

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ KOORDİNATÖRLÜĞÜNE

Proje Türü : Lisansüstü Tez Projesi (Doktora)

Proje No : 14L0239004

Proje Yöneticisi : Prof. Dr. Ayhan Filazi

Proje Konusu : Salam, Sucuk ve Sosiste Belirteç Poliklorlu Bifenil (PCB) Kalıntılarının Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) İle Belirlenmesi

Yukarıda bilgileri yazılı olan projemin sonuç raporunun e-kütüphanede yayınlanmasını;

İSTİYORUM

İSTEMİYORUM

GEREKÇESİ:

.../.../20..

Proje Yöneticisi
İmza

1946

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
SONUÇ RAPORU

Proje Başlığı

Salam, Sucuk ve Sosiste Belirteç Poliklorlu Bifenil (PCB) Kalıntılarının Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile Belirlenmesi

Proje Yürütücüsünün İsmi

Prof. Dr. Ayhan Filazi

Yardımcı Araştırmacıların İsmi

Özgür Kuzukıran

Proje Numarası

14L0239004

Başlama Tarihi

30.06.2014

Bitiş Tarihi

30.12.2015

Rapor Tarihi

24.05.2015

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara - " 2015 "

RAPOR FORMATI

Bilgisayarda 12 punto büyüklüğünde karakterler ile, tercihan "Times New Roman" stili kullanılarak yazılacak ve aşağıdaki kesimlerden (alt kesimler de dahildir) oluşacaktır.

I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri**Salam, Sucuk ve Sosiste Belirteç Poliklorlu Bifenil (PCB) Kalıntılarının Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile Belirlenmesi**

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

Bu çalışmada Ocak ve Mart 2015 döneminde Ankara’da 5 farklı marketten alınan 5 farklı üreticiye ait, 25 salam, 25 sosis ve 25 sucuk (toplam 75 örnek) örneğinde indikatör PCB (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) ve PCB 118’in kalıntıları araştırıldı. Her bir et ürünü örneğinden 60°C fırında tutulmak suretiyle 10 g yağ çıkarıldı. Bundan 1 g yağ alınarak santrifüj tüpüne konuldu. Üzerine 7 mL aseton konularak 10 dk ultrasonla ekstrakte edildi. Ekstrakt daha sonra soğutmalı santrifüjle (-20 °C) 30 dk 3500 rpm’de santrifüj edildi ve alınan süpernatant evaporatörle kuruyana kadar uçuruldu. Kuru ekstrakt 2 mL asetonitrille çözüldü ve üzerine 400 mg PSA ve 600 mg magnezyum sülfat eklendi. Tüp 30 saniye elle çalkalandı ve daha sonra 4500 rpm’de 10 dk santrifüj edildi. Son olarak, alınan üst kısım kurutuldu ve 100 µL izooktanla toplanarak GC-MS cihazına uygulandı. Optimize prosedür valide edildi. Her bir PCB için 0,5, 1, 2,5, 5, 7,5, 10 ve 25 µg kg⁻¹ konsantrasyonlarında yapılan zenginleştirmelerle matriks-match kalibrasyon eğrileri uygulandı. Tüm PCB’lerin lineer ölçüm aralıklarında korelasyon katsayıları 0,99’dan yüksek çıktı ($r^2 > 0,99$). LOD ve LOQ değerleri sırasıyla ortalama 0,230 ($\pm 0,152$) µg kg⁻¹ and 0,768 ($\pm 0,508$) µg kg⁻¹ olarak belirlendi. 3 zenginleştirme konsantrasyonunda (2,5; 7,5 ve 25 µg kg⁻¹) geri kazanım değerleri %88,9 ile %104,6 arasında ve RSD değerleri %5,3’ten daha düşük olarak belirlendi. Bu yöntem, nispeten düşük toksisiteli solventlerin daha az miktarda kullanılması nedeniyle diğer yöntemlere göre daha ekonomik ve çevre dostu olarak belirlendi.

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

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

Polychlorinated biphenyls (PCBs) were ubiquitously found in the environment and in many kinds of food since they were previously used in various industrial applications widely. These chemicals were subjected to restrictions internationally due to their adverse health effects including endocrine disruption. PCB residues in food present a concern in food safety programs. Simple and sensitive analytical methods are needed to monitor the residues and ensure that the food is safe for consumption.

Salami, sodjouk and sausage are fermented and air-dried meat products, originating from one or a variety of animals. Since they can be stored at room temperature for periods of up to 30-40 days once cut, supplementing a possibly meager or inconsistent supply of fresh meat, these products are widely consumed and has a traditional value in Turkey. In the current study, we evaluated indicator PCBs (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) and PCB 118 residues in 75 samples of bovine meat products (salami, sodjouk and sausage) collected from five different regions of Turkey, between January and March 2015.

Fat from each sample (10 g) was melted in an oven at 60 °C, and one gram of it was weighted in a 50 mL polypropylene centrifuge tube and extracted with 7 mL acetone for 10 min, using ultrasound system at 35 °C. The sample was then centrifuged at 3500 rpm for 30 min at -20 °C and dried by rotary evaporator. Dry extract was collected by 2 mL acetonitrile and 400 mg PSA and 600 mg magnesium sulphate were added. The tube was then shaken vigorously for 30 second and centrifuged for 10 min at 4500 rpm. Finally the sample was dried and collected by 100 µL isooctane and applied to GC-MS. The optimized procedure was validated. Meat products samples free of PCBs were spiked at 7 concentration levels (0; 1; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 25,0 µg kg⁻¹) of selected PCBs, and used to prepare a series of matrix-matched calibration curves. The samples were measured using this optimized procedure. The linearity was satisfactory in all cases with correlation coefficients ≥0.995. The limits of determination and the limits of quantification were 0,230 (±0,152) µg L⁻¹ and 0,768 (±0,508) µg kg⁻¹, respectively. The recoveries at 3 spiking concentrations (2,5; 7,5 and 25 µg kg⁻¹) were in the range of 88,853 % to 104,553 % and the relative standard deviations were less than 5,3 %. This validated method were found to be more economic and ecofriendly, since it uses less amount of extraction solvents which are less toxic as well.

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

II. Amaç ve Kapsam

PCBler, bir bifenil yapısı üzerine değişik sayıdaki (1 ile 10 arasında) klor iyonlarının farklı konfigürasyonlarda (orto, meta ve para) bağlanmasıyla meydana gelen aromatik bileşiklerdir. Klor iyonlarının bağlanma yeri ve sayıları nedeniyle, teorik olarak 209 farklı PCB bileşeni üretilebilir. Bu bileşenler Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry-IUPAC) tarafından numaralandırılmıştır. PCB'ler farklı ülkelerde farklı ticari isimler altında ve karışımlar halinde üretilmişlerdir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde faaliyet gösteren Monsanto Şirketi ve diğer üreticiler farklı klorlama dereceleriyle çeşitli karışımlar elde etmişlerdir. Monsanto tarafından üretilen ve Aroclor adı altında piyasaya sürülen karışımlar yaygın olarak kullanılmıştır (Seyran ve Erişir, 2008).

PCB bileşikleri, klor atomlarının bağlanma pozisyonuna göre iki farklı grupta sınıflandırılırlar: Ortopozisyonuna bağlı klor atomu yoksa planar (düzlemsel), var ise non-planar (düzlemsel olmayan) olarak isimlendirilirler. Meta ve para pozisyonlarına klor atomlarının bağlanması, PCB bileşiklerinin konfigürasyonunu değiştirmemektedir. Planar veya nonplanar özellik, PCB'lerin biyolojik etkilerinin derece ve yönünü belirlemede etkili olabildiğinden, önemlidir (Seyran ve Erişir, 2008).

PCB'ler, kimyasal karakterleri ve toksikolojik etkilerine göre de dioksin benzeri PCB'ler (DL-PCB) ve dioksin benzeri olmayan PCB'ler (NDL-PCB) olarak 2 gruba ayrılabilirler. Birinci grupta 12 PCB bulunmaktadır. Bunların aril hidrokarbon reseptörünü (AhR) bağlayarak etkinlik gösterdikleri

belirtilmiştir. AhR, DNA transkripsiyonu ve sitokrom P450'ler dahil pek çok enzimin sentezini etkileyen bir reseptördür. Bu PCB'ler dioksinler gibi karaciğer, tiroit, üreme sistemi, bağışıklık fonksiyonları ve davranış bozukluklarına neden olmaktadır. İkinci gruptaki NDL-PCB'lerin toksikolojik etki mekanizmalarının dioksinlerden farklı olduğu belirtilmiştir (EFSA, 2010; Fukunaga ve ark., 1995).

PCB'ler yalıtkan ve soğutma sıvısı olarak özellikle kapasitör, trafo, hidrolik pompalarda, plastikleştirici olarak matbaa mürekkebi ve boya yapımında, karbonsuz kopya kağıtlarında, dayanıklılık kazandırmak amacıyla elektrik kablolarının polivinil klorür (PVC) kaplamalarında, yangın söndürücülerde ve kayganlaştırıcı yağlarda, yanmayı ve enerji kaybını önlemek amacıyla elektrik izolasyon sıvılarının yapımında yoğun olarak kullanılmışlardır (Porta ve Zumeta, 2002). Olumsuz etkileri nedeniyle 1979 yılında başta ABD olmak üzere, 1981'de İngiltere, 1993'te Avusturya ve daha sonra tüm Avrupa ülkelerinde yasaklanmışlardır. Ancak, kalıcılıkları nedeniyle halen doğada ve gıdalarda değişik yoğunluklarda kalıntılara rastlandığı bildirilmiştir (Euro-PCB, 2005).

PCB üretimi konusunda 1930-1977 yılları arasında 600 bin ton üretimle en büyük payın ABD'ye ait olduğu rapor edilmiştir. Bunu 1984'e kadar yapılan 450 bin tonluk üretim ile Avrupa ülkeleri takip etmiştir. Polonya, Almanya ve Avusturya'da bazı fabrikaların üretim miktarlarını bildirmemeleri nedeniyle, toplam üretimin miktarını kesin olarak belirlemek mümkün olmamakla birlikte, dünyada toplam 1,5 milyon ton civarında bir üretim yapıldığı tahmin edilmektedir (Breivik, 2002).

PCB'lerin doğadaki dağılımlarının oldukça karmaşık olduğu belirtilmiştir. Düşük klor sayılı ve oldukça uçucu olan PCB'lerin rüzgârla taşınıp toprağa çöktükleri veya yağmurla yüzeye indikleri rapor edilmiştir. Buradan yer altı sularına, oradan da akarsular yoluyla deniz ve okyanuslara ulaşırlar. Okyanuslara taşınmanın ayrıca atmosfer yoluyla da olabileceği ifade edilmiştir. Sulara karışan PCB'lerin ise bir kısmının sedimentte biriktiği ve dip akıntılarla da uzak mesafelere taşınabildiği ileri sürülmüştür. Kutuplara kadar taşınabilen PCB'lerin de buzul kütlelerinin ekvatora doğru hareketi ve erimesiyle yeniden döngüye katıldıkları bildirilmiştir (Malanichev ve ark., 2004).

İnsanların PCB'lere maruziyetinde birincil yolun bulaşık gıdalar (%90) ve hava olduğu, gıdalar içinde ise en önemli kaynağın balık ve balık ürünleri ile et ve et ürünleri olduğu ifade edilmiştir (Arnich ve ark., 2009). Canlıların vücudunda özellikle yağ dokularda biriktikleri belirtilmiştir (Çiftçi, 2010).

Bu maddelerin endokrin bozucu, immunotoksik, karsinojenik, teratojenik ve nörotoksik etkinlik gösterdikleri gösterilmiştir (Schechter ve ark., 1994). Farklı PCB'lerle yapılan pek çok çalışma ile canlı vücudundaki etkileri ve etki yerleri tespit edilmeye çalışılmıştır. PCB153'ün dişi keçi yavrularında kemik yapısının bozulmasına (Lundberg ve ark., 2006), PCB52 ve PCB77'nin fare timüs hücrelerini öldürerek bağışıklığın zayıflamasına neden olduğu tespit edilmiştir (Yılmaz ve ark., 2006). Tayvan'da, PCB'lerle bulaşık pirinç yağı tüketenlerde, maruziyet sonrasında, akne tarzında deri lezyonları, deri ve tırnaklarda pigmentasyon, dalak dejenerasyonu ve anormal bağışıklık fonksiyonları, serum IgM ve IgA miktarlarında ve T lenfosit sayısında azalma olduğu gösterilmiştir (Vos ve Loveren, 1998).

Doğum öncesi dönemde PCB'lere maruz kalan çocuklarda erken yaşlarda göğüs ve solunum yolları enfeksiyonları (bronşit, bronşiyolit ve pnömoni), akut orta kulak iltihabı görülme sıklığında artma, astım, egzama, üriner sistem enfeksiyonlarında artış olduğu tespit edilmiştir (Stolevik ve ark., 2011). Hüresel bağışıklıkla ilgili ise farklı sonuçlar elde edildiği belirtilmiştir. T hücresi sayılarında azalmanın yanı sıra, özellikle dioksin benzeri olmayan PCB'lere (PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 ve PCB180) maruz kalan çocuklarda yapılan aşılardan yeterli sonuç alınmadığı gösterilmiştir (Gascon ve ark., 2013).

Çocuk kanserleri arasında en sık görülen lösemi ile PCB bileşikler arasında ilişkinin araştırıldığı bir

çalışmada, evdeki toz örneklerinde bulunan PCB (PCB170, PCB153, PCB138, PCB118) miktarları ile akut lenfatik lösemi arasında pozitif bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur. Yine evdeki tozda bulunan PCB'lerin, yetişkin yaşlarda nonhodgkin lenfoma görülme riskini arttırdığı tespit edilmiştir (Ward ve ark., 2009).

Yağ doku artışı olarak tanımlanabilecek obezitenin görülme sıklığı ve yayılımı, yoksul ülkeler de dahil olmak üzere, tüm dünyada artmaktadır. Obezitenin vücuda alınan kalori ile harcanan arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Geçtiğimiz yüzyılın yarısına kadar, genetik yapı da dahil biyolojik ve çevresel pek çok etkenin bu sonucu ortaya çıkardığı, özellikle gelişmiş ülkelerde kalori alımının artması ve hareketsiz yaşamın önemli etkenler olduğu ifade edilmekteyken, günümüzde, artan endüstriyel kimyasal madde üretimi ile obezite sıklığı arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Garcia-Mayora ve ark., 2012). Pelletier ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada doğum öncesi dönemde özellikle düşük dozlarda PCB'lere maruz kalınması ile ileriki yaşlarda vücut ağırlığı/vücut kitle indeksi arasındaki doğrudan ilişki ortaya konmuştur.

Doğum öncesi düşük yoğunlukta (gram yağ başına 1 ng'dan daha az) PCB maruziyetiyle, 3-5 yaş arası kız çocuklarda, vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksi artışı; orta yoğunlukta (gram yağ başına 1-4 ng) PCB maruziyetiyle ergenlik çağındaki kızlarda vücut ağırlığı artışı; yüksek yoğunlukta (gram yağ başına 4 ng'dan fazla) PCB maruziyeti ile 4-7 yaş arası kız çocuklarında ağırlık azalışı arasında doğrudan ilişki olduğu gösterilmiştir. Doğum öncesi dönemde PCB'lere maruz kalmanın ağırlık artışına etkilerinin kız çocuklarında erkek çocuklara göre daha fazla olabileceğini göstermektedir. Bu durum PCB'lerin östrojenik ve antiandrojenik etkileri ile açıklanabilmektedir. Erkek çocuklarda da doğum öncesi maruziyet ile düşük doğum ağırlığı arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Tang-Péronard ve ark., 2011).

Bazı PCB'lerin (PCB77, PCB105, PCB118, PCB126, PCB169, PCB170, PCB180 ve PCB183) özellikle menopoz öncesi kadınlarda meme kanseri riskini artırdığı tespit edilmiştir. Kötü seyirli tümörler ve tümör içi yağ dokularda yüksek derişimlerde PCB'lere rastlanmıştır. PCB'lere maruziyet ile prostat kanseri arasında bağlantı tespit edilmiştir. Fötal dönemde maruziyetin ilerleyen yaşlarda prostat kanserine yakalanmada birinci basamak olabileceği gösterilmiştir. Yağ dokuda yüksek miktarda PCB varlığının prostat kanseri riskini artırdığı bildirilmiştir (Irigaray ve ark., 2007).

Düşük miktarlardaki PCB'lere maruziyetin kan basıncında artış, alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı ve *in vitro* fertilizasyon (tüp bebek) yaptıran kadınlarda gebe kalamama gibi sonuçlara neden olduğu gösterilmiştir. Doğum öncesi dönemde maruziyet ise merkezi sinir sistemi gelişimine zarar vermektedir. Anneleri PCB'ye maruz kalmış olan çocukların hafıza kusurları, bilişsel işlev bozuklukları, duyu ve motor sinir bozuklukları ile dünyaya geldikleri gösterilmiştir. Çocukluk döneminde yüksek dozda PCB'ye maruz kalınması durumunda ise motor aktivitelerde ve hareket fonksiyonlarında bozukluklar geliştiği tespit edilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, PCB maruziyeti ile el titremesi, ayakta dururken sallanma, hızlı kas seyirmeleri arasında bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır. Doğum sonrası PCB maruziyeti ile zeka katsayısı (IQ) düşüklüğü ve davranış bozuklukları arasında da bağlantı olduğu gösterilmiştir (Boix ve Cauri, 2012). Doğum öncesi dönemde ve anne sütü ile PCB'lere maruz kalan 18 ve 24 aylık 670 çocuğun, psikomotor skorlarında 4-9 puanlık düşme olduğu tespit edilmiştir (Rogan ve Gladen, 1991).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC), ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) ile Toksik Madde ve Hastalıklar Kayıt Ajansı (ATSDR), PCB'lerin insanlar için muhtemel kanserojen olabileceğini belirtmişlerdir. Bu değerlendirme yapılırken DL-PCB ve NDL-PCB'ler arasında net bir ayırım yapılmamıştır. Bazı NDL-PCB'lerin DL-PCB'lerden farklı nörolojik, nöroendokrinolojik, endokrin, immünolojik ve karsinojenik etkileri olduğu belirtilmiştir (EFSA, 2010).

Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA)'nın 2005 yılında düzenlemiş olduğu panelde (CONTAM Paneli), NDL-PCB'lerin potansiyel karsinojeniteleri ve mutajenik olmadıkları ile ilgili yayımlanmış kesin bir yorum bulunmadığı belirtilmiştir. NDL-PCB'lerin çeşitli zehirli etkilerinin altında yatan biyolojik mekanizmaları açıklamak ve bu verilerin değerlendirilmesi için AB'nin 6. Çerçeve programı ile finanse edilen "Athon Projesi" yürütülmeye başlanmıştır (EFSA, 2010).

EFSA'nın 2010 yılında yayınladığı bilimsel rapora göre, gıda ve yemlerdeki NDL-PCB'ler ile ilgili veriler, diğer NDL-PCB'lerle kolayca kıyaslanabilmeleri, toplam klorlanma seviyesini iyi temsil ediyor olmaları, canlı ve cansız ortamlarda yaygın olarak bulunmaları nedeniyle 6 belirteç PCB (PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 ve PCB180) veya PCB118 dahil 7 PCB kullanılarak rapor edilmektedir. CONTAM Panelinde, çeşitli örnek matrisleri için uygun göstergeler olarak 6 belirteç PCB'nin toplamının değerlendirme için temel olmasına karar verildiği belirtilmiştir. Yine bu 6 PCB'nin miktarının toplam NDL-PCB'lerin %50'sini temsil ettiği kaydedilmiştir. Pek çok çalışmada NDL-PCB'ler ile DL-PCB'ler ve dioksin/furan (PCDD/Fs) ile DL-PCB toplamı arasında kesin bir ilişki olduğu gösterilmiştir (EFSA, 2010).

Belçika'da 1999'da görülen piliç ve domuz etindeki dioksin krizi sırasında, PCB bulaşıklığını belirlemek amacıyla 6 belirteç PCB ve PCB118 kullanılmıştır. Maksimum kalıntı limitlerinin belirlenmesinde Hollanda'nın PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB138, PCB153 ve PCB180'i, Almanya'nın PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 ve PCB180'i, İsveç'in ise PCB153'ü kullandığı kaydedilmiştir (Kim ve ark, 2004). Yaygın bulunan ve oldukça kararlı bir bileşik olan PCB153'ün, insan sütündeki miktarları ile plazmasındaki miktarları arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. PCB153'ün serum seviyeleri ile folliküler sıvı arasında paralellik olduğu da belirtilmiştir (ATSDR, 2000). Stellman ve ark. (1998) tarafından yapılan ve 293 kadının yağ doku ve serumlarındaki 14 PCB'nin miktarlarının araştırıldığı çalışmada, PCB74, PCB99, PCB118, PCB138, PCB146, PCB153, PCB156, PCB167, PCB170, PCB180, PCB183 ve PCB187'nin serum ve yağ doku konsantrasyonları arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, PCB172 ve PCB178 için bu durumun geçerli olmadığı tespit edilmiştir. Materyal olarak deri altı abdominal yağ ve omental yağ ile beyin ve karaciğer kullanılan ve aynı 14 PCB'ye bakılan bir diğer çalışmada, en yaygın bulunan 3 PCB (PCB138, PCB153, PCB180)'nin toplamının, toplam PCB miktarının % 63-68'ini temsil ettiği tespit edilmiştir (ATSDR, 2000).

Costabeber ve ark. (2006), et ve et ürünlerinde yaptıkları çalışmada PCB'lerin, ete oranla et ürünlerinde daha yüksek miktarda bulunduğunu tespit etmişlerdir. Et ürünlerindeki PCB yoğunluğunun çoktan aza doğru PCB52, PCB180, PCB10 ve PCB28, ette ise PCB180, PCB10 ve PCB28 olduğu gösterilmiştir. Et ürünleri içinde en yüksek toplam PCB miktarının Hot Dog (HD) tipi sosiste olduğu, sucukta ise sadece PCB180 olduğu tespit edilmiştir. İtalya'da yapılan ve 220 hayvansal doku numunesinin incelendiği bir çalışmada ise sadece dumanlanmış domuz jambonundaki toplam PCB miktarı AB limitlerinin üzerinde bulunmuştur (Espozito ve ark., 2001). ABD'de yapılan bir çalışmada, tatlı su balıkları ve tereyağını takiben en yüksek PCB yoğunluğu yine HD tipi sosiste tespit edilmiş ve PCB138 ve PCB152'nin yoğunluklarının diğer NDL-PCB'lere oranla daha yüksek tespit edildiği bildirilmiştir (Schechter ve ark., 1997). İsveç'te marketten toplanan örneklerde yapılan çalışmada organik halojen kirleticiler içinde, et ve et ürünlerinde bulunan en önemli grubun PCB'ler olduğu, bunlar içinde yoğunluğu en fazla olanın ise PCB153 olduğu gösterilmiştir (Darnerud ve ark., 2006).

Yukarıda verilen bilgilerden de anlaşılacağı gibi PCB'ler, doğadaki kalıcılıkları nedeniyle gıda zincirine değişik noktalardan girerek ve birikerek insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadırlar. Bu nedenle araştırmanın amacı, zehirlilikleri, çeşitlilikleri ve kimyasal yapılarındaki farklılıklar nedeniyle, maruz kalınan toplam PCB miktarını temsil etmeleri açısından önemli olan belirteç PCB'lerin, sığır eti kökenli ürünlerdeki miktarının ortaya konulmasıdır.

Yapılan literatür taramalarında, şarküteri ürünlerinde PCB kalıntılarının araştırılmasına yönelik sınırlı sayıda yayına rastlanmıştır, Türkiye’de ise bu konuda yapılmış çalışmaya rastlanmamıştır. Yine belirteç PCB’lerin sığır eti ve ürünlerindeki kalıntıları AB ülkelerinde kalıntı izleme programlarına dahil iken ülkemizde henüz dahil değildir. Bu durum göz önüne alındığında, konu ile ilgili olarak resmi ve özel herhangi bir araştırma yapılmamış olduğu, dolayısıyla ülkemizdeki durumu gösterir bir bilginin bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu eksikliklerin giderilmesini amaçlayan araştırmanın ileride uygulamaya konulacak kalıntı izleme çalışmaları ve bilimsel araştırmalarda kullanılmak üzere model, şarküteri ürünlerindeki kalıntı miktarlarının gösterilmesi açısından temel teşkil edeceği düşünülmektedir.

III. Materyal ve Yöntem

Kimyasal maddeler ve ayraçlar: Numunelerde kalıntısı araştırılan **PCB 28** (Lot No: 20828IO), **PCB52** (Lot No: 20707IO), **PCB101** (Lot No: 20719IO), **PCB118** (Lot No:31018IO), **PCB138** (Lot No:01222IO), **PCB153** (Lot No:31202IO) ve **PCB180** (Lot No:20320IO)’nin analitik standartları ile enjeksiyon internal standartı olarak kullanılan **PCB30** (Lot No: 20300IO), her biri %99.5 saflıkta ve izooktanda hazırlanmış 10 µg/mL konsantrasyonda Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Almanya)’dan satın alındı. Internal standart olarak %99.9 saflıkta, 40 mg/mL konsantrasyonda (solvent:nonane) ve ¹³C₁₂ ile işaretlenmiş 2,2',4, 4', 5, 5'heksaklorobifenil (PCB153, Lot No: SDCC-014) kullanıldı (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA). HPLC saflığında asetonitril, izooktan ve toluen ile diğer solventler Merck (Darmstadt, Almanya)’den temin edildi. Susuz magnezyum sülfat Panreac Kimya (Panreac Quimica S.A.U., Barselona, İspanya) ve Primer-Sekonder-Amin (PSA) Agilent Technologies (CA, USA)’dan alındı. Distile su laboratuarda bulunan Milli-Q cihazıyla (Millipore, Molsheim, Fransa) elde edildi.

Standart stok çözelti ve çalışma çözeltileri: Internal standart stok çözeltisi 400 ppb konsantrasyonda toluende, örneklerde analizi yapılacak olan PCB’lerin stok çözeltisi ise her biri 100 ppb konsantrasyonda olacak şekilde izooktanda hazırlandı. Çalışma çözeltileri ise her seferinde bunlardan alınarak ihtiyaca göre hazırlandı. Cihazla ilgili bir sorun olup olmadığını gözlemlenmek için kullanılan enjeksiyon internal standartı PCB30’un stok çözeltisi ise izooktanda 1 ppm konsantrasyonda hazırlandı ve örnekler cihaza uygulanmadan önce her seferinde bu stoktan 20 µL alınıp son ekstreye eklenerek kullanıldı.

Araç ve cihazlar: Numune hazırlanmasında azot evaporatörü (VLM Evra marka, Bielefeld Almanya), hassas terazi (Sartorius Goettingen, Almanya), Vortex mikser (Velp Scientifica, Usmate, İtalya), Soğutmalı santrifüj (Sigma, Ostreode am Harz, Almanya), Ultrasonik banyo (frekans 35 kHz, 0.32 kW, Super RK 510, Sonorex, Bandelin, Almanya) ve ultra saf su cihazı (Millipore, Molsheim, Fransa) kullanıldı.

Kromatografi için Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS, Thermo Finnigan, San Joe, CA, USA) kullanıldı. Cihazda split/splitless (SSL) enjeksiyon portu ve Thermo Finnigan Polaris Q iyon trap-mass spektrometrik detektör bulunmaktaydı. Enjektöre 12 cm X 5 mm ebatlarında Silcoseeve liner (Thermo-Finnigan) takılı olup, cihaz splitless modunda çalıştırıldı. Elektronik iyonizasyon 70 eV, eksternal iyon source ısısı 200 °C, ara yüz ısısı 250 °C, injector portu ısısı 250 °C’ye ayarlandı. Çalışmada SSL injektöre 1 mL/dk sabit akış hızında 2 µL numune injekte edildi. Ayırma işlemi DB-5MS kapiller kolonla (30 m X 0,25 mm i.d., 0,25 µm film kalınlığı) yapıldı (Santa Clara, CA, USA). Taşıyıcı gaz olarak sabit akış hızı 1 mL/dk olacak şekilde Helyum (%99,995 saflıkta) kullanıldı.

GC çalışma programı: Fırın ısısı başlangıç olarak 70 °C’de 2 dk tutuldu. Daha sonra dk’da 25 °C artarak 150 °C’ye getirildi. Buradan dk’da 3 °C artırılarak 200 °C’ye getirildi. Burada 5 dk

tutulduktan sonra dk'da 8 °C artarak 270 °C'ye getirildi ve burada da 10 dk tutuldu. Toplam program uzunluğu 31,48 dk olarak hesaplandı. Solvent gecikme zamanı, solvent pikinin atlanması için 12 dk olarak ayarlandı. PCB'ler seçici iyon izleme (SIM) ve splitless moda göre kantitatif olarak hesaplandı.

Ekstraksiyon: PCB'lerin numunelerden özütlenmesi için Wang ve ark (2014) tarafından toprakta organik fosforlu insektisitlerin belirlenmesi için geliştirilen yöntem modifiye edilerek kullanıldı. Buna göre her bir fermente et ürünü örneğinden yaklaşık 100 g alındı. Bunlardan 10 g yağ çıkacak şekilde 60 °C'lik etüvde yaklaşık 1 saat süreyle ısıtıldı. 10 g yağ iyice homojenize edildikten sonra bundan 1 g tartılarak 50 mL'lik polipropilen santrifüj tüplerine alındı ve üzerine 7 mL aseton eklenerek 35 °C'lik ultrasonik banyoda 10 dk homojenize edildi. Numune daha sonra soğutmalı santrifüjle -20 °C'de 30 dk süreyle 3500 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant kısmı alınarak evaporatörde kuruyana kadar uçuruldu. Kuru kalıntı 2 mL asetonitrille toplandı ve üzerine 400 mg Primer Sekonder Amine (PSA) ve 600 mg magnezyum sülfat eklendi. Tüpler 30 saniye elle çalkalandı ve 4500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Son olarak numune kurutuldu. Kuru kalıntı 100 µL izooktanla toplandı, üzerine PCB30'un 1 ppm'lik stok çözeltisinden 20 µL eklenerek karıştırıldı ve bu karışımın 2 µL'si GC/MS'e uygulandı. Optimize edilen yöntem daha sonra valide edildi.

Metot validasyonu: Metot validasyonu Avrupa Birliğinin 252/2012 sayılı tüzük Annex IV'te belirtilen kriterler göz önüne alınarak; değerlendirmeler ise Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen belirteç PCB'lerin gıdalarda bulunmasına izin verilen en yüksek kalıntı limiti olan 40 µg/kg (yağ)'a göre yapıldı. PCB'lerin analizi ve doğrulanması bir niceleyici (quantifier) ve 3 niteleyici (qualifier) iyon kullanarak seçili iyon izleme (SIM) moduna göre hesaplandı. Tablo 1'de her bir PCB için izlenen iyonlar verilmiştir. Metodun validasyonu için sığır böbrek iç yağı kullanıldı. Validasyon için lineerlik (linearity), tayin limiti (LOD, Limit of Detection), ölçüm limiti (LOQ, Limit of Quantification), spesifiklik/seçicilik (specificity/selectivity), kesinlik (precision) ve geri kazanım (recovery) parametreleri değerlendirildi.

Lineer kalibrasyon eğrileri her bir PCB için 7 farklı konsantrasyonda (0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10 ve 25 µg/kg) zenginleştirilmiş numunelerden 6'şar örnek kullanılarak bunların 3'er kez enjeksiyonuyla elde edildi.

LOD ve LOQ değerleri, lineer ölçüm aralığında her birinden 20 tekrar yapılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Tayin Limiti(LOD)} = 3,3 \times \text{SD}/m$$

$$\text{Ölçüm Limiti (LOQ)} = 10 \times \text{SD}/m$$

SD = Kalibrasyon eğrisinin en düşük seviyesindeki standart sapma

m = Kalibrasyon eğrisinin eğimi

Spesifiklik/seçicilik için PCB içermediği bilinen sığır böbrek iç yağ örnekleri analiz edilerek, PCB piklerinin çıkış zamanlarında herhangi bir sapma ve etkileşim olup olmadığına bakıldı.

Kesinlik, tekrarlanabilirlik (repeatability) ve tekrar üretilebilirliğe (reproducibility) göre yapıldı. Tekrarlanabilirlik 3 farklı konsantrasyonda zenginleştirilmiş örneklerin 6'şar kez, yeniden üretilebilirlik ise yine 3 farklı konsantrasyonda zenginleştirilmiş 6'şar örneğin farklı 3günde uygulanmasıyla belirlendi.

Geri kazanım çalışması üç farklı seviyede zenginleştirilmiş örnekle, her seviye için 6 tekrar yapılarak 3 farklı günde gerçekleştirildi. Geri kazanım her seviye için hazırlanan matriks standart kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı. Doğruluk (Accuracy) ise geri kazanım çalışmalarıyla belirlendi ve %RSD (nisbi standart sapma) olarak verildi.

Sığır iç yağında valide edilen yöntem, herhangi bir matriks etkisini elimine etmek için daha sonra salam, sucuk ve sosisten elde edilen yağa uyarlandı. Bunun için PCB 2.5, 7.5 ve 25 µg/kg konsantrasyonlarının her biri için 6'şar adet salam, sucuk ve sosisten elde edilen yağ kullanılarak geri kazanım ve RSD değerleri hesaplandı.

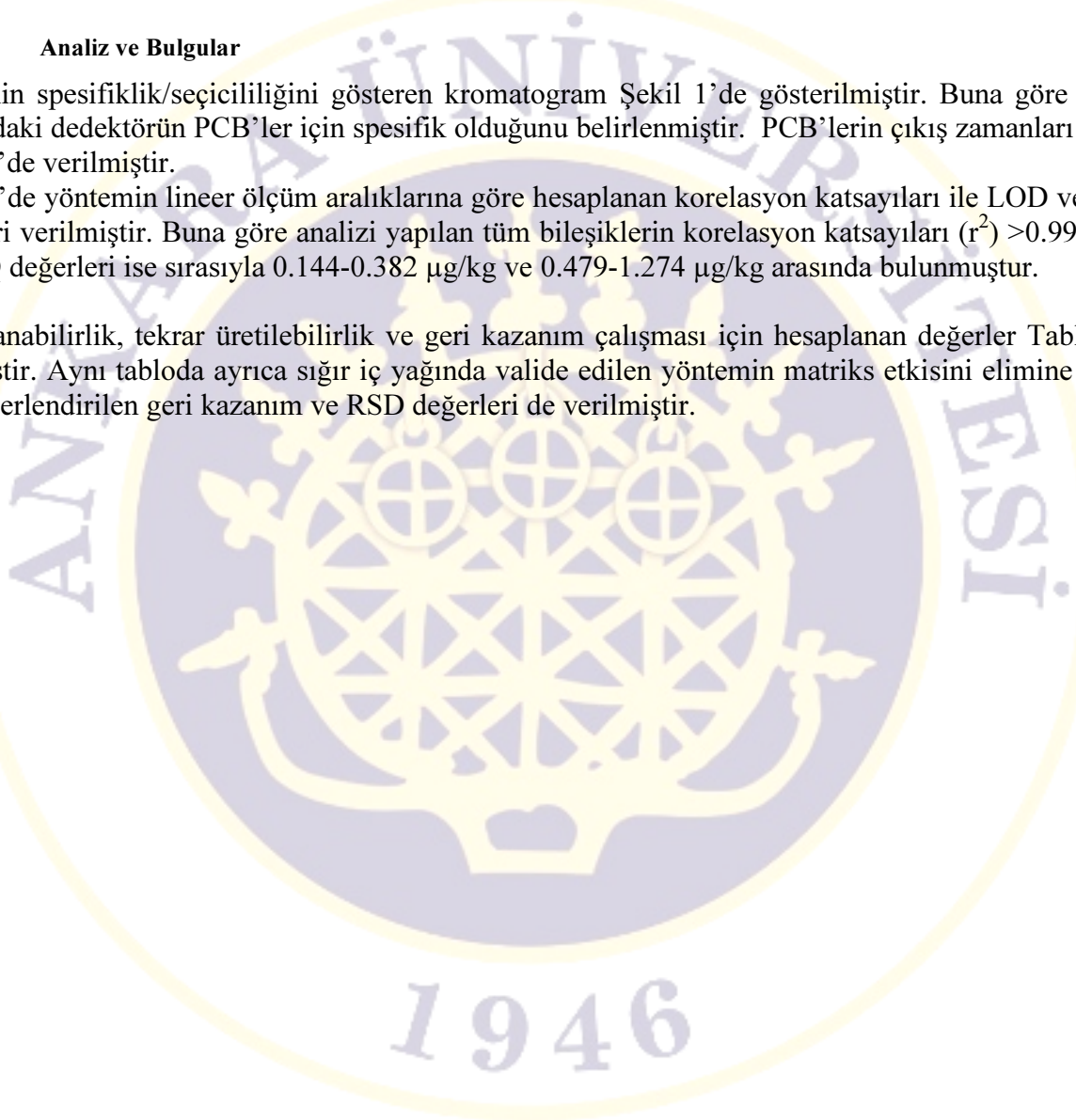
Numunelerin toplanması ve analizi: Materyal olarak Ankara'daki 5 farklı marketten, farklı üreticilere ait 5'er adet salam, sucuk ve sosis olmak üzere toplam 75 örnek toplanarak 6 belirteç PCB (PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 ve PCB180) ile PCB118'in varlığı ve miktarları valide edilen yöntemle belirlendi.

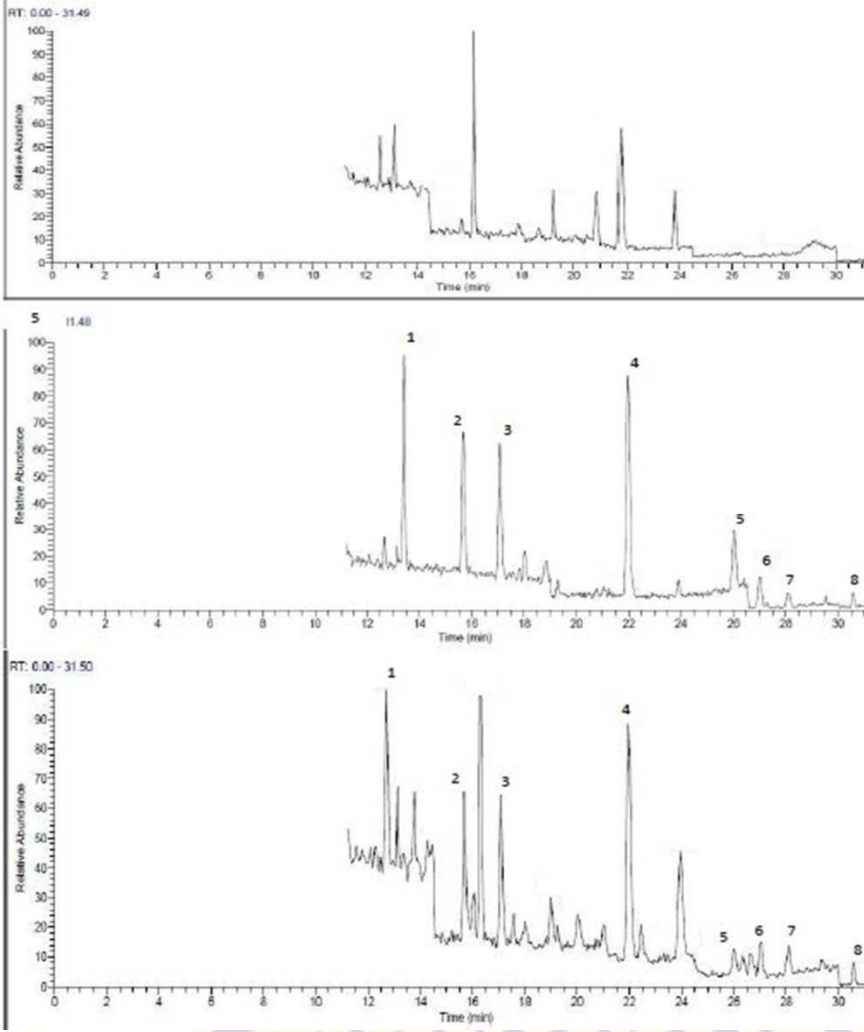
IV. Analiz ve Bulgular

Yöntemin spesifiklik/seçiciliğini gösteren kromatogram Şekil 1'de gösterilmiştir. Buna göre ölçüm cihazındaki dedektörün PCB'ler için spesifik olduğunu belirlenmiştir. PCB'lerin çıkış zamanları ayrıca Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 2'de yöntemin lineer ölçüm aralıklarına göre hesaplanan korelasyon katsayıları ile LOD ve LOQ değerleri verilmiştir. Buna göre analizi yapılan tüm bileşiklerin korelasyon katsayıları (r^2) >0.99, LOD ve LOQ değerleri ise sırasıyla 0.144-0.382 µg/kg ve 0.479-1.274 µg/kg arasında bulunmuştur.

Tekrarlanabilirlik, tekrar üretilebilirlik ve geri kazanım çalışması için hesaplanan değerler Tablo 3'te verilmiştir. Aynı tabloda ayrıca sığır iç yağında valide edilen yöntemin matriks etkisini elimine etmek için değerlendirilen geri kazanım ve RSD değerleri de verilmiştir.





Şekil 1. a) PCB içermeyen iç yağa ait kromatogram , b) PCB'lerin 100 µg/mL'lik çalışma çözeltisinden elde edilen kromatogram, c) PCB'lerin 100 µg/mL konsantrasyonu ile zenginleştirilmiş iç yağ kromatogramı, 1-PCB30; 2-PCB28; 3-PCB52; 4-PCB101; 5)PCB118; 6)PCB153; 7)PCB138; 8)PCB180

1946

Tablo 1: SIM iyonlar ve geri alınma zamanları

PCB	Geri alınma zamanı (dakika)	SIM İyonlar***
PCB28	15,7	256, 186,260,258
PCB30*	13,41	256, 186,260,258
PCB52	17,08	292, 220,257,290
PCB101	21,96	326, 254,328,324
PCB118	26,02	326, 328,324,254
PCB138	28,09	360, 290,362,358
PCB153	26,99	360, 290,362,358
PCB153**	26,99	302,300,372,374
PCB180	30,58	394, 396,324,326

*Enjeksiyon internal standartı, ** ¹³C ile işaretlenmiş Internal standart, *** Siyahla işaretlenmiş olanlar niceliyici, diğerleri nitelendirici iyonlardır.

Tablo 2. Her bir PCB için yapılan lineer ölçüm aralıkları ile hesaplanan korelasyon katsayıları ve LOD ve LOQ değerleri

PCB	Lineer aralık ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	r^2	LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
PCB28	0,5-25	0,9982	0,144	0,479
PCB52	0,5-25	0,9984	0,151	0,503
PCB101	0,5-25	0,9982	0,257	0,857
PCB118	0,5-25	0,9988	0,266	0,886
PCB153	0,5-25	0,9992	0,250	0,832
PCB138	0,5-25	0,9992	0,226	0,754
PCB180	0,5-25	0,9989	0,382	1,274

Tablo 3. İç yağ, sucuk, salam ve sosis örneklerinde geri kazanım ve RSD değerleri

Matriks	Konsantrasyon ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Geri kazanım (%)	RSD (%)	Ortalama Geri kazanım (%)	Ortalama RSD (%)
İç Yağ	2,5	98,3	3,0	98,2	2,3
	7,5	99,1	1,2		
	25	97,1	2,8		
Sucuk	2,5	98,3	2,9	98,8	2,3
	7,5	99,5	0,9		
	25	98,5	3,1		
Salam	2,5	99,4	4,8	99,1	3,3
	7,5	99,5	1,2		
	25	98,5	3,8		
Sosis	2,5	100,6	3,8	99,4	2,9
	7,5	99,6	1,2		
	25	98,1	3,9		

Piyasadan toplanan örneklerden elde edilen sonuçlar:

Sucuk örneklerinin birinde 0.906 µg/kg PCB138, birinde 1,472 µg/kg PCB52 ve 0,409 µg/kg PCB153 (toplam 1,881 µg/kg PCB), birinde 0.989 µg/kg PCB118, birinde 0,656 µg/kg PCB28 ve 1,056 µg/kg PCB52 (toplam 1,712 µg/kg PCB) bulunmuştur. Buna göre 25 sucuk örneğinin sadece 4 tanesinde (%16) PCB kalıntısına rastlanmıştır.

Sosis örneklerinin birinde 0.575 µg/kg PCB118 ve 0.763 µg/kg PCB180 (toplam µg/kg 1.338 PCB), birinde 0.744 µg/kg PCB118, birinde 0.407 µg/kg PCB180 bulunmuştur. Buna göre 25 sosis örneğinin sadece 3 tanesinde (%12) PCB kalıntısına rastlanmıştır.

Salam örneklerinin 4 tanesinde ayrı ayrı 0.634, 1,142, 1.376 ve 1.053 µg/kg PCB28 ve sonuncusunda ayrıca 1.757 µg/kg PCB101 ve 1.126 µg/kg PCB118 (toplam 3.936 µg/kg PCB) bulunmuştur. Buna göre bulunma sıklığı %16 olarak hesaplanmıştır.

V. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada ultrason aracılı dondurarak dispersif katı faz ekstraksiyonu (DSPE) ile düşük dansiteli solvent kullanılmak suretiyle salam, sucuk, sosis yağlarından PCB bileşiklerinin GC-MS aracılığıyla analiz edilebileceğine ilişkin bir yöntem laboratuvara uyarlanmıştır. Kullanılan solventin düşük toksisiteye sahip olması hem insan sağlığı hem de çevreye yönelik riski azaltmıştır. Ultrasonun kullanılması analitlerin çözücüye geçiş hızını ve miktarını artırarak ekstraksiyon etkinliğini artırmıştır. Soğutmalı santrifüjde dondurma işlemi uygulanması, dondurarak clean-up yapılan metotlara göre analiz süresinin kısaltmasını sağlamıştır. Bu yöntemde özütleme için basit ve ucuz araçlar kullanılması, düşük düzeydeki PCB'leri belirleyebilmesi, tekrarlanabilirliğin iyi olması ve geri kazanımın yüksek olması diğer geleneksel yöntemlerden üstünlüğünü göstermektedir.

Türkiye'deki mevcut durumu belirlemek için yapılan örnek taramasında sucuk ve salam örneklerinin %16'sında, sosis örneklerinin ise %12'sinde değişik PCB bileşiklerinin varlığına rastlanmıştır. Bulunan en yüksek kalıntının 3.936 µg/kg (PCB28, 101 ve 118 toplamı) ile salam örneğinde görülmesiyle, analiz edilen tüm örneklerin Türkiye'deki yasal tolerans limitine uygun olduğu (Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, MRL <40 µg yağ/kg) sonucuna varılmıştır.

Gıdalardaki kalıntı ve bulaşanlara ilişkin dünya genelinde rastlanan skandallar, tüketicilerin gıda güvenliği ve halk sağlığı konularındaki endişelerinin artmasına neden olmaktadır. Bu güvenin sağlanması ve endişelerin kalkması için, başta kontrol ve denetimlerin yasaların öngördüğü düzeylerde yapılması, bununla birlikte bilimsel çalışmaların öneminin vurgulanması gerekmektedir. Bu nedenle her ülke çevresel kirleticilerle ilgili mevzuatını sürekli yenilemeli ve sıkı kurallar uygulamalıdır. Bu durum halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından olduğu kadar, yetiştirici ve üreticilerin de ekonomik kaynaklarını iyi kullanması ve tüketicilere güvenilir sağlıklı ürünler sunması açısından önemlidir.

VI. Geleceğe İlişkin Öngörülen Katkıları

Gıdalardaki kalıntı sorununun ortaya konulmasını amaçlayan bu araştırmanın, Türkiye'nin gıda kontrol sistemi kapsamında yer alacak rutin uygulamalara model teşkil edebileceği, bu konuda gelecekte çalışacak araştırmacılara yol göstereceği ümit edilmektedir. Yukarıda belirtilen yöntemin yağlı gıdalarda yağda birikme özelliğine sahip diğer kalıcı organik kirleticilerin analizlerinde de uygulanabileceği sanılmaktadır. Böylece Türkiye'nin de taraf olduğu kalıcı organik kirleticilere ilişkin Uluslar arası Stockholm Sözleşmesinde belirtilen tüm bileşiklerin analizlerinde Anabilim Dalı

laboratuvarlarımızın da söz sahibi ve yetkili bir laboratuvar olması yolunda önemli bir adım atıldığı sonucuna varılmıştır.

VII. Sağlanan Altyapı Olanakları ile Varsa Gerçekleştirilen Projeler

Proje alt yapıya yönelik değildir.

VIII. Sağlanan Altyapı Olanaklarının Varsa Bilim/Hizmet ve Eğitim Alanlarındaki Katkıları

IX. Kaynaklar

Arnich, N., Tard, A., Leblanc, J.C., Le Bizec, B., Narbonne, J.F., Maximilien, R. (2009). Dietary intake of non-dioxin-like PCBs (NDL-PCBs) in France, impact of maximum levels in some foodstuffs. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 54: 287–293.

ATSDR (U.S. Department Of Health And Human Services Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2000). Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBS). 332-335.

Boix, J., Cauli, O. (2012). Alteration of serotonin system by polychlorinated biphenyls exposure. *Neurochem. Interna.*, 60: 809–816.

Breivik, K., Sweetman, A., Pacyna, J., Jones, K. (2002). Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners — a mass balance approach 1. Gwlobal production and consumption. *The Sci. of the Total Enviro.*, 290 (1–3): 181–98.

Costabeber, I., Sifuentes dos Santos, J., Odorissi Xavier, A.A., Weber, J., Leal Leaães, F., S., Bogusz Junior, Emanuelli, T. (2006). Levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) in meat and meat products from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Food and Chemical Toxicology*. 44: 1–7.

Çiftçi, O. (2010). Dioksinli Bileşiklerin Etki Mekanizması, Kimyasal Yapısı ve Toksikokinetik Özelliklerinin İncelenmesi. *İnönü Üni. Tıp Fakült. Dergisi*. 17(4): 413-22.

Darnerud, P.O., Atuma, S., Aune, M., Bjerselius, R., Glynn, A., Petersson Grawe, K., Becker, W. (2006). Dietary intake estimations of organohalogen contaminants (dioxins, PCB, PBDE and chlorinated pesticides, e.g. DDT) based on Swedish market basket data. *Food and Chemical Toxicology*. 44: 1597–1606.

EuroPCB: Inventory PCB Enforcement in Member States. PartII: Fiches Results for Each Member State (2005).

Espósito, M., Imparato, E., Castellano, V., Guadagnuolo, G., Serpe, L. (2001). Polychlorinated biphenyls (PCB) monitoring on food of animal origin. *Industrie Alimentari*. 40: 29–32.

Fukunaga, B.N., Probst, M.R., Reisz-Porszasz, S., Hankinson, O. (1995). Identification of functional domains of the aryl hydrocarbon receptor. *J. Biol. Chem.*, 270 (49): 29270–8.

García-Mayora, R.V., Vidal, A.L., Caamañob, M.F.D., Giménez, A.L. (2012). *Endocrinol Nutr*. 59(4), 261-267.

Gascon, M., Morales, E., Sunyer, J., Vrijheid, J. (2013). Effects of persistent organic pollutants on the developing respiratory and immune systems: A systematic review. *Environ. Intern.*, 52: 51–65.

Irigaray, P., Newby, J.A., Lacomme, S., Belpomme, D. (2007). Overweight/obesity and cancer genesis: More than a biological link. *Biomedici. & Pharmacother.*, 61: 665-678.

Kim, M.K., Kim, S., Yun, S., Lee, M., Cho, B., Park, J., Son, S., Kim, O. (2004). *Chemosphere* 54, 1533–1538.

Lundberg, R., Lyche, J.L., Ropstad, E., Aleksandersen, M., Rönn, M., Skaare, J.U., Larsson, S., Örborg, J. (2006). Perinatal exposure to PCB 153, but not PCB 126, alters bone tissue composition in female goat offspring. *Toxicology.*, 228: 33–40.

Malanichev, A., Mantseva, E., Shatalov, V., Strukov, B., Vulykh, N. (2004). Numerical evaluation of the PCBs transport over the Northern Hemisphere. *Environ. Pollu.*, 128: 279–289.

- Pelletier, C., Després, J., Tremblay, A. (2002). Plasma organochlorine concentrations in endurance athletes and obese individuals. *Med Sci Sports Exerc.*, 34: 1971–1975.
- Porta, M., Zumeta, E. (2002). Implementing the Stockholm Treaty on Persistent Organic pollutants. *Occupatio. and Environ. Medic.*, 10 (59): 651–2.
- Rogan, W.J., Gladen, B.C. (1991). PCBs, DDE, and child development at 18 and 24 months. *Ann. Epidemiol.*, 1: 407–13.
- Seyran, A., Erişir, M. (2008). Poli Klorlu Bifeniller ve Sağlık Üzerine Etkileri. *F.Ü. Sağ. Bil. Derg.*, 22 (1): 33–40.
- Sapozhnikova, Y., Lehotay, S.J. (2013). Multi-class, multi-residue analysis of pesticides, polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, polybrominated diphenyl ethers and novel flame retardants in fish using fast, low-pressure gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta.*, 758: 80– 92.
- Schechter, A., Stanley, J., Boggess, K. (1994). Polychlorinated biphenyl levels in the tissues of exposed and nonexposed humans. *Environ. Health Perspec. Suppl.*, 102: 149–158.
- Schechter, A., Cramer, P., Boggess, K., Stanley, J., Olson, J.R. (1997). Levels of Dioxins, Dibenzofurans, PCB and DDE Congeners in Pooled Food Samples Collected in 1995 at Supermarkets Across the United States. *Chemosphere.*, 34: 1437-1447.
- Scientific Report Of Efsa (2010). Results of the monitoring of non dioxin-like PCBs in food and feed. *EFSA Journal.*, 8(7): 1701.
- Stellman, S.D., Djordjevic, M.V., Muscat, J.E. (1998). Relative abundance of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in adipose tissue and serum of women in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 7: 489-496.
- Stolevik, S.B., Nygaard, U.C., Namork, E., Haugen, M., Kvale, H.E., Meltzer, H.M. (2011). Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins is associated with increased risk of wheeze and infections in infants. *Food Chem Toxicol.*, 49: 1843–8.
- Tang-Péronard, J.L., Andersen, H.R., Jensen, T.K., Heitmann, B.L. (2011). Endocrine-disrupting chemicals and obesity development in humans: A review. *Obesity.*, 12: 622–636.
- Vos, J.G., Loveren, H.V. (1998). Experimental studies on immunosuppression: How do they predict for man? *Toxicology.*, 129: 13–26.
- Wang Q, Yin J, Pan H, Xu F, Yang Y (2014). A novel method based on combining ultrasonic-assisted dispersive solid-phase extraction and low-density solvent dispersive liquid-liquid microextraction (UA-DSPE-LDS-DLLME) for the determination of organophosphorous pesticides in soil. *Anal Methods*, 6,7335-7342.
- Ward, M.H., Colt, J.S., Metayer, C., Gunier, R.B., Lubin, J., Crouse, V. (2009). Residential exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine. *Environ. Heal. Persp.*, 117 (6): 1007-1013.
- Yılmaz, B., Sandal, S., Chenb, C.H., Carpenter, D.O. (2006). Effects of PCB 52 and PCB 77 on cell viability, [Ca²⁺]_i levels and membrane fluidity in mouse thymocytes. *Toxicology.*, 217: 184–193.

X. Ekler

- a. Mali Bilanço ve Açıklamaları
- b. Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar
- c. Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan analiz ayrıntıları)
- d. Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar) **(Altyapı Projeleri için uygulanmaz)**
- e. Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler **(Altyapı Projeleri için uygulanmaz)**

onayından sonra ciltlenerek bir kopyasının yer aldığı CD ile birlikte sunulacaktır. Sonuç raporunda proje sonuçlarını içeren, ISI' nın SCI veya SSCI veya AHCI dizinleri kapsamında ve diğer uluslararası dizinlerce taranan hakemli dergilerde yayınlanmış makaleler, III. Materyal ve Yöntem ve IV. Analiz ve Bulgular bölümleri yerine kabul edilir.



