



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**SIĞIR ETİNDEN YAPILAN SALAM, SUCUK VE SOSİSTE
İNDİKATÖR POLİKLORLU BİFENİL (PCB) KALINTILARININ
GAZ KROMATOĞRAFI - KÜTLE SPEKTROMETRİSİ (GC-MS)
İLE BELİRLENMESİ**

Özgür KUZUKIRAN

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ**

2015- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIĞIR ETİNDEN YAPILAN SALAM, SUCUK VE SOSİSTE
İNDİKATÖR POLİKLORLU BİFENİL (PCB) KALINTILARININ
GAZ KROMATOĞRAFI-KÜTLE SPEKTROMETRİ (GC-MS)
İLE BELİRLENMESİ**

Özgür KUZUKIRAN

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ**

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından
14L0239004 proje numarası ile desteklenmiştir.**

2015- ANKARA

KABUL VE ONAY SAYFASI

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.2. Kullanım Alanları	2
1.3. PCB Üretimi	3
1.4. Dağılım	3
1.5. Bulaşma Kaynakları	4
1.6. Sağlık Üzerine Olumsuz Etkileri	8
1.7. PCB Kalıntılarının Kontrolü ve İndikatör PCB'ler	10
1.8. Gıda Maddelerindeki PCB Kalıntılarının Tespiti	12
1.8.1. Analiz Yöntemi	12
1.8.2. Örneklerin Saklanması	12
1.8.3. Örneklerin Analize Hazırlanması	12
1.8.4. İnternal Standart Kullanımı	13
1.8.5. Özütleme Yöntemleri	13
1.8.5.1. Katı Faz Özütleme (SPE)	14
1.8.5.2. Matriks Katı Faz Mikroözütleme (MSPD)	14
1.8.5.3. QuEChERS	15
1.8.5.4. Sonikasyon Yardımlı Özütleme (UAE)	15
1.8.5.5. Mikrodalga Yardımlı Özütleme (MAE)	16
1.8.5.6. Hızlandırılmış Çözücü Özütleme (ASE)	16
1.8.5.7. Süperkritik Akışkan Özütleme (SFE)	17
1.8.6. Gaz Kromatografi - Kütle Spektrometri (GC-MS)	17

1.9. Sucuk, Salam ve Sosis İçeriği	18
1.10. Türkiye’de PCB Kalıntılarının İzlenmesi	19
1.11. Çalışmanın Amacı ve nemi	19
2. GEREÇ VE YÖNTEM	23
2.1. Standart Maddeler ve Diğer Kimyasal Maddeler	23
2.2. Standart alıřma özelteleri	23
2.3. Araç ve Cihazlar	24
2.4. Gaz Kromatografi Isı Programı ve Kütle Spektrometri Ayarları	24
2.5. Özütleme	25
2.6. Yöntem Validasyonu	26
2.6.1. Özgüllük/Seçicilik (Spesifity/Selectivity)	27
2.6.2. Doğrusallık (Linearity)	27
2.6.3. Tespit Limiti (Limit of Detection – LOD) ve lm Limiti (Limit of Quantification – LOQ)	27
2.6.4. Geri Kazanım (Recovery)	27
2.6.5. Doğruluk (Accuracy)	28
2.6.6. Kesinlik (Precision)	28
2.6.6.1. Tekrarlanabilirlik (Repeatability)	28
2.6.6.2. Laboratuvar İçi Tekrar retilbilirlik (Reproducibility)	28
2.7. Örneklerin Toplanması ve Analize Hazırlanması	29
3. BULGULAR	30
4. TARTIşMA	37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
ÖZET	43
SUMMARY	44
KAYNAKLAR	45
ZGEMİř	54

ÖNSÖZ

Fiziksel ve kimyasal olarak kararlı olan organik klorlu bileşikler olan poliklorlu bifeniller (PCB) ilk keşfedildikleri 1929 yılından itibaren endüstriyel üretimin pek çok alanında yoğun olarak kullanılmışlardır. Nörolojik, nöroendokrinolojik, immünolojik, karsinogenik ve endokrinolojik etkinlik gösteren bu bileşiklerin kullanımları, Avrupa Birliği (AB) ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yasaklanmış olmasına rağmen doğadaki kalıcılıkları nedeniyle gıda zincirine değişik noktalardan girerek ve birikerek insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadırlar. Bu nedenle, adı geçen ülkelerde ve ülkemizde resmi olarak yürütülen programlar ile gıdalardaki kalıntı düzeyleri sürekli olarak takip edilmektedir.

Araştırmalar, özellikle et ve et ürünlerinin en riskli grubu oluşturduğunu göstermiştir. Ülkemizdeki tüketim alışkanlıkları gözönüne alındığında ise en riskli grup et ürünleridir. Üretim aşamasında kullanılan hayvansal yağlar, baharatlar ve diğer katkı maddeleri, bulaşma kaynaklarını çeşitlendirmekte, PCB'lerin yağda birikme eğilimi göstermesi nedeniyle kalıntı açısından riski artırmaktadır. Poliklorlu bifenil kalıntıları, tavuk ve balık eti, yumurta, süt ve balda resmi olarak izlenmekte iken et ürünleri ile ilgili yürütülen resmi veya özel bir çalışma bulunmamaktadır.

Yapılan bu çalışma ile ülkemizdeki mevcut durumun ortaya koyulması ve ileride yapılacak yeni çalışmalara temel oluşturulması amacıyla, yaygın olarak bulunan ve toplam PCB bulaşıklığı hakkında genel olarak bilgi edinilmesini sağlayan, bir tanesi dioksinlere benzer etkinlik gösteren, 6 tanesi ise indikatör olarak tanımlanan toplam 7 PCB'nin kalıntıları marketlerden toplanan et ürünlerinde (salam, sucuk ve sosis) araştırılmış, modifiye edilen bir yöntem valide edilerek laboratuvara uyarlanmıştır.

Sığır etinden yapılan salam, sucuk ve sosiste indikatör PCB kalıntılarının araştırıldığı bu çalışmada destek, ilgi ve yardımlarını esirgemeyerek bana yön ve ilham veren Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmama odaklanabilmem için her tür katkıyı sağlayarak tamamlayabilmemi sağlayan biricik kardeşim Ayşegül ERDOĞAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvarlardan azami faydayı sağlayabilmem için desteğini esirgemeyen tez izleme komitesi üyesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sezai KAYA'ya ve çalışma konumu detaylandırmada bilgi ve tecrübesini esirgemeyen tez izleme komitesi üyesi Sayın Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ'ye, teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda bana yardımcı ve destek olan Veteriner Hekim Sayın Erdem KAYA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN'e, Araştırma Görevlisi Sedat SEVİN'e, Araştırma Görevlisi Farah Gönül AYDIN'a, Araştırma Görevlisi Hidayet TUTUN'a, Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü'nde görevli kimyager Ekrem ERDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'ne 14L0239004 No'lu proje desteğinden dolayı teşekkür ederim.

Özgür KUZUKIRAN

ANKARA 2015

SİMGELER VE KISALTMALAR

µg	Mikrogram
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
Ah	Aril hidrokarbon
ASE	Accelerated Solvent Extraction (Hızlandırılmış Çözücü Özütleme)
CA	Kaliforniya
CO ₂	Karbondiyoksit
CONTAM	Contaminants in the Food Chain (Besin Zincirindeki Bulaşanlar)
dk	Dakika
DL-PCB	Dioxin-like Polychlorinatedbiphenyl (Dioksin-Benzeri Poliklorlu Bifenil)
d-SPE	Dispersive Solid Phase Extraction (Dağıtıcı Katı Faz Özütleme)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
g	Gram
GCB	Graphitized Carbon Black (Aktif Kömür)
GC-MS	Gaz Kromatografi Kütle Spektrometri
GPC	Gel Permeation Chromatography (Jel Geçirgen Kromatografi)
HPSE	Yüksek Basıncılı Çözücülü Özütleme
Ig	İmmunoglobulin
IQ	Intelligence quotient (Zeka katsayısı)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği)
kg	Kilogram
kHz	Kilohertz
kW	Kilovat
L	Litre
LLE	Sıvı-Sıvı Özütleme, (Liquid Liquid Extraction)
LOD	Limit of Detection (Tespit Limiti)
LOQ	Limit of Quantification (Ölçüm Limiti)
MAE	Microwave Asisted Extraction (Mikrodalga Yardımlı Özütleme)
MeSO ₂ -PCB	Metilsülfonil- Poliklorlu bifenil
mL	Mililitre
MRL	Maximum Residue Limit (En Yüksek Kalıntı Limiti)
MSPD	Matrix Solid Phase Extraction (Matriks Katı Faz Mikroözütleme)
NDL-PCB	Non-dioxin-like Polychlorinatedbiphenyl (Dioksin-Benzeri-Olmayan Poliklorlu Bifenil)
ng	Nanogram
NH ₂	Aminopropil
OH-PCB	Hidroksi-Poliklorlu bifenil
PBDE	Polibromlu Difenileter (Polybrominated Diphenyl Ether)
PCB	Polychlorinated Biphenyl (Poliklorlu Bifenil)
PCDD/F	Polychlorinated Dibenzodioxin/Furan (Poliklorlu Dibenzodiyoksin/Furan)
PFE	Pressurised Fluid Extraction (Basıncılı Akışkan Özütleme)
pg	Pikogram

PHSE	Pressurised Hot Solvent Extraction (Basınçlı Sıcak Çözücülü Özütleme)
PLE	Pressurised Liquid Extraction (Basınçlı Sıvı Özütleme)
PSA	Primer Sekonder Amin
PVC	Polivinilklorür
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe (Hızlı, Kolay, Ucuz, Etkili, Sağlam, Güvenli)
RSD	Relative Standard Deviation (Nispi Standart Sapma)
SANCO	Directorate General for Health, Consumer Protection and Animal Health (Halk Sağlığı, Tüketici Koruma ve Hayvan Sağlığı Genel Müdürlüğü)
SCAN	Scientific Committee for Animal Nutrition (Hayvan Besleme Bilimsel Komitesi)
SCF	Scientific Committee of Food (Gıda Bilimsel Komitesi)
SD	Standard Deviation (Standart Sapma)
SE	Soxhlet Extraction (Sokselet Özütleme)
SFE	Supercritical Fluid Extraction (Süperkritik Akışkan Özütleme)
SIM	Selected Ion Monitoring (Seçilmiş İyon Görüntüleme)
SLE	Solid-Liquid Extraction (Katı-Sıvı Özütleme)
SPE	Solid Phase Extraction (Katı Faz Özütleme)
SSL	Split/Splitless
UAE	Ultrasound Asisted Extraction (Sonikasyon Yardımlı Özütleme)
UAF-DSPE	Ultrasound Asisted Freezing Dispersive Solid Phase Extraction (Sonikasyon Aracılı Dondurarak Dispersif Katı Faz Ekstraksiyonu)
UKİP	Ulusal Kalıntı İzleme Programı
WHO	World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	PCB'lerin kimyasal yapısı.	1
Şekil 3.1.	A) PCB içermeyen iç yağa ait kromatogram, B) PCB'lerin 10 µg/L'lik çalışma çözeltisinden elde edilen kromatogram, C) PCB'lerin 10 µg/L derişiminde zenginleştirilmiş iç yağ kromatogramı, 1-PCB 30; 2-PCB 28; 3-PCB 52; 4-PCB 101; 5-PCB 118; 6-PCB 153; 7-PCB 138; 8-PCB 180.	31
Şekil 3.2.	A) PCB 153 ve PCB 138'in SIM iyonları; B) İnternal Standart (PCB 153 - 13C12)'ın SIM iyonları.	32
Şekil 3.3.	PCB'lere ait kalibrasyon grafikleri.	33

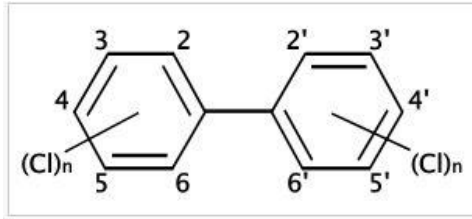
ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Poliklorlubifenillerin homolog grupları.	1
Çizelge 2.1.	Gaz kromatografi fırın ısı programı.	25
Çizelge 3.1.	Analitlerin çıkış zamanları ve SIM iyonları	30
Çizelge 3.2.	Her bir PCB için yapılan lineer ölçüm aralıkları ile hesaplanan korelasyon katsayıları ve LOD ve LOQ değerleri.	31
Çizelge 3.3.	İç yağ, sucuk, salam ve sosis örneklerinde geri kazanım ve RSD değerleri.	34
Çizelge 3.4.	Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik değerleri	35
Çizelge 3.5.	PCB tespit edilen örneklerdeki miktarlar, (TE=Tespit edilemedi).	36

1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Poliklorlubifeniller (PCB'ler), her biri altı karbon atomuna sahip iki benzen halkası ve buna bağlı 1-10 klor atomu içeren sentetik kimyasal bileşiklerdir (Şekil 1.1). Benzen halkasına bağlanan klor atomlarının sayısı ve konumuna göre teorik olarak 209 farklı PCB bileşiğinin üretilebileceği, bununla birlikte ticari amaçla üretilen bileşik sayısının 130 olduğu bildirilmiştir. Bu bileşikler Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) tarafından numaralandırılmıştır (PCB 30, PCB 77, PCB 209 gibi) (Ballschmiter ve Zel, 1980).



Şekil 1.1. PCB'lerin kimyasal yapısı (McKinney ve Waller, 1994).

Poliklorlu bifeniller yapılarındaki klor sayısına göre 11 homolog gruba ayrılırlar. Her bir grupta değişik sayıda izomer bulunmaktadır (Çizelge 1.1) (ERASC, 2003).

Çizelge 1.1. Homolog PCB grupları (Ballschmiter ve Zel, 1980).

Klor Sayısı	Homolog Grup	Molekül Formülü	Molekül Ağırlığı	İzomer Sayısı
0	Bifenil	$C_{12}H_{10}$	154,1	1
1	Mono-klorobifenil	$C_{12}H_9Cl$	188,0	3
2	Di-klorobifenil	$C_{12}H_8Cl_2$	222,0	12
3	Tri-klorobifenil	$C_{12}H_7Cl_3$	256,0	24
4	Tetra-klorobifenil	$C_{12}H_6Cl_4$	289,9	42
5	Penta-klorobifenil	$C_{12}H_5Cl_5$	323,9	46
6	Hexa-klorobifenil	$C_{12}H_4Cl_6$	357,8	42
7	Hepta-klorobifenil	$C_{12}H_3Cl_7$	391,8	24
8	Okta-klorobifenil	$C_{12}H_2Cl_8$	425,8	12
9	Nona-klorobifenil	$C_{12}HCl_9$	459,7	3
10	Deka-klorobifenil	$C_{12}Cl_{10}$	493,7	1

Poliklorlu bifenillerin çoğunluğu renksiz, kokusuz, kristalize yapıda olup, ticari preparatları klor sayısı arttıkça yoğunlaşan akışkanlıkta, berrak sıvı şeklindedir. Genel olarak kaynama sıcaklıkları 200 °C'nin üstündedir. Klor sayısı arttıkça stabiliteleri artmakta, suda çözünürlükleri ise azalmaktadır (Anon, 2005). Yüksek sayıda klor içerenlerin anaerobik, düşük klorluların ise aerobik olarak parçalandıkları gösterilmiştir (Abraham ve ark., 2002).

Poliklorlu bifeniller, kimyasal yapılarına göre ikiye ayrılırlar; 2 ve 6 numaralı karbona klor bağlı olanlara nonplanar PCB (ortho-PCB), olmayanlara planar PCB (non-ortho-PCB) adı verilir. Ayrıca kimyasal karakterleri ve toksikolojik etkilerine göre de dioksin-benzeri PCB (DL-PCB)'ler ve dioksin-benzeri-olmayan PCB (NDL-PCB)'ler olarak 2 gruba ayrılırlar. Birinci grupta 12 PCB'nin bulunduğu ve bunların aril hidrokarbon (Ah) reseptörünü bağlayarak etkinlik gösterdikleri belirtilmiştir. Aril hidrokarbon reseptörü, ligandları etkinleştirerek, DNA transkripsiyonunu ve sitokrom P450 dahil pek çok enzimin sentezini etkileyen bir reseptördür. Dioksin-benzeri PCB'lerin, karaciğer, tiroit bezi, üreme ve bağışıklık sistemini etkiledikleri ve davranış bozukluklarına neden oldukları belirtilmiştir. İkinci gruptaki NDL-PCB'lerin toksikolojik etki mekanizmalarının dioksinlerden farklı olduğu ama bunların da nörolojik, nöroendokrinolojik, immünolojik, karsinojenik ve endokrinolojik etkileri olduğu bildirilmiştir (EFSA, 2010; Fukunaga ve ark., 1995).

1.2. Kullanım Alanları

Poliklorlu bifeniller, yalıtım ve soğutma sıvısı olarak özellikle kapasitör, trafo ve hidrolik pompalarda, plastikleştirici olarak matbaa mürekkebi ve boya yapımında, karbonsuz kopya kağıtlarında, dayanıklılık kazandırmak amacıyla elektrik kablolarının polivinil klorür (PVC) kaplamalarında, yangın söndürücülerde ve kayganlaştırıcı yağlarda, yanmayı ve enerji kaybını önlemek amacıyla elektrik izolasyon sıvılarının yapımında yoğun olarak kullanılmışlardır (Porta ve Zumata, 2002).

1.3. PCB Üretimi

Ticari olarak üretilmeye başlandıkları 1929 yılından itibaren PCB'lerin farklı isimlerle piyasada bulunmaları dikkat çekmiştir. Clophen (Bayer, Almanya), Aroclor (Monsanto, Amerika Birleşik Devletleri), Kanechlor (Kanegafuchi, Japonya), Santothrem (Mitsubishi, Japonya), Phenoclor ve Pyralene (Prodolec, Fransa) (Urbaniak, 2014) başlıcalarıdır. Üretim miktarı olarak 1929-1977 yılları arasında 600 bin ton üretimle en büyük payın Amerika Birleşik Devletleri'ne (ABD) ait olduğu rapor edilmiştir. Bunu 1984'e kadar yapılan 450 bin tonluk üretim ile Avrupa ülkeleri takip etmektedir. Polonya, Almanya ve Avusturya'da, üretim miktarları bilinmeyen fabrikaların varlığı nedeniyle, toplam miktarı kesin olarak belirlemek mümkün olmamakla birlikte, yasaklanana kadar dünya genelinde 1,5 milyon ton civarında üretilmiş oldukları tahmin edilmektedir (Breivik ve ark., 2002).

Olumsuz etkileri nedeniyle 1979'da ABD, 1981'de İngiltere, 1993'te Avusturya ve daha sonra tüm Avrupa ülkelerinde yasaklanmışlardır (EURO PCB, 2005).

1.4. Dağılım

Poliklorlu bifenillerin doğadaki dağılım profilinin oldukça karmaşık olduğu bildirilmiştir. Rüzgârla taşınarak toprağa çöktükleri veya yağmurla yüzeye indikleri, buradan yer altı sularına ve oradan da ırmaklar yoluyla deniz ve okyanuslara ulaştıkları belirtilmektedir. Atmosfer yoluyla doğrudan okyanuslara taşınma da söz konusudur (Urbaniak, 2014). Sulara karışan PCB'lerin, bir kısmının sedimentte birikerek dip akıntılarıyla uzak mesafelere taşınabildiği, kutuplara kadar taşınabilen PCB'lerin de buzul kütlelerinin ekvatora doğru hareketi ve erimesiyle yeniden döngüye katıldıkları bildirilmiştir (Malanichev ve ark., 2004).

Dünya PCB üretiminin yaklaşık olarak %97'sinin kuzey yarımkürenin 30-60° enlemleri arasında olduğu ve bu bölgedeki atmosferik PCB miktarının yıllar içinde

azaldığı, bununla birlikte üretimlerinin hiç yapılmadığı veya yoğun olarak kullanılmadıkları bölgeler olan Batı Afrika sahillerinde, atmosferik PCB miktarlarının yükseldiği bildirilmiştir (Jaward ve ark., 2004; Gioia ve ark., 2014).

1.5. Bulaşma Kaynakları

Poliklorlu bifenillerin kullanılmaları Uluslararası Stockholm Anlaşması'yla kısıtlanmış olmasına rağmen, elektronik atıkların geri dönüşümü ile doğaya salınmakta, kalıcılıkları nedeniyle sürekli olarak çevreyi kirletmektedirler. İnsanların, PCB'lere maruziyetleri hava, içme suyu, deri ve gıdalar aracılığıyla olmaktadır. Lipofilik özelliklerinden dolayı özellikle yağ dokuda birikim gösterdikleri ve bu nedenle gittikçe artan miktarlarda biyolojik birikime neden oldukları tespit edilmiştir. Balıklarda bulunan PCB kalıntılarının, planktonlarda bulunan kalıntı düzeylerinden daha yüksek olduğu, ayrıca diyetinde balık ve deniz kabuklusu bulunan insanların serumlarındaki PCB miktarlarının bulunmayanlara göre yüksek olduğu bildirilmiştir (Kostyniak ve ark., 1999; Stewart ve ark., 1999).

Poliklorlu bifenil kalıntıları bazen akut zehirlenmelere de yol açabilmektedir. Örneğin PCB'lerle bulaşmış yemek yağlarının yanlışlıkla tüketilmesi sonucu biri Japonya'da (1968) ve diğeri de Tayvan'da (1979) olmak üzere iki önemli gıda zehirlenmesi görüldüğü belirtilmiştir (Lauby-Secretan ve ark., 2013). Amerika-Montana'da 1979 yılında, bir domuz mezbahasındaki elektrik transformatörünün hasar görmesi sonucu, hayvan yemi olarak kullanılan 862 ton et ununun PCB'ler ile kirlendiği tespit edilmiş, 800.000 kanatlı, 4.000.000 yumurta, 4000 domuz, 4.300.00 kg hayvan yeminin imha edildiği bildirilmiştir (Kaya Pirinççi, 2014).

Bir diğer önemli maruziyet kaynağı ise ev içi havasıdır. Hogarh ve ark. (2012) tarafından yapılan Doğu Asya bölgesini kapsayan bir çalışmada, Japonya'nın ağırlıklı olarak kırsal yerleşimli iki şehrinde, havadaki PCB kirliliğinin, çalışmaya alınan diğer şehirlere göre oldukça yüksek olduğu ($7\ 200 - 7\ 800\ \text{pg/m}^3$), bunun

muhtemel kaynağının, ev içi kapı ve pencerelerde kullanılan dolgu macunları ile eski elektrik kabloları olabileceği belirtilmiştir.

Gedik ve İmamoğlu (2013) tarafından Ankara’da yapılan bir araştırmada Eymir Gölü’nde tespit edilen 60 ng/g’dan daha düşük toplam PCB (28, 52, 101, 118, 138, 153 ve 180) düzeyinin sanayi ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir.

Salihoğlu ve ark. (2013) tarafından Bursa ve çevresinde yapılan bir diğer çalışmada ise topraktaki ve havadaki PCB miktarlarının mevsimsel olarak değiştiği ve en yüksek yoğunluğa yaz aylarında ulaşıldığı, hava ile toprak arasında ise bir döngü olduğu gösterilmiştir.

Park ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada 3 PCB (138, 153 ve 180)’nin anne ve göbek kordonu kan serumundaki toplam miktarları sırasıyla 1,62 ve 1,45 ng/mL olarak tespit edilmiş, PCB’lerin gebelik sırasında yavruya geçebildikleri gösterilmiştir.

Doğum sonrası dönemde anne sütüyle de yavruya geçiş olmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation – WHO) tarafından koordine edilen maruziyet araştırmasının sonuçlarına göre anne sütünde bulunan dioksin ve DL-PCB miktarları Güney Yarımküre ülkelerinde (Fiji, Brezilya, Yeni Zelanda, Avustralya), Doğu Avrupa ülkeleri (Hırvatistan, Bulgaristan, Macaristan), İzlanda ve ABD’de düşük çıkarken, Batı Avrupa ülkeleri (İtalya, İspanya, Almanya, Lüksemburg, Belçika, Hollanda) ve Ukrayna’da daha yüksek çıkmıştır. En yüksek bazı değerler Kanada, Norveç ve Litvanya’da tespit edilmiştir (WHO, 2002; Ulaszewska ve ark., 2011).

Törnkvist ve ark. (2011) tarafından İsveç’te yapılan bir çalışmada, toplam PCB miktarları katı ve sıvı yağlarda 0,357 ng/g, balıkta 5,151 ng/g, kırmızı ette 0,298 ng/g, sütte 0,021 ng/g ve yumurtada 0,129 ng/g düzeyinde bulunmuştur. Böylece

bölgesel farklılıklar olmakla birlikte gıda kökenli maruziyetin asıl kaynağının balık ve deniz ürünleri olduğu bildirilmiştir.

Almanya Tüketicuyu Koruma ve Gıda Güvenliği Ofisi'nin gıdalarda yaptığı bir araştırmada (Andree ve ark., 2010), tespit edilen en yüksek toplam PCB (28, 52, 101, 118, 138, 153 ve 180) miktarlarının Bologna tipi sucukta 3 µg/kg yağ, çiğ jambonda 4 µg/kg yağ, salamda 7 µg/kg yağ ve pişmiş karaciğer sucuğunda 8 µg/kg yağ olduğu, median değerlerinin ise 1-3 µg/kg yağ arasında değiştiği bildirilmiştir.

Poliklorlu bifenillerin serum düzeyleri ile yağ dokudaki düzeylerinin karşılaştırmak amacıyla 293 kadının yağ doku ve serumlarındaki 14 PCB'nin derişimlerinin araştırıldığı bir çalışmada (Stellman ve ark., 1998), PCB 74, 99, 118, 138, 146, 153, 156, 167, 170, 180, 183, ve 187'nin serum seviyeleri ile yağ dokularındaki derişimleri arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu, PCB 172 ve 178 için bu durumun geçerli olmadığı görülmüştür. Materyal olarak otopsi sırasında alınan deri altı yağ dokusu, abdominal yağ ve omental yağ ile beyin ve karaciğer kullanılan ve aynı PCB'lere bakılan bir diğer çalışmada (Dewailly ve ark., 1999), en yaygın bulunan 3 PCB (138, 153, 180)'nin toplamının, toplam PCB miktarının % 63-68'ni temsil ettiği rapor edilmiştir. Yağ içeriklerine göre, deri altı, abdominal yağ dokusu ile omental yağdaki PCB miktarlarının aynı olduğu, karaciğerdeki miktarın bunlara göre %20 daha az, beyindeki miktarlarının ise deri altındaki miktarların %10-20'si kadar olduğu tespit edilmiştir. Ölen 25 erkek ve kadından alınan beyin, karaciğer, kas ve akciğer örneklerinde PCB'lerin araştırıldığı bir diğer çalışmada (Bachour ve ark., 1998), karaciğer ve kas dokusundaki miktarlar benzer çıkarken, beyin dokusundaki miktarlar düşük çıkmıştır. Düşük klor sayılı PCB'lerin (28, 31, 49, 52 ve 101) yoğunluklarının en fazla olduğu dokunun akciğer olduğu, PCB 138, 153, 156, 170, 180 ve 183'ün akciğerdeki yoğunluklarının beyinden fazla, karaciğer ve kas dokusundakinden daha az bulunabileceği bildirilmiştir.

İstanbul’da yaşayan ve yaşları 20-41 arasında değişen 58 kadının kanındaki PCB’ler içinde seviyesi en yüksek olanın PCB 153 (643,2 pg/g yağ) olduğu, bunu sırasıyla PCB 138 ve PCB 180’in takip ettiği gösterilmiştir (Ulutaş ve ark., 2015).

Vücuda alınan PCB’lerin sitokrom P450 enzimleriyle başlıca metabolitleri olan hidroksi-PCB (OH-PCB)’ler ve metilsülfonil-PCB (MeSO₂-PCB)’lere dönüştükleri gösterilmiştir (Letcher ve ark., 2000). OH-PCB’ler, genel olarak hidrofilik özellikte olup, vücuttan hızla uzaklaştırılabilmektedir. Öte yandan “para” pozisyonunda klor atomu bağlı OH-PCB’lerin, transtiretine (tiroksinin taşıyıcı proteini) olan ilgisinin tiroksinden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Lans ve ark., 1993). Yapılan çalışma sonuçları arasında farklılıklar olmakla birlikte insan kanında rastlanan başlıca OH-PCB’lerin, 4-OH-CB187 ve 4-OH-CB107 olduğu, bunları sırasıyla 4-OH-CB146, 3-OH-CB153 ve 3’-OH-CB138’in takip ettiği, en az rastlananların ise 4-OH-CB172 ve 3-OH-CB180 olduğu belirtilmiştir (Fängström ve ark, 2002; Soechitram ve ark., 2004). Yapılan bir çalışmada (Hovander, 2006), ülkelere göre insan serumundaki toplam OH-PCB miktarlarının farklı olduğu, Litvanyalı erkekler, Faroeli kadınlar ve Slovaklar’dan alınan serum örneklerindeki miktarların dünya genelinde rapor edilenlerin en yükseği olduğu belirtilmiştir. Öte yandan, balık tüketimi yüksek olan İsveçliler’in serumlarındaki toplam OH-PCB miktarı 1.7 ng/g, düşük olanları 1.3 ng/g iken, Letonyalı erkeklerin kanındaki miktarın 5.3 ng/g ve 1.4 ng/g seviyesinde olduğu tespit edilmiştir (Sjodin ve ark., 2000). Eguchi ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada kıyıya yakın yaşayan (0,059 ng/g) ile vejeteryan diyet uygulamayan elektronik çöp geri-dönüşüm işçilerinin (0,056 ng/g) serumlarındaki toplam OH-PCB miktarları arasında önemli bir fark ortaya çıkmadığı, ancak vejeteryan diyet uygulayan elektronik çöp geri-dönüşüm işçilerinin serum seviyelerinin (0,031 ng/g) önemli derecede düşük çıktığı bildirilmiştir.

Az sayıda çalışmada (Guvenius ve ark., 2003; Soechitram ve ark., 2004), anne kanındaki OH-PCB’lerin fötüse de geçtiği gösterilmiştir.

Hidroksi-PCB’ler vücutta özellikle serumda bulunmalarına rağmen, metabolik faaliyetlerin yoğun olduğu karaciğer dokusunda da tespit edilmişlerdir. San

Francisco Körfezi'ndeki fokların karaciğerlerinden alınan örneklerde çok düşük miktarlarda OH-PCB'lere rastlanmıştır (Park ve ark., 2009).

Diğer metabolit olan MeSO₂-PCB'lerin 22'sinin kimyasal yapısı belirlenmiş olmakla birlikte, son yapılan çalışmalarda insan serumunda yapısı tam olarak belirlenememiş elliden fazla MeSO₂-PCB olduğu belirtilmiştir (Hovander ve ark., 2006). MeSO₂-PCB'lerin karaciğer ve akciğer dokusunda yüksek düzeyde biriktikleri (Larsson ve Bergman, 1998), 4-MeSO₂-PCB'lerin ise kemirgenlerin akciğerlerindeki Clara hücrelerinde biriktikleri gösterilmiştir (Lund ve ark., 1985, 1987).

1.6. Canlılar Üzerine Olumsuz Etkileri

Farklı PCB'lerle yapılan pek çok çalışma ile canlı vücudundaki etkileri ve etki yerleri tespit edilmeye çalışılmıştır. Poliklorlu bifenil 153'ün dişi keçi yavrularında kemik yapısının bozulmasına (Lundberg ve ark., 2006), PCB 52 ve PCB 77'nin fare timüs hücrelerini öldürerek bağışıklığın zayıflamasına neden olduğu tespit edilmiştir (Yılmaz ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar özellikle timüs bağımlı bağışıklığın etkilendiği yönündedir.

Tayvan'da, PCB'lerle bulaşık pirinç yağı tüketenlerin maruziyet sonrası akne tarzında deri lezyonları, deri ve tırnaklarda pigmentasyon, dalak dejenerasyonu ve anormal bağışıklık fonksiyonları gösterdikleri, serum immunoglobulin M (IgM) ve IgA miktarları ile T lenfosit sayılarının azaldığı tespit edilmiştir (Vos ve Loveren, 1998).

Doğum öncesi dönemde DL-PCB ve NDL-PCB'lere maruz kalan 2 yaşından küçük çocuklarda, aşılama sonrası oluşan difteri ve tetanoz antikorlarının seviyesinin düşük olduğu bildirilmiştir (Heilman ve ark., 2006).

Çocuk kanserleri arasında en sık görüleni olan lösemi ile organik klorlu bileşikler arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada (Ward ve ark., 2009), evdeki toz örneklerinde bulunan PCB (170, 153, 138, 118) miktarları ile akut lenfatik lösemi arasında pozitif bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. Yine evdeki tozda bulunan PCB'lerin, ileri yaşlarda nonhodgkin lenfoma görülme riskini arttırdığı tespit edilmiştir.

Kısaca yağ doku artışı olarak tanımlanabilecek obezitenin görülme sıklığı ve yayılımı, yoksul ülkeler de dahil olmak üzere, tüm dünyada artmaktadır. Obezitenin vücuda alınan kalori ile harcanan arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Geçtiğimiz yüzyılın yarısına kadar, genetik yapı da dahil biyolojik ve çevresel pek çok etkenin bu sonucu ortaya çıkardığı, özellikle gelişmiş ülkelerde kalori alımının artması ve hareketsiz yaşamın önemli etkenler olduğu ifade edilmekte iken, son yıllarda yapılan çalışmalar, artan endüstriyel kimyasal madde üretimi ile obezite sıklığı arasında korelasyon olduğunu göstermektedir (Tang-Péronard ve ark., 2011). Özellikle doğum öncesi dönemde düşük dozlarda PCB'lere maruz kalınması ile ileriki yaşlarda vücut ağırlığı/vücut kitle indeksi arasında doğrudan ilişki olduğu tespit edilmiştir. Düşük seviyede (gram yağ başına 1 ng'dan daha az) PCB maruziyetiyle, 3-5 yaş arası kız çocuklarındaki, vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksi artışı (Hertz-Picciotto ve ark., 2005), orta seviyede (gram yağ başına 1-4 ng) PCB maruziyetiyle ergenlik çağındaki kızlarda vücut ağırlığı artışı (Gladden ve ark., 2000), yüksek yoğunlukta (gram yağ başına 4 ng'dan fazla) PCB maruziyeti ile 4-7 yaş arası kız çocuklarındaki ağırlık azalışı arasında doğrudan ilişki olduğu gösterilmiştir (Rylander ve ark., 2007). Erkek çocuklarda doğum öncesi maruziyet ile düşük doğum ağırlığı arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Tang-Péronard ve ark., 2011).

Poliklorlu bifenillere maruziyet ile prostat kanseri arasında bağlantı tespit edilmiştir. Fötal dönemde maruziyetin ilerleyen yaşlarda prostat kanserine yakalanmada birinci basamak olabileceği, yağ dokuda fazla miktarda PCB bulunmasının prostat kanseri riskini artırdığı tespit edilmiştir (Irigaray ve ark., 2007).

Anneleri PCB'ye maruz kalmış olan çocukların hafıza kusurları, bilişsel işlev bozuklukları, duyu ve motor sinir bozuklukları ile dünyaya geldikleri gösterilmiştir. Çocukluk döneminde yüksek dozda PCB'ye maruz kalınması durumunda ise motor etkinliklerde ve hareket fonksiyonlarında bozukluklar geliştiği tespit edilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, PCB maruziyeti ile el titremesi, ayakta dururken sallanma, hızlı kas seyirmeleri arasında bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır. Doğum sonrası PCB maruziyeti ile zeka katsayısı (Intelligence quotient-IQ) düşüklüğü ve davranış bozuklukları arasında da bağlantı tespit edilmiştir (Boix ve Cauli, 2012). Doğum öncesi dönemde ve anne sütü ile PCB'lere maruz kalan 18 ve 24 aylık 670 çocuğun psikomotor skorlarında 4-9 puan düşüklük olduğu tespit edilmiştir (Rogan ve Gladen, 1991).

PCB 28, 30 ve 118'in yeni elde edilmiş boğa spermasına *in-vitro* uygulandığında, doz ve etkilenme süresine bağlı olarak anormal sperm sayısının arttığı ve motilitenin azaldığı gösterilmiştir (Yurdakok ve ark., 2014).

OH-PCB'lerin östrojen reseptör antagonisti veya agonisti gibi davrandığı, özellikle düşük klorlu OH-PCB'lerin östradiolden daha etkili oldukları gösterilmiştir (Connor ve ark., 1997). Antitiroidal etkinlik göstererek serum tiroksin miktarını düşürdükleri, serum yağ seviyelerini yükselttikleri, obezite görülme sıklığını artırdıkları belirtilmiştir (Asvold ve ark., 2007, Patrick, 2009). Ryanodin (RyR) reseptörü (kas ve sinir hücrelerinde bulunan bir kalsiyum kanalı türü) ile etkileşerek kas fonksiyonu bozukluğuna neden oldukları tespit edilmiştir (Niknam ve ark., 2013).

Birçok MeSO₂-PCB'nin karaciğerde ilaç metabolize eden CYP2B1, CYP2B2, CYP3A2 ve CYP2C6'i uyardığı, kortikosteron sentezi için gerekli CYP11B1'i baskıladığı ve glukokortikoid reseptör antagonisti olduğu (Kato ve ark., 1995), laboratuvar hayvanlarında tiroid hormonu seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir (Kato ve ark., 1998, 1999, 2000). Aynı etki annelerinden MeSO₂-PCB taşıyan yavru minklerde ve onların annelerinde de tespit edilmiştir (Lund ve ark., 1999).

1.7. PCB Kalıntılarının Kontrolü ve İndikatör PCB'ler

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority – EFSA)'nin 2010 yılında yayınladığı bilimsel rapora göre, gıda ve yemlerdeki NDL-PCB'ler ile ilgili veriler, indikatör olarak kabul edilen 6 PCB (28, 52, 101, 138, 153 ve 180) veya PCB 118 dahil 7 PCB kullanılarak rapor edilmiştir. İndikatör PCB'ler, diğer NDL-PCB'lerle kolayca kıyaslanabilmeleri, toplam klorlanma seviyesini iyi temsil ediyor olmaları, canlı ve cansız ortamlarda yaygın olarak bulunmaları nedeniyle seçilmişlerdir. Besin Zincirindeki Bulaşanlar (Contaminants in the Food Chain – CONTAM) Panelinde, 6 PCB'nin miktarının toplam NDL-PCB'lerin %50'ini temsil ettiği, pek çok çalışmada NDL-PCB'ler ile DL-PCB'ler ve poliklorlu dibenzodioxin/furanlar (PCDD/Fs) ile DL-PCB toplamı arasında kesin bir korelasyon olduğunun gösterildiği ve bu nedenle indikatör PCB'lerin değerlendirme için temel olması gerektiği ifade edilmiştir (EFSA, 2010).

Avrupa Birliği (AB)'nde ilk olarak 96/23/EC sayılı Yönergeyle PCB'leri de içeren organik klorlu bileşiklerin hayvan kaynaklı gıdalarda kalıntılarının izlenmesi kararlaştırılmıştır. AB Komisyonu tarafından 24 Ekim 2001 tarihinde dioksin, furan ve PCB'lerin miktarlarının ölçülerek, kaynağa yönelik önlemlerle, çevre ve gıdalardaki emisyonlarının azaltılması veya ortadan kaldırılması için birlik stratejisi kabul edilmiştir (EFSA, 2010). Avrupa Komisyonu'nun 2002/201/EC sayılı Yönergesi ile gıda ve yemlerdeki dioksin ve dioksin benzeri PCB varlığının azaltılması için bir hareket planı oluşturulmuş ve burada belirtilen hedef seviyelerin, Gıda Bilimsel Komitesi (SCF, 2000) ve Hayvan Besleme Bilimsel Komitesi (SCAN, 2000) tarafından önerilen seviyeler olması kararlaştırılmıştır. İki bin altı yılında yayımlanan 2006/794/EC sayılı komisyon önerisi ile dioksin ve PCB'ler ile mümkünse NDL-PCB'lerin gıda ve yemlerdeki varlığına yönelik bilgilerin daha gerçekçi olması için mevzuatın uyumlulaştırılması, kalıntı izleme programlarında uygulanacak yöntemlerin 2004/704/EC ve 2004/705/EC'de belirtilen kriterlere uygun yapılması belirtilmiştir. Böylece 277/2012 komisyon düzenlemesi ile gıdalardaki dioksin ve PCB kalıntılarının izlenmesi için indikatör PCB'lerin toplam miktarına bakılması kararlaştırılmıştır.

1.8. Gıda Maddelerindeki PCB Kalıntılarının Tespiti

Gıda maddelerinin çeşitliliği ve yapısal olarak farklı olmaları nedeniyle PCB kalıntılarının izlenmesinde farklı yöntemler uygulanmaktadır. Özellikle hayvansal gıdaların kimyasal yapılarının karmaşıklığı analizi güçleştirmektedir.

1.8.1. Analiz Yöntemi

Analizlerde kullanılacak yöntemlerin geçerli olması, ulaşılabilecek sonuçların güvenilirliği açısından önem taşımaktadır. Bunun için kullanılacak analitik standartların uluslararası geçerliliği olması gerekmektedir (Muir ve Sverko, 2006).

1.8.2. Örneklerin Saklanması

Alınan örneklerin, analiz edilene kadar saklanacakları sıcaklıklar önemlidir. Homojenize edilmiş balık örneklerinin -20 veya -80 °C'deki derin dondurucuda, PCB seviyelerinde belirgin bir değişiklik olmadan 4 yıldan uzun süre saklanabileceği belirtilmektedir (Kiriluk ve ark., 1996). Ters olarak yine -20 veya -70 °C'deki derin dondurucuda bekletilen balık dokularının PCB seviyeleri değişmeden 24 ay saklanabileceği, yağ oksidasyonu nedeniyle -70 °C'nin tercih edilmesi gerektiği bildirilmiştir (De Boer ve Simedee, 1997).

1.8.3. Örneklerin Analize Hazırlanması

Örneklerin analize hazırlanması için tercih edilen yöntemlerden biri dondurarak kurutmadır. Ancak bu işlemin midyelere uygulanmasının, içerdikleri PCB'lerin geri kazanımını düşürdüğü tespit edilmiştir (Wells ve ark., 1997). Genel olarak, PCB analizi için dokuların doğal hallerinde tutulmasının en uygun yaklaşım olduğu bildirilmiştir (Karl, 2000). Örneklerin nem içeriğinin azalması, içerdikleri analit

miktarının yükselmesine neden olmaktadır. Bu nedenle suyu tutan, selit veya sodyum sülfatın kullanılabileceği, bunların sertifikalı, PCB içermeyen veya ısı ve ön özütleme ile muhtemel PCB bulaşıklığından arındırılmış olmaları gerektiği belirtilmiştir (Kohler ve ark., 2005; Wallace ve ark., 1996).

1.8.4. İnternal Standart Kullanımı

Geri kazanımın gerçekçi olarak hesaplanabilmesi için, özütleme öncesi genellikle 1 veya 2 internal standart eklenebilmektedir. Analiz için GC-MS kullanılacaksa, $^{13}\text{C}_{12}$ işaretli veya döteryumlu standartların kullanılması önerilmektedir. Bu maddelerin özütleme ve analitik cihaza verilmeden önce dikkatle eklenmesi gerekmektedir. İnternal standart kullanımı, kesin geri kazanımı vermemekle birlikte, izolasyon prosedürüyle ilgili bilgi sahibi olunmasını ve örnekler arası özütleme etkinliğinin tespitini sağlamaktadırlar (Muir ve Sverko, 2006).

1.8.5. Özütleme Yöntemleri

Hayvansal gıdalar ve özellikle hayvansal yağların, başta yağ asitleri olmak üzere, çok fazla bileşen içeren karmaşık yapıli matriksler olduğu, yağli matrikslerde geleneksel yöntemlerle yapılan analizlerin zahmetli ve zaman kaybına neden olan temizleme aşamalarını gerektirdiğı belirtilmektedir. Öte yandan PCB'lerin yağda birikmesi nedeniyle analizin yapılacağı asıl matriksin yağ olmasının, yağların özütlenmesine bağılı olarak sinyal seviyelerinin düşmesi veya yükselmesi ve sinyal karışıklığı nedeniyle analitlerin tespitinin zorlaşmasına, analitik cihazlarda kolon, enjeksiyon bloğı ve detektörde zarara yol açtığı bildirilmektedir (Castillo ve ark., 2011).

Gıdalardaki kirleticilerin analizlerinde kullanılan pek çok özütleme tekniğı bulunmaktadır. Son 20 yıl içerisinde en çok kullanılan tekniklerin katı-sıvı özütleme (solid-liquid extraction – SLE) ve sıvı-sıvı özütleme (liquid -liquid extraction – LLE) oldukları belirtilmektedir. Katı-sıvı özütlemeye, örnekler küçük parçalara ayrıldıktan

sonra yüksek hızlı parçalayıcı karıştırıcılar yardımıyla çözücülerle karıştırılmakta, bu işlem birkaç sefer tekrarlanmaktadır. Sıvı-sıvı özütlemeye ise organik çözücü ile örnek karıştırılmaktadır. Bu durumun, kullanılan organik çözücü miktarı, harcanan zaman ve çevreyi bulaştırma riski yanında maliyetleri de artırdığı belirtilmektedir. Uçurma ve temizlik aşamalarının artması analitin geri kazanımını düşürmekte, zaman kaybına ve kullanılan çözücü miktarının artmasına neden olmaktadır. Özütleme konusundaki güncel yaklaşım, hızlı, daha az iş gücü gerektiren, düşük maliyetli, çevre kirliliğine neden olan klorlu çözücülerin daha az kullanıldığı “çevreye duyarlı veya yeşil” yöntemlerin kullanılması yönündedir (Ledoux, 2011).

1.8.5.1. Katı Faz Özütleme (SPE)

Katı faz özütlemenin gıdalardaki kalıntı analizlerinde en yaygın kullanılan yöntem olduğu belirtilmektedir. Adsorban içeren bir kartuş içinden geçirilen, örnek ile karıştırılmış solventte bulunan analitlerin, kartuşun su ve/veya organik çözücü ile yıkanmasından sonra, başka bir organik çözücü ile toplanması esasına dayanmaktadır. Kartuşlarda adsorban olarak C_{18} , primer sekonder amin (PSA), florisil, aktif kömür (GCB), aminopropil (NH_2) ve bunların farklı miktarları ile hazırlanan kombinasyonları kullanılmaktadır. Basit ekipmanlarla uygulanabiliyor olması, çeşitli gıda maddelerinde bulunan çok farklı gruplardan analitlere bakılabilmesi nedeniyle yaygın olarak tercih edildiği belirtilmektedir (Ferenc ve Biziuk, 2006).

Adsorbanların, özütleme sıvısıyla birlikte çalkalanması ve santrifüj kullanılarak özütten uzaklaştırılması esasına dayanan dağıtıcı katı faz özütlemenin (dispersive solid phase extraction, d-SPE), kullanılan çözücü miktarını azaltan, özütleme süresini kısaltan ve geri kazanımları görece olarak artıran bir uygulama olduğu belirtilmiştir (Anastassiades ve ark., 2003).

1.8.5.2. Matriks Katı Faz Mikroözütleme (MSPD)

Özütleme ve temizleme aşamasını birleştiren bir yöntemdir. Florisil, silika, C₈ ve C₁₈ gibi adsorban bir madde ile sodyum sülfat gibi su tutucu bir maddenin örnek ile karıştırılması, sonrasında boş veya başka bir adsorban bulunan kolona aktarılarak, elüsyonun solvent yardımıyla yapılması esasına dayanmaktadır. Özellikle yumurta, balık, deniz kabuklusu, sebze ve meyve analizleri için uygun olduğu belirtilmektedir (Barker., 2007; Zhang ve ark., 2012).

1.8.5.3. QuEChERS

Adını, hızlı (quick), kolay (easy), ucuz (cheap), etkili (effective), sağlam (rugged) ve güvenli (safe) kelimelerinin İngilizce baş harflerinden alan QuEChERS yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır. Örnekler vorteks veya elle çalkalanarak asetonitril, ile karıştırılmaktadır. Üzerine tuz, magnezyum sülfat ve PSA ilave edilip tekrar karıştırılıp santrifüj edilerek, ayırım ve temizlik aşamaları tek basamakta tamamlanmaktadır. Organik faz uçurulduktan sonra kalan kuru kalıntı bir başka çözücü ile çözülerek analizin yapılacağı cihaza verilmektedir (Lehotay ve ark., 2003).

1.8.5.4. Sonikasyon Yardımlı Özütleme (UAE)

Özütleme hızını ve etkinliğini arttıran bir yöntem olduğu bildirilmektedir. Ses dalgalarıyla oluşan çözücü baloncuklarının, hücre duvarlarını parçalamadan hücre içine nüfuz ederek buradaki analitlerin de özütlenmesini sağladığı belirtilmiştir (Vilkhu ve ark., 2008). Uygulama süresi arttıkça geri kazanımın da arttığı gösterilmekle birlikte, bu durumun analitlerin parçalanmasına ve geri kazanımın düşmesine neden olduğu yönünde tespitler de mevcuttur (Rezaei ve Hosseini, 2011).

Sonraki basamakta katı faz veya farklı polaritede bir başka solvent kullanılarak mikroözütleme yapılabilmektedir. Son yıllarda mikroözütleme başlığı altında artan çeşitlilikte yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemde örnek gıdanın yapısına göre

değişmekle birlikte, bir temizleme aşaması (clean-up) gerekebilmektedir (Zhang ve ark., 2012).

1.8.5.5. Mikrodalga Yardımlı Özütleme (MAE)

İlk defa 1986 yılında kullanılmış bir yöntemdir. Aranılan analitlerin, matriks bileşenlerinden ayrı olarak, seçici bir şekilde mikrodalga ile ısıtılarak çözücüye geçirilmesi esasına dayanmaktadır. Mikrodalga sayesinde analitlerin çözücüye geçiş hızları ve geri kazanımlarının arttığı gösterilmiştir. Uygulanan enerji miktarına göre analitlerin parçalanabildiği ve buna bağlı olarak geri kazanımların düşebildiği de bildirilmiştir (Ganzler ve ark., 1986).

1.8.5.6. Hızlandırılmış Çözücü Özütleme (ASE)

Basınçlı akışkan özütleme (PFE), basınçlı sıvı özütleme (PLE), basınçlı sıcak çözücülü özütleme (PHSE), yüksek basınçlı çözücülü özütleme (HPSE) gibi değişik isimler altında tanımlanan, yüksek sıcaklık (50-200°C) ve basıncın (10–15 MPa) kullanıldığı, otomasyona uygun, katı- sıvı bir özütleme tekniğidir. Kullanılan çözücü miktarını ve özütleme süresini belirgin derecede azalttığı belirtilmiştir. İlave filtrasyon gerektirmemesi ASE'ye avantaj sağlamaktadır (San ve ark., 2012).

İlk aşamada örnekler olabildiğince küçük parçalara ayrılarak özütleme haznesine yerleştirilmektedir. Su tutucu olarak selit, sodyum sülfat veya selüloz kullanılmaktadır. Örneğin, kum veya silisli toprak ile karıştırılması da yapışmaları önlemesi açısından tavsiye edilmektedir. PCB'lerin apolar yapılarından ötürü genellikle hekzan, diklormetan, pentan veya bunların karışımları çözücü olarak kullanılmaktadır. Sıcaklık ve basınç yükseltilerek, çözücü ile örnek karıştırılmakta, böylece analitlerin çözücüye geçmesi sağlanmaktadır. Bu sırada pigmentler, yağlar, reçineler de çözücüye geçmektedir. Bu sisteme eklenen florasil, silika, veya alümina içeren adsorbsiyon kolonları veya jel geçirgenlik kromatografi (gel permeation chromatography - GPC) ile temizleme yapılmaktadır. Yağlı matriksler için sülfürik

asit emdirilmiş silika, bazik alümina ile birlikte kullanılabilir (Martinez ve ark., 2005).

1.8.5.7. Süperkritik Akışkan Özütleme (SFE)

Bu yöntemde adı geçen süperkritik akışkan, sıvı ve gaz fazından ve bu fazların fizyokimyasal özelliklerinden farklı özellikler göstermektedirler. Katı kütlenin içine dağılarak analiti çözmektedirler. Yüksek ve orta derecede apolar yapıya sahip analitler için uygun bir yöntem olmakla birlikte, polar analitlere yönelik olarak polariteyi ayarlamak için ek çözücüye ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (Beyer ve Biziuk, 2008; Zhang ve ark., 2012).

Son yıllardaki çalışmalarda çözücü olarak, basınç altında sıvılaştırılmış karbondioksit (CO_2) kullanılmaktadır. Apolar sıvı özelliği gösteren süperkritik akışkanın (CO_2), viskozitesinin ve yüzey geriliminin sıfıra yakın olmasının karmaşık yapıları örneklerle çok iyi nüfuz ederek, lipofilik analitlerin özütlenmesini artırması, yanıcı olmaması, düşük zehirliliği, ucuz maliyetle yüksek saflıkta bulunabilmesi, özütten kolaylıkla uçurulabilmesi nedeniyle özütleme ve arındırma süresini kısaltması, özütleme etkinliği ve analit seçiciliğini artırması ile tespit limitini düşürmesinin tercih edilmesindeki başlıca sebepler olduğu belirtilmektedir (Stefani ve ark., 1997; Garcia-Rodriguez ve ark., 2008).

Deniz kabuklularındaki PCB miktarlarının incelendiği bir çalışmada, 200 atm basınç uygulanarak süperkritik akışkan haline getirilen 50°C 'deki CO_2 ile yapılan özütleme sonucunda ilave temizlemeye gerek kalmadan % 90'nın üzerinde geri kazanım sağlandığı bildirilmiştir (Gaylor ve ark., 2015).

1.8.6. Gaz Kromatografi - Kütle Spektrometri (GC-MS)

Gaz kromatografi-kütle spektrometri, gaz kromatografi ve kütle spektrometri olmak üzere iki analitik tekniğin bileşiminden oluşan bir cihazdır. Gaz kromatografide, cihaza enjekte edilen çözücü içindeki maddeler, artırılan sıcaklıkla birlikte buharlaşarak hidrojen veya helyum gibi taşıyıcı bir gaz yardımıyla (mobil faz), iç yüzeyi özel bir madde ile kaplanmış kolondan geçirilerek birbirinden ayrılmaktadır.

Kütle spektrometrede ise gaz halindeki moleküller elektron bombardımanına tutularak parçalanır ve maddeye özgü yüklü iyonlar oluşur. Genellikle 70 eV uygulanmaktadır. Bu voltaja göre moleküllerin oluşturduğu iyonlar ve bunların oranlarını gösteren kütüphaneler bulunmaktadır. Maddelerin tanımlanması bu kütüphanelere göre yapılmaktadır (Kitson ve ark., 1996).

Bu iki cihazın birlikte kullanımı ile oluşturulan analitik enstrüman, maddelerin kaynama sıcaklıkları, molekül yapıları, molekül ağırlıkları ve parçalanma iyonlarına göre birbirlerinden ayrılması ve tanımlanmasını sağlamaktadır (Kitson ve ark., 1996).

1.9. Sucuk, Salam ve Sosis İçeriği

Sucuk yapımında kullanılan sığır veya koyun etleri kuter veya kıyma makinesinde parçalandıktan sonra hayvansal katı yağ, baharat, tuz, karbonhidrat ve diğer bazı katkı maddeleri katılarak sucuk hamuru haline getirilmekte, hazırlanan bu hamur sentetik veya doğal kılıflar içine doldurulduktan sonra belirli bir sıcaklık, nem ve hava akımında bekletilerek olgunlaşmaları sağlanmaktadır (Sezer ve ark., 2012).

Sosis yapımında kullanılacak et kıyma makinesinden geçirildikten sonra içine tuz, nitrat ve kültür bakterileri katılarak -3°C’de bir gece bekletilir. Ardından buz, askorbik asit ve baharat katılarak karıştırılıp sosis hamuru yapılır. Hazırlanan bu hamur sentetik veya doğal kılıflar içine doldurulduktan sonra ön kurutma, dumanlama, haşlama ve soğuk su duşlamasından sonra hazır hale gelmektedir (Sezer ve ark., 2012).

Salam ise, sosise benzer şekilde hazırlanmakla birlikte, hamurunun çok ince çekilmemesi, üretim çeşidine göre değişen katkı maddelerinin katılması, daha kalın olması nedeniyle uygulanan ısıt işlemlerin sürelerinin değişmesi gibi farklılıklar göstermektedir (Sezer ve ark., 2012).

Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği'ne (2012/74 sayılı) göre fermente sucukta bulunması gereken et proteini miktarının kütlece en az % 16, yağ miktarının toplam et miktarına oranının 2,5'in altında olmaması gerektiği belirtilmektedir. Kullanılacak et ve yağ koyun ve sığır kaynaklı olabilmektedir. Yine aynı tebliğe göre emülsifiye et ürünlerinde (salam ve sosis) bulunması gereken et proteini miktarının kütlece en az % 10, yağ miktarının toplam et miktarına oranının ise 3,2'in altında olmaması gerektiği belirtilmektedir (Tebliğ, 2012).

1.10. Türkiye’de PCB Kalıntılarının İzlenmesi

AB’nin 2006/794/EC sayılı tavsiyesine göre her ülkenin alacağı asgari örnek miktarı ve bunların raporlanması ile ilgili koşullar belirtilmiştir. Ülkemizde de AB mevzuatına uygun olarak hazırlanan Ulusal Kalıntı İzleme Programı (UKİP) kapsamında yumurta, balık dokusu, kanatlı hayvan (piliç ve hindi) dokusu ve sütte PCB kalıntıları izlenmektedir. Sığır etinde ise pilot uygulama 2012 yılında başlatılmış olmakla birlikte halen izleme yapılmamaktadır. AB’nin 2 Aralık 2011 tarihinde yayınladığı 1259/2011 sayılı yönetmeliğe göre sığırdan elde edilen et ve et ürünleri ile karaciğer ve ürünlerinde bulunmasına izin verilen en yüksek kalıntı limiti (MRL) 40 ng/g yağ’dır. Bu limitler, 29 Aralık 2011 tarih ve 28157 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren “TÜRK GIDA KODEKSİ BULAŞANLAR YÖNETMELİĞİ” ile Türkiye’de de geçerli olmuştur.

1.11. Çalışmanın Amacı ve Önemi

İnsanların PCB'lere maruziyetinde birincil yolun bulaşık gıdalar (%90) olduğu, bunların içinde ise en önemli kaynağın balık ve balık ürünleri ile et ve et ürünleri olduğu ifade edilmiştir (Arnich ve ark., 2009). Costabeber ve ark. (2006)'nın, et ve et ürünlerinde yaptıkları çalışmada et ürünlerindeki PCB'lerin, ete göre daha yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. İtalya'da yapılan ve 220 hayvansal gıdanın incelendiği bir çalışmada (Esposito ve ark., 2001) ise dumanlanmış domuz jambonundaki toplam PCB miktarının AB'deki MRL'lerinin üzerinde bulunduğu bildirilmiştir. ABD'de yapılan bir çalışmada, tatlı su balıkları ve tereyağını takiben en yüksek PCB yoğunluğunun hotdog (HD) tipi sosiste tespit edildiği ve PCB 138 ile PCB 153'ün yoğunluklarının diğer NDL-PCB'lere göre yüksek çıktığı rapor edilmiştir (Schechter ve ark., 1997). İsveç'te marketten toplanan örneklerde yapılan çalışmada organik halojen kirleticiler içinde et ve et ürünlerinde bulunan en önemli grubun PCB'ler olduğu, bunlar içinde yoğunluğu en fazla olanın ise PCB 153 olduğu gösterilmiştir (Darnerud ve ark., 2006). Afyonkarahisar ve Kocaeli'nde marketlerden toplanan et örneklerinde toplam indikatör PCB miktarı 69,6 ve 87,7 pg/g/yağ olarak bulunmuştur (Kılıç ve ark., 2011).

Türkiye İstatistik Kurumu'nun resmi verilerine göre Türkiye'de kırmızı et arzı 2013 yılında 1 milyon tona, tüketimi ise 972 bin ton seviyesine ulaşmıştır. Kişi başına tüketim 2013 yılında 12,7 kg olmuştur (TÜİK, 2015). Ulusal Et Konseyi'nin raporuna göre 2015 yılı kırmızı et talebi 1 437 900 ton olarak öngörülmektedir. Tüketilen toplam kırmızı et miktarının, ne kadarının et, ne kadarının et ürünü olduğuna yönelik resmi bir kayıt olmamakla beraber, bunların önemli bir kısmının sucuk, salam ve sosis şeklinde tüketildiği sanılmaktadır.

Salam, sucuk ve sosislerin yapımı aşamasında içlerine hayvansal yağın yanısıra değişik baharatların katılması PCB bulaşıklığı riskini artırmaktadır.

Baharatlarda bulunan PCB miktarları ile ilgili Türkiye'de yapılmış bir çalışma bulunmamakla birlikte, Kannan ve ark. (1996) tarafından Hindistan'da yapılan bir çalışmada baharatlarda 91 ng/g'a kadar indikatör PCB'lere rastlanabileceği bildirilmiştir.

Belçika’da 1999’da görülen piliç ve domuz etindeki dioksin krizi sırasında, PCB bulaşıklığını belirlemek amacıyla 6 indikatör PCB ile birlikte PCB 118 de kullanılmıştır. Aynı şekilde Hollanda’nın indikatör PCB’ler ile birlikte PCB 118 kalıntılarını izlediği, Almanya’nın ise sadece indikatör PCB’leri kullandığı belirtilmiştir (EFSA, 2010).

İndikatör PCB’lerin sığır eti ve ürünlerindeki kalıntıları, AB ülkelerinde kalıntı izleme programlarına dahil iken ülkemizde yürütülmekte olan UKİP kapsamında kırmızı et için 2012 yılında başlatılmış olan pilot uygulama 2015 yılında organik klorlu bileşikler için toplam 8 örnek alınacak şekilde devam etmektedir. UKİP kapsamında et ürünleri ile ilgili olarak bir düzenleme yapılmamıştır. Konu ile ilgili olarak resmi ve özel herhangi bir araştırmanın da yapılmamış olduğu, dolayısıyla ülkemizdeki durumu gösterir bir bilginin bulunmadığı tespit edilmiştir. Buna ilave olarak sucuk, salam ve sosisin, kırmızı et, yağ ve baharat kökenli PCB maruziyetini temsil etmesi açısından indikatör gıda maddesi olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle, AB’ndeki uygulamalar ışığında, yapılacak olan çalışmamızın kapsamlı, mevcut durumu ortaya koyması açısından tatmin edici ve yeterli olabilmesi için indikatör PCB’lere ek olarak PCB 118’in de dahil edilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür.

Çalışmanın amacı, zehirlilikleri, çeşitlilikleri ve kimyasal yapılarındaki farklılıklar nedeniyle, maruz kalan toplam PCB miktarını temsil etmeleri açısından önemli olan indikatör PCB’lerin varlığının sığır eti kökenli ürünlerdeki miktarının ortaya konulması için uygun bir yöntemin modifiye edilerek laboratuvara uyarlanması, marketlerden toplanacak örnekler sayesinde Ankara piyasasında tüketilmekte olan şarküteri ürünlerindeki PCB kalıntıları ve düzeylerinin ortaya konulması ve böylece tüketici sağlığı yönünden risk olup olmadığını belirlemektir.

Gıdalardaki kalıntı sorununun ortaya konulmasını amaçlayan bu araştırmanın, Türkiye’nin gıda kontrol sistemi kapsamında yer alacak rutin uygulamalara model teşkil edebileceği, bu konuda gelecekte çalışacak araştırmacılara yol göstereceği ümit edilmektedir. Piyasadan toplanacak örneklerde tüketici sağlığı yönünden risk olup

olmadığının değerlendirmesi Avrupa Birliği Komisyonu dñzenlemesine (EU/1259/2011) gñre bulunmasına izin verilen miktarlar gñz önñnde tutulmak suretiyle yapılacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Standart Maddeler ve Diğer Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan analitik standartlar 2,4,4'-triklorobifenil (PCB 28), 2,2',5,5'-tetraklorobifenil (PCB 52), 2,2',4,5,5'-pentaklorobifenil (PCB 101), 2,2',3,4,4',5'-heksaklorobifenil (PCB 138), 2,2',4,4',5,5'-heksaklorobifenil (PCB 153) ve 2,2',3,4,4',5,5'-heptaklorobifenil (PCB 180) ile enjeksiyon standardı olarak kullanılan 2,4,6-triklorobifenil (PCB 30), her biri %99,5 saflıkta ve izooktanda hazırlanmış 10 µg/mL derişimde (Dr. Ehrenstorfer-Augsburg, Almanya), internal standart (IS) olarak kullanılan ¹³C₁₂ ile işaretlenmiş 2,2',4,4',5,5'-heksaklorobifenil (PCB 153) (%99 saflıkta) 40 µg/mL yoğunluğunda, 1,3 mL nonan içinde hazırlanmış (Cambridge Laboratories- Andover, MA, USA) cam ampül içinde temin edilmiştir.

HPLC saflığında asetonitril, aseton, etilalkol, metilalkol, izooktan, heptan, hekzan, pentan ve toluen Merck (Darmstadt, Almanya)'den temin edilmiştir. Susuz magnezyum sülfat Panreac Kimya (Panreac Quimica S.A.U., Barselona, İspanya) ve Primer-Sekonder-Amin (PSA) Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA)'dan alınmıştır. Distile su laboratuvarda bulunan Milli-Q cihazıyla (Millipore, Molsheim, Fransa) elde edilmiştir.

2.2. Standart Çalışma Çözeltileri

İnternal standart stok çözeltisi 4 µg/mL derişiminde toluende, örneklerde analizi yapılacak olan PCB'lerin stok çözeltisi ise her biri 1 µg/mL yoğunluğunda olacak şekilde izooktanda hazırlandı. Çalışma çözeltileri ise her seferinde bunlardan alınarak ihtiyaca göre hazırlandı. Cihazla ilgili bir sorun olup olmadığını gözlemlemek için kullanılan enjeksiyon internal standartı PCB 30'un stok çözeltisi ise izooktanda 1 µg/mL derişimde hazırlandı. Tüm stok çözeltileri kahverengi cam şişeler içinde -20 °C'de derin dondurucuda saklandı.

Çalışma çözeltileri günlük olarak hazırlandı. İnternal standart çözeltisi 1/10 oranında toluenle seyreltilerek 400 µg/L, PCB'lerin karışım çözeltisi ise 1/10 oranında izooktan ile seyreltilerek 100 µg/L derişimlerinde hazırlandı.

2.3. Araç ve Cihazlar

Örnek hazırlanmasında azot evaporatörü (VLM, Bielefeld, Almanya), hassas terazi (Sartorius, Almanya), vortex mikser (Velp, Scientifica, Usmate, İtalya), soğutmalı santrifüj (Sigma 3-30K, Ostreode am Harz, Almanya), ultrasonik banyo (frekans 35 kHz, 0,32 kW, Super RK 510, Sonorex, Bandelin, Almanya) ve ultra saf su cihazı (Millipore, Molsheim, Fransa) kullanıldı.

Kromatografi için Gaz kromatografisi-kütle spektrometri (GC/MS, Thermo Finnigan, San Joe, CA, USA) kullanıldı. Cihazda split/splitless (SSL) enjeksiyon portu ve Thermo Finnigan Polaris Q iyon trap-mass spektrometrik detektor (elektronik iyonizasyon 70 eV) bulunmaktadır. Eksternal iyon source ısısı 250 °C, ara yüz ısısı 270 °C ve enjektör portu ısısı 250 °C'e ayarlandı. Enjektöre 12 cm X 5 mm ebatlarında Silcoseeve liner (Thermo-Finnigan) takılı olup, cihaz splitless modunda çalıştırıldı. Çalışmada SSL enjektöre 1 mL/dk sabit akış hızında 2 µL örnek injekte edildi. Ayırma işlemi DB-5MS kapiller kolonla (30 m X 0,25 mm i.d., 0,25 µm film kalınlığı) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) yapıldı. Taşıyıcı gaz olarak sabit akış hızı 1 mL/dk olacak şekilde Helyum (%99,995 saflıkta) kullanıldı.

2.4. Gaz Kromatografi Isı Programı ve Kütle Spektrometri Ayarları

Cihazın ayarları SANCO (Halk Sağlığı, Tüketici Koruma ve Hayvan Sağlığı Genel Müdürlüğü) tarafından önerilen yöntem validasyon kriterlerine göre yapıldı. Buna göre ısı programının; analitlerin birbirlerinden ve matriksten gelen kirleticilerden ayrılmasını sağlayacak, ölçüme uygun yapıda pikler verecek şekilde ayarlanması

gerekir. MS'in ise seçilmiş iyon görüntüleme (Selected Ion Monitoring - SIM) modunda çalıştırılarak sadece aranan analitlere özel iyonları taraması istenir. Böylece, SIM modunda yapılan tarama sayesinde cihazın duyarlılığı ve seçiciliği artırılmış olur. Her bir analit için bir tane niceleyici (quantifier), üç tane de niteleyici (qualifier) iyon belirlenmesi gerekir (SANCO, 2013).

Bu amaçla öncelikle saf standartlardan, ayrı ayrı hazırlanan 100 µg/mL derişimindeki çözeltiler toplam iyon taraması (Scan) modunda verildi. Çalışılan PCB'lerin molekül ağırlığı 500'ün altında olduğu için, bu modda kütle ağırlığı 50-500 m/z arasındaki iyonlar tarandı. Her bir PCB'nin geliş zamanları tespit edildi. Her bir analitin parçalanma iyonları incelenerek molekül ağırlığı 100 m/z üzerinde olanlardan miktarı en fazla olanlar belirlendi. Bu iyonlardan en yüksek molekül ağırlığına sahip olan iyon niceleyici, miktar olarak bunu takip eden ilk 3 iyon da niteleyici iyon olarak seçildi (SANCO, 2013). Bunun ardından karışım halinde hazırlanan standartlar cihaza verilerek PCB'lerin piklerinin birbirine karışıp karışmadığı, yani GC fırın programının, uygunluğu değerlendirildi. Özcan ve ark. (2009) tarafından kullanılan ısı programı modifiye edilerek kullanıldı (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Gaz kromatografi fırın ısı programı.

	Artış (°C/dk)	Sıcaklık (°C)	Bekleme süresi (dk)
Basamak 1		70	2
Basamak 2	25	150	0
Basamak 3	3	200	0
Basamak 4	8	270	10
Toplam Program Süresi			40,62

2.5. Özütleme

Çalışma Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapılmıştır. PCB'lerin örneklerden özütlenmesi için Kim ve ark. (2013)'nın sığır iç yağlarından, Liu ve ark. (2009) ile Castillo ve ark.

(2011)'nın ise balıklardan bazı kalıcı organik bileşiklerin belirlenmesine yönelik yöntemleri değerlendirilip uygun olan yaklaşımlar birleştirilerek analiz için uyarlandı. Bunun için 100 g örnek (salam, sucuk veya sosis), 10 g yağ çıkacak şekilde, 60 °C'lik etüvde yaklaşık 1 saat süreyle ısıtıldı. Çıkan yağ iyice homojenize edildikten sonra 1 g tartılarak 10 mL'lik cam tüpe alındı. Üzerine stok çözeltiden toluenle seyreltilerek hazırlanan 400 µg/L derişimindeki internal standart çözeltisinden 25 µL ilave edilerek (1 g yağda 10 µg internal standart içerecek şekilde) oda sıcaklığında 30 dk beklendi; ardından 7 mL aseton eklenerek 35 °C'lik ($\pm 1^\circ\text{C}$) ultrasonik banyoda 10 dk homojenize edildi. Örnek daha sonra soğutmalı santrifüjle -20 °C'de 30 dk süreyle 3 500 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant kısım alınarak evaporatörde (35°C'lik su banyosunda) kuruyana kadar uçuruldu. Kuru kalıntı 2x1 mL asetonitrille bir cam tüpe toplanarak üzerine 400 mg PSA ve 600 mg magnezyum sülfat eklendi. Tüpler 30 saniye elle çalkalandı; sonra 4 500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Üst faz alınarak 35°C'de azot altında kurutuldu. Kuru kalıntı 100 µL izooktanla çözülerek viyale toplandı, üzerine PCB 30'un 1 µg/mL'lik çözeltisinden 2 µL eklenip karıştırılarak karışımın 2 µL'si GC/MS'e uygulandı.

2.6. Yöntem Validasyonu

Yöntem validasyonu AB'nin 252/2012 sayılı tüzüğünün Ek IV'te belirtilen kriterleri, SANCO'nun 12 571/2013 sayılı Gıda ve Yemlerde Pestisit Kalıntılarının Analizi İçin Analitik Kontrol ve Validasyon Prosedürleri Kılavuzu ve EUROCHEM'in 2014 yılında güncellediği Yöntem Validasyonu ve İlişkili Konular Kılavuzu'nda belirtilen kriterlere göre, değerlendirmeler ise Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen indikatör PCB'lerin gıdalarda bulunmasına izin verilen en yüksek kalıntı limiti olan 40 µg/kg (yağ)'a göre yapıldı. PCB'lerin analizi ve doğrulanması bir niceleyici ve 3 niteleyici iyon kullanılarak SIM moduna göre hesaplandı. Çizelge 3.1'de her bir PCB için izlenen iyonlar verildi. Validasyon kriterleri olarak doğrusallık (linearity), tespit limiti (Limit of Detection - LOD), ölçüm limiti (Limit of Quantification - LOQ), özgüllük/seçicilik (specificity/selectivity), kesinlik (precision) ve geri kazanım (recovery) parametreleri değerlendirildi. Yöntem

validasyonu sığır böbrek iç yağlarında yapıldı ve analiz edilen et ürünlerindeki yağla matriks etkisinin olup olmadığını belirlemek için iç yağdan elde edilen geri kazanım ve nispi standart sapma (Relative standard deviation – RSD) değerleri, salam, sucuk ve sosisten elde edilen yağdaki değerlerle karşılaştırıldı. Sonuçlar hesaplanırken Microsoft Office 2010 Programı Excel Uygulaması kullanılmıştır.

2.6.1. Özgüllük/Seçicilik (Selectivity/Specifity)

Bir yöntemin özgüllüğü, örnek içerisindeki analitin, diğer analitlerle karışmaksızın ayırt edilebilmesi, seçicilik ise analitin, analiz edileceği matrikste doğru olarak tespit edilmesidir. Özgüllük/seçicilik çalışması için PCB içermeyen örnek ile, 10 µg/L derişiminde PCB ile zenginleştirilmiş örnek yukarıda belirtilen yöntemle özütlenerek cihaza uygulandı. Bunlardan elde edilen kromatogram 10 µg/L derişiminde hazırlanan PCB karışımı ile karşılaştırıldı (SANCO, 2013).

2.6.2. Doğrusallık (Linearity)

Doğrusallık çalışması için PCB karışımından derişimleri 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5; 10 ve 25 µg/L olacak şekilde 7 farklı seviyede ve her seviye için zenginleştirilmiş 6’şar örnek hazırlanarak cihaza 3’er kez enjeksiyonu yapıldı.

2.6.3. Tespit Limiti (Limit of Detection – LOD) ve Ölçüm Limiti (Limit of Quantification – LOQ)

En düşük kalibrasyon seviyesi olan 0,5 µg/kg’lık derişimde hazırlanan zenginleştirilmiş 20 örnek özütlendi. Bunların standart sapmalarının (Standard deviation - SD) 3,3 katı LOD, 10 katı LOQ olarak hesaplandı.

2.6.4. Geri Kazanım (Recovery)

Geri kazanım çalışması 2,5; 7,5 ve 25 µg/kg derişimlerinde olmak üzere 3 farklı seviyede zenginleştirilen 6'şar örnek analize alınarak yapıldı. Örneklerin sonuçları, saf standartlarla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı. Geri kazanım, aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı.

$$\% \text{ Geri Kazanım} = (\text{Bulunan Derişim} / \text{Teorik Derişim}) \times 100$$

Geri kazanım çalışması her bir matriks (salam, sucuk ve sosis) için, PCB içermeyen örneklerle tekrarlandı.

2.6.5. Doğruluk (Accuracy)

Bilinen miktarda PCB eklenen kör örneğin geri kazanım çalışmasının sonucuna göre hesaplanan RSD değerleri ile belirlendi. Değerlerin %20'nin altında bulunması ölçütü arandı (SANCO, 2013).

2.6.6. Kesinlik (Precision)

Kesinlik, tekrarlanabilirlik (repeatability) ve laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik (within-laboratory reproducibility) RSD değerlerine göre belirlendi.

2.6.6.1. Tekrarlanabilirlik (Repeatability)

Üç farklı derişimde (2,5; 7,5 ve 25 µg/kg) hazırlanan 6'şar örnek aynı kişi tarafından 2 farklı günde analize alınıp sonuçların RSD'lerine göre değerlendirildi.

2.6.6.2. Laboratuvar İçi Tekrar Üretilebilirlik (Reproducibility)

Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik, tekrarlanabilirlik çalışan kişiden farklı bir kişi tarafından farklı bir günde, üç farklı derişimde (2,5; 7,5 ve 25 $\mu\text{g/kg}$) hazırlanan 6'şar örnek, analize alınarak sonuçların RSD'lerine göre değeriendirildi.

2.7. Örneklerin Toplanması ve Analize Hazırlanması

Validasyonun tamamlanmasından sonra örneklerin analizi gerçekleştirildi. Ankara'daki 5 farklı marketten, 2015 yılı Ocak-Mart döneminde toplanan 5 farklı ticari firmaya ait 25'er salam, sucuk ve sosis örneğı (200 $\pm$ 50 g) analize kadar -20 °C'de derin dondurucuda bekletildi. Toplanan örneğlerin üretim tarihleri ve parti numaralarının ayrı olmasına önem verilmiştir. Analizden önce her bir örnek 6 saat oda sıcaklığında bekletildi. Her bir örneğten 100 g alınarak küçük parçalara ayrıldı. Sıcaklığı 60 °C'ye ayarlanmış etüvde tutularak 10 g yağ elde edildi. Karıştırılıp homojenize edilen bu yağın 1 g'ı analize alındı.

Tüm analizler, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Örnekler 25'li gruplar halinde 3 günde çalışıldı. Her çalışma dizisinde önce çözücü verilerek GC-MS'in kirlilik durumu kontrol edildi. Ardından saf standart verilerek analitlerin geliş zamanlarında kayma olup olmadığı kontrol edildi.

3. BULGULAR

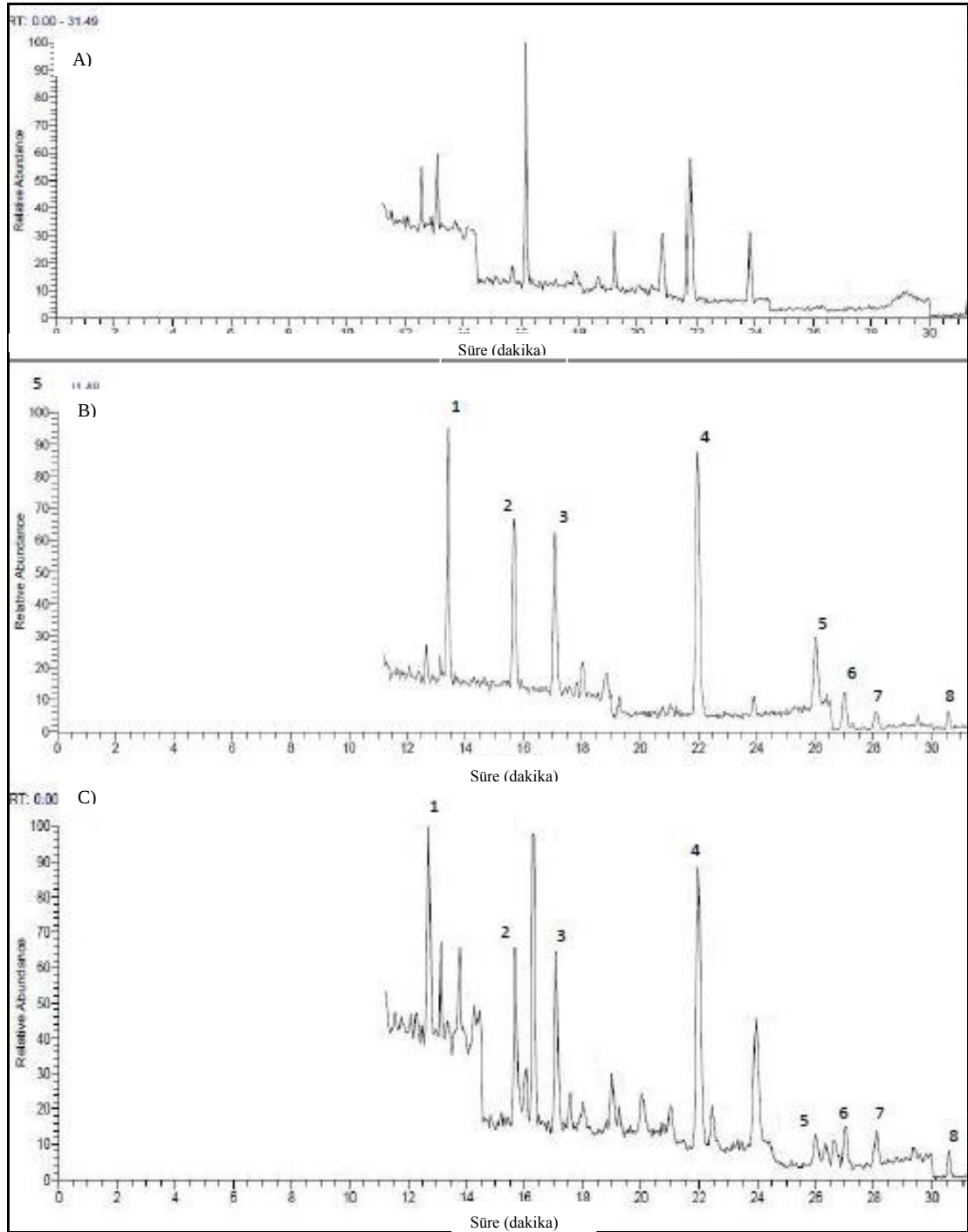
Analitlerin çıkış zamanları ve seçilen SIM iyonları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Analitlerin çıkış zamanları ve SIM iyonları.

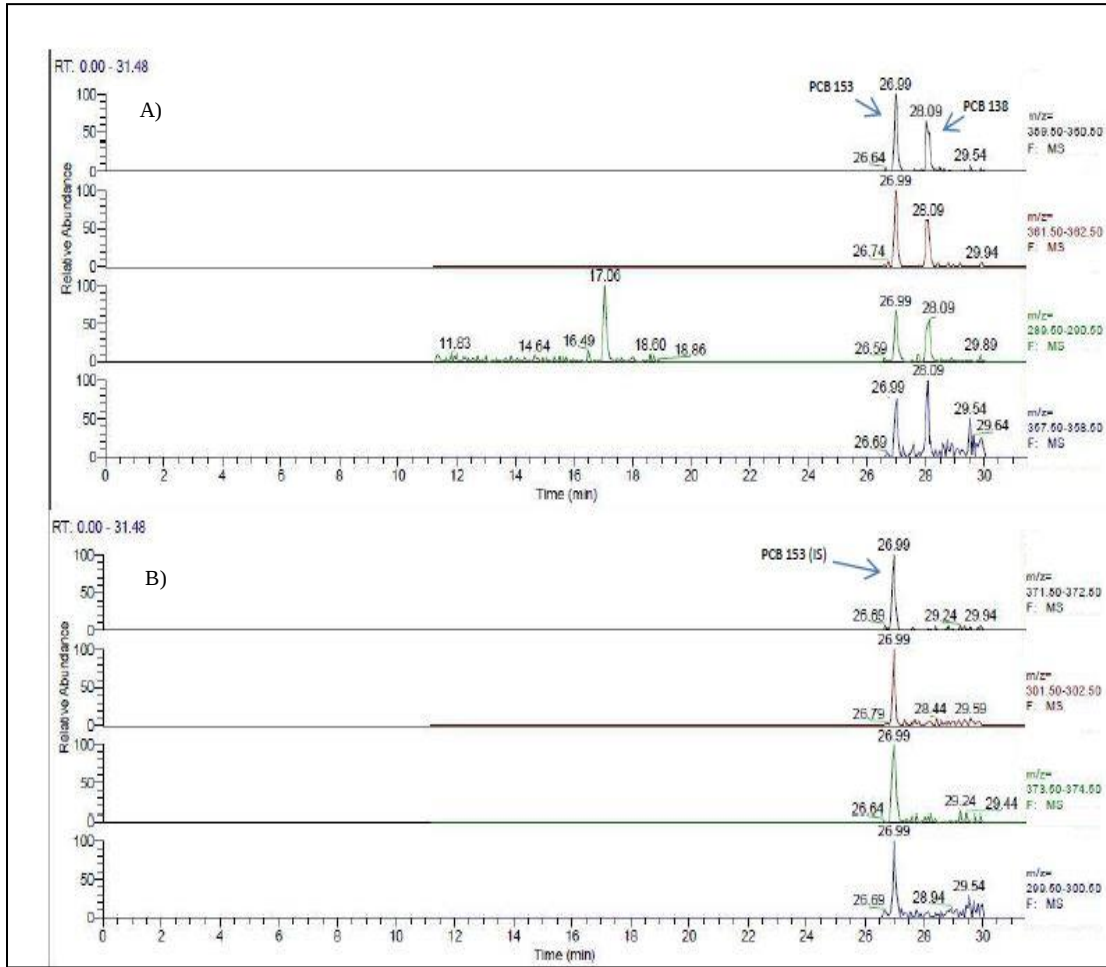
PCB	Çıkış zamanı (dakika)	SIM İyonlar***
PCB 28	15,7	256, 186, 260, 258
PCB 30*	13,41	256, 186, 260, 258
PCB 52	17,08	292, 220, 257, 290
PCB 101	21,96	326, 254, 328, 324
PCB 118	26,02	326, 328, 324, 254
PCB 153	26,99	360, 290, 362, 358
PCB 153**	26,99	302, 300, 372, 374
PCB 138	28,09	360, 290, 362, 358
PCB 180	30,58	394, 396, 324, 326

(*Enjeksiyon internal standardı, ** $^{13}\text{C}_{12}$ ile işaretlenmiş internal standart, *** Siyahla işaretlenmiş olanlar niceleyici, diğerleri nitelendirici iyonlardır).

Yöntemin özgüllük/seçiciliğinin belirlenmesi amacıyla elde edilen kromatogramlar Şekil 3.1’de verilmiştir. Böylece matriksten gelen pikler ile standart piklerinin birbirine karışmadığı belirlendi. İnternal standart olarak kullanılan izotop PCB 153 ile analit olan PCB 153’ün geliş zamanları aynı olmakla birlikte, iyonları farklıdır. Karşılaştırma amacıyla iki PCB’ye ait SIM grafikleri Şekil 3.2’de verilmiştir. Çözücü piki ve matriksten gelen kirliliklerin görüntülenmemesi için MS taraması 11. dakikadan sonra başlatıldı.



Şekil 3.1. A) PCB içermeyen iç yağa ait kromatogram. B) PCB'lerin 10 $\mu\text{g/L}$ 'lik çalışma çözeltisinden elde edilen kromatogram. C) PCB'lerin 10 $\mu\text{g/L}$ derişiminde zenginleştirilmiş iç yağ kromatogramı, 1-PCB 30; 2-PCB 28; 3-PCB 52; 4-PCB 101; 5-PCB 118; 6-PCB 153; 7-PCB 138; 8-PCB 180.

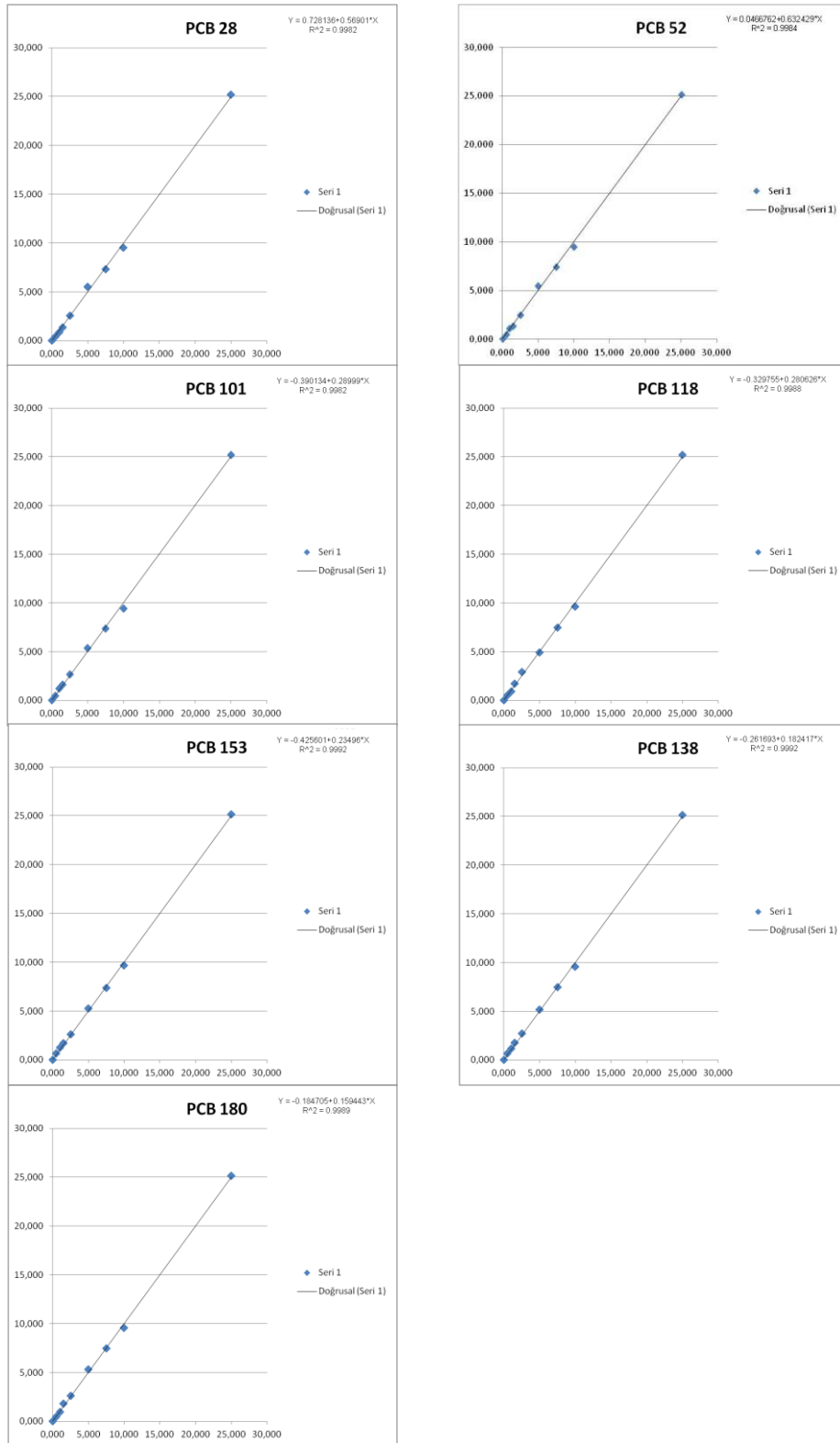


Şekil 3.2. A) PCB 153 ve PCB 138'in SIM; B) İnternal Standart (PCB 153 - $^{13}\text{C}_{12}$)'in SIM iyonları.

Doğrusallığın belirlenmesi için çizilen kalibrasyon eğrilerinden hesaplanan korelasyon katsayıları (r^2) 0,9982-0,9992 aralığında bulundu. Her bir PCB için hesaplanan r^2 değerleri ile LOD ve LOQ değerleri Çizelge 3.2'de, kalibrasyon eğrileri ise Şekil 3.3'te verilmiştir.

PCB	Lineer aralık ($\mu\text{g/kg}$)	r^2	LOD ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)
PCB 28	0,5-25	0,9982	0,144	0,479
PCB 52	0,5-25	0,9984	0,151	0,503
PCB 101	0,5-25	0,9982	0,257	0,857
PCB 118	0,5-25	0,9988	0,266	0,886
PCB 153	0,5-25	0,9992	0,250	0,832
PCB 138	0,5-25	0,9992	0,226	0,754
PCB 180	0,5-25	0,9989	0,382	1,274

Çizelge 3.2. Her bir PCB için yapılan lineer ölçüm aralıkları ile hesaplanan korelasyon katsayıları ve LOD ve LOQ değerleri.



Şekil 3.3. PCB'lere ait kalibrasyon grafikleri (x= zenginleştirme miktarı, y=ölçülen miktar).

Sığır iç yağında yapılan validasyon çalışmasında geri kazanım değerleri %88,6-104,6 arasında bulunmuştur. Matriks etkisini bertaraf etmek için örneklerde yapılan geri kazanım çalışmasında, sucuk için %97,1-100,2 salam için %97 -102 ve sosis için %97,3-107,7 aralığında bulundu (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. İç yağ, sucuk, salam ve sosis örneklerinde geri kazanım ve RSD değerleri.

		PCB 28			PCB 52			PCB 101			PCB 118			PCB 138			PCB 153			PCB 180		
İç Yağ	Derişim (µg/kg)	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0
	Geri kazanım (%)	98,6	98,6	99,9	99,6	98,9	104,6	97,9	99,1	96,7	97,0	99,4	94,8	99,2	99,9	97,3	100,7	97,6	88,9	95,4	99,8	97,6
	RSD (%)	5,3	2	3,2	2,7	0,7	3	1,7	1	2,4	2,7	0,8	1,5	2,3	0,6	2,7	2,1	2,4	5,3	4,4	0,7	1,4
	Ortalama Geri Kazanım (%)	99			101			97,9			97,1			98,8			95,7			97,6		
	Ortalama RSD (%)	3,5			2,1			1,7			1,7			1,9			3,3			2,2		
Sucuk	Derişim (µg/kg)	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0
	Geri kazanım (%)	98,3	99,5	98,9	99,6	99,7	99	97,4	100,2	98,9	98,8	99,8	98,4	98,1	99,3	97,1	98,1	99,8	98,4	97,9	99,0	98,0
	RSD (%)	1,8	0,5	3,2	1,9	0,8	2,4	3,6	1,4	2,7	3,0	1,1	3,2	2,5	0,8	3,5	3,5	0,4	3,3	3,9	1,4	3,5
	Ortalama Geri Kazanım (%)	98,9			99,4			98,8			99,0			98,2			99,0			98,3		
	Ortalama RSD (%)	1,9			1,7			2,6			2,4			2,2			2,4			3,0		
Salam	Derişim (µg/kg)	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0
	Geri kazanım (%)	98,9	99,2	99,2	98,6	100,0	98,2	99,2	99,3	98,0	101,2	99,4	99,6	102,0	99,2	97,6	97,0	100,0	99,6	98,5	99,5	97,9
	RSD (%)	3,2	1,3	4,0	1,8	1,4	4,2	3,7	1,4	3,8	7,6	0,9	5,3	9,0	1,1	3,6	5,0	0,8	1,8	3,2	1,1	3,6
	Ortalama Geri Kazanım (%)	99,1			98,9			98,9			100,1			99,6			98,6			98,6		
	Ortalama RSD (%)	2,9			2,5			3,00			4,6			4,6			4,6			2,6		
Sosis	Derişim (µg/kg)	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0	2,5	7,5	25,0
	Geri kazanım (%)	100,3	100,3	98,3	98,1	100,0	97,6	107,7	99,3	98,9	103,0	99,7	97,5	97,4	99,0	98,2	97,3	99,5	99,1	100,3	99,2	97,3
	RSD (%)	2,3	1,4	3,0	3,3	1,4	4,0	3,8	1,4	3,5	7,8	1,2	3,6	2,7	1,0	2,9	2,4	0,8	6,8	4,3	1,3	3,5
	Ortalama Geri Kazanım (%)	99,6			98,6			102,0			100,1			98,2			98,6			98,9		
	Ortalama RSD (%)	2,2			2,9			2,9			4,2			2,2			3,3			3,0		

Doğruluk ölçütü, geri kazanım çalışmasının %RSD değerlerinin 20'nin altında olmasıdır. Üç derişimdeki (2,5; 7,5; ve 25 µg/L) %RSD değerleri 0,4-9 arasındadır (Çizelge 3.3).

Tekrarlanabilirliğin hesaplanması için 2,5; 7,5; ve 25 µg/L seviyelerinde 6'şar örnek çalışılarak RSD değerleri hesaplandı. Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik için 2 farklı kişi tarafından, farklı günlerde, 3 farklı seviyede, 6'şar tekrar yapılarak

hesaplanan RSD değerleri SANCO (2013) ölçütlerine uygundur. Hesaplanan değerler Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Tekrarlanabilirlik ve laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik değerleri.

		Tekrarlanabilirlik		Laboratuvar İçi Tekrar Üretilirlik	
	Derişim $\mu\text{g/L}$	%RSD	Ortalama RSD	%RSD	Ortalama RSD
PCB 28	2,5	4,588	5,9	4,095	4,7
	7,5	6,534		4,985	
	25,0	6,534		5,066	
PCB 52	2,5	3,153	4,0	3,263	3,5
	7,5	3,923		3,044	
	25,0	4,980		4,280	
PCB 101	2,5	3,821	3,5	3,984	3,0
	7,5	2,990		1,400	
	25,0	3,762		3,632	
PCB 118	2,5	3,024	3,0	3,041	3,3
	7,5	2,932		2,550	
	25,0	3,039		4,222	
PCB 153	2,5	2,951	4,9	3,383	4,4
	7,5	5,873		4,513	
	25,0	5,868		5,202	
PCB 138	2,5	6,086	4,7	4,831	3,8
	7,5	2,601		1,979	
	25,0	5,294		4,480	
PCB 180	2,5	7,695	4,6	6,119	3,8
	7,5	1,035		0,939	
	25,0	5,146		4,480	

Sucuk örneklerinin birinde 0,906 $\mu\text{g/kg}$ PCB 138, birinde 1,472 $\mu\text{g/kg}$ PCB 52 ve 0,409 $\mu\text{g/kg}$ PCB 153 (toplam 1,881 $\mu\text{g/kg}$ PCB), birinde 0,989 $\mu\text{g/kg}$ PCB 118, birinde 0,656 $\mu\text{g/kg}$ PCB 28 ve 1,056 $\mu\text{g/kg}$ PCB 52 (toplam 1,712 $\mu\text{g/kg}$ PCB) bulunmuştur. Buna göre 25 sucuk örneğinin sadece 4’ünde (%16) PCB kalıntısına rastlanmıştır.

Sosis örneklerinin birinde 0,575 $\mu\text{g/kg}$ PCB 118 ve 0,763 $\mu\text{g/kg}$ PCB 180 (toplam 1,338 $\mu\text{g/kg}$ PCB), birinde 0,744 $\mu\text{g/kg}$ PCB 118, birinde 0,407 $\mu\text{g/kg}$ PCB 180 bulunmuştur. Buna göre 25 sosis örneğinin sadece 3’ünde (%12) PCB kalıntısına rastlanmıştır.

Salam örneklerinin 4'ünde ayrı ayrı 0,634; 1,142; 1,376 ve 1,053 µg/kg PCB 28, sonuncusunda ayrıca 1,757 µg/kg PCB 101 ve 1,126 µg/kg PCB 118 (toplam 3,936 µg/kg PCB) bulunmuştur. Buna göre bulunma sıklığı %16 olarak hesaplanmıştır. Örnek sonuçları Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. PCB tespit edilen örneklerdeki miktarlar, (TE=Tespit edilemedi).

		PCB 28	PCB 52	PCB 101	PCB 118	PCB 153	PCB 138	PCB 180	ΣPCB*
SUCUK (n=25)	1	TE	TE	TE	TE	TE	0,906	TE	0,906
	2	TE	1,472	TE	TE	0,409	TE	TE	1,881
	3	TE	TE	TE	0,989	TE	TE	TE	0,989
	4	0,656	1,056	TE	TE	TE	TE	TE	1,712
SOSİS (n=25)	1	TE	TE	TE	0,575	TE	TE	0,763	1,338
	2	TE	TE	TE	0,744	TE	TE	TE	0,744
	3	TE	TE	TE	TE	TE	TE	0,407	0,407
SALAM (n=25)	1	0,634	TE	TE	TE	TE	TE	TE	0,634
	2	1,142	TE	TE	TE	TE	TE	TE	1,142
	3	1,376	TE	TE	TE	TE	TE	TE	1,376
	4	1,053	TE	1,757	1,126	TE	TE	TE	3,936

(*Toplam PCB miktarı).

4. TARTIŞMA

Yağlı örneklerden yağın özütlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan yöntemlerin Sokslet özütleme (SE), ASE ve MAE olduğu bildirilmesine rağmen (Wang ve ark., 2010), bu çalışmada örneklerden yağın özütlenmesi, her laboratuvarında rahatça bulunabilecek etüv kullanılarak yapılmıştır. Adı geçen 3 yöntemde de özütleme için özel ve pahalı cihazlara ihtiyaç duyulması, ayrıca SE ve ASE için fazla miktarda çözücü kullanılması, daha ekonomik ve kısa olan böyle bir yöntemin tercih edilmesine neden olmuştur. Kim ve ark. (2013) tarafından sığır iç yağlarında 80 °C'ye kadar ısıtılarak kullanılan bu yöntemde artan sıcaklık ve özütleme süresinin, yağların yapısını gözle görülür şekilde değiştirebileceği bildirildiğinden, özütleme işlemi için 60 °C'lik etüvde 60 dk ısı yeterli görülmüştür.

Yağın ayrılmasından sonraki basamak, PCB'lerin yağdan özütlenmesi ve özütün temizlenmesidir (Hu ve ark., 2009). Burada çözücü seçimi önem taşımaktadır. Hu ve ark. (2009) tarafından balık örneklerinde PCB kalıntılarının araştırıldığı çalışmada, özütleme için aseton, asetonitril ve metanolün karşılaştırıldığı, en iyi sonucu vermesi ve fiyatının daha düşük olması nedeniyle asetonun tercih edildiği bildirilmiştir. Aynı şekilde burada yapılan çalışmada asetonitril ve metanol kullanıldığında özütün daha temiz olduğu, fakat yağ ile tamamen karışmadığı, asetonun ise yağı tamamen eriterek karıştığı gözlemlendi. Bu nedenle çalışmada aseton tercih edildi.

Özütleme işleminin en önemli ilkesi matriks ile çözücünün temasının artırılmasıdır (Vilkhue ve ark., 2008). Sun ve ark. (2015) ile Hong ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmalarda, balıklardan PCB'lerin özütlenmesi için sonikasyon kullanıldığı ve bu uygulamanın, matriks ile çözücülerin temasını artırdığı, böylece özütleme hızı ve miktarında artış görüldüğü belirtilmiştir. Aynı şekilde Rezaei ve Hosseini (2011) kullanılan sonikasyonun, organik klorluların özütlenmesini artırdığını göstermişlerdir. Bu bilgilerin değerlendirilmesiyle yapılan çalışmada 1 g yağın üzerine 7 mL aseton eklenip 35 °C'de 10 dakika sonikasyon uygulanarak

yapılan özütlemenin yağın sıvı halde homojen bir şekilde çözünmesi için yeterli olabileceği gözlenmiştir.

Özütleme işleminin en önemli aşamalarından birisi de temizlemedir. Hu ve ark. (2009) ile Liu ve ark. (2009) tarafından balıklarda yapılan çalışmalarda temizlemenin dondurarak sağlandığı ve bu amaçla özütün -80 °C’de bir gece bekletildiği bildirilmiştir. Bu şekilde yapılan temizlemenin, sıkça tercih edilen sülfürik asit uygulamasıyla benzer sonuçlar verdiği ve asit kullanımına göre daha güvenli olduğu ileri sürülmüştür (Liu ve ark., 2009). Hong ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada ise özüt, -24 °C’de 30 dk bekletilerek yağlar dondurulmuş, ardından çözücü filtreden geçirilmiştir. Bu çalışmalarda ilave temizleme uygulanmamıştır. Mevcut çalışmada ise uygulamasının kolay ve etkili olması nedeniyle özütün temizlenmesi amacıyla -20 °C’de 30 dk dondurma işlemi uygulandı. Fakat sadece dondurma işlemi uygulandığında yağların tamamının çökmediği, bir kısmının özüt içinde asılı kaldığı ve ancak filtre kullanılarak bunların elimine edilebileceği gözlemlendi. Bu uygulamanın getirdiği maliyet artışı ve uygulama süresinin uzunluğu nedeniyle, filtreleme işlemi yerine dondurma işlemi santrifüj uygulamasıyla birleştirildi. Böylece farklı süreler denenerek, 3500 devirde 30 dakika santrifüj uygulamak ve daha ileri temizleme işlemlerine tabii tutulmakla yeterli bir temizliğe ulaşılabildiği görüldü.

Hong ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada da sadece dondurarak yapılan temizlemenin yeterli olmadığı, ek olarak florisil kartuştan filtre etmek gerektiği belirtilmiştir. Yağlı örneklerde yapılan özütleme işlemlerinde, dondurma aşamasından sonra yapılan ileri temizleme aşamaları arasında da farklılıklar olabileceği bildirilmiştir. Örneğin yağlı gıdalarda pestisit kalıntılarının analiz edildiği bir çalışmada (Lehotay ve ark., 2005), d-SPE kullanılan QuEChERS yöntemi ile MSPD yöntemi karşılaştırılmıştır. Adı geçen çalışmada d-SPE olarak PSA ve C₁₈, MSPD’de ise florisil kartuşun kullanıldığı, sonuç olarak polar ve yarıpolar pestisitlerin geri kazanımlarında bir farklılık gözlenmediği, ancak artan yağ miktarı ile apolar pestisitlerin geri kazanımlarında düşüş olabileceği bildirilmiştir. Bu nedenle, yapılan çalışmada QuEChERS yönteminin uygulamasının MSPD’ye göre daha kolay olması, daha az çözücüye ihtiyaç duyulması, pahalı kartuşlara gereksinim

duyulmaması, kullanılacak olan adsorban miktarının ayarlanabilmesi gibi avantajlarından dolayı temizlik aşaması için d-SPE tercih edilmiştir. SPE’de kullanılacak çözücü de önem taşıdığından bunun için aseton, asetonitril ve metanol karşılaştırılmış ve en uygununun asetonitril olduğu tespit edilmiştir. Mastovska ve Lehotay (2004)’a göre aseton ve özellikle asetonitrilin pek çok d-SPE uygulaması için uygun olduğu, özellikle asetonitrilin, temizleme aşamasında hızlı ve etkili uygulamaya olanak sağladığı için tercih edildiği belirtilmiştir. Yapılan ön çalışmada asetonitrilin yağlarla tamamen karışmadığı tespit edilmiş olup, ayrıca d-SPE için tercih edilen bir çözücü olması ve yağları daha az çözerek kirliliği azaltması nedeniyle, evaporatörde uçurma işlemi sonrası kalıntının toplanması için asetonitril kullanılmıştır.

İleri temizleme işlemleri için araştırılması gereken diğer bir konu d-SPE’de kullanılacak adsorbanlardır.

Beyer ve Biziuk (2010), florisil, alümina, NH_2 , silika ve C_{18} içeren kartuşların temizlemedeki etkinliklerini kıyasladıkları bir araştırmada C_{18} ’nin yeterli temizleme sağlamadığı, florisil ve alümina kartuşun ise en iyi geri kazanım sonuçlarını verdiğini bildirmişlerdir. Öte yandan, QuEChERS yöntemiyle balıklarda PCB kalıntılarının araştırıldığı bir çalışmada, PSA ve C_{18} karışımının daha iyi bir temizleme kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Sapozhnikova ve Lehotay, 2013). Bu çalışmaların değerlendirilmesiyle mevcut çalışmada kullanılacak olan adsorbanın florisil, PSA veya $\text{PSA}+\text{C}_{18}$ olabileceği düşünüldü. Ancak yapılan denemelerde florisille iyi sonuç alınamaması, PSA ve $\text{PSA}+\text{C}_{18}$ ile daha temiz bir özütün elde edilmesi ve, daha ekonomik olması açısından sadece PSA tercih edildi. He ve Liu (2007) tarafından yapılan bir araştırmada da yağlı matriksler için PSA’nın asetonitril ile elüsyonunun tek başına yeterli olabileceğinin gösterilmesi bu sonucu destekler niteliktedir.

Kalıntı analizinde kullanılan GC kolonlarda analizi yapılan örneklerde bulunabilecek istenmeyen madde olan suyun tutulması için sodyum sülfat ve magnezyum sülfat gibi tuzların kullanıldığı, kullanılan tuzların da kolona zarar verebileceği bildirilmiştir. Mastovska ve Lehotay (2004)’a göre magnezyum sülfatın oda sıcaklığındaki asetonda çözündüğü asetonitrilde ise çözünmediği

gösterildiğinden su tutucu olarak asetonitrilde çözünmeyen magnezyum sülfat tercih edilmiştir.

Son olarak izooktanın, kullanılan diğer çözücülere göre düşük toksisiteli, nispeten yüksek kaynama derecesi (99 °C) ve düşük buhar basıncına (20 °C’de 5,1 kPa) sahip olması nedeniyle kuru kalıntının izooktanla toplanarak cihaza verilmesi tercih edilmiştir (Zhang ve Lee, 2012).

Yukarıda belirtilen yöntemin laboratuvara valide edilmesinden sonra yapılan analizlerde 75 örneğin 11’inde (%14,7) indicator PCB tespit edilmiştir. PCB varlığı tespit edilen toplam 11 örneğin 10’unda (%90,9) daha düşük klor sayılı PCB’ler (PCB 28 ve PCB 52), 4’ünde (%36,4) ise klorlanma sayısı yüksek olan PCB’ler (PCB 138, PCB 153 ve PCB 180) tespit edilmiştir. Bu sonuç, Schecter ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları ile örtüşmemektedir. ABD’de yapılan bu çalışmada, HD tipi sosiste PCB 138 ile PCB 153 miktarının diğer NDL-PCB’lere oranla daha yüksek tespit edildiği rapor edilmiştir. Öte yandan, Bayarri ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada salam yapımında kullanılan *Micrococcus varians*’ın organik klorlu bileşiklerin klorinasyon seviyelerini düşürdüğü, sosislerin olgunlaşma sürecinde ise yüksek klorlu PCB’lerin parçalanmadıkları tespit edilmiştir. Yine bir başka çalışmada (Abou-Arab, 2002), sosis yapımında kullanılan *Lactobacillus plantarum* ve *Micrococcus varians*’ın DDT (10%) ve lindanın (18%) klorlanma seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Bu çalışmaların sonucuyla uyumlu olarak, yapılan çalışmada PCB tespit edilen salam örneklerinin tamamında bulunan PCB 28’in, mikroorganizmaların neden olduğu deklorinasyon sonucu oluşmuş olabileceği düşünülmektedir. Sosis örneklerinde, salam ve sucuk örneklerinden farklı olarak PCB 180 bulunup, düşük klorlu PCB tespit edilememesi de bu çalışmalarla uyumludur. Wiegel ve Wu (2000) ile Borja ve ark. (2005), sıcaklık, pH ve karbon içeriği gibi pek çok bileşenin PCB parçalanmasını etkilediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde üretilen sosis ve salam örneklerinde tespit edilen PCB’lerin klorlanma seviyeleri arasındaki farklılık bu çalışmaların sonucuyla uyumludur. Arino ve ark. (1995), bakterilerin karbon kaynağı olarak enzimatik olarak parçaladıkları organik klorlu bileşikleri kullanabildiklerini tespit etmişlerdir. Başka çalışmalarda da (Wiegel ve Wu, 2000; Borja ve ark., 2005), bakterilerin karbon kaynağı olarak tercih ettikleri

PCB'lerin, para (4 ve 4') ve meta (3,3',5 ve 5') pozisyonunda klor atomu bulundurduğu gösterilmiştir PCB 52'de ise bu pozisyonda klor atomu bulunmamaktadır. Bu çalışmalar doğrultusunda, sucuk örneklerinde tespit edilen PCB 52'nin, yüksek klorlu PCB'lerin bozunması sonucu oluşmayıp kirletici olduğu düşünülmüştür. Abraham ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada ise mikroorganizmaların aerobik koşullar altında düşük klorlu PCB'leri, anaerobik koşullarda ise yüksek klorlu PCB'leri parçaladıkları gösterilmiştir. Sosis ve salam örneklerinden farklı olarak sucuk örneklerinde tespit edilen PCB 138 ve PCB 153'ün, yapım aşamasında uygulanan hava akımına bağlı olarak oluşan aerobik ortamla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ultrason aracılı dondurarak dispersif katı faz ekstraksiyonu (UAF-DSPE) ile düşük toksisiteli solvent kullanılmak suretiyle salam, sucuk, sosis yağlarından PCB bileşiklerinin GC-MS aracılığıyla analiz edilebileceğine ilişkin bir yöntem modifiye edilmiş ve laboratuvara uyarlanmıştır. Kullanılan solventin düşük toksisiteye sahip olması ve miktarının az olması, hem insan sağlığı hem de çevreye yönelik riski azaltırken analiz maliyetini de düşürmüştür. Sonikasyonun kullanılması analitlerin çözücüye geçiş hızını ve miktarını artırarak özütleme etkinliğini artırmış, analiz süresini kısaltmıştır. Soğutmalı santrifüj kullanılması, dondurarak yapılan temizlemenin etkinliğini artırarak uygulama süresinin benzer çalışmalara kıyasla kısılmasını sağlamış ve ilave filtrasyon işlemine olan ihtiyacı ortadan kaldırmıştır. Bunun sonucunda filtre kullanılmamış, zaman ve malzeme tasarrufu sağlanmıştır. Çalışma için uyarlanan yöntemin, pahalı ve özel ekipmanlar gerektirmemesi, kullanılan çözücülerin miktarlarının az, çevre için toksisitelerinin düşük olması, benzerlerine göre daha az zaman gerektirmesi, düşük maliyetli, etkili ve güvenilir olması “yeşil yöntem” tanımına uygunluğunu ortaya koyarak diğer geleneksel yöntemlerden üstünlüğünü göstermektedir.

Zehirlilikleri, çeşitlilikleri ve kimyasal yapılarındaki farklılıklar nedeniyle, maruz kalınan toplam PCB miktarını temsil etmeleri açısından önemli olan indikatör PCB’lerin, Türkiye’deki sığır eti kökenli ürünlerdeki mevcut durumunu belirlemek için yapılan örnek taramasında sucuk ve salam örneklerinin %16’sında, sosis örneklerinin ise %12’sinde değişik PCB bileşiklerinin varlığına rastlanmıştır. Bulunan en yüksek kalıntının 3,936 µg/kg (PCB 28, 101 ve 118 toplamı) ile salam örneğinde görülmesiyle, analiz edilen tüm örneklerin Türkiye’deki yasal tolerans limitine uygun olduğu (Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, MRL <40 µg yağ/kg) sonucuna varılmıştır.

Valide edilen bu yöntemin, benzer yapıları bileşiklerin taranması için kullanılabileceği düşünülmektedir.

ÖZET

Sığır Etinden Yapılan Salam, Sucuk ve Sosiste İndikatör Poliklorlu Bifenil (PCB) Kalıntılarının Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometri (GC-MS) İle Belirlenmesi

Poliklorlu bifenil (PCB) bileşikler geçmişte sanayide geniş bir şekilde kullanıldıklarından çevrede ve gıdalarda yaygın bir şekilde bulunurlar. Ancak endokrin bozucu etkiye yol açarak sağlığı olumsuz yönde etkilediklerinden uluslararası alanda sınırlandırmalara maruz kalmışlardır. Gıdalarda bulunan PCB kalıntıları insanlara yönelik olumsuz etkileri nedeniyle gıda güvenliğinde endişeye neden olmuşlardır. Bu nedenle gıdanın güvenli bir şekilde tüketilebilmesini sağlamak için kalıntı analizlerinde basit ve duyarlı analitik yöntemlerin geliştirilmesi gereklidir. Salam, sucuk ve sosise bir veya birden çok hayvan türünden köken alan fermente et ürünleridir. Taze etin sağlanmasının yetersiz olduğu veya lezzetinin artırılması istendiğinde yapılan bu et ürünleri, yaklaşık 30-40 gün boyunca oda ısısında bozulmadan saklanabildiklerinden Türkiye’de geleneksel olarak tüketilmektedirler.

Bu çalışmada Ocak ve Mart 2015 döneminde Ankara’da 5 farklı marketten alınan 5 farklı üreticiye ait, 25 salam, 25 sosise ve 25 sucuk (toplam 75) örneğinde indikatör PCB (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) ve PCB 118’in kalıntıları araştırıldı. Her bir et ürünü örneğinden 60 °C fırında tutulmak suretiyle 10 g yağ çıkarıldı. Bundan 1 g yağ alınarak santrifüj tüpüne konuldu. Üzerine 25 µL ¹³C₁₂ ile işaretlenmiş internal standart ilave edilerek oda sıcaklığında 30 dk beklendi. Üzerlerine 7 mL aseton eklenerek 35 °C’lik (±1°C) ultrasonik banyoda 10 dk homojenize edilmiştir. Ekstrakt daha sonra soğutmalı santrifüjle (-20 °C) 30 dk 3 500 rpm’de santrifüj edildi ve alınan süpernatant evaporatörle kuruyana kadar uçuruldu. Kuru ekstrakt 2 mL asetonitrille çözüldü ve üzerine 400 mg primer sekonder amin (PSA) ve 600 mg magnezyum sülfat eklendi. Tüp 30 saniye elle çalkalandı ve daha sonra 4 500 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Son olarak, alınan üst kısım kurutuldu ve 100 µL izooktanla toplanarak GC-MS cihazına uygulandı. Optimize prosedür valide edildi. Her bir PCB için 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5; 10 ve 25 µg kg⁻¹ derişimlerinde yapılan zenginleştirmelerle matris-match kalibrasyon eğrileri uygulandı. Tüm PCB’lerin lineer ölçüm aralıklarında korelasyon katsayıları 0,99’dan yüksek çıktı (r²>0,995). LOD ve LOQ değerleri sırasıyla ortalama 0,230 (+0,152) µg kg⁻¹ and ve 0,768 (+0,508) µg kg⁻¹ olarak belirlendi. Üç zenginleştirme derişiminde (2,5; 7,5 ve 25 µg kg⁻¹) geri kazanım değerleri %88,9 ile %104,6 arasında ve nispi standart sapma (Relative standard deviation – RSD) değerleri %5,9’ten daha düşük olarak belirlendi. Bu yöntem, nispeten düşük toksisiteli solventlerin daha az miktarda kullanılması nedeniyle diğer yöntemlere göre daha ekonomik ve çevre dostu olarak belirlendi.

Valide edilen yöntem et ürünlerinde PCB kalıntılarının belirlenmesinde başarıyla kullanıldı. Sonuçlar et ürünlerinde PCB’lerin bulunabileceğini ancak bulunan değerlerin hepsinin AB mevzuatına uygun hale getirilen Türkiye’deki yasal tolerans limitlerine uygun olduğunu (yağda 40 µg kg⁻¹) gösterdi.

Anahtar Sözcükler: Kalıntı, PCB, Salam, Sosise, Sucuk.

SUMMARY

Determination of Indicator Polychlorinated Biphenils (PCBs) Residues in Salami, Soudjouk and Sausage by Gas Chromatograph - Mass Spectrometry (GC-MS)

Polychlorinated biphenyls (PCBs) were ubiquitously found in the environment and in many kinds of food since they were previously used in various industrial applications widely. These chemicals were subjected to restrictions internationally due to their adverse health effects including endocrine disruption. PCB residues in food present a concern in food safety programs. Simple and sensitive analytical methods are needed to monitor the residues and ensure that the food is safe for consumption. Salami, soudjouk and sausage are fermented and air-dried meat products, originating from one or a variety of animals. Since they can be stored at room temperature for periods of up to 30-40 days once cut, supplementing a possibly meager or inconsistent supply of fresh meat, these products are widely consumed and has a traditional value in Turkey. In the current study, we evaluated indicator PCBs (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) and PCB 118 residues in 75 samples of bovine meat products (salami, soudjouk and sausage) collected from five different regions of Turkey, between January and March 2015.

Fat from each sample (10 g) was melted in an oven at 60 °C, and one gram of it was weighted in a 50 mL polypropylene centrifuge tube and extracted with 7 mL acetone for 10 min, using ultrasound system at 35 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$). The sample was then centrifuged at 3 500 rpm for 30 min at -20 °C and dried by rotary evaporator. Dry extract was collected by 2 mL acetonitrile and 400 mg primary secondary amine (PSA) and 600 mg magnesium sulphate were added. The tube was then shaken vigorously for 30 second and centrifuged for 10 min at 4 500 rpm. Finally the sample was dried and collected by 100 μL isooctane and applied to GC-MS. The optimized procedure was validated. Meat products samples free of PCBs were spiked at 7 concentration levels (0; 1; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 25,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$) of selected PCBs, and used to prepare a series of matrix-matched calibration curves. The samples were measured using this optimized procedure. The linearity was satisfactory in all cases with correlation coefficients $\geq 0,995$. The limits of determination and the limits of quantification were 0,230 (+0,152) $\mu\text{g L}^{-1}$ and 0,768 (+0,508) $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectively. The recoveries at 3 spiking concentrations (2,5; 7,5 and 25 $\mu\text{g kg}^{-1}$) were in the range of 88,9 % to 104,6 % and the relative standard deviations were less than 5,9 %. This validated method were found to be more economic and ecofriendly, since it uses less amount of extraction solvents which are less toxic as well.

The validated method has been successfully applied to the analysis of selected PCBs in meat products with satisfactory results. These results indicate the presence of PCBs in some meat product, on the other hand the levels were all found to be below maximum residue limit that established for animal origin food products in Turkey (40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ fat) in accordance to EU levels.

Key Words: PCB, Residue, Salami, Sausage, Soudjouk.

KAYNAKLAR

- ABRAHAM, W. R., NOGALES, B., GOLYSHIN, P. N., PIEPER, D. H., TIMMIS, K. N. (2002). Polychlorinated biphenyl-degrading microbial communities in soils and sediments. *Curr. Opin. Microbiol.*, **5**: 246-253.
- ANASTASSIADES, M., LEHOTAY, S. J.; ŠTAJNBAHER, D., SCHENCK, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.*, **86**: 412-431.
- ANDRÉE, S., JIRA, W., SCHWIND, K. H., WAGNER, H., SCHWÄGELE, F. (2010). Chemical safety of meat and meat products. *Meat Sci.*, **86**: 38-48.
- ANON. (2005). EuroPCB: Inventory PCB Enforcement in Member States. PartII: Fiches Results for Each Member State. Erişim: [http://www.cleen-europe.eu/file/download/71/EuroPCB_part_I_final.pdf]. Erişim Tarihi: 15.04.2015.
- ARINO, A., LAZARO, R., CONCHELLO, P., BAYARRI, S., HERRERA, A. (1995). The effect of processing on incurred residues of DDE in meat products. *Food Addit. Contam.* **12**: 559-566.
- ARNICH, N., TARD, A., LEBLANC, J. C., LE BIZEC, B., NARBONNE, J. F., MAXIMILIEN, R. (2009). Dietary intake of non-dioxin-like PCBs (NDL-PCBs) in France, impact of maximum levels in some foodstuffs. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **54**: 287–293.
- ASVOLD, B. O., VATTEN, L. J., NILSEN, T. I., BJORO, T. (2007) . The association between TSH within the reference range and serum lipid concentrations in a population-based study . The HUNT Study. *Eur. J. Endocrinol.*, **156**:181-6.
- BACHOUR, G., FAILING, K., GEORGII, S., ELMADFA, I., BRUNN, H. (1998). Species and organ dependence of PCB contamination in fish, foxes, roe deer, and humans. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **35**: 666-673.
- BALLSCHMITER, K. AND ZELL, M. (1980). Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **302**: 20.
- BARKER, S. A. (2007). Matrix solid phase dispersion (MSPD). *J. Biochem. Biophys. Methods*, **70**: 151-162.
- BAYARRI, S., HERRERA, A., CONCHELLO, M. P., ARİNO, A. A., LA'ZARO, R., YAGU, C. (1998). Influence of meat processing and meat starter microorganisms on the degradation of organochlorine contaminants. *J. Agric. Food Chem.*, **46**: 3187-3193.
- BEYER, A., BIZIUK, M. (2008). Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. *Food Chem.*, **108**: 669-680.
- BEYER, M., BIZIUK, M. (2010). Comparison of efficiency of different sorbents used during clean-up of extracts for determination of polychlorinated biphenyls and pesticide residues in low-fat food. *Food Res. Int.*, **43**: 83-837.
- BOIX, J., CAULI, O. (2012). Alteration of serotonin system by polychlorinated biphenyls exposure. *Neurochem. Interna.*, **60**: 809-816.
- BORJA, J., TALEON, D. M., AURESENIA, J., GALLARDO, S. (2005). Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochem.* **40**: 1999-2013.

- BREIVIK, K., SWEETMAN, A., PACYNA, J., JONES, K. (2002). Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners a mass balance approach 1. Global production and consumption. *Sci. Total Environ.*, **290**: 181-98.
- CASTILLO, M., GONZALEZ, C., MIRALLES, A. (2011). An evaluation method for determination of non-polar pesticide residues in animal fat samples by using dispersive solid-phase extraction clean-up and GC-MS. *Anal. Bioanal. Chem.*, **400**: 1315-1328.
- CONNOR, K., RAMAMOORTHY, K., MOORE, M., MUSTAIN, M., CHEN, I., SAFE, S. (1997) . Hydroxylated polychlorinated biphenyls (PCBs) as estrogens and antiestrogens: structure-activity relationships. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **145**: 111-23 .
- COSTABEBER, I., DOS SANTOS, J. S., ODORISSI XAVIER, A. A., WEBER, J., LEAL LEAES, F., JUNIOR, S., EMANUELLI, T. B. (2006). Levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) in meat and meat products from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Food Chem. Toxicol.*, **44**: 1-7.
- DARNERUD, P. O., ATUMA, S., AUNE, M., BJERSELIUS, R., GLYNN, A., PETERSSON GRAWE, K., BECKER, W. (2006). Dietary intake estimations of organohalogen contaminants (dioxins, PCB, PBDE and chlorinated pesticides, e.g. DDT) based on Swedish market basket data. *Food Chem. Toxicol.*, **44**: 1597-1606.
- DE BOER, J., SMEDES, F. (1997). Effects of storage conditions of biological materials on the contents of organochlorine compounds and mercury. *Mar. Pollut. Bull.*, **35**: 93-108.
- DEWAILLY, E., MULVAD, G., PEDERSEN, H. S., AYOTTE, P., DEMERS, A., WEBER, J. P., HANSEN, J.C. (1999). Concentration of organochlorines in human brain, liver, and adipose tissue autopsy samples from Greenland. *Environ. Health Perspect.*, **107**: 823-828.
- ECOLOGICAL RISK ASSESSMENT SUPPORT CENTER (ERASC), (2003). Non-Dioxin-Like PCBs: Effects And Consideration In Ecological Risk Assessment. Erişim: [<http://www.epa.gov/oswer/riskassessment/pdf/1340-erasc-003.pdf>]. Erişim Tarihi: 15.04.2015.
- EFSA. (2010). Results of the monitoring of non dioxin-like PCBs in food and feed. *EFSA Journal.*, **8**: 1701.
- EGUCHI, A., NOMIYAMA, K., DEVANATHAN, G., SUBRAMANIAN, A., BULBULE, K. A., PARTHASARATHY, P., TAKAHASHI, S., TANABE, S. (2012) Different profiles of anthropogenic and naturally produced organohalogen compounds in serum from residents living near a coastal area and e-waste recycling workers in India. *Environ. Int.*, **47**: 8-16.
- ESPOSITO, M., IMPARATO, E., CASTELLANO, V., GUADAGNUOLO, G., SERPE, L. (2001). Polychlorinated biphenyls (PCB) monitoring on food of animal origin. *Industrie Alimentari*, **40**: 29-32.
- EU, (2011). COMMISSION REGULATION (EU) No 1259/2011 Maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. Erişim: [https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Reg1259_2011.pdf]. Erişim Tarihi: 15.04.2015.
- EUROPCB: Inventory PCB Enforcement in Member States. PartII: Fiches Results for Each Member State (2005). Erişim: [http://www.cleen-europe.eu/file/download/71/EuroPCB_part_II_fiches_%20final.pdf]. Erişim Tarihi: 15.04.2015.
- FÄNGSTROM, B., ATHANASIADOUM, G. P., WEIHE, P., BERGMAN, Å. (2002) Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ. Health Perspect.*, **110**: 895-899.

- FERENC, A.Z., BIZIUK, M. (2006). Solid Phase Extraction Technique – Trends, Opportunities and Applications. *Polish J. Environ. Stud.*, **15**: 677-690.
- FUKUNAGA, B. N., PROBST, M. R., REISZ-PORSZASZ, S., HANKINSON, O. (1995). Identification of functional domains of the aryl hydrocarbon receptor. *J. Biol. Chem.*, **270**: 29270-8.
- GANZLER, K., SALGO, A., VALKO, K. (1986). Microwave extraction : A novel sample preparation method for chromatography. *J. Chromatogr. A*, **371**: 299-306.
- GARCIA-RODRIGUEZ, D., CARRO-DIAZ A., LORENZO-FERREIRA, R. (2008). Supercritical fluid extraction of polyhalogenated pollutants from aquaculture and marine environmental samples: a review. *J. Sep. Sci.*, **32**: 1333-1345.
- GASCON, M., MORALES, E., SUNYER, J., VRIJHEID, J. (2013). Effects of persistent organic pollutants on the developing respiratory and immune systems: A systematic review. *Environ. Intern.*, **52**: 51-65.
- GAYLOR, M. O., HARVEY, E., HALE, R. C. (2015). Systematic Investigation of Factors Controlling Supercritical Fluid Extraction (SFE) of Spiked and Aged PCBs from Edible Tissues of the Blue Crab (*Callinectes sapidus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **94**: 23-28.
- GEDİK, K., İMAMOĞLU, I. (2013). Levels, Distribution, and Sources of Polychlorinated Biphenyls in Sediments of Lake Eymir, Turkey. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **65**: 203-211.
- GIOIA, R., JAMES, A., SUNDAY, A., ADEBUSOYE, A., ASANTE, K. A., TANABE, S., BUEKENS, A., SASCO, A. J. (2014). Polychlorinated biphenyls (PCBs) in Africa: A review of environmental levels. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **21**: 6278-6289.
- GLADEN, B. C., RAGAN, N., ROGAN, W. (2000). Pubertal growth and development and prenatal and lactational exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene. *J. Pediatr.*, **136**: 490-496.
- GRASSI, P., FATTORE, E., GENEROSO, C., FANELLI, R., ARVATI, M., ZUCCATO, E. (2010). Polychlorobiphenyls (PCBs), polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in fruit and vegetables from an industrial area in northern Italy. *Chemosphere.*, **79**: 292-298.
- GUVENIUS, D. M., ARONSSON, A., EKMAN-ORDEBERG, G., BERGMAN, A., NOREN, K. (2003) Human prenatal and postnatal exposure to polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, polychlorobiphenylols, and pentachlorophenol. *Environ. Health Perspect.*, **111**: 1235-1241.
- HE, Y., LIU, Y.H. (2007). Assessment of Primary and Secondary Amine Adsorbents and Elution Solvents with or without Graphitized Carbon for the SPE Clean-Up of Food Extracts in Pesticide Residue Analysis. *Chromatographia*, **65**: 581-590.
- HEILMANN, C., GRANDJEAN, P., WEIHE, P., NIELSEN, F. (2006). Budtz-Jorgensen E. Reduced antibody responses to vaccinations in children exposed to polychlorinated biphenyls. *PLoS. Med.*, **3**: 311.
- HERTZ-PICCIOTTO, I., CHARLES, M.J., JAMES, R.A., KELLER, J.A., WILLMAN, E., TEPLIN, S. (2005). In utero polychlorinated biphenyl exposures in relation to fetal and early childhood growth. *Epidemiology*, **16**: 648-656.
- HOGARH, J. N., SEIKE, N., KOBARA, Y., HABIB, A., NAMD, J. J., LEE, J. S., LI, Q., LIU, X., LI, J., ZHANG, G., MASUNAGA, S. (2012). Passive air monitoring of PCBs and PCNs across

- East Asia: A comprehensive congener evaluation for source characterization. *Chemosphere.*, **86**: 718-726.
- HONG, J., KIM, H. Y., KIM, D. G., SEO, J., KIM, K. J. (2004). Rapid determination of chlorinated pesticides in fish by freezing-lipid filtration, solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **1038**: 27-35.
- HOVANDER, L. (2006) Polychlorinated biphenyls and their metabolites in human blood: method development, identification and quantification. Doctoral Thesis. Department of Environmental Chemistry, University of Stockholm, Sweden. 44.
- HU, J., LI, Y., ZHANG, W., WANG, H., HUANG, C., ZHANG, M., WANG, X. (2009). Dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography–electron capture detection for determination of polychlorinated biphenyls in fish. *J. Sep. Sci.*, **32**: 2103-2108.
- IRIGARAY, P., NEWBY, J. A., LACOMME, S., BÉLPOUME, D. (2007). Overweight/obesity and cancer genesis: More than a biological link. *Biomedici. & Pharmacother.*, **61**: 665-678.
- IUPAC RECOMMENDATIONS. (2001). Selectivity in analytical chemistry. *Pure Appl. Chem.*, **73**: 1381.
- JAWARD, F. M., BARBER, J. L., BOOIJ, K., DACHS, J., LOHMANN, R., JONES, K. C. (2004). Evidence for dynamic air-water coupling and cycling of persistent organic pollutants over open Atlantic Ocean. *Environ. Sci. Technol.*, **38**: 2617-2625.
- KANNAN, K., TANABE, S., RAMESH, A., SUBRAMANIAN, A., TATSUKAWA, R. (1996). Persistent organochlorine residues in foodstuffs from India and their implications on human dietary exposure. *J. Agric. Food Chem.*, **40**: 518-524.
- KARL, H. (2000). Influence of processing on lipophilic organochlorine residues in fish. *Inf. Fischwirtsch. Fischereiforsch.*, **47**: 52-57.
- KATO, Y., HARAGUCHI, K., KAWASHIMA, M., YAMADA, S., MASUDA, Y., KIMURA, R. (1995). Induction of hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes by methylsulfonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congeners in rats. *Chem. Biol. Interact.*, **95**: 257-68.
- KATO, Y., HARAGUCHI, K., SHIBAHARA, T., MASUDA, Y., KIMURA, R. (1998). Reduction of thyroid hormone levels by methylsulfonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congeners in rats. *Arch. Toxicol.*, **72**: 541-4.
- KATO, Y., HARAGUCHI, K., SHIBAHARA, T., SHINMURA, Y., MASUDA, Y., KIMURA, R. (2000). The induction of hepatic microsomal UDPglucuronosyltransferase by the methylsulfonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congeners in rats. *Chem. Biol. Interact.*, **125**: 107-15.
- KATO, Y., HARAGUCHI, K., SHIBAHARA, T., YUMOTO, S., MASUDA, Y., KIMURA, R. (1999). Reduction of thyroid hormone levels by methylsulfonyl metabolites of tetra- and pentachlorinated biphenyls in male Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Sci.*, **48**: 51-4.
- KAYA, S., PİRİNÇÇİ, İ. (2014). Çevre Toksikolojisi. İçinde: *Veteriner Toksikoloji* 2. Baskı. Ed. S. KAYA, Medisan Yayınevi, Ankara. S: 561-592.
- KILIC, D., ÇAKIROĞULLARI, G. C., UÇAR, Y., THEELEN, R. I., TRAAG, W. (2011). Comparison of PCDD/F and dl-PCB levels in Turkish foodstuffs: industrial versus rural, local versus supermarket products, and assessment of dietary intake. *Food Addit. Contam.*, **28**: 913-924.

- KIM, M. K., KIM, D. G., BONG, Y. H., JANG, J. H., SON, S. W. (2013). Concentrations of PCDD/Fs, dioxin-like PCBs, PBDEs, and hexachlorobenzene in fat samples from cattle of different ages and gender in Korea. *Food Chem.*, **138**: 1786-1791.
- KIRILUK, R. M., HYATT, W. H., KEIR, M. J., WHITTLE, D. M. (1996). Fluctuations in levels of total PCB, organochlorine residues, lipid, and moisture in whole lake trout homogenate samples during four years of frozen storage. *Can. Tech. Rept. Fish. Aquat. Sci.*, **2091**: 1-28.
- KITSON, F. G., LARSEN, B. S., MCEWEN, C. N. (1996). Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide, p.:3-15.
- KOHLER, M., TREMP, J., ZENNEGG, M., SEILER, C., MINDER-KOHLER, S., BECK, M., LIENEMANN, P., WEGMANN, L., SCHMID, E. (2005). Joint sealants: An overlooked diffuse source of polychlorinated biphenyls in buildings. *Environ. Sci. Technol.*, **39**: 1967-1973.
- KOSTYNIK, P.J., STINSON, C., GREIZERSTEIN, H.B., VENA, J., BUCK, G., MENDOLA, P. (1999). Relation of lake Ontario fish consumption, lifetime lactation, and parity to breast milk polychlorobiphenyl and pesticide concentrations. *Environ. Res.*, **80**:166-174.
- LANS, M. C., KLASSONWEHLER, E., WILLEMSSEN, M. E., SAFE, S., BROUWER, A. (1993) Structure-dependent, competitive interaction of hydroxypolychlorobiphenyls,-dibenzo-p-dioxins and -dibenzofurans with human transthyretin. *Chem. Biol. Interact.*, **88**: 7-21.
- LARSSON, C., BERGMAN, A. (1998). Synthesis of radiolabelled methylsulphonyl CBs with specific retention in the rat liver. *Organohalogen Compd.*, **35**: 127-30 .
- LAUBY-SECRETAN, B., LOOMIS, D., GROSSE, Y., EL GHISSASSI, F., BOUVARD, V., BENBRAHIM-TALLAA, L., GUHA, N., BAAN, R., MATTOCK, H., STRAIF, K. (2013). Carcinogenicity of polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls. *Lancet Oncol.*, **14**: 287-288.
- LEAES, F. L., DANIEL, A. P., MELLO, G. B., BATTISTI, V., BOGUSZ JR. S., EMANUELLI, T., FRIES, L. L. M., COSTABEBER, I. (2006). Degradation of polychlorinated biphenyls (PCBs) by *Staphylococcus xylosus* in liquid media and meat mixture. *Food Chem. Toxicol.*, **44**: 847-854.
- LEDoux, M. (2011). Analytical Methods Applied To The Determination Of Pesticide Residues In Foods Of Animal Origin. A Review Of The Past Two Decades. *J. Chromatogr. A*, **1218**: 1021-1036.
- LEHOTAY, S. J., MASTOVSKA, K., YUN, S. J. (2005). Evaluation of Two Fast and Easy Methods for Pesticide Residue Analysis in Fatty Food Matrixes. *J. AOAC Int.*, **88**: 630-638.
- LETCHER, R. J., KLASSON-WEHLER, E., BERGMAN, Å. (2000) Methyl sulphone and hydroxylated metabolites of polychlorinated biphenyls. In Paarsivirta J, ed. Handbook of environmental chemistry: Anthropogenic compounds-new types of persistent halogenated compounds, vol. 3, part K. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 315-359.
- LIU, X., HU, J., HUANG, C., WANG, H., WANG, X. (2009). Determination of polybrominated diphenyl ethers in aquatic animal tissue using cleanup by freezing-dispersive liquid-liquid microextraction combined with GC-MS. *J. Sep. Sci.*, **32**: 4213-4219.
- LUND, J., BRANDT, I., POELLINGER, L., BERGMAN, A., KLASSON-WEHLER, E., GUSTAFSSON, J.A. (1985) . Target cells for the polychlorinated biphenyl metabolite 4,4'-bis(methylsulfonyl)-2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl. Characterization of high affinity binding in rat and mouse lung cytosol. *Mol. Pharmacol.*, **27**: 314-23 .

- LUND, J., NORDLUND, L., DEVEREUX, T., GLAUMANN, H., GUSTAFSSON, J. A. (1987). Physicochemical and immunological characterization of binding protein for PCB methyl sulfones. *Chemosphere*, **16**: 1677-80.
- LUNDBERG, R., LYCHE, J. L., ROPSTAD, E., ALEKSANDERSEN, M., RONN, M., SKAARE, J. U., LARSSON, S., ORBERG, J. (2006). Perinatal exposure to PCB 153, but not PCB 126, alters bone tissue composition in female goat offspring. *Toxicol.*, **228**: 33-40.
- MALANICHEV, A., MANTSEVA, E., SHATALOV, V., STRUKOV, B., VULYKH, N. (2004). Numerical evaluation of the PCBs transport over the Northern Hemisphere. *Environ. Pollu.*, **128**: 279-289.
- MARTINEZ, R. C., GONZALO, E. R., RUIZ, P. R., MENDEZ, J. H. (2005). Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological sample. *J. Chromatogr. A*, **1089**: 1-17.
- MASTOVSKA, K., LEHOTAY, S.J. (2004). Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. *J. Chromatogr. A*, **1040**: 259-272.
- MCKINNEY, J.D., WALLER, C.L. (1994). Polychlorinated biphenyls as hormonally active structural analogues. *Environ Health Perspect.*, **102**: 290-297.
- MUIR, D., SVERKO, E. (2006). Analytical methods for PCBs and organochlorine pesticides in environmental monitoring and surveillance: a critical appraisal. *Anal. Bioanal. Chem.*, **386**: 769-789.
- NIKNAM, Y., FENG, W., CHEREDNICHENKO, G., DONG, Y., JOSHI, S. N., VYAS, S. M., LEHMLER, H. J., PESSAH, I. N. (2013). Structure-Activity Relationship of Selected Meta- and Para-Hydroxylated Non-Dioxin Like Polychlorinated Biphenyls: From Single RyR1 Channels to Muscle Dysfunction. *Toxicol. Sci.*, **136**: 500-513.
- OZCAN, S., TOR, A., AYDIN, M. E. (2009). Determination of selected polychlorinated biphenyls in water samples by ultrasound-assisted emulsification-microextraction and gas chromatography-mass-selective detection. *Anal. Chim. Acta*, **647**: 182-188.
- PARK, J. S., BERGMAN, A., LINDERHOLM, L., ATHANASIADOU, M., KOCAN, A., PETRIK, J., DROBNA, BEATA., TRNOVEC, T., CHARLES, M.J., PICCIOTTO, I.H. (2008). Placental transfer of polychlorinated biphenyls, their hydroxylated metabolites and pentachlorophenol in pregnant women from eastern Slovakia.
- PARK, J. S., KALANTZI, O. I., KOPEC, D., PETREAS, M. (2009). Polychlorinated biphenyls (PCBs) and their hydroxylated metabolites (OH-PCBs) in livers of harbor seals (*Phoca vitulina*) from San Francisco Bay, California and Gulf of Maine. *Mar. Environ. Res.*, **67**: 129-135. *Chemosphere*, **70**: 1676-1684.
- PATRICK, L. (2009). Thyroid disruption: mechanism and clinical implications in human health . *Altern. Med. Rev.*, **14**: 326-46 .
- PORTA, M., ZUMETA, E. (2002). Implementing the Stockholm Treaty on Persistent Organic pollutants. *Occupatio. Environ. Medic.*, **10**: 651-2.
- REZAEI, F., HOSSEINI, M. R. M. (2011). New method based on combining ultrasonic assisted miniaturized matrix solid-phase dispersion and homogeneous liquid-liquid extraction for the determination of some organochlorinated pesticides in fish. *Anal. Chim. Acta*, **702**: 274-279.
- ROGAN, W. J., GLADEN, B. C. (1991). PCBs, DDE, and child development at 18 and 24 months. *Ann. Epidemiol.*, **1**: 407-13.

- RYLANDER, L., STROMBERG, U., HAGMAR, L. (2007). Weight and height at 4 and 7 years of age in children born to mothers with a high intake of fish contaminated with persistent organochlorine pollutants. *Chemosphere.*, **67**: 498-504.
- SALİHOĞLU, G., TAŞDEMİR, Y., SALİHOĞLU, N. K., BASKAYA, H. S., AKSOY, E. (2013). Seasonal Variations of Polychlorinated Biphenyls in Surface Soils and Air–Soil Exchange in Bursa, Turkey. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **65**: 619-634.
- SANCO (Directorate General for Health, Consumer Protection and Animal Health) 12571. (2013). Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Erişim: [<http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/fv/SANCO12495-2011.pdf>]. Erişim Tarihi: 15.04.2015.
- SAPOZHNIKOVA, Y., LEHOTAY, S. J. (2013). Multi-class, multi-residue analysis of pesticides, polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, polybrominated diphenyl ethers and novel flame retardants in fish using fast, low-pressure gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **758**: 80-92.
- SCHECTER, A., CRAMER, P., BOGGESS, K., STANLEY, J., OISON, J. R. (1997). Levels of Dioxins, Dibenzofurans, PCB and DDE Congeners in Pooled Food Samples Collected in 1995 at Supermarkets Across the United States. *Chemosphere.*, **34**: 1437-1447.
- SCIENTIFIC REPORT OF EFSA (2010). Results of the monitoring of non dioxin-like PCBs in food and feed. *EFSA J.*, **8**: 1701.
- SEZER, Ç., ÖĞÜN, M., GÜVEN, A. (2013). Salam ve 438 Sosislerin Bazı Kimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **19**: 69-72.
- SJODIN, A., HAGMAR, L., KLASSON WEHLER, E., BJORK, J., BERGMAN, A. (2000) Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environ. Health Perspect.*, **108**: 1035-1041.
- SOECHITRAM, S. D., ATHANASIADOU, M., HOVANDER, L., BERGMAN, A., SAUER, P. J. (2004) Fetal exposure to PCBs and their hydroxylated metabolites in a Dutch cohort. *Environ. Health Perspect.*, **112**: 1208-1212.
- STEFANI, R., BUZZI, M., GRAZZI, R. (1997). Supercritical fluid extraction of pesticide residues in fortified apple matrices. *J. Chromatogr. A*, **782**: 123-132.
- STELLMAN, S., DJORDJEVIC, M., MUSCAT, J. E., GONG, L., BERNSTEIN, D., CITRON, M. L., WHITE, A., KEMENY, M., BUSCH, E., NAFZIGER, A.N. (1998). Relative abundance of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in adipose tissue and serum of women in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **7**: 489-496.
- STEWART, P., DARVILL, T., LONKY, E., REIHMAN, J., PAGANO, J., BUSH, B. (1999). Assessment of prenatal exposure to PCBs from maternal consumption of Great Lakes fish: an analysis of PCB pattern and concentration. *Environ. Res.*, **80**: 87-96.
- SUN, H., GE, X., LV, Y., WANG, A. (2012). Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *J. Chromatogr. A*, **1237**: 1-23.
- SUN, X., HU, H., ZHONG, Z., JIN, Y., ZHANG, X., GUO, Y. (2015). Ultrasound-assisted extraction and solid-phase extraction as a cleanup procedure for organochlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls determination in aquatic samples by gas chromatography with electron capture detection. *J. Sep. Sci.*, **38**: 626-633.

- TANG-PERONARD, J. L., ANDERSEN, H. R., JENSEN, T. K., HEITMANN, B. L. (2011). Endocrine-disrupting chemicals and obesity development in humans: A review. *Obesity*, **12**: 622-636.
- TORNKVIST, A., GLYNN, A., AUNE, DARNERUD, P.O., ANKARB, E.H. (2011). PCDD/F, PCB, PBDE, HBCD and chlorinated pesticides in a Swedish market basket from 2005 – Levels and dietary intake estimations. *Chemosphere*, **83**: 193-199.
- TÜİK. (2003). Gıda maddeleri tüketim harcaması miktarları ve toplam değerleri, Türkiye. Erişim: [http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?istab_id=335]. Erişim Tarihi: 15.04.2015.
- TÜRK GIDA KODEKSİ ET VE ET ÜRÜNLERİ TEBLİĞİ, (2012). 2012/74 sayılı Tebliğ. 5.12.2012 tarih ve 28488 No'lu Resmi Gazete.
- ULUSAL ET KONSEYİ RAPORU (2014). Erişim: http://www.ukon.org.tr/raporlar/pdf/onuncu_kalkinmaplanihayvancilikozelihtisaskomisyonu_raporu.pdf. Erişim Tarihi: 15.04.2015.
- ULASZEWSKA, M. M., ZUCCATO, E., DAVOI, E. (2011). PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in human milk and estimation of infants' daily intake: A review. *Chemosphere*, **83**: 774-782.
- ULUTAŞ, O. K., ÇOK, İ., DARENDELİLER, F., AYDİN, B., ÇOBAN, A., HENKELMANN, B., SCHRAMM, K.W. (2015). Blood levels of polychlorinated biphenyls and organochlorinated pesticides in women from Istanbul, Turkey. *Environ. Monit. Assess.*, **187**: 132.
- URBANIYAK, M. (2014). Biodegradation of PCDDs/PCDFs and PCBs. In: *Biodegradation-Engineering and Technology*, Ed: Chamy, R., Rosenkranz F. Croatia. pp. 73–100
- VAN LEEUWEN, F. X. R., MALISCH, R. (2002). Results of the third round of the WHO coordinated exposure study on the level of PCBs, PCDDs, and PCDFs in human milk. *Organochlorine Compd.*, **56**: 311-316.
- VILKHU, K., MAWSON, R., SIMONS, L., BATES, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry: A review. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, **9**: 161-169.
- VOS, J. G., LOVEREN, H. V. (1998). Experimental studies on immunosuppression: How do they predict for man? *Toxicol.*, **129**: 13-26.
- WALLACE, J., BRZUZY, L. P., SIMONICH, S., VISSCHER, S., HITES, R. (1996). Case study of organochlorine pesticides in the indoor air of a home. *Environ. Sci. Technol.*, **30**: 2715-2718.
- WANG, P., ZHANG, Q., WANG, Y., WANG, T., LI, X., DING, L., JIANG, G. (2010). Evaluation of Soxhlet extraction, accelerated solvent extraction and microwave-assisted extraction for the determination of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in soil and fish samples. *Anal. Chim. Acta*, **663**: 43-48.
- WARD, M. H., COLT, J. S., METAYER, C., GUNIER, R. B., LUBIN, J., CROUSE, V. (2009). Residential exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine. *Environ. Heal. Persp.*, **117**: 1007-1013.
- WELLS, D. E., CHIFFOLEAU, J. F., KLUNGSYR, J. (1997). Quasimeme: A preliminary study on the effects of sample handling on the measurement of trace metals and organochlorine residues in mussels. *Mar. Pollut. Bull.*, **35**: 109-124.
- WHO, (2002). Levels of PCBs, PCDDs and PCDFs in Human Milk: Second Round of WHO-coordinated Exposure Study. Environmental Health in Europe 3. Erişim: [http://whqlibdoc.who.int/euro/1994-97/EUR_ICP_EHP_M02_03_05.pdf]. Erişim Tarihi: 15.04.2015.

- WIEGEL, J., WU, Q. (2000). Microbial reductive dehalogenation of polychlorinated biphenyls. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **32**: 1-15.
- YILMAZ, B., SANDAL, S., CHENB, C.H., CARPENTER, D.O. (2006). Effects of PCB 52 and PCB 77 on cell viability, [Ca²⁺]_i levels and membrane fluidity in mouse thymocytes. *Toxicology*. 217, 184–193.
- YURDAKOK, B., TEKİN, K., DAŞKIN, A., FİLAZİ, A. (2015). Effects of Polychlorinated Biphenyls 28, 30 and 118 on Bovine Spermatozoa In Vitro. *Reprod. Dom. Anim.*, **50**: 41-47.
- ZHANG, L., LIU, S., CUI, X. (2012). A review of sample preparation methods for the pesticide residue analysis in foods. *Cent. Eur. J. Chem.*, **10**: 900-925.
- ZHANG, Y., LEE, H. K. (2012). Application of ultrasound-assisted emulsification microextraction based on applying low-density organic solvent for the determination of organochlorine pesticides in water samples. *J. Chromatogr. A*, **1252**: 67-73.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Özgür
 Soyadı : KUZUKIRAN
 Doğum yeri ve tarihi : ANKARA - 1977
 Uyruğu : T.C.
 Medeni durumu : Bekar
 Askerlik durumu : Tamamlandı (Mart-2003)
 İletişim adresi ve telefonu : 19 Mayıs Caddesi No: 1/15 Keçiören-ANKARA

II- Eğitimi

Yüksek Lisans	Ankara Üniversitesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.B.D.	1999-2001
Lisans	Ankara Üniversitesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.B.D.	1994-1999
Lise	Ankara Lisesi	1991-1994
Ortaokul	İncirli Lisesi	1988-1991
İlkokul	Danişment Çiçekli İlkokulu	1983-1988
Yabancı dili	: İngilizce (IELTS – 6)	

III- Ünvanları

IV- Mesleki Deneyimi

Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü/ANKARA	
Tüberküloz, Paratüberküloz ve Ruam Teşhis Laboratuvarı-Araştırmacı	(2014-.....)
Toksikoloji Laboratuvarı – Araştırmacı	(2013- 2014)
Numune Kabul ve Raporlama Şefliği – Şef	(2011-2013)
Toksikoloji Laboratuvarı – Araştırmacı	(2009-2011)
Tarım ve Köyşleri Bakanlığı İlçe Tarım Müdürlüğü – Yapraklı/ÇANKIRI	
Veteriner Hekim	(2005-2009)
Sanovel İlaç San. Tic. A.Ş. – ANKARA	(2003-2004)
Tıbbi Tanıtım Temsilcisi	
KÖY-TÜR Tavukçuluk A.Ş. Üretim Laboratuvarı Kazan/ANKARA	(2000-2001)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği.

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları: DIKMEN, B. Y., ALPAY, M., KISMALI, G., FILAZI, A., KUZUKIRAN, O., SIRELI, U. T. (2015). In Vitro Effects of Phthalate Mixtures on Colorectal Adenocarcinoma Cell Lines DLD1 and HT29. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, **34**:115-123.

KUZUKIRAN, O., YURDAKOK, D. B., FILAZI, A., TUTUN, H., SEVIN, S., AYDIN, F. G. (2014). Investigation of selected PCBs in water samples from Ankara River by

ultrasound-assisted emulsification–microextraction (USAEME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Food Safety: Toxicology from Farm to Fork, Belgian Society of Toxicology and Ecotoxicology. 4 December 2014. Brussels, Belgium. (Poster Presentation).

YURDAKOK., D. B., ALPAY, M., KISMALI, G., FILAZI, A., KUZUKIRAN, O., SIRELI, U. T. (2014). In Vitro Effects of Phthalate Mixtures on Colorectal Adenocarcinoma Cell lines DLD1 and HT29. Food Safety: Toxicology from Farm to Fork, Belgian Society of Toxicology and Ecotoxicology. 4 December 2014. Brussels, Belgium. (Poster Presentation).

KUZUKIRAN, O., YIKILMAZ, Y., SEN, F. (2013). Özütlemeye Yeni Yaklaşımlar. III. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, 11-14 Eylül 2013. Elazığ, Türkiye. (Poster Sunumu).

KUZUKIRAN, O. (2001). Küflenme ve Mikotoksin Oluşumunun Önlenmesi ve Mevcut Mikotoksinlerin Uzaklaştırılması İçin Yapılan Uygulamalar (Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi).

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar

Projeleri

Sığır Eti, Yağ ve Organlarında İndikatör Poliklorlu Bifenil (PCB) Kalıntılarının Gaz Kromatografi Kütle Spektrometri (GC-MS) İle Belirlenmesi.

Verdiği konferans

ya da seminerler

Seminer 1: Endokrin Bozucuların (EDC) Hormonal Sistem Üzerine Etkileri
Seminer 2: Kalıntı Analizlerinde Kullanılan Mikroekstraksiyon Teknikleri

Katıldığı paneller (panelist olarak) (-).

VIII- Diğer Bilgiler

Deney Hayvanları Kullanımı Eğitimi	(2014)
ISO/IEC 17043 Uygunluk Değerlendirmesi	(2014)
ISO/TS 22117 Gıda ve Yem Mikrobiyolojisi	(2014)
ISO 13528 Laboratuvarlararası Karşılaştırma ile Yeterlilik Deneyleri İçin İstatistik Yöntemlerin Kullanılması	(2014)
İş Sağlığı ve Güvenliği	(2013)
Nuclear Pharmacy Integrated Course for Students in Pharmacy, Medicine, Medical Physics and Nuclear Chemistry (NuPhICoS)-II	(2013)
Nuclear Pharmacy Integrated Course for Students in Pharmacy, Medicine, Medical Physics and Nuclear Chemistry (NuPhICoS)	(2012)
Veteriner Farmakokinetik Workshop	(2012)
TSE EN ISO/IEC 17025 İç Kalite Tetkiki	(2011)
2002/657/EC Kurallarına göre Metot Validasyonu	(2010)
TS EN 17025:2005 Eğitimi	(2009)
Basic Principles For Methods Choise, Develop, Adaptation, Validation On Residue Analysis And Evalution The Chromotogram Results	(2009)
Suni Tohumlama Eğitimi	(2006)
Hedefleme Eğitimi – Sanovel İlaç San. Tic. A.Ş.	(2005)
Etkin Sunum Teknikleri Eğitimi – Sanovel İlaç San. Tic. A.Ş.	(2005)
İleri Satış Teknikleri Eğitimi – Sanovel İlaç San. Tic. A.Ş.	(2005)