

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ANKARA'DA ÜRETİLEN TEREYAĞLARINDA DİOKSİN VE DİOKSİN
BENZERİ POLİKLOR BİFENİLLERİN SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Deniz ÖZTÜRK

KİMYA ANABİLİM DALI

**ANKARA
2017**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Deniz ÖZTÜRK tarafından hazırlanan ‘Ankara’da Üretilen Tereyağlarında Dioksin ve Dioksin Benzeri Poliklor Bifenillerin Seviyelerinin Araştırılması’ adlı tez çalışması 24/03/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Kamran POLAT
Ankara Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı



Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Güler EKMEKÇİ
Gazi Üniversitesi Kimya Eğitimi Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Kamran POLAT
Ankara Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Melike KALKAN
Ankara Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Atilla YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

24/03/2017


Deniz ÖZTÜRK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANKARA’DA ÜRETİLEN TEREYAĞLARINDA DİOKSİN VE DİOKSİN BENZERİ POLİKLOR BİFENİLLERİN SEVİYELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Deniz ÖZTÜRK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Kamran POLAT

Dioksinler, organik bileşiklerin yüksek sıcaklıkta yanması ile oluşan yan ürünlerdir ve asıl ismi poli klorlu dibenzo dioksin olup “PCDD” olarak gösterilir. Furan dediğimiz bileşikler ise dioksin türevidir ve PCDD de iki benzen halkası iki oksijen ile bağlanırken furanlarda iki benzen halkası tek oksijen köprüsü ile bağlanır ve “PCDF” olarak gösterilir. Son olarak da dioksin benzeri bileşikler olarak geçen poliklorlu bifeniller vardır ve bunlar da iki benzen halkasının karbon köprüsüyle bağlanmasından oluşup “PCB” olarak gösterilir.

Hızla gelişen endüstriyel toplumlarda dioksinler özellikle araştırma konusu olmuştur. Çünkü endüstriyel üretim aşamalarında istenmeyen yan ürün olarak karşımıza çıkarlar. Bu şekilde çevreye yayılan dioksinler toprak, bitki ve besin zinciri yoluyla hayatımızı tehdit eder. İnsanlar en çok gıda maddeleri ile dioksinlere maruz kalır. Bu sebeple dioksinle ilgili araştırmalarda gıda maddeleri büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, Ankara’da üretilen tereyağlarındaki dioksin ve dioksin benzeri bileşiklerin seviyelerinin tespiti amaçlanmıştır. Bu amaçla 24 adet tereyağ numunesi Ankara’daki ilçelerin yöresel pazarlarından toplanarak analize alınmıştır. DR.CALUX yöntemi ile yapılan analizler sonucunda dioksin ve dioksin benzeri bileşiklerin ortalaması 0,50 pg TEQ(toksik eşdeğerlik)/g yağ olarak tespit edilmiştir. Ülkemizde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın gıda maddelerindeki bulaşanların maksimum limitleri hakkındaki tebliğine göre PCDD/F ve PCB’lerin toplamı en çok 5,5 pg TEQ/g yağ olarak belirlenmiştir. Buna göre Ankara’da üretilen tereyağlarında dioksin ve dioksin benzeri bileşiklerin seviyelerinin sağlığımızı tehdit edecek değerlerin oldukça altında olduğu görülmüştür.

Mart 2017, 61 sayfa

Anahtar Kelimeler: Dioksin, Tereyağı, PCB, PCDD, PCDF, DR CALUX

ABSTRACT

Master Thesis

THE INVESTIGATION OF LEVELS OF DIOXIN AND DIOXINE LIKE POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN BUTTER WHICH PRODUCED IN ANKARA

Deniz ÖZTÜRK

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kamran POLAT

Dioxins are by-products formed by the combustion of organic compounds at high temperature, and the actual name is polychlorinated dibenzo dioxine and referred to as "PCDD". The compounds which we call furan are dioxin derivatives. Two benzene rings in PCDD are linked by two oxygen while two benzene rings in furan are linked by a single oxygen bridge and are referred to as "PCDF". Finally, there are polychlorinated biphenyls which are referred to as dioxin like compounds, which are referred to as "PCBs", formed by the bonding of two benzene rings to the carbon bridge.

In rapidly developing industrial societies, dioxins have been the subject of research in particular. Because they are undesirable byproducts in the industrial production stages. Dioxins that spread to the environment in this way threaten our life through soil, plant and food chain. Humans are mostly exposed to dioxins by foodstuffs. For this reason, food stuffs are of great importance in researches on dioxin.

In this study, it is aimed to investigate the levels of dioxins and dioxins like compounds in butter produced in Ankara. For this purpose, 24 samples of butter were collected from the local markets in districts of Ankara and analyzed. As a result of the analysis by the DR.CALUX method, average of dioxin and dioxin-like compounds calculated as 0.50 pg TEQ/g. In our country, according to the Ministry of Food, Agriculture and Livestock's communiqué on the maximum limits of contaminants in foodstuffs, the sum of PCDD/F and PCBs was determined to be maximum 5,5 pg TEQ/g fat. In this context, Accordingly, the dioxin and dioxin-like compounds in the butter produced in Ankara is not at the level that threatens our health.

March 2017, 61 pages

Key Words: Dioxin, Butter, PCB, PCDD, PCDF, DR CALUX

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	2
2.1 Dioksinin Tarihçesi	2
2.2 Dioksin Tanımı ve Molekül Yapısı	3
2.2.1 Fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	7
2.3 Dioksin Kaynakları.....	11
2.3.1 Yanma	12
2.3.2 Kâğıtların ağartılması.....	13
2.3.3 Kimyasal üretimi.....	13
2.3.4 Metal sanayi.....	13
2.3.5 Otomobil eksozları	14
2.3.6 Rezervuar kaynaklar	14
2.4 Dioksinlerin Çevresel Dağılımları	17
2.4.1 Topraktaki PCDD/F derişimleri.....	17
2.4.2 Havadaki PCDD/F derişimleri.....	18
2.4.3 Sudaki PCDD/F derişimleri	19
2.4.4 Gıdada PCDD/F derişimleri.....	20
2.5 Dioksinlerin Zehirliliği.....	24
2.5.1 Klorakne	26
2.5.2 Karsinojenlik	26
2.5.3 Tolere edilebilir ahm.....	26
2.5.4 Kabul edilebilir risk	27
2.5.5 Kaynak araştırması.....	28
3. MATERYAL ve METOD	31
3.1 Kimyasal Maddeler-Çözeltiler-Malzemeler	31
3.1.1 Kimyasal maddeler	31

3.1.2 Çözeltiler	31
3.1.3 Malzemeler.....	32
3.2 Numune Toplama.....	33
3.3 Dioksin Etki Mekanizması	34
3.4 CALUX Yöntemi Çalışma Mekanizması	36
3.4.1 Ekstraksiyon	37
3.4.2 Kolon	38
3.4.3 DMSO transferi.....	40
3.4.4 Hücre yetiştirme	40
3.4.5 Tabaka hazırlama	41
3.4.6 Cihaz ölçümü	43
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	50
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ.....	61

KISALTMALAR DİZİNİ

DR CALUX	Dioksin Responce Chemical Aktivated Lusiferaz Expression
EPA	Çevre Koruma Ajansı
EROD	Etoksiresorfin-o-dietilaz Aktivasyonu
FÇS	Zenginleştirilmiş Fetal Serum
GC/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
HRGC/MS	Yüksek Çözünürlüklü Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
LOAEL	Etki Gözlenen En Düşük Düzey
NOAEL	Herhangi Bir Etki Gözlenmeyen En Yüksek Düzey
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz (Phosphate Buffered Saline)
PCB	Poliklorlu bifenil
PCDD	Poliklorlu dibenzo-p-dioksin
PCDF	Poliklorlu dibenzo furan
PTFE	Politetrafloretilen
TCDD	Tetrakloro dibenzo dioksin
TDI	Tolere Edilebilir Günlük Alım
TEQ	Toksik Eşdeğerlik
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
α -MEM	Minimum Esansiyel Ortam

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 PCDD	4
Şekil 2.2 PCDF	4
Şekil 2.3 PCB	4
Şekil 2.4 OCDD ve 1,2,3,6,7,9-Hekzaklorodibenzo-p-Dioksin	5
Şekil 2.5 2,3,7,8-TCDD	6
Şekil 2.6 İnsanlar için, gıdalar aracılığıyla dioksin ve benzeri bileşiklerin çevrim mekanizmaları	20
Şekil 3.1 CALUX Yönteminde dioksinin etki mekanizması	35
Şekil 3.2 CALUX Yönteminin çalışma mekanizması	36
Şekil 3.3 CALUX Yönteminde ekstraksiyonun gerçekleştirilmesi	38
Şekil 3.4 CALUX Yönteminde kolon aşaması	39
Şekil 4.1 1, 2, 3, 4 ve 5 Numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği	44
Şekil 4.2 6, 7, 8, 9 ve 10 Numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği	45
Şekil 4.3 11, 12, 13 ve 14 Numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği	46
Şekil 4.4 15, 16, 17 ve 18 Numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği	47
Şekil 4.5 19, 20, 21, 22, 23 ve 24 Numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 PCDD/F'lerin konumsal durumlarına göre muhtemel sayıları	5
Çizelge 2.2 2,3,7,8 Konumlarında klor bağı bulunan PCDD/F türevleri.....	6
Çizelge 2.3 Bazı PCDD türevlerinin sudaki çözünürlükleri	8
Çizelge 2.4 2,3,7,8-TCDD türevlerinin çeşitli çözücü maddeler içindeki çözünürlüğü	8
Çizelge 2.5 Bazı PCDD bileşiklerinin 25 °c'de buhar basınçları	9
Çizelge 2.6 17 adet PCDD/F bileşeni için Kow değerleri.....	10
Çizelge 2.7 İngiltere'de 1997 yılında farklı kaynaklardan yayılan PCDD/F salınımları.....	15
Çizelge 2.8 Çeşitli ülkeler için atmosfere atılan PCDD/F bileşiklerinin tahmini değeri	16
Çizelge 2.9 Avrupa Birliği ülkelerinden alınan topraklarda PCDD/F derişimleri (ng TEQ/ kg*kuru madde)	18
Çizelge 2.10 Avrupa'da seçilen bazı ülkelerin atmosferik PCDD/F seviyelerinin karşılaştırması	19
Çizelge 2.11 Avrupa Birliği standartlarına göre besinlerde olabilecek maksimum dioksin/furan seviyesi	22
Çizelge 2.12 Kanada, Yeni Zelanda ve bazı avrupa ülkeleri için gıdalardaki PCDD/F seviyesi.....	23
Çizelge 2.13 AB üye ülkelerde gıdalarda ölçülen PCDD/F derişimi	23
Çizelge 2.14 Dioksin/furan'ın çeşitli ortamlarda yarılanma süresi	24
Çizelge 2.15 Farklı hayvan türlerinde TCDD ve benzeri bileşiklerin etkileri	25
Çizelge 3.1 CALUX yönteminin çalışma mekanizması zaman çizelgesi.....	37
Çizelge 4.1 1, 2, 3, 4 ve 5 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları	44
Çizelge 4.2 6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları	45
Çizelge 4.3 11, 12, 13 ve 14 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları	46
Çizelge 4.4 15, 16, 17 ve 18 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları	47
Çizelge 4.5 19, 20, 21, 22, 23 ve 24 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları	48
Çizelge 4.6 Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın "Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği"ndeki maksimum dioksin/PCB limitleri.....	49

1. GİRİŞ

Hızla gelişen endüstriyel üretim aşamaları yaşamımızdaki kimyasalların sayısını arttırdığı gibi aynı zamanda bu aşamalardan ortaya çıkan ve istenmeyen yan ürünleri de arttırmaktadır. Bu istenmeyen yan ürün artışı, yaşam kaynağımız olan hava, su, toprak gibi alanlarda yoğun kirliliğe sebep olarak yaşam kalitemizi ve sağlığımızı tehdit etmektedir. Birleşmiş Milletler Çevre Bilimi (UNEP) tarafından hazırlanıp 2004 yılında yürürlüğe giren ve ülkemiz tarafından da imzalanan Stockholm Sözleşmesi kapsamında yer alan Kalıcı Organik Kirleticiler (KOK'lar) bu konuda en önemli rolleri üstlenen kimyasal bileşiklerin bir araya geldiği grubu oluşturmaktadır (Dönmez 2009).

KOK grubundan, Poliklorlu Bifeniller (PCBs), Poliklorlu Dioksin ve Furanlar (PCDD/Fs) özellikle hayvan ve insan sağlığı üzerindeki etkileri nedeniyle pek çok ülkede araştırma konusu olmaya başlamıştır. Özellikle Dioksin ve Furanlar endüstriyel yan ürün olup dağılım ve birikim mekanizmaları tarafından uzun mesafelere yayılıp çevresel kirliliğe yol açabilmektedir.

Dioksinler, hava yoluyla taşınarak su, toprak ve bitkilerde katı ya da gaz fazında depolanarak; özellikle hayvansal dokularda ve toprakta daha yoğun bir şekilde birikmektedir (Arıkan vd. 2009). İnsanlar dioksin bileşiklerini hayvansal ve bitkisel gıdalar yoluyla maruz kalırlar. İnsanlardaki dioksin zehirlenmelerinin %90'ının besin zinciri yoluyla olduğu bildirilmektedir (Çiftçi 2008).

Yapılan bu çalışmada; Ankara da üretilerek tüketime sunulan tereyağlarında, insan sağlığı açısından ciddi sağlık sorunlarına sebep olabilen dioksin ve benzeri bileşik düzeylerinin tespiti amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

Dioksinler, organik bileşiklerin 300°C gibi yüksek sıcaklıklarda ve oksijenin yetersiz olduğu ortamlarda yanması sonucu yan ürün olarak oluşur. Çevreye yayılan dioksinler hava yoluyla taşınarak toprak ve bitkilerde birikir ve besin zinciri yoluyla hayvanların yağ tabakasında depolanır. İnsanlar da hem bitkisel hem hayvansal gıdalar vasıtasıyla dioksine maruz kalır.

Dioksine uzun sürelerle maruz kalmak, çok ciddi problemlere neden olmaktadır. Dioksin serbest olarak ve fazla miktarlarda alınır, etkileri doğrudan belirlenebilir; örnek olarak kloraknesi ve karaciğer hasarıyla sonuçlanan koyun ölümleri olarak rapor edilmiştir (Seveso 1980).

Ülkemizde dioksin, tarama ve doğrulama yöntemleri ile tespit edilmektedir. Tarama yöntemi adı altında DR.CALUX (Dioksin Responce Chemical Aktivated Lusiferaz Expression) ve GC-MS (Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi) yöntemi uygulanırken; doğrulama yöntemi adı altında HRGC-MS (Yüksek Çözünürlüklü Gaz Kromatografisi-Kütle spektrometresi) yöntemi uygulanmaktadır.

2.1 Dioksinin Tarihçesi

1872: İlk TCDD (Tetraklorodibenzodioksin) sentezi yapılmıştır ve bir fabrika kazasında çalışanlarda deri hastalığının bir türü olan klorakne oluşumu ile bağlantı kurulmuştur (Fries vd. 1990).

1957: Etlik piliçlerde, içerisinde bazı dioksin bileşikleri olan zehirli yağa maruz kalınması sonucunda, piliç ödem hastalığı oluşmuştur (Fries vd. 1990).

1960: Birçok ülke, dioksin içeren herbisitler kullanmaya başlamıştır. Dioksinin ciddi olumsuz etkileri, bitkileri öldürmek için kullanılan bir kimyasal maddenin (Orange

Agent) insanlardaki zehirli etkilerinin gözlenmesinden sonra anlaşılmaya başlamıştır (www.saglikbilgisi.gen.tr 2016).

1970: PCCD/F'lerin düzeyi 1940'lı yıllarda belirgin bir artış göstermiş ve bu artış 1970'li yıllarda en yüksek düzeye ulaşmıştır (Longnecker vd. 1999). TCDD'nin sağlık ve ekolojik zararları 1970li yıllarda ABD'de inceleme altına alınmıştır (Neumann vd. 1996).

1976: Dioksinin dünya çapında tanınması Seveso felaketi ile olmuştur. İtalya'nın kuzeyinde Seveso kasabasındaki bir kimya şirketindeki patlamanın ardından çevreye bir dioksin bulutu yayılmış ve birkaç hafta sonra kasaba boşaltılmıştır (www.ntvmsnbc.com 2016).

1979: PCDD/F bileşikleri Japonya'da belediyenin yakma fırınlarındaki küllerde tespit edilmiştir (Watanabe vd. 1999).

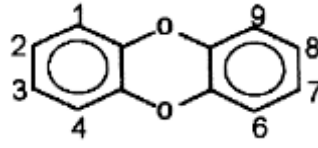
1999: Bu yıllarda, Belçika'daki hayvan yemlerine dioksin bulaşmasından dolayı Belçika hükümeti hayvansal ürün satışını yasaklamıştır (Telli 2011).

2010: Hayvan yemlerinde yüksek oranda tespit edilen dioksin maddesine tavuk ve domuz etinde rastlanmasının ardından bazı ülkeler Almanya'dan kümes hayvanı ithalatını durdurmuştur (www.haberler.com 2016).

2.2 Dioksin Tanımı ve Molekül Yapısı

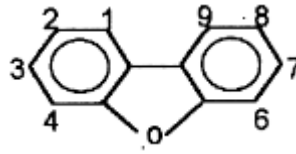
Poliklor dibenzo-p-dioksin türevleri (PCDD) ve poliklor dibenzofuran türevleri (PCDF) kimyasal, yapısal ve biyolojik özelliklerinin birbirine yakın olması nedeniyle “dioksinler” olarak birlikte adlandırılır (Güneş 2007, Çiftçi 2008).

Poliklor dibenzo-p-dioksin (PCDD) türevlerinde iki benzen halkası iki oksijen köprüsüyle birbirine bağlanır (Şekil 2.1).



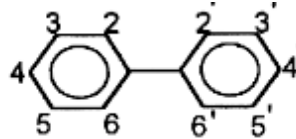
Şekil 2.1 PCDD

Poliklorlu dibenzo furan (PCDF) türevleri iki benzen halkası oksijen köprüsüyle birbirine bağlanır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 PCDF

Bunlardan başka dioksin benzeri poliklorlu bifenil türevleri (PCB) vardır. PCB’lerde ise iki benzen halkası karbon köprüsüyle birbirine bağlanır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 PCB

PCDD ve PCDF bileşikleri, analitik standart ve araştırma maddeleri olarak kullanılmıştır. Ticari amaçla üretilmemişlerdir (Güneş 2007). Bunlar bazı klorlu kimyasal bileşiklerin üretiminde yan ürün olarak oluşabildiği gibi organik maddelerin yakılması sonucunda istenmeyen kirleticiler olarak da meydana gelmektedir (Vural 1995, Varınca vd. 2008).

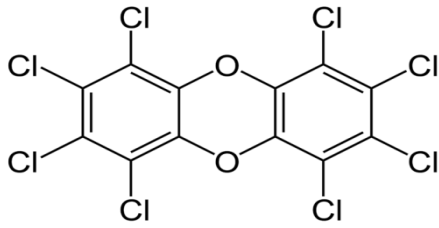
PCB’ler ise güç kaynağı imalatı, elektrik transformatörü üretimi gibi pek çok alanda varlığını sürdürmektedir (Tame vd. 2007).

75 PCDD ve 135 PCDF türevi bulunmaktadır. Bu türevler, yapılarında bulunan klor sayılarına göre çizelge 2.1’de verilmiştir (Anonymous 1994b).

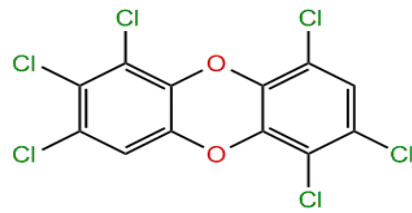
Çizelge 2.1 PCDD/F’lerin konumsal durumlarına göre muhtemel sayıları (Anonymous 1994b)

Klor Sayısı	Türev Sayısı	
	PCDD	PCDF
Mono	2	4
Di	10	16
Tri	14	28
Tetra	22	38
Penta	14	28
Hexa	10	16
Hepta	2	4
Octa	1	1
Nona	0	0
Deca	0	0

Bu 210 bileşik arasında 2,3,7,8 numaralı karbon atomlarında klor olan 17 adet PCDD/F türevleri bulunmaktadır. Bu türevler çizelge 2.2’de verilmiştir (Kılavuz 2010).



OCDD



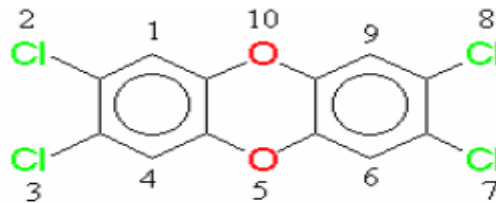
1,2,3,6,7,9- Hekzaklorodibenzo-P-Dioksin

Şekil 2.4 OCDD ve 1,2,3,6,7,9- Hekzaklorodibenzo-P-Dioksin

Çizelge 2.2 2,3,7,8 konumlarında klor bağı bulunan PCDD/F türevleri (Kılavuz 2010)

Türev Simgesi	Türevin Adı
2,3,7,8-TCDD	2,3,7,8-Tetrakloro dibenzo-p-dioksin
1,2,3,7,8-PeCDD	1,2,3,7,8-Pentakloro dibenzo-p-Dioksin
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1,2,3,4,7,8-Hekzakloro dibenzo-p-dioksin
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1,2,3,6,7,8- Hekzakloro dibenzo-p-dioksin
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1,2,3,7,8,9- Hekzakloro dibenzo-p-dioksin
1,2,3,4,6,7,8-	1,2,3,4,6,7,8- Hekzakloro dibenzo-p-dioksin
OCDD	Octakloro dibenzo-p-dioksin
2,3,7,8-TCDF	2,3,7,8-Tetrakloro dibenzofuran
1,2,3,7,8-PeCDF	1,2,3,7,8-Pentakloro dibenzofuran
2,3,4,7,8-PeCDF	2,3,4,7,8-Pentakloro dibenzofuran
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,2,3,4,7,8-Hekzakloro dibenzofuran
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1,2,3,6,7,8-Hekzakloro dibenzofuran
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1,2,3,7,8,9-Hekzakloro dibenzofuran
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2,3,4,6,7,8-Hekzakloro dibenzofuran
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1,2,3,4,6,7,8-Heptakloro dibenzofuran
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1,2,3,4,7,8,9-Heptakloro dibenzofuran
OCDF	Octakloro dibenzofuran

Şekil 2.5’de molekül yapısı verilen, seveso dioksini olarak da bilinen 2,3,7,8-TCDD bu bileşikler içerisinde en zehirli olanıdır (Eisler 2000). Bu bileşik dioksinlerin zehirli etkisinin belirlenmesi uygulamalarında standart olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2.5 2,3,7,8-TCDD

2.2.1 Fiziksel ve kimyasal özellikleri

PCDD ve PCDF'lerin ortak özellikleri şu şekildedir:

- Yüksek derecede kimyasal, ısı ve biyolojik kararlılık
- Suda düşük, yağda yüksek çözünürlük
- Asit ve bazlara karşı yüksek dayanıklılık
- Düşük buhar basınçları
- Düşük su çözünürlükleri
- Güçlü toprak adsorpsiyonu

PCDD'ler renksizdir ve saf halde katı veya kristal halindedir. PCDF'ler de aynı şekilde renksiz ve katıdır; polar olmayan organik çözücülerde çözünür (Anonymous 1998). Dioksinlerin lipofilik özellikleri kuvvetlidir. Dolayısıyla canlıların çoğunlukla yağ dokularında birikir.

İyi derecede fiziksel, kimyasal ve biyolojik kararlılığı nedeniyle fotoliz, biyolojik olarak parçalanabilme ve uçuculuk özellikleri oldukça azdır (Telli 2011). PCDD ve PCDF bileşiklerinin çözünürlüğü suda ve çeşitli çözücülerde farklılık gösterir. Friesen (1990), 2,3,7,8 furan türevleri için yaptığı çalışmalarda, klor sayısı arttıkça sudaki çözünürlüğün azaldığını belirtmiştir.

Bu bileşikler, sulu ortamlarda katı parçacıklara tutunma ve sediment tabakasında birikme eğilimi gösterir. Çizelge 2.3'de bazı dioksin bileşenlerinin sudaki çözünürlük değerleri verilmektedir (Anonymous 1989). Çizelge 2.4'de ise 2,3,7,8-TCDD'nin farklı çözücülerdeki çözünürlükleri verilmektedir (Anonymous 1989).

Çizelge 2.3 Bazı PCDD türevlerinin sudaki çözünürlükleri (IPCS 1989)

BİLEŞEN	Sudaki Çözünürlük (g/L)	
	20 °C	40 °C
1,3,6,8-TCDD	$(3,2 \pm 0,2) \times 10^{-7}$	$(3,9 \pm 0,4) \times 10^{-7}$
1,2,3,7-TCDD	$(4,3 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(12,7 \pm 0,8) \times 10^{-7}$
1,2,3,4,7-PeCDD	$(1,2 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(4,6 \pm 0,1) \times 10^{-7}$
1,2,3,4,7,8-HxCDD	$(4,4 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(19,0 \pm 0,1) \times 10^{-7}$
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	$(2,4 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(6,3 \pm 0,2) \times 10^{-7}$
OCDD	$(0,4 \pm 0,1) \times 10^{-7}$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^{-7}$

Çizelge 2.4 2,3,7,8-TCDD türevlerinin çeşitli çözücü maddeler içindeki çözünürlüğü (IPCS 1989)

ÇÖZÜCÜ	Çözünürlük (25 °C)	
	g/L	g/kg
O-Diklorobenzen	1,8	1,4
Klorobenzen	0,8	0,72
Pekloroetilen	0,68	0,48
Kloroform	0,55	0,37
Benzen	0,47	0,57
Aseton	0,09	0,11
Dimetilsülfoksit	< 0,1	< 0,1
Methanol	0,01	0,01
Su	2×10^{-7}	2×10^{-7}

Buhar basıncı, çevresel kirleticilerin doğadaki hareket mekanizmaları ve davranışlarını belirlemek için önemli bir veridir. PCDD/F bileşiklerinin buhar basıncı hesapları daha çok 2,3,7,8 sübstientli türevler üzerinde olmuştur. Bir kirleticinin uçuculuk potansiyelini belirlemede kullanılan en önemli ölçüt buhar basıncıdır. Kirleticilerin sıvı buhar basıncı

değerleri; bu bileşiklerin ekosistemdeki davranışlarını belirlediği için önemi daha büyüktür. Çizelge 2.5’de bazı PCDD bileşiklerinin 25 °C’de buhar basınçları verilmiştir (Mai 2005).

Çizelge 2.5 Bazı PCDD bileşiklerinin 25 °C’de buhar basınçları (Mai 2005)

BİLEŞİK	Log PS ⁰ (Torr)	T _m (Kelvin)	ΔH _{vap} (kJ/mol ⁻¹)	Δc _p (J/mol ⁻¹ K ⁻¹)
2,8-DiCDD	-4,95 (± 0,052)	424	84,1	-104,5
1,2,4-TriCDD	-5,42 (± 0,052)	402	83,9	-100
1,2,3,4-TCDD	-6,77 (± 0,052)	463	85,6	-95,6
2,3,7,8-TCDD	-8,38 (± 0,052)	579	79,9	-95,6
1,2,4,7,8-PeCDD	-7,71 (± 0,052)	479	91,8	-91,2
1,2,3,7,8-PeCDD	-8,00 (± 0,052)	514	88,7	-91,3
2,8-DiCDF	-5,10 (± 0,052)	458	74,2	-78,7
2,4,6-TriCDF	-5,16 (± 0,052)	390	84,2	-74,3
2,3,8-TriCDF	-5,73 (± 0,052)	464	78,8	-74,3
1,3,7,8-TCDF	-6,58 (± 0,052)	Veri yok	Veri yok	-69,8
2,3,7,8-TCDF	-6,90 (± 0,052)	501	80,3	-69,8
1,2,3,7,8-PeCDF	-8,09 (± 0,052)	500	83,8	-65,4
2,3,4,7,8-PeCDF	-7,31 (± 0,052)	470	85,8	-65,4

Henry sabiti ise, dioksinlerin topraktan havaya veya havadan bitkilere geçişi gibi dönüşüm hareketlerinin tahmin edilmesinde kullanılan bir sabittir. Bu sabit aynı zamanda havadan bitki yapraklarına buhar fazındaki biyoderişiminin anlaşılmasında da kullanılır (Kılavuz 2010).

Sadece üç bileşen için doğrudan ölçülmüş Henry sabiti değeri vardır. Bu değerler;

- 1,2,3,4-TCDD için $1,99.10^{-5}$ atm.m³/mol
- 1,3,6,8-TCDD için $6,81.10^{-5}$ atm.m³/mol

➤ 3,3',4,4'-PCB için $9,4 \cdot 10^{-5} \text{ atm.m}^3/\text{mol}$

olarak bulunmuştur. Literatürde belirlenen diğer değerler, buhar basıncı değerinin sudaki çözünürlük değerine bölünmesiyle bulunmuştur (Kılavuz 2010).

Oktanöl/su bölünme katsayısı, sabit bir sıcaklık ve çevre şartlarında bir kimyasalın oktanöl ve su fazındaki derişimlerinin oranı olarak bilinen bir katsayıdır (Korucu 2008). Bu katsayının büyük olduğu durumlarda kirleticilerin organik fazlarda bağlanabilme eğilimi artmaktadır. Literatürde “ K_{ow} ” şeklinde bir kısaltma ile kullanılan bu değışken aynı zamanda kirleticilerin sudaki çözünürlük değeri ile yakından ilişkilidir.

17 adet zehirli PCDD/F bileşeni için literatürde verilen K_{ow} değeri çizelge 2.6'da görölmektedir (Korucu 2008).

Çizelge 2.6 17 adet PCDD/F bileşeni için K_{ow} değeri (Korucu 2008)

Bileşen	Log K_{ow}
2,3,7,8-TCDD	7,02
1,2,3,7,8-PeCDD	7,50
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7,80
1,2,3,6,7,8-HxCDD	7,80
1,2,3,7,8,9-HxCDD	7,80
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	8,20
OCDD	8,60
2,3,7,8-TCDF	6,50
1,2,3,7,8-PeCDF	7,00
2,3,4,7,8-PeCDF	7,00
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7,50
1,2,3,6,7,8-HxCDF	7,50
1,2,3,7,8,9-HxCDF	7,50
2,3,4,6,7,8-HxCDF	7,50
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	8,00
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	8,00
OCDF	8,00

Çizelgeden anlaşılacağı üzere klor atom sayısı arttıkça K_{ow} değerleri de artmaktadır. Bu değerler göz önünde alındığında özellikle daha fazla klor atomuna sahip PCDD/F bileşiklerinin topraktaki organik maddelere adsorplanma eğiliminin arttığı yorumu yapılabilir (Korucu 2008).

2.3 Dioksin Kaynakları

Bu bileşenlerin doğadaki birikimlerinin en önemli sebebi, insan faaliyetleri sonucu oluşan yanma olaylarıdır. Bunun dışındaki doğal oluşumlarına bakıldığında ise, birikimin insan faaliyetleri sonucu oluşan dioksin miktarlarının yanında çok daha düşük seviyede olduğu görülmüştür. Bu yüzden dioksinlerin oluşumu araştırılırken yanma olayları üzerinde de durulur.

PCDD/F bileşiklerinin yanma olayları sırasında oluşumuna dair literatürde genel olarak tanımlanan ve birbiri ile içiçe girmiş üç teori vardır;

1. PCDD/F bileşiklerinin yakılan atığın içinde bulunması
2. PCDD/F bileşiklerinin öncül bileşiklerden oluşması
3. De novo oluşumu

Bu teoriler şu şekilde açıklanabilir:

1. Yakma sisteminde olan atık madde de PCDD/F bulunabilir ve bunun bir kısmı ısı geriliminden etkilenmeyip bacadan atmosfere atılır. Bu teori en basit teoridir.
2. PCDD/F bileşikler öncül bileşiklerin ısı parçalanmaları ve tekrar moleküler olarak yeniden düzenlenmeleri sonucu yeniden oluşabilir. Bu öncül bileşikler yapısal olarak PCDD/F moleküllerine benzeyen klorlu aromatik hidrokarbonlardır. Bunlar arasında sık rastlananlar, poliklorlu bifeniller (PCB), klorlu fenoller (CP), klorlu benzenler (CB) sayılabilir.

Öncül teorisi, sıcaklıkların 250-450 °C aralığında olduğu yakma sisteminin çıkış kısmında ve yakma odasının yüksek sıcaklıklı bölgesinin dışında oluşur. Bu kısımlar organik maddelerin yanmasından kaynaklanan gaz ve buharların soğuduğu bölümlerdir.

3. PCDD/F bileşikleri, öncül teorisinde bahsi geçen soğuk bölgelerde “de novo” olarak sentezlenebilir. De novo teorisine göre, PCDD/F oluşumu bir klor vericisi ile bir kimyasal ana maddesinin klorlanması yani öncülün oluşmasını gerektirir.

İkinci ve üçüncü teoriler arasındaki farka bakılacak olursa, ikincide atık madde de bir öncül madde olması gerekirken, üçüncüde öncül olarak belirlenen ayrı bir maddenin yanmasından önce öncül, sonra dioksin benzeri moleküllerin oluştuğu görülmektedir (Karademir 2002).

Yanma süreçleri sırasında bu üç genel dioksin oluşma teorisi sonucunda oluşan dioksinler çeşitli kaynaklardan atmosfere yayılmakta ve hayatımıza girmektedir.

2.3.1 Yanma

Dioksin ve furanların en önemli çevresel kaynağı yanmadır. Yanma sürecinde dioksin ve benzeri bileşikler doğrudan havaya salınmaktadır. EPA tarafından yapılan kaynak çalışmalarında, evsel atıkların yakılması sonucunda havaya 1000 g TEQ/yıl PCDD/F yayılmaktadır (Anonymous 2000).

Özellikle plastik malzemelerin yakılması sonucunda, 2,3,7,8-TCDD’nin yüksek oranda meydana geldiği ortaya koyulmuştur (Theisen vd. 1989, Telli 2011). Yakıtın molekül yapısı, klor içeriği, sıcaklığı, yakma aralığı ve süresi, hava ve yakıt oranı dioksin oluşumunda etkili olan değişkenlerdir. 140-400 °C aralığında yakma işlemi dioksin oluşumunun artmasına sebep olurken; 800-1000 °C aralığında, 2 s sürede bile yakma işleminde oluşan dioksinlerin büyük bir kısmının parçalanmasına sebep olmaktadır.

Korucu’ya (2008) göre bu yanma süreçleri; atık insirenasyonu (kentsel katı atık, arıtma çamuru, klinik ve tehlikeli atıklar), kömür, ağaç ve petrol ürünlerinin yakılması, çimento fırınları gibi yüksek sıcaklık kaynakları, orman yangınları, bina yangınları ve atıkların açıkta yakılması gibi kontrolsüz yakma işlemleri olarak sıralanabilir.

2.3.2 Kâğıtların ağartılması

Klor ve klorlu bileşikler, kâğıt endüstrisinde kâğıt çamurlarının ağartılmasında kullanılır. Telli'ye (2011) göre; hammaddenin muhafazası amacıyla kullanılan klorfenoller çevreyi kirletmektedir. Ayrıca odundaki lignin gibi hidrokarbon yapılar da dioksin oluşumunun öncül maddesi olarak bilinmektedir.

Meydana gelen dioksinler sıvı atıklarla da çevreye yayılmakta ve sonuç olarak besin zincirine girmektedir. Örneğin kahve filtresi kâğıdında bile 0,39 ppt dioksin bulunduğu rapor edilmiştir.

2.3.3 Kimyasal üretimi

Endüstride klor, elektrolit olarak tuz çözeltisinin kullanıldığı değişik elektrot malzemeleri ve elektrokimyasal hücrelerdeki elektroliz yöntemiyle elde edilmektedir. Bu yöntemde grafit elektrotlarının bulunduğu cıva hücrelerinin kullanımı yüksek miktarda PCDF oluşumuna sebep olur (Kılavuz 2010).

Klorfenoller, klorbenzenler ve PCB'ler gibi halojenli organik kimyasalların üretimi ve kullanımı sırasında veya pestisit uygulamalarından sonra geriye kalan atıklardan, dioksin ve benzeri bileşikler oluşur (Kılavuz 2010).

PVC, alifatik klorlu bileşikler ve çeşitli boyalar, pigmentler ve yazıcı mürekkeplerinin de olduğu diğer halojenli organik kimyasalların da üretimi sırasında çevreye dioksin ve benzeri bileşikler salınmaktadır (Kılavuz 2010).

2.3.4 Metal sanayi

Eski metaller tekrar kullanılabilir hale getirilirken PCDD/F kirliliği oluşabilir. Metallerdeki organik içeriklerin yanması ve ergitme proseslerinde klor bulunduran kimyasalların kullanılması, Al, Cu, Pb, Zn, gibi metallerin sekonder ergitilmesi ve

işlenmesi sırasında dioksin ve benzeri bileşiklerin oluşumu söz konusudur (Kılavuz 2010, Telli 2011).

2.3.5 Otomobil eksozları

Kurşunsuz benzin kullanan otomobil egzozlarında PCDD/F izomerleri saptanmazken, kurşunlu benzin kullanan otomobil egzozlarında, ortalama 30-540 pg/km düzeyinde 2,3,7,8-TCDD belirlenmiştir (Marklund vd. 1987).

Ayrıca bir başka çalışmada da kurşunlu benzin kullanan otomobillerin egzoz gazlarında 0,05-0,3 ng/km 2,3,7,8-TCDD oluştuğunu; ancak kurşunsuz yakıt kullanımında dioksine rastlanmadığı rapor edilmiştir (Ballschmiter vd. 1986).

2.3.6 Rezervuar kaynaklar

PCDD/F bileşikler hidrofobik yapılarından ve kalıcılıklarından dolayı toprak, sediment ve organik maddelerde yıllarca bozunmadan kalır ve birikir. "Rezervuar" denilen bu kaynaklardan dioksin bileşikleri, taşınmayla doğada yeniden dağılabilir. Çeşitli ülkelerde yapılan araştırmalarla, sözü edilen bu kaynaklardan yayılan PCDD/F salınım miktarlarının, ülkeden ülkeye farklılıklar gösterdiği ve genel olarak atık yakma işlemleri sonucunda çevreye yayılan PCDD/F salınımlarının en baskın salınım kaynağı olduğunu rapor edilmiştir (Korucu 2008). Çizelge 2.7'de İngiltere'de 1997 yılında farklı kaynaklardan yayılan PCDD/F salınımları (Rada vd. 2006) ve çizelge 2.8'de EPA tarafından 1994 yılında yayınlanmış bir rapordan alınmış envanter çalışmasının sonuçları sunulmuştur (Karademir 2002).

Çizelge 2.7 İngiltere’de 1997 yılında farklı kaynaklardan yayılan PCDD/F salınımları
(Rada vd. 2006)

Kaynak	Salınım (gram I-TEQ/yıl)
Güç İstasyonları (Kömür ve Petrol)	12
Endüstriyel Kömür Yakma	7
Evsel Kömür Yakma	14
Endüstriyel Odun Yakma	16
Evsel Odun Yakma	10
Kömür Üretimi	1
Sinterleme Ünitesi	43
Elektrik Ark Fırımları (Demir ve Çelik)	9
Demirsiz Metal Üretimi	22
Kimya Endüstrisi	14
Evsel Atık Yakma Tesisleri	11
İnsenerasyon – Kimyasal Atık	4
İnsenerasyon – Klinik Atık	24
İnsenerasyon – Arıtma Çamuru	3
Taşımacılık	12
Yangınlar ve Kontrolsüz Zirai Yakma	64
Toplam	254

Çizelge 2.8 Çeşitli ülkeler için atmosfere atılan PCDD/F bileşiklerinin tahmini değeri (Karademir 2002)

Emisyon Kaynakları	Almanya (gr TEQ.y ⁻¹)	Avusturya (gr TEQ.y ⁻¹)	İngiltere (gr TEQ.y ⁻¹)	Hollanda (gr TEQ.y ⁻¹)	İsviçre (gr TEQ.y ⁻¹)	ABD (gr TEQ.y ⁻¹)
Endüstriyel ve Evsel Prosesler						
Kağıt Endüstrisi	-	4	-	-	1-5	2.7
Evsel Çamur İnsinerasyonu	0.01-1.1	<1	-	0.3	-	23
Kimyasal Üretim İşlemleri						
Organik Kimyasallar	-	-	-	0.5	-	-
Yakma ve İnsinerasyon Kaynakları						
Evsel Atık İnsinerasyonu	5.4-432	3	1150	382	90-150	3000
Tehlikeli Atık İnsinerasyonu	0.5-72	6	11	16	<1	35
Klinik Atık İnsinerasyonu	5.4	4	32	2.1	2-3	5100
Çimento Fırınları	-	-	-	-	-	350
Metalürji İşlemleri						
Lastik Yakma	-	-	-	-	-	0.3
Demir Ergitme/Saflaştırma	1.3-18.9	19 ^a	-	30	6-16	-
Diğer Metalleri Ergitme/Saflaştırma	38-380	-	-	-	-	230
Atık Elektrik Kablolarının Geri Kazanımı	-	-	-	1.5	-	-
Varil İşlenmesi	-	-	-	-	2-14	1.7
Güç/Enerji Üretimi						
Kurşunlu Benzin Kullanımı	7.2	<1 ^b	613 ^b	7.0 ^b	-	-
Kurşunsuz Benzin Kullanımı	0.8	-	-	-	-	1.3
Dizel Yakıt Kullanımı	4.6	-	-	-	3-22	86
Odun Yakma	-	70	16	12	-	40 ^c ;320 ^d
Kömür Yakma (Isınma Amaçlı)	1.1	<1 ^e	989	3.7	-	-
Kömür Yakma (Endüstriyel Amaçlı)	-	-	301	-	-	-
Kömür Yakma (Kullanım Amaçlı)	-	-	199	-	-	-
Petrol Yakma (Isınma Amaçlı)	1.2	-	2	-	-	-
Kar Kömürü Yakma (Isınma Amaçlı)	1.8	-	-	-	-	-
TOPLAM	67-926	<109	3870	484	100-200	9200

^a Tüm metalürji işlemleri için.

^b Toplam yakıt türleri için.

^c Evsel ısınma amaçlı

^d Endüstriyel kullanım için.

^e Toplam kömür yakma işlemleri için.

2.4 Dioksinlerin Çevresel Dağılımları

Yukarıda sözü edilen kaynakların birinden ortaya çıkan PCDD/F'lerin çevredeki yayılımlarını fiziksel ve kimyasal özellikleri belirler. Dioksin bileşenlerinin kaynaktan salınımından sonra,

- Önce toprak, bitki örtüsü ve yüzeysel sulara ıslak ve kuru birikim gibi mekanizmalarının etkisi altında birikimi,
- Sonra bu toprak ve bitki örtüsünden faydalanan hayvanların yağ dokusunda birikimi,
- Son olarak da bu hayvanlar ve bitkilerden faydalanan insanların yağ dokusunda birikimi,

şeklinde izlediği yol yaygın bir kabule göre dip sedimentlerinde son bulur.

2.4.1 Topraktaki PCDD/F derişimleri

Toprak, kalıcı ve lipofilik bileşiklerden olan PCDD/F için doğal birikim alanlarıdır. Bu bileşikler toprakta organik karbona adsorbe olur ve adsorpsiyondan sonra kararlı olarak toprakta kalır. PCDD/F'ler uzun yarılanma sürelerinden dolayı, topraktan temizlenmeleri oldukça zor olan bileşiklerdir.

Yapılan pek çok araştırma göstermiştir ki, topoğrafik özellikler, meteorolojik koşullar, trafik yoğunluğu, endüstriyel alanlar, toprağın ve yerleşim yerlerinin özelliklerine bağlı olarak PCDD/F seviyeleri değişmektedir (Bakoğlu vd. 2005).

Ayrıca, trafik yoğunluğu olan, ancak düşük karbon içerikli toprak özelliğine sahip bölgelerde düşük PCDD/F derişimleri ve yüzey topraklarından alınan örneklerin dipten alınanlara oranla, oldukça yüksek PCDD/F derişimine sahip olması dikkat çekicidir. Çizelge 2.9'da Avrupa Birliği ülkelerinden alınan topraklarda PCDD/F derişimleri verilmektedir (Fiedler 2003).

Çizelge 2.9 Avrupa Birliği ülkelerinden alınan topraklarda PCDD/F derişimleri (ng TEQ/kg*kuru madde) (Fiedler 2003)

Ülke	Herhangi Bir Tür	Orman	Otlak	Ekilebilir Arazi	Kırsal Bölge	Kirlenmiş Bölge
Avusturya		0,01-64	1,6-14			332
Belçika	2,7-8,9				2,1-2,7	
Finlandiya						85000
Almanya	0,1-42	10-30	0,004-30	0,03-25	1	30000
Yunanistan	2-45					1144
İrlanda	0,15-8,6	4,8	0,8-13			
İtalya	0,057-0,12		0,1-43			
Lüksemburg	1,8-20	6,0			1,4	
Hollanda	2-55				2,2-17	98000
İspanya	0,63-8,4				0,1-8,4	
İsveç					0,11	11446
İngiltere	0,78-87				0,78-20	1585

2.4.2 Havadaki PCDD/F derişimleri

PCDD/F bileşikleri atmosfere salındığında atmosferik taşınım ve depolanmayla geniş alanlara yayılır. Havada bulunan PCDD/F'lerin dağılımı atmosfere karıştığı kaynak türü ve iklimsel proseslerle ilgilidir. Önemli yerel kaynaklara yakın olan bölgelerde havadaki PCDD/F derişimlerinin yüksek olması beklenir. Klorlanma seviyesi arttıkça PCDD/F derişimi artar; klorlanma seviyesi azaldıkça PCDD/F derişimi azalır.

Hippelin vd. (1996) yaz ve kış mevsimi arasında PCDD/F derişimleri arasında önemli farklılıklar bulmuşlardır. Çalışmalarında Almanya'nın kırsal kesimlerinde kış aylarında, evsel ısınma koşullarına bağlı olarak, PCDD/F derişimlerinin yaz aylarındakilere göre 4-8 kat fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 2.10’da Avrupa’daki bazı ülkelerin atmosferdeki PCDD/F oranları verilmiştir. Bu ülkelerdeki toplam salınım miktarı 3.4 kg TEQ/yıl’dır (Bawden 2004). Yapılan ölçümlerde Türkiye’nin havada bulunan toplam PCDD salınımı 964,14 g TEQ/yıl olarak hesaplanmıştır (Vikelseo vd. 2005).

Çizelge 2.10 Avrupa’da seçilen bazı ülkelerin atmosferik PCDD/F seviyelerinin karşılaştırması (Bawden 2004)

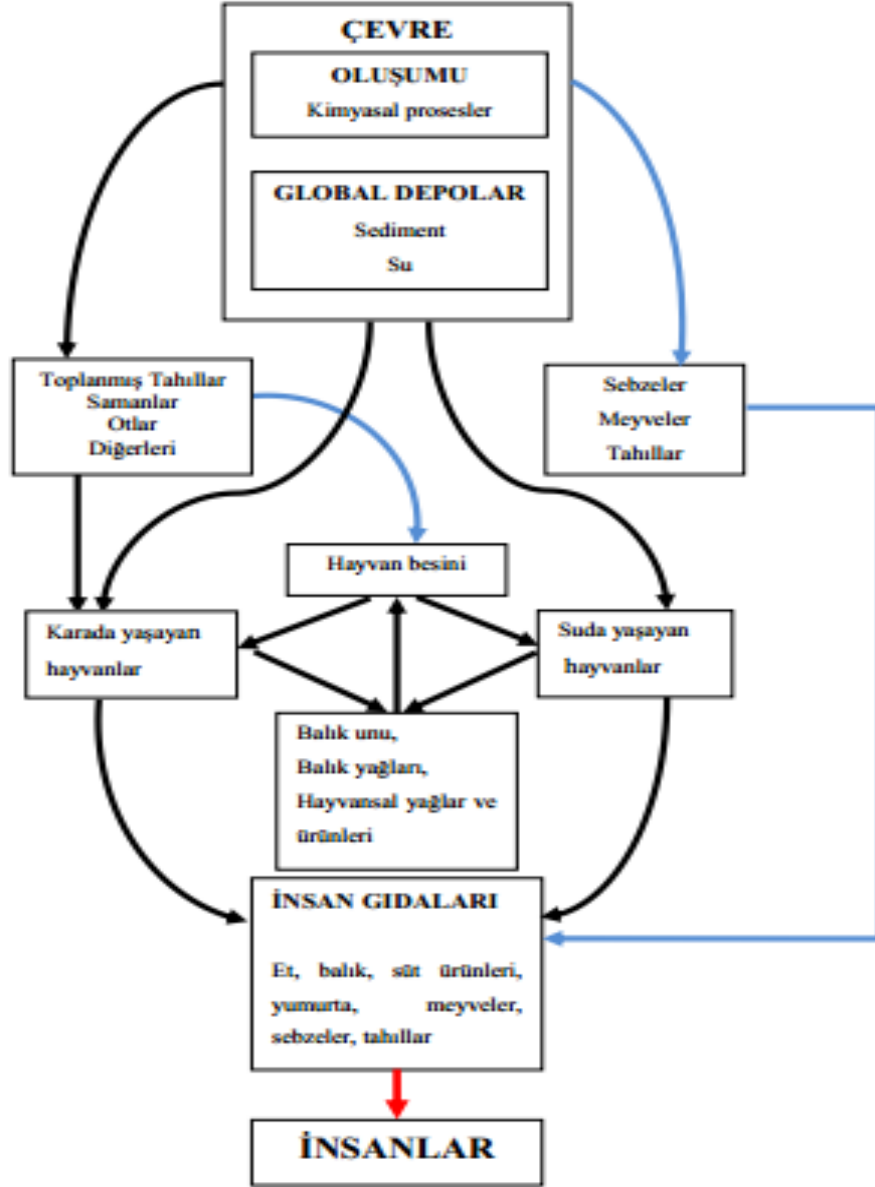
Ülke	Bölge	Tarih	Yıllık Ortalama (min-max) fg TEQ/m ³
Danimarka	Frederiksborg Copenhagen Gundsomagle	2002-2003 2002-2003 2003	National Environmental Research Institute Ministry of the Environment Denmark
İtalya	Roma	1990-1991	85 (50-250)
Belçika	Flanders	1992	110 (20-380)
Almanya	Köln, Duisberg Essen Dourthmund Hessen	1987 1993 1994	240 90 110 (80-150)
Polonya	Krakow	1995	12000
İspanya	Catalunya	1995	250 (70-530)
İsviçre	Rörvik Göteborg Coast Stockholm	1989-1990 1988 1987 1987	21 (4-60) 22 (16-30) 4 19
İngiltere	Manchester Cardiff	1991-1993 1992-1993	410 ND-1800 190

2.4.3 Sudaki PCDD/F derişimleri

Dioksinler lipofilik özellikte oldukları için suda çözünemezler ve dolayısıyla sudaki derişimleri çok düşüktür. Hidrofobik oldukları için suda daha çok parçacıklara adsorbe olur ve arıtma tesislerinde parçacıklarla birlikte sudan yüksek oranda giderilebilir (Kılavuz 2010).

PCDD/F'leri içeren kimyasalların üretimi sırasında oluşan atık suları aracılığıyla yüzeysel sulara karışırlar. Örneğin Mg ve saf Ni üretiminde oluşan atık sular incelendiğinde, bu suların bazı PCDF türevlerini içerdiği kaydedilmiştir (Kılavuz 2010).

2.4.4 Gıdada PCDD/F derişimleri



Şekil 2.6 İnsanlar için, gıdalar aracılığıyla dioksin ve benzeri bileşiklerin çevrim mekanizmaları (Anonymous 2003)

İnsanların PCDD/F bileşiklerine maruz kalmasının temel yolu gıdalardır. Süt ve süt ürünleri, balık ve et gibi yağlı gıdalar önemli PCDD/F kaynaklarıdır. Şekil 2.6'da insanlar için, gıdalar aracılığıyla dioksin ve benzeri bileşiklerin çevrim mekanizmaları verilmiştir (Anonymous 2003).

Dioksinler en çok hayvansal kökenli gıdaların tüketimiyle vücuda alınır. Dioksinlerin hayvan vücudundaki birikimi, hayvanların daha çok kirlenmiş bitkileri tüketmeleri yoluyla gerçekleşmektedir. Tavuk, sığır ve domuz ürünlerinde yapılan çalışmalar, tavuklara ait örneklerin, diğer ürünlere göre daha çok dioksin bulundurduğunu ve bunu domuz ve sığır örneklerinin takip ettiğini belirtmiştir (Güneş 2007).

Günde 30 g süt ürünü tüketildiğinde vücuda yaklaşık 6 pg düzeyinde 2,3,7,8-TCDD alımı söz konusu olmaktadır. Balıkların TCDD'yi memelilere göre çok daha yavaş metabolize etmeleri sebebiyle deniz ürünlerinde daha fazla oranda dioksin birikimi olmaktadır (Vural 1995).

Bitkisel kaynaklı gıdalar, çeşitli tarım ilaçlarının uygulanmasıyla, havadaki dioksin parçacıklarının bitki üzerinde birikmesiyle ve toprak vasıtasıyla PCDD ile kirlenmektedir. Örneğin, dioksin genelde yaprağı saran mumsu tabakada birikir ve suyla yıkandığında kolaylıkla yapraktan uzaklaştırılmaz. Yapılan bir çalışmada patates, havuç, soğan ve mantarın toprak ve suda bulunan PCDD'leri bünyelerine alarak depoladıkları kaydedilmiştir (Şahbaz ve Acar 1993).

Çizelge 2.11-2.13'de çeşitli gıdalarda izin verilen maksimum PCDD/F derişimleri verilmiştir (Fürst vd. 1991).

Çizelge 2.11 Avrupa Birliği standartlarına göre besinlerde olabilecek maksimum dioksin/furan seviyesi (Fürst vd. 1991)

Gıda	Dioksin/Furan Maks. Seviyesi (WHO PCDD/F- TEQ)	Dioksin/Furan ve PCB Toplamının Maks. Seviyesi (WHO PCDD/F-TEQ)
Et ve et ürünleri		
-Sığır hayvanları ve koyun	3 pg/g yağ	4,5 pg/g yağ
-Kümes hayvanları	2 pg/g yağ	4 pg/g yağ
-Domuz	1 pg/g yağ	1,5 pg/g yağ
-Hayvanların karaciğeri ve bunlardan üretilmiş ürünler	6 pg/g yağ	12,0 pg/g yağ
Balık eti ve balıkçılık ürünleri	4 pg/g taze ağırlık	8 pg/g taze ağırlık
-Yılan balığı eti ve ürünleri	4 pg/g taze ağırlık	12 pg/g taze ağırlık
Süt ve süt ürünleri	3 pg/g yağ	6 pg/g yağ
Yumurta ve yumurta ürünleri	3 pg/g yağ	6 pg/g yağ
Yağ		
-Hayvansal yağlar		
--Sığır hayvanları, koyun	3,0 pg/g yağ	4,5 pg/g yağ
--Kümes hayvanları	2,0 pg/g yağ	4 pg/g yağ
--Domuz yağı	1 pg/g yağ	1,5 pg/g yağ
--Karışık hayvansal yağ	2 pg/g yağ	3 pg/g yağ
-Bitkisel yağlar	0,75 pg/g yağ	1,5 pg/g yağ
-Deniz ürünlerinden elde edilen yağlar	2,0 pg/g yağ	10,0 pg/g yağ

Çizelge 2.12 Kanada, Yeni Zelanda ve bazı Avrupa ülkeleri için gıdalardaki PCDD/F seviyesi (Fürst vd. 1991)

Ülke	Besin	Pg I-TEQ/g yağ
Almanya	İnek sütü	1,0-2,8
Büyük Britanya	İnek sütü	1,3
Hollanda	İnek sütü	0,7-2,5
Yeni Zelanda	İnek sütü	0,18-0,22
Almanya	Sığır eti	3,5
	Dana eti	7,4
	Koyun	2,0
	Kümes hayvanları	2,3
	Konserve et	1,7
Kanada	Sığır eti	2,9
	Kümes hayvanları	2,6

Çizelge 2.13 AB üye ülkelerde gıdalarda ölçülen PCDD/F derişimi (pg TEQ/g yağ) (Fürst vd. 1991)

	Süt	Süt Ürünleri	Et ve Ürünleri	Kümes Hayvanları	Balık	Yumurta	Yağ
Mininum	0,2	0,5	0,1	0,7	2,4	1,2	0,2
Maksimum	2,6	3,8	16,7	2,2	214,3	4,6	2,6

Son olarak çizelge 2.14’de hava, su, toprak ve sedimentlerdeki PCDD/F’lerin yarılanma süreleri verilmiştir (Güneş 2007).

Çizelge 2.14 Dioksin/Furan'ın çeşitli ortamlarda yarılanma süresi (Güneş 2007)

	Hava	Su	Toprak	Sediment
PCDD	2 gün - 3 hafta	2 gün - 8 ay	2 ay - 6 yıl	8 ay - 6 yıl
PCDF	1-3 hafta	3 hafta - 8 ay	8 ay - 6 yıl	2 – 6 yıl

2.5 Dioksinlerin Zehirliliği

Dioksin ve benzeri bileşiklerin zehirlilik etkilerine bakıldığında, bu bileşiklerin dozlarının yeterli miktarda olması halinde hayvanlarda ve buna bağlı olarak insanlarda geniş bir alanda etkileri olduğu görülmektedir (Kılavuz 2010).

Dioksin ile ilgili epidemiyolojik veriler şu gibi nedenlerle sınırlıdır:

- Genel nüfus için birden çok spesifik bireysel dioksin etkisinin ölçülememesi,
- Sürekli yüksek dereceye maruz kalmış insanlar hakkındaki çalışmaların azlığı,
- Sonuçların seyrek, maruz kalmanın düşük ve çalışılan grubun küçük olduğu durumlarda dioksine maruz kalmış ve maruz kalmamış grupların arasındaki farklılıkların yeterince belirgin olmaması (Karademir 2002).

Çizelge 2.15'de, farklı hayvan türlerinde TCDD ve benzeri bileşiklerin etkileri verilmektedir (Anonymous 1994b).

Çizelge 2.15 Farklı hayvan türlerinde TCDD ve benzeri bileşiklerin etkileri
(Anonymous 1994b)

Etki	İnsan	Maymun	Kobay Faresi	Sıçan	Fındık Faresi	Hamster	İnek	Tavuk	Balık
AhR’de bulunması	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TCDD’nin dioksin duyarlılığını arttırıcılarla birleşik AhR’lere bağlanması	+		+	+	+	+	+	+	+
Enzim indüksiyonu	+		+	+	+	+		+	+
Akut öldürücülük	0	+	+	+	+	+		+	+
Aşırı zayıflama sendromu		+	+	+	+	+			
Teratojenik / cenin toksisitesi, ölümü	+/-	+	+	+	+	+		+	+
Endokrin etkileri	+/-	+		+	+				
Bağışıklık toksisitesi	+/-	+	+	+	+	+	+	+	
Karsinojenlik	+/-			+	+	+			+
Klorakne etkisi	+	+			+				
Porfiri		0	0	+	+	0		+	
Hepatoksisite		+	+/-	+	+	+/-	+	+	
Ödem		+	0	0	+	+		+	+
Testis küçülmesi		+	+	+	+				
Kemik iliği hipoplazisi		+	+		+/-			+	

+:Gözlenen;

+/-:Sınırlı gözlenen veya bazen gözlenen bazen gözlenmeyen;

0: Gözlenmeyen;

Boş satır: Veri yok

2.5.1 Klorakne

Klorakne kist ve sivilceler şeklinde ortaya çıkan foliküler hiperkeratosis olarak tanımlanır. Kan serumunda bulunan dioksin seviyesinin 1000 ppt olması halinde klorakne yıllarca kalabildiği gibi bazı durumlarda da etki alanından çıkıldığı zaman yok olur (Anonymous 1998).

Çevresel etkilendenmeden oluşan deri lezyonlarının tanımlanması için Seveso, İtalya’da 2,3,7,8-TCDD ye maruz kalanlar incelenmiştir. Reggiani (1980), Seveso kazasından kısa bir süre sonra hastaneye yatırılan 17 kişide dermal lezyonların ortaya çıktığını gözlemlemiştir. Çocuklarda klorakne 2 hafta içinde meydana gelmiş ve 8-26 aya kadar devam etmiştir. Yetişkinlerde ise 20-40 gün sonra tahriş edici deri lezyonları ve sonrasında klorakne gözlenmiştir (Anonymous 1998).

2.5.2 Karsinojenlik

Dioksin bileşiklerinin insanlar üzerindeki potansiyel kanserojen etkileri olduğu bilinmektedir (Anonymous 1994b). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı’nın 1997 yılında yaptığı çalışmalar sonunda 2,3,7,8-TCDD’nin 1.sınıf kanserojen madde olarak ilan edilmiştir. Fakat diğer dioksin türevleri için böyle bir sınıflama yoktur.

2.5.3 Tolere edilebilir alım

Tolere Edilebilir Günlük Alım terimi (TDI), WHO (Anonymous 2004) tarafından “insanların tüketebileceği gıda veya içme suyunda bulunan bir maddeyi ortalama bir insan ömrü boyunca ve her gün tüketen bireylerde, dikkate değer herhangi bir sağlık riski oluşturmayacak miktarın vücut ağırlığı başına bir ifadesi” şeklinde tanımlanan bir ölçü birimidir.

Dioksinlerin insan sağlığını etkilemesi açısından bir TDI miktarı olup olamayacağı konusunda US EPA ile WHO yaklaşımları farklılık gösterir.

US EPA, PCDD/F'leri "güçlü kanserojenler" olarak belirlemekte ve bu tür bileşikler için bir TDI değerinin olamayacağını "sıfır risk" in ancak "sıfır doz" ile mümkün olabileceğini ileri sürmektedir.

EPA, bunun yerine Bölüm 2.5.4'de açıklanan "kabul edilebilir risk" kavramına dayalı istatistiksel yaklaşımı kabul etmektedir. WHO'nun PCDD/F'lere ilişkin olarak kabul ettiği TDI (Tolere Edilebilir Günlük Alım) değeri $10 \text{ pg TEQ} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{vücut ağırlığı} \cdot \text{gün}^{-1}$ dür.

Ancak WHO bu değeri "maruz kalmayı azaltmak için gösterilebilecek her çaba gösterilmelidir" yaklaşımı ile hayvanlarda yapılan çalışmalarda elde edilen "gözlenen en küçük etki düzeyi" (LOAEL) değerinin 10 belirsizlik faktörüne bölünmesi ile bulunan "hiçbir kötü etkinin gözlenmediği düzey" (NOAEL) olarak $1\text{-}4 \text{ pg TEQ/kg} \cdot \text{d}$ aralığına çekmiştir.

2.5.4 Kabul edilebilir risk

Kabul edilebilir risk kavramı, kanserojen etki gösteren bir kimyasalın insan üzerinde ortaya çıkaracağı kanser riskinin sayısal ifadesi şeklinde tanımlanabilir. EPA kanserojen maddeler için $1/10000$ ile $1/1000000$ aralığındaki yaşam boyu kanser riski değerlerini "kabul edilebilir risk" olarak tanımlamaktadır.

Herhangi bir kimyasalın olasılık olarak bir insan üzerinde oluşturabileceği ömür boyu kanser riski; söz konusu kimyasalın vücuda günlük giriş miktarı ile bu kimyasalın kendine ait bir değer olan eğim faktörü ile çarpımından elde edilir. Bu durum aşağıdaki denklemde verildiği şekli ile ifade edilebilir. EPA tarafından dioksinler için verilen kanserojenlik riski ya da eğim faktörü $100.000 \text{ kg} \cdot \text{gün/mg} \cdot \text{dir}$.

$$\text{Risk} = \text{CDI} \cdot \text{SF}$$

Burada;

$$\text{CDI} = \text{Kronik günlük doz (mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{gün}^{-1})$$

SF = Kanserojenlik eğim faktörü ($\text{kg} \cdot \text{gün} \cdot \text{mg}^{-1}$)

2.5.5 Kaynak araştırması

Halojenlenmiş aromatik hidrokarbonlar, örneğin poliklorlanmış dibenzo-p-dioksinler (PCDD), poliklorlanmış dibenzofuranlar (PCDF) ve poliklorlanmış bifeniller (PCB) ve diğer ilgili bileşikler her yerde bulunabilen bir grup çevresel kirleticiyi temsil ederler. Bunların çoğu zehirlidir, kalıcıdır ve yağı seven (lipofilik) özelliklerinden dolayı gıda zincirinde birikmeleri kolaydır (Eppe vd. 2006, Scippo vd. 2008). Bu bileşiklerin zehirlilik özelliği klor atomlarının sayısına ve onların pozisyonuna bağlı olarak değişir (Denison vd. 2004).

Çevrenin yanı sıra gıda ve yem matrislerinde PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin seviyelerinin belirlenmesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır (Baeyens vd. 2004). Bunlardan biri referans yöntem olarak diğeri alternatif veya tarama yöntemi olarak adlandırılıyor. Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRMS) ile birleştirilen gaz kromatografisi (GC-HRMS), PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde referans yöntem olarak kullanılıyor (Baeyens vd. 2004). Tarama için PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lere karşı biyolojik tepki veren bir biyodene kullanılabılır. Bu biyodeneyle örnek olarak CALUX (Chemical-Activated Luciferase gene eXpression), EROD (ethoxyresorufin-o-deethylase) biyodene, Ah bağışıklık biyodene verilebilir (Anonymous 2002).

1999 yılında, Belçika'da, çevre kirliliğinin insan sağlığı üzerindeki etkileri ilgili bakanlık tarafından araştırılmıştır. Bu araştırmada 50-65 yaşları arasında araştırma bölgesinde yaşayan 200 kadından alınan 47 havuzlanmış serum örneği organoklor böcek ilaçları, PCB, PCDD ve PCDF açısından GS-MS yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. CALUX yöntemi de aynı örneklem için değerlendirme amacıyla kullanılmıştır. Ölçümlerde CALUX-TEQ ile toplam TEQ arasında, kırsalda 0,43 kentserde 0,73 korelasyon tespit edilmiştir. Ölçümlerde toplam TBQ ortalama değeri (75 pg WHO-TEQ/g yağ), CALUX'la ölçülen TEQ değerinin (36 pg TEQ/g yağ) yaklaşık iki katıdır. Fakat ne TEQ ne de CALUX-TEQ değerlerinde bölgesel

farklılaşma gözlenmemiştir. Araştırma sonucunda, özellikle farklı gruplardaki insanları (farklı bölgelerde yaşayanlar vb.) karşılaştırmak amaçlandığında CALUX yönteminin alternatif gözlemlene aracı olduğu tespit edilmiştir (Koppen vd. 2001).

Brown vd. (2007) tarafından gerçekleştirilen, XDS-CALUX sonuçlarından GS/MS Dioxin TEQ değerlerini tahmin etmek için matematiksel bir model oluşturmayı amaçlayan çalışmada, Özellikle yüksek ve bilinmeyen karmaşıklıkta örneklerde, zaman ve maliyet avantajı nedeniyle XDS-CALUX yönteminin kullanılabileceğini tespit etmiştir. Çalışma, XDS-CALUX yönteminin gelecekte de dioksin kirlenmeleri ve tehlikeli atık yönetiminde risk yönetimi açısından önemli uygulamaları olacağını değerlendirmektedir.

Turrio-Baldassarri vd. (2009) tarafından İtalya'da gerçekleştirilen araştırmada, kirlenmenin olduğu bölgelerdeki hayvanların karaciğer dokularında, perirenal yağdan ve süttten birkaç kat daha fazla TEQ seviyesi tespit etmiştir. Bu değer dİPCB (dioksin benzeri poliklorlu bifeniller) değerine kıyasla PCDD ve PCDF için çok daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Windal ve arkadaşlarının (2005) gerçekleştirdiği çalışmada CALUX yönteminde kullanılan parametrelerin elde edilen sonuçlara etkisi vurgulanmıştır. Araştırma CALUX yöntemini, limitleri olmasına rağmen TEQ değerini tahmin etmek için en iyi yöntemlerden biri olarak değerlendirmekte ve diğer kimyasal analiz yöntemleri ile birlikte kullanılmasını tavsiye etmektedir.

Takigami, Suzuki ve Sakai'nin (2008) araştırması ise, PCDD/F'ler dışında bromlanmış karışık halojenlenmiş aromatik hidrokarbonların AhR aktivasyonunu gerçekleştirerek dioksin benzeri zehir etkisi gösterebildiklerine dikkat çekmiştir. Bu bağlamda AhR raporlanmasının dioksin benzeri bileşiklerin etkilerinin ölçülmesi için önemli bir seçenektir. Bu bağlamda CALUX yöntemi diğer kimyasal analiz yöntemleri ile birlikte değerli bir çözüm olarak ortaya çıkmaktadır.

Kalantzi vd. (2001) 1998-1999 yılları arasında 24 ülkedeki perakende mağazalardan topladığı 138 tereyağı örneği üzerinde yaptığı araştırmada, dioksin, furan ve dioksin benzeri PCB'lerin dağılımını araştırmıştır. Araştırma sonuçlarına göre toplam PCB açısından en yüksek değerler Avrupa ve Kuzey Amerika'da, en düşük ölçümler ise güney yarım kürede (Avustralya ve Yeni Zelanda) ölçülmüştür. Avrupa içinde en yüksek dioksin ve furan değerleri (I-TEQ ve WHO-TEQ) İspanya, Hollanda ve İtalya'da tespit edilmiştir. Avrupa dışında dioksin kirlenmesi en fazla olan ülkeler Hindistan, Çin ve Tunus'dur. Toplam TEQ değerleri açısından Avrupa'daki tereyağlarında en yüksek değerler ölçülmekle birlikte, Asya'nın endüstrileşmiş bölgelerinde (Hindistan ve Çin) ve Latin Amerika'da da (özellikle Arjantin) yüksek değerler ölçülmüştür.

Çiftçi (2008a), Elazığ ve çevresinden topladığı 20 adet tereyağı numunesinde dioksin ve benzeri bileşik düzeylerini GC-MS kullanarak araştırmıştır. Bu araştırma sonucunda, Toksik Eşdeğer Konsantrasyonu 0,0138 ng TEQ/g yağ olarak tespit edilmiş ve bu değer baz alınarak, 70 kg ağırlığında bir insanın günlük 25 gr tereyağı tüketeceği kabul edilirse aldığı toplam dioksin düzeyi 4,92 pg TEQ/kg olarak belirlenmiştir. WHO tarafından belirlenen günlük alım limiti 1-4 pg TEQ/kg olduğundan ölçülen değer limitin üzerinde olduğu ve sağlık riski doğurabileceği vurgulanmıştır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1 Kimyasal Maddeler-Çözeltiler-Malzemeler

3.1.1 Kimyasal maddeler

Çalışmanın analiz bölümünde kullanılan kimyasal maddelerin listesi aşağıda listelenmiştir.

- Silika Jel-Sigma Aldrich- (Merck grade 7734) CAS-112926-00-8
- Sodyum Sülfat anhidros-Sigma Aldrich-CAS-7757-82-6
- Toluen-Promochem-Code SO-1350-B025
- Diklorometan- Promochem-Code SO-1185-B025
- Dimetisülfoksit (DMSO)-Fluka-41641-250
- Sülfürik Asit-Merck %95-98 K30512213
- İzopropanol-2-propanol-PROLABO hipersolv-CHROMANORM EC-
Label=200-661-7
- Hekzan-Scharlau-%96 for GC residue analysis Batch No=14895310
- Dietileter-J.T.Baker-Batch No=0000044789
- Etanol-Tekkim %96 TK.200650.05000
- EDTA-Merck-dihidrat-1132780
- PBS-gibco-20012-019
- FÇS-gibco-2220B
- α -MEM-gibco-22561-021
- Tripsin-gibco-1:250 activity
- Lizis-BDS firmasından

3.1.2 Çözeltiler

Çalışmanın analiz bölümünde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları şu şekildedir.

Ekstraksiyon Çözeltisi: 100'lük balon jojeye 97 ml hekzan ve 3 ml dietileter eklenip biraz çalkalanarak kullanılır.

Kolon Çözeltisi: Ekstraksiyon çözeltisi ile aynı çözeltidir. Fakat kolonda kullanılacak olan çözelti mutlaka günlük hazırlanmalıdır. Bir önceki günden kalan çözelti ekstraksiyon için kullanılabilir fakat kolonda asla kullanılmalıdır.

Silikalar: Silikaların koyulacağı cam petri kabı hekzanla muamele edilir. İyice kuruduktan sonra petri kabına silika koyulur ve kapağı kapatılarak 24 saat 140 °C etüvde bekletilir. Etüvden çıkarıldıktan sonra desikatöre alınır ve yaklaşık 30 dakika soğuması beklenir. Soğuduktan sonra en geç iki gün içinde hazırlanmalıdır.

%33'lük Silika: Erlene 60 gr desikatörde hazırladığımız silikadan alınır. Üstüne 30 gr H_2SO_4 eklenir. Topaklanmaması için önce cam bagetle erlenin etrafı temizlenerek karıştırılır. Sonra çalkalama makinasına koyulur ve en az 2 saat beklenir. Homojen dağılım sağlandıktan sonra en az 12 saat desikatörde bekletildikten sonra kullanılır.

%20'lik Silika: %33'lük silika ile işlem sırası aynıdır. Yalnızca burada 60 gr silika üzerine 15 gr H_2SO_4 eklenir.

Büyüme Ortamı (Growth Medium): -20 °C'de saklanan FCS (Zenginleştirilmiş Fetal Serum)'lerden 2 tüp (her biri 27,5 ml) alınır ve çözülmeye bırakılır. Güvenlik kabinde α -MEM şişesi ve FCS tüpleri dikkatle açılır. 25 ml'lik tek kullanımlık pipet ile FCS'ler α -MEM e aktarılır ve yine pipetle homojen karışımı sağlanır. Üzerine hazırlayan analistin adının ve hazırlandığı tarihin olduğu bir etiket yapıştırılır. 4 haftadan uzun süre kullanılmaz ve 4 °C'de muhafaza edilir.

3.1.3 Malzemeler

- Laboratuvar Şişesi: 100 ml - 250 ml hacimlerinde 180 °C'de otoklavlanabilir özellikte kapak ve cam yapısına sahip, şeffaf.

- Dispenser: 0-30 ml, 0-50 ml, 0-100 ml hacimlerinde sıvı çekebilme özelliğine sahip.
- Vial: 60 ml - 40 ml - 2 ml - 1 ml hacimlerinde, şeffaf, PTFE (Politetrafloretilen) septa kapaklı.
- Kolon: Cam malzemedendir.
- Pipet ucu: 0.2 – 10 µl, 10 - 100 µl, 100 - 1000 µl, 500 - 5000 µl çekme aralığı kapasitesinde.
- Pastör kapiler pipetleri: 150 mm ve 230 mm büyüklüğünde.
- Flesk: 125 ml hacminde steril.
- Pipet ucu: 5 ml - 10 ml - 25 ml hacminde DNase, Rnase free Non-Projenic, steril.
- Greiner tüpü: 15 ml - 50 ml hacminde, steril.
- Erlen mayer: 250 ml – 500 ml hacminde.
- Beher: 50 ml - 100 ml - 250 ml hacminde, cam malzemedendir yapılmış.
- Enjektör: 5 ml - 10 ml - 20 ml - 50 ml hacimlerinde enjeksiyon yapabilen, steril.

3.2 Numune Toplama

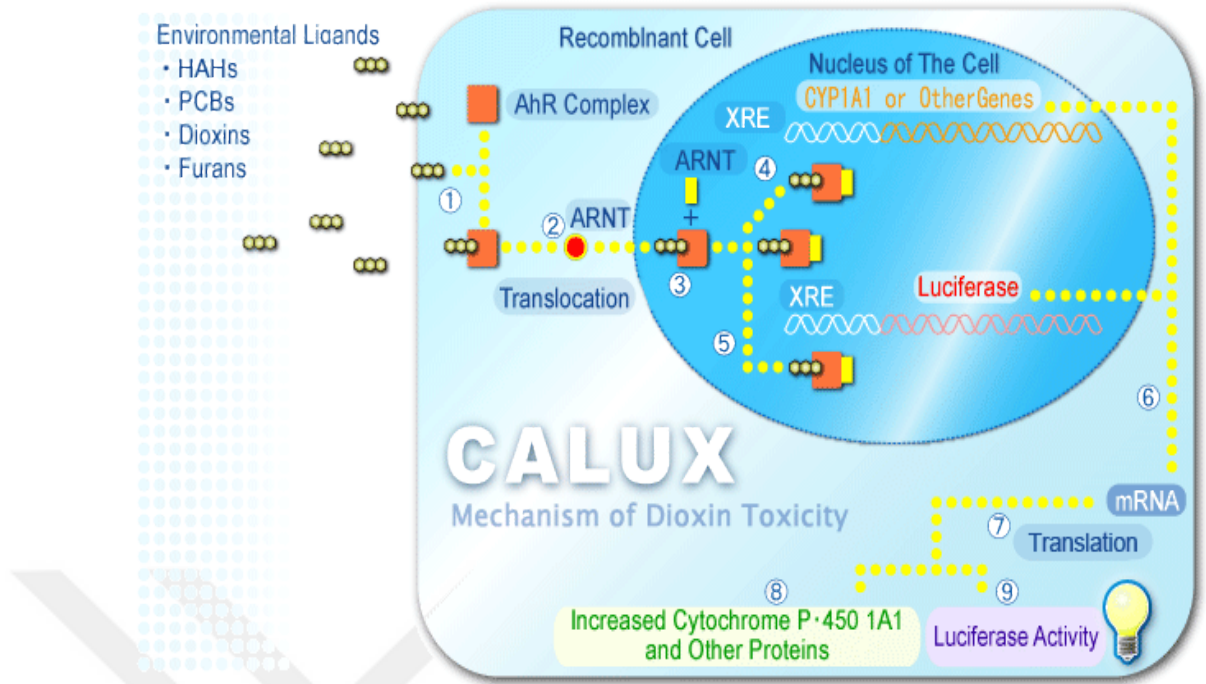
Analizi yapılacak 24 adet tereyağı numunesi, Ankara'nın aşağıda listelenen semtlerinden alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirildi. Analizi yapılana kadar -20°C saklandı.

1. Elmadağ-Akçaali Mah.-13.04.2014
2. Kızılcahamam-Taşlıca Mah.-20.04.2014
3. Kızılcahamam-Çeltikçi Mah.-20.04.2014
4. Kızılcahamam-Çeltikçi Mah.-20.04.2014
5. Kızılcahamam-Kırköy Mah.-20.04.2014
6. Kızılcahamam-Alibey Mah.-20.04.2014
7. Kızılcahamam-Saray Mah.-20.04.2014
8. Kızılcahamam-İsmetpaşa Mah.-20.04.2014
9. Çubuk-Çit Mah.-20.04.2014
10. Çubuk-Yukarı Çavundur Mah.-03.05.2014

11. Haymana-Karaocak Mah.-27.04.2014
12. Gölbaşı-Tepeyurt Mahallesi-30.04.2014
13. Haymana-Yaylabeyi Mah.-12.05.2014
14. Çubuk-Kışlacık Mah.-12.05.2014
15. Kahramankazan-Kışla Mah.-25.05.2014
16. Beypazarı-Oymağaç Mah.-25.05.2014
17. Sincan-Polatlar Mah.-25.05.2014
18. Kahramankazan-Yassıören Mah.-25.05.2014
19. Keçiören-Karşıyaka Mah-25.05.2014
20. Beypazarı-Karacaören Mah.-01.07.2014
21. Beypazarı-Kırbaşı Mah.-01.07.2014
22. Beypazarı-Oymağaç Mah.-01.07.2014
23. Beypazarı-Yiğirler Mah.-01.07.2014
24. Beypazarı- Yoğunpelit Mah. -01.07.2014

3.3 Dioksin Etki Mekanizması

CALUX yöntemindeki dioksinin etki mekanizması şekil 3.1’de verilmektedir. CALUX yönteminde kullanılan rekombinant hücre dizisi farenin karaciğer hücrelerinin içine (Hepa1c1c7) plazmid pGudLuc6.1 kararlı bir şekilde transfer edilerek oluşturuldu. pGudLuc6.1 plazmidi, ateş böceğinin dioksine tepki veren CYP1A1 (4 DRE dâhil) lusiferaz genini de içermektedir.

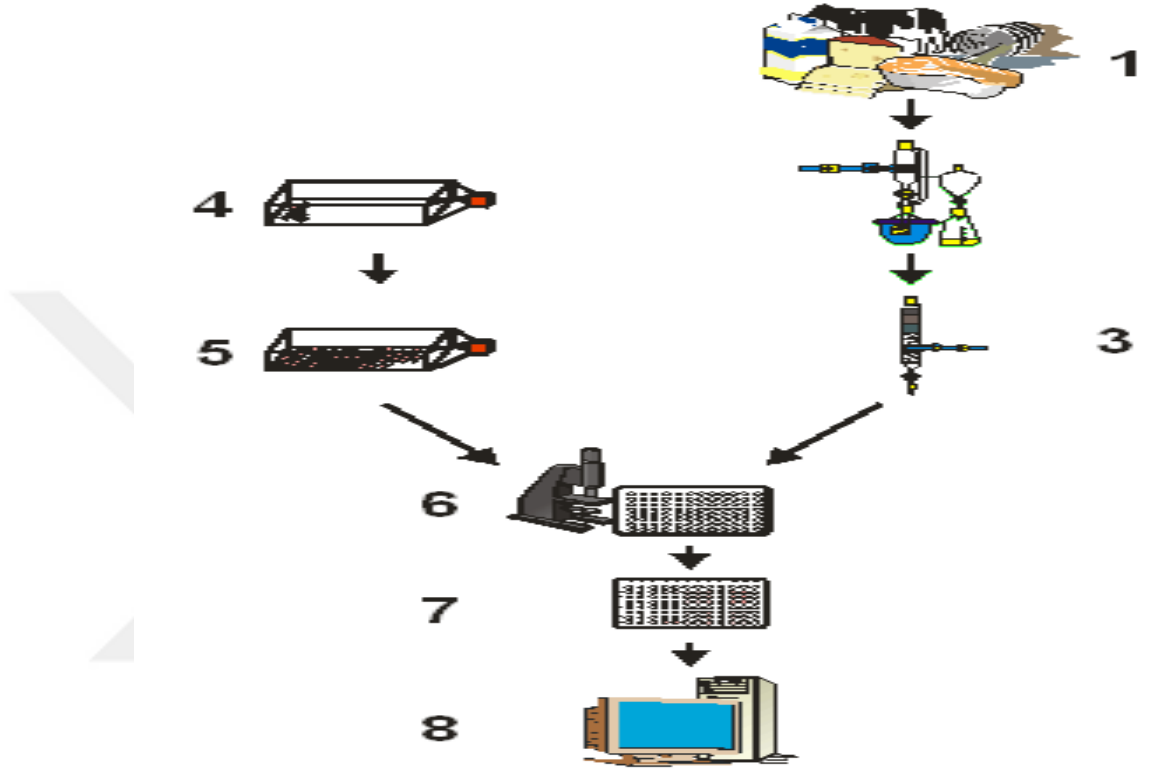


Şekil 3.1 CALUX yönteminde dioksinin etki mekanizması (calux-jp.com 2016)

1. Aromatik halojenli hidrokarbonlar (AAH), dioksinlere bağlı bir hücre içi reseptör denilen aril hidrokarbon reseptör (Ah reseptör) içerirler ve reseptörü aktive eder.
2. Sonra HAH-Ah reseptör karışımı hücre çekirdeğine gider.
3. Sonra HAH-Ah reseptörler DNA'nın içindeki dioksine cevap veren özel bir seriye (DRE) bağlanır.
4. HAH-Ah reseptör karışımının XRE ile bağlanması, XRE birleşik genlerini uyarıyor.
5. Lusiferaz geni artıyor.
6. Uyarılar m-RNA sitoplazmaya salınıyor.
7. m-RNA'lar yeni proteinlere taşınıyor.
8. Dioksinler ve ilgili HAH'ların maruziyetinden sonra gözlenen yeni proteinler biyolojik ve zehirli etki üretir
9. Dioksin TEQ değeri, lusiferaz rapor eden proteindeki enzimatik aktivitenin sonucunda üretilen luminesansın doz eğrisine göre ölçülür.

3.4 CALUX Yöntemi Çalışma Mekanizması

Şekil 3.2 ve bu şeklin aşamalarını detaylandıran çizelge 3.1’de CALUX yönteminin çalışma mekanizması genel olarak ifade edilmektedir.



Şekil 3.2 CALUX yönteminin çalışma mekanizması

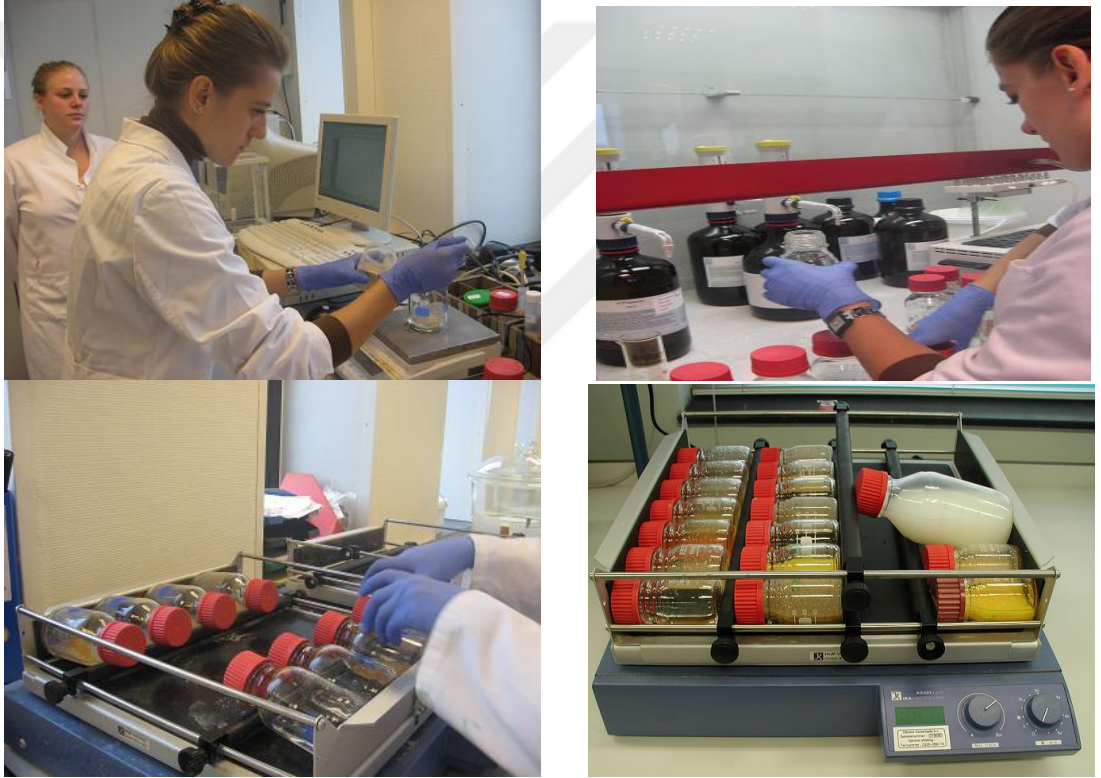
Çizelge 3.1 CALUX yönteminin çalışma mekanizması zaman çizelgesi

Zaman Çizelgesi	Biyolojik		Kimyasal	
Genel Hazırlıklar	-FCS'nin hazırlanması -Kültür ortamının hazırlanması -Hücrelerin çözülmesi -Tripsinin hazırlanması -Hücrelerin hazırlanması	-Lysismix'in hazırlanması -Glowmix'in hazırlanması -NaOH'in hazırlanması	Numunenin hazırlanması [1]	Slika etkileşimi[3]
1. Gün	Altkültür hücreleri [4]	Hücre ekimi [5]	-Ekstraksiyon [2] -Ekstraksiyon solventinin uçurulması [2]	Asidik slikanın hazırlanması[3]
2. Gün		-Dilasyonun hazırlanması -Maruz bırakma [6]		-Kolon işlemi [3] -Kolon solventinin uçurulması -DMSO'ya transfer edilmesi
3. Gün		-Üreyen hücrelerin kontrolü [7] -Ölçüm [7] -Veri işleme [8]		
Genel	-Hücrelerin dondurulması -Alt kültür hücreleri			

3.4.1 Ekstraksiyon

- Kullanılacak tüm cam malzemeler önceden hekzandan geçirilmiş ve tamamen kurutulmuş olmalıdır.

- 9 gr tereyağ numunesi laboratuvar şişesine tartılır. Üzerine 15 ml saf su ve 15 ml izopropanol eklenerek 10 dakika çalkalayıcıda çalkalanır. Sonra 30 ml ekstraksiyon çözeltisi eklenerek 200 vuruş hızında 1 saat çalkalanır. 1 saat sonunda 5 dakika dinlenmeye bırakılır. Fazları belirgin bir şekilde ayrılmış olan karışımdan üstteki faz (yağlı faz) darası alınmış 100'lük vialde alınır (Şekil 3.3).
- Tekrar 30 ml ekstraksiyon çözeltisi koyularak 30 dakika çalkalamaya bırakılır. Süre sonunda 5 dakika beklenecek üst faz ayrı vialde alınır.
- Bu işlem 1 kez daha tekrarlanır. Vialde biriken yağlı faz azot atmosferinden geçirilerek yalnızca yağ kalana kadar uçurmaya bırakılır.



Şekil 3.3 CALUX yönteminde ekstraksiyonun gerçekleştirilmesi

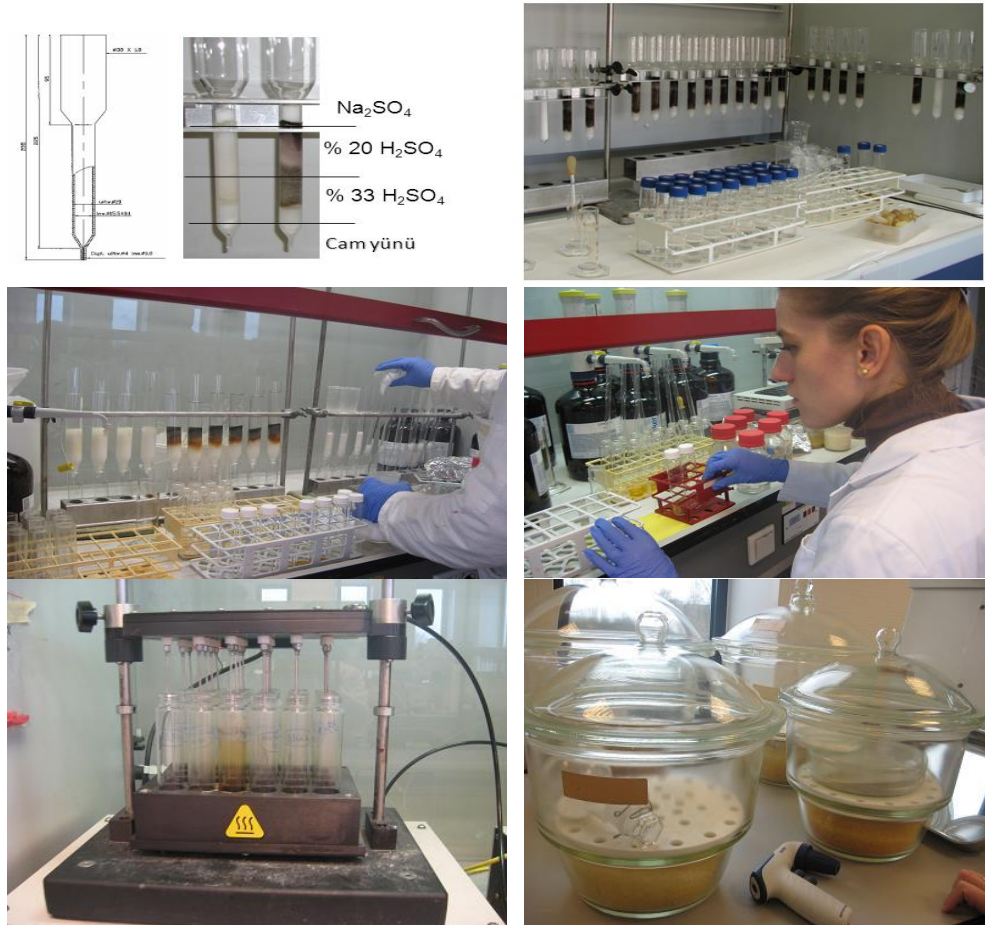
3.4.2 Kolon

Kullanılacak tüm cam malzemeler önceden hekzandan geçirilmiş ve tamamen kurutulmuş olmalıdır.

Kolon doldururken en alt kısma cam yünü koyulup, cam bagetle iyice yerleştirilir. Üzerine sırasıyla 5 gr %33'lük, 5 gr %20'lik silika koyulur. Silikalar nem kapmasın diye üzerine yaklaşık 4 gr sodyum sülfat koyulur ve sıkıştırılır.

Kolonu doldurduktan sonra 40 ml kolon çözeltisi eklenir. Kolonun altındaki vial bu çözelti akması bittikten sonra vial değiştirilir ve artık numune yüklemesi yapılır. Numuneyi kolona yüklerken, numunenin olduğu viali birkaç kez hekzanla yıkayarak vialde numune kalmadığına emin olunur. Daha sonra sırasıyla 15 ml, 15 ml ve 60 ml kolon çözeltisi yüklenerek, kolondaki tüm çözeltinin kolon altındaki viale akması beklenir.

Tamamen süzöldükten sonra kolon altındaki vial alınır ve azot atmosferi altında vialin içinde birkaç ml kalana kadar düşük ayarda uçurulur (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 CALUX yönteminde kolon aşaması

3.4.3 DMSO transferi

Kolondan gelen vial 1 ml'lik konik vial hekzanla yıkanarak alınır ve dışarıya sıçrama yapmayacak şekilde uçurulur. Vialin dibinde hiç sıvı kalmayacak şekilde uçması beklenir. Sonra üzerine 50 µl DMSO eklenir ve yaklaşık 10 saniye kadar çalkalanır. Ve bu vial x'lik vial adı verilip üzerine cam kalemle yazılır.

Bu x'lik vialin içinden 8 µl alınıp, 2 ml'lik başka bir konik vialin içine koyulur ve üzerine 16 µl DMSO eklenip 10 saniye kadar çalkalanır. Bu konik vialin üzerine de x/3 adını verilip, cam kalemle üstüne yazılır.

Yine x'lik vialin içinden 8 µl alınıp, 2 ml'lik başka bir konik vialin içine koyulur ve üzerine 72 µl DMSO eklenip 10 saniye kadar çalkalanır. Bu konik vialin üzerine de x/10 adı verilip, cam kalemle üstüne yazılır. Böylelikle elimizde bir numunenin x, x/3, x/10 luk seyreltilmiş halleri bulunmuş olur. Burada analizin kimyasal aşaması tamamlanmış olur ve artık biyolojik etkilerinin olduğu aşamalara geçilir.

3.4.4 Hücre yetiştirme

Analizin biyolojik aşamalarında kullanılan bütün pipet ve pipet uçları steril ve tek kullanımlık olmalıdır. Ayrıca hepsi güvenlik kabini içinde açılır, kullanılır ve atılır.

İçinde üretilmiş besiyeri olan flask güvenlik kabini içinde açılır. Flaskın içi pipetle boşaltılır ve 5-6 ml PBS (Fosfat Tamponlu Tuz) ile hücre üremesinin olduğu yüzey yıkanır. Yıkama işlemi ya pipetle tamamı çekilip yüzeye tekrar bırakılır ya da en az 20 kere yüzeyde PBS ile gezdirilip, boşaltılır. PBS ile yıkamanın amacı flaskte kalan besiyerini temizlemektir.

Sonra 2 ml tripsini hücrenin olmadığı yüzey köşesine yavaşça bırakıyoruz. 2 kere hızlıca tüm yüzeyden geçtiğine emin olarak çalkalıyoruz. Sonra tripsini yüzeyden

tamamen çekip atıyoruz. Tripsini yüzeyden tamamen çekip atmazsak, tripsine fazla maruz kalan hücreler ölür. Tripsinlemenin amacı yüzeye yapışan hücreleri koparmaktır.

Etüvde (37 °C sıcaklıkta ve %5 CO₂) 5 dakika bekletilir. Etüvden çıkarılınca mikroskopta hücreler incelenir ve daha önce köşeli olan hücreler yuvarlaklaşınca etüvden alınır.

Etüvden alınan fleske 10 ml Growth Medium (GM) koyulur. Pipetle çekip hızlıca hücrelerin olduğu yüzeye bırakılarak hücrelerin tamamı alınmaya çalışılır. Alınan bu 10 ml'lik GM'lu hücrelerin bir kısmı yeni hücreler üretmek için yeni bir fleske alınıp etüve kaldırılır. Diğer bir kısmı da numunelerin ekiminin yapılması için tabaka hazırlamada kullanılır.

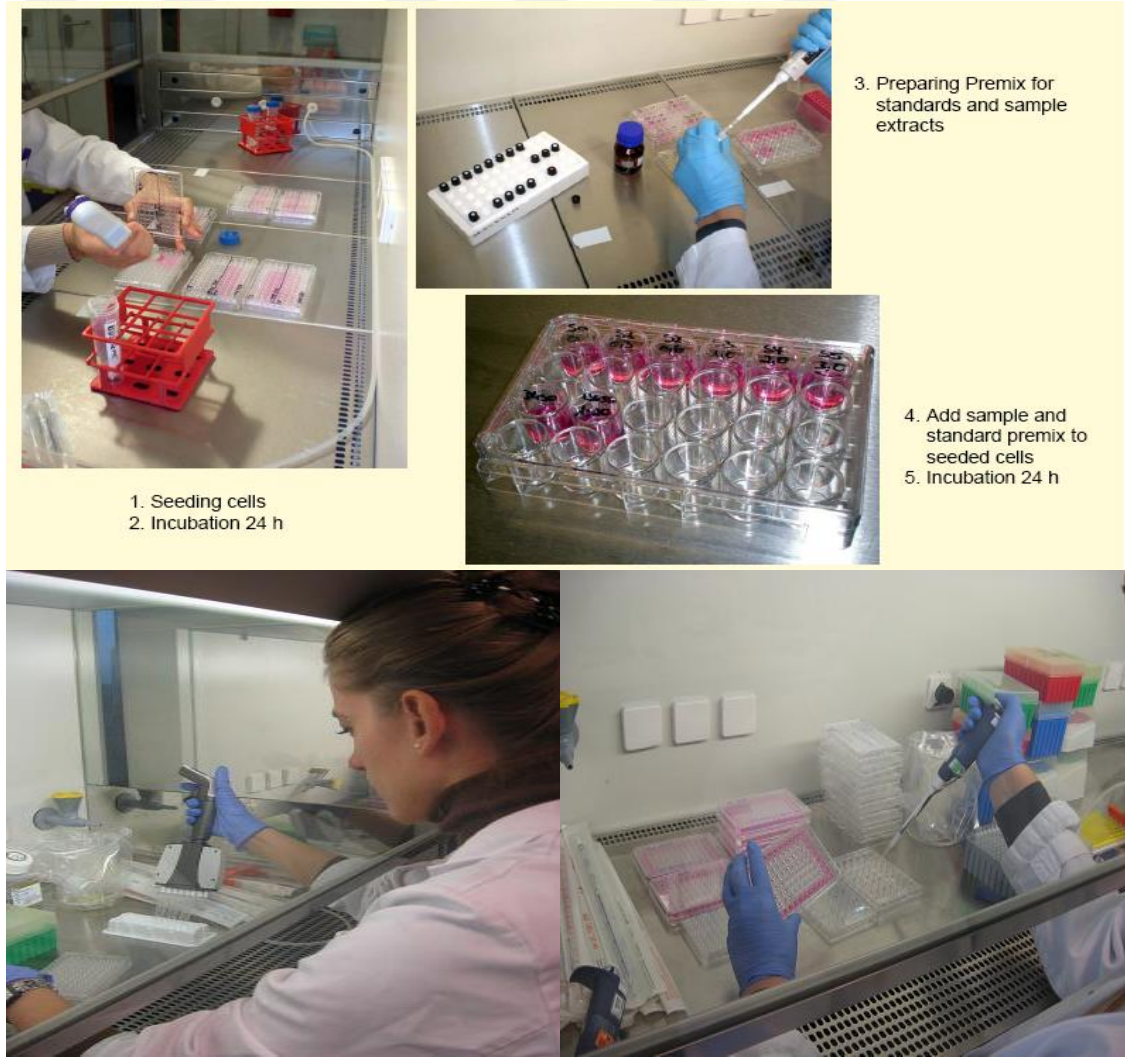
Bu hazırlıklar numune yoğunluğuna göre değişir. 1 tabaka için az önceki hücrelerin 3 ml'si bir santrifüj tüpüne alınır. Geri kalanı da GM ile 10 ml'ye tamamlanarak hücre yetiştirilmek üzere etüve kaldırılır ve bir sonraki gün ekime hazır hale gelir.

3.4.5 Tabaka hazırlama

- **96'lık tabaka hazırlama:** Hücre yetiştirme aşamasından santrifüj tüpüne ayırdığımız 3 ml'nin üzerine 5 ml GM eklenir. Pipetle çekilip boşaltılarak iyice karışması sağlanır. 96'lık tabaka güvenlik kabini içinde açılır. Dış kuyucuklara 200 µl PBS koyulur. İç kuyucuklara da 100 µl santrifüj tüpüne hazırladığımız hücrelerden koyulur. Tabakanın kapağı dikkatle kapatılıp 24-48 saat arası inkübe edilir.
- **48'lik tabaka hazırlama:** 48'lik tabaka güvenlik kabini içinde dikkatle açılır. Kuyucukların hepsine 350 µl GM koyulur. Sonra üzerine önce standartlardan sonra numune seyreltmelerinden (x, x/3, x/10) 5.6 µl eklenir. Tabaka kapağı dikkatlice kapatılır ve çalkalama makinasında 15 dakika yavaşça çalkalanır.

- **48’lik tabakanın 96’lık tabakaya aktarılması:** 48’lik tabaka süre sonunda çalkalamadan alınır ve güvenlik kabininde dikkatle açılır. Aynı zamanda bir gün öncesinden inkübe ettiğimiz 96’lık tabaka da güvenlik kabinine alınır.

Her bir standart ve her bir numune seyreltmesi için yukardan aşağı doğru 3 kuyucuk ayrılır ve her bir kuyucuğa 48’lik tabakadan 100 µl koyulur. Dolayısı ile her bir standart için 3 kuyucuk dolarken, her numunenin 3 seyreltmesi olduğundan her bir numune için 9 kuyucuk dolar. Bu şekilde 1 tabaka standart ekimleri de dâhil olmak üzere 4 numune ekimi yapılabilir. Böylelikle numune ekimi de yapılmış olur ve 24 saat sonra cihaz okuması yapılmak üzere etüve koyulur (Şekil 3.5).

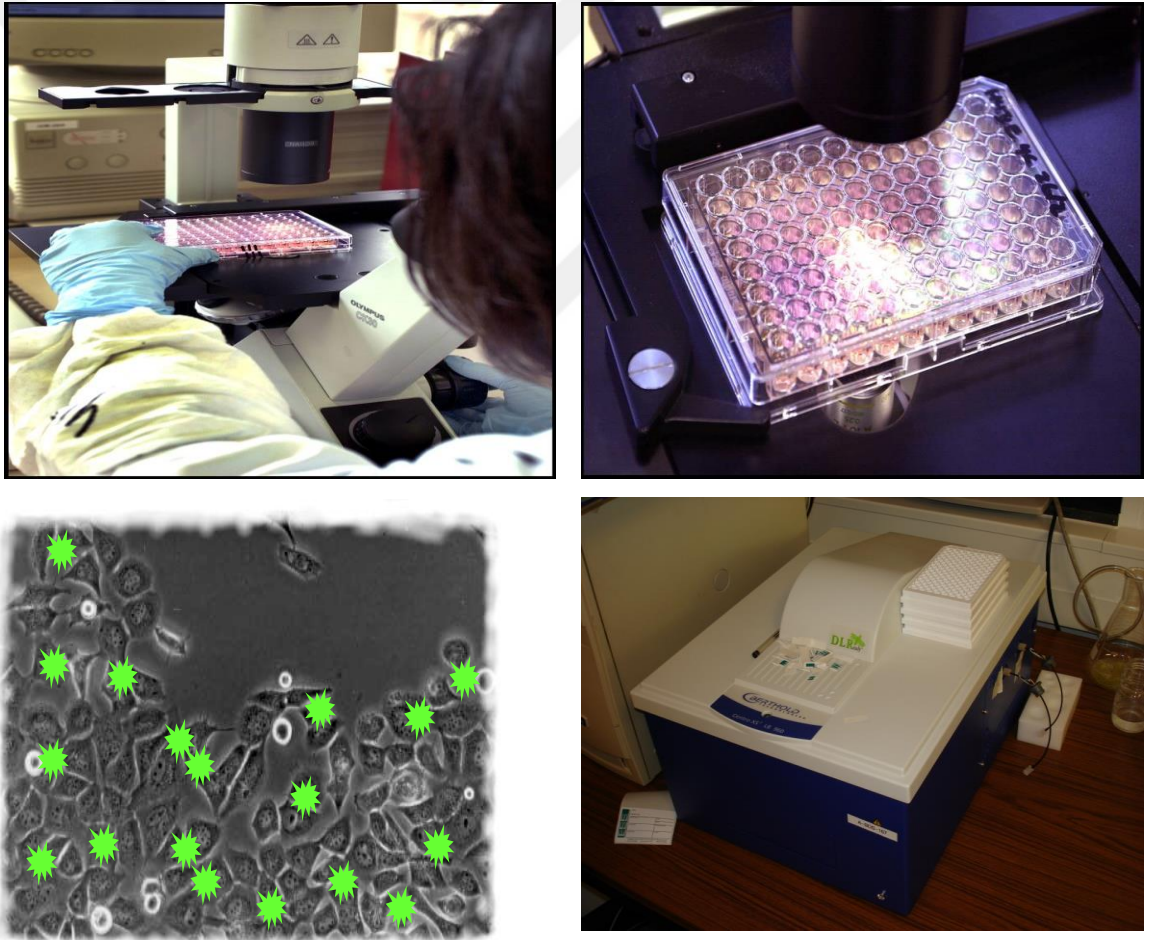


Şekil 3.5 CALUX yönteminde tabaka hazırlanması

3.4.6 Cihaz ölçümü

24 saat sonunda inkübasyondan çıkan 96'lık tabakanın en dıştaki kuyucuklar hariç diğer bütün kuyucuklardaki GM vakumla çekilir. Bu aşamalarda çok dikkatli olunmalıdır ve hücrelere zarar verilmemelidir.

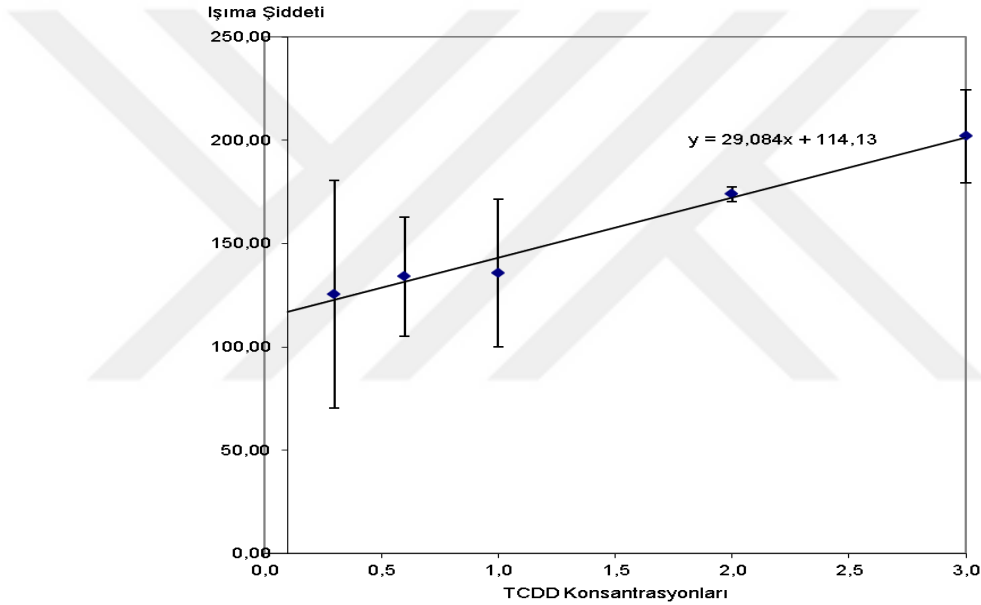
Çoklu pipetle boşaltılan kuyucuklara 100 μ l PBS koyulup 1-2 dakika çalkalanır. Sonra vakumla PBS tekrar çekilir. Daha sonra 30 μ l lizis koyulup 10-15 dakika çalkalanır ve vakumla tekrar çekildikten sonra cihaza verilir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 CALUX yönteminde cihaz ölçümü

4. BULGULAR

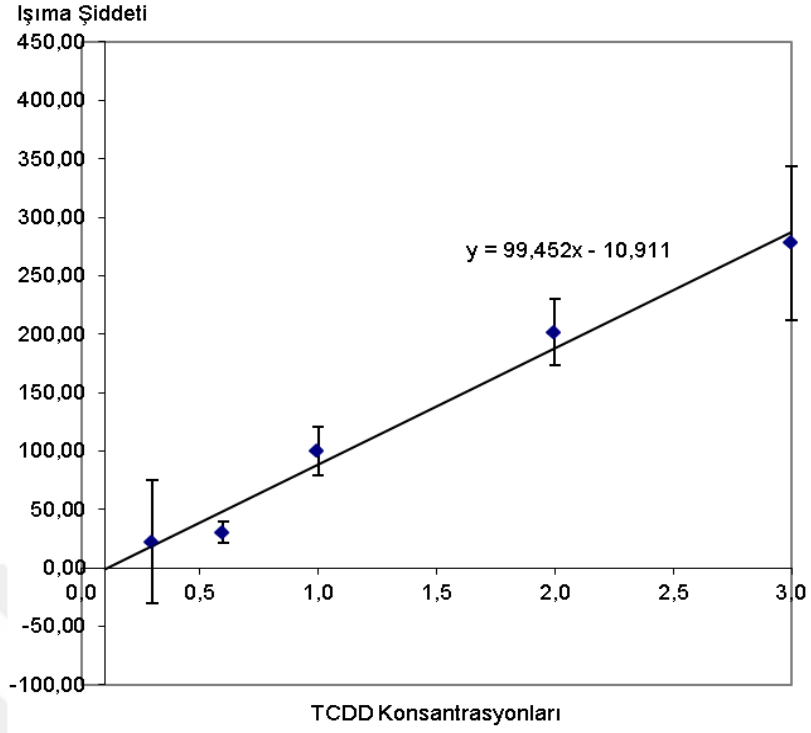
Şekil 4.1-4.5'te dioksin standardı ile belli derişimlerde (0 pM TCDD, 0,3 pM TCDD, 0,6 pM TCDD, 1,0 pM TCDD, 2,0 pM TCDD, 3,0 pM TCDD) hazırlanan çözeltiler için DR CALUX yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçların kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bu çalışmada, Ankara'nın farklı bölgelerinde (Elmadağ, Kızılcahamam, Çubuk, Haymana, Kazan, Beypazarı) üretilen tereyağı örnekleri alınmış ve bu kalibrasyon grafikleri yardımıyla örneklerin dioksin miktarları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.1-4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.1 1, 2, 3, 4 ve 5 numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.1 1, 2, 3, 4 ve 5 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları

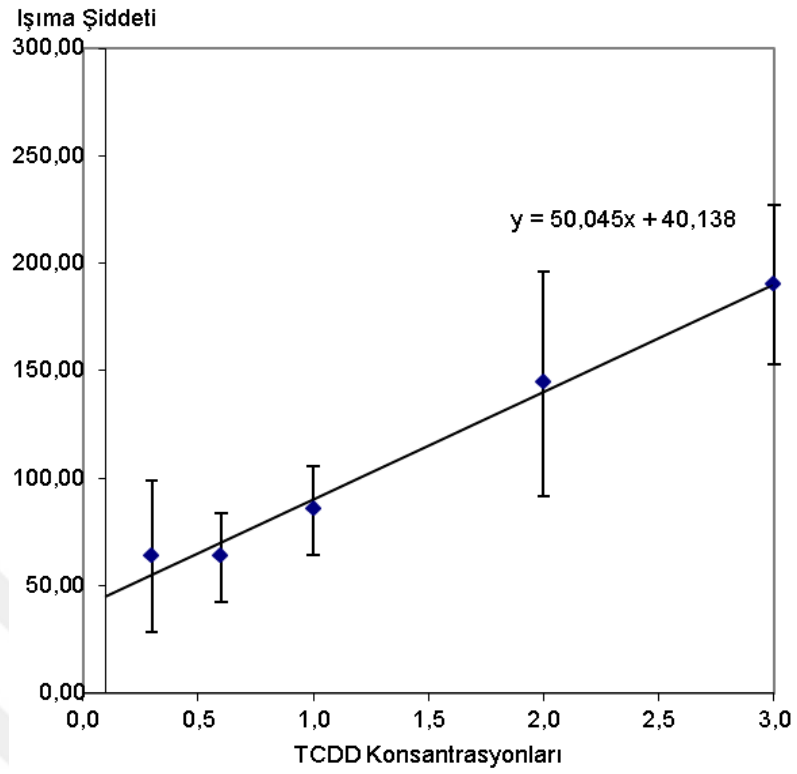
Örnek No	Örneğin Alındığı İlçe	Örneğin Alındığı Mahalle	Kolondan Geçen (g)	Toplam PCBS (pg yağ)	PCDD/F-TEQ/g
1.	Elmadağ	Akçaali Mah.	1.242	0.44	
2.	Kızılcahamam	Taşca Mah.	1.243	0.41	
3.	Kızılcahamam	Çeltikli Mah.	1.214	0.35	
4.	Kızılcahamam	Çeltikli Mah.	1.220	0.63	
5.	Kızılcahamam	Kırköy Mah.	1.205	0.51	



Şekil 4.2 6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.2 6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları

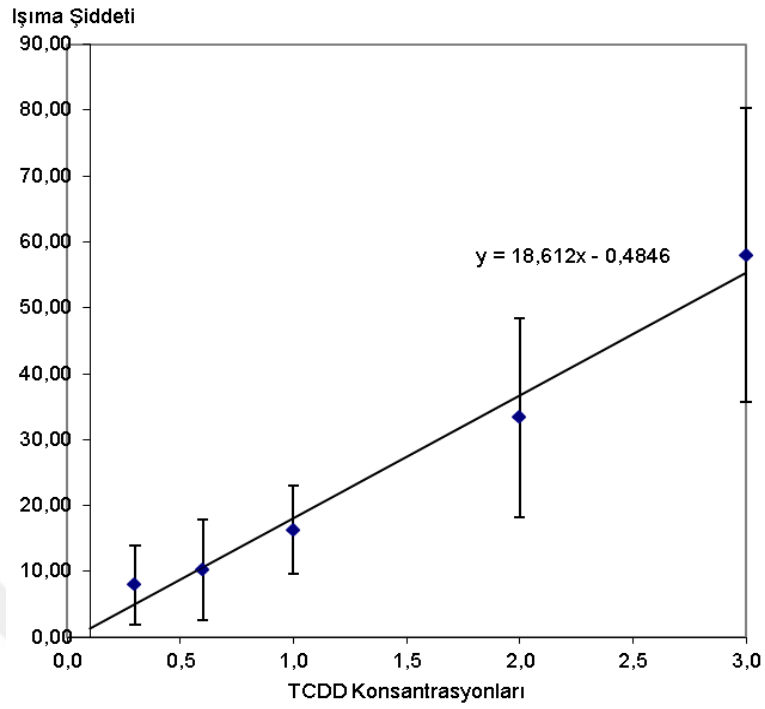
Örnek No	Örneğin Alındığı İlçe	Örneğin Alındığı Mahalle	Kolondan Geçen (g)	Toplam PCDD/F-PCBS (pg TEQ/g yağ)
6.	Kızılcahamam	Alibey Mah.	1.261	0.36
7.	Kızılcahamam	Saray Mah.	1.261	0.80
8.	Kızılcahamam	İsmetpaşa Mah.	1.259	0.64
9.	Çubuk	Çit Mah.	1.252	0.81
10.	Çubuk	Yukarı Çavundur Mah.	1.248	0.50



Şekil 4.3 11, 12, 13 ve 14 numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.3 11, 12, 13 ve 14 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları

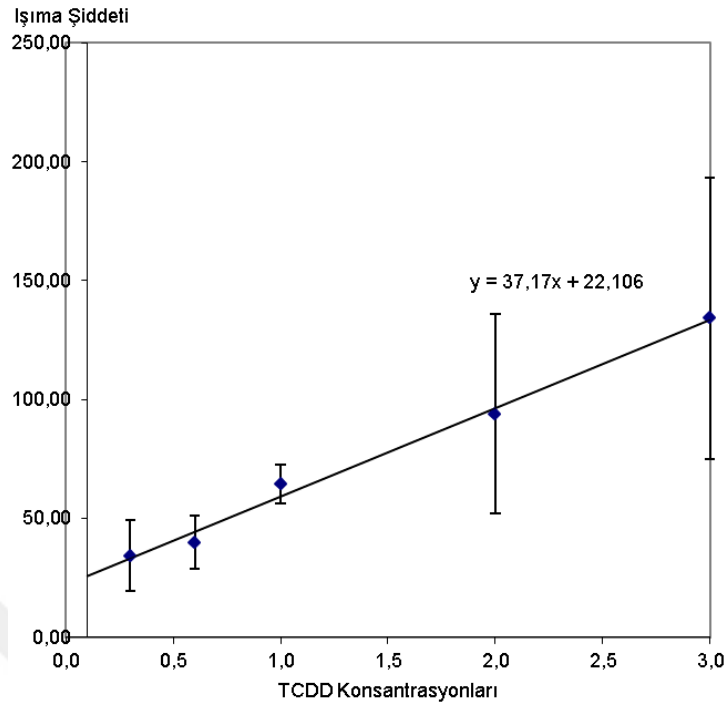
Örnek No	Örneğin Alındığı İlçe	Örneğin Alındığı Mahalle	Kolondan Geçen (g)	Toplam PCDD/F-PCBS (pg TEQ/g yağ)
11.	Haymana	Karaocak Mah.	1.251	0.36
12.	Gölbaşı	Tepeyurt Mah.	1.247	0.64
13.	Haymana	Yaylabey Mah.	1.263	0.30
14.	Çubuk	Kışlacık Mah.	1.211	0.14



Şekil 4.4 15, 16, 17 ve 18 numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.4 15, 16, 17 ve 18 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları

Örnek No	Örneğin Alındığı İlçe	Örneğin Alındığı Mahalle	Kolondan Geçen (g)	Toplam PCDD/F-PCBS (pg TEQ/g yağ)
15.	Kahramankazan	Kışla Mah.	1.283	0.43
16.	Beypazarı	Oymağaç Mah.	1.259	0.45
17.	Sincan	Polatlar Mah.	1.345	0.36
18.	Kahramankazan	Yassıören Mah.	1.223	0.54



Şekil 4.5 19, 20, 21, 22, 23 ve 24 numaralı örneklerin kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.5 19, 20, 21, 22, 23 ve 24 numaralı örneklerin bilgileri ve analiz sonuçları

Örnek No	Örneğin Alındığı İlçe	Örneğin Alındığı Mahalle	Kolondan Geçen (g)	Toplam PCDD/F-PCBS (pg TEQ/g yağ)
19.	Keçiören	Karşıyaka Mah.	1.327	0.70
20.	Beypazarı	Karacaören Mah.	1.228	0.63
21.	Beypazarı	Kırbaşı Mah.	1.215	0.49
22.	Beypazarı	Oymaağaç Mah.	1.275	0.62
23.	Beypazarı	Yiğirler Mah.	1.226	0.43
24.	Beypazarı	Yoğunpelit Mah.	1.220	0.51

Ülkemizde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın "Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği"ndeki maksimum dioksinler ve PCB limitleri aşağıdaki çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın "Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği"ndeki maksimum dioksin/PCB limitleri (Anonim 2011)

Gıda maddesi	Dioksinlerin toplamı en çok (WHO/PCDD/F-TEQ)	Dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı en çok (WHO/PCDD/F-PCB-TEQ)
Et ve et ürünleri (yenilebilir sakatatlar hariç) -Sığır türü hayvanlar ve koyun keçi -Kanatlı hayvanlar -Domuz	2,5 pg TEQ/g yağ 1,75 pg TEQ/g yağ 1,0 pg TEQ/g yağ	4,0 pg TEQ/g yağ 3,0 pg TEQ/g yağ 1,25 pg TEQ/g yağ
Karaciğer ve ürünleri	4,5 pg TEQ/g yağ	10,0 pg TEQ/g yağ
-Balık eti, balıkçılık ürünleri ve bunlardan üretilen ürünler ve kabuklular. Aşağıdakiler hariç -Yılan balığı -Tatlı su balıkları -Balık karaciğeri ve bunların ürünleri -Deniz ürünlerinden elde edilen yağlar	3,5 pg TEQ/g yağ ağırlık	6,5 pg TEQ/g yağ ağırlık
Süt ve süt ürünleri (tereyağ dâhil)	2,5 pg TEQ/g yağ	5,5 pg TEQ/g yağ
Tavuk yumurtası ve yumurta ürünleri	2,5 pg TEQ/g yağ	5,0 pg TEQ/g yağ
Aşağıdaki hayvanlardan elde edilen katı yağlar -Sığır türü hayvanlar ve koyun, keçi -Kanatlı hayvanlar -Domuz	2,5 pg TEQ/g yağ 1,75 pg TEQ/g yağ 1,0 pg TEQ/g yağ	4,0 pg TEQ/g yağ 3,0 pg TEQ/g yağ 1,25 pg TEQ/g yağ
Karışık hayvansal katı yağlar	1,5 pg TEQ/g yağ	2,5 pg TEQ/g yağ
Bitkisel sıvı yağlar ve katı yağlar	0,75 pg TEQ/g yağ	1,25 pg TEQ/g yağ
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,1 pg TEQ/g yağ ağırlık	0,2 pg TEQ/g yağ ağırlık

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Dioksin analiz yöntemleri enstrümantal analiz yöntemi ve biyotarama yöntemleri (CALUX, EROD vb.) olmak üzere iki çeşittir. Gaz kromatografisi yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (GC-HRMS) yöntemi, düşük tespit limitine sahip olması, yüksek seçiciliğin olması, doğru ve kesin sonuç verebilmesi açısından avantajlıdır. Fakat yatırım maliyetinin yüksek olması, alanında bilgili ve tecrübeli eleman gerektirmesi, analiz süresinin uzun olması nedeniyle dezavantajları vardır.

CALUX ve GC-HRMS farklı yöntemler olmasına rağmen, birbirlerini tamamlayıcı olarak nitelendirilebilirler (Vondracek vd. 2001, Hilscherova vd. 2003, Whyte vd. 2004). CALUX yöntemi özellikle tarama veya enstrümantal analize tabi tutulacak örneklerin tespiti için kullanılmaktadır.

Bir biyotarama yöntemi olan CALUX yönteminin avantajları, epidemiyolojik izlemeye uygun, gıda zincirinde dioksin zehirliliği olmadığına dair kesinlik veren, fazla sayıda numuneyi aynı anda analiz edebilen, hızlı, düşük maliyetli ve güvenilir olması olarak sıralanabilir (Windal 2005).

Çoğu durumda CALUX yöntemi ile ölçülen değer, diğer analitik yöntemlerle ölçülen değerlere eşit veya daha büyük olmaktadır. Bu sadece antagonistlerin yüksek konsantrasyonlarda olduğu numunelerde görülmez (Windal 2005).

Enstrümantal analizler örneklerdeki belirlenmiş bileşiklerin tek tek miktarını ölçerken, CALUX yöntemi örneğin bütün biyolojik etkisini ölçer (Windal 2005). Sonuç olarak, CALUX yöntemi örneklerin dioksin açısından yasal değerlere uygun olup olmadığını belirlemek için kullanılan bir tarama yöntemidir (Bovee vd. 1998, Hoogenboom vd. 2004, Vanderperren vd. 2004).

Son yıllarda endüstrinin gelişmesi ile birlikte dioksin ve dioksin benzeri bileşiklerin birikimi; toprak, su, hava gibi çevresel ortamların yanı sıra gıda maddelerinde de

artmaya başlamıştır ve çoğu insan en fazla besinler aracılığı ile vücutlarına dioksin alır. Bu yüzden gıda ve çevre örneklerinde dioksin ve dioksin benzeri bileşiklerin derişimlerini doğru bir şekilde belirlenmesi çok önemlidir.

Bu konu ile ilgili literatür taraması yapıldığında;

1999 yılında Belçika'da çevre kirliliğinin insan sağlığı üzerine etkileri bakanlık tarafından araştırılmıştır. Araştırmada hem GC-MS hem de CALUX yöntemi kullanılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır ve CALUX yönteminin alternatif gözleme aracı olduğu tespit edilmiştir (Koppen vd. 2001).

2007 yılında Brown ve arkadaşlarının yaptığı matematiksel modelleme çalışmasında CALUX yönteminin gelecekte dioksin kirlenmelerinin risk değerlendirmeleri açısından önemli bir yöntem olduğuna karar verilmiştir.

Kelantzi ve arkadaşlarının 1998-1999 yılları arasında 24 ülkeden 138 tereyağ toplayarak PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'lerin dağılımını araştırmıştır. En yüksek değerler Avrupa ve Kuzey Amerika'dan gelmiştir. Bunların dışında ise dioksin kirliliğinin en fazla olduğu yerler Hindistan, Çin ve Tunus'tur. Kelantzi ve arkadaşları sonuçların yüksek çıkmasının sebebini buralarda endüstrileşmenin yoğun olmasına bağlamaktadır.

Ülkemizde gerçekleştirilen çalışmalar incelendiğinde ise;

Çiftçi, 2008 yılında Elazığ ve çevresinden topladığı tereyağ numunelerinde PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'lerin toplam miktarını incelemiş ve 0,0138 ng TEQ/g yağ olarak sonuç bulmuştur. Bu miktarın yasal limitlerin üstünde olduğu ve insan sağlığı açısından risk oluşturabileceğine dikkat çekmiştir (Çiftçi 2008a).

Çiftçi (2008b), Elazığ'da Fırat nehrinde yaşayan yılan balıklarındaki dioksin miktarını ölçerek WHO limitlerinin üzerinde bulmuş ve yılan balıklarının gıda olarak tüketilmesini riskli bulmuştur (Çiftçi 2008b).

Kılavuz (2010), Kocaeli’de üretilen gıdalar ile bölgeye dışardan getirilip marketlerde satılan ticari gıdaların dioksin miktarını ölçmüştür. Yerel ürünlerin limitleri aştığını belirleyerek sağlık riskine dikkat çekmiştir. Fakat buna karşın marketlerde satılan gıdalarda sonuçları daha düşük bulmuştur.

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre tereyağı numunelerinde dioksinler ve dioksin benzeri PCB’lerin toplamı en çok 5,5 pg TEQ/g yağ olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada ise Ankara ve çevresinde üretilen tereyağlarından alınan numunelerde dioksin ve dioksin benzeri bileşenlerin ortalama miktarı 0,50 pg TEQ/g yağ olarak bulunmuştur. Dolayısı ile ülkemizde belirlenen limit değerlerin çok çok aşağısındadır. Sonuç olarak, Ankara ve çevresinde üretilen tereyağlarında dioksin ve dioksin benzeri bileşenler açısından bir sağlık riski yoktur.

Çiftçi (2008a), bu çalışmada seçilen örnekleme benzer olarak, Elazığ ve çevresinden tereyağı örnekleri toplamış ve dioksinler ve dioksin benzeri PCB’lerin toplam miktarını yasal limitlerin üzerinde bularak sağlık riski oluşturabileceğine dikkat çekmiştir. Bu çalışmada ise, Ankara ve çevresinden toplanana tereyağı örneklerinde ölçülen sonuçlar yasal limitler içinde kalmıştır.

Kılavuz (2010) ve Kalentzi vd. (2001) gerçekleştirdiği çalışmalarda da dioksinler ve dioksin benzeri PCB’lerin toplam miktarının endüstrileşmeye paralel olarak arttığı tespit edilmiştir.

Bu çalışma kısıtlı bir alanda yapıldığından etkili bir genelleme yapılamamaktadır. Sonuçlar her ne kadar yönetmelik şartlarına uygun olsa da daha fazla değişken ile daha geniş alanlarda araştırma yapılmalıdır. Bölgede dioksin miktarlarının tespiti açısından ilk çalışma özelliğini taşıyan bu çalışmanın detaylandırılması ve araştırmaların arttırılması gerekir.

Dioksinler hidrofobik yapıda oldukları için toprak ve sedimentlerde araştırma konularına dâhil edilmelidir. Ayrıca topraktaki miktarın ne kadarının bitkilere geçtiği ve besin zincirine ne kadarının geçtiği de araştırılmalıdır. Özellikle sanayi bölgeleri ve tarımsal alanlar konuya dâhil edilmelidir.

Dioksine en çok maruz kaldığımız yolun gıda maddeleri olduğunu göz önünde bulundurarak, beslenme alışkanlıklarımız ile ilgili bir çalışma yapıp gıda türlerine göre bir risk değerlendirme çalışması yapılmalıdır. Daha güvenilir gıdaların üretimi için ulusal standartlar oluşturulmalıdır.



KAYNAKLAR

- Anonim. 2011. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete, 28157
- Anonim. 2016. Web Sitesi: www.saglikbilgisi.gen.tr, Erişim Tarihi: 02.12.2016
- Anonim. 2016. Web Sitesi: www.ntvmsnbc.com, Erişim Tarihi: 02.10.2016
- Anonim. 2016. Web Sitesi: www.haberler.com/slovakya-da-almanya-dan-kumes-hayvani-ithalatini-2468245-haberi, Erişim Tarihi: 01.09.2016
- Anonuyous. 1989. International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 88– Polychlorinated Dibenzo-para-dioxins and Dibenzofurans. IPCS.
- Anonymous. 1994a. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1994. Toxicological Profile for Chlorodibenzofurans, Department of Health and Human Services. U.S. Atlanta
- Anonymous. 1994b. United States Environmental Protection Agency (US EPA). Health Assessment Document for 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and Related Compounds. External Review Draft. United States Environmental Protection Agency. EPA/600/BP-92/001a-c.
- Anonymous. 1998. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Chlorinated Dibenzo-p-Dioxins. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA.
- Anonymous. 2000. United States Environmental Protection Agency (US EPA). Exposure and Human Health Reassessment of 2,3,7,8-Tetra Choloro Dibenzo-p-Dioxin (TCDD) and Related Compounds. Vol:4, EPA/600/P-00/001Bd. Draft Final Report. Washington D.C. USA
- Anonymous. 2002. JECFA. WHO Food Additive Series: 48 Safety Evaluation of Certain Food Additiveand Contaminants. Geneva: WHO
- Anonymous. 2003. National Academy of Science (NAS). Dioxins and Dioxin-Like Compounds in the Food Supply: Strategies to Decrease Exposure. Committee on Implications of Dioxins in the Food Supply Food and Nutrition Board. The National Academies Pres. Washington D. C.

- Anonymous. 2004. World Health Organization (WHO) IPCS Risk Assessment Terminology: Internationally Harmonized Terms in Relation to Chemicals. Geneva
- Anonymous. 2009. Dioxin in Dairy, in Dairy Field: Helping Processory Manage the Changing Industry. Stagnito Communications Inc. USA. 14.
- Anonymous. 2016. Web Sitesi: www.calux-jp.com/english/mechanism1.html, Erişim Tarihi: 12.19.2016
- Arıkan, D., Yetim, H., Sağdıç, O. ve Kesmen, Z. 2009. Gıdalarda Dioksin Kontaminasyonu ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 4 (2):9-15
- Bakoğlu, M., Karademir, A. and Durmusoglu, E. 2005. Evaluation of PCDD/F Levels in Ambient Air and Soils and Estimation of Deposition Rates in Kocaeli, Turkey, Chemosphere, 59, 1373-1385
- Ballschmiter, K., Buchert, H., Niemczuk, R., Munder, A. and Smenv, M. 1986. Automobile Exhausts Versus Municipal Waste Incineration as Sources of the Polydhloro Dibenzodioxins (PCDD) and -Furans (PCDF) Found in the Environment. Chemosphere. 15. 901-915.
- Baeyens, W., Verstraete, F. and Goeyens, L. 2004. Elucidation of Sources, Pathways and Fate of Dioxins, Furans and PCBS Requires Performant Analysis Techniques. Talanta, 63, 1095-1100
- Bawden, K. 2004. Inventory of Dioxin Emissions in Australia. National Dioxins Program Technical Report. 3.
- Bovee, T. F. H., Hoogenboom, L. A. P., Hamers, A. R. M., Traag, W. A., Zuidema, T., Aarts, J. M. M. J. G., Brouwer, A. and Kuipert, H. A. 1998. Validation and Use of The CALUX-Bioassay for The determination of Dioxins and PCBS in Bovine Milk. Food Add. Contam. 15, 863-875.
- Brown, D. J., Orelie, J., Gordon, J. D., Chu, A. C., Chu, M. D., Nakamura, M., Handa, H., Kayama, F., Denison, M. S. and Clark, G. C. 2007. Mathematical Model Developed for Environmental Samples: Prediction of GC/MS Dioxin TEQ from XDS-CALUX Bioassay Data, Environ. Sci. Technol. 41(12):4354-436

- Çiftçi, O. 2008a. Elazığ ve Çevresinde Tüketilen Tereyağlarında, Dioksin ve Benzeri Bileşik Düzeylerinin Araştırılması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimler Dergisi. 22 (5): 289–292.
- Çiftçi, B. 2008b. Fırat Nehir Sisteminde Yaşayan Dikenli Yılan Balığı (Mastacembelus Mastacembelus, Banks and Solander, 1794)’nın Kas Dokusunda Dioksin Miktarının Araştırılması, Fırat Üniversitesi Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi
- Denison, M. S., Zhao, B., Baston, D. S., Clark, G. C., Murata, H. and Han, D. H. 2004. Recombinant Cell Bioassay Systems for the Detection and Relative Quantitation of Halogenated Dioxins and Related Chemicals. Talanta, 63,1123-1133.
- Dönmez, M. K. 2009. Poliklorlanmış Dioksin/Furan ve Dioksin Benzeri PCB’lerin İnsan Adipoz Doku ve Anne Sütündeki Düzeylerinin Belirlenip Erkek İnfertilitesi ile İlişkisinin Araştırılması, Türkiye, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi
- Eppe, G., Focant, J. F., Pirard, C., Xhrouet, C., Maghuin-Rogister, G. and De Pauw, E. 2006. Analyse Des Dioxines Par Chromatographie Gazeuse Couplée À La Spec-Trométrie De Masse (GC-HRMS, GC/MS/MS et GCxGC-TOFMS): Principes, Applications et Perspectives. Chimie Nouvelle N:92
- Eisler, R. 2000. Handbook of Chemical Risk Assessment, Health, Hazards to Humans, Plants and Animals. Vol:2 Lewis Publishers
- Fiedler, H. 2003. Dioxins and Furans (PCDD/PCDF). The Handbook of Environmental Chemistry. Persistent Organic Pollutants. 3. 126-195.
- Fries, G.F. and Paustenbach, D.J. 1990. Evaluation of Potential Transmission of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Contaminated Incinerator Emissions To Humans via Foods. J. Toxicol Environ Health 29: 1-43.
- Fries, G.F. 1995. A Review of the Significance of Animal Food Products as Potential Pathways of Human Exposures to Dioxins. J Anim Sci. 73: 1639-1650.
- Fürst, P., Fürst, L. and Widmers, K. 1991. Body Burden with PCDD and PCDF from Food. Gallo, M., Scheuplein, R., Vander Heijden, K. (Ed.) Biological Basis for Risk Assessment of Dioxins and Related Compounds. Banbury Report # 35 içinde (s. 133-169). Plainview, NY: Cold Springs Harbor Laboratory Press.

- Güneş, G. 2007. Dioksin ve Furanların Oluşum Mekanizmaları ve Giderilme Teknolojileri. Yüksek Lisans Tezi Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı. İstanbul
- Hilscherova, K., Kannan, K., Nakata, H., Hanari, N., Yamashita, N. Bradley, P. W., McCabe, J. M., Taylor, A. B. and Giesy, J. P. 2003. Pcddand PCDF Profiles in Sediments and Flood-Plain Soils in the Tittabawassee River, Michigan. Environ. Sci. Technol., 37,468-474.
- Hoogenboom, R., Bovee, T. F. H., Portier, L., Bor, G., Van Derweg, G., Onstenk, C. and Traag, W. A. 2004. The German Bakery Wasteincident; Use of A Combined Approach of Screening Andconfirmation for Dioxins in Feed and Food. Talanta, 63,1249-1253.
- Kalantzi, O. I., Alcock, R. E., Johnston, P. A., Santillo, D., Stringer, R. L., Thomas, G. O. and Jones, K. C. 2001. The Global Distribution of PCBs and Organochlorine Pesticides in Butter , Environmental Science and Technology, 35(6):1013–1018
- Karademir, A. 2002. Tehlikeli Atık Yakma Tesisi Dioksin Emisyonlarının Doğadaki Dağılımlarının Modellenmesi ve Risk Değerlendirmesi, Kocaeli Üniversitesi Doktora Tezi. Kocaeli
- Kılavuz, S. A. 2010. Kocaeli’de Tüketilen Gıdalarda PCDD/F Konsantrasyonlarının Belirlenmesi Ve Risk Değerlendirmesi. Kocaeli Üniversitesi Doktora Tezi. Kocaeli
- Koppen, G., Covaci, A., Van Cleuvenbergen, R., Schepens, P., Winneke, G., Nelen, V. and Schoeters, G. 2001. Comparison of CALUX-TEQ Values with PCB and PCDD/F Measurements in Human Serum of the Flanders Environmental and Health Study (FLEHS), Toxicol Letters, 123(1):59-67
- Korucu, M.K. 2008. Çevresel Örneklerdeki PCDD/F Konsantrasyonlarının GC/MS-NCI Yöntemiyle Belirlenmesi. Kocaeli Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi. Kocaeli.
- Longnecker, M. P., Rogan, W. J. and Lucier, G. 1997. The Human Health Effects of DDT (Dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBs (Polychlorinated Biphenyls) and an Overview of Organochlorines in Public Health. Annu Rev Public Health.

- Mai, T. A. 2005. Sources and Fate of PCDDs and PCDFs in Rural and Urban Ecosystem and Food Chain in Southern Vietnam. Master Thesis Ho Chi Minh University of Technology. Vietnam.
- Marklund, S., Rappe, C., Andersson, R., Bergqvist, P. A., Brohede, C., Hansson, M., Kjeller, L. O., Lindström, G., Nygren, M., Svansson, S. E., Tysklind, M. and Wiberg, K. 1987. Overview On Environmental Fate of Chlorinated Dioxins and Dibenzofurans, Sources, Levels and Isomeric Pattern in Various Matrices. *Chemosphere*. 16, 1603-1618.
- Mckay, G. 2001. Dioxin Characterisation, Formation and Minimisation During Municipal Solid Waste Incineration. Review
- Neumann, H. G. 1996. Toxic Equivalence Factors, Problems and Limitations. *Food Chemical Toxicol*, 34: 1045-1051.
- Rada, E. C., Ragazzi, M., Panaitescu, V. and Apostol, T. 2006. The Role of Bio-Mechanical Treatments of Waste in the Dioxin Emission Inventories. *Chemosphere*. 62, 404-410.
- Scippo, M. L., Eppe, G., Saegerman, C., Scholl, G., De Pauw, E. and Maghuin-Rogister, G. 2008. Persistent Organochlorine Pollutants, Dioxins Andpolychlorinated Biphenyls. Y. Picó (Ed.), *Comprehensive Analytical Chemistry Chapter XIV*, Vol. 51 içinde (s. 457-506). Amsterdam: Elsevier
- Şahbaz, F. ve Acar, J. 1993. Dioksin ve Dioksinin Gıdalara Bulaşma Olasılıkları. *Gıda*, 18(4):243-245.
- Takigami, H., Suzuki, G. and Sakai, S. 2008. Application of Bioassays for the Detection of Dioxins and Dioxin-like Compounds in Wastes and the Environment, *Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry—Biological Responses to Chemical Pollutants*, 87–94
- Tame, N. W., Dlugogorski, B. Z. and Kennedy, E. M. 2007. Formation of Dioxins and Furans During Combustion of Treated Wood. *Progress in Energy and Combustion Science*. 33: 384–408.
- Telli, B. 2011. İzmit Körfezi Biyota ve Sediment Örneklerinde PCDD/F Düzeylerinin Araştırılması, Kocaeli Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli, 4, 6, 15, 21-22

- Theisen, J., Funcke, W., Balfanz, E. and König, J. 1989. Determination of PCDFs and PCDDs in Fire Accidents and Laboratory Combustion Tests Involving PVC-Containing Materials. *Chemosphere*. 19, 423-428.
- Turrio-Baldassarri, L., Alivernini, S., Carasi, S., Casella, M., Fuselli, S., Iacovella, N., Iamiceli, A. L., La Rocca, C., Scarcella, C. and Battistelli, C. L. 2009. PCB, PCDD and PCDF Contamination of Food of Animal Origin as the Effect of Soil Pollution and the Cause of Human Exposure in Brescia, *Chemosphere*., 76(2):278-285
- Vanderperren, H., Van Wouwe, N., Behets, S., Windal, I., VanOvermeire, I. and Fontaine, A. 2004. TEQ-value Determinations in Animalfeed; Emphasis on the CALUX Bioassay Validation. *Talanta*, 63, 1277-1280.
- Varınca, K. B., Güneş, G. ve Ertürk, F. 2008. Hava Kirleticilerinin İnsan Sağlığı ve İklim Değişikliği Üzerine Etkileri. Ulusal Hava Kalitesi Sempozyumu UHAKS. Konya.
- Vikelsøe, J., Andersen, H. V., Bossi, R., Johansen, E. and Chrillesen, M. 2005. Dioxin in the Atmosphere of Denmark. NERI Technical Report No. 565.
- Vondracek, J., Machala, M., Minskova, K., Blaha, L., Murk, A. J., Kozubik, A., Hofmanova, J., Hilscherova, K., Ulrich, R., Ciganek, M., Naca, J., Svrckova, D. and Holoubek, I. 2001. Monitoring Riversediments Contaminated Predominantly with PAH by Chemical and in Vitro Bioassay Techniques. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20, 1499-1506
- Vural, H. 1995. Gıda Kirliliği Açısından Dioksin ve Furan İzomerleri. *Ekoloji Çevre Dergisi Sayı: 15: 45-49*.
- Watanabe, S., Kitamura, K. and Nagahashi, M. 1999. Effects of Dioxins on Human Health: A Review. *J Epidemiol*. 19: 1-13.
- Whyte, J. J., Schmitt, C. J. and Tillitt, D. E. 2004. The H4IIE Cell Bioassay as an Indicator of Dioxin-Like Chemicals in Wildlife and The environment. *Crit. Rev. Toxicol.*, 34, 1-83
- Windal, I., Denison, M. S., Birnbaum, L. S., Van Wouwe, N., Baeyens, W. and Goeyens, L. 2005. Chemically Activated Luciferase Gene Expression (CALUX) Cell Bioassay Analysis for The Estimation of Dioxin-Like Activity:

Critical Parameters of the CALUX Procedure That Impact Assay Results,
Environ Sci Technology, 39(19):7357-7364.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Deniz ÖZTÜRK

Doğum Yeri : Keskin

Doğum Tarihi : 18/11/1986

Medeni Hali : Evli, 1 Kız

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Ankara Başkent Lisesi (2004)

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (2009)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Nisan 2017)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı

Tokat Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü (2011-2012)

Ankara Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü (2012-)