

LCMSMS İLE YUMURTADA YASAKLI BOYA ANALİZLERİ

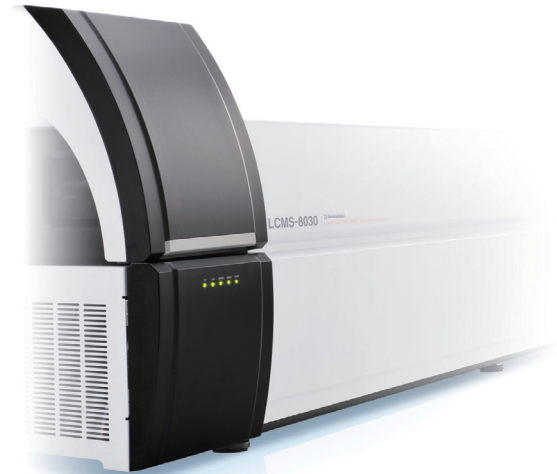


Yüksek Kimyager Murat YAYLA
Ant Teknik Cihazlar - MS Grup Müdürü

Yumurta sarısının rengi, yumurtanın besin değeri ve tazeliği ile ilgili bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Yumurta sarıları daha koyu olan sarı-turuncu tonlarındaki yumurtalar en çok talep görenlerdir. Bu nedenle, bazı yumurta üreticilerinin tavuklarını çeşitli sentetik boyalar içeren yemlerle besleyerek istenen tonda yumurta üretimi gerçekleştirmeye çalıştıkları tespit edilmiştir. (Şekil 1). Bu durum, yasaklı boyar maddelerin yumurtadaki varlığı araştırılarak ortaya çıkarılabilmektedir.



Şekil 1. Yumurta sarısındaki sudan boyası

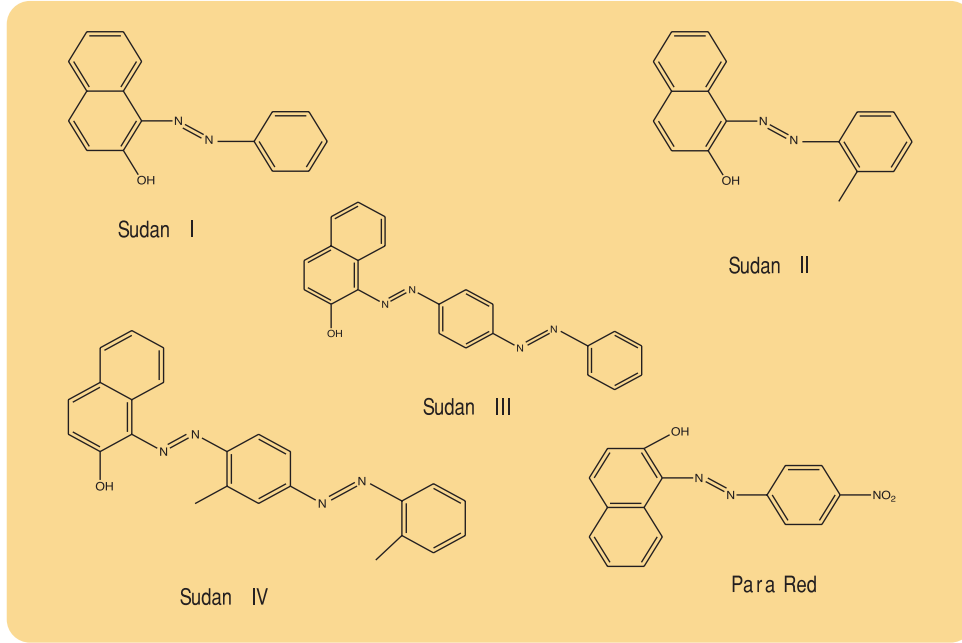


Şekil 2. Shimadzu LCMSMS Triple
Quadrupole Kütle Spektrometre Sistemi

Bu çalışmada, yumurta sarısında belirli yasaklı boya miktarlarının tayini gerçekleştirilmiştir. Yüksek hassasiyetle miktar tayini için Shimadzu LCMS-8040 üçlü kuadrupol kütle spektrometre kullanılmıştır (Şekil 2).

LCMS-8040'ın yüksek tarama hızı sayesinde dört sudan boyası ile p-red boyanın eş zamanlı analizini mümkün kılmaktadır. Tüm bu boyalar, yumurta matrisinin varlığına rağmen, yüksek seçicilikle ve iyi tekrarlanabilirlikle düşük ppb seviyelerinde tespit edilmiştir.

Sudan ve p-red boya grupları sudan I, II, III, IV vb. gruplarda sentetik endüstriyel boya içermektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı 1987 yılında sudan I, II, III ve IV boya gruplarının güvenilirliğini araştırmış ve söz konusu boya gruplarının insanlar açısından kanserojen grubunda sınıflandırılmasının mümkün olmadığı sonucuna ulaşmıştır. Sudan boya gruplarının deney hayvanlarında kansere neden olabileceğine ve genlerde hasara yol açabileceğine dair bazı kanıtlar olsa da halen bu boya gruplarının insanlarda kansere yol açabileceğine dair yeterli kanıt bulunmamaktadır.



Şekil 3. Yumurtayı kontamine eden sudan boyları ve para red'in kimyasal yapıları

Uygulamada çalışılan dört sudan boyası ve para red boya Şekil 3'te gösterilmektedir.

Analiz Metodu

Matriks karşılaştırmalı kalibrasyon eğrisi

Numune hazırlama aşamasında ekstraksiyon için QuEChERS kit kullanılmıştır. Toplanan süpernatant C-18 SPE kartuşundan geçirilmiş ve asetone nitril ile elüe edilmiştir. Bu elüent 1 ppb – 100 ppb aralığında matriks karşılaştırmalı dilüsyonlar oluşturulmak için kullanılmıştır.

LC/MS/MS Analizi

LC/MS/MS koşulları Tablo 1'de verilmektedir.

LCMS-8040, ultra hızlı polarite geçişi ve ultra hızlı MRM ve yüksek hassasiyetli ölçümleri ile gıda güvenliği analizleri için uygun bir cihazdır. Bu özellikler farklı iyonlaşma eğilimleri olan çoklu bileşiklerin tek enjeksiyonda ve hassasiyet kaybı olmaksızın tespitine olanak tanımaktadır.

HPLC Sistemi	Prominence LC-20A/XR	MSMS Sistemi	LCMS-8040
Kolon	Shim-pack XR-C8 (75 mm L x 3.0 mm I.D., 2.2 µm)	Polarite	ESI
Mobil Faz A	% 0.1 Formik asit - su	Probe Voltage	4.5 kV ve -3.5 kV (ESI)
Mobil Faz B	% 0.1 Formik asit - Asetonitril	Nebulizing Gaz Akışı	3 L/min
Akış Hızı	0.4 mL/min	Drying Gaz Akışı	10 L/min
Enjeksiyon Hacmi	20 µL	DL Temperature	230 °C
		BH Temperature	400 °C

Tablo 1. Analitik Koşullar (HPLC & MS/MS)

Adım	Süre (dk)	% Mobil Faz B
1	0.01 – 1.5	50 - 80
2	1.5 – 2.5	80
3	2.5 – 4.0	80 – 100
4	4.0 – 6.0	100
5	6.0 – 6.1	100 – 50
	6.1 – 10.0	50

Tablo 2. Gradient Koşullar

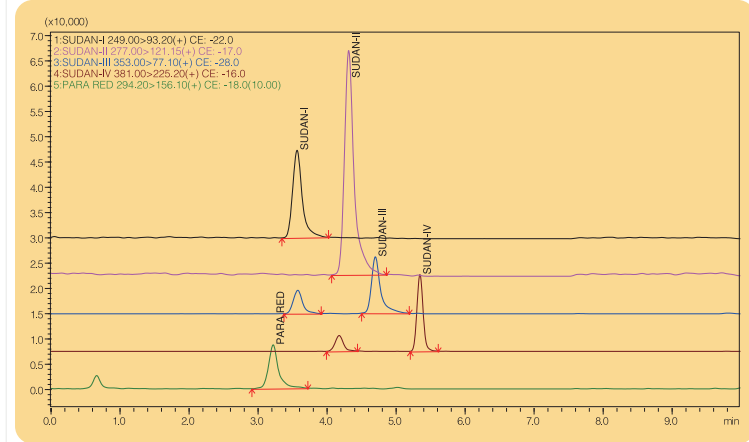
No	Bileşik Adı	MRM Geçişleri
1	Sudan I	249.00 >93.20
2	Sudan II	277.00 >121.15
3	Sudan III	353.00 >77.10
4	Sudan IV	381.00 >225.20
5	Para red	294.20 >156.10

Tablo 3. MRM Geçişleri

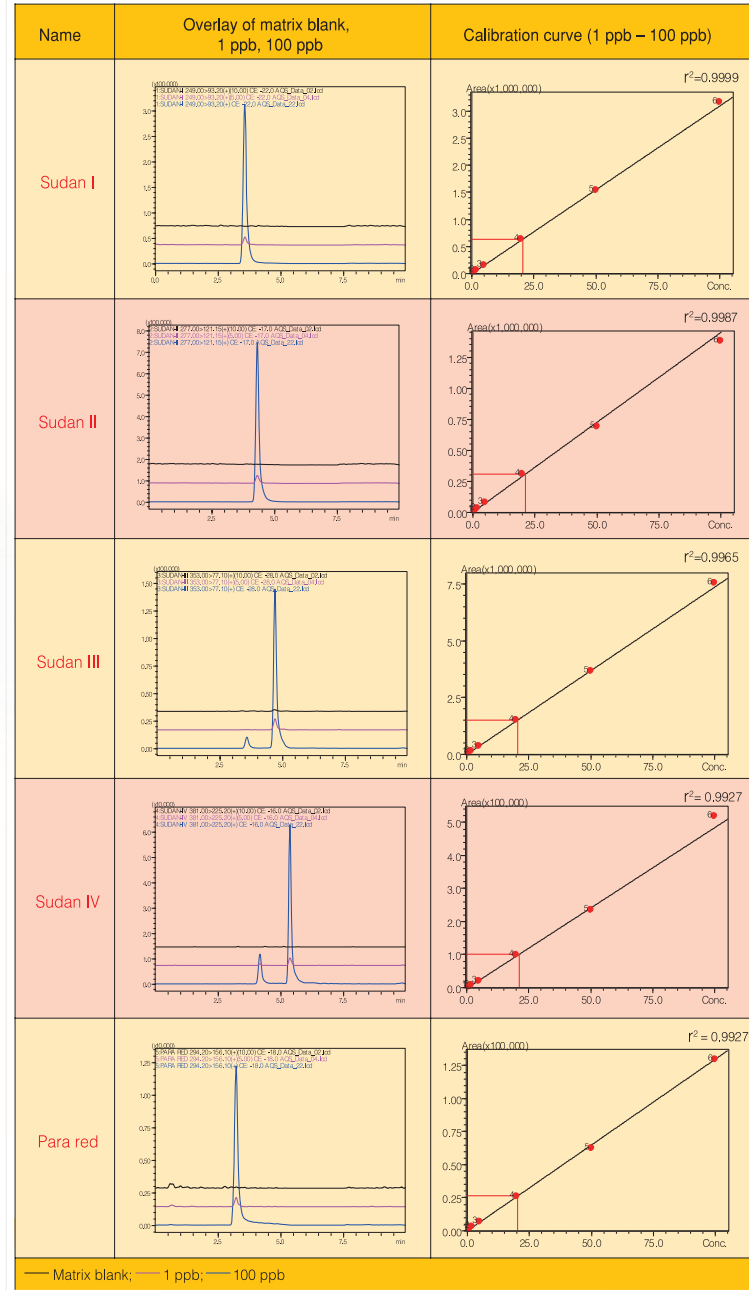
Sonuçlar

Sudan ve para red boyalarının analizi hem sulu matrikste hem de yumurta sarısı matriksinde gerçekleştirilmiştir. MRM LabSolutions yazılımına ait otomatik MRM optimizasyonu özelliği kullanılarak optimize edilmiştir. Analiz ayrıca, interferanslar açısından blank (kör) ile kontrol edilmiştir. Metod optimizasyonu sayesinde background interferanslar minimize edilmiştir.

Şekil 4, yumurta sarısında 5 boyanın eş zamanlı analizinin sonucunu göstermektedir. Blank, LOQ değeri ve en yüksek konsantrasyonların üstüste çakıştırılmış hali Şekil 5'te gösterilmektedir. Bu kantitatif sonuçlara Tablo 4'te yer verilmiştir. 5 boyanın her biri için hem sulu hem de yumurta sarısı matrikslerinde, 1 ppb'lik LOQ değeri elde edilmiştir.



Şekil 4. Yumurta sarısındaki sudan boya ve p-red'in MRM kromato-gramları (5 ppb standart konsantrasyonda)



Şekil 5. Kütle spektrumları ve kalibrasyon eğrileri



Name	Nominal concentration (ppb)	Measured concentration* (ppb)	Avg. area*	%RSD cal.point area*	% accuracy*
Sudan I	1	1.0	35597	7.45	100.4
	2	1.9	69150	0.86	99.2
	5	4.9	172070	3.59	99.8
	20	19.9	684163	1.62	99.7
	50	50.3	1722867	0.70	100.6
	100	100.1	3426385	0.65	100.1
Sudan II	1	0.9	79040	2.74	97.6
	2	2.1	176546	1.75	105.7
	5	5.0	428791	2.47	101.2
	20	19.6	1677856	2.20	98.2
	50	49.1	4199978	0.83	98.2
	100	99.8	8537248	1.07	99.7
Sudan III	1	0.9	21571	2.09	98.2
	2	2.0	41915	9.33	100.3
	5	5.3	109039	2.54	107.7
	20	20.7	413989	2.84	103.7
	50	49.6	987767	1.21	99.3
	100	93.0	1848722	1.48	93.0
Sudan IV	1	1.0	20996	4.96	106.9
	2	2.2	38519	1.36	111.3
	5	5.6	91127	1.21	113.3
	20	19.9	307351	0.98	99.8
	50	50.8	774778	1.20	101.6
	100	91.2	1387058	2.02	91.2
Para red	1	1.0	1605	7.70	100.1
	2	1.9	3256	9.29	99.2
	5	5.1	8498	5.48	102.1
	20	19.6	32836	3.55	98.1
	50	49.8	83635	1.88	99.8
	100	100.9	169136	1.75	100.8

* Average result for n=3

Tablo 4. Sudan boyaları ve p-red kalibrasyon eğrilerine ait sonuçlar

• Yumurta sarısında dört sudan boyası ve p-red boyanın yüksek hassasiyetli eş zamanlı analizi için bir metod geliştirilmiştir.

• 1 ppb'lik LOQ değeri, 5 boya-nın her birinde, matris karşılaştırmalı

kalibrasyon standartları kullanılarak, 0.99'un üzerinde doğruluk ve % 90-110 arasında hassasiyetle elde edilmiştir.

• Background interferansı minimize etmek, dolayısıyla hassasiyeti arttırmak için bir analitik metod geliştirilmiştir.

Referanslar

Rashi Kochhar, Shailendra Rane, Shailesh Damale, Deepti Bhandarkar, Shruti Raju, Ajit Datar, Pratap Rasam and Jitendra Kelkar, Shimadzu Analytical (India) Pvt. Ltd., ASMS 2015 Poster TP334