

GIDA MADDELERİNDE HPLC Cihazı ile Suda Çözünen Renklendirici Analizi



Kimyager İsmail COŞKUN
Kimyager / Servis Mühendisi
Ant Teknik Cihazlar

KONU

Gıda maddelerinde suda çözünen sentetik boyaların HPLC cihazı ile kantitatif olarak analizi.

ÇALIŞMANIN AMACI

Özellikle endüstriyel gıda ürünlerinde kullanılan suda çözünebilir sentetik boya maddelerinin tayini ve miktarının hesaplanması ve gıda kodeksi limitlerine uygunluğunun kontrol edilmesi gerekmektedir.

Ülkemizde gıdalarda kullanılan renklendiriciler tebliğinde (Tebliğ No:2002/ 55) kullanımları düzenlenmiş ve sınırlandırılmıştır.

Kullanılan Sarf Malzemeler, Kimyasallar ve Hazırlanışları:

- **Ultra Saf Su:** HPLC Safıkta
- **SPE Kartuş:** Restek 24050 (3ml, 500 mg)
- **Metanol:** HPLC Safıkta
- **Petrol Eteri**
- **Amonyak %25**
- **TBA** (Tetra bütülamonyum hidrojen fosfat)
- **TBA-FB I:** 3.40 g TBA ve 1.38 g sodyum di hidrojen fosfat mono hidrat 500 ml lik behere alınarak 450 ml ultrasafsu da çözünür. 2 M NaOH ile ph:6.5 'e ayarlanır. Çözelti 500ml e tamamlanarak karıştırılır ve mobilfaz süzme düzeneğinden süzülür. Bu çözelti buzdolabında +4 derecede bir hafta stabil kalır.

ANT TEKNİK



- **Metanol-TBA-FB II (Mobil faz A):** 1 hacim TBA-FB I, 3 cm metanol ile karıştırılarak hazırlanır.
- **Metanol-TBA-FB II (Mobil faz A):** 1 hacim TBA-FB I, 3 hacim metanol ile karıştırılarak hazırlanır.
- **TBA-FB II (Mobil faz B):** 1 hacim TBA-FB I, 3 hacim ultra saf su ile karıştırılarak hazırlanır.

MIX1		
Adı	RT	Dalgaboyu (nm)
Sunset Yellow	11.78	484
Azorubin	17.00	520
Kinolin Yellow	16.21	416
Brillant Blue	14.09	630
Allura Red	13.03	510

MIX2		
Adı	RT	Dalgaboyu (nm)
Indigo Carmin	8.58	610
Ponceau 4R	13.64	510
Tartrazin	10.51	430
Patent Blue V	16.94	636
Amarant	11.25	522

SHIMADZU
Excellence in Science

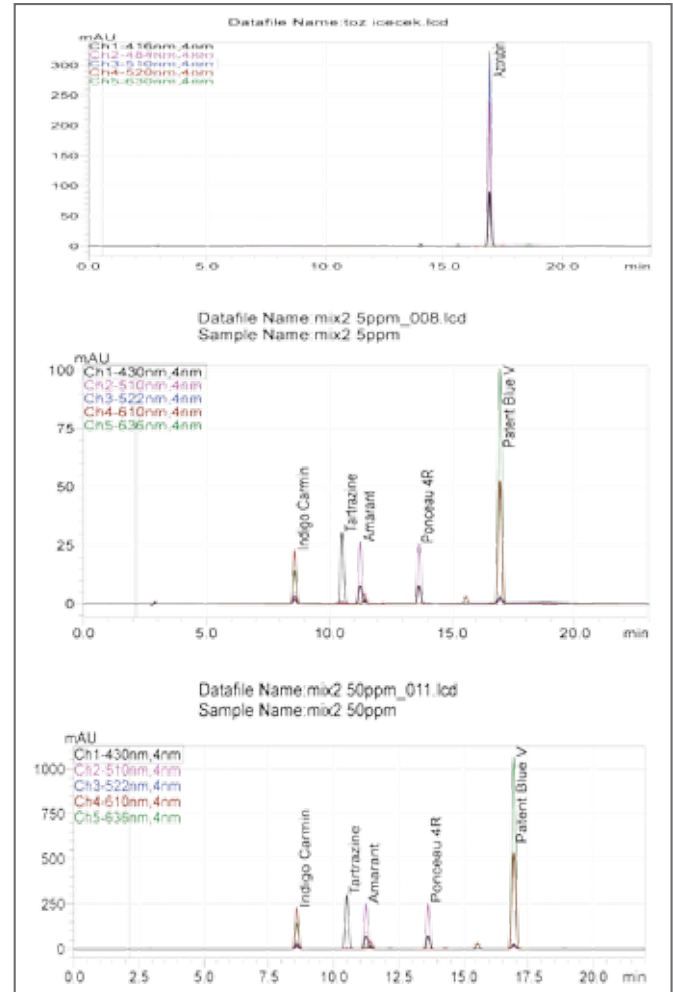
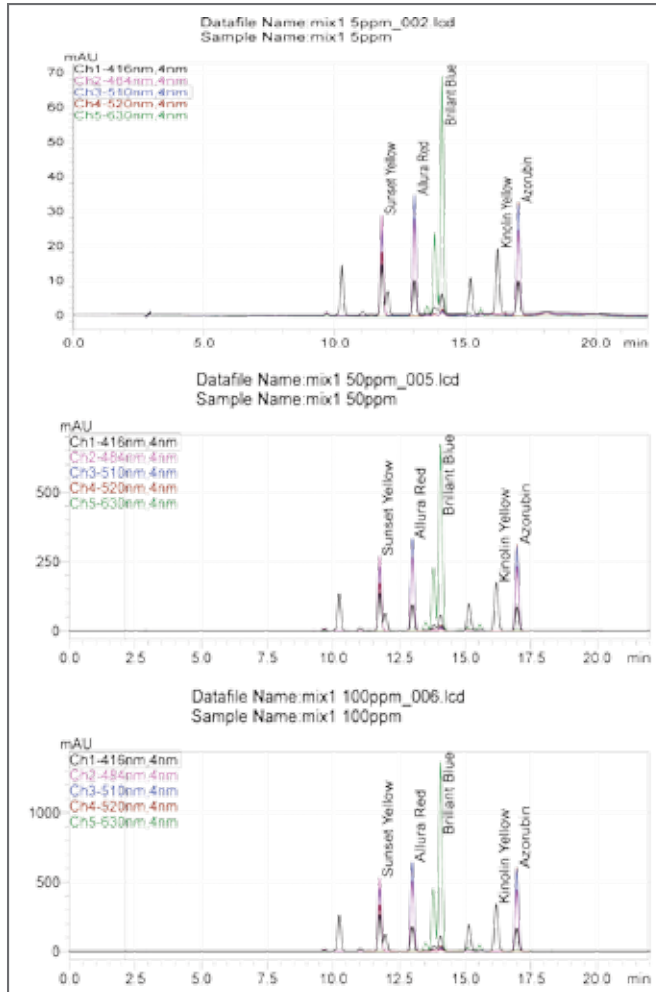
- **Eluent I:** Metanol + Amonyak (95-5)

Standartlar ve Hazırlanışları:

Ana Stok Çözeltisi (1000ppm): 0.1 g standart tartılarak 100 ml'lik balon joje içinde içerisinde ultra safsu ile tamamlanır.

Çalışma Standartları: Her bir boya standardının ana stok çözeltilerinden

SHIMADZU LC-20A Prominence HPLC Sistemi	
ANALİTİK KOŞULLAR	
Mobil Faz A	MEOH / TBA-FB I (3/1)
Mobil Faz B	Ultra Saf Su / TBA-FB I (3/1)
Kolon	Inertsil ODS-2 (5µm, 250 x 4.6 mm I.D.)
Akış Hızı	1.0 mL/min
Kolon Fırın Sıcaklığı	45°C
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Dedektör	PDA
Gradient Programı	
Zaman (dk)	% B konsantrasyonu
0.01	50
15.00	5
20.00	50



seyreltilerek mix olarak 100ppm, 50ppm, 25ppm, 10ppm, 5ppm, 2.5ppm, 1ppm ve 0.5ppm hazırlanır.

Numune hazırlama yöntemleri:

Numuneler, ilgili ürün gruplarına uygun olarak seyreltme, karıştırma, santrifüjleme ve şırınga ucu filtre ile süzme gibi işlemlere tabi tutularak, Ekstraksiyon (SPE) işlemi için hazır hale getirilir.

» C18 kartuştan önce 2 ml metanol, ardından 5ml TBA-FB II damla/sn olacak şekilde geçirilerek kartuş şartlandırılır.

» Çözdürülmüş 15 ml'lik süzütünün tamamı kartuştan damla/sn olacak şekilde geçirilir.

» kartuş 10 ml TBA-FB II ile yıkanır.

» Boya 2ml metanol ile 15 ml 'lik tüpe alınır ve saf su ile 5 ml'e tamamlanır.

» Karıştırılan tüpten 1ml lik kısım HPLC vialine alınarak cihaza verilir.

Kaynakça
NMKL-130

Boya Etken Maddeleri için Teşhis/Tayin Limitleri (ppm)

Compound Name	S/N	Detection Limit	Quantitation Limit
Kinolin Yellow	10.02	1.61	4.88
Sunset Yellow	19.57	0.82	2.50
Allura Red	19.70	0.81	2.47
Azorubin	19.24	0.82	2.48
Brillant Blue	391.32	0.04	0.13
Tartrazine	82.02	0.21	0.65
Ponceau 4R	47.71	0.36	1.09
Amarant	44.93	0.39	1.17
Indigo Carmin	19.72	0.85	2.59
Patent Blue V	266.35	0.06	0.19