



Yem ve Premikste HPLC ile Vitamin A ve Vitamin E Analizi



Yük. Kim. Ozan Halışçelik
ANT TEKNİK Aplikasyon Uzmanı

Yem ve yem katkı maddelerinde aminoasit, aflatoksin, vitamin, antibiyotik analizler için Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC); ağır metal ve mineral analizleri (bakır, magnezyum, kalsiyum, çinko, demir, mangan, arsenik, civa, kadmiyum, kobalt, kurşun, sodyum, potasyum selenyum vb.) için Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS); fosfor, potasyum ve sodyum analizleri için UV-VIS spektroskopisi gibi farklı analitik teknikler kullanılmaktadır. Yağ ve kalıntı analizleri (yağ asitleri kompozisyonu, pestisit, melamin, PCB vb. analizler) için Gaz Kromatografi (GC) ve/veya Gaz Kromatografi Kütle Spektrometri (GCMS) tekniklerine başvurulmaktadır.

Bu yazıda ise, yem ve premikste vitamin analizleri için yaygın olarak kullanılan HPLC cihazı ve yağda çözünen vitaminlerin HPLC cihazında analizine ilişkin uygulama örneklerine yer verilecektir.

Sıvı Kromatografi (HPLC)

Sıvı Kromatografi sisteminin amacı; bir sıvı içerisinde çözülebilen tüm türlerin Kalitatif ve Kantitatif analizinin gerçekleştirilmesidir.

Bu teknik yem endüstrisinde aşağıdaki analizler için kullanılmaktadır:

- Aminoasit analizleri
- Aflatoksin analizleri
- Vitamin analizleri (A, D, E)
- Antibiyotik analizleri

HPLC Uygulama Örneği: Vitamin A ve E Analizi

Özellikle premiks numunelerinde belli kanatlı hayvan gruplarına ait belirli oranda katkı halinde vitamin eklen-

mektedir. Bu miktarın az olması ya da numunede yeterince homojenize olmaması durumunda hayvan grubunun yeterince gelişmemesi söz konusu olacaktır. Bu nedenle premiks-te vitamin analizleri uygulaması önem arz etmektedir.

Metod ve Materyaller:

Çalışma Shimadzu marka HPLC cihazıyla yapılmış ve metod in-house olarak geliştirilmiştir.

Standart ve Numune Hazırlama Yöntemi:

50mg Vitamin E Asetat ve 20 mg Vitamin A Asetat 100 mL'lik balon jöjeye alınır. Üzerine 10 mL 0.01 M HCl eklenir ve 65 0C'lik ultrasonik banyoda 20 dk çözünmesi için bekletilir. Soğutulduktan sonra hacme etanol ile tamamlanır. Bu çözeltiden 2.5, 5.0 ve 10.0 mL alınıp 50 mL'lik balon jöjelere alınır etanol ile hacme tamamlanır.



Ekstraksiyon:

Premiks numunesi homojen bir şekilde karıştırılıp çeyrekleme yöntemiyle 50 mg Vitamin E Asetat ve 20 mg Vitamin A Asetat içerecek miktarda premiks numunesi tartılır ve 200 mL'lik balon jofeye alınır. Üzerine 20 mL 1 M HCl eklenip 65 0C'lik ultrasonik banyoda 20 dk çözünmesi için bekletilir. Soğutulduktan sonra 50 mL etanol ve 100 mL hekzan eklenip 5 dk karıştırılır. Fazların ayrışması gerçekleştiikten sonra üstteki hekzanlı fazdan 5 mL alınır ve 50 mL'ye etanol ile seyreltilir. Bu numune, filtrelenip cihaza verilir.

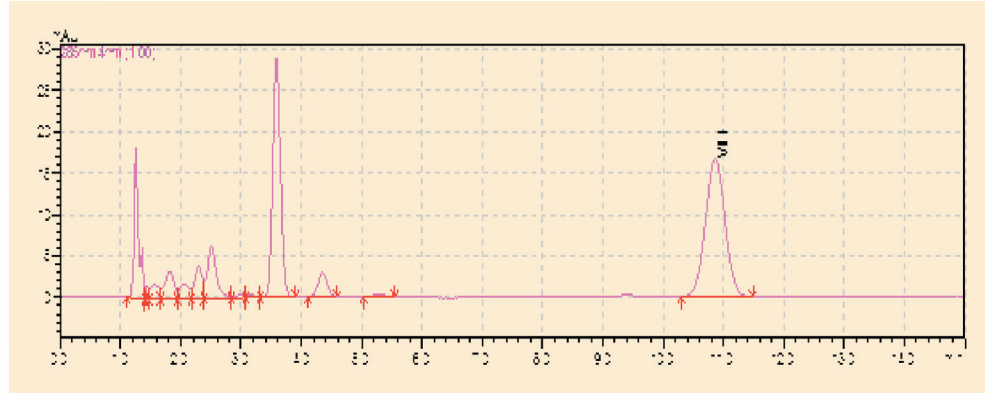


Analitik Koşullar:

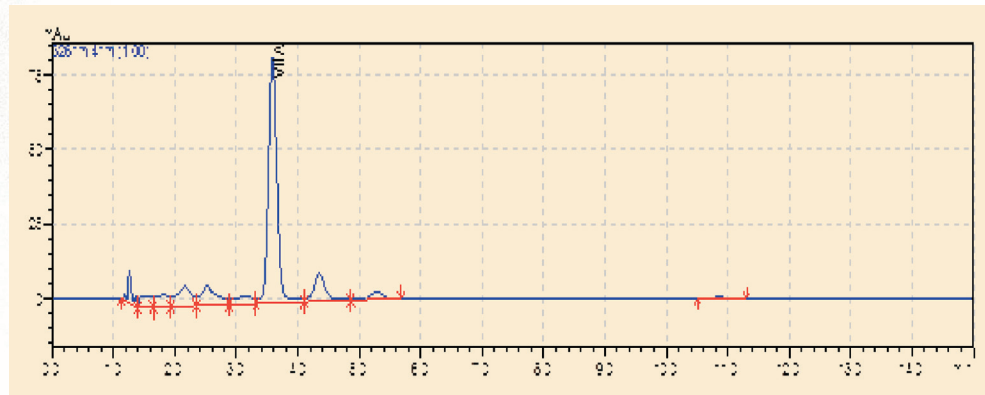
Cihaz	: Shimadzu Prominence LC-20A	Akış Hızı	: İsokritik
Kolonlar	: Inertsil ODS (150 mm x 4.6mm x 5 um)	Dedektör	: PDA
Kolon Fırın Sıcaklığı	: 25 °C	Süre	: 15 dk
Enjeksiyon Hacmi	: 50 uL	Mobil Faz A	: Metanol (%98.5)
		Mobil Faz B	: Su (%1.5)

* 285 nm'de vitamin E ve 326 nm'de vitamin A tayin edilmektedir.

Sonuçlar:



Grafik 1: 25 ppm Vitamin E Standardı



Grafik 2: 10 ppm Vitamin A Standardı

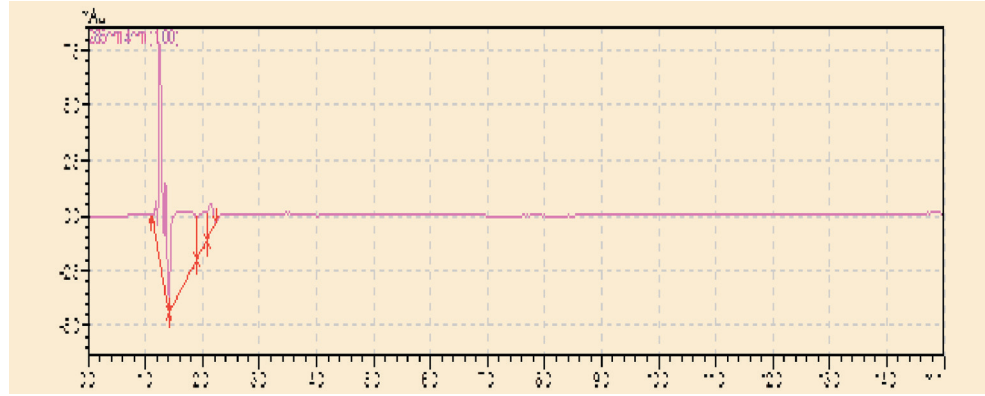


Ant Teknik Hakkında

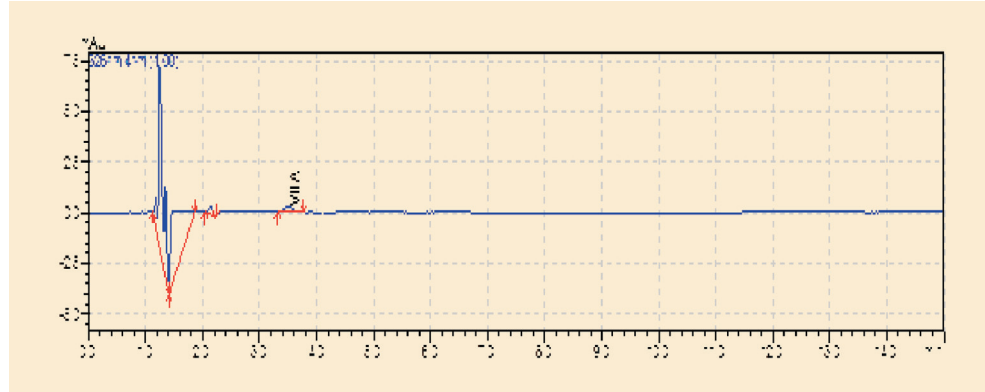
Ant Teknik, kuruluş yılı olan 1999'dan bu yana Kalite Kontrol ve Ar-Ge laboratuvarlarına yönelik satış, servis ve yedek parça temini; validasyon, aplikasyon ve eğitim hizmetleri sunuyor; anahtar teslim laboratuvar projeleri gerçekleştiriyor. İstanbul, Ankara, İzmir, Adana ve Bakü'deki ofisleri; 90'ın üzerinde çalışanı ve bölge bayileriyle gıda, ilaç, çevre ve kimya gibi birçok farklı alanda yenilikçi analitik çözümler sunuyor.

Konularında dünyanın en saygın üreticileri arasında yer alan Shimadzu Corporation, JeioTech, Rudolph Research, Fungilab ve Hitachi gibi firmaların Türkiye'de temsilcisi olan Ant Teknik; ayrıca Restek, GLSciences, Hellma, PSS ve AccuStandard gibi dünyaca tanınan üreticilerden kromatografi ve spektroskopi sarf malzemeleri de tedarik ediyor.

Firmanın ürünleri ve hizmetleri ile ilgili daha ayrıntılı bilgi için www.antteknik.com adresini ziyaret edebilirsiniz.



Grafik 3: 285 nm'de Numune Kromatogramı



Grafik 4: 326 nm'de Numune Kromatogramı

Şekil 1.
Shimadzu Prominence LC-20A
Yüksek Performanslı Sıvı
Kromatografi (HPLC) Sistemi

