

LCMSMS ile yumurtada yasaklı boya analizleri

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. Bu durum, yasaklı boyar maddelerin yumurtadaki varlığı araştırılarak ortaya çıkarılabilmektedir.

Bu çalışmada, yumurta sarısında Şekil 3'te bahsedilen yasaklı boya ların yüksek hassasiyetteki miktar tayini Shimadzu LCMS-8040 üçlü kuadropol kütle spektrometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

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

Sudan ve p-red boya ları sudan I, II, III,



Şekil 1. Yumurta sarısındaki sudan boyası

Şekil 2. Shimadzu LCMSMS Triple Quadropole Kütle Spektrometre Sistemi

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

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 asetonitril ile elüe edilmiştir. Bu elüent 1 ppb – 100 ppb aralığında matriks karşılaştırmalı dilüsyonlar oluşturulmak için kullanılmıştır.

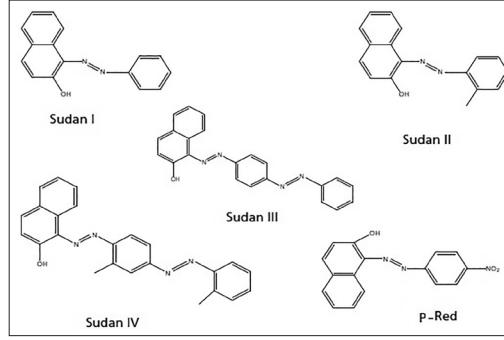
LC/MS/MS Analizi

LC/MS/MS koşullar 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.



Şekil 3. Yumurta yı kontamine eden sudan boya ve para red'in kimyasal yapıları



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

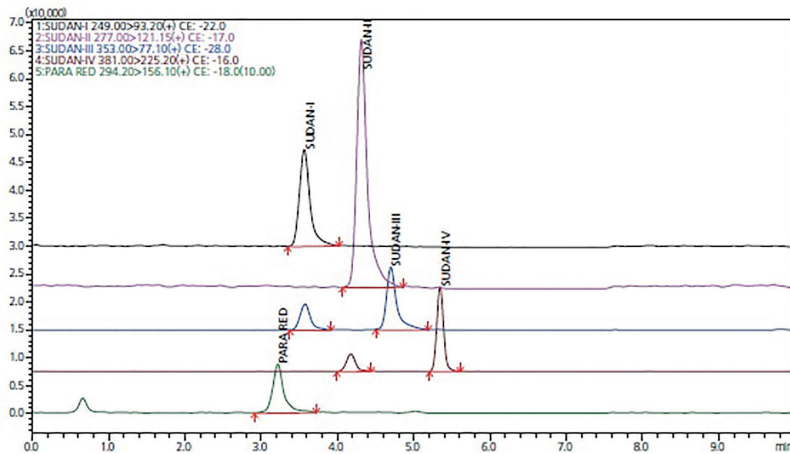
Tablo 1. Analitik Koşullar (HPLC & MS/MS)

Tablo 2. Gradient Koşullar

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 3. MRM Geçişleri

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



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

Sonuçlar

Sudan ve para red boya ve para red boya analizinde 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.

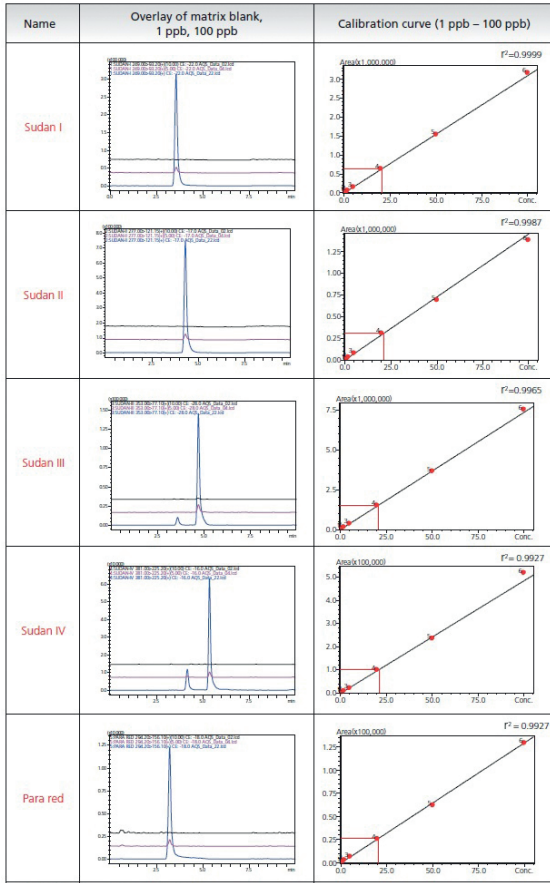
■ Yumurta sarısında dört sudan boyası ve p-red boyanın yüksek hassasiyetli eş zamanlı analizi için bir metod geliştirilmiştir.

■ 1 ppb'lik LOQ değeri, 5 boyanın her birinde, matriks 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



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



BURKUT

SU TEKNİĞİ A.Ş.

Proses Suyu Hazırlama Sistemleri



"Otomatik Yıkamalı ARKAL Diskli Filtre"
5 m³/saat-1000 m³/saat"



"Ultra Filtrasyon Sistemi:"
5 m³/saat-1000 m³/saat"



"Ters Ozmoz Sistemi:"
1 m³/saat-300 m³/saat"



"Su Yumuşatma Cihazı:"
1 m³/saat-300 m³/saat"



"EDI - Elektro De İyonizasyon"
1 m³/saat - 100 m³/saat"



BURKUT
SU TEKNİĞİ A.Ş.
www.burkut.com.tr
Tel: 0 232 486 23 23

LeoNardo Online Tasarımcılar