



Gıdalarda Kimyasal Kalıntılar ve Analiz Metotları

Yusuf DOĞAN¹, Feride KOÇ²

¹Kayseri Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji ABD, Kayseri-TÜRKİYE

Özet: Hem hayvanlarda hem de bitkilerde kullanılan ilaç ve kimyasallar besin zincirine girerek birikim yapmaktadırlar. Hayvansal kökenli gıdalardaki bu ilaç ve pestisit kalıntıları, canlı sağlığı ve ülke ekonomisi açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle kimyasal kalıntının analizi önem arz etmektedir. Bu derlemede, gıdalardaki kimyasal kaynaklı kalıntılardan olan veteriner ilaç kalıntıları, pestisitler gibi çevresel kirleticilerin kalıntıları ve kalıntı analiz metotları hakkında bilgi verilecektir.

Anahtar kelimeler: Analiz, gıda, kalıntı, kimyasal, metot

Chemical Residues and Analysis Methods in Foods

Summary: Used drug and chemicals in both animals and plants areas have entered and accumulated to food chain. These drug and pesticide residues in animal origin food cause risk in live health and economic of country. Therefore, it is important to analyze the chemical residue. In this review, chemical residues of veterinary drug residues in foods that are sourced from the residue of environmental pollutants such as pesticides and will be given information about the methods of analysis.

Key words: Analysis, chemical, food, method, residue

Giriş

Veteriner hekimlik ya da zirai mücadele amacıyla kullanılan ilaç ve kimyasal maddelerin çoğu, uygulandıkları hayvan ya da bitkilerin yapısında kısmen parçalanarak etkisiz hale gelirken, özellikle pestisit ya da çevresel kirletici olarak bilinen maddeler son derece yavaş ayrışmaları nedeniyle, giderek artan miktarlarda birikerek gıda zincirine girerler. İnsanlara kadar ulaşarak halk sağlığı ve diğer canlılar içinde risk faktörü oluşturlar (5,31). Kalıntı olarak adlandırılan bu maddeler aslında, dokuları ya da ürünleri gıda olarak tüketilebilen hayvanlarda, hastalıklardan korunmak, tedavi etmek ve gelişmenin hızlandırılması amacıyla kullanılan pek çok ilaç, hormon, vitamin ve mineral maddelerin hayvanlara uygulandıktan sonra vücutlarında biriken serbest ya da bağlı haldeki değişmemiş ana madde ve metabolitleridir (18). Bu terim; pestisitleri ve toksikolojik açıdan öneme sahip tüm çevresel kirleticileri de kapsar. En çok kalıntı problemi oluşturan maddeler ise; antibakteriyel maddeler, antihelmintikler, antikoksidaller, sedatifler, nonsteroidal yangı gidericiler gibi veteriner ilaçları (12), bazı pestisitler (organik klorlu, fosforlu, karbamatlı ve piretroidler gibi) (2,3), poli klorlu

bifenil (PCB)'ler (15,21), dioksinler (24), mikotoksinler, ağır metaller ve boyalar gibi çevre kirleticilerdir (19). Hayvanlarda bilinçli ya da bilinçsiz olarak çeşitli amaçlarla başta antibakteriyel ve antiparaziter ilaçlar yaygın bir şekilde kullanılmakta olup, hayvansal ürünlere kalıntı şeklinde yansımaktadır (1). İnsanlara besin zinciri yoluyla geçen bu kalıntılar ciddi problemlere sebep olabilmektedir (7,9). Gıdalardaki ilaç, pestisit ve çevresel kirletici kalıntıları insan sağlığı; ülke ekonomisi ve uluslararası boyutu yönüyle değerlendirildiğinde, oldukça kaygı verici boyutlarda olduğu görülmektedir (13). Gıdalarda ilaç kalıntılarının varlığı ülkemizin Avrupa Birliği'ne adaylık sürecinde de güncelliğini korumaktadır. Bu durumda, veteriner hekimliği ilaçlarının hayvanlarda bilinçli ve kontrollü kullanımı (12,19) ile gıdalarda kalıntı düzeylerinin geçerli yöntemlerle izlenmesi (20,23,32) ve tolerans seviyelerine uygunluğu son derece önem arz etmektedir (5,18).

İlaç kalıntılarının sebepleri, hayvanlara ilaç uygulamalarından sonra belli bir süre geçmeden kesilmesi ya da ilaç kullanılan bu hayvanlardan elde edilen hayvansal orijinli gıdaların (et, süt, yumurta, balık vb.) insanlar tarafından tüketilmesi, hayvanlarda kullanılan ilaç dozlarının ve doz aralığının onaylanmış miktarından daha yüksek ve daha sık uygulanması, ruhsatsız ilaç

kullanılması, hedef hayvan türü için hatalı ilaç, müstahzar veya formülasyon seçilmesidir (19,34).

Kalıntı risk değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan ifadeler şunlardır:

Kabul edilebilir günlük alım (KGA): Bir ilaç ya da kimyasal bir maddenin, gıdalar ve içme suları ile tüketicilerin vücuduna aldıklarında onların sağlığı üzerinde risk oluşturmayan, ömür boyunca "günlük" olarak tüketilebilecek miktarını ifade eder. Birimi, mg/kg c.a. gün'dür (7,11,19,38). Bir maddenin KGA miktarını belirlemek için, o maddenin canlıda kronik denemeler sonucu etki oluşturmayan düzeyi (NOEL) ve güven faktörü belirlenmelidir. KGA = Etkisiz düzey/Güven faktörü (11).

Güven faktörü: Güven faktörü, canlılarda türler arası ve tür içi en az 10 kat fark olacağı dikkate alınarak belirlenir. KGA hesaplanmasında kullanılmak üzere, kanserojen olmayan bir ilaç ya da kimyasal maddenin en az iki memeli hayvan türünde (biri kemirici olmak üzere) ömür boyu ya da kronik yedirme denemelerine göre, insanları en duyarlı hayvan türüne göre bir maddeye 10 kez daha duyarlı olabileceği (1/10) ve insanlar arasında da 10 kata kadar duyarlılık farkı olabileceği düşünülerek güvenlik faktörü 1/100 (1/10X1/10 =1/100) olarak belirlenir (19,35).

Tolerans düzeyi (Maksimum kalıntı seviyesi): Gıda, içme suyu ve yemlerde kalıntı olarak biriken bir ilaç veya kimyasalın, hem kendilerinin hem de metabolitlerinin tüketicilerde toksikolojik zarar oluşturmayan ve tüketici tarafından alınmasına yasal olarak müsaade edilen en fazla kalıntı miktarı veya yoğunluğu olarak tanımlanır. Birimi mg/kg c.a. olarak ifade edilir (28,35). Tolerans düzeyi *sınırlı, ihmal edilebilir, sıfır* ve bazen de *geçici tolerans* diye dört tip olarak uygulanır. Bunlardan en önemlisi sıfır tolerans olup, gıdalarda bu maddelerin hiçbir seviyede bulunmaması gerektiği anlamına gelir (30). Sıfır tolerans düzeyine sahip bazı maddeler şunlardır: Stilbenler, derivatları, tuzları ve esterleri, antitroidal maddeler, steroidler, zeranol dahil olmak üzere resorsilik asit laktonlar, beta-agonistler, aristolochia türleri ve bundan hazırlananlar, kloramfenikol, kloroform, klorpromazin, kolsişin, dapson, dimetridazol, metronidazol, nitrofuran, furazolidon ve ronidazol (30,38). Bugün ülkemizde Avrupa Birliği Direktifleri (EEC 2377/90)'ne uygun olarak 2002/30 no'lu Türk Gıda Kodeksi tebliği hazırlanmış ve bu maddelerin tolerans düzeyleri dört başlık halinde listelenmiştir

(8,30). Bunlardan; Ek I; maksimum kalıntı *limiti belli* olan farmakolojik etkili maddeler, Ek II; maksimum kalıntı *limiti olmayan* farmakolojik etkili maddeler, Ek III; maksimum kalıntı *limiti geçici* olarak belirlenen farmakolojik etkili maddeler, Ek IV; gıdalarda *hiçbir seviyede bulunmaması gereken (yasak)* farmakolojik etkili maddelerdir (30).

Kesim öncesi bekleme süresi: Doku ve organları gıda maddesi olarak tüketilen, yumurta, süt, bal, balık gibi ürünlerden faydalanılan hayvanlarda koruyucu ve tedavi edici amaçla kullanılan ilaçların uygulandıktan sonra bu gıdaların tüketime sunulması için geçmesi gereken süreye denir. Yani, ilaç uygulamasının sona erdiği zaman ile tüketime sunulan zaman arasındaki süreyi ifade eder. Bu süreler yasal olarak her ilaç için belirlenmiştir (13). Aşağıdaki formülle hesaplanır. Kesim öncesi bekleme süresi=1.44Xln (ilacın vücuttaki başlangıçtaki konsantrasyonu/tolerans düzeyi)Xbiyolojik yarı ömrü. Ancak ilaçla ilgili herhangi bir süre henüz belirlenmemişse kanatlı ve memeliler için bu süre geçici olarak 28 gün, yumurta ve süt için 7 gün, balıklar için de 500 derece gün (Bu rakam yetiştirme suyunun sıcaklığına bölünerek tüketilmemesi gereken süre gün olarak belirlenir) (1). Kesim öncesi bekleme süresini etkileyen faktörler ise ilacın farmakokinetiğini etkileyen faktörlerdir ve bu faktörlerin ilacın kinetiğini nasıl etkilediği ve kalıntı seviyelerini nasıl değiştirdiği, sonuçta da kesim öncesi bekleme süresini etkileyebileceği göz önüne alınmalıdır. İlacın fiziko-kimyasal özelliği (lipofilite, pH v.b), ilacın vücuttaki dağılım hacmini etkiler dağılım hacmi de biyolojik yarı ömrünü değiştirir. Ayrıca dağılım hacmi ilacın vücut klirensini de etkiler. Bazı fizyolojik olaylardaki değişiklikler. Örneğin böbrek fonksiyon yetmezliğinde ilacın klirensi yavaşlar ve biyolojik yarı ömrü uzar ya da vücut sıvı dengesi değiştiğinde dağılım hacmi değişir. Tür, yaş, cinsiyet, beslenme durumu, vücudun yağ oranı, plazma proteinlerine bağlanmanın boyutu ve vücutta başka ilaçların ya da gıda katkı maddelerinin varlığı, klirens, biyolojik yarı ömür ve dağılım hacmi gibi kinetik parametreleri önemli ölçüde değiştirir. İlacın formülasyonu (enjektabl, uzun ya da kısa etkili oluşu) ve uygulama yolu biyoyararlanımı etkiler. Sonuçta enjektabl ilaçlar yeme ve suya katılarak verilen ya da bolus şeklinde uygulanan ilaçlardan, uzun etkili (LA) formundaki ilaçlar da diğer enjektabl ilaçlardan daha sık kalıntı riski oluşturmaktadırlar (34).

Kesim öncesi bekletme süresini hastalık durumu da etkiler. Doku hasarı, inflamasyon ve patojen mikroorganizma invazyonu sistemik değişimleri artırır ve bu durum "akut faz cevabı" olarak bilinir. Bu değişimler arasında iştahsızlık, gastrik fonksiyon bozukluğu, karaciğer akut faz proteinlerinin sentezindeki, sitokrom P 450 enzimindeki ve karaciğer, böbrek gibi çeşitli organlardaki kan akımındaki değişiklikler sayılabilir. Akut faz cevabının başlaması hormon benzeri polipeptitlerin yani sitokinlerin (tümör nekroz faktör, interferonlar) üretim ve salınmalarına neden oluyor ve bu maddeler de sitokrom p 450 enzimlerin *in vivo* baskılanmasına ve sonuçta ilacın metabolizmasının değişmesine neden olabilmektedir. Sonuçta hastalık durumunda ilacın farmakokinetiği değişebilmekte ve kesim öncesi bekletme süresi de değişmektedir. Genel bir ifadeyle, bir ilaç ya da kimyasal maddenin biyolojik yarı ömrünün yaklaşık 10 katı sürede vücuttan %99,9'unun atıldığı kabul edilmektedir. Hastalık durumunda bu süre iki katına çıkabilir ve yasal arınma süresi de, bu duruma uygun olarak iki katına ayarlanmalıdır. İlacın dozu ve doz aralığı da etkileyen önemli faktörlerdendir. İlacın dozu bir kat artırılarak uygulandığında yasal arınma süresine bir biyolojik yarı ömür süresi eklenerek yeni yasal arınma süresi belirlenir (1,19,38). Sütlerde kalıntı olması durumunda da yasal olarak sütün tüketilmeme süreleri belirlenmiştir. İlaçların süte geçişinde ilacın pH'sı ve lipofilitesi oldukça önemlidir. Örneğin; eritromisin gibi bazik ilaçlar penisilin gibi asidik ilaçlardan daha uzun süre arınma süresi gerektirmektedirler (pH dağılım hipotezine göre zayıf bazik ilaçlar zayıf asidik olanlardan daha iyi süte geçerler). Benzer şekilde lipofilik ilaçların da süttten atılma süresi uzundur. Hayvanın sağımında ya da kuru dönemde olması da önemlidir çünkü uzun etkili ilaçlar (LA) çoğunlukla kuru dönemde kullanılmaktadır ve bu ilaçlar kullanıldığında yasal arınma süresi uzamaktadır (1).

Kalıntılarının zararları

Kalıntılarının çoğunluğunu veteriner sahada kullanılan antibiyotikler oluşturmakta ve bunlardan başta penisilinler olmak üzere insanlarda hafif dereceden anafilaksiye kadar değişebilecek şiddette ilaç alerjisi oluşturabilir. Ekonomik kayıplara neden olabilir. Başta penisilin kalıntıları olmak üzere gıdalardaki pek çok antibakteriyel ilaç kalıntıları ham gıda maddelerinden fermente ederek ürün haline getirme aşamasında fermente etmek için kullanılan starter kültürleri etkileyerek, peynir, yoğurt ve sucuk v.b. ürünlerin

hazırlanmasında üretim hataları oluşturabilirler. Bazı hastalıkların teşhisi yanlış değerlendirilebilir. Örneğin Salmonella gibi patojen etkenler ette mevcut oldukları halde tespit edilememeleri gibi. Mikroorganizmalarda, direnç oluşturabilir. Sindirim sistemi mikroflorasında değişiklikler, insanlarda cinsiyet ve üreme bozuklukları oluşturabilir. Karsinojenik etki meydana getirebilirler. Örneğin, kloramfenikol kemik iliği ve kan hücrelerini etkileyerek ölümlere neden olmakta ve Food Drug Administration (FDA) tarafından gıda üretiminde kullanılan hayvanlarda yasaklanmış ve ülkemizde bu yasağa 1994'den beri uygulamaktadır. FDA tarafından nitrofuranlarda kanserojen olmalarından dolayı gıda üretiminde kullanılan hayvanlarda yasaklanmıştır (1,19,38).

Kalıntı analiz metotları

Bu metotlar kalıntı tarama ve doğrulama olarak ikiye ayrılır. Tarama metotları kolay, ucuz, kısa zamanda yapılabilen, hassasiyet ve spesifikliği (yanlış ölçülen pozitif örnek sayısının minimum olması) ve tekrarlanabilirliği yüksek olmalıdır (17,25,33).

1.Tarama (monitoring ya da screening) metotları

İmmunolojik metotlar

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

(ELISA): Hayvansal ürünlerde kimyasal kalıntıların çok sayıda olması ve gıda türlerinin de farklılık arzemesi nedeniyle etkin bir kalıntı izlenmesi yapılabilmesi için tarama analizlerinin kullanımı zorunludur. ELISA yöntemi bu alanda en yaygın kullanılan uygulamadır (32). Bu yöntemde hedef moleküle spesifik geliştirilmiş antikorların kullanılması spesifikite ve hassasiyeti artırmaktadır. Spesifitesi nedeniyle hem güvenilirliği yüksek, hem de kolaydır. Dolayısıyla kısa zamanda çok sayıda numunenin farklı ilaç kalıntıları için analizi mümkün olmaktadır. Ancak test kit ömrünün kısalığı ve antikorların diğer maddelerle çapraz reaksiyona girebilmesi ve maliyetinin fazlalığı ise dezavantajlarıdır. Antijen antikor birleşmesi esasına dayanan bu yöntemde genel olarak 12X8=96 adet kuyucuktan oluşan pleytten oluşur. ELISA yönteminin prensibi, spesifik antijen-antikor reaksiyonuna dayanır. Bu teknikte işaretli antijen veya antikor tayini yapılır. İşaretli konjugatın hazırlanmasında işaretleyici olarak enzim kullanılır. Deneyde numuneler genelde ekstraksiyon işlemlerinden geçirilerek kuyucuklara eklenir. Numunedeki antijenler nonspesifik olarak kuyucuklara bağlanır. Üzerine işaretli antikor eklenir ve belirli bir süre inkübe edilerek yıkama yapılır. Yıkama ile bağlan-

mamış işaretli antikorlar uzaklaştırılır. Daha sonra ortama enzimin substratı ilave edilerek enzim işaretli antikor miktarı enzim aktivitesinin dalga boyuna karşılık okunması ile hesaplanır (33).

Radyoimmunoassay (RIA): RIA, immüno-kimyasal reaksiyonlarda radyoaktif atomlar yardımıyla maddelerin miktar tayinlerinin yapıldığı bir metottur. Bu metodun ana bileşenleri; analiz edilecek ilaç ya da kalıntısı aranan maddenin uygun bir radyoizotopla işaretlenmiş standartları ve bu ilaç ya da maddeye karşı önceden hazırlanmış antikor ihtiva eden anti serumdur. Metotta, bir tüpe kalıntı aranacak serum, idrar vb. numune, belirli miktarlarda antikor ve radyoaktif ile işaretlenmiş standart konur. Böylece, radyoaktif ile işaretli ve işaretlenmemiş ilaç ya da kalıntı maddeleri aynı antikor için yarışarak bağlanmaya çalışırlar. İşaretlenmemiş madde miktarı ne kadar fazlaysa, o kadar az işaretlenmiş madde antikorla birleşir. Böylece, radyoaktif ile işaretlenmiş bağlı madde miktarı işaretlenmemiş madde miktarı ile ters orantılıdır. Karışımdaki reaksiyon dengeye ulaştığında, ayırım prosedürü gerçekleştirilir. Bu tekniğin esası; kalıntısı aranan ilaç ya da diğer maddelerin konsantrasyonu, antikora bağlı, işaretli kalıntının ya da serbest haldeki kalıntının radyoaktivitesinin belirlenmesine dayanır (33, 37).

Multiarray biosensors: Biosensörler gıda maddelerinin analizlerinde gittikçe yaygınlaşmaktadır. Analiz edilecek madde (antibody) ile biyokimyasal etkileşim oluşturarak bir sinyal açığa çıkarır. Bu sinyal bir dönüştürücü vasıtasıyla elektronik bir sinyale dönüştürülür ve bunlar mikro işlemci tarafından işlenerek sonuç olarak ifade edilir. Bir numune (kan, doku, idrar vb) içindeki bir den çok madde kalıntısını eş zamanlı olarak belirlenebilir (33,39).

Kromatografik teknikler

Bu teknik, bir karışımdaki farklı özelliklere sahip maddelerin (polarite, çözünürlük, affinite, iyonik güç ve çap farklılıklarına bağlı olarak) ayrılarak hareketli (mobil) bir faz yardımı ile sabit bir faz üzerinden geçirilerek ve geçiş hızlarına bağlı olarak belirlenmesidir (10,33).

Kromatografi tekniğinin temelinde temel unsurlar, sabit faz: (katı ya da katı destek üstüne emdirilmiş bir sıvı tabakadan oluşur) ve hareketli fazdır(sıvı ya da gazdır) (10).

High performance thin layer chromatography (HPTLC): Bilinen en eski ince tabaka kromatografisi (İTK) yönteminin sınırlı sayıda maddeyi analiz edebilmesi ve kolayca kullanıcı

hatalarına sebep olmasından dolayı, Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi (YPİTK ya da HPTLC), İTK'yi esas alarak geliştirilmiş ve nicel analiz yapabilen basit yarı otomatik analitik bir cihazdır. HPTLC tekniği tek bir bilgisayar sistemi tarafından kontrol edilen farklı işlemlere sahip cihazlardan oluşur. Bu cihazlardan birincisi robotik bir enjektör sistemine sahiptir ve bu sistem sırasıyla yerleştirilen küçük şişeciklerdeki (vialler) örnekleri belirlenen miktarlarda ve mesafelerde adsorban ile kaplanmış plakaya azot gazı altında bant ya da spot tarzında tatbik eder. İkincisinde, bu plaka geliştirme tankına ayırım işlemi için bırakılır. Bu tanklar izokratik ve gradiyent olarak iki farklı türde yapılmıştır. İzokratik tank hazneye bırakılan plakayı otomatik bir şekilde tanka taşır ve belirlenen hareketli (mobil) fazın plaka üzerinde ilerlemesini sağlar. Sonra plaka tanktan çıkarılarak kurutma sisteminde kurutulur. Plaka üzerinde lekeler meydana gelir. Üçüncü sistemde ise bu lekelerin tarayıcı sistemde dansitometrik değerlendirilmesi yapılır. Plakadaki lekelerin başlangıçta numune uygulanan noktaya mesafesinden maddenin alıkonma süresi (Rf değeri) yani maddenin isimlendirilmesi yapılır. Plakadaki bu lekeler üzerine gönderilen ışığın şiddetinden yansıyan ışığın şiddeti çıkarılarak kalıntısı belirlenecek maddenin miktarı dansitometrik olarak belirlenir (36).

Yüksek Performanslı Likit Kromatografi (HPLC): Aşağıda (doğrulama metotlarında) bahsedilmiştir.

Nükleer manyetik rezonans (NMR):

NMR, atom çekirdeklerinin manyetik özelliklerine bağlı fiziksel bir olgudur. NMR spektroskopisi bir molekül hakkında fiziksel, kimyasal ve yapısal bilgi edinmek için kullanılan başlıca tekniklerden biridir. Biyolojik moleküllerin çözelti içinde üç boyutlu yapıları hakkında ayrıntılı bilgi veren tek yöntemdir (28). Bazı veteriner ilaçlar ve steroid yapılı maddeler için önerilmektedir (33). Yöntemin esası, çekirdeğin manyetik özelliğine dayanmaktadır. Bu yöntemde ışın enerjisi çekirdek tarafından absorbe edilir. Radyo frekans vericisi tarafından oluşturulan değişken alan analiz yapılacak madde üzerine gönderilir. Enerjinin absorbe edilebilmesi için radyo frekans vericisinin meydana getirdiği değişken alanın frekansı rezonans şartlarını sağlaması gerekir. Sonuçta radyo frekans alıcısı kaybolan enerjiyi ölçerek sinyal kaydedici vasıtasıyla belirlir (28).

2. Kalıntı doğrulama metotları

ELISA testi ile pozitif olarak belirlenen sonuçların, kromatografik (gaz, sıvı vb) ve kütle spektrofotometrik yöntemlerle gelişmiş laboratuvar ekipmanlarının (HPLC, GC-MS, LC-MS ve LC/MS/MS gibi) kullanıldığı, pahalı ve zahmetli ekstraksiyon aşamaları gerektiren ama daha kesin sonuçlar veren metodlarla doğrulanması gerekir (32,33).

Yüksek Performanslı Likit Kromatografi (HPLC):

Bu kromatografide polariteleri birbirinden farklı sıvı bir mobil (hareketli) faz ve dolgu maddesinden oluşan sabit bir faz vardır. Çoğunlukla mobil faz apolar (hegzan gibi) ve sabit fazda polar (etilen glikol gibi) bir sıvı maddedir. Bunun tersi maddeler kullanılırsa buna ters faz (reverse) sıvı-sıvı kromatografisi denir. Kolon çıkışında maddenin derişimi, bir dedektörle ölçülür. Dedektör tipleri olarak UV (ultraviyole), DAD (diodoarray dedektör) ve floresans olarak adlandırılır. Son zamanlarda kütle spektrofotometresi (mass-spekto, MS) de kullanılmaktadır (27,32).

Sıvı Kromatografisi-Kütle-Kütle spektrofotometrisi (LC-MS ya da LC-MS-MS):

LC-MS/LC-MS-MS spektrometresi tekniğinde; HPLC ile fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılan örnek moleküller kütle dedektörü ile belirlenir (16). Normalde yüklü olmayan moleküller kütle spektrometreleri iyonizasyon işlemi ile uyarılarak yüklü iyonize moleküller haline çevrilirler. Kütle spektrometreleri (MS), manyetik ya da elektriksel bir alandan geçen yüklü partiküllerin birbirinden kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılmaları esasına dayanır (4,29). LC-MS/MS'in iki avantajı vardır. Bunlardan birincisi çok düşük konsantrasyonlarda maddenin miktar tayininin yapılabilmesi ve diğeri de sonuçların doğrulanmasına da gerek kalmamasıdır (26,32,33).

Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi (GC-MS):

GC-MS, gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisinin birlikte kullanımı olup, GC karışımdaki bileşenleri ayırır, MS ise her bir bileşenin yapısal olarak tanımlanmasını sağlar. GC-MS sistemi çok küçük miktarlardaki çok bileşenli ve gaz fazında ya da gazlaştırılabilen maddelerin belirlenmesi, doğru ve hızlı analiz edilmesi gibi önemli avantajları bulunmaktadır. Kromatografide maddeler ayrıldıktan sonra iyonlaştırılarak kütle spektrometrede maddeler

kütlelerine bağlı olarak belirlenir (32,37).

Yukarıda açıklanan metotlar dışında, ağır metallerle kirlenmelerde kalıntı analizlerinde ise *atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS)* ve *İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS)* teknikleri kullanılmaktadır. ASS, yüksek sıcaklıkta gaz halinde bulunan element atomlarının elektromagnetik ışınları absorblaması üzerine kurulmuştur. Absorblanan elektromagnetik ışınlar genellikle ultraviyole ve görünür alan ışınlarıdır (37). ICP-MS: Analiz edilmek istenen örnekteki elementler ICP'de elektromanyetik indüksiyonla belli bir sıcaklığa ulaştırılan argon plazması tarafından iyonlaştırıldıktan sonra kütle spektroskopisine gönderilerek ve burada kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrıştırılıp bir dedektör tarafından ölçülürler. Bu teknik, katı ve sıvı örneklerde çok sayıda elementin hızlı, ucuz, hassas ve doğru biçimde, niteliksel, niceliksel ya da yarı-niceliksel olarak ölçülmesine olanak sağlayan ileri teknoloji ürünü bir analiz tekniğidir (6,14,32).

Sonuç ve Öneriler

Kalıntı sorununun esasını, veteriner ilaçları, ağır metaller, çevresel kirlenmeler, pestisit ve mikotoksinler oluşturmaktadır. Bu sorununun çözülebilmesi için veterinerler, hayvan sahipleri, bakanlık, bilim insanları ve ilaç sektörü başta olmak üzere kalıntı konusunu önemli bir problem olarak görmeli bu konuyla ilgili yeterli bilgiye sahip olmalıdırlar. Kalıntıların tüketici sağlığı yönüyle risk değerlendirilmesi yapılırken, kesim öncesi bekleme süresine mutlaka uyulmalı, KGA, MRL düzeyleri dikkate alınmalı ve yukarıda açıklanan pek çok faktörün bu süreyi etkileyebileceği daima düşünülmelidir. Analiz sonuçlarında hem ana madde hem de metabolitleri açığa çıkıyorsa, kalıntı miktarı toplam kalıntı olarak hesaplanmalıdır. Mezbahaneler başta olmak üzere hızlı test izleme teknolojileri (tarama testleri) kullanarak kalıntı kontrolü yapılmalıdır. Etiket dışı ilaç kullanılmamalı ve o hayvan türü için doz, doz aralığı ve müstahzarı onaylanmış ilaçlar seçilmelidir. Kullanılan ilaçlar kayıt altına alınmalıdır. Tarama metotları kullanılarak analiz yapılacak örnek sayısı artırılmalıdır.

Kaynaklar

1. Adams RH, Riviere J. Chemical residues in tissues of food animals. Adams RH ed. In: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Eighth Edition. Iowa: Iowa State Press, 2001; pp. 1166-74.

2. Akkaya R, Akıllı A, Gürel Y, Çınar S, Koç F, Turhan E, Daş YK, Yiğit Y, Başsatan A. Türkiye'de yetiştirilen etlik piliçlerin et ve diğer organlarının anabolik hormonlar, beta-agonistler ve pestisitler ile kirlenme durumunun incelenmesi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 2004; 15(1-2): 37-48.
3. Akkaya R, Gürel Y, Koç F, Yiğit Y, Daş YK, Başsatan A, Karakurt İ. Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'ne 2001-2002 yılları arasında gönderilen örneklerde tespit edilen pestisitlerle zehirlenme vakaları. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 2005; 16(1-2): 37-42.
4. Andersen BD, Wise BL. *Textbook of clinical chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1986; pp. 197-208.
5. Aydın A, Aksu YF. Gıdalarda veteriner ilaç kalıntıları. *Türkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics* 2015; 1(1): 1-9.
6. Batsala M, Chandu B, Sakala B, Nama S, Domatoti S. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *IJRPC* 2012; 2(3): 671-80.
7. Boobis A, Cerniglia C, Chicoine A, Fattori V, Lipp M, Reuss R, Verger P, Tritscher A. Characterizing chronic and acute health risks of residues of veterinary drugs in food: latest methodological developments by the joint FAO/WHO expert committee on food additives. *Crit Rev Toxicol* 2017; 10: 1-15.
8. Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi İçin Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik; 17.12.2011 tarih ve 28185 sayılı Resmi Gazete. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111217-4.htm>. Erişim tarihi: 18.03.2017.
9. Cerniglia CE, Kotarski S. Evaluation of veterinary drug residues in food for their potential to affect human intestinal microflora. *Regul Toxicol Pharm* 1999; 29(3): 238-61.
10. Coskun O. Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul* 2016; 3(2): 156-60.
11. Council Regulation EEC 2377/90 of 26 June 1990 Laying Down a Community Procedure For the Establishment of Maximum Residue Limits of Veterinary Medicinal Products in Foodstuffs of Animal Origin. http://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-5/reg_1990_2377/reg_1990_2377_en.pdf. Erişim tarihi: 07.03.2017.
12. FAO/WHO. *Updating the Principles and Methods of Risk Assessment: MRLs for Pesticides and Veterinary Drugs*. Rome, 2006. ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/bilthoven_2005.pdf. Erişim tarihi: 07.03.2017.
13. Fink-Gremmels J, van Miert ASJPAM. Veterinary drugs: disposition, biotransformation and risk evaluation. *Analyst* 1994; 119 (12): 2521-8.
14. Greenfield S. Inductively coupled plasmas in atomic fluorescence spectrometry. A review. *J Anal At Spectrom* 1994; 9(5): 565-92.
15. Gürel Y, Akkaya R, Yiğit Y, Koç F, Daş YK, Başsatan Yorulmaz A, Kahveci İ. Türkiye'deki tavuk yumurtalarının organik klorlu pestisit ve poliklorlu bifenil bileşik kalıntı düzeylerinin araştırılması. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg* 2008; 19(1): 13-8.
16. Hernandez F, Sancho JV, Pozo OJ. Critical review of the application of liquid chromatography/mass spectrometry to the determination of pesticide residues in biological samples. *Anal Bioanal Chem* 2005; 382(4): 934-46.
17. Ishraga GI, Amna EK, Yarsan E, Altintas L, Tumer I. Methods for screening veterinary drug residues in animal products: A review. *Sudan J Vet Res* 2016; 31: 1-9.
18. Kaya S, Bilgili A. Zehirlenme ve zehirlilik denemeleri. Kaya S, Piringçi İ, Bilgili A. eds. In: *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*. İkinci Baskı. Ankara: Medisan Yayınları, 2002; ss. 21-32.
19. Kaya S. Gıdalarda veteriner hekimliği ilaçları ile ilgili kalıntı sorunu. Birinci Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi. Eylül, 22-24, 2005; Ankara-Türkiye.
20. Koc F. The screening of quinolone residues in animal tissues using HPLC. *Indian Vet J* 2006; 83(10): 1063-4.
21. Koc F, Gurel Y, Yigit Y, Atamanalp M, Das YK, Kısa F. Screening cage culture fish species in Turkey for some organic chlorinated pesticide and polychlorinated biphenyl residues. *Isr J Aquacult-Bamid* 2008; 60(4): 253-60.
22. Koc F, Karakus E. Determination of organochlorinated pesticide residues by gas chromatography - mass spectrometry after elution in a florisil column. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2011; 17(1): 65-70.
23. Koc F, Yigit Y, Das YK, Gurel Y, Yarali C.

- Determination of aldicarb, propoxur, carbofuran, carbaryl and methiocarb residues in honey by HPLC with post-column derivatization and fluorescence detection after elution from a florisil column. *J Food Drug Anal* 2008; 16(3): 39-45.
24. Koç F, Kısa F. Dioxinler. *Etlük Vet Mikrobiyol Derg* 2005; 16(1-2): 57-62.
 25. Mainero Rocca L, Gentili A, Perez Fernandez V, Tomai P. Veterinary drugs residues: a review of the latest analytical research on sample preparation and LC-MS based methods. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2017; 34(5): 766-84.
 26. Masia A, Suarez-Varela MM, Llopis-Gonzalez A, Pico Y. Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: A review. *Anal Chim Acta* 2016; 936: 40-61.
 27. Nollet LML, Toldra F, eds. *Food Analysis by HPLC. Third Edition.* Florida: CRC Press, 2012; pp. 567-716.
 28. Pellecchia M, Sem DS, Wüthrich K. NMR in drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2002; 1(3): 211-9.
 29. Petrovic M, Hernando MD, Diaz-Cruz MS. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples. *J Chromatog A* 2005; 1067(1-2): 1-14.
 30. Principles and methods for risk assesment of chemical in food. Chapter 8: Maximum residue limits for pesticides and veterinary drugs. FAO/WHO 2009. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44065/11/WHO_EHC_240_11_eng_Chapter8.pdf?ua=. Erişim tarihi: 07.03.2017.
 31. Report of a FAO/WHO Conculatation. Guidelines for predicting dietary intake of pesticides residues (revised). Programme of Food Safety and Food Aid. Geneva, Switzerland 10-14 Feb 1997. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/63988/1/WHO_FSF_FOS_97.5.pdf. Erişim tarihi: 07.03.2017.
 32. Senyuva HZ. Analytical methods (Overview of methods of analysis for chemicals hazardous). Motarjemi Y, Toy G, Todd E, eds. In: *Encyclopedia of Food Safety. Fifth Edition.* San Diego, CA: Elsevier, 2014; pp. 152-8.
 33. Toldra F, Milagro R. Methods for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal foods. *Trends Food Sci Technol* 2006; 17(9): 482-9.
 34. Traş B, Elmas M. *Klinik Farmakokinetik. Birinci Baskı.* Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi 2005; ss. 40-125.
 35. Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri 2002/30 sayılı Tebliği; 28.04.2002 tarih ve 24739 sayılı Resmî Gazete. http://www.ihsm.gov.tr/indir/mevzuat/tebligler/T_28042002_1.pdf. Erişim tarihi: 21.03.2017.
 36. Türkmen Z, Mercan S, Cengiz S. Eroin, morfin, kokain ve metilendioksiamfetamin (mdma)'in yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi ile eş zamanlı tayini. *Adli Tıp Dergisi* 2008; 22(1): 13-24.
 37. Vural N. *Toksikoloji Laboratuvar Kitabı. Birinci Baskı.* Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 2000; ss. 70-4.
 38. Yarsan E. Hayvansal gıdalarda kalıntı sorunu. *Vet Farm Toks Dern Bült* 2012; 6: 3-6.
 39. D Wu, D Du, Y Lin. Recent progress on nanomaterial-based biosensors for veterinary drug residues in animal-derived food. *Trends Analyt Chem, Part B* 2016; 83: 95-101.

Sorumlu Yazar:

Prof. Dr. Feride KOÇ
 Erciyes Üniversitesi,
 Veteriner Fakültesi,
 Farmakoloji ve Toksikoloji ABD,
 Kayseri-TÜRKİYE
 Tel:035233986323
 Fax:03523372740
 E-posta: feridekoc@yahoo.com

