃ N ₂ O ₃	64628-44-0	357 > 154	357 > 176	14.2	1.76	3.12	4.6	0.9991
Triforine	C ₁₀ H ₁₄ CIN ₄ O ₂	26644-46-2	435 > 390	437 > 392	11.7	0.92	3.53	4.8	0.9963
Triticonazole	C ₁₇ H ₂₀ CIN ₃ O	131983-72-7	318 > 70	320 > 70	13.2	0.40	0.41	1.9	0.9993
Zoxamide	C ₁₄ H ₁₆ CIN ₃ O ₂	156052-68-5	336 > 187	336 > 159	14.0	0.09	0.29	1.3	0.9951
2,4-D*	C ₈ H ₆ Cl ₂ O ₃	94-75-7	219 > 161	219 > 125	10.3	1.09	5.00	9.7	0.9980

* Negative electrospray ionisation

dolayı toplumun ilgisini çeken ve sürekli gündemde olan bir konudur. Sonuç itibarıyla tüm dünyada gıda güvenliği regülasyonları daha sıkı bir şekilde uygulamaya geçilmekte ve pestisit analiz laboratuvarları hedef pestisit listelerini genişletmek, analitleri daha düşük limitlerde ve daha yüksek kesinlikle tespit etmek, analiz sürelerini kısaltmak gibi durumlarla karşılaşmakta; tüm bunları gerçekleştirirken aynı zamanda analiz maliyetlerinin aynı kalması veya daha da düşmesi beklenmektedir. Pestisit kalıntıları geleneksel olarak GC-tabanlı çoklu-kalıntı yöntemleri ile çoğunlukla da GCMS ile gerçekleştirilmekte idi. Ancak, bu yöntemle zayıf termal kararlılıkları veya uçucu olmaları nedeniyle birçok semipolar bileşik ve/veya iyonik bileşiğin türevlendirme olmaksızın analizi mümkün değildi. GC'deki bu sınırlamalar ve LC - sıralı kütle spektrometrideki son gelişmeler sonucunda LCMSMS pestisit analizleri için vazgeçilmez bir teknik haline geldi. LC-üçlü kuadropol kütle spektrometri yüksek seçicilik ve hassasiyetle gösterirken birçok farklı pestisit in eş zamanlı ve iz seviyede analizlerine de olanak sağladı.

Aşağıda gıda numunelerinde en sık aranan 210 pestisit in eş zamanlı miktarsal analizine ilişkin sonuçlara yer verilmektedir. Uygulamada LCMS-8040 ve Nexera UHPLC kullanılmıştır. 2 ul'lık numune enjeksiyonlarında bileşiklerin %90'ının Dedeksiyon limitleri (LOD) 0.001 mg/kg (1 ppb)'nin, tümünün LOD değeri ise 0.01 mg/kg (10 ppb)'nin altında gerçekleşmiştir (kalitatif ve kantitatif çalışmalarda). Analiz edilen farklı gıda ekstraktlarında 0.01 mg/kg raporlama seviyesindeki tekrarlanabilirlik % RSD 5'in altında ve korelasyon katsayıları da 0.997'nin üzerinde olarak tespit edilmiştir. Sonuç itibarıyla, LCMS-8040'ın pestisitlerin rutin izlenmesi için Avrupa Birliği (AB) yönetmeliklerinde belirtilen 0.01 mg/kg'lık varsayılan değeri karşılamakta olduğu değerlendirilmiştir.



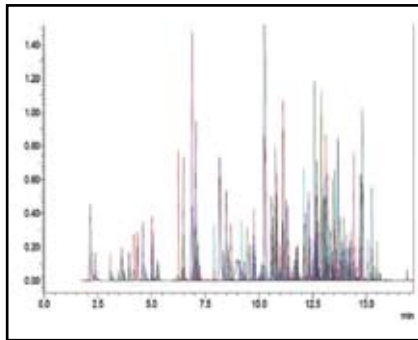
Şekil 2. LCTech FREESTYLE Sistemi

Freestyle GPC + EVA Sistemi pestisitlerin analizleri öncesinde hızlı ve otomatik numune hazırlama (clean-up) için geliştirilmiştir ve kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır.



Şekil 3. Restek Q-sep QuEChERS kitleri

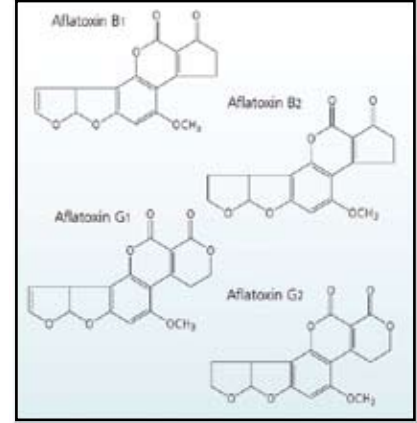
QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) ekstraksiyon metodu basit, hızlı ve düşük maliyetli bir metod olarak kabul görmektedir. QuEChERS metodu, AOAC ve EN gibi resmi onaylı metodlarda da yer bulmaktadır.



Şekil 4. 210 pestisite ait ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı (Cihaz: Shimadzu LCMS-8040 /Nexera UHPLC, Enjeksiyon: 2 ul, 0.05 mg/kg standart çözelti)

Gıda Numunelerinde Aflatoksin Analizleri

Aflatoksinler Aspergillus flavus ve Aspergillus parasiticus isimli küfler tarafından üretilen ve tahıl ürünleri ile kuruyemişi kontamine eden son derece zararlı mikotoksinlerdir. Sağlığa zararlı etkileri nedeniyle birçok ülkede ve ülkemizde, ilgili gıdalarda aflatoksin analizi rutin ve zorunlu olarak gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmada Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2'in miktarsal analizine yer verilmektedir.

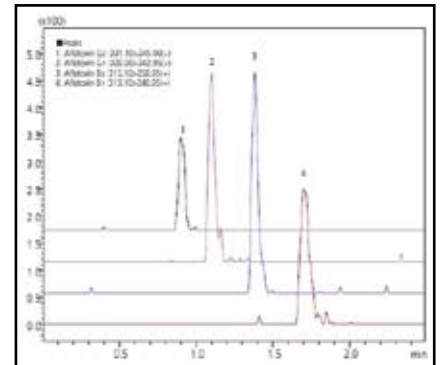


Şekil 5. Aflatoksinlerin yapıları

Nexera UHPLC ve LCMS-8030 cihazlarının kullanıldığı çalışmanın özeti ve sonuçları aşağıdaki gibidir:

- » Nexera UHPLC'nin kapasitesi nedeniyle hızlandırılmış metod geliştirilmiştir.
- » Aflatoksinlerin 4 dk ve 2 dk süresinde tespiti için iki farklı metod geliştirilmiştir.
- » Kolon sıcaklığı ve ESI prob pozisyonu aflatoksinlerin analizi için önemli parametrelerdir.
- » Numunenin clean-up aşamasında immunoafinite kolon kullanılmıştır.
- » Geri-kazanım testinin sonuçları %69-86 arasındadır.

Şekil 6. Aflatoksinlerin kromatogramları (0.5 mg/L)



Tablo 2 MRM Parametreleri

Bileşik	Geçiş	Pause süresi (ms)	Dwell süresi (ms)	CE (V)	Rezolüsyon (Q1, Q3)
Aflatoksin B1	313.10 > 240.95	1	50	-40	Birim
Aflatoksin B2	315.10 > 258.95	1	50	-33	Birim
Aflatoksin G1	328.90 > 242.95	1	50	-30	Birim
Aflatoksin G2	331.10 > 245.00	1	50	-32	Birim

Portakal Suyunda Karbendazim Analizi

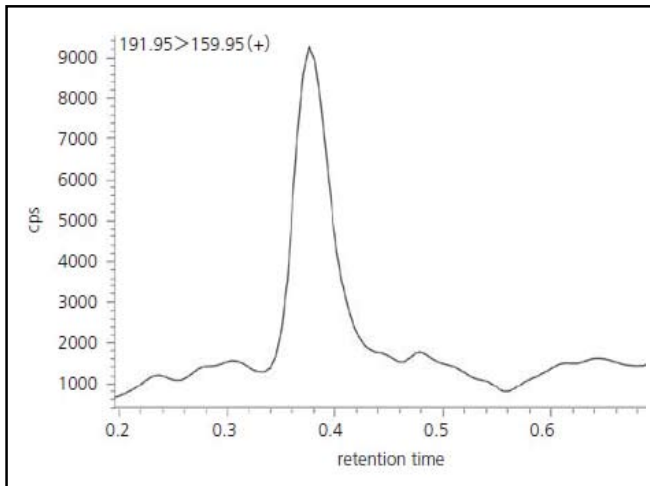
Portakal suyunda karbendazim analizini ppb seviyelerinde gerçekleştirmek için yeni bir LCMSMS metodu geliştirilmiştir. Yeni gradient ters faz hızlı metotta 2.1 x 30 mm, 2.6 mikronluk core shell kolon kullanılmıştır. Yedi saniyelik enjeksiyon süresi olan otosampler sayesinde analiz kapasitesi artırılmıştır. Numune hazırlama aşamasında seyreltme, santrifüjleme ve filtrasyon adımları gerçekleştirilmiştir.

Test edilen altı ticari numunenin dördünde düşük ppb seviyelerinde karbendazim tespit edilmiştir. Bulunan değerler FDA limitlerinin altındadır. Kalibrasyon eğrisi 500 ppb'ye kadar lineerdir ve metod, karbendazimi regülasyonlarda belirtilen en düşük eşik değerinin de altında tespit edebilecek kadar hassastır. Carryover gözlenmemiştir ve metod çalışma süresi, hızlı otosampler sayesinde, bir dakikanın altında olarak gerçekleştirilmiştir.

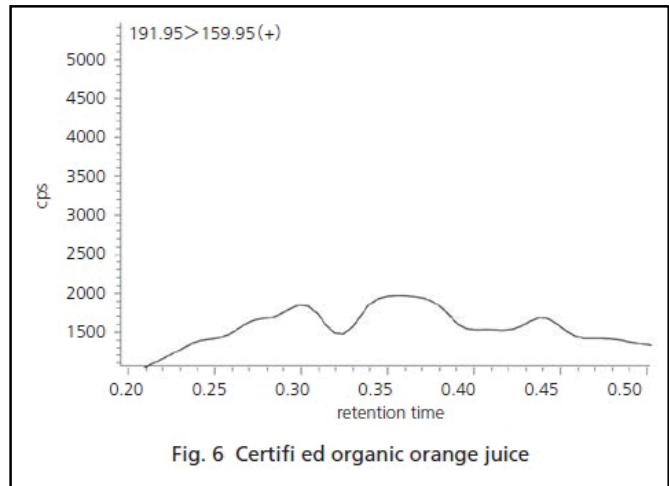


Tablo 3 Karbendazim Ölçümü Yapılan Markalar

Marka	Tespit edilen miktar
HT	Tespit edilmemiştir
OV (organik sertifikalı ürün)	Tespit edilmemiştir
GV	1.0 ppb
MM	8.1 ppb
T1	4.5 ppb
T2	1.1 ppb



Şekil 7. MM markalı portakal suyu



Şekil 8. Organik sertifikalı portakal suyu

REFERANSLAR

- » Shimadzu Journal Vol. 01 Issue 1, Sf. 10-17
- » Shimadzu Uygulama Notu, Aflatoxins in Food, ASMS 2012, WP27-585
- » Shimadzu Review, high Throughput Analysis of Carbendazim in Orange Juice