

Türkiye'de tavuk yumurtalarında organik klorlu pestisid ve poliklorlu bifenil bileşik kalıntı düzeylerinin araştırılması

Yasemin GÜREL¹, Rauf AKKAYA¹, Yusuf YİĞİT¹, Feride KOÇ², Yavuz Kürşad DAŞ³,
Ayşin BAŞSATAN YORULMAZ¹, İlknur KAHVECİ¹

¹Etlık Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Ankara; ²Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Erzurum; ³Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji AD, Samsun.

Özet: Halk sağlığı, zirai mücadele ve veteriner hekimlikte zararlılarla mücadelede pestisidler sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlar arasında zamanla zararlı ve kalıcı etkilerinin ortaya çıkması sonucu organik klor (OK)'lu pestisidlerin üretimine son verilmiş ve kullanımları yasaklanmıştır. Artık üretilmiyor olsalar dahi hidrokarbonların klorlanması ile elde edilen poliklorlu bifenil bileşik (PCB)'ler de çevrede uzun süre yapısını koruyan maddelerdir. Bu çalışmada organik klorlu pestisidlerden Alfa HCH, Heptaklor, Hezoklorobenzen (HCB), Beta-Hezoklorosikloheksan (β -HCH), Endrin, Aldrin, Heptaklorepoisit, Beta-Endosulfan (β -Endosulfan), 4,4-DDE ve 4,4-DDT ile poliklorlu bifenil bileşiklerden PCB-28'in kalıntısı gaz kromatografi mikro elektron yakalama dedektör (GC- μ ECD) cihazı ile incelenmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda incelenen bileşiklere ait geri alım değerleri Alfa-Hezoklorosikloheksan (α -HCH) %86, Heptaklor %92, Hezoklorobenzen (HCB) %71, Beta-Hezoklorosikloheksan (β -HCH) %73, Endrin %80, Aldrin %75, Heptaklorepoisit %76, Beta-Endosulfan (β -Endosulfan) %70, 4,4-DDE %76, 4,4-DDT %86 ve PCB-28 için %76 olarak hesaplanmıştır. Yine aynı bileşiklerde tespit edilebilir kalıntı alt sınırı (LOD) Alfa HCH 2.49 ppb, Heptaklor 2.67 ppb, Hezoklorobenzen (HCB) 7.23 ppb, Beta-Hezoklorosikloheksan (β -HCH) 0.69 ppb, Endrin 7.89 ppb, Aldrin 3.76 ppb, Heptaklorepoisit 1.08 ppb, Beta-Endosulfan (β -Endosulfan) 2.89 ppb, 4,4-DDE 2.01 ppb, 4,4-DDT 2.67 ppb ve PCB-28 için 1.69 ppb olarak belirlenmiştir. Türkiye'nin altı ayrı ilinden bir yıl içerisinde elde edilen 230 yumurta örneğinde belirtilen organik klorlu pestisidler ve PCB-28'in kalıntısına rastlanılmamıştır.

Anahtar sözcükler: Yumurta, Organik klorlu pestisid, PCB-28, kalıntı

The Investigation of organochlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls residue levels in eggs of hens in Turkey

Summary: Pesticides are frequently used in public health, agricultural and veterinary area to control insects. In the course of time, because of occurring harmful and permanent effects, organochlorine (OK) pesticides's protection is stopped and banned. Although their production is banned, polychlorinated biphenyls (PCBs), which are gained by chlorinating hydrocarbones, are highly persistent organic pollutants. In this study, alpha-HCH, heptachlor, hexachlorobenzene (HCB), beta-hexachlorosiklohexan (β -HCH), endrin, aldrin, heptachlor epoxide, beta-endosulfane, 4,4-DDE and 4,4-DDT from organochlorine pesticides and PCB-28 from polychlorinated phenyls are studied with gas chromatography micro electron capture detector (GC- μ ECD) instrument. In these experimental studies, the recoveries of studied compounds are calculated as; alpha-hexachlorobenzene: 86 %, heptachlor: 92 % hexachlorobenzene (HCB): 71 %, beta-hexachlorocyclohexane (β -HCH): 71 %, endrin: 80 %, aldrin: 75 %, heptachlor epoxide: 76 %, beta-endosulfan(β -endosulfan): 70 %, 4,4-DDE: 76 %, 4,4 DDT: 86 % and PCB-28: 76 %. In these compounds limit of detection (LOD) is determined as, alfa HCH: 2.49 ppb, heptachlor 2.67 ppb, hexachlorobenzene (HCB),:7.23 ppb, beta- hexachlorocyclohexane (β -HCH): 0.69 ppb, endrin: 7.89 ppb, aldrin:3.76 ppb, heptachloro epoxide: 1.08 ppb, beta-endosulfane: 2.89 ppb, 4,4-DDE: 2.01 ppb, 4,4-DDT: 2.67 ppb and PCB-28: 1.69 ppb. There isn't any defined organochlorine pesticides and PCB-28 residue in 230 egg samples that are collected from six provinces of Turkey.

Key words: Egg, organochlorine pesticides, PCB-28, residue

Giriş

Hayvanlar, bitkiler veya tarım ürünleri ile bunların çevresinde kullanılan ilaç ve kimyasal maddelerin çoğu, uygulandıkları alan ve canlı vücudunda kısmen parçalanıp, etkisiz hale gelirken, organik klorlu (OK) bileşikler, poliklorobifeniller (PCB),

polibromobifeniller, metallere, bazı mantar ilaçları son derece yavaş ayrışıp, bunlarda giderek artan miktarlarda birikirler ve böylece besin zinciri yoluyla son tüketici olan insana ulaşırlar (KAYA ve ark., 2002b). Kullanma amacının dışında pestisidler insan ve hayvanlarda akut, subakut ve kronik zehir-

lenmeler ile mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etki meydana getirirler. Buna ek olarak geniş boyutlu çevre ve besin kirlenmesine yol açarlar (KAYA ve ark., 1996). Bu etkilerden kaçınmak için besinlerdeki ilaç ve kimyasal madde kalıntı düzeylerini ortaya koymak amacı ile son derece duyarlı ve güvenilir analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Gıda ve Tarım Örgütü (GTÖ), Avrupa Birliği'nin ilgili komisyonları, ABD'deki Besin ve İlaç İdaresi gibi kuruluşlar (FDA), yaptıkları çalışmalarla, tüketici sağlığının korunması için ilaç kalıntılarının yol açabilecekleri ekonomik ve sosyal yönlü olumsuzluklarının önlenmesi amacı ile çalışmakta, diğer ülkelerle birlikteliğin sağlanması yönünde çaba sarf etmektedirler (KAYA ve ark., 2002b).

OK pestisidler 1940-1950'li yıllarda keşfedilmiş ve zararlı mücadelesi amacı ile kullanılmaya başlanmıştır. Bu bileşikler arasında DDT, metoksiklor, klordan, heptaklor, aldrin, dieldrin, endrin, toksafen, mireks ve lindan sayılabilir. OK pestisidler sinir zehiri olup, sinirlerde iletimi engelleyerek akut toksisiteye sebep olurlar. DDT 1874 yılında sentezlenmesine rağmen 1939 yılına kadar pestisid olarak kullanılmamıştır. İsveçli bir kimyager olan Dr. Paul Mueller DDT'nin pestisid etkisini göstererek Nobel ödülü kazanmıştır. II. Dünya savaşı süresince tifüs ve sıtma gibi böcekler tarafından insanlara taşınan hastalıkların mücadelesinde kullanılmıştır. Savaş sonrası zirai mücadele, halk sağlığı ve ev kaynaklı zararlıların kontrolü amacı ile yaygın olarak kullanılmıştır. Kalıcı etkisi ortaya çıkınca ABD'de 1972 yılında yasaklanmıştır (COPE ve ark., 2004).

Poliklorlu bifenil (PCB) bileşikler Aromatik maddelerin çeşitli oranlarda klorlanması ile elde edilmiş sentetik bileşiklerdir. Isı, ışık gibi çevre şartlarına son derece dayanıklıdır. Ticari olarak Araclor 1254, Phenoclor olarak bilinirler. Hava, toprak ve su ekosistemlerine girip çevre ve besin kirlenmesine yol açarlar. Solunum, deri ve sindirim yolu ile vücuda girerler. Sindirimle kısa sürede emilip dolaşıma karışırlar. Özellikle yağ doku üzere vücutta birikirler. Canlılar üzerine etkileri OK pestisidlere benzer. Başta vahşi yaşam üzere hayvanlara üremeyi bozarlar. Karaciğerde ME'lerin artışına neden olurlar. Tümoral oluşumlara neden olurlar. Östrojenik etki oluştururlar. Porfiriye sebep olurlar. Bağışıklık sistemini baskırlar. Araclor

1254 kanatlı yemlerine 20 ppm katıldığında yumurta veriminde düşme, civciv çıkma oranının azalması ve teratojenik etkilere yol açar. Balıklar PCB'lere oldukça hassastırlar. Suda 20-50 ppb PCB'ye birkaç hafta süre ile maruz kalan turna balıklarında ölüm görülmüştür (KAYA ve ark., 2002a).

Materyal ve Metot

Yumurta Örnekleri

Çalışmada kullanılan örnekler Türkiye'de yumurtacı tavukların yaygın olarak yetiştirildiği Afyon, Ankara, Balıkesir, Çorum, Kayseri ve Konya illerinden laboratuvarımıza gönderilmiştir. Yaz ve kış aylarında ayrı olarak alınan toplam 230 örnekte OK pestisid ve PCB-28 kalıntısı araştırılmıştır. Yumurta örneklerinin alındığı işletme ve alındıkları mevsimler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Örneklerin temin edildikleri işletme ve mevsimler (2005-2006 yılları arasında)

İşletme	Yaz	Kış
Çorum Yumurta Tav. Ltd. Şti.	20	20
Afyon Başmakçı Tav Ltd. Şti.	20	20
Kayseri Kaytaş Tav. Ltd. Şti.	20	20
Bandırma Bozlar Tav. Ltd. Şti.	20	20
Konya Ergürbüz Tav. Ltd. Şti.	20	20
Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü	30	-

Örneklerin Hazırlanması

QuEChERS Metod örneklerin hazırlanmasında kullanılmıştır (ANASTASSIADES ve ark., 2003). Belirtilen metoda göre, homojenizatörde (IKA T25) bir örnek hale getirilen yumurta numunelerinden 0.5 g örnek alınmıştır. Alınan örneğin üzerine 2 g Susuz sodyum sülfat (Merck 1.06639) eklenmiştir. Örnek 1 g florisil içeren hazır kartuştan (Supelco 20280-u) geçirilmiştir. Örneğin kartuştan geçirilmesi öncesinde şartlandırma uygulanmamıştır. Florisil kartuşun ilk aşamada OK pestisidler ve PCB bileşiği (PCB-28)'ni bünyesinde tuttuğu kabul edilmiştir. Bu aşamada cihaz (GC) kolonunda kirlilik oluşturabilecek maddelerin kartuştan geçerek atılmasına izin verilmiştir. Florisil kartuşta tutulan bileşikler 10 ml %1 Aseton (Merck 1.00012) eklenmiş asetonitril (Merck 1.00030) ile bir cam tüpe alınmıştır. Alınan

örnek solüsyonu azot altında uçurma sisteminde (VLM EVA IVIS) 50°C'de 0.5 ml kalıncaya kadar yoğunlaştırılmıştır. 0.5 ml'lik kalıntı GC-mikro-ECD cihazına enjekte edilmiştir.

Gerı Alım (Recovery) Çalışması

Gerı alım çalışmasında kullanılmak amacı ile Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünden alınan yumurtalar, OK pestisid ve PCB-28 yönünden analiz edilmiştir. OK pestisid ve PCB-28 içermediği belirlenen yumurtaların analiz kromatogramları negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda bu yumurtalardan 6'lı gruplar oluşturularak toplam 18 örneğe 25 ppb, 50 ppb ve 100 ppb yoğunluğunda OK pestisid ve PCB-28 standardı (Dr. Ehrenstorfer) eklenmiştir. GC-mikro-ECD cihazında OK pestisid ve PCB-28 standartlarının geliş zamanları belirlenmiştir. Dört ayrı yoğunlukta (100 ppb, 250 ppb, 500 ppb ve 1000 ppb) hazırlanan standart kromatogramlarından kalibrasyon eğrileri çizilerek korelasyon katsayısı (R^2) değerleri tespit edilmiştir. Gerı alım çalışması için hazırlanan örnekler, hazırlama işleminden geçirilerek GC-mikro-ECD cihazına enjekte edilmiştir. Standart ile gerı alım çalışmasının kromatogramları karşılaştırılarak maddelerin

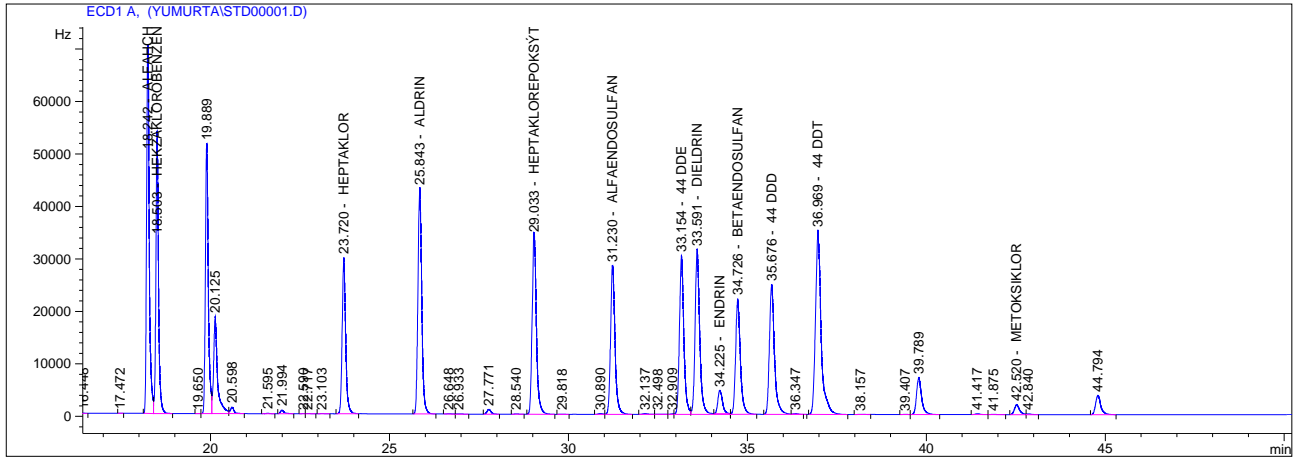
gerı alım yüzde ortalama ve relatif standart sapma (RSD) değerleri belirlenmiştir.

Gaz Kromatografi-Mikro-ECD (GC- μ ECD) Cihaz Şartları

Örneklerden elde edilen final solüsyonların gaz kromatografi mikro-ECD dedektör cihazında analizi için Pelosi ve arkadaşlarının cihaz yönteminden faydalanılmıştır (PELOSI ve ark., 2002). Belirtilen yöntemle göre, enjektör bloğu sıcaklığı: 240°C; kolon başlangıç sıcaklığı: 60°C'dir. Başlangıç sıcaklığında bekleme süresi 2 dakikadır. Başlangıç sıcaklığından 20°C/dk hızla 250°C/dk final sıcaklığına çıkmıştır. Cihazda enjeksiyon modu splitless olarak uygulanmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 μ L; Taşıyıcı gaz (azot) akış hızı: 1 ml/dk'dır. Cihaz kolon tipi HP -5, %5 metil silikon ve kolon boyutları 30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m'dir.

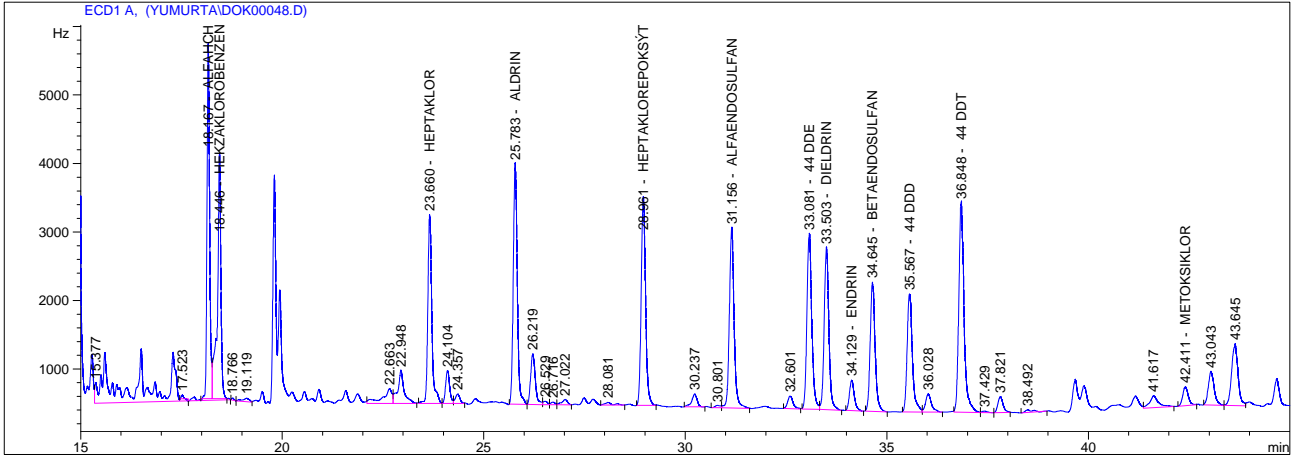
Bulgular

OK pestisidlere ait 1 ppm yoğunlukta standart kromatogramı Şekil 1'de gösterilmiştir.



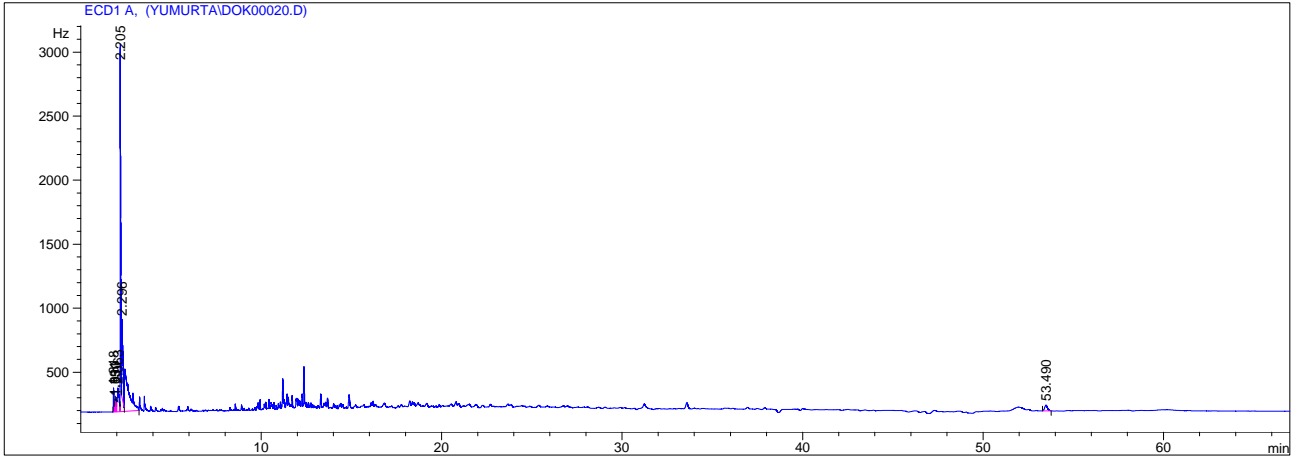
Şekil 1. OK pestisidlere ait standart kromatogramı.

100 ppb yoğunlukta standart eklenmiş örneğin gerı alım kromatogramı Şekil 2'de gösterilmiştir.



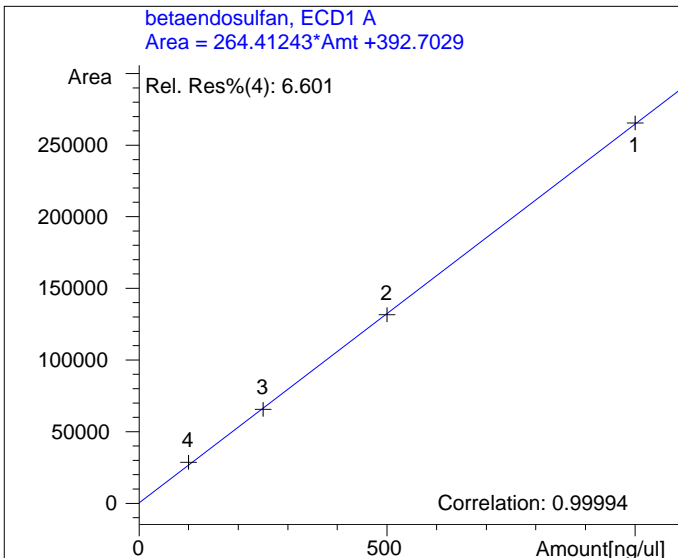
Şekil 2. 100 ppb standart eklenmiş örneğin geri alım kromatogramı.

OK pestisid ve PCB-28 yönünden temiz örnek kromatogramı Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. OK insektisid ve PCB-28 kalıntısı içermeyen örnek kromatogramı.

Beta-endosülfan standardına ait kalibrasyon grafiği örnek olarak Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Beta-endosülfanın kalibrasyon grafiği.

OK insektisidler (25 ppb) ve PCB-28 (100 ppb)'e ait % geri alım, relatif standart sapma, tespit limiti ve korelasyon katsayı (R^2) değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. OK insektisidler (25 ppb) ve PCB-28 (100 ppb)'e ait % geri alım, relatif standart sapma, tespit limiti ve korelasyon katsayı (R^2) değerleri.

	Geri alım (%)	RSD (%)	LOD (ppb)	(R^2) (0.1-1 ng/ μ l)
Alfa HCH	86	3.86	2.49	0.999
Heptaklor	92	4.19	2.67	0.999
Hekzaklorobenzen	71	0.0015	7.23	0.999
Beta-HCH	73	1.65	0.69	0.999
Endrin	80	0.0012	7.89	0.999
Aldrin	75	0.0010	3.76	0.999
Heptaklorepoksit	76	3.70	1.08	0.999
β - endosulfan	70	4.05	2.89	0.999
4,4-DDE	76	2.67	2.01	0.9998
4,4-DDT	86	3.70	2.67	0.99467
PCB-28	76	3.02	1.69	0.99996

Örneklerin analizinde tespit limitlerinin (LOD) üzerinde OK insektisid ve PCB-28'in kalıntısına rastlanmamıştır.

Tartışma ve Sonuç

1986-1988 yılları boyunca Kanada 'da toplam 602 hayvansal ürün organik klorlu, organik fosforlu ve endüstriyel organik kirleticiler açısından analiz edilmiştir. Bunların 147 tanesi kümes hayvanı, 9 tanesi de tavuk yumurtası olarak belirlenmiştir. Toplam örneğin %35'inde pentaklorofenole rastlanılmıştır. DDE %21 ve diğerleri ise %10'dan daha az görülmüştür. Örneklerin %43'ünde kalıntıya rastlanmamıştır (FRANK ve ark., 1990).

1995 yılında Hindistan'da beyaz Leghorn ırkı tavukların yemlerine değişen dozlarda (6.25 ile 50 mg/kg) DDT katılarak 37 hafta boyunca yedirilmiştir. Uygulama süresince en yüksek kalıntı yağda, bunu takiben karaciğer, kalp, yağlı et, kan, dalak, testis, beyin ve yumurta sarısında tespit edilmiştir (GEORGE ve ark., 1995).

Kenya'da yapılan bir çalışmada tavuk yağlarında organik klorlu pestisidler (Lindane, Dieldrin, DDT) tespit edilmiştir. Ülkenin 7 coğrafik bölgesinden 105 örnek toplanmış ve sonuçlar maksimum kalıntı limitlerinin altında bulunmuştur. Kenya'da kanatlı yumurtaları üzerinde yapılan bir çalışmada 367 örnek incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda 10

örnekte pestisid kalıntısına rastlanılmıştır (KAHUNYO ve ark., 1986).

Çin'de GC-ECD ile yapılan bir çalışmada yumurtalarda p,p'-DDE, p,p'-DDT ve düşük miktarlarda (10 ng/g'den az) PCB'ler tespit edilmiştir (AN ve ark., 2002).

İspanya'da Ulusal Donana Parkındaki 53 adet Flamingo yumurtasında yapılan çalışmalarda p,p'-DDT, p,p'-DDE ve PCB'ler tespit edilmiştir (GUITART ve ark., 2005).

Bu çalışmada pozitif örnekle karşılaşılması, tavukların OK pestisidler ve PCB-28 yönünden risk altında olmadığı ve ülkemizde en ucuz hayvansal protein olarak fazlaca tüketilen yumurtanın belirtilen maddeler yönünden insanlar tarafından güvenle tüketilebileceği kanaatine varılmıştır.

Bilindiği gibi ülkemiz Avrupa Birliğine giriş sürecinde bulunmaktadır. Bu çalışma ile ülkemizde tüketilen yumurtaların güvenilirliğinin belirlenmesinin yanı sıra, Avrupa Birliği ile yaşanan kalıntı problemlerinin çözümüne katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca ülkemizde bugüne kadar yumurtalarda böyle bir detaylı çalışma yapılmadığı görülmektedir. Bu çalışma ile birlikte ülkemizde

yumurtada pestisid kalıntılarına bakılabileceği ortaya konulmuştur.

Kaynaklar

1. **Anastassiades M, Lehotay S, Stajnbaher D, Schenck F**, (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 (2), 412-31.
2. **An Q, Dong YH, Wang H, Jin W**, (2002). *Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl congeners residues in eggs by gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD)*. Se Pu . 20 (2), 167-71.
3. **Cope WG, Liedy RB, Hodgson E**, (2004). *Classes of Toxicants: Use Classes. Chapter 5. Alınmıştır Editör: E.HODGSON. A Textbook of Modern Toxicology*. Third edition. A John Wiley & Sons, Inc., Publication. Hoboken, New Jersey.
4. **Frank R, Braun HE, Stonefield KI, Rasper J**, (1990). *Organochlorine and organophosphorus residues in the fat of domestic farm animal species, Ontario, Canada*. Food additives and Contaminants. 7 (5), 629-636.
5. **George VT, Sundararaj A**, (1995). *Studies on residue of DDT in poultry*. Indian Veterinary Journal, 72 (1),17-20.
6. **Guitart R, Clavero R, Mateo R, Manez M**, (2005). *Levels of persistent organochlorine residues in eggs of greater flamingos from the Guadalquivir marshes (Donana), Spain*
7. **Kahunyo JM, Maitai CK**, (1986). *Organochlorine pesticide residues in chicken fat*. Poultry Science. 65 (6), 1084-1089.
8. **Kaya S, Bilgili A**, (1996). *Pestisidler ve yol açabilecekleri başlıca sorunlar*. Türk Vet. Hek. Derg. 8 (4), 28-38.
9. **Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A, (Editörler)** (2002a). *Pestisidler. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*. 2.Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. Syf. 385-535.
10. **Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A, (Editörler)** (2002b). *Besinlerdeki ilaç kalıntıları. Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji*. 2. Cilt, 3.Baskı, Medisan Yayınevi. Ankara. Syf. 713-743
11. **Pelosi P, Stefanelli P, Attard BD, Generali T, Amendola G, Girolimetti S, Vanni F, Di Muccio A**, (2002). *Methods for organochlorine, organophosphorus, pyrethroid and carbamate pesticide residues in foods of animal origin*. The Italian National Reference Laboratory (Pesticide Residues Section of the ISS) - Istituto Superiore di Sanità (National Institute of Health) - Roma.