



Murat Yayla

Yüksek Kimyager
MS Grup Müdürü
Ant Teknik Cihazlar

Lcmsms İle Yumurtada Yasaklı Boya Analizleri

Yumurta sarısının rengi, yumurtanın besin değeri ve tazeliği ile ilgili bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Yumurta sarılarında 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 boya maddelerinin yumurtadaki varlığı araştırılarak ortaya çıkarılabilmektedir.



Şekil 1. Yumurta sarısındaki sudan boyası.

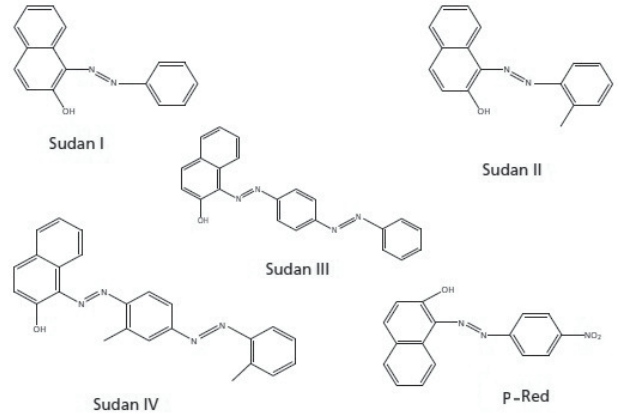
Bu çalışmada, yumurta sarısında belirli yasaklı boya miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Yüksek hassasiyetteki miktar tayini için Shimadzu LCMS-8040 üçlü kuadrupol kütle spektrometre kullanılmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Shimadzu LCMSMS Triple Quadrupole Kütle Spektrometre Sistemi.

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



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

Analiz Metodu

Matriks Karşılaştırmalı Kalibrasyon Eğrisi

Numune hazırlama aşamasında ekstraksiyon için Qu-EChERS kit kullanılmıştır. Toplanan süpernatant C-18 SPE kartuşundan geçirilmiş ve asetone 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.

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

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 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

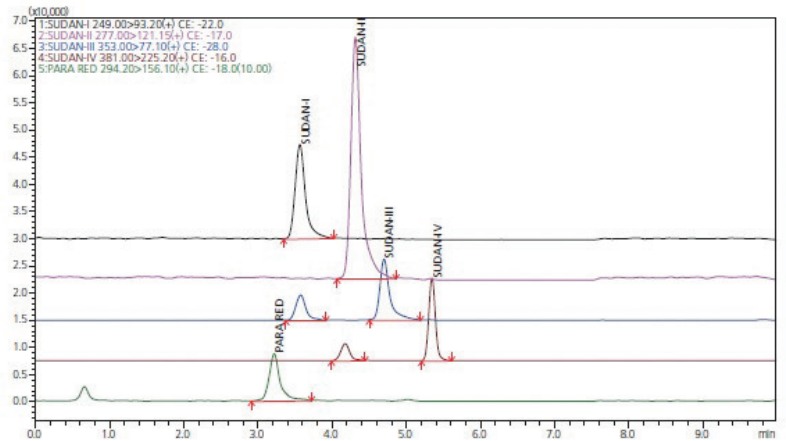
Tablo 3. MRM Geçişleri.

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

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. 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 kromatogramları (5 ppb standart konsantrasyonda).