

# UYGULAMA NOTU

Sıvı Kromatografi Kütle Spektrometre

M016

## LCMSMS ile Gıdalarda Multitoksin Analizi

HAZIRLAYAN

Dr. Engin BAYRAM  
Ant Teknik Cihazlar Ltd. Şti.

## **KONU:**

İnsanlar ve hayvanlar için yüksek toksisiteye sahip olabilen mikotoksinler, gıda üretiminin bütün basamaklarında, üretim sonrası depolama aşamasında ortaya çıkabilir ve bunun da ekonomi, gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından oldukça kritik sonuçları olabilir.

Mikotoksinleri üreten küf mantarlarının, çoğunlukla ilgili gıdaya özel olması, immünoafinite kromatografisi (numune hazırlık) - HPLC metodlarının, mikotoksinlerin birçoğunun (özellikle de aflatoksinlerin) analizlerinde, halihazırda en yaygın olarak kullanılan teknikler olması sonucunu doğurmuştur.

Eğer analizde, tekil bir gıda grubu hedefleniyorsa (sadece fındık, buğday, bebek devam sütü vb.) bahsedilen teknikler rahatlıkla tercih edilebilirler ancak konu kompleks gıdalara geldiğinde (bebek maması, tıbbi amaçlı bebek diyet ürünleri, kakaolu fındık kreması vb.) durum karmaşık bir hal alacaktır.

Bu tür gıdalar, birer karışım olduğundan ve içerdikleri bitkisel/hayvansal gıdaların kaynakları da farklı olduğundan birer mikotoksin kokteyli olabilirler ve her bir mikotoksin grubunun analizi de ayrı bir numune hazırlık aşaması demektir.

Özetle kompleks gıda maddesi ile karşılaşıldığında analiz süresi uzayacak ve analiz maliyeti artacaktır.

LC-MSMS yöntemi kullanılarak multi-bileşen içeren kompleks bir gıda maddesinin analizini, numune hazırlığı tek metoda indirgeyerek, tek enjeksiyon ile gerçekleştirmek mümkündür.

## **ÇALIŞMANIN AMACI:**

LC-MSMS yöntemi kullanılarak multi-bileşen içeren kompleks bir gıda maddesinin analizini, numune hazırlığı tek metoda indirgeyerek, tek enjeksiyon ile gerçekleştirmek mümkündür.

## **METOD ve MATERYALLER:**

Numune hazırlık: Sertifikalı analit standartları, metanol ile seyreltilerek korelasyon eğrisi için gerekli standard karışımlar hazırlanmıştır.

Gerçek numuneler: 5g numune tartılarak üzerine 40mL asetronitril (0.2%(v/v) asetik asit içeren) eklenir, 25 dakika çalkalanır, santrifüj edilir ve 0,22µm'lik şırınga ucu filtreden süzülerek sisteme enjekte edilir.



## ANALİTİK KOŞULLAR:

### MS Koşulları;

---

Cihaz : Shimadzu  
Model :LCMS-8040 TQ  
Block Heater Temp : 500 °C  
DL Temp : 250°C  
Nebulizing Gas : 3.0 L/min  
Drying Gas : 15L/min  
Source/Polarity : ESI(+)

---

### MRM Transitions

ID#	Name	m/z	Ref. Ions
1	DON	297,10>249,10	297,10>231,10
2	AFG2	331,00>245,00	331,00>284,90
3	AFG1	329,00>243,00	329,00>200,00
4	AFB2	315,20>258,90	315,20>287,00
5	AFB1	313,20>285,00	313,20>241,00
6	FB1	722,40>334,20	722,40>352,30
7	HT2Toxin	442,20>263,00	442,20>215,00
8	FB2	706,40>336,20	706,40>318,30
9	T2Toxin	484,20>215,00	484,20>185,00
10	Citrinin	251,20>233,00	251,20>205,00
11	ZON	317,00>130,70	317,00>174,50
12	OTA	404,20>238,90	404,20>358,10

### LC Koşulları;

---

Cihaz :UPLC  
Model :Shimadzu Nexera X-II  
Kolon :Shimpack XR-ODS-II (2.2um, 75x3.0mm)  
Mobil Phase A :Water (2mM Ammonium Formate, 0.2% Formic Acid)  
Mobil Phase B :Methanol (2mM Ammonium Formate, 0.2% Formic Acid)  
Akış :0.4 ml/min (Gradient Program)  
Enjeksiyon Hacmi 10 uL

---

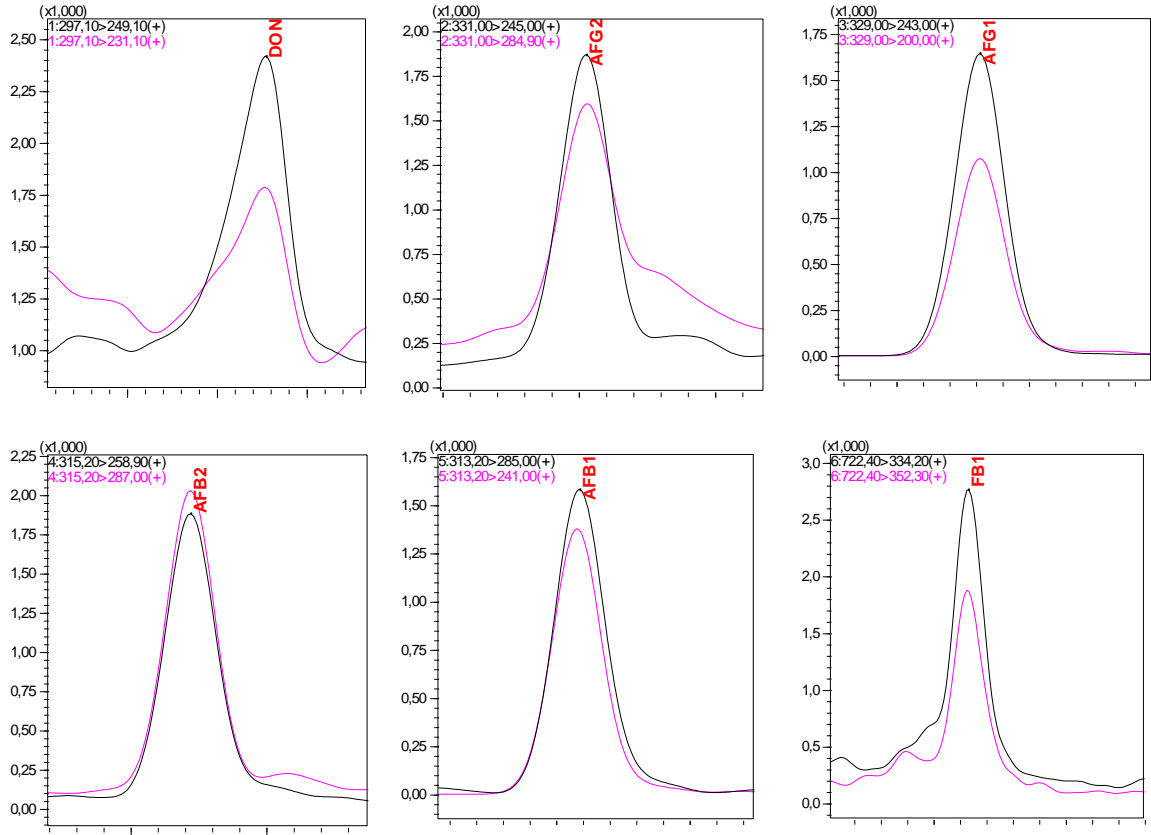
## Değerlendirmeler :

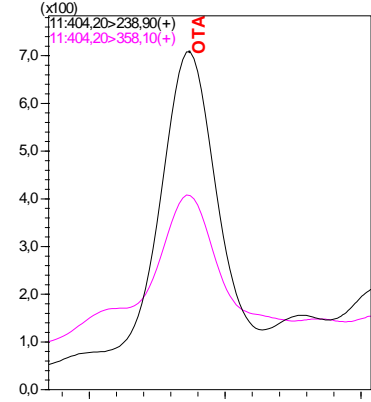
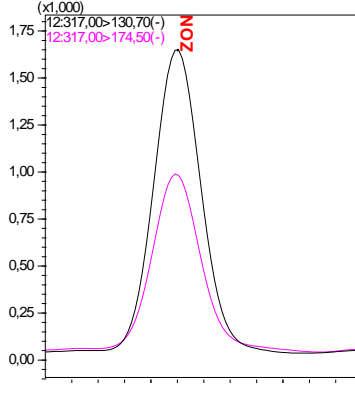
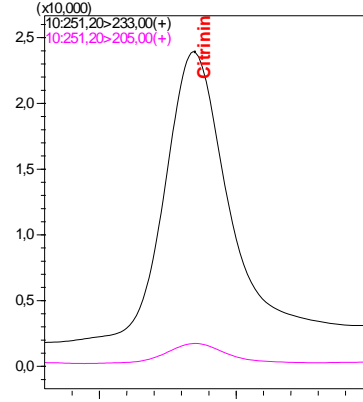
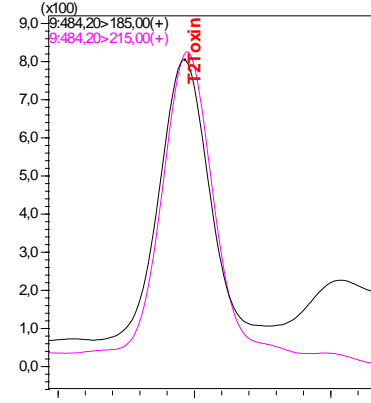
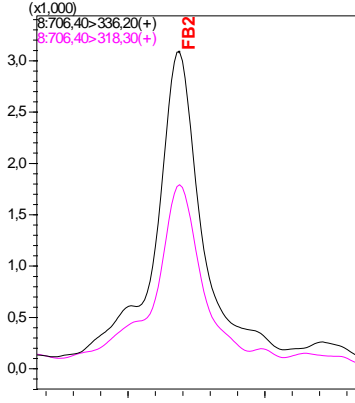
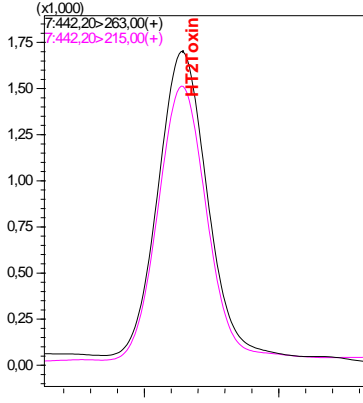
13 adet mikotoksin simultane olarak tayin edilmiştir. LOQ seviyesinde hazırlanan kalibrasyon standartlarına ait derişim ve S/N değerleri aşağıda özetlenmiştir.

Mikotoksin	Conc.(ug/L)	S/N
Deoxynivalenol (DON)	2	15,36
Aflatoxin G2 (AFG2)	0,02	13,76
Aflatoxin G1 (AFG1)	0,02	197,77
Aflatoxin B2 (AFB2)	0,02	12,9
Aflatoxin B1 (AFB1)	0,02	33,31
FumonisinB1 (FB1)	3	12,24
HT2 Toxin	1	58,59
FumonisinB2 (FB2)	3	12,79
T2 Toxin	0,1	14,31
Citrinin	1	24,33
Zearalenon (ZON)	1	21,8
Ochratoxin A (OTA)	0,02	11,2
Aflatoxin M1 (AFM1)	0,02	10,48

## Kromatogramlar

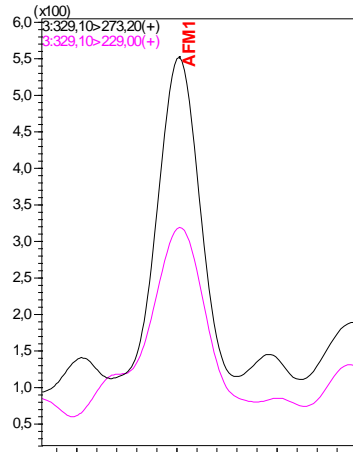
### Kalibrasyon Çözeltisi (Kantitatif Kromatogramlar)





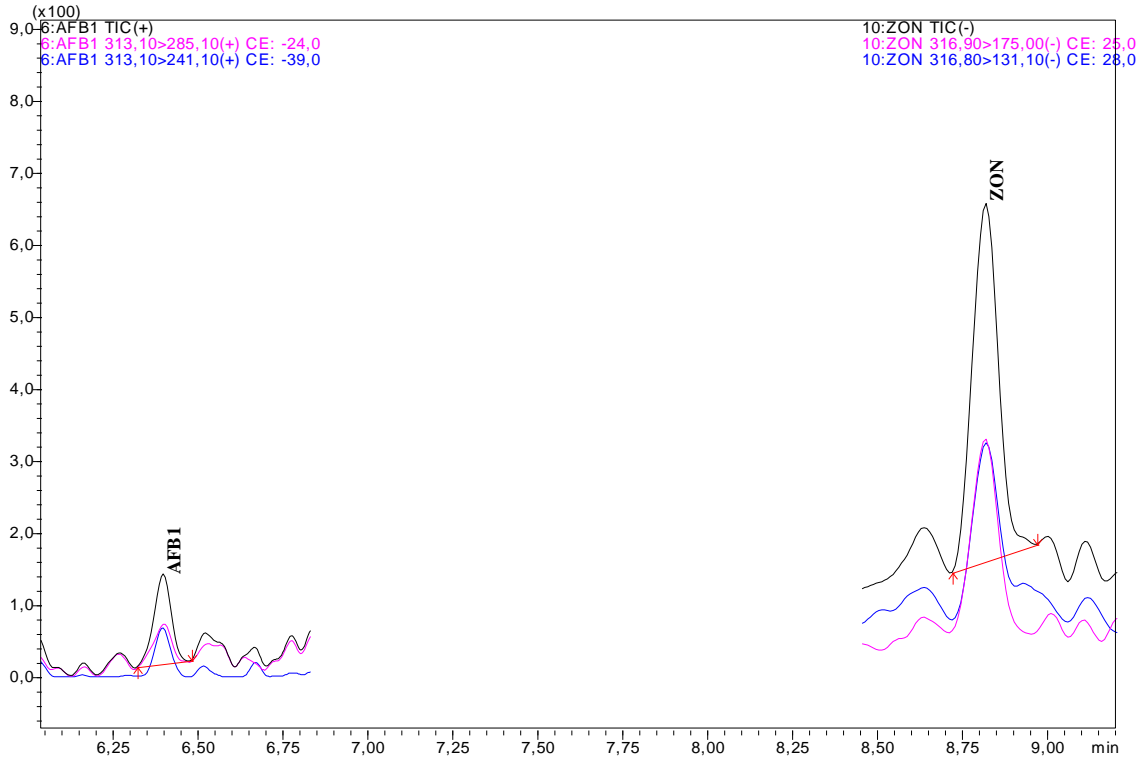
MT	DON	AFG2	AFG1	AFB2	AFB1	FB1	HT2Toxin	FB2	T2Toxin	Citrinin	ZON	OTA
	4	0,1	0,1	0,1	0,1	6	2	6	0,2	2	2	0,1

### Kalibrasyon Çözeltisi (Kantitatif Kromatogramlar-Devam)



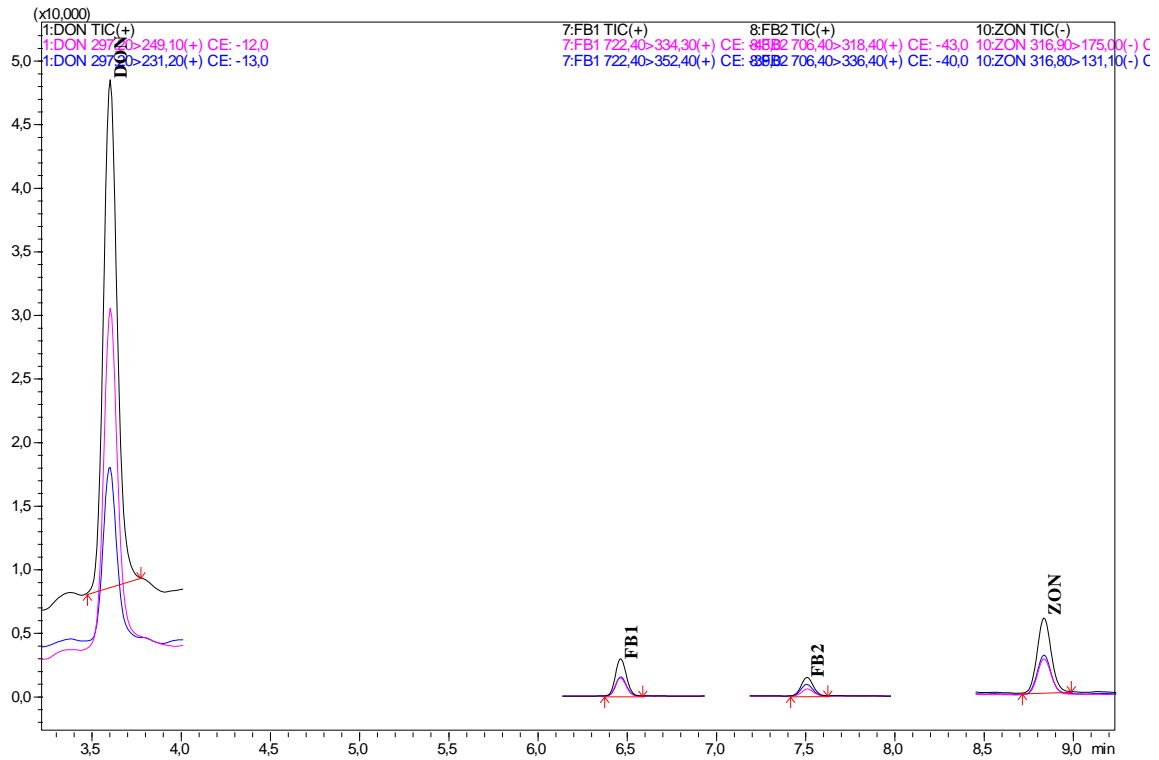
MT	AFM1
	0,05

**Kakaolu Fındık Ezmesi Numunesi Kromatogramı (TIC-Scheduled MRM )**



Name	AFB1	ZON
Conc.(ug/kg)	0,155	1,352

**Mısır Numunesi Kromatogramı (TIC-Scheduled MRM)**



Name	DON	FB1	FB2	ZON
Conc. (ug/kg)	735,185	41,137	14,46	53,578

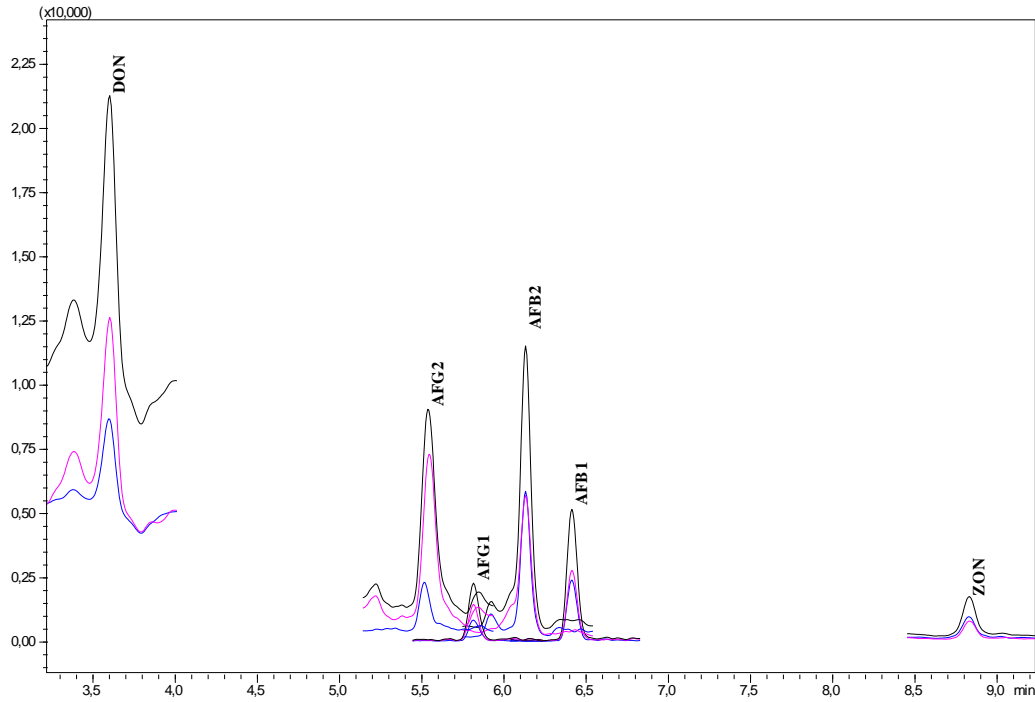
## SONUÇLAR ve GÖRÜŞLER

Ekstraksiyon çözeltisi olarak metanol ve asetonitril denenmiş asetonitrilde geri kazanımın daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

Ekstraksiyon amacıyla orbital shaker yerine programlanabilir rotator kullanılmasının yine geri kazanım sonuçlarını iyileştirdiği gözlenmiştir.

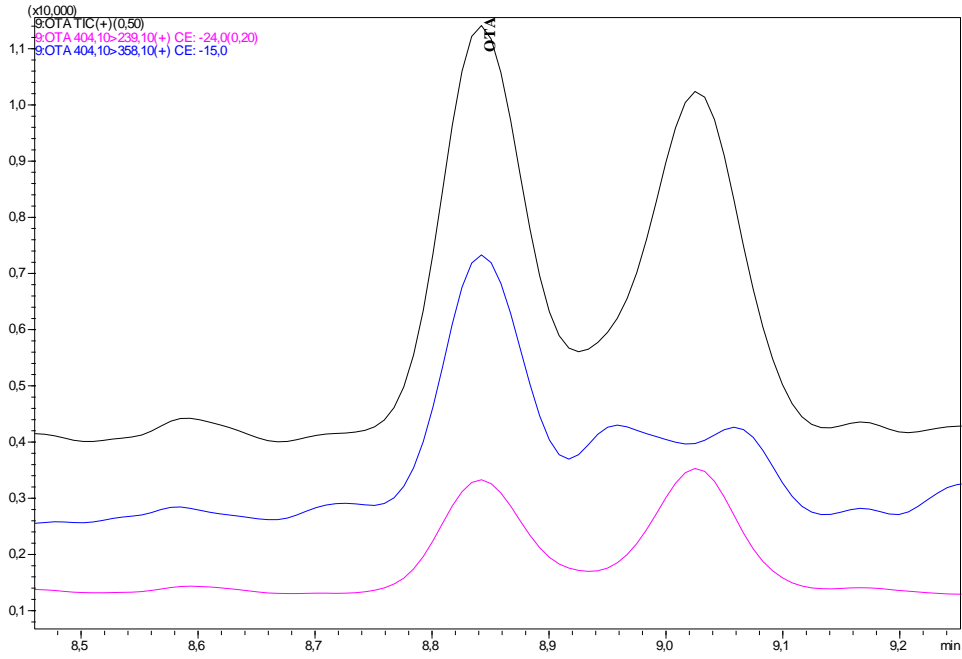
Metod optimizasyonu ardından, dış kalite kontrol numuneleri analiz edilerek bulunan sonuçlar, gerçek sonuçlar ile karşılaştırılmış ve analizlerin oldukça yüksek doğrulukta sonuçlandığı gözlenmiştir.

### Dış Kalite Kontrol/FAPAS (Yem Numunesi-TIC-Scheduled MRM )



Name	DON	AFG2	AFG1	AFB2	AFB1	ZON
Conc.	185,027	10,197	1,814	3,232	3,877	11,854

## Dış Kalite Kontrol/FAPAS (Un Numunesi-TIC-Scheduled MRM )



Name	OTA
Conc.(ug/kg)	7,713

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.