

# LCMSMS ile kabuklu deniz canlılarında biyotoksin analizi

**KİMYA MÜH. FATİH ŞENOL**

Ant Teknik Cihazlar

İzmir Bölge Aplikasyon Mühendisi

**D**ünyanın birçok ülkesinde istiridye, midye ve karides gibi kabuklu su ürünleri üretim ve tüketiminde biyotoksin konusu büyük önem arz eder. Biyotoksin sorunu bir deniz ortamında bazı planktonların çok üremesi sonucu ortaya çıkar. Bu planktonları tüketen kabuklu su ürünleri herhangi bir zarar görmezler. Fakat bu canlıları tüketen insanlarda ölüme kadar varan rahatsızlıklar ortaya çıkabilir.

Yüksek miktarda Biyotoksin içeren ürünlerde Paralitik (felç) zehirlenme meydana gelmektedir. Paralitik zehirlenmede belirtiler, tüketimden sonra 30 dakika içinde başlar. Ağız, dudak ve dilde yanma, hissizleşme ve sızı ilk belirtilerdir. Daha sonra bu durum el ve ayak parmaklarına yayılır, konuşma zorluğu, ses kısıklığı görülür. Bazı durumlarda konuşma kaybı (aphasia) olur. Çok miktarda zehir alanlarda, semptomlar yemekten 5-30 dakika sonra ortaya çıkıp, 4-6 saat içinde başı kımıldatamayacak bir duruma sokar. Şiddetli durumlarda solunumdaki güçlük ve kalp damarlarındaki kasılma yüzünden 12 saat içinde ölüm görülmektedir. Zehirlenmenin özel bir tedavisi yoktur. Bu tip zehirlenmelerde, mutlaka suni solunum yapılmalı ve hasta kusturularak mide boşaltılmalıdır.

Aynı zamanda uluslararası ticaretin gelişmesi ile ticari olarak toplanan kabuklu deniz ürünleri dünyanın pek çok yerine ulaştığından, bu toksin kaynaklı gıda zehirlenmeleri probleminde gerekli önemin gösterilmemesi halinde yaygınlaşabilmektedir hatta ihracat ve ithalat göz önünde bulundurulduğunda ciddi mali kayıplar da meydana gelebilmektedir. Kaldı ki; 1994 yılında İspanyol yetkililer Türk çift kabuklularında diya-



**FATİH ŞENOL:**  
Biyotoksin zehirlenmesinin önlenmesinde, toksik alglerin bulunduğu bölgelerin bilinmesi ve avlanma zamanlarının önceden saptanması etkili olabilmektedir.

retik kabuklu zehirlenmesine neden olan deniz biyotoksinleri belirlemişler ve bunun sonucunda Türkiye'den ithalata AB çapında bir yasak uygulanmış ve Türkiye'nin ihracat gelirlerinde 10 milyon \$ kaybı olmuştur. Yasak, ancak AB tarafının yaptırımını ile bağlantılı olarak kalite kontrol sisteminin yeniden düzenlenmesi sonucu kaldırılmıştır.

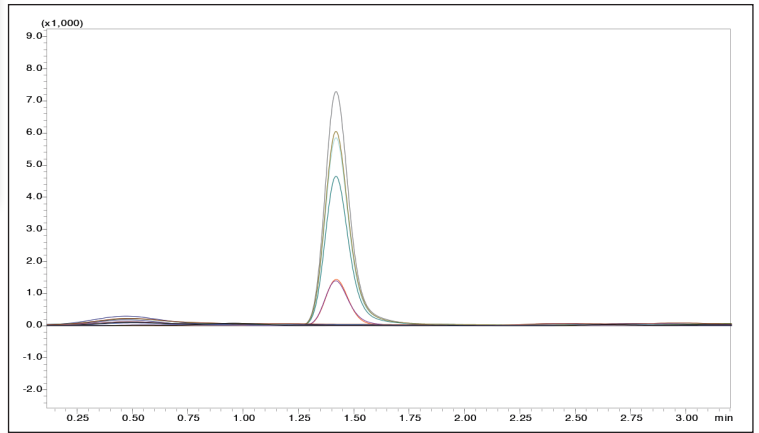
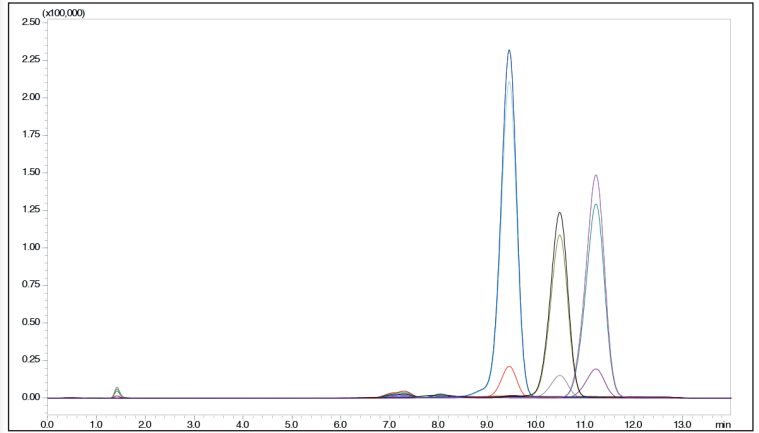
Biyotoksin zehirlenmesinin önlenmesinde, toksik alglerin bulunduğu bölgelerin bilinmesi ve avlanma zamanlarının önceden saptanması etkili olabilmektedir. Deniz ve tatlı sulardan sağlanan pek çok su ürünü, insan beslenmesi için mükemmel bir vitamin ve mineral kaynağıdır. Protein kaynakları içerisinde sindirilme derecesi yüksek olan su ürünleri diğer yüksek proteinli besinlerle karşılaştırıldığında yağ oranı bakımından oldukça düşüktür. Ayrıca, su ürünleri sağlığa yararı kanıtlanan n-3 serisi çok doymamış uzun zincirli yağ asitlerinin tek kaynağıdır. Bu ürünlerin bazılarında mikrobiyal toksinlerin bulunabileceği, gerek tüketim ve gerekse de ekonomik bakımdan önemli bir problemi oluşturmaktadır. Bu zehirlenmelerin önlenmesi için avlanan su ürünlerinin mikrobiyal kontaminasyonlarının engellenmesi ve muhafaza koşullarının iyileştirilmesi gerekmektedir. Avlanan su ürünleri taze tüketilecekse en kısa sürede soğuk hava depolarına alınmalı ve buzla muhafaza edilmelidir. İşlenecek su ürünleri ise yüksek kaliteli ürün eldesi için en kısa sürede işleme tesislerine ulaştırılmalı ve hijyenik koşullar altında işlenmelidir.

## **METOD VE MATERYALLER:**

Bu çalışmamızda kabuklu deniz ürünlerinde biyotoksinlerin yapısal tayini ile birlikte miktar tayinleri basit, hızlı ve güvenilir bir analiz metodu olan LCMSMS ile tespit edilmiştir. Uygulama Shimadzu LCMS-8040 Triple Quadrupole LCMSMS sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Madde Listesi ve MRM çiftleri:**

Bileşik	Polarite	Q1	Q3
OA	NEG	803,5	255
<b>OA</b>	<b>NEG</b>	<b>803,5</b>	<b>113</b>
DTX-2	NEG	803,5	255
<b>DTX-2</b>	<b>NEG</b>	<b>803,5</b>	<b>113</b>
DTX-1	NEG	817,5	255
<b>DTX-1</b>	<b>NEG</b>	<b>817,5</b>	<b>113</b>
YTX	NEG	1142	1062
<b>YTX</b>	<b>NEG</b>	<b>1142</b>	<b>855,5</b>
HomoYTX	NEG	1156	1076
<b>HomoYTX</b>	<b>NEG</b>	<b>1156</b>	<b>869,5</b>
AZA-1	POS	842,5	824,5
<b>AZA-1</b>	<b>POS</b>	<b>842,5</b>	<b>806,5</b>
AZA-2	POS	856,5	838,5
<b>AZA-2</b>	<b>POS</b>	<b>856,5</b>	<b>820,5</b>
AZA-3	POS	828,5	810,5
<b>AZA-3</b>	<b>POS</b>	<b>828,5</b>	<b>792,5</b>

**NUMUNE HAZIRLAMA:**

2 g örnek tartılır. 20 mL MeOH ilave edilir. 2000 rpm'de ve 20 C'de santrifüjlendikten sonra üst faz sıringa ucu filtreden geçirilerek cihaza enjeksiyon yapılır.

**ANALİTİK KOŞULLAR:**

Cihaz: LCMS-8040

HPLC Sistemi: Shimadzu Prominence

LC-20A/XR

Kolon: Inertsil ODS-4 (2.1 mm I.D. x 100 mm L., 3 µm)

Mobil Faz A: 5 mM amonyum format + %0.2 formik asit %100 suda

Mobil Faz B: 5 mM amonyum format + %0.2 formik asit %100 ACN'de

Akış Oranı: 0.3 mL/dk (Gradient program)

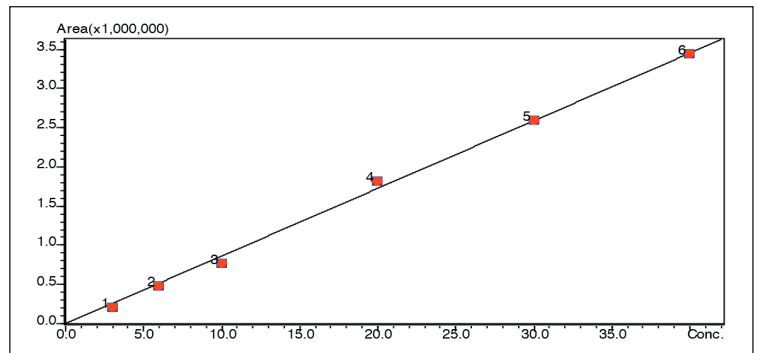
Kolon Fırın Sıcaklığı: 40 °C

Interface Current: 4.5 kV

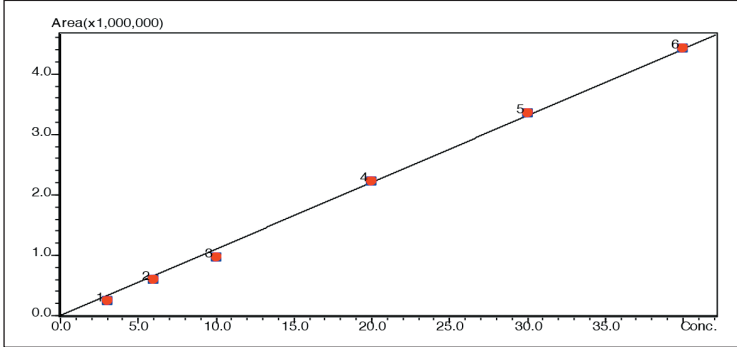
**KROMATOGRAMLAR:**

10 ppb standart mix çözeltisi kromatogramı

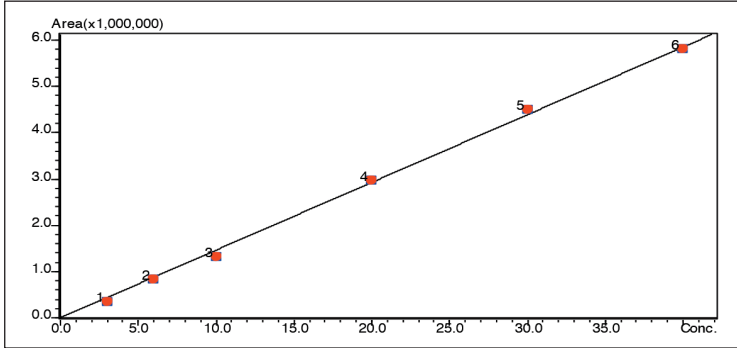
AZA-1  $r^2=0.998$

**KALİBRASYON EĞRİLERİ:**

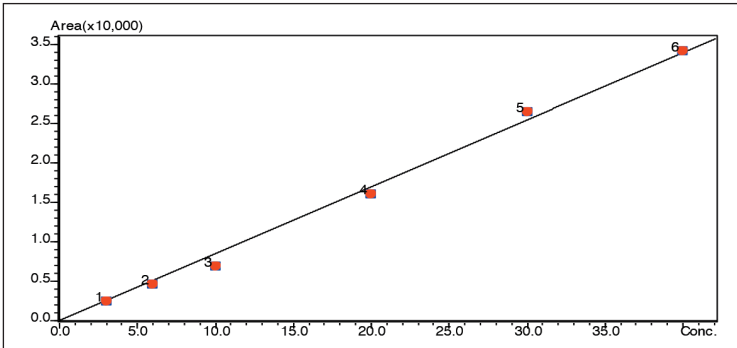
AZA-2  $r^2=0.999$



AZA-3  $r^2=0.998$



DTX-1  $r^2=0.996$



### ANT TEKNİK HAKKINDA

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 çalışan 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, Jeio-Tech, Rudolph Research, Fungilab ve Hitachi gibi firmaların Türkiye temsilcisi olan Ant Teknik; ayrıca Restek, GLSciences, Hellma, PSS ve AccuStandard gibi dünyaca tanınan üreticilerden kromatografi ve spektroskopi sarf malzemeleri de tedarik ediyor.

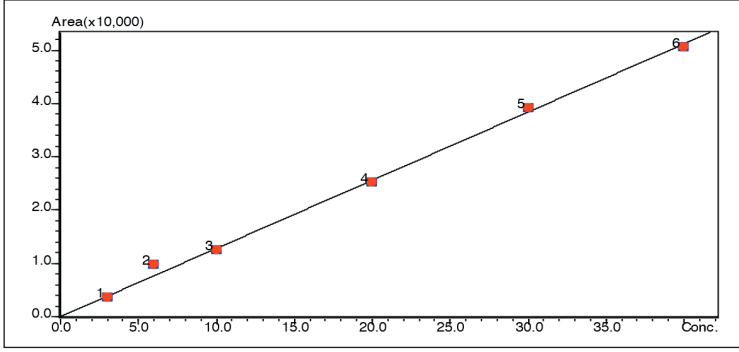
Firmanın ürünleri ve hizmetleri ile ilgili daha ayrıntılı bilgi için [www.antteknik.com](http://www.antteknik.com) adresini ziyaret edebilirsiniz.

### REFERANSLAR

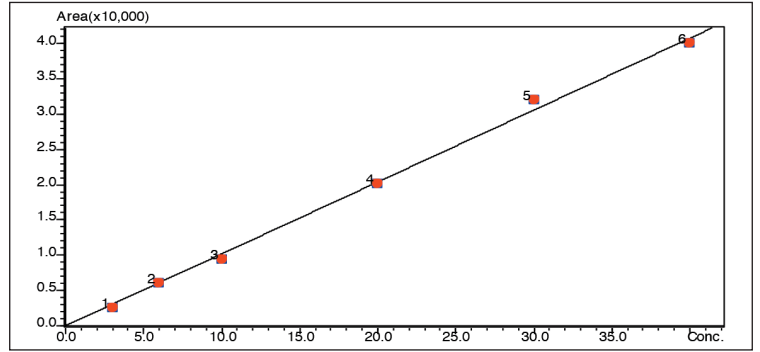
1. Ant Teknik - Shimadzu Uygulama Notu M009



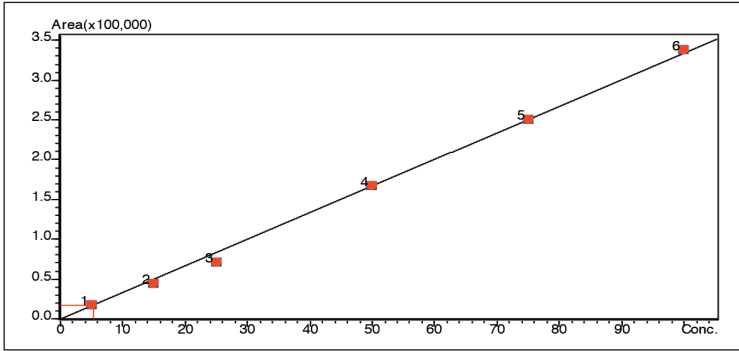
DTX-2  $r^2=0.997$



OA-C  $r^2=0.997$



homoYTX  $r^2=0.999$



YTX  $r^2=0.998$

