

# UYGULAMA NOTU

Sıvı Kromatografi TripleQ Spektrometre

M009

## LCMSMS ile Kabuklu Deniz Canlılarında Biyotoksin Analizi

### HAZIRLAYAN

Kim. Müh. Fatih ŞENOL  
Ant Teknik Cihazlar Ltd. Şti.

## **KONU:**

Kabuklu deniz canlılarında Biyotoksin analizi.

## **ÇALIŞMANIN AMACI:**

Dünyanın bir çok 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 dk 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 dk 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 yaptırılmalı 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 problemine gerekli özenin 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 diyaretik 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 Shimadzu LCMS-8040 Triple Quadrupole sistemiyle kabuklu deniz ürünlerinde biyotoksinlerin yapısal tayini ile birlikte miktar tayinleri basit, hızlı ve güvenilir bir metot ile tespit edilmiştir.



**UFMS**  
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY

**NUMUNE HAZIRLAMA:**

2 g örnek tartılır. 20 mL MeOH ilave edilir. 2000 rpm 'de ve 20 C 'de santrifüjlendikten sonra üst faz şırınga 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. × 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
Spreyleme Gazı Akış Hızı	: 3 mL/dk
Kurutma Gazı Akış Hızı	: 15 mL/dk
DL Sıcaklığı	: 250 °C
HB Sıcaklığı	: 450 °C

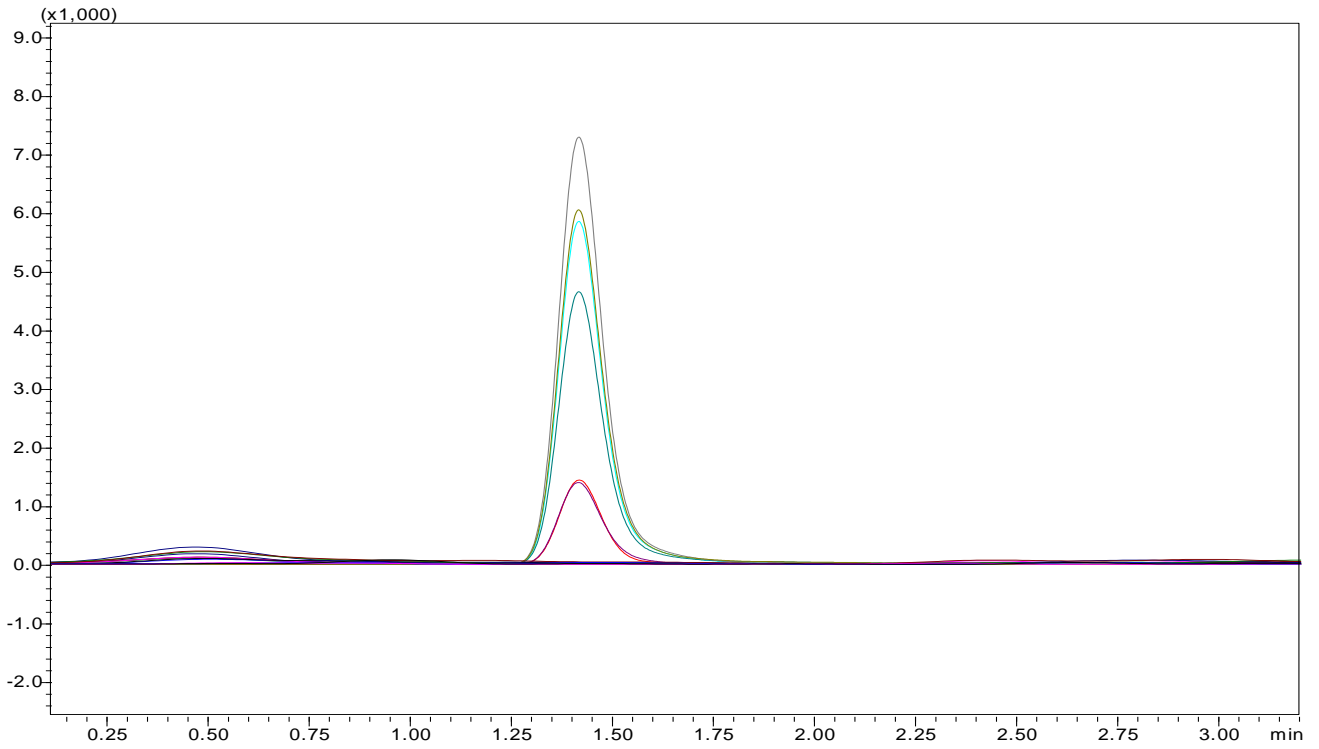
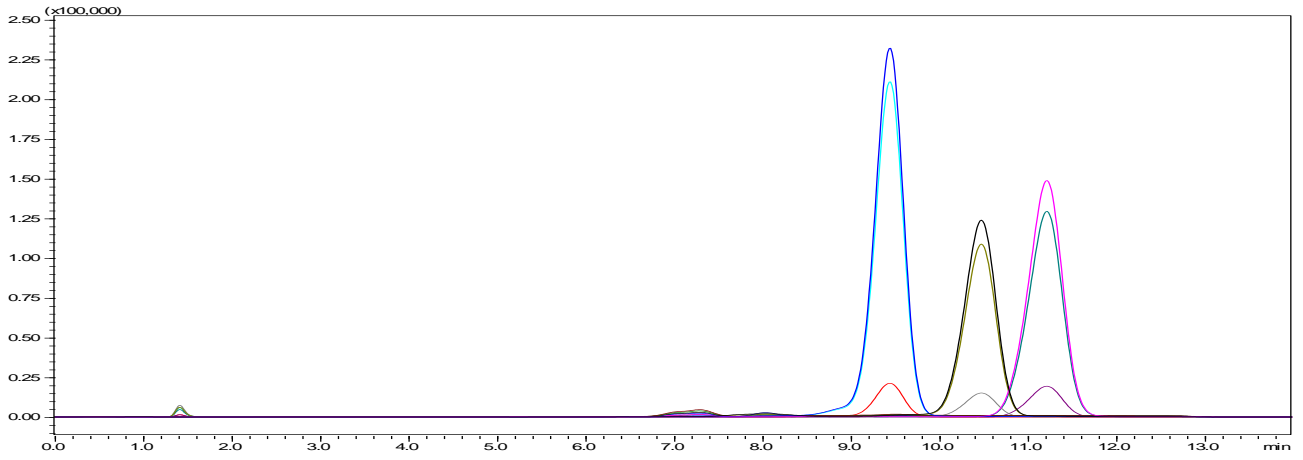
---

**Madde Listesi ve MRM çiftleri:**

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

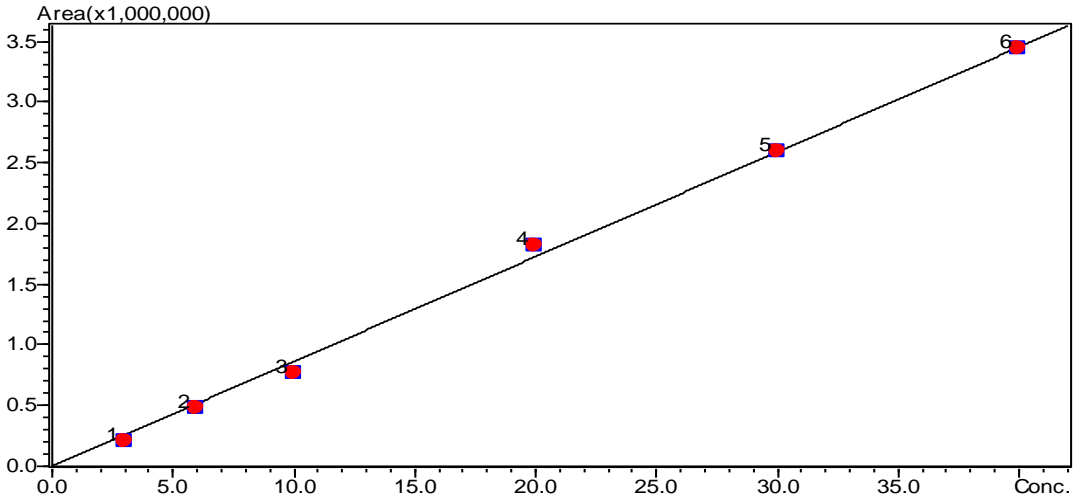
## Kromatogramlar:

### 10 ppb standart mix çözeltisi kromatogramı

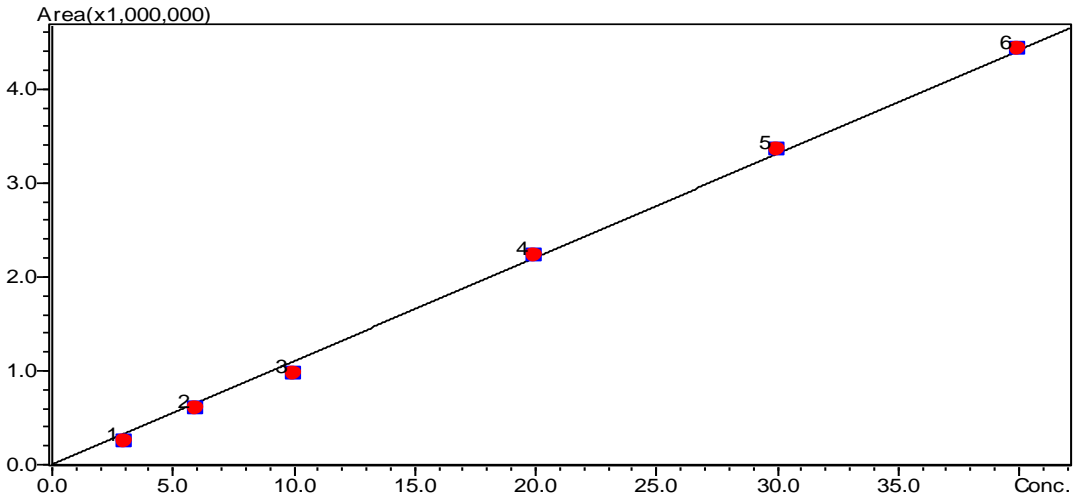


**Kalibrasyon Eğrileri:**

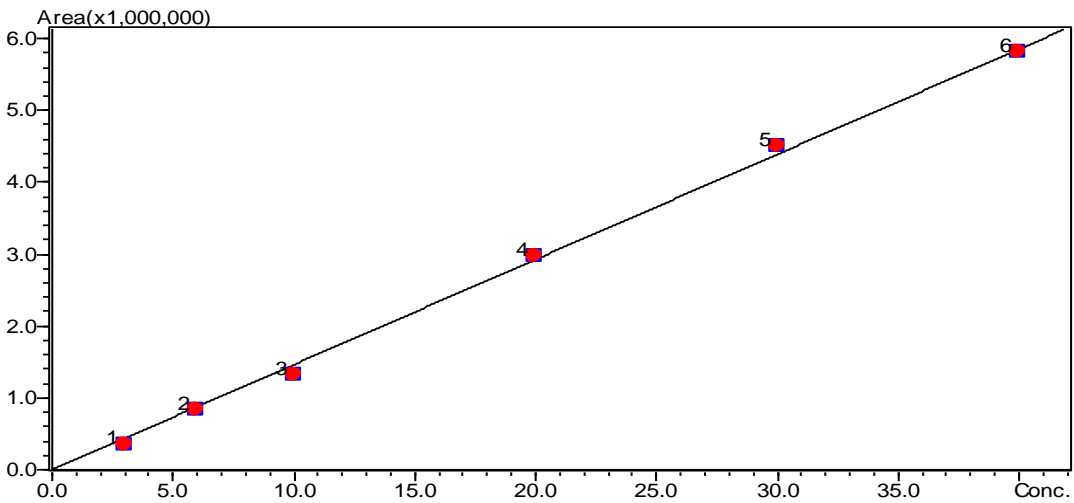
AZA-1  $r^2=0.998$



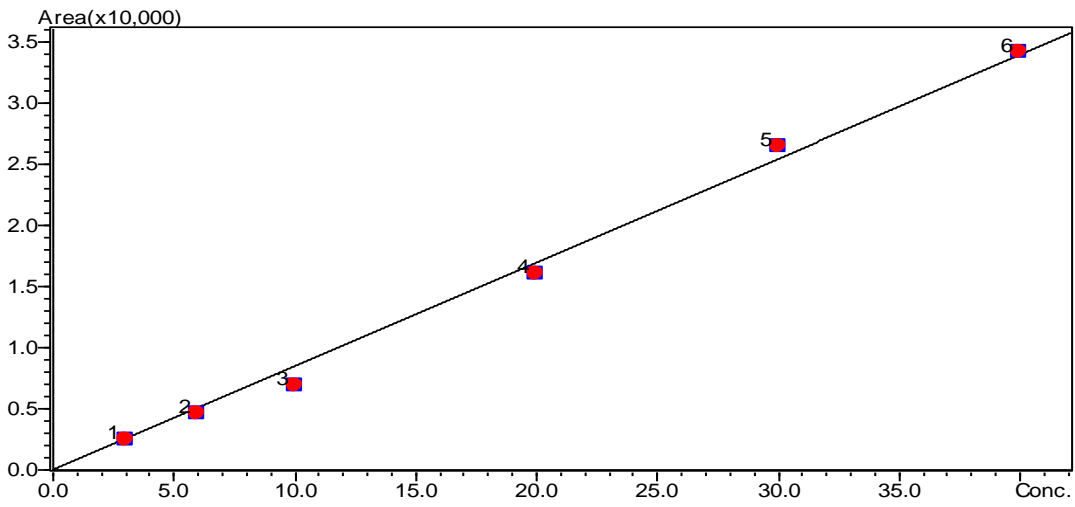
AZA-2  $r^2=0.999$



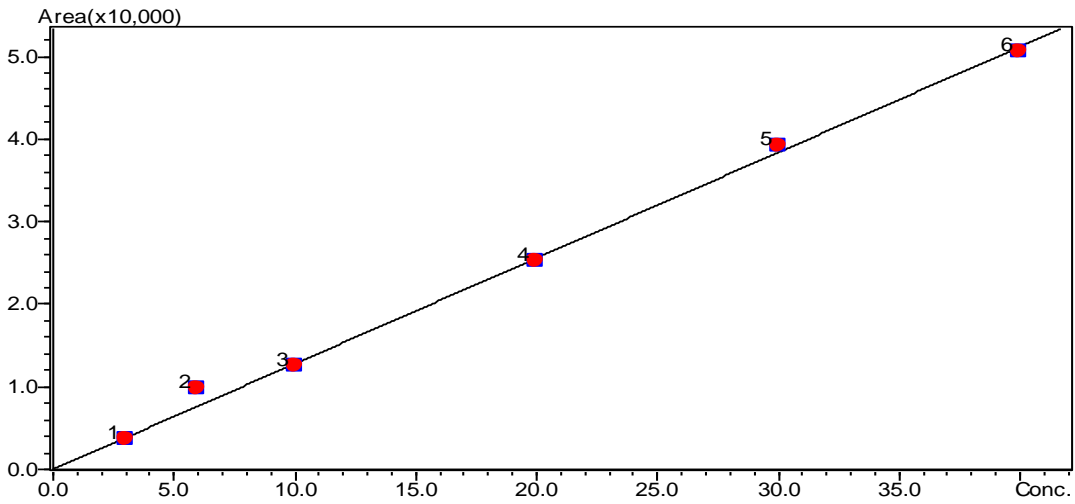
AZA-3  $r^2=0.998$



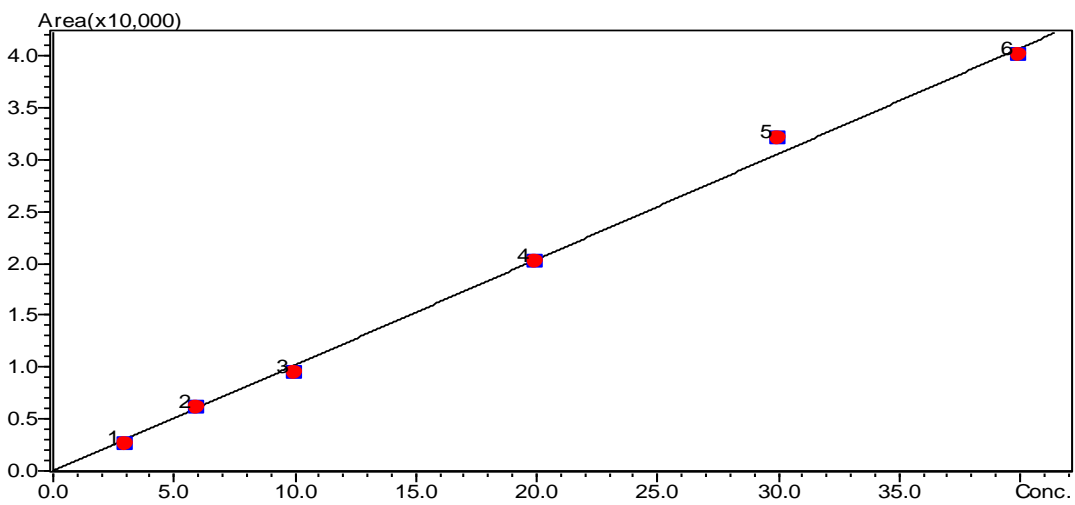
DTX-1  $r^2=0.996$



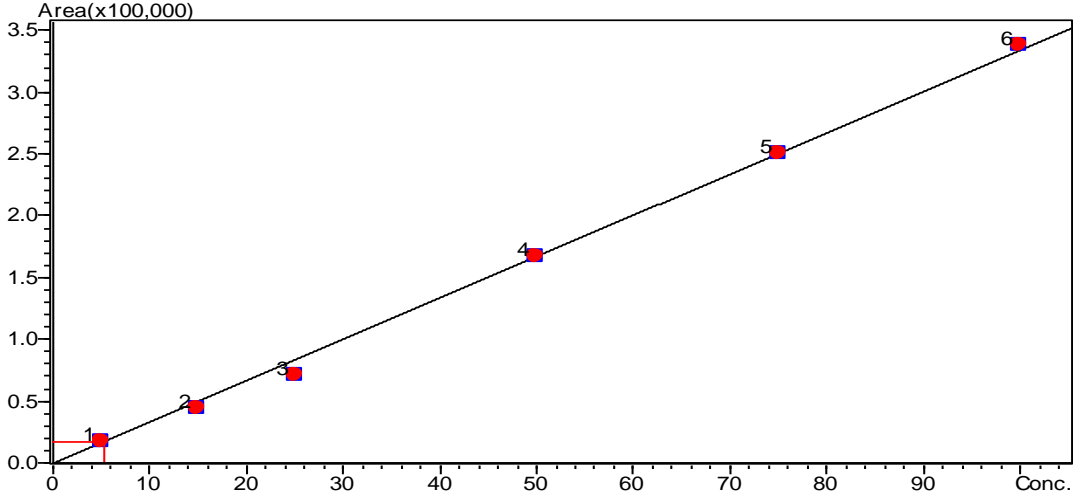
DTX-2  $r^2=0.997$



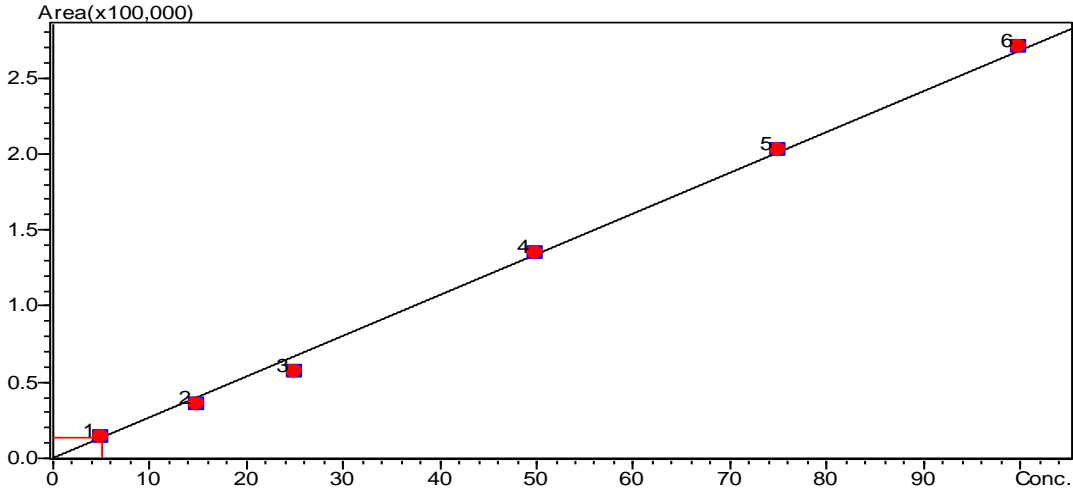
OA-C  $r^2=0.997$



homoYTX  $r^2=0.999$



YTX  $r^2=0.998$



Çalışmalarımız **BORNOVA VETERİNER KONTROL ve ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**'nde gerçekleştirilmiştir.

Desteklerinden dolayı kendilerine teşekkürlerimizi sunarız.

Bu Aplikasyon Notu uygulamanın gerçekleştirildiği tarihe ait bilgiler ışığında oluşturulmuştur.  
Bu yayında yer alan bilgilerin referans gösterilerek başka bir yerde kullanılması Ant Teknik'in iznine tabidir.  
Aplikasyon Notu Ant Teknik tarafından önceden bildirilmeksizin değiştirilebilir.