

TC  
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ



İSTANBUL'DA SATIŞA SUNULAN İÇME  
SÜTLERİNDE ANTİBİYOTİK KALINTI  
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin SARAÇ  
(Y111304002)

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Kamil BOSTAN

Temmuz 2015





T.C.  
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

**Yüksek Lisans Tez Onay Belgesi**

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Gıda Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı Y1113.040012 numaralı öğrencisi **Yasemin SARAÇ**'ın "İSTANBUL'DA SATIŞA SUNULAN İÇME SÜTLERİNDE ANTİBİYOTİK KALINTI DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 30.06.2015 tarih ve 2015/13 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından **Başarı** ile Tezli Yüksek Lisans tezi olarak **Kabul** edilmiştir. (oybirliği)

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi :15/07/2015

1)Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kamil BOSTAN

2) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ

3) Jüri Üyesi : Prof. Dr. Gürhan Raif ÇİFCİOĞLU

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.



## YEMİN METNİ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum "İSTANBUL'DA SATIŞA İÇME SÜTLERİNDE ANTİBİYOTİK KALINTI DÜZEYLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA " adlı çalışmanın tezin proje safhasında sonuçlanmasına kadarki süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Bibliyoğrafya'da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (15.07.2015)

Aday / İmza



## ÖNSÖZ

Günümüzde dünyada ve ülkemizde halk sağlığı ve gıda güvenliği alanında oluşan bilinç süt kalitesi için olan ilgiyi de arttırmıştır. Süt içermiş olduğu hayvansal protein, yağ, laktoz, vitamin ve mineraller ile vücut fonksiyonlarını düzenlemekte, kemiklerin gelişimine yardımcı olmaktadır.

Dünya nüfusunun artmasıyla beraber süt ihtiyacı da buna paralel olarak artmıştır. Bu nedenle daha az maliyetle daha fazla verimli süt üretimi önem kazanmıştır. Antibiyotikler çiftlik hayvanlarının büyümelerini ve verimlerini artırmak amacıyla geniş çapta kullanılmaktadır. Tetrasiklinler, kloramfenikol, makrolidler, sülfonamidler, nitrofüan, nitroimidazol, polimiksin,  $\beta$ -laktam, kinolon ve makrosiklik grubu ilaçlar bu amaçla en fazla kullanılan ilaçlardır. Ancak bu ilaçların uygun olmayan şekillerde ve yasal olmayan miktarlarda kullanımları süt ve süt ürünlerinde kalıntı oluşturmaktadır. Antibiyotik kalıntısı insanlarda alerjik reaksiyonlara ve tehlikeli sağlık problemlerine yol açmaktadır. Aynı zamanda antibiyotik kalıntıları fermente gıdaların kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Bu nedenle insanların tüketmiş olduğu sütün kalitesini ve güvenilirliğini kontrol etmek için antibiyotik kalıntılarının izlenmesi gerekmektedir. Gıda güvenliğinin sağlanması ve halk sağlığının korunması amacıyla, bekleme sürelerine dikkat edilmeli, tüketime hazır süt ve süt ürünlerinde bulunabilecek en yüksek kalıntı miktarlarının (MRL) aşılmasına izin verilmemelidir. Düzenlenmiş bu seviyelerin altındaki tüm antibiyotik kalıntılarını tespit etmek için spesifik, hassas, güvenilir bir analiz yöntemi seçilmelidir. Bu tez çalışması İstanbul piyasasında satılmakta olan UHT, pastörize ve çiğ sütlerde bazı antibiyotiklerin kalıntı varlığını ve miktarlarını saptamak; içme sütlerinin antibiyotik kalıntı varlığının halk sağlığı açısından bir risk oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmamın seçilmesi ve yürütülmesi esnasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Prof.Dr Kamil Bostan ve Enstitü Müdürümüz Prof.Dr. Haydar ÖZPINAR ve Bölüm başkanımız Prof.Dr Şükrü KARATAŞ ve değerli bölüm hocalarıma teşekkür ederim.

Temmuz 2015

Yasemin SARAÇ





## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ .....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
ABSTARCT.....	xix
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Sütün Tanımı ve Özellikleri.....	3
2.2 Çiğ Sütün İşlenmesi.....	5
2.3 Sütte Sağlığa Zararlı Etken ve Maddeler.....	6
2.4 Antibiyotikler.....	8
2.4.1 Antibiyotiklerin tanımı ve etki mekanizması.....	8
2.4.2 Antibiyotiklerin sınıflandırılması.....	9
2.4.2.1 Hücre Duvarı Sentezinin Engelleyen Antibiyotikler.....	9
2.4.2.2 Protein Sentezini Engelleyen Antibiyotikler.....	10
2.4.2.3 Nükleik Asitlere Etki Eden Antibiyotikler.....	11
2.4.2.4 İntermediyer Metabolizmayı Bozanlar.....	12
2.4.3 Tetrasiklin Grubu Antibiyotikler.....	12
2.4.4 Sülfonamid Grubu Antibiyotikler.....	13
2.5 Gıda Maddelerinde Antibiyotik Kalıntıları ve Halk Sağlığı.....	16
2.6 Sütlerde Antibiyotik Kalıntıları.....	16
2.7 Sütlerde Antibiyotik Kalıntı Analizinde Kullanılan Yöntemler.....	18
2.8 LC-MS/MS Metodu.....	20
2.8.1 LC-MS/MS Analiz Temel İlkeler.....	20
2.8.2 GC-MS/MS ve LC-MS/MS Karşılaştırılması.....	22
2.8.3 LC-MS/MS Analizinin Spesifikliği.....	23
2.8.4 LC-MS/MS Cihazı.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	29
3.1 Gereç.....	29
3.1.1 Süt Örnekleri .....	29

3.1.2 Kullanılan cihaz ve ekipmanlar .....	30
3.1.3 Kullanılan kimyasallar .....	30
3.2. Yöntem.....	31
3.2.1 Çözelti ve Standartların Hazırlanması .....	31
3.2.2 Süt Örneklerinin Analize Hazırlanması .....	31
3.2.3 LC-ESI/MS/MS Koşulları .....	33
3.2.4 Metodun Geçerlilik ve Kesinliği .....	35
3.2.5 Geri Alım Hesaplaması .....	35
3.2.6 Gün İçi Tekrarlanabilirlik ve Kesinlik.....	35
3.2.7 Günler Arası Tekrarlanabilirlik ve Kesinlik (Tekrar Üretilebilirlik).....	35
3.2.8 Tespit Limiti (TL) ve Değerlendirme Limitinin (DL) Hesaplanması .....	35
3.2.9 Yöntem Doğrulama .....	36
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>37</b>
4.1 Pik çıkış süreleri.....	37
4.2 Sulfonamid ve Tetrasiklin Standartlarının Kalibrasyon Eğrileri.....	38
4.3 Sulfonamid ve Tetrasiklin Standartlarının Kromatogramları.....	38
4.4 Geri alım oranları.....	39
4.5 Gün İçi Tekrarlanabilirlik.....	40
4.6 Günler arası tekrarlanabilirlik.....	42
4.7 Tespit ve değerlendirme limitleri.....	43
4.8 Süt örneklerinde saptanan antibiyotik kalıtı miktarları.....	43
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>55</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>61</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>76</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>µL</b>	: Mikrolitre
<b>µm</b>	: Mikrometre
<b>APCI</b>	: Atmosferik Basınçta Kimyasal İyonizasyon
<b>API</b>	: Atmosferik Basınç İyonizasyonu
<b>API-ES</b>	: Atmosferik Basınç İyonizasyonu-elektrosprey
<b>CID</b>	: Çarpışma Kaynaklı Ayrılma
<b>DAD</b>	: Diod Array Dedektör
<b>EDTA</b>	: Etilen diamin tetra asetik asit
<b>ELISA</b>	: Enzim Likid Immune Sorbent Assay
<b>FLD</b>	: Floresans Dedektörü
<b>G</b>	: Gram
<b>GC-MS</b>	: Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
<b>HPLC</b>	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi
<b>IU</b>	: Uluslararası birim
<b>LC</b>	: Sıvı Kromatografisi
<b>LC-MS</b>	: Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
<b>LC-MS/MS</b>	: Sıvı Kromatografisi-Kütle/Kütle Spektrometresi
<b>Mg</b>	: Miligram
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>MRM</b>	: Çoklu Reaksiyon Takip İşlemi
<b>MS</b>	: Kütle Spektrometresi
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>TLC</b>	: İnce Tabaka Kromatografisi
<b>UHT</b>	: Ultra Yüksek Sıcaklık
<b>UPLC</b>	: Ultra Performans Sıvı Kromatografi
<b>UV</b>	: Ultraviyole alan
<b>µg</b>	: Mikrogram
<b>S/N</b>	:Sinyal /Gürültü



## ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 :Sütün Enerji ve Besin Değerleri (100 g).....	3
Çizelge 3.1 :Pastörize Süt Örneklerinin Dağılımı.....	29
Çizelge 3.2 :UHT Süt Örneklerinin Dağılımı .....	29
Çizelge 3.3 :Kalibrasyon Standart Çözeltisi.....	32
Çizelge 3.4 :Mobil faz değişim programı.....	33
Çizelge 3.5 :MRM geçişlerinin optimize parametreleri .....	34
Çizelge 4.1 :Standartların ortalama çıkış zamanları .....	37
Çizelge 4.2 :Geri kazanım oranları.....	39
Çizelge 4.3 :Ölçülen miktarlarının % relatif standart sapmaları (RSS).....	41
Çizelge 4.4 :Örnekleri analiz edilmiş; % relatif standart sapmaları (RSS).....	42
Çizelge 4.5 :Değerlendirme limiti.....	43
Çizelge 4.6 :Antibiyotik pozitif süt örneklerinin dağılımı .....	46
Çizelge 4.7 :Çiğ Süt Örneklerin Analiz Sonuçları (µg/kg).....	47
Çizelge 4.8 :Pastörize Süt Örneklerinin Analiz Sonuçları (µg/kg) .....	47
Çizelge 4.9 :UHT Süt Örneklerinin Analiz Sonuçları (µg/kg).....	48
Çizelge 4.10: UHT Sütlerin Bölgelere Göre Pozitif Örneklerin Dağılımı.....	51



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Tetrasiklin Grubu Antibiyotiklerin Yapıları .....	13
Şekil 2.2: Tetrasiklin Çeşitleri .....	13
Şekil 2.3: Sülfonamid grubu antibiyotiklerin yapıları .....	14
Şekil 2.4: Sülfonamid Çeşitleri .....	15
Şekil 2.5: LC-MS/MS'in öncü ürün iyonu belirlenmesindeki aşamaları .....	21
Şekil 2.6: Tam tarama ve MS / MS seçici izleme reaksiyonu arasındaki farklar .....	22
Şekil 2.7: Elektrosprey iyonizasyonu .....	25
Şekil 2.8: Atmosferik basınçta kimyasal iyonizasyon .....	26
Şekil 2.9: Tarama ve SIM için elde edilen veriler .....	27
Şekil 2.10: Tek dört kutupluda ve üçlü dört kutupluda CID .....	28
Şekil 3.1: Örneğin analiz aşamaları.....	32
Şekil 4.1: 5 ng/ml sülfonamid grubu antibiyotiklerin kromatogramları.....	38
Şekil 4.2: 5 ng/ml tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kromatogramları.....	38
Şekil 4.3: Antibiyotik içermeyen boş süt örneği.....	38
Şekil 4.4: EGE bölgesinde üretilen UHT sütlerindeki kalıntıların ölçülen miktarlarının dağılımı.....	52
Şekil 4.5: Marmara bölgesinde üretilen UHT sütlerindeki kalıntıların ölçülen miktarlarının dağılımı.....	53
Şekil 4.6: İç Anadolu bölgesinde üretilen UHT sütlerindeki kalıntıların ölçülen miktarlarının dağılımı.....	54
Şekil A.1: Doksisisiklin ve Tetrasiklin Kalibrasyon Eğrileri.....	71
Şekil A.2: Oksitetrasiklin ve Klorotetrasiklin Kalibrasyon Eğrileri.....	73
Şekil A.3: Sülfadiazin ve Sülfadiazin Kalibrasyon Eğrileri.....	75
Şekil A.4: Sülfapiridin ve Sülfamerazin Kalibrasyon Eğrileri.....	77
Şekil A.5: Sülfametazin ve Sülfakloropiridazin Kalibrasyon Eğrileri.....	79
Şekil A.6: Sülfadimetoksin ve Sülfametoksazol Kalibrasyon Eğrileri.....	81
Şekil A.7: Sülfadoksin ve Sülfakinozalin Kalibrasyon Eğrileri.....	83





## İSTANBUL'DA SATIŞA SUNULAN İÇME SÜTLERİNDE ANTİBİYOTİK KALINTI DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

### ÖZET

Hayvanlarda tedavi edici, semirtici ve benzeri amaçlarla kullanılan antibiyotikler bu hayvanlardan elde edilen gıdalarda kalıntı bırakabilmektedir. Böyle gıdaların insanlar tarafından tüketimi ise ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Çiğ süt, antibiyotik kalıntısı içermesi en muhtemel gıdaların başında gelmektedir.

Bu çalışma İstanbul'da satışa sunulan içme sütü örneklerinde tetrasiklin ve sülfonamid grubu antibiyotiklerinden Doksisiklin (DC), Oksitetrasiklin (OTC), Tetrasiklin (TC), Klortetrasiklin (CTC), Sulfatiazol (ST), Sülfakinoksalin (SQX), Sülfapiridin(SP), Sülfametoksazol(SMX), Sülfamerazin(SMZ), Sülfadoksin(SDX), Sülfadimetoksin (SDM), Sülfadiazin(SD), Sülfakloropridazin (SCP), Sülfamethazin (SMT), kalıntı düzeylerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla, bir yıllık bir dönem içinde çeşitli satış noktalarında 26 adet çiğ süt ve farklı firmalara ait 30 adet pastörize süt, 93 adet UHT süt olmak üzere toplam 149 adet örnek toplanmış ve laboratuvarda en son teknolojilerden biri olan LC-MS/MS yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir.

İncelenen çiğ sütlerin 16'sında antibiyotik kalıntısı saptanmış; birer örnekte SMX, SQX, SDX; oniki örnekte TC, ondört örnekte OTC, altı örnekte DC, altı örnekte CTC tespit edilmiş, diğer antibiyotiklere rastlanmamıştır. Pastörize süt örneklerinin 14 tanesinde antibiyotik kalıntısı tespit edilmiş, bunların 14 tanesinde OTC, 4'ünde SDX, ikişer adedinde SMT, SQX ve CTC, birisinde SDM kalıntısı gözlemlenmiştir. UHT süt örneklerinin 30'unda antibiyotik kalıntısına rastlanmıştır; 13'ünde SMT, 9'unda SD, 5'inde SDM ve CTC, 4'ünde SDX, 3'ünde OTC, 2'sinde SMX ve TC, 1'inde SQX tespit edilmiştir. Çiğ sütlerde aynı örnekte en fazla 4, pastörize sütlerde 5, UHT sütlerde 4 antibiyotik kalıntısı saptanmıştır. Bütün süt örneklerinde en çok rastlanan antibiyotik OTC olup en yüksek düzeyi 11.19 µg/kg olarak belirlenmiştir. Tüm süt örneklerinde en yüksek miktar 13,76 µg/kg ile DC için saptanmıştır. Çiğ sütler daha az türde antibiyotik kalıntısı ihtiva etmesine rağmen saptanan kalıntıların konsantrasyonları diğer sütlerdeki konsantrasyonlardan yüksek bulunmuştur.

Yapılan analizler neticesinde İstanbul'da satışa sunulan sütlerin yaklaşık olarak yarısının tetrasiklin ve sülfonamid grubu antibiyotik içerdiği, ancak hiçbirisindeki antibiyotik seviyesinin yasal limit olan 100 µg/kg 'ı geçmediği tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgular incelenen örneklerin yasal açıdan bir sorun oluşturmadığı göstermektedir. Bu durum içme sütü üreticilerinin piyasaya sundukları ürünlerin antibiyotik içeriği konusunda hassasiyet gösterdiklerine işaret etmektedir. Diğer taraftan yasal limitler dahilinde olmakla birlikte sütlerin yarıya yakın kısmının antibiyotik içermesi, özellikle çiğ sütlerde saptanan değerlerin nispeten yüksek olması antibiyotik verilmiş hayvanlardan gerekli arınma süresi dolmadan elde edilen sütlerin tüketime verildiği şekilde değerlendirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** LC-MS/MS, Sülfonamidler, Tetrasiklinler, Kalıntı



## A STUDY ON SALES LEVELS IN DRINKING MILK IN ISTANBUL ANTIBIOTIC RESIDUES

### ABSTRACT

Antibiotics which are used in animals for treating, fattening and similar purposes may leave residues in foods derived from these animals. The human consumption of such foods can cause serious health problems. Raw milk is one of the foods most likely to contain residues of antibiotics.

The scope of this study is to determine possible residues of tetracycline and sulfonamide group antibiotics Doxycycline (DC), oxytetracycline (OTC), tetracycline (TC), chlortetracycline (CTC), sulfathiazole (ST), sulfaquinoxaline (SQX) sulphapyridine (SP), sulfamethoxazole (SMZ), sulfamerazine (SMZ), sulfadoxine (SDX) sulphadimethoxine (SDM), sulfadiazine (SD), sulfachloropyridazine (SCP), Sulfamethazin (SMT) in drinking milk samples collected from in Istanbul.

For this purpose, 26 samples of raw milk, 30 samples of pasteurized milk belonging to different companies, 93 samples of UHT-treated milk, 149 samples in total, were collected within a year from various sales points. All were analyzed via LC-MS /MS in laboratory.

Antibiotic residues have been detected in 16 out of analyzed raw samples, SMX, SQX, SDX in one sample, TC in 12 samples, OTC in 14 samples, DC in 6 samples, CTC in 6 samples, were detected. Other antibiotics residues were not observed. Antibiotic residues were detected in 14 of pasteurized milk samples including OTC residue in all samples, SDX residue in 4 samples, SMT, SQX and CTC residues each in 2 samples and SDM residue in one sample. Antibiotic residues were detected in 30 samples of UHT-treated milk, SMT residue in 14, SD residue in 9, SDM residue in 5, SDX and CTC residues in 4, OTC residue in 4, SMX and TC residues in 2, SQX residue in one sample. The highest number of antibiotic residues which were detected in the same sample for raw milk, pasteurized milk and UHT-treated milk specimens were 4,5 and 4 respectively. The most common residue detected within all samples was the residue of OTC with a highest concentration of 11.19 µg/kg. The highest concentration among all the samples was detected as 13,76 µg/kg which belonged to DC residue. Although less type of antibiotic residues were present in raw milk samples, the concentration of the residues were observed to be higher compared to other type of samples.

According to our analysis, approximately half of the milk which were sold in Istanbul region contains tetracycline and sulfonamide group of antibiotic, however none of them are above 100µg/kg, which is the legally allowed upper limit.

Our findings showed that analyzed samples were complying legal obligations. This indicates, drinking milk producers are showing sensitivity about the antibiotic residue content of their products introduced to the market. From another perspective, almost half of the milk samples contains antibiotic residue within legal limits. Especially with antibiotic residue inclusion of almost half of the milk, especially considered as given to consumption required purification time obtained before the milk from the given antibiotics to be relatively high animal values detected in raw milk.

**Keywords:** LC-MS/MS, Sulfoamids, Tetracyclines, Residue



## 1.GİRİŞ

Günlük yaşamımızda önemli bir yeri bulunun süt, yeterli ve dengeli beslenme için gerekli olan hayvansal kaynaklı protein, yağ, laktoz ile vitamin ve mineral maddeleri tam ve yeterli oranda içerir. Süt, besin değeri yüksek olmasıyla birlikte, vücut fonksiyonlarını düzenleyen, gelişmesini sağlayan, kemik ve diş oluşumunda önemli yeri olan bir gıda maddesidir (Şimşek ve diğ., 2005).

Son yıllarda gıda güvenliği ve halk sağlığı konularında toplumda oluşan bilinç süt kalitesine olan ilgiyi arttırmıştır. (Schaik ve diğ., 2002). Bu nedenle süt endüstrisinde süt içindeki maddelerin bileşim tayinleri, ilaç veya herhangi bir kimyasal madde kalıntı tayinleri büyük önem taşımaktadır.

Süt hayvancılığında etiket yönergeleri takip edilmeden ve hastalık kontrolünde gereksiz sık sık antibiyotik kullanımı, sütteki veteriner ilaç kalıntılarının önemli kaynaklarıdır. Bu ilaç kalıntılarının varlığı küçük miktarlara bakılmaksızın, aşırı hassas kişilerde alerjik reaksiyonlar gibi yan etkileri ya da kanserojen gibi diğer uzun vadeli sağlık sorunlarını tetikleyebilir. Bu antibiyotik atıklarına uzun süre maruz kalmak, ilaca karşı dirençli bakterilerin artışına da sebep olmaktadır. Bu nedenle insanların tükettiği sütün güvenliğini kontrol etmek için antibiyotik kalıntılarının izlenmesi çok önemlidir. Düzenlenmiş seviyelerin altındaki tüm ilaç kalıntılarını algılamada, etkili izleme programının spesifik, hassas ve güvenilir bir analiz yöntemi olması gereklidir.

Gıdalarda antibiyotik kalıntılarının belirlenmesinde geçmiş yıllarda çeşitli tekniklerinden yararlanılmıştır. Sulfonamidler, tetrasiklinler,  $\beta$ -laktam, makrolidler, amfenikol, streptomisin ve amino-glikozidlerin tespit edilmesinde Charm II testi yaygın olarak kullanılmıştır (Bogdanov, 2003; Morlot ve Beaune, 2003). Tetrasensor (unisensor) metodu ile ballarda bulunan tetrasiklin kalıntıları hızlı bir şekilde tespit edilebilmiştir (Reybroeck ve diğ., 2007). Wang ve diğ. (2009), aminoglikozid grubunda olan neomisin domuz eti, tavuk eti, yumurta, balık ve böbrekte bıraktığı kalıntıları izlemede ELISA analizinden, doğrulamada HPLC'den faydalanmışlardır. HPLC yöntemi yaygın olarak kullanılmıştır. Bunun yanı sıra LC-UV tekniği ve kapillar elektroforez (CE) uygulamaları gibi yöntemler de kullanılabilir (Blasco ve diğ., 2009 ;Yibar ve Soyutemiz, 2013).

Çeşitli gıda maddelerinde antibiyotik kalıntı analizleri için HPLC-UV Horne ve diğ. (1996), LC-MS McCracken ve Kennedy (1997) ve LC-MS/MS Leitner ve diğ., (2001); Khong ve diğ. (2004); Yibar ve diğ. (2012) gibi birkaç metot da kullanılmaktadır. En son teknolojilerden biri olan LC-MS/MS yöntemi, diğer methodlara göre daha spesifik, güvenilir ve hassas bir yöntem olup hem kantitatif hemde kalitatif sonuç verebilmekte ayrıca istenilen maksimum kalıntı limitlerinin çok çok altında kalıntıyı tespit edebilmektedir.

Birçok ülkede ve ülkemizde antibiyotikler diğer mikroorganizmaların gelişimini engellemek veya öldürmek, farklı antimikrobiyal, antibiyotik ve sülfonamid benzeri kemoterapötik ajanlar hayvan hastalıklarının önlenmesi, hayvanların gelişimini desteklemek, yemlerin yararlarını arttırmak amacıyla kullanılmaktadır (Velioğlu, 2006; Alkan, 2007). Hastalıkları iyileştirmek amacıyla çeşitli süt veren hayvanlara uygulanan antibiyotikler hayvanın süt kanallarına geçer. Bu antibiyotiklerin bir kısmı dokular tarafından tutulurken, büyük bir kısmı sütle dışarı çıkar. Sütte bulunan antibiyotik kalıntıları insan sağlığı açısından ciddi sorunlar oluşturmaktadır. Bazı antibiyotik kalıntıları çeşitli allerjik reaksiyonlara neden olmakta, bu allerjik etkiler çeşitli organlara hasara ve allejiye karşı oluşan şoktan ölüme kadar değişik etkileri olan zehirlenmelere yol açabilmektedir (Bakırcı ve Akyüz, 1996; Yaygın, 1999). Ayrıca süt ve süt ürünlerinden alınan antibiyotiklerin vücutta birikmesi bazı antibiyotik suşlarının bu antibiyotiğe karşı direnç meydana getirmekte, bu durum antibiyotiklerin insan sağlığındaki tedavisindeki etkinliğinin azalmasına neden olmaktadır (Uysal ve diğ., 1995).

Bu çalışmada sütte bulunan antibiyotik kalıntılarının insan sağlığı açısından ciddi sorunlar oluşturabileceği göz önünde bulundurularak, İstanbul piyasasında çeşitli marketlerde satışa sunulan UHT, pastörize sütler ile çeşitli mahalelerde satılan çiğ süt örneklerinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kalıntıları aranmıştır. Süt örnekleri ileri analiz tekniği olan LC-MS/MS yöntemiyle analiz edilmiş, Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği Mevzuatı'daki maksimum kalıntı limitleri dikkate alınmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sütün Tanımı ve Özellikleri

Süt, kendine özgü tad, koku ve kıvamda sarımsı beyaz renkli olan, dişi memeli hayvanların meme bezlerinden salgılanan, hemen hemen tüm besin öğelerini yeterli ve dengeli bir şekilde bünyesinde bulunduran gıda maddesidir. Yeni doğmuş bir bebeğin en eksiksiz besini süt olduğu gibi hasta bir insanın ilk besini yine süt veya süttten yapılmış maddelerdir. Sütün kimyasal bileşimi Çizelge 2.1 de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.1** :Sütün Enerji ve Besin Değerleri (100 g) (Ünal ve Besler, 2008)

Bileşen	Yağlı	Az yağlı	Yağsız
Su (g)	87.9	89.2	90.8
Enerji (kcal)	61	50	35
Protein (g)	3.3	3.3	3.4
Yağ (g)	3.3	1.9	0.2
Karbonhidrat (g)	4.7	4.8	4.9
Kül (g)	0.7	0.7	0.8
Kalsiyum (mg)	119	122	123
Demir (mg)	0.1	0.1	0
Fosfor (mg)	93	95	101
Potasyum (mg)	152	154	166
Sodyum (mg)	49	50	52
Vit.A ve Karoten (IU)	126	205	204
Tiamin (mg)	0.04	0.04	0.04
Riboflavin (mg)	0.16	0.17	0.14
Niasin (mg)	0.1	0.1	0.1
Vit. C (mg)	1	1	1

Sütün proteinlerinin vücutta bilinen büyümeye ve gelişmeye katkısı, doku farklılaşmalarındaki etkinliğinin yanı sıra; kalsiyum emilimi ve immün fonksiyonlar üzerine olumlu etkilerinin olduğu, kan basıncını ve kanser riskini azalttığı, vücut ağırlığının kontrolünde etkin olduğu, diş çürüklerine karşı koruyucu olduğu bilinmektedir.

Yüksek kalitede protein içeren inek sütünün ortalama %3-3.5'i proteindir. İnek sütü proteini; kazein, whey proteinleri başta olmak üzere enzimler ve az miktarda nitrojen içeren protein olmayan bileşiklerden oluşan heterojen bir karışımdır. Toplam proteinin yaklaşık % 80 kazein (% 8'inorganik maddeler , %92'si protetindir), %20'si ise whey proteininden oluşmaktadır. Löysin, izolöysin, valin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan, lizin gibi elzem amino asit içeriği yüksek olan süt proteini, kaliteli protein olarak kabul edilmekte ve besinlerdeki protein kalitesinin değerlendirilmesinde standart referans olarak kullanılmaktadır (Ünal ve Besler, 2008).

Laktoz, doğada sadece sütte bulunur ve sütün tek karbonhidratıdır. Probiyotik özellikte bulunan tek şekerdir. Laktoz bugün süt teknolojisi gelişmiş ülkelerde peynir altı suyundan elde edilmektedir. Laktoz, glikoz ile mukayese edildiğinde, daha az tatlı, daha düşük osmotik basınca ve daha yavaş absorpsiyon hızına sahip olduğu görülmüştür (Tarakçı ve Küçüköner, 2005).

Doğada sadece sütte bulunan laktozun insan beslenmesindeki yararları aşağıdaki şekilde özetlenebilir (Ünal ve Besler, 2008).

- Enerji verir,
- Yapıda yer alan galaktoz beyin-sinir dokularının gelişiminde aktiftir.
- Bağırsaklarda istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engeller ve tipik barsak florasını geliştirici etki yapar.
- Vücudun kalsiyum ve fosfordan daha iyi yararlanmasını sağlar. Bu nedenle kemik ve diş oluşumunda, bebeklerin beslenmesinde önemli rol oynar.

Süt ile birlikte alınan laktozun bağırsaklardan emilmesi için laktaz enzimi tarafından parçalanması gerekmektedir. Laktaz ince bağırsak yüzeyinde bulunmaktadır. İnce bağırsakta yeterli seviyelerde laktaz enzimi üretilmediğinde laktaz enzimi yetersizliği sebebiyle, laktoz intoleransı ortaya çıkmaktadır. Laktoz intoleransının belirtileri, aşırı gaz, bulantı ve sulu ishaldir. Laktoz intoleransı gösteren kişilerin süt yerine fermente süt ürünlerini tüketmeleri önerilmektedir (Gürsoy ve diğ.,2005).

Sütün önemli bileşenlerinden birisi olan yağ ise enerji kaynağıdır. Yağda eriyen vitaminlerin (A, D, E, K) iletimini ve laktozun en iyi şekilde kullanımını sağlar.



Süt yağındaki fosfolipitler, beyin ve sinir hücrelerinin hayati önem taşıyan kısımlarını oluşturur. Süt yağı, vücut için gerekli olan doymamış yağ asitlerini bünyesinde bulundurmasından dolayı beslenmede önemli fonksiyonları bulunmaktadır (Ünal ve Besler, 2008).

Sütün yapısında insan sağlığı için önemli olan hemen hemen tüm vitaminler yer almaktadır. Yağda eriyen vitaminler süt yağı ile ilişkili olarak sütte bulunmaktadır. Süt yağına sarımsı rengi veren içerisindeki karotenoidler ve floresan rengini veren riboflavindir. Süt yağının miktarı azaldıkça yağda eriyen vitamin miktarı da azalmaktadır.

Türkiye de açık sütler ile ilgili yapılan bir araştırmada, vitamin değerlerinin beklenenden düşük olduğu belirlenmiştir. On dakikalık kaynatmanın tiamin, riboflavin, niasin, B12 ve folik asit vitaminlerinde kayıplara neden olduğu bilinmektedir. Bunu önlemek için kaynama süresinin azaltılması gerekmektedir. Fakat bu süre; süt içerisindeki hastalık yapabilecek mikroorganizmalarının yok edilmesi için yeterli olacaktır. Bu nedenle ilgili kurum ve kuruluşların öngördüğü üzere; açıkta kontrolsüz olarak satılan sütlerin hiçbir koşulda tüketilmemesi gerekmektedir (Ünal ve Besler, 2008).

Süt kalsiyum, fosfor, magnezyum, potasyum, çinko, gibi mineraller için iyi bir kaynaktır. Ancak demir içeriği ve demir biyoyararlılığı açısından düşüktür (Ünal ve Besler, 2008).

## **2.2. Çiğ Sütün İşlenmesi**

Son yıllarda özellikle dünya nüfusunun artmasıyla beraber gıdaların uzun süre kullanılması ve artan talebi karşılaması amacıyla gıdalara çeşitli işlemler uygulanmaktadır. Süt de bu gıdalardan biridir. İşlenmiş içme sütleri, fabrikalarda süzülme, yabancı maddelerden temizlenme, istenmeyen kokuların alınması (deoderizasyon), standardizasyon ve homojenizasyon işlemlerinden geçmektedir (Walstra, 1999; Valero ve diğ., 2001).

Piyasada pastörize ve uzun ömürlü olmak üzere iki farklı işlenmiş süt türü bulunmaktadır.

Çiğ sütün, 100°C 'nin altında patojenlerin tamamını öldürecek, toplam bakteri sayısında yaklaşık %95-99,5 oranında inhibisyon sağlayacak sürede ısı işleme tutulması pastörizasyon olarak tanımlanır. Bu işlemde hedef mikroorganizma *Coxiella burnetti* bakterisini yok etmektir.

Bu mikroorganizma sıcaklığa en dayanıklı organizmadır. Pastörize sütler, doğal ve biyolojik özelliklerine zarar vermeden patojen bakterilerin tamamı ve diğer bakterilerin büyük bir çoğunluğu yok edilip soğutma işlemi uygulanarak dayanıklılığı arttırılmış sütlerdir. Soğukta muhafaza edilmek şartıyla saklanma süreleri iki gündür (Altun ve diğ., 2002; Metin, 2012).

Uzun ömürlü sütler, tüketici tarafından kutu, sterilize ve UHT olarak bilinmektedir. Teknolojik olarak bu işlemin 135-150°C'de 2-6 saniye tutularak sütün bozulmasına sebep olan ve hastalık yapan etkenlerin tümü elemine edilerek elde edilen bir içme sütü çeşididir (Üçüncü, 2005). UHT işlemi, sütün tamamen hijyenik bir ortamdan sağlıklı bir şekilde tüketicilere ulaşmasını ve evlerde korunmasını sağlar. UHT işlemi sonucunda yağın, laktozun ve tuz minerallerinin besleyici özelliğinde bir değişme olmaz, ancak proteinlerin ve vitaminlerin besleyici değerinde marjinal değişimler meydana gelir. Sütün içerdiği proteinlerin %80'i kazeindir ve kazein üzerinde UHT işleminin hiçbir etkisi yoktur. Geri kalan %20 oranındaki protein ise, kesilmiş süt suyu proteini, başka bir deyişle serum proteinlerdir. Ancak serum proteinlerinin doğal yapısındaki kayıp, proteinin fiziksel durumunda meydana gelir; yani suda çözünürlük özelliğini kaybeder. Bu ise, besin değerinden bir kayıp anlamına gelmez, tersine sindirimi kolaylaştırır (Altun ve diğ., 2002).

UHT sözcüğü ultra-heat treatment (ultra ısı işlemi) veya ultra high temperature (ultra yüksek sıcaklık) anlamına gelmektedir. Modern bir UHT tesisinde, süt, kapalı bir sistemde dolaşarak ön ısıtma, yüksek ısı işlemi, homojenizasyon, soğutma ve aseptik olarak paketlenme aşamalarından geçer. Kapalı sistemde pompalanan süt ilk olarak 80°C'lik ön ısıtma aşamasından geçirilir. Daha sonra 2 ile 6 saniye süre doğrudan buhar enjeksiyon yöntemi ile 135-150 °C de ısıtılır. Hızla oda sıcaklığına soğutulan süt, her türlü dış etkiye kapalı sistemlerde dolunu gerçekleştirilerek hiçbir katkı maddesi kullanılmadan aseptik olarak paketlenir. Teknolojisi gereği soğuk zincire gerek kalmadan 4 ay kadar bozulmadan muhafaza edilebilir (Altun ve diğ., 2002).

### **2.3. Sütte Sağlığa Zararlı Etken ve Maddeler**

Bir çok yerel süt çiftliklerindeki kötü hijyen koşulları nedeniyle, ineklerin memelerinde ülser ve yaralar oluşmaktadır. Bu durum sığır mastitisi olarak bilinmektedir. Mastitis önleme yöntemlerinin en önemlilerinden biri memeleri dezenfekte etmektir. Meme hijyeni, memede önemli miktardaki mikroorganizmanın var olduğu kirleri uzaklaştırmak için, memenin sağımdan önce ön temizliğiyle başlar.

Daha sonraki aşama olan memenin gerçek dezenfeksiyonu, memenin dezenfektan çözeltilisine daldırılmasıyla veya bu çözeltilinin püskürtülmesi yolu ile yerine getirilmektedir.

Bu yolla meme yüzeyindeki mikrobiyal flora azaltılmakta ve dolayısı ile sürü içindeki bulaşma oranı da düşmektedir. Veterinerlikte ve çiftliklerde yaygın olarak kabul görmüş sınırlı sayıda meme başı ve deri dezenfektanları bulunmaktadır. Bu yolla meme yüzeyindeki mikrobiyal flora azaltılmakta ve dolayısı ile sürü içindeki bulaşma oranı da düşmektedir. Veterinerlikte ve çiftliklerde yaygın olarak kabul görmüş sınırlı sayıda meme başı ve deri dezenfektanları bulunmaktadır (Karagözlü ve Karagözlü, 2004). Deterjan ve dezenfektanların ürünlere bulaşmasının asıl sebebi yetersiz drenaj koşulları, son durulamanın yeterli olarak sağlanamaması ve deterjan, dezenfektan kalıntılarının ekipman yüzeylerinde bulunması neden olmaktadır. Örneğin iyodofor çözeltilerinin bünyesindeki iyot özellikle lastik conta benzeri aksamlar tarafından absorbe edilmekte ve daha sonra lastik yüzeylerle temas eden sıcak süt iyot bileşiklerini çözmekte ve süte iyot bileşikleri bulaşmaktadır. Süt ve süt mamullerindei deterjan ve dezenfektanların miktarları 2 ppm'den daha az olduğu belirtilmiştir. Bazen daha yüksek miktarlarına da rastlanabildiği çalışmalarla kanıtlanmıştır (Maris, 1998). Sağım öncesi, sağım sırasında kullanılan meme başı ve deri dezenfektanları sağım sırasında dezenfekte edilen meme suyla çalkalansa bile sütte kalıntı nedeni olabilmektedir. Sütteki iyot varlığı esas olarak hayvan yemlerinden ve hayvanların iyot içeren ilaçlarla tedavisinden kaynaklanmaktadır. Memenin daldırma yöntemi ile dezenfeksiyonunda iyodofor bileşikleri ile dezenfekte edildiği veya sağım makinalarının iyodoforlar ile muamelesi neticesinde gözenekli yüzeyler tarafından iyodofor bileşenlerinin absorpsiyonu sütteki dezenfektan kaynaklı bulaşmanın kaynağını oluşturmaktadır. Söz konusu bu bulaşma sütteki iyot konsantrasyonunun 20-50 µg/l arttırdığı söylenmiştir (Hemling ve diğ., 2004). Araştırmalarda bulunan dezenfektan madde kalıntılarının miktarları genellikle 2 ppm'den daha azdır. Bu düzey toksik ya da öldürücü doz olarak belirtilen 0.5–3.0 g/l'nin oldukça altında bulunmaktadır. Bu nedenle süt veya süt ürünlerinin tüketimi insanlar için genellikle zehirlenme riski taşımamaktadır. Ancak yine de söz konusu maddeleri düşük seviyelerde içeren sütlerin tüketiminin uzun dönemde etkisinin ne olacağı tam olarak bilinmemektedir (Karagözlü ve Karagözlü, 2004).

Genellikle antibiyotikler mastitis tedavisi ve kontrolünün sağlanması amacıyla kullanılmaktadır (Mitchell ve diğ., 1998; Suhren ve Beukers, 1998). Sütteki antibiyotik kalıntısı, antibiyotikler ile tedavi gerektiren ve süt sığırlarında en çok görülen mastitis hastalığının tedavisinde çoğu ülkede kullanılan penisilin, tetrasiklinler, sulfonamideler, kloramfenikol gibi kimyasalların süte geçmesi ile ortaya çıkar. Bu şekilde antibiyotik içeren sütler, süt teknolojisinde bazı mamullerin yapımı esnasında problemlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Ayrıca bu maddeler, hayvanların etinde ve sütünde bıraktıkları kalıntılarla halk sağlığına zarar verdikleri gibi ekonomik yönden de kayıplara neden olmaktadır. Özellikle son yıllarda sütte antibiyotik mevcudiyeti, kalıntı testlerinin düzenli şekilde gerçekleştirildiği ülkelerde dikkati çekecek miktarlarda azaldığı görülmüştür (Güley ve Akbulut, 2000).

Antibiyotiklerin süte geçme oranlarını etkileyen bazı faktörler vardır. Bunları aşağıdaki özetlenmektedir (Bakırcı ve Akyüz, 1996).

- İlaç uygulamadan sonra önerilen bekleme sürelerine uyulmaması
- İlaçlı yemlerin fazla miktarda ve sıkça kullanılması
- Yanlış, aşırı dozda ve amaç dışı ilaç kullanımı
- Önceden antibiyotik kalıntısı ile kontamine olmuş süt alet ve ekipmanların kullanımı

## **2.4. Antibiyotikler**

### **2.4.1. Antibiyotiklerin tanımı ve etki mekanizması**

Antibiyotik, bakterileri inhibe eden veya öldüren doğal olarak bulunan maddedir. Günümüzde antibiyotiklerin çoğunun sentetik ya da semisentetik yöntemlerle elde edilmesi mümkün olduğundan, antibiyotik terimi tedavide kullanılan kemoterapötik ve antibiyotik niteliğindeki maddeler için genel bir ad olarak kullanılır. Antibiyotiklerin infeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılması 17. yüzyıldan itibaren başlamıştır. Bu tür tedavilerin bilimsel bir temele oturması, bu yüzyılın başında Paul Ehrlich'in "seçici toksik etki" kavramını ortaya atması ile olmuştur. Antimikrobiyal tedavi 1935 yılında Domogk'un sulfamidleri tedavide kullanmasıyla gelişme safhasına girmiştir. 1929'da Fleming'in gözlemlendiği ve 1940'da Chain ve Flarey'in *Penicillium notatum*'dan elde ettiği bir maddenin mikroorganizmalar üzerine öldürücü etkisi ile antibiyotikler tedavide yer almaya başlamıştır (Tekin, 2014).

Bütün bakterilerde yavaş gelişme, hızlı gelişme ve dinlenme dönemlerinden oluşan üç çoğalma devresi vardır. Antibiyotikler bakterilerin hızlı ve yavaş gelişme dönemlerinde etki gösterirler. Bu etkileşim bakterilerinin öldürülmesine (bakterisid etki) ya da gelişimini ve üremesinin durdurulması (bakteriostatik etki) şeklinde olur.

Örneğin penisilinler, aminoglikozidler, sefalosporinler, vankomisin, florokinolonlar ve basitrasin bakterisid etkiye, tetrasiklinler, makrolidler ve sülfonamidler bakteriostatik etkiye sahiptirler. Antibiyotikler, etki spektrumlarına göre ise dar ve geniş spektrumlu antibiyotikler olarak da sınıflandırılırlar.

Bu sınıflandırmaya göre doğal penisilinler, izoniazid, nistatin ve polimiksin dar spektruma, sentetik ve semisentetik penisilinler, tetrasiklinler ve sülfonamidler ise geniş spektruma sahip antibiyotiklerdir.

Geniş spektrumlu antibiyotikler saha şartlarında çalışan veteriner hekimler tarafından daha çok tercih edilmektedir. Fakat bu grup antibiyotiklerin enfeksiyonlar gibi istenmeyen etkilere neden olabileceği de unutulmamalıdır (Akkan ve Karaca,2003).

#### **2.4.2. Antibiyotiklerin sınıflandırılması**

Antibiyotikleri etki mekanizmalarına ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadır.

Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler aşağıdaki şekilde gruplandırılmaktadır (Tekin, 2014).

- 1) Hücre duvarı sentezini engelleyenler,
- 2) Protein sentezini engelleyenler,
- 3) Nükleik asitlere etki edenler,
- 4) İntermediyer metabolizmayı bozanlar.

##### **2.4.2.1. Hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotikler**

İçinde bulunan oluşumların yarattığı hücre içi basınca dayanan bakteri duvarının yapımı dört basamakta gerçekleşir. İlk olarak N-asetil glikozamin (NAG) ve uridin N-asetil muramik asit (NAM) alt birimleri oluşur. Daha sonra NAM'ın yan zincirleri oluşur. Bunu takiben, uzun zincirler oluşturacak şekilde bir yapılanma gerçekleşir. Son olarak da zincirler birbirlerine sıkı sıkıya bağlanarak bakteri hücre duvarını oluşturur. Bu basamakların herhangi bir üzerindeki olumsuz bir etki, bakterinin hücre duvarını oluşmasını engeller ve bakteri ölür (Wiles ve diğ., 2010).

Hücre duvarı sentezini engelleyen antibiyotikler, kimyasal yapıları içinde bir beta laktam halkası içerdiklerinden genel olarak "beta laktamlar" olarak adlandırılırlar. Hücre duvarındaki belli proteinlere bağlanarak, hücre duvarının devamlılığı için süregelen sentezi durdururlar. Bunun sonucunda bakteri şeklini kaybederek ölür. Bu yüzden beta laktamlar, hücre duvarı olmayan bakterilere etkisizdir. Temel olarak üç gruba ayrılırlar:

- Penisilinler
- Sefalosporinler
- Penisilinler ve beta laktamaz kombinasyonları.

### **Penisilinler**

Penisilin, *Penicillium chrysogenum* adı verilen bir mantar türü tarafından üretilir. Doğal penisilinler *stafilokoklara* ve *streptokoklara* etkilidir. Ancak son yıllarda bu antibiyotiklere karşı "beta laktamaz enzimi" üreten bakteri suşları çoğaldığı için tedavilerdeki kullanımları sınırlanmıştır. Beta laktamaz enzimi, beta laktamları yok eder. Aminopenisilinler ise doğal penisilinden laboratuvarda elde edilen yarı sentetik antibiyotiklerdir. Ampisilin, Amolsisilin ve Bakampisilin, aminopenisilin türleridir (Papich ve Riviere, 2009).

### **Sefalosporinler**

Sefalosporinler, *Sefalosporium* adı verilen bir tür mantardan elde edilen beta laktamlardır. Genel olarak penisiline oranla beta laktamazlara daha dayanıklıdırlar. Günümüzde tedaviye giriş zamanlarına ve etki mekanizmalarına göre 1.kuşak (Sefazolin Sefalotin, Sefadroksil, Sefalekssin, Sefradin) 2. kuşak (Sefoksitin, Sefuroksim, Sefaklor, Sefuroksim aksetil) 3. kuşak (Sefiksım, Sefotaksım, Seftizoksım, Seftriakson, Moksalaktam, Sefoperazon, Seftazidim) ve 4. Kuşak (Sefepim) olarak sınıflandırılırlar (Papich ve Riviere, 2009).

### **Penisilinler ve beta laktamaz kombinasyonları**

Beta laktam adı verilen bu antibiyotiklerin beta laktamaz enzimi tarafından yok edilerek, antibiyotiğin etkisinin azaldığı görülmüştür. Bunun sonucunda beta laktam (antibiyotik) ile beta laktamaz inhibitörleri (yani enzimin antibiyotiği yok etmemesi için enzimi engelleyen maddeler) bir arada kullanılmaya başlanmıştır. Ampisilin+sulbaktam, amoksisilin+klavulanat bu kombinasyona örnek verilebilir (Papich ve Riviere, 2009).

#### 2.4.2.2. Protein Sentezini Engelleyen Antibiyotikler

Bu antibiyotikler, bakteride protein sentezini sağlayan ribozomların çeşitli bölgelerine bağlanarak, bakterinin büyümesi ve yaşaması için gerekli proteinlerin yapımını engellerler. Bu gruptaki antibiyotik aileleri şunlardır:

- Makrolidler
- Aminoglikozidler
- Tetrasiklinler
- Linkozamidler
- Kloramfenikol

#### Makrolidler

Makrolidler *Streptomyces* türleri tarafından üretilen benzer kimyasal yapılara sahip antibiyotiklerdir. Tüm makrolidler, bir veya birden fazla şeker bağlı olan makrosiklik lakton halkası içerirler.

1952 yılında Filipinler'de topraktan üretilen *Streptomyces erythraus*'tan ilk makrolid olan eritromisin elde edilmiştir. Eritromisin, Klaritromisin, Azitromisin makrolid türlerine örnek verilebilir. Makrolidler yan etkiler açısından günümüzde en güvenilir antibiyotik grubudur (Bekele ve Gebeyehu, 2012).

#### Linkozamidler

İlk keşfedilen linkozamid linkomisindir. linkomisin, bir toprak numunesinden *Streptomyces lincolnensis* bakterisinin izole edilmesiyle bulunmuştur. Ribozomların aynı bölgesine bağlandıklarından makrolidler ile kullanıldığında antagonistik (makrolidlerin etkisini gölgeleyici) etki gösterirler. Linkomisin, Klidamisin linkozamidler türündendir (Tenson ve diğ., 2003).

#### 2.4.2.3. Nükleik Asitlere Etki Eden Antibiyotikler

Nükleik asitlere etki eden bu antibiyotik grubuna "kinolonlar" denir. DNA giraz adı verilen bir enzimi inhibe ederek DNA'nın üretimini engellerler. Sentez yoluyla elde edilirler.

Günümüzde kullanılan 3. kuşak kinolonlara florokinolon da denir. 3. kuşak kinolonlardan en sık kullanılanlar: Ofloksasin, Siprofloksasin, Norfloksasin ve Levofloksasin'dir. Florokinolonlar spektrumları geniş olduğundan, bağırsak florasını bozabilirler (Leblebicioğlu, 2002).

#### 2.4.2.4. İntermediyer Metabolizmayı Bozanlar

Bakterilerin hayatta kalması için gereken enzimlerin çalışmasını engellemek, bakteriyi öldürmenin bir başka yoludur. Bu mekanizmayla etki gösteren antibiyotikler, bakteri içindeki bazı enzimlerin görevini engelleyerek önemli moleküllerin yapımını durdurur. Bu şekilde bakterinin metabolizması için gerekli olan bir maddenin sentezini önlerler (Şenel, 2011; Martinez ve Silley, 2010). Bu gruptaki antibiyotikler şunlardır;

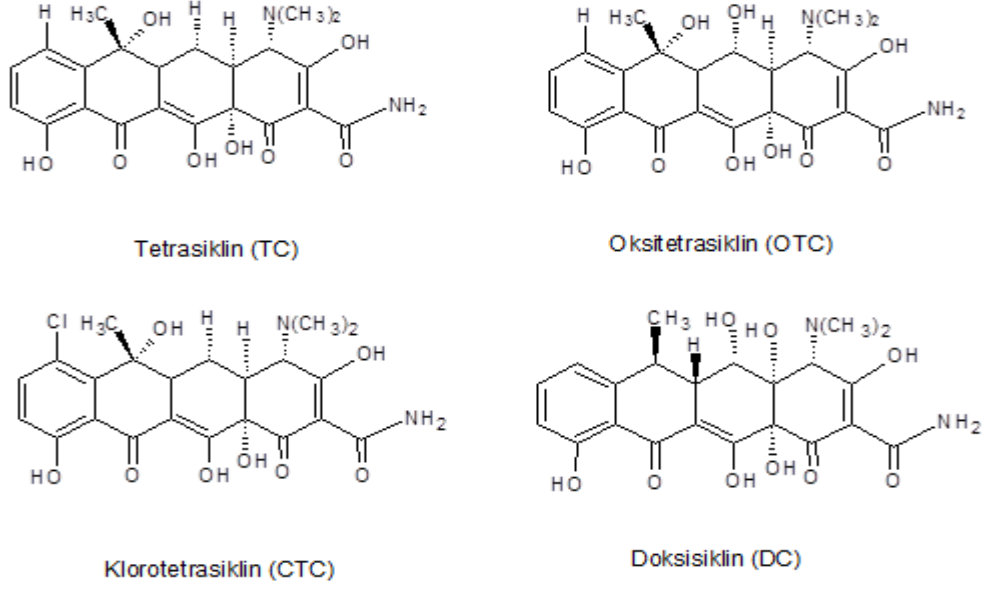
- Sulfonamidler
- Sulfonlar
- Trimetoprim
- PAS (Paraaminosalisilik asid)
- İzoniazid (INH)
- Etambutol

#### 2.4.3. Tetrasiklin grubu antibiyotikler

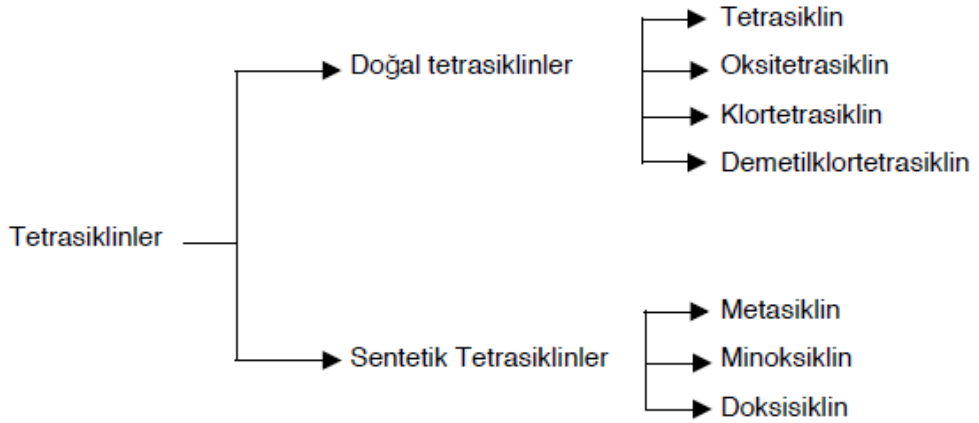
Kimyasal yapılarında dört halka bulunan, en geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Bakteri ribozomlarında 50 S alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe ederler, bakteriyostatik ilaçlardır. Selektiviteleri en az olan antibiyotiklerdir. Memeli hücreesindeki ribozomlarda da protein sentezini inhibe ederler. Mide-barsak kanalından absorpsiyonları iyidir fakat absorpsiyonları besinlerle azalır. Özellikle kalsiyumdan zengin sütlü yiyecekler, iki ve üç değerli metal bileşikler (Ca, Fe, Zn, Al, Mg) tetrasiklinlerle şelat yapar ve onları çöktürerek inaktive ederler (Papich ve Riviere, 2009). Şekil 2.1'de tetrasiklin yapılarına örnekler gösterilmiştir.

Tetrasiklinler genellikle insanlar için gıda üretiminde kullanılan hayvanların yemlerine ilave edilmektedir, özellikle bal arılarında kullanılmaktadır. Ancak tetrasiklin kalıntılarının hayvansal ürünlerde birikme ihtimali vardır ve bu nedenle insanlar tarafından tüketilebilmektedir. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) etin içinde TC, OTC ve CTC birleşik artık miktarını 2 mg / kg 'da olarak tanımlamıştır. Avrupa Topluluğu (EC) ise tüketicileri TC artıklarından koruma amacıyla bal için 10 µg/kg, et ve süt için ise 100 µg/kg maksimum sınır miktarlarını önermiştir (Xua ve diğ., 2008). Şekil 2.2 de tetrasiklin çeşitleri gösterilmiştir.





**Şekil 2.1:** Tetrasiklin Grubu Antibiyotiklerin Yapıları (Cingi ve diğ.,1996)

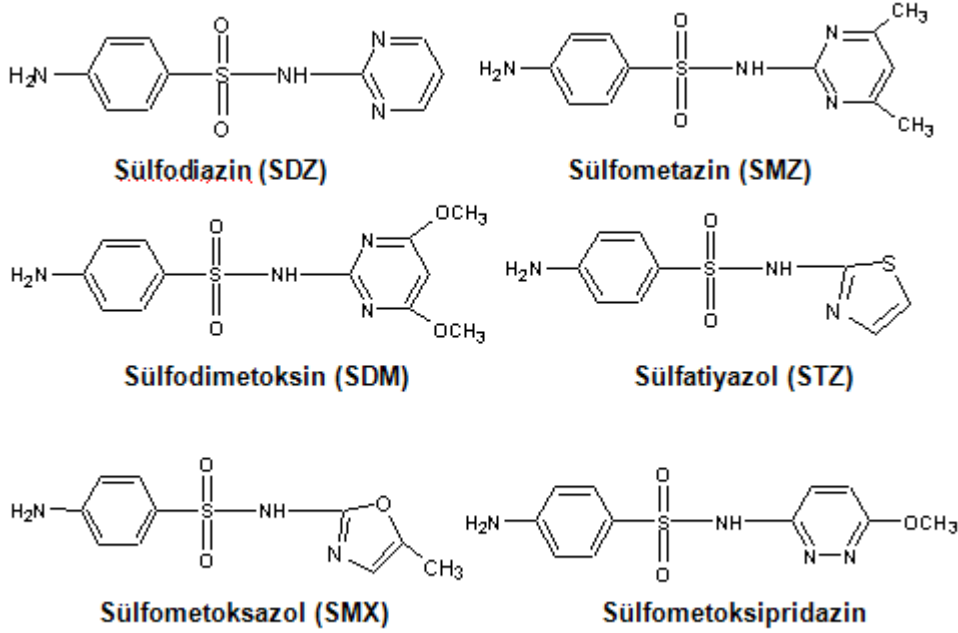


**Şekil 2.2:** Tetrasiklin Çeşitleri (Cingi ve diğ., 1996)

#### 2.4.4 Sülfonamid grubu antibiyotikler

Sülfonamidler, sentetik antibakteriyel bileşiklerin büyük bir kısmını oluştururlar. Sülfonamidlerin kimyasal yapısını bir benzen halkasına bağlanan -NH<sub>2</sub> grubu ve (-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) sülfonamid grubu oluşturmaktadır. Amid azotuna bağlanan gruplar bileşiğin farmakokinetiğini ve etki gücünü değiştirirler. Heterosiklik bir grubun bağlanması etkili sülfonamid türevini oluşturur, Bu nedenle en etkili yapı sülfatiazol ve sülfadiazinde görülür.

Sülfonamid grupları genel olarak suda hemen hemen hiç çözünmeyen ve ışıkta kararlı, beyaz renkli, kokusuz toz kristaller halinde bulunurlar. Işığa duyarlı olsalar da dayanıklı yapılardır. Toz ve çözelti halinde ısıtılarak mikropsuzlaştırılabilirler (Kahle ve Stamm, 2007; Karcı, 2008). Şekil 2.3'te bazı sülfonamid gruplarının yapıları gösterilmiştir.



**Şekil 2.3:** Sülfonamid grubu antibiyotiklerin yapıları (Cingi ve diğ., 1996)

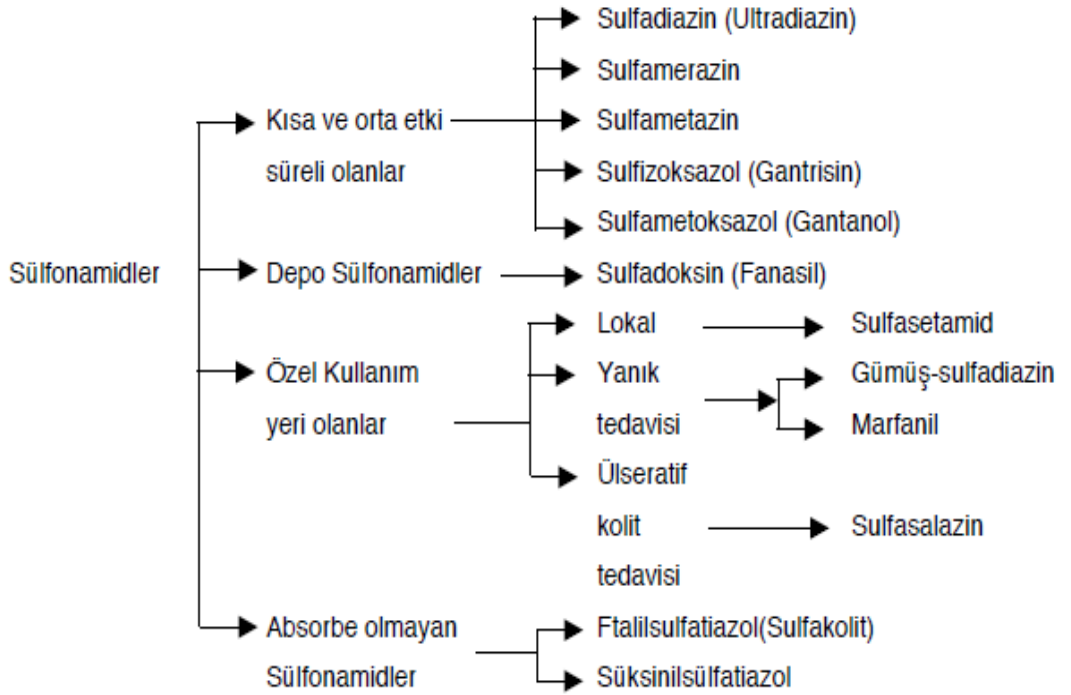
Sülfonamidler çevre pH değerine bağlı olarak katyonik, nötr ya da anyonik olarak üç farklı halde ortamda bulunabilir. Bir zwitter iyon formu nötral formla birlikte tautomerik dengede bulunur. Bu zwitter iyon yapısı ortamdaki sülfonamidlerin küçük bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu bileşikler amfoteriklerdir ve iki pKa değeri ile karakterize edilirler. Amfoterik karakterde olmalarına rağmen genellikle zayıf asit olarak işlev görürler. Sülfonamidlerin güçlü asidik veya bazik çözeltilerle tuz oluşturdukları bilinmektedir (Thiele, 2003). Sodyumlu tuzları ana bileşiklere göre suda daha iyi çözünür ve şiddetli alkali tepkime verirler. Ağır metal katyonlarla kompleks oluşturabilirler. Sülfonamidlerin antibakteriyel aktivitesi kendi anilin grubu ile karakterize edilir(Karcı, 2008).

Sülfonamidler para-aminobenzoik asidin (PABA) yapısal olarak benzerleri ve aynı zamanda yarışmalı olarak ona zıt hareket etmeleri sebebiyle PABA'nın kullanımını engelleyerek folik asit sentezlenmesini önlerler (Campbell, 1999). Sonuçta "purin bazlarının sentezi yapılamaz ve bakterilerde DNA ve RNA sentezleri bozulur.

Bakteriler folik asidi kendileri sentezler oysa insan hücreleri folik aside geçirendir, besinler içinden alırlar. Bu nedenle sülfonamidler insan hücresinde etkili olmazlar (Campbell, 1999).

Sülfonamidler genellikle tedavi amacıyla ve koruyucu olarak çiftlik hayvan yemlerinde ve balık kültürlerinde kullanılmaktadırlar.

Ayrıca bunlar büyümeyi destekleyen maddelerdir. Avrupa Birliği düzenlemelerinin yanısıra Amerikan düzenlemeleri de vücuttaki maksimum sülfonamid kalıntı miktarını 100 µg/kg olarak sınırlandırmıştır. Sütteki düzenleme seviyesi ise 10 µg/kg'dır. Şekil 2.4'te sülfonamidlerin çeşitleri gösterilmiştir.



**Şekil 2.4:** Sülfonamid Çeşitleri (Cingi ve diğ., 1996)

## 2.5. Gıda Maddelerinde Antibiyotik Kalıntıları ve Halk Sağlığı

Hayvansal gıda maddelerinde ilaç kalıntılarının görülmesinin çeşitli sebepleri bulunmaktadır. Bu nedenler, vücutta yarı ömrü kısa olmayan ve birikmelere neden olan antibiyotiklerin hayvan tedavisinde kullanımı, hatalı ilaç uygulanması, etiket bilgileri dışında ve ya ruhsatsız ilaçların kullanılması, ilaçların karıştırılması ve yedirilmesinde yapılan hatalar örnek olarak verilebilir (Karaçal, 2004). İlaç ya da kimyasal madde verilmiş hayvanlarda ilacın vücuttan arınma süresine uyulmadan hayvanın kesilmesi ve ya sütünün sağılması da kalıntılara neden olmaktadır.

Örneğin süt hayvanlarında kullanılan ilaçlarda herhangi bir bilgi yoksa sağaltımı izleyen 7 gün boyunca alınan sütlerin tüketime sunulmaması gerekmektedir (Kaya ve Ünsal, 2000).

Veteriner hekimliğinde genellikle kullanılan antibiyotikler;  $\beta$ -laktam (penisillinler ve sefalosporinler), tetrasiklin grubu, kloramfenikol, makrolidler, spektinomisin, linkozamid, sulfonamid, nitrofuran, nitroimidazol, trimethoprim, polimiksin, kinolon ve makrosiklik (Ansamisin, glikopeptidler ve aminoglikozidler) grupları olarak görülmektedir (Chafer ve diğ., 2010). Antibiyotik kalıntılarının insanlar üzerinde yaptığı olumsuz etkilere birkaç örnek verilirse; enrofloksasinin gibi kinolon grubu antibiyotiklerin gıda patojenlerinde antibiyotik dirençliliğini artırması, penisilinlerin kızarıklık, ürtiker ve ileri düzeyde bir anaflaktik şok oluşturması, kloramfenikolün geri dönüşümsüz kan anomalilerine yol açması ve nitrofuranın da özellikle teratojenik etkileri, aminoglikozidlerin nefrotoksisite özelliği ve sülfametazinin tiroid hiperplazisi şekillendirmesi gibi etkileri sayılabilir (Erol, 2007). Ayrıca bakterilerde protein sentezini engelleyen oksitetrasiklin ve kloramfenikol gibi antibakteriyel ilaçlar memeli lenfositlerinde de protein sentezini engelleyerek bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olur. Bunun sonucunda uzun süreli antibiyotik kalıntısı içeren gıdaların tüketimine maruz kalan kişide enfeksiyon tehlikesi gözlenebilir (Şanlı, 1994).

## 2.6. Sütlerde Antibiyotik Kalıntıları

Sistemik hastalıklar ve mastitiste sağmal hayvanlara uygulanan ilaçlar, arınma süresi döneminde yüksek miktarda antibiyotik kalıntısını içerir. Bunun sonucunda da süt ve süt ürünlerinin diğer hayvansal ürünlere göre antibiyotiklerle kirlenme olasılığını artırır. Özellikle çocuk ve bebeklerin beslenmesinde önemli yeri olan sütte antibiyotik kalıntılarının varlığı zehirlenmelere neden olabilmektedir.

Sindirim kanalından hızla emilen tetrasiklinlerin kemik dokuya ve sinir sistemine birikme eğilimi göstermesi sonucu büyümede gecikmeye, yetişkinlerde ise sinirsel bozukluklara ve immuno-toksisiteye sebep olabilmektedir (Şanlı ve diğ., 1991).

Antibiyotik kalıntısı içeren sütlerdeki kalıntı, kaynatma veya pastörizasyon işlemleriyle ortadan kaldırılamamaktadır. Süt ve ürünlerindeki ilaç kalıntılarının yıkımlanması için, uzun süreli kaynatma işlemlerinin uygulanması da protein ve vitaminlerde yıkımlanmaya neden olacağından, geçerli yöntemler olarak değerlendirilmemektedir (Geçer, 2006).

İspaya'da yapılan bir çalışmaya ( Cristina ve diğ., 2010) göre, 90 adet inek sütü, 65 adet büyük baş hayvan etinde makrolid antibiyotik kalıntıları aranmıştır. Bu çalışmanın sonucuna göre 90 süt örneğinin 44'ünde tilmicosin, tylosin, spiramycin, lincomycin antibiyotik kalıntısı gözlenmiştir.

Çin' de yapılan çalışmada (Han ve diğ., 2013) ise, 25 farklı şehirden, çeşitli marketlerden 180 adet UHT süt numuneleri toplanmış antibiyotik kalıntıları araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre; tetrasikliler hariç sulfamethazin, sulfonamid ve quinolon antibiyotik seviyeleri yüksek olduğu saptanmıştır.

Hırvatistan da yapılan bir çalışmaya göre (Nina ve diğ., 2011) şu sonuçlar elde edilmiştir.Üç yıl boyunca toplamda 1259 adet pastörize edilmemiş sütlerde çeşitli antibiyotikler (kloramfenikol, penisilin, tetrasiklin, sulfonamid, beta-laktam,quinolonlar) araştırılmıştır.Bu araştırmalar mikrobiyal ve immunoasay yöntemle yapılmıştır.Mikrobiyal taramaya göre; 36 örnekte pozitif sonuç, immunoasay yöntemle de bir pozitif sonuç edilmiştir.Daha sonra da HPLC metoduyla doğrulama yapılmıştır. Bu çalışmaya göre, iki örnekte maksimum kalıntı limitinin üzerinde antibiyotik kalıntısı bulunmuş, bu antibiyotikler, 12 µg/kg penisilin, 19 µg/kg amoksisilin, 1671 µg/kg tetrasiklin olarak belirlenmiştir.

Türkiye 'de de sütteki antibiyotik kalıntılarını belirlemede çeşitli çalışmalar yapılmıştır. En önemli ve kapsamlı bir çalışma olan Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın koordinatörlüğünde çeşitli illerde bulunun Kontrol ve Araştırma Enstitüsü ile İl Kontrol Laboratuvarları tarafından yürütülen gıdalarda veteriner ilaç kalıntı düzeylerinin belirlenmesine yönelik çalışmadır. Bu çalışmada 3084 süt örneğinde penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol kalıntıları incelenmiş olup sütlerin 377 'sinde (%12) pozitif bulguya saptanmıştır (Anonim, 2005).

Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından yapılan izleme planı çerçevesinde yapılan bazı analizlere göre, 2000 yılında süt örneklerinin % 24'ünde B-laktam ve % 8'inde sülfanamid içerdiği bildirilmiştir. 2003 yılında yapılan izleme planına göre ise 194 süt örneğinin 21 tanesinde, 2004 yılındaki analiz sonuçlarına göre ise 185 süt örneğinin % 14'ünde B-laktam bulunduğu tespit edilmiştir (Anonim, 2005).

Ankara'da 1987 yılında yapılan çalışmaya göre (Ceyhan ve Bozkurt,1987) Ankara piyasasında satılan 100 çiğ süt, 50 pastörize süt, 50 adet UHT süt olmak üzere toplam 200 süt örneğinde antibiyotik kalıntısı aranmıştır. Sütlerin % 5,5'inde penisilin yönünden pozitif bulgular elde edilmiştir.

Bir diğer araştırma ise Konya'da 1992 yılında yapılmıştır. Konya 'da faaliyet gösteren çeşitli mandıra ve süt işletmelerinden getirilen 50 adet çiğ süt örneklerinde HPLC yöntemi ile penisilin G, ampisilin ve penisilin V kalıntıları araştırılmış, 6 süt örneğinde antibiyotik kalıntısı saptamıştır (Demet ve diğ., 1992).

Bursa 'da 2001 yılında yapılan çalışmaya göre (Dokuzlu ve Tayyar, 2001) Bursa ve çevresindeki çiğ sütlerde antibiyotik kalıntı varlığını belirlenmesi amacıyla 150 çiğ süt örneği agar ve interest yöntemiyle incelemiş, sütlerin % 18'sinde penisilin , % 7,3 'ünde tetrasiklin yönünden pozitif olduğu görülmüştür.

## **2.7. Sütlerde Antibiyotik Kalıntı Analizinde Kullanılan Yöntemler**

Süt gibi zengin bir matriste antibiyotik kalıntı seviyelerinin tespiti, iyi bir örnek hazırlama ve temizleme prosedürü gerektirmektedir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu (LLE) ve katı faz ekstraksiyonu (SPE) gibi numune hazırlama prosedürleri yaygın olarak eş zamanlı ekstraksiyon ve temizlemede kullanılmaktadır. Ancak, çalışma ve çevresel ilgi kolaylığı nedeniyle, SPE LLE üzerinde giderek popülerlik kazanmıştır (Koesukwiwat ve diğ., 2007). Süt ve hayvan dokuları gibi çeşitli matrislerde bulunan sülfonamid analizleri için C8, C18 iyonlarını içeren ortak absorbanlar ve iyon değiştiriciler kullanılmıştır. Aynı zamanda sütte ve hayvansal dokularda bulunan tetrasiklin analizleri için ise katı faz ekstraksiyonu (SPE) uygulanmıştır (Cavaliere ve diğ., 2003). Son zamanlarda, hidrofilik-lipofilik dengesi (HLB) gibi çift kalite polimerik katı faz adsorbanların kullanılabilirliği, biyolojik, çevresel gıda analitlerinin temizlenmesini ve eş zamanlı olarak zenginleştirilmesini de mümkün kılmıştır (Koesukwiwat ve diğ., 2007).

Sülfonamidler ve tetrasiklinler veteriner ilaçlarında sık sık kullanılan geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Bunlar genellikle süt sığırlarında bulaşıcı hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde, çiftlik hayvanlarının büyümeye teşvikinde yem katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır (Corcia ve Nazzari, 2002). Bu ilaçlar sıklıkla güçlendirilmiş etkileri ile kullanılır, çünkü sülfonamidler primetamin ile birlikte antibakteriyel bir potansiyel sergilerler (Boca ve diğ., 2005).

Gıdalarda sülfonamidleri ve tetrasiklinleri analiz etmek mümkündür. Mikrobiyolojik ve immünolojik analizler genel olarak hızlı tarama için kullanılır. Ancak bu teknikler, karmaşık oluşları, düşük duyarlılığı ve özgüllüğünden dolayı yarı kantitatif ölçümler için uygundur (Anderson ve diğ., 1995; Moats ve diğ., 1995).

UV ile kombine edilmiş LC, DAD ve FLD yüksek seçicilikleri, duyarlılıkları ve hassasiyetleri nedeniyle antibiyotiklerin belirlenmesi için cazip alternatif yöntemler olarak ortaya çıkmışlardır. Şu anda kütle spektrometresi (MS) tekniği, ilaç kalıntı seviyelerinin ölçümü ve LC için eş zamanlı, net tanımlama yeteneği nedeniyle son derece hassas bir algılama yöntemi olarak popülerlik kazanmıştır (Wen ve diğ., 2005; Shao ve diğ., 2005; Pang ve diğ., 2003; Astier ve diğ., 1997).

Tetrasiklin antibiyotikler geniş sığır mastitis tedavisinde kullanılır ve subteröpatik seviyesini önlemek için sığır yemlerine ilave edilir. LC, süt içerisindeki tetrasiklin kalıntılarını belirlemek için en sık kullanılan yöntemdir. Amfoterik yapıda bulunan tetrasiklinler asitler ve bazlar ile kristal tuz oluştururlar. UV spektrumları, asidik çözelti içinde 360 nm dalga boyunda güçlü bir absorpsiyon gösterir (Schencka ve Callery, 1998). Tetrasiklinler pik kuyruklanması ile sonuçlanan, silika bazlı LC durağan fazlarda silanol gruplarına geri dönüşümsüz olarak bağlanmaya eğilimlidirler. Bu sorun, LC kolonlarında polistiren-divinilbenzen kullanılarak ve mobil faza okzalik asid ilave edilerek aşılmıştır. Benzer şekilde süt eksterelerini temizlemek için C18 SPE kolonu kullanıldığında, silanoller ile bağlanmış olması düşük geri kazanımla sonuçlanmıştır (Thomas, 1998; Long ve diğ., 1990). Bu problemi önlemek için C18 SPE kolonu silillenmiş ya da EDTA ile ön işleme tabi tutulmuştur (Oka ve diğ., 1994). Tetrasiklinleri içeren süt eksterelerinin temizlenmesi için alternatif olarak, metal şelat kolonları, ultrafiltrasyon ve organik çözücüde ekstrakte edilmiş iyon eşleştirme ajanları kullanılmıştır (Fletouris ve diğ., 1990).

Sülfonamid kantitatif analizleri genellikle solvent uygulamasının ardından bir veya daha çok temizleme (clean-up) işlemini içermektedir. Geniş spektrumlu sülfonamidler için HPLC (Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi), TLC (İnce tabaka Kromatografisi), ELISA (Enzim Linkid Immune Sorbent Assay), biosensor ve mikrobiyolojik inhibisyon yöntemleri kullanılabilir. Bunların içinde HPLC sıklıkla kullanılan, çok duyarlı seçici olmasına karşın, oldukça zahmetli, yorucu ve pahalı analizlerdir (Wang ve diğ., 2006). Türevlendirici aracılığı ile GC-MS'de (Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi) de kantitatif analiz yapılabilir (Cannavan ve diğ., 1999). Fakat GC-MS için geniş bir ön numune ve analit türetme ihtiyacı oldukça zaman alıcı bir yöntemdir. LC-MS yöntemi ilk olarak yarış atlarının idrarında ve kan plazması içindeki sulfadimetoksin tayini için kullanılmıştır. Sülfonamid kalıntılarının analizinde kullanılan analitik yöntem ise daha çok UV deteksiyonlu LC methoduna dayanmaktadır. Bu yöntem temel hayvan dokularında ve insan tüketimi için süt içinde sülfonamid kalıntıları analizinde uygulanan yöntemdir (Niessen, 1998).

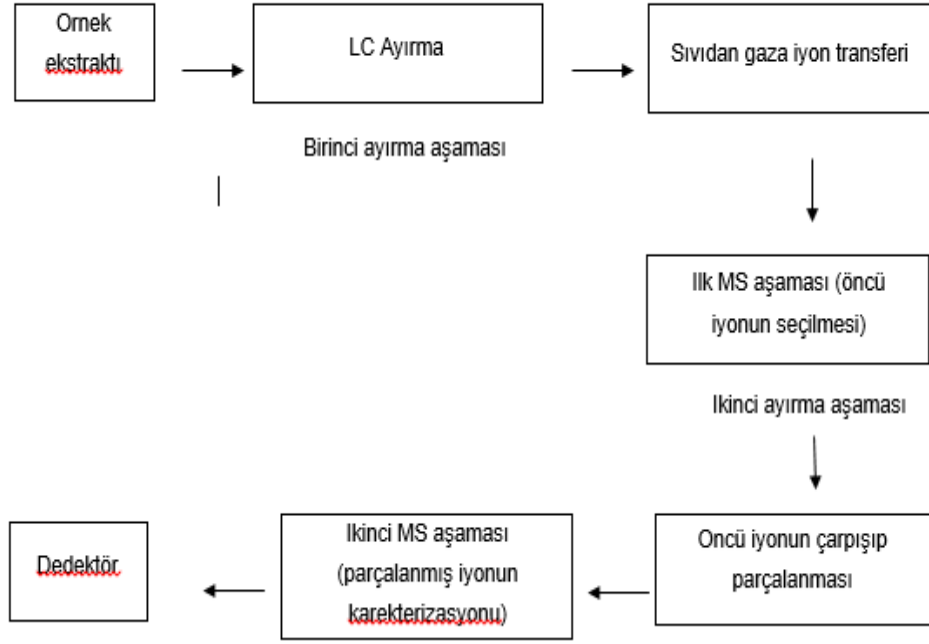
## **2.8.LC-MS/MS Metodu**

### **2.8.1. LC-MS/MS analiz temel ilkeleri**

LC-MS/MS tekniği seçici ve duyarlı olması nedeniyle karmaşık biyolojik karışımların çoklu bileşenlerinin eş zamanlı analizinde kullanılan en iyi yöntemlerden biridir. Biyolojik kompleks ekstraktlarının kromatografik olarak tek-tek yada çakışan bantlar şeklinde ayrılmasında LC, analizin ilk boyutudur.

Tam bir (baseline) LC ayrımı elde etmek zordur ama gerekirse analitteki bir miktar tayini LC-UV detektörü kullanılarak gerçekleştirilebilir. UV detektörleri düşük bileşik özgüllüğü ile karakterize edilir ve genellikle bir arada bulunan bileşiklerin ayrımı bu detektörlerle mümkün değildir. Buna karşılık LC-MS/MS, kütle filtresi olarak LC kolonu içeren kütle spektrometresi ile bileşiklerin ayrıştırılması tekniğidir. Kütle filtreleme yüksek seçiciliği nedeniyle bir arada bulunan farklı analit iyonlarının ayrışmasını sağlar. Böylece UV detektörüne göre üstün analiz özelliği gösterdiği söylenebilir. Çok sayıda kütle spektrometresi tasarımı ticari olarak temin edilebilmesine karşın, bu yorum analitlerin izleme düzeylerinin miktarı tayininde üçlü-dörtkutuplu kütle spektrometresinin son derece uygun bir tasarım olduğu tartışmasıyla sınırlı kalacaktır (Winnik ve Kitchin 2008). Şekil 2.5'de LC-MS/MS yönteminin aşamaları şematik olarak gösterilmiştir.





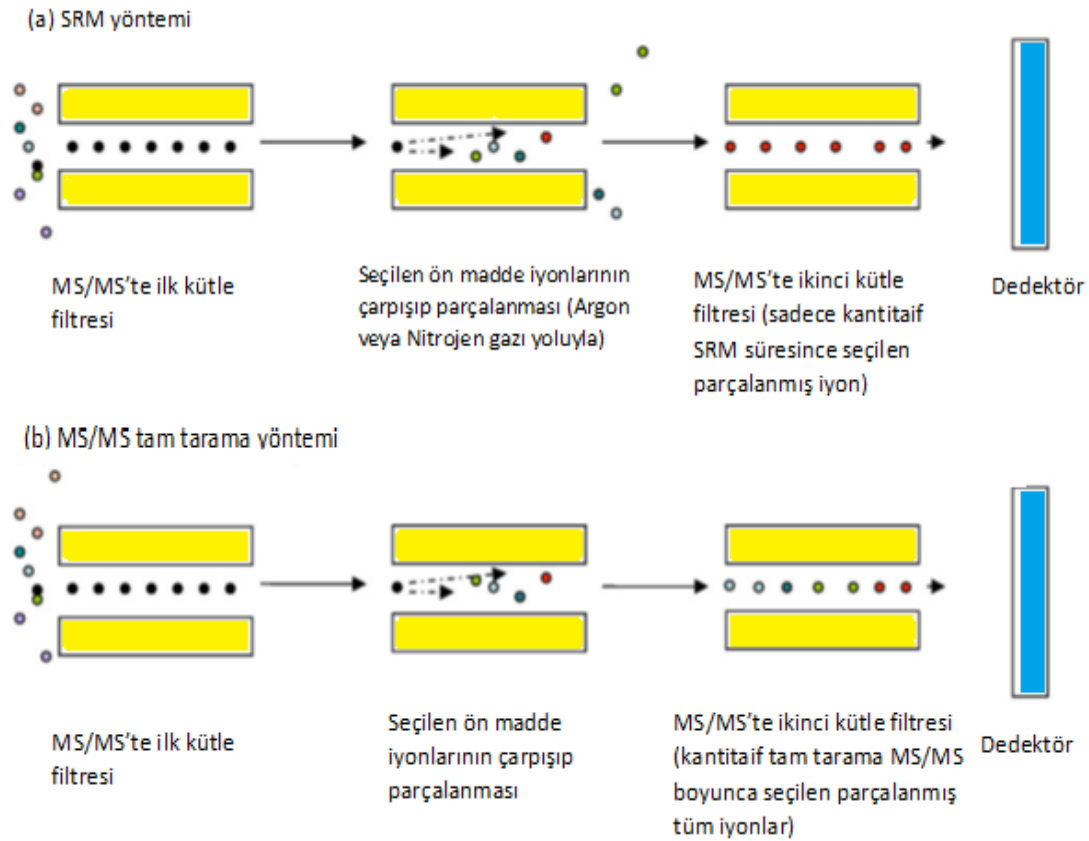
**Şekil 2.5:** LC-MS/MS'in öncü ürün iyonu belirlenmesindeki aşamaları

LC-MS/MS deneylerinde genellikle iki tarama yöntemi kullanılmaktadır, (a) ölçüm için seçilen iyonları izlemek amacıyla bir tarama çizelgesi (SRM) kullanılarak seçici reaksiyonun izlenmesi ve (b) MS/MS tam tarama ile kalitatif karakterizasyonun sağlanması. Her iki deneyde bir LC pik zaman skalası üzerinde birden fazla analit için ardışık olarak gerçekleştirilebilir. SRM tarama ancak öncü iyonlar ve belirli ürün iyonları ile ilgili odaklanmıştır.

Yani MS/MS tam tarama yönteminin aksine hedeflenen öncü iyonları izole eder, onları parçalar ve yapısal açıklamasını kolaylaştırmak için parçalanmış iyon kütlelerini ölçer. Ultra hassas SRM tarama sadece iyon miktarını analiz ederek zamanı verimli kullandığı için bu tarama yöntemi genellikle bir arada bulunan birden fazla bileşiğin düşük seviyelerinin miktar tayininde kullanılmaktadır. MS/MS tam tarama yöntemi ise tüm iyonları bulmak için geniş bir kütle aralığını taradığından zaman açısından aynı derecede verimli değildir. Analizin amacının belirlenmesinde ya da bileşik yapısının belirlenmesinde bu yöntem avantajlıdır. Yapı tayini, ürün iyonlarının belirlenen kütleleri ile bir kütle spektrumu kütüphanesindeki teorik bileşik iyon kütlelerini karşılaştırmak için veri sistemi yazılımı kullanılarak gerçekleştirilir. Bir analitin yapısal ispatı tamamlandıktan hemen sonra kantitatif SRM analizi gerçekleştirilebilir (Winnik ve Kitchin, 2008).

## 2.8.2. GC-MS/MS ve LC-MS/MS karşılaştırılması

GC-MS/MS birçok bileşiğin miktar tayininde kullanılan ana yöntemdir ve LC-MS/MS, GC-MS/MS 'e alternatif yeni bir yöntemdir. GC tabanlı teknikler genellikle GC kolonlarında ayrışması amacıyla uçucu olmayan bileşikleri yeterince uçucu hale getirmek için bir kimyasal türevlendirme aşaması gerektirmektedir. LC için çoğu analit ön türetme aşaması olmaksızın kolona verilebilmektedir. Türetme adımını atlama büyük numune hazırlama işlemini basitleştirir, örnek hacmini artırır ve aşırı numune işlemeden kaynaklanan oksidasyon yapılarının üretimini azaltır. Son zamanlarda LC-MS tekniğine daha küçük çaplı parçacıklarla dolu yüksek performanslı LC kolonlarının ve ultra yüksek basınçlı LC kromatograflarının (UPLC) katılmasıyla LC-MS/MS geliştirilmiştir. UPLC dik LC çözücü geçişlerini ve yüksek çözücü basıncını kullanarak analiz süresini azaltmaktadır (Winnik ve Kitchin, 2008).



**Şekil 2.6:** Tam tarama ve MS / MS seçici izleme reaksiyonu arasındaki farklar (Winnik ve Kitchin, 2008).

### 2.8.3. LC-MS/MS analizinin spesifikliği

LC-MS/MS yöntemi şu nedenlerden dolayı analizlerde mükemmel spesiflik sağlamaktadır;

- LC kolon ayrımı sağlar böylece LC kolondan analit geldiğinde miktar tayini ve analiz gerçekleştirilmiş olur.
- MS'in birinci aşamasında iyonların belirli bir kütle yük oranı ( $m/z$ ) seçilir. Örneğin pozitif yüklü glutatyon iyonunun kütle yük oranı  $m/z$  308 dir. Farklı  $m/z$  oranlı iyonlarının hepsi  $m/z$  detektörü tarafından dikkate alınmaz.
- MS/MS formatında seçilen öncü iyon, nötr kaybı ve daha düşük  $m/z$  oranı olan ürün iyonlarından parçalanan iyondur. Sonra bu ürün iyonlarının miktar tayini yapılmaktadır. Bu MS/MS analizinin spesifliğine bir kaynak ekler.

MS/MS formatı genellikle 2,3 basamak fazlalığıyla tek MS belirlemesine göre daha spesifiktir. Kütle parazitleri ( $m/z$  oranı aynı fakat farklı elementsel bileşime sahip iyonlar) istenen ön-madde iyonu ile birlikte seçildiğinde, sadece hedef iyon fragmanı ya da iyonların ölçülmesi için kullanılır. Bu ikinci MS aşamasının gelişmiş seçiciliğini açıklar.

Modern kütle spektrometresi genellikle alt kütle birimi çözünürlüğünü sağlayarak ilave bir özgünlük düzeyi sunar. Ve elektronik aletlerdeki gelişmeler yüksek kütle doğruluğu, MS dedektörleri için geliştirilmiş kararlılık ve daha hızlı yanıt süreleri sağlar. Yüksek çözme gücü ve kütle hassasiyeti bilim adamlarının karmaşık bir biyolojik matriksten gelen kirleticiler (kimyasal gürültü) ile hedef analit iyonları (sinyal) arasındaki ayrımı yapmalarını sağlar. Böylece özgüllük ve duyarlılığa etki eden sinyal/gürültü oranı artırır. Cihazların tarama hızı artmış ve tarama yöntemleri arasındaki geçiş süreleri büyük ölçüde azalmıştır. Birçok cihaz kontrol yazılım paketleri tam tarama MS ve MS/MS yöntemleri arasındaki geçişleri milisaniyede sağlamaktadır. Cihaz kontrol yazılımı otomatik olarak tam tarama kütle spektrumunda gözlenen bol iyonları seçer ve MS / MS öncü iyonlar için analizleri gerçekleştirir. Bu tür tarama yöntemleri arası otomatik geçişler, arka plan gürültüsü, analit sinyal eşikleri, kütle değerleri, tahmini metabolik veya dönüştürme sonrası modifikasyonlara göre hesaplanan uzaklıklar, LC tutma süreleri, sıralı UV detektörü sinyal eşikleri, izotop pik şekilleri ve analit başına elde edilecek MS /MS spektrumları tipi ve sayısı (tam tarama veya SRM) gibi özelliklerine göre bir analist tarafından yönlendirilir (Winnik ve Kitchin, 2008).

#### **2.8.4. LC-MS/MS cihazı**

##### **LC ve MS Ara Yüzeyi**

LC ve MS arasındaki ara yüzeyi geliştirmek önemli bir odak noktası olmuştur. Sıvı kromatografisi sıvı faz ayrılması için yüksek basınç kullanır ve yüksek bir gaz yükü üretir. Kütle spektrometresi bir vakum ve sınırlı bir gaz yükü gerektirir. Örneğin LC den gelen ortak akış sıvı fazda 1 ml/dak iken, gaz fazına dönüştüğünde bu 1 L/dak olmaktadır. Ancak, tipik bir kütle spektrometresi sadece yaklaşık 1 ml/dak gaz kabul edebilir. Bunun dışında LC ortam sıcaklığına yakın bir sıcaklıkta çalışır, MS ise yükseltilmiş bir sıcaklık gerektirmektedir. LC tarafından analiz numuneleri için hiçbir kütle aralığı sınırlaması yoktur ancak MS analizörü için sınırlamalar vardır. Son olarak LC de inorganik tamponlar kullanılır ve MS için uçucu tamponlar tercih edilir.

Atmosferik basınç iyonizasyon kaynaklarındaki son gelişmeler ile eski LC/MS tekniklerindeki moleküler ağırlık, örnek polarite ve akış hızı sınırlamaları genişletilmiştir (Anonim, 2001).

##### **Atmosferik Basınç İyonizasyonu**

Atmosferik basınç iyonizasyon (API) tekniği büyük ve küçük, polar ve polar olmayan kararsız bileşiklerin analizi için en uygun yumuşak iyonizasyon uygulamalarıdır. Bu teknikler, hızlı, hassas ve doğru moleküler ağırlık ve parçalanma bilgisini sağlayarak uçucu ve uçucu olmayan bileşiklerin geniş bir yelpazede kimliğini teyit etmek için kullanılabilir. API teknikleri birçok farmasötik bileşiklerin metabolit doğrulama analizinde ve diğer uygulamalarda kullanılabilir (Anonim,2001).

##### **Elektrosprey İyonizasyonu**

Uygulama:

Elektrosprey iyonizasyonu (ESI) proteinler, peptidler ve oligonükleotidleri gibi çok yüklü hale gelen örneklerin yanı sıra benzodiazepinler ve sülfatlı konjugatları gibi tek yüklü numuneleri de analiz etmek için kullanılan uygun bir yöntemdir. ESI birçok polimerler, peptidler, proteinler ve oligonükleotidlerin en fazla 150.000 Dalton hızlı ve yüksek doğruluk ile kütle molekül ağırlıklarını ölçmek için kullanılabilir. Biofarmasötik uygulamalarda, kimyagerler, protein karakterizasyonu hızlandırmak, doğru tespit ve post-translasyonel modifikasyonları karakterize etmek ve hızlı bir şekilde sentetik peptidlerin molekül ağırlığını teyid etmek için ESI kullanmaktadırlar.

Süreç:

ESI buharlaştırma ile takip eden bir iyonizasyon sürecidir. Bu üç temel adımda gerçekleşir;

1) Nebülizasyon ve yükleme

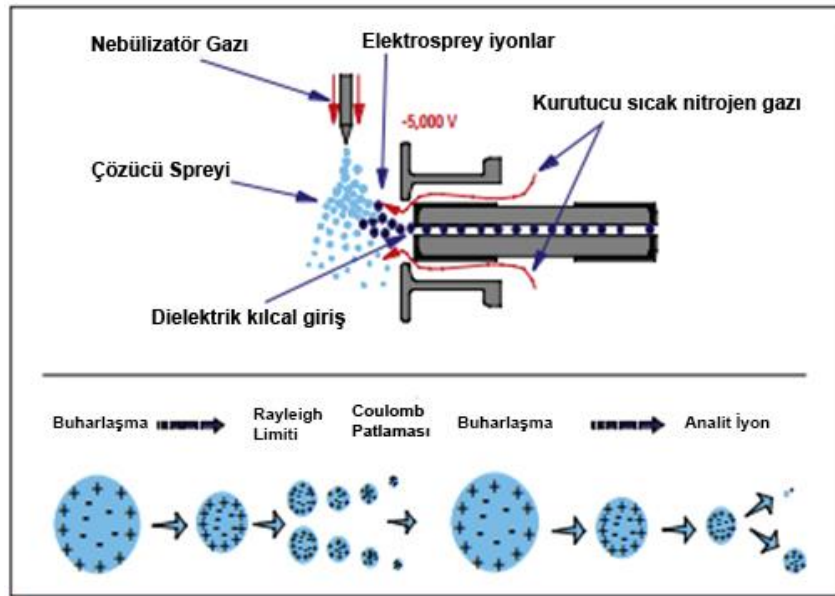
HPLC sıvısı potansiyeli sıfır olan nebulize edici bir iğne ile pompalanır. Püskürtme yüksek bir potansiyelde bir yarı-silindirik elektrottan geçer. İğne ve elektrot arasındaki potansiyel fark güçlü bir elektrik alanı oluşturur. Bu alanda sıvı yüzeyi yükü ve sprej formunda yüklenmiş damlacıklar oluşturmaktadır. Nebülizasyon sürecinde yardımcı bir gaz akışı vardır.

2) Desolvasyon

Yüklü damlacıklar kılcal örnekleme deliğine doğru çekilir. Isıtılmış azot gazıyla kurutma için bir karşı akım vardır bununla damlacıklar küçülür ve yüksüz malzemeyi uzağa taşır.

3) İyon buharlaşma

Damlalar küçüldükçe, elektrostatik (sütunsal) kuvvetleri kohezyon kuvvetlerini aşan bir noktaya yaklaşmaktadır. Analit iyonları en sonunda gaz fazına desorbe edilene kadar bu devam eder. Bu gaz-fazı iyonları iyon kaynağı ve kütle analizörü düşük basınçlı bölgeye kılcal numune alma deliği boyunca geçecektir. Şekil 2.7'de ESI yöntemi görülmektedir (Anonim, 2001).



Şekil 2.7: Elektrosprey iyonizasyonu (Anonim, 2001)

## Atmosferik Basınçta Kimyasal İyonizasyon

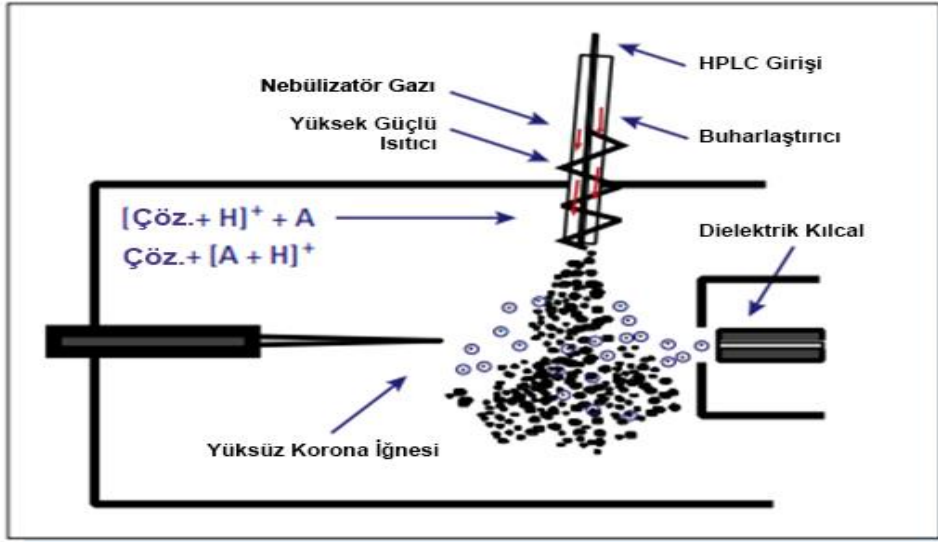
Uygulama: Atmosferik basınçta kimyasal iyonizasyon (APCI) orta moleküler ağırlığa sahip polar ve polar olmayan geniş bir analitler aralığının için geçerli olan bir iyonizasyon tekniğidir.

Süreç: APCI buharlaştırmanın ardından iyonizasyon işlemi olup, API-ES tamamlayıcısıdır.

Nebülizasyon ve desolvasyon: APCI nebülizasyonu ESI ile benzerdir. Bununla birlikte, APCI nebülizasyon sıcak (tipik olarak 250 ° C-400 ° C) buharlaştırma odası içinde meydana gelir. Isı hızla spreyl damlacıkları buharlaştırır ve gaz fazlı HPLC solvent ve analit molekülleri ile sonuçlanır.

İyonizasyon: Gaz fazlı çözücü molekülleri yüksüz bir Korona iğne ile iyonize edilir. GC/MS'deki kimyasal iyonizasyona benzer bir şekilde APCI'de de analit moleküller için iyonize solvent reaktif iyonlarından bir yük aktarma vardır.

Bu analit iyonları daha sonra filtre ve detektöre iyon optik yoluyla taşınmaktadır. Şekil 2.8'de APCI yöntemi gösterilmiştir (Anonim, 2001).



Şekil 2.8: Atmosferik basınçta kimyasal iyonizasyon (Anonim, 2001).

## Tarama ve Seçilmiş İyon İzleme (SIM)

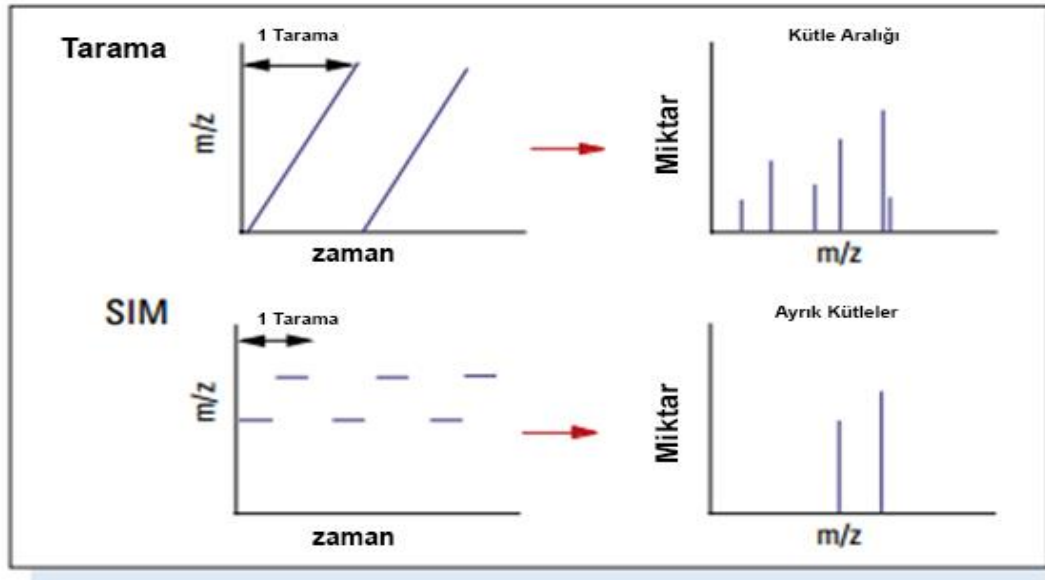
Tarama modu: Tarama modunda, araç kısa bir süre içinde (örneğin 2 sn) bir kütle aralığında sinyallerini algılar (örneğin 50-2000 m / z). Tarama süresi boyunca dar kütle periyotları içinde tam kütle aralığı kaplanana kadar MS elektronik sekans sinyalleri okunur.

Kaydedilen spektrum tam kütle aralığı için algılanmış sinyali temsil eder. Tam kütle spektrumları kaydedildiklerinden, işletimin bu modu, tipik olarak, nitel analiz için veya tüm analit kitlelerin önceden bilinmediğinde miktar tayini için seçilmiştir.

Örnekler infüzyon ya da HPLC ile kütle spektrometresi içine sokulabilir. Sonrasında pik genişliği ile tarama alanı eşleşmesi önemlidir. Dar pikler kısa bir toplam tarama süresi için en uygun pikler olarak tanımlanmalıdır. Toplam tarama süresini kısa almak için tarama aralığını azaltmak gerekebilir.

Seçilmiş iyon izleme (SIM) modu: Sürekli tarama yapmak yerine sadece birkaç kütle yük oranının ( $m/z$ ) izlenmesi ayarlanabilir. Sonuç olarak dört kutuplu, bir arada bulunan her örneğin  $m/z$  değerleri ve duyarlılığındaki büyük artışından dolayı önemli ölçüde daha fazla süre harcayabilmektedir. Ayrıca veri noktaları arasındaki döngü süresi genellikle tarama modunda daha kısa olduğu için, nicel hassas ve doğruluk optimum pik-şekil profili aracılığıyla geliştirilmiştir. Örneklenen  $m/z$  değerleri önceden ayarlanması gerektiği için, SIM genellikle hedef bileşik analizi için kullanılır. Birden fazla hedef bileşiklerin oluşturduğu analizler için SIM, iyon örnekleme seçimi zaman programı ile bileşik elüsyon zaman penceresi eşleşmesinde uygun olabilir.

Özel olan numune dışındaki  $m/z$  değerlerinin olmayan verileri toplanır böylece nadiren SIM nitel analizlerde de kullanılır. Şekil 2.9'da tarama ve SIM verileri gösterilmiştir (Anonim, 2001).



Şekil 2.9: Tarama ve SIM için elde edilen veriler (Anonim,2001).

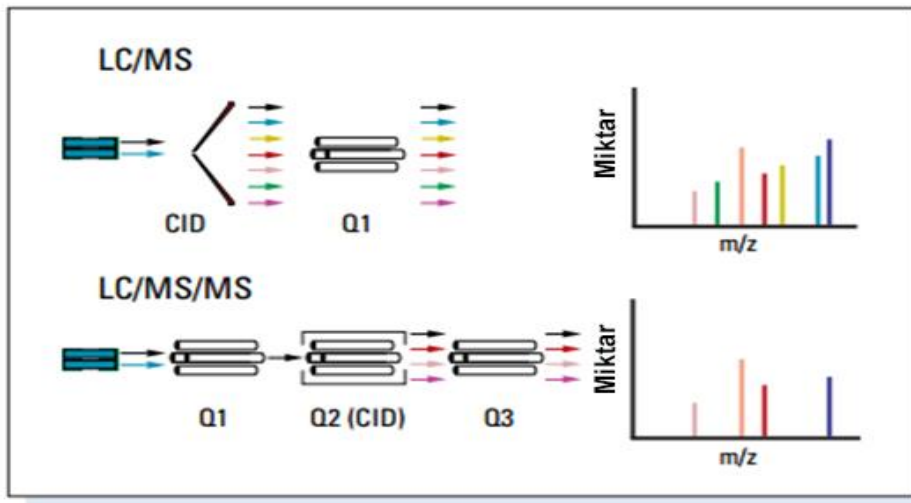
## Çarpışma-Kaynaklı Ayrılma (CID)

MS / MS ve diğer moleküller ile çarpışma sonucu parçalanacak iyonların formülü çarpışma kaynaklı ayrışma (CID) adı verilen bir işlemle gerçekleştirilir. Elektrosprey iyonizasyonu aynı zamanda tek dört kutuplu sistem ile CID spektrumu üretmek için kullanılabilir. Birçok durumda geleneksel üçlü dört kutuplu veya iyon tuzakları gerektiren çalışmalar için de tek bir dört kutuplu sistem kullanılabilir. Elektrosprey çok sayıda moleküler katkı maddesi iyonu üreten yumuşak iyonizasyon sistemidir.

Katkı maddesi iyonları, tipik olarak ana iyonlar gibi  $[M+H]^+$  protonlanmaktadır. Bu iyonlar lensler üzerine uygulanan gerilimler ile vakum bölgesine yönlendirilir. Gerilimini değiştirerek, çeşitli parçalanma dereceleri elde edilebilir. Düşük voltaj ile az parçalara ayrılma görülmektedir, yüksek gerilimlerle ise ana iyonunda daha büyük bir derecede parçalanma gözlenir. Elektro CID kullanımı bir üçlü dört kutupluya göre daha verimli aktarım göstermesinden dolayı avantajlıdır. Tek dört kutuplu kütle spektrometresinde CID uygulamasının bazı sınırlamaları vardır.

Bir üçlü dört kutupluda ya da iyon tuzağında, tek bir iyon seçilebilir ve bu iyon parçalanmış olabilir. Tek dört kutuplu bir alet ile uygulanan CID yönteminde ise iyon kaynağında fazla sayıda parçalanmış iyon olacaktır.

Bu diğer iyonlar analitin iyonlarıyla ilgili ek parçalanmaları engelleyebilir. Birçok durumda, bu sorun, analiti izole etmek için kromatografi geliştirerek çözülebilir. Şekil 2.10'da Tek dört kutupluda ve üçlü dört kutupluda uygulanan CID yöntemi gösterilmiştir (Anonim, 2001).



Şekil 2.10: Tek dört kutupluda ve üçlü dört kutupluda CID (Anonim, 2001).



### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Süt örnekleri

Çalışmada 26 Adet çiğ süt, 30 Adet pastörize süt, 93 adet UHT süt olmak üzere toplam 149 adet süt örneği incelenmiştir.Çiğ süt örnekleri İstanbul'daki sokak sütçülerinden temin edilmiştir.Pastörize sütler, yağlılık durumları dikkate alınarak çeşitli marketlerden orjinal ambalajı ile toplanmıştır. Pastörize süt örneklerinin firma ve yağ oranlarına göre dağılımı Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1:** Pastörize Süt Örneklerinin Dağılımı

Üretici firma	Tam Yağlı	Yağsız	Toplam
A	5	3	8
B	3	2	5
C	4	3	7
D	4	2	6
E	3	1	4
Toplam	19	11	30
(%)	(63,34)	(36,67)	(100)

Farklı markaya ait UHT süt örnekleri, üretim bölgesi ve yağlılık durumları dikkate alınarak İstanbul'daki çeşitli marketlerden temin edilmiştir. UHT süt örneklerinin bölgelere göre örnek sayılarının dağılımı Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.2 :**UHT Süt Örneklerinin Bölgelere Göre Dağılımı

Bölge	TamYağlı	Yarım Yağlı	Yağsız	Toplam
Marmara	12	11	12	35
Ege	9	15	8	32
İç Anadolu	14	5	7	26
Genel Toplam	35	31	27	93
	(%37,6)	(%33,4)	(%29)	(%100)

### 3.1.2. Kullanılan cihaz ve ekipmanlar

#### **Yüksek performanslı Sıvı Kromatografi kütle spektrometresi(LC-MS/MS Agilent 6460):**

- Mobil faz gaz giderici (Agilent 1200 serisi)
- LC pompa (Agilent 1200 serisi)
- Otomatik örnekleyici (Agilent 1200 serisi)
- Kolon ((Inertsil ODS-3 50 x 2.1 mm ID 3,0 µm partikül boyutlu- Metachem, California, ABD)

#### **Diğer Laboratuvar Araçları**

- Mikro pipetler 10–100 ve 100-1000 µl'lik (Eppendorf Research)
- Karıştırıcı (Heindolph Multi-Reax)
- pH metre (Metler Toledo )
- Santrifüj (Sigma )
- Vortex (Heindolph)
- Ultrasonik su banyosu (Bandelin sonorex)

### 3.1.3. Kullanılan kimyasallar

- Asetonitril, (LCMS saflıkta, Merck, 1.00029.2500)
- Metanol, (LCMS saflıkta, Merck, 1.06035.2500)
- Ultra saf su (PURELAB elga ultra)
- Amonyum format (Acros 401152500)
- Amonyum asetat (JT.Baker 0011)
- Sodyum klorür (Merck 1.06404.1000)
- Sülfadiazin analitik standart, (%99,7, Sigma Aldrich 35033)
- Sülfatiazol analitik standart, (%99,9, Sigma Aldrich 46902)
- Sülfamerazin analitik standart, (%99, Sigma Aldrich 46826)
- Sülfametazin analitik standart, (%99, Sigma Aldrich 46802)
- Sülfametaksazol analitik standart, (%99,9, Sigma, Aldrich 31737)
- Sülfadimetoksin analitik standart, (%98,5, Sigma Aldrich 46794)
- Sülfakinozalin analitik standart, (%96, Sigma Aldrich 45662)
- Sülfapiridin analitik standart, (%99,7, Sigma Aldrich 31738)
- Sülfadoksin analitik standart, (%99,9, Sigma Aldrich 31736)
- Sülfakloropiridazin analitik standart (%99, Sigma Aldrich 46778)
- Doksisisiklin analitik standart (%99,4 Sigma Aldrich 33429)

- Tetrasiklin analitik standart (%98 Sigma Aldrich T3258)
- Oksitetrasiklin analitik standart, (%98,1, Sigma Aldrich 46598)
- Klorotetrasiklin analitik standart ( %90, Sigma Aldrich 46133)

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Çözelti ve standartların hazırlanması

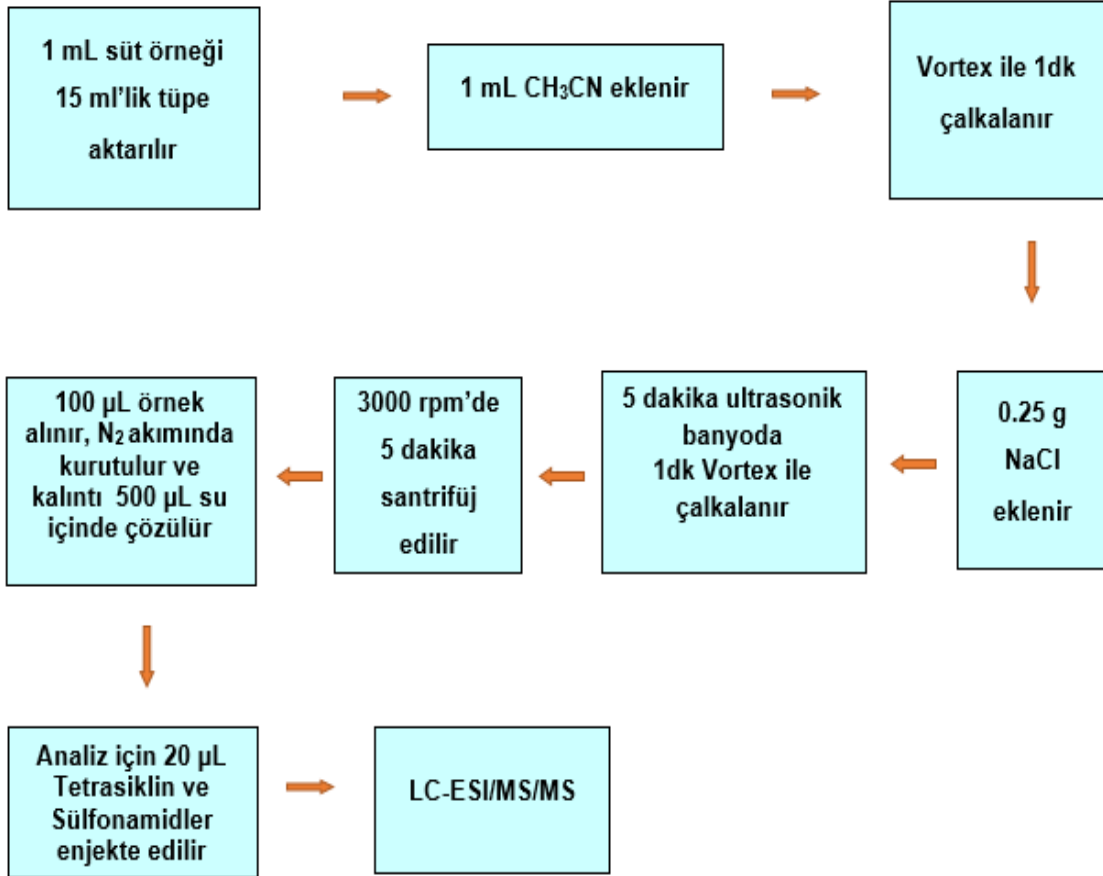
Her bir bileşiğin standart stok çözeltileri, asetonitril/su karışımı çözeltilisinde 5mg çözülerek 10 ml hacminde (%50'lik) hazırlanmıştır. Bu standart çözeltiler buzdolabında 2°C ile 8°C arasında saklanmıştır. Tüm sülfonamidleri içeren ara standart stok çözeltiler, 10 ml su içine, 1 µg/L ve 0,10 µg/L, tetrasiklin standartlarını içeren ara stok çözeltiler,10 ml su içine 1 µg/L, 0,10 µg/L ve 0,01 µg/L, konsantrasyonlarında olmak üzere gerekli hacimlerde eklenerek hazırlanmıştır. Bu stok çözelti, analitik standart eğri çözeltilisini hazırlanması (çözücü olarak su) ve örneklerin validasyonu amacıyla kullanılmıştır. Bütün bileşik karışımları içinde bulunan 100 ng/mL konsantrasyonunda metanol/su ve 2mmol / L amonyum asetat içeren bir infüzyon çözeltisi kütle spektrometresinin ayarlanması için kullanılmıştır (Junior ve diğ., 2007).

### 3.2.2. Süt örneklerinin analize hazırlanması

Numune hazırlanmasında Şekil 3.1'deki uygulama takip edilmiştir (Junior ve diğ., 2007). Kalibrasyon eğrisi yapılması için blank (boş) matrisi hazırlanmıştır. Bunun için içerisinde antibiyotik kalıntısı bulunmayan süt numunesi Şekil 3.1 deki gibi hazırlanmıştır. Elde edilen blank (boş) çözeltisi kullanılarak aşağıdaki Çizelge 3.2 deki gibi kalibrasyon standartları hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisi için kalibrasyon standart solüsyonlarının konsantrasyonları 0.5 µg/L, 1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 15 µg/L, 20 µg/L'lik standartlar olacak şekilde hazırlanarak cihaza enjekte edilmiştir. Enjeksiyon her solüsyon için 3'er tekrarlı yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi çizilerek standartların doğruluğu ve cihazın tekrarlı enjeksiyonlardaki performansı test edilmiştir. Her gün yapılan enjeksiyonlarda ise günlük olarak mobil faz ve 0,5 µg/L,1 µg/L, 5 µg/L, 10 µg/L, 15 µg/L, 20 µg/L'lik solüsyonlar cihaza enjekte edilerek 6 noktalı kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

**Çizelge 3.3 :Kalibrasyon Standart Çözeltisi**

Kalibrasyon Noktaları	Çalışma Standart Konsantrasyonları (µg/L)	Stok Solusyon Miktarı	Stok Solusyon Miktarı	Blank Solusyon Miktarı (µl)	Eklenecek Su miktarı (µl)	Son Hacim (µl)
		10 µg/L (µl)	100 µg/L (µl)			
1	0,5	50	-	800	150	1000
2	1	100	-	800	100	1000
3	5	-	50	800	150	1000
4	10	-	100	800	100	1000
5	15	-	150	800	50	1000
6	20	-	200	800	-	1000



**Şekil 3.1: Örneğin analiz aşamaları**

### 3.2.3. LC-ESI/MS/MS koşulları

- Akış hızı: 0.350ml/dk
- Enjeksiyon miktarı: 20 µL
- Analiz süresi: 10 dakika
- Pickering koşulları: Kolon ısısı: 25°C
- Mobil faz koşulları: Mobil Faz A: :%0.1 formik asit ve 2.5 mmol/L amonyum format içeren sulu çözelti, Mobil Faz B: :%0.1 formik asit ve 2.5 mmol/L amonyum format içeren %95'lik asetronitril/su çözeltisi.
- Mobil faz değişim programı Çizelge 3.4 de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.4** :Mobil faz değişim programı

Zaman (dakika)	Mobil faz A%	Mobil faz B%
0	80	20
5	5	95
7	5	95
8	80	20
10	80	20

Agilent 6460 LC-MS/MS üçlü dört kutuplu kütle spektrometresi (Agilent California, ABD), Çoklu Reaksiyon İzlenmesi (Multiple Reaction Monitoring) modunda gözlenen iki geçişlerle, her bileşik için kantitatif analiz ve onaylama amacıyla çalıştırılmıştır. Çizelge 3.5' de kullanılan MRM geçişlerinin optimize parametreleri gösterilmiştir. Elektrosprey kaynağı olarak iyonize bileşikler içindeki pozitif [M + H]<sup>+</sup> modla aynı analizde iki saat süre ile kullanılmıştır. Kapiler voltaj kaynağı +3000 V da, 400 ° C de 50 psi nebulizatör gazı,dakikada 11 ml olacak şekilde çalıştırılmıştır (Junior ve diğ., 2007).

**Çizelge 3.5 :MRM geçişlerinin optimize parametreleri**

Bileşikler	Geçişler(m/z)	ESI	FV	CE
Doksisiklin	445.0>428.0	+	120	14
	445.0>154.0			24
Tetrasiklin	445.0>410.0	+	120	12
	445.0>427.0			4
Oksitetrasiklin	461.0>426.0	+	120	13
	461.0>443.0			8
Klorotetrasiklin	479.0>444.0	+	120	15
	479.0>462.1			10
Sülfatiazol	256.0>155.9	+	120	10
	256.0>107.9			22
Sülfakinozalin	301.0>155.9	+	120	12
	301.0>107.9			26
Sülfapiridin	250.0>155.9	+	120	12
	250.1>184.0			14
Sülfametoksazol	254.0>155.9	+	120	10
	254.0>107.9			22
Sülfametazin	279.1>185.9	+	120	14
	279.1>124.0			24
Sülfamerazin	265.0>155.9	+	120	12
	265.0>171.9			12
Sülfadoksin	311.0>155.9	+	120	14
	311.0>107.9			26
Sülfadimetoksin	311.0>155.9	+	120	16
	311.0>107.9			28
Süldadiazin	251.0>155.9	+	120	10
	251.0>107.9			20
Sülfakloropiridazin	285.0>155.9	+	120	8
	285.0>107.9			22

(ESI:elektrosprey polaritesi, FV:iyon parçalama voltajı, CE:çarpışma enerjisi,)

#### **3.2.4. Metodun geçerlilik ve kesinliği**

Pik çıkış süreleri için, 4 gün boyunca cihaza verilen 5 µg/L, 10 µg/L, 15 µg/L, 20 µg/L olarak hazırlanan karışık standartların pik çıkış sürelerinin ortalamaları alınmıştır. Validasyon çalışması için 5 µg/L, 10 µg/L, 15 µg/L ve 20 µg/L antibiyotik karışık standart yüklü süt numunelerinden geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Geri kazanım çalışmaları 4 gün boyunca her konsantrasyondan ikişer tekrarlı toplam olarak 32 çalışma yapılmıştır. Ayrıca; 5 µg/L, 10µg/L 15 µg/L, 20 µg/L yüklü süt numunelerinden 2 farklı günde 6'şar tekrar toplam olarak 24 çalışma yapıp tekrarlanabilirlik hesaplanmıştır.

#### **3.2.5. Geri kazanım hesaplaması**

Geri kazanım hesaplaması için aşağıdaki formüle göre hesaplanır.

$$\% \text{ Geri kazanım} = (\text{Ölçülen değer} / \text{Yüklenen değer}) \times 100$$

#### **3.2.6. Gün içi tekrarlanabilirlik ve kesinlik**

Gün içi tekrarlanabilirlik ve kesinlik hesaplamasında sülfonamidler, ve tetrasiklinler 5 µg/L, 10µg/L, 15 µg/L, 20 µg/L seviyelerde 6'şar tekrar olmak üzere, toplam 24 çalışma yapılarak ölçülen yoğunlukların ortalamaları, standart sapmaları ve % standart sapmaları (Relatif standart sapma, RSD) hesaplanmıştır.

#### **3.2.7. Günler arası tekrarlanabilirlik ve kesinlik (tekrar üretilebilirlik)**

Günler arası tekrarlanabilirlik ve kesinlik için her etken madde için 5 µg/L, 10 µg/L, 15 µg/L ve 20 µg/L seviyede ölçülen yoğunluklarının farklı günlerdeki, ortalamaları, standart sapmaları ve % standart sapmaları (RSD) hesaplanmıştır.

#### **3.2.8. Tespit limiti (TL) ve değerlendirme limitinin (DL) hesaplanması**

Sülfanilamid ve tetrasiklin farmakolojik etkili maddelerinin, 20 ayrı çalışma yapılan 0,5 µg/L yüklü sütteki kalıntılarının, ölçülen yoğunluklarının standart sapmasının 3 katı dedeksiyon limiti, 10 katı ise değerlendirme limiti olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.9. Yöntem Doğrulama

Yöntemin doğrusallığı, sulu çözücüsü içinde tüm antibiyotikleri içeren standart çözeltilerden (n=6) LC-ESI/MS/MS analizi ile elde edilen analitik eğrileri ile belirlenmiştir. Geri kazanım çalışması dört farklı yüklü konsantrasyon seviyesi ve her bileşik için maksimum kalıntı düzeyleri (MRL) ile yapılmıştır. Geri kazanım ürünlerini elde etme işlemi için maksimum kalıntı düzeyindeki (MRL) altı adet yüklü örnek, 0.5xMRL seviyesindeki altı adet yüklü örnek, 1.5xMRL'de altı adet yüklü örnek 2.0xMRL'de altı adet yüklü örnek analizlerinden oluşmuştur (Junior ve diğ., 2007). Genel yöntem duyarlılığı, analitik yöntemi doğrulama işlemi için verilen yönergede (Bohm ve diğ., 2009) olduğu gibi karar sınırı ve algılama yeteneği şeklinde hesaplanmıştır.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Pik çıkış süreleri

Dört farklı günde cihaza verilen 5, 10, 15, 20 µg/L konsantrasyonda yüklü standartların ortalama çıkış zamanları hesaplanmıştır. Pikler, 1,80-2,96 arasında değişen zamanlarda çıkmıştır. Kesinlikleri 0,001-0,10 arasında değişmektedir (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1** :Standartların ortalama çıkış zamanları

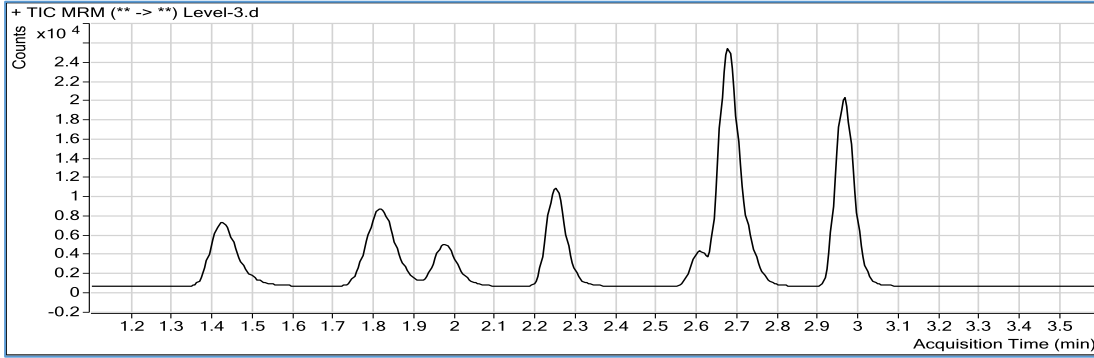
Analit	Standart Genel Ortalama Çıkış Zamanları (dk) ( $\pm$ Standart sapma)
Doksisiklin	2,50 $\pm$ 0,003
Tetrasiklin	2,50 $\pm$ 0,002
Oksitetrasiklin	2,51 $\pm$ 0,002
Klorotetrasiklin	2,76 $\pm$ 0,006
Sülfatiazol	1,80 $\pm$ 0,001
Sülfakinozalin	2,96 $\pm$ 0,007
Sülfapiridin	1,83 $\pm$ 0,010
Sülfametoksazol	2,73 $\pm$ 0,007
Sülfametazin	2,25 $\pm$ 0,006
Sülfamerazin	1,98 $\pm$ 0,009
Sülfadoksin	2,96 $\pm$ 0,007
Sülfadimetoksin	2,67 $\pm$ 0,006
Süldiazin	1,43 $\pm$ 0,010
Sülfakloropiridazin	2,61 $\pm$ 0,010

## 4.2. Sulfonamid ve Tetrasiklin Standartlarının Kalibrasyon Eğrileri

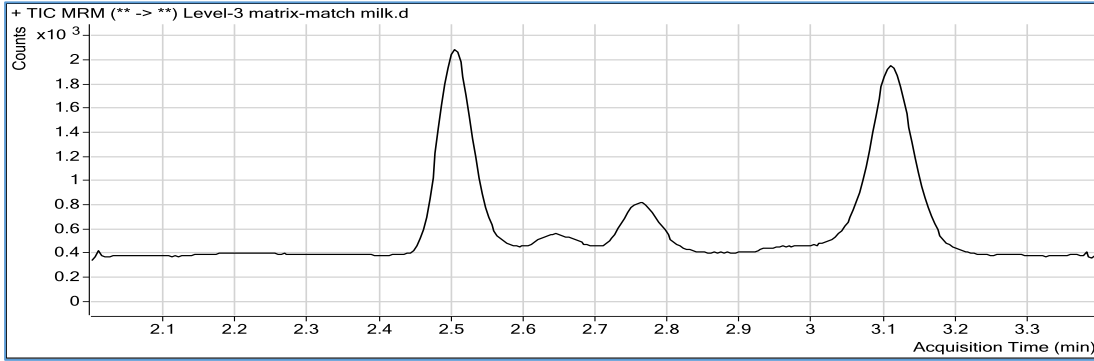
Doksisiklin, Tetrasiklin, Oksitetrasiklin, Klorotetrasiklin, Sülfatiazol, Sülfakinozalin, Sülfapiridin, Sülfametoksazol, Sülfametazin, Sülfamerazin, Sülfadoksin, Sülfadimetoksin, Sülfadiazin, Sülfakloropiridazin için 0,5 µg/L, 1 µg/L, 5 µg/L; 10µg/L 15 µg/L; 20 µg/L 'deki kalibrasyon eğrileri çizilmiştir (EK A).

## 4.3. Sulfonamid ve Tetrasiklin Standartlarının Kromatogramları

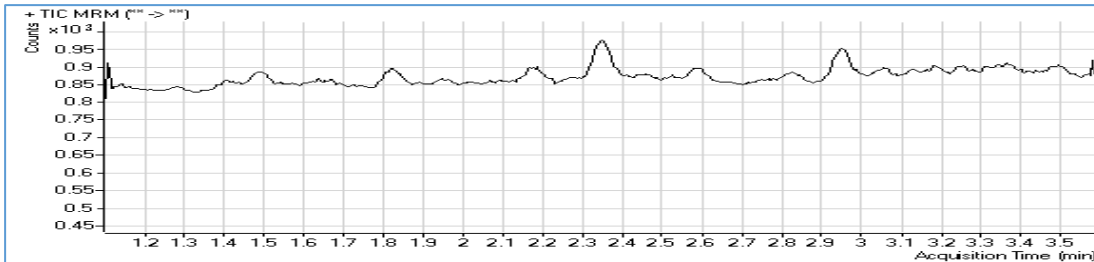
Beş ng/ml sülfonamid ve tetrasiklin matiks etkili standardı, boş süt, 5 µg/kg karışık standart yüklü örnek, kromatogramları sırasıyla Şekil 4.2., Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1: 5 µg/kg sülfonamid grubu antibiyotiklerin kromatogramları



Şekil 4.2: 5 µg/kg tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kromatogramları



Şekil 4.3 : Antibiyotik içermeyen boş süt örneği

#### 4.4.Geri kazanım oranları

Dört farklı günde hazırlanan 50, 100, 150,200 µg/kg karışık standart yüklü süt örneklerinin ölçülen miktarlarının geri alımları hesaplanarak ortalamaları Çizelge 4.2 de verilmiştir.

**Çizelge 4.2** : Geri kazanım oranları

Analit	İlave edilen yoğunluk (µg/kg)	Geri alım ortalama %	Dört konsantrasyon için geri alım ortalama
Doksisiklin	50	112.64	105,87
	100	106.41	
	150	102.23	
	200	102.22	
Oksitetrasiklin	50	84.47	79,25
	100	79.16	
	150	76.94	
	200	76.44	
Tetrasiklin	50	103.16	104,49
	100	107.60	
	150	104.17	
	200	103.04	
Klorotetrasiklin	50	82.09	75,18
	100	74.27	
	150	73.00	
	200	71.37	
Sülfatiazol	50	102.46	98,09
	100	100.20	
	150	95.50	
	200	94.22	
Sülfakinozalin	50	80.37	79,19
	100	81.28	
	150	75.67	
	200	79.24	
Sülfapiridin	50	101.67	99,44
	100	101.26	
	150	97.02	
	200	97.82	

**Çizelge 4.2 :(Devamı)**

Analit	İlave edilen yoğunluk (µg/kg)	Geri alım ortalama %	Dört konsantrasyon için geri alım ortalama
Sülfametoksazol	50	90.86	86,66
	100	89.57	
	150	84.45	
	200	81.77	
Sülfamerazin	50	101.52	99,4
	100	100.86	
	150	97.19	
	200	98.04	
Sülfadoksin	50	90.69	90,45
	100	91.52	
	150	89.98	
	200	89.62	
Sülfadimetoksin	50	97.68	95,33
	100	98.14	
	150	93.64	
	200	91.87	
Sülfadiazin	50	102.60	99,4
	100	101.62	
	150	96.84	
	200	96.57	
Sülfakloropiridazin	50	102.57	97,12
	100	99.40	
	150	94.07	
	200	92.44	
Sülfamethazin	50	95.37	94,59
	100	96.18	
	150	93.39	
	200	93.42	

#### 4.5.Gün İçi Tekrarlanabilirlik

Bir günde hazırlanan 50, 100, 150, 200 µg/kg karışık standart yüklü süt örneklerinin 6'şar tekrarlı olarak toplam 24 özütleme yapılarak analiz edilmiş; ölçülen miktarlarının % relatif standart sapmaları (RSS) ise 0,86 ile 8,40 aralığında hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3 :**Ölçülen miktarlarının % relatif standart sapmaları (RSS)

Analit	İlave edilen yoğunluk (µg/kg)	(%) Relatif Standart sapma (RSS)	Analit	İlave edilen yoğunluk (µg/kg)	(%) Relatif Standart sapma (RSS)
Doksisiklin	50	3,98	Sülfametoksazol	50	7,44
	100	2,76		100	8,4
	150	2,6		150	4,52
	200	2,52		200	5,37
Oksitetrasiklin	50	2,9	Sülfamerazin	50	2,9
	100	2,34		100	3,61
	150	2,04		150	2,44
	200	1,12		200	3,16
Klorotetrasiklin	50	3,94	Sülfadoksin	50	2,75
	100	4,59		100	1,14
	150	4,17		150	1,28
	200	3,97		200	0,86
Tetrasiklin	50	4,2	Sülfadimetoksin	50	2,6
	100	3,54		100	1,48
	150	3,45		150	1,36
	200	2,73		200	2,65
Sülfatiazol	50	2,65	Sülfadiazin	50	3,74
	100	2,83		100	2,5
	150	1,41		150	1,55
	200	3,24		200	1,72
Sülfakinozalin	50	6,12	Sülfakloropiridazin	50	5,36
	100	7,03		100	4,68
	150	4,29		150	3,06
	200	7,73		200	3,06
Sülfapiridin	50	4,19	Sülfamethazin	50	2,15
	100	4,68		100	1,7
	150	3,12		150	1,26
	200	3,77		200	3,28

#### 4.6.Günler Arası Tekrarlanabilirlik

Dört günde hazırlanan 24 adet, 100, 150, 200 µg/kg karışık standart yüklü süt örnekleri analiz edilmiş; % relatif standart sapmaları (RSS) ise 2,03-10,01 aralığında hesaplanmıştır (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4** :Örnekleri analiz edilmiş; % relatif standart sapmaları (RSS)

Analit	İlave edilen yoğunluk (µg/kg)	(%) Relatif Standart sapma (RSS)	Analit	İlave edilen yoğunluk (µg/kg)	(%) Relatif Standart sapma (RSS)
Doksisiklin	50	4,66	Sülfametoksazol	50	10,01
	100	4,68		100	8,05
	150	5,65		150	6,72
	200	6,24		200	8,07
Oksitetrasiklin	50	8,68	Sülfamerazin	50	3,9
	100	7,1		100	2,03
	150	7,8		150	2,34
	200	7,52		200	3,47
Klorotetrasiklin	50	9,34	Sülfadoksin	50	6,05
	100	7,26		100	3,95
	150	8,61		150	3,55
	200	7,1		200	4,99
Tetrasiklin	50	5,01	Sülfadimetoksin	50	5,6
	100	5,25		100	3,25
	150	5,92		150	4,2
	200	6,51		200	4,24
Sülfatiazol	50	4,7	Sülfadiazin	50	2,96
	100	4,38		100	3,58
	150	2,9		150	4,1
	200	4,27		200	3,28
Sülfakinozalin	50	7,66	Sülfakloropiridazin	50	8,01
	100	7,18		100	5,44
	150	5,35		150	6,3
	200	8,8		200	5,71
Sülfapiridin	50	4,46	Sülfamethazin	50	3,9
	100	3,01		100	3,86
	150	4,38		150	2,49
	200	3,58		200	5,2

#### 4.7.Tespit Ve Değerlendirme Limitleri

0,5 µg/kg karışık standart yüklü süt örnekleri 10 tekrarlı olarak çalışılmış,her bir etken madde için S/N (sinyal/gürültü) oranları belirlenmiştir.Bu oranın 10 katı LOQ sonuçları hesaplanmış elde edilen çalışmadan 0,1 ile 1,5 µg/kg aralığında değerlendirme limiti hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.5** :Değerlendirme limiti

Analit	Değerlendirme limiti (µg/kg)	Analit	Değerlendirme limiti (µg/kg)
Doksisiklin	1,20	Sülfamerazin	0,10
Oksitetrasiklin	0,90	Sülfadoksin	0,60
Klorotetrasiklin	0,40	Sülfadimetoksin	0,30
Tetrasiklin	1,50	Sülfadiazin	0,20
Sülfatiazol	0,17	Sülfakloropiridazin	0,25
Sülfapiridin	0,10	Sülfamethazin	0,10
Sülfametoksazol	0,20	Sülfakinozalin	0,16

#### 4.8.Süt Örneklerinde Saptanan Antibiyotik Kalıtı Miktarları

İstanbulda satışı sunulan UHT sütleri ve farklı markalarda 30 adet pastörize ile İstanbulun farklı mahallerinde satılan 26 adet çiğ süt olmak üzere toplamda 149 adet süt örneklerinde sülfonamid ve tetrasiklin kalıntıları aranmıştır. Süt örneklerinin 60 adedinde Sülfonamid ve Tetrasiklin grubu antibiyotik kalıntısı içeren süt örneklerinin dağılımı Çizelge 4.6.'da gösterilmiştir.

Bu örneklerin hiçbirinde ST, SP, SMR kalıntılarına rastlanmamıştır. Çiğ süt örneklerinin % 61,54 'ünde pozitif sonuç elde edilmiş, en fazla 14 örnekte oksitetrasiklin ve 12 örnekte tetrasiklin bulunmuştur.

Pastörize sütlerin 14 tanesinde pozitif sonuç bulunmuş, en fazla oksitetrasikline rastlanmıştır.

UHT sütlerinin % 32,26 'sı pozitif sonuç bulunmuş, en fazla 14 örnekte SMT saptanmıştır.

Tüm süt rnekerin %40,27 pozitif sonuç içermekte ve 31 örnekte OTC bulunmuştur.

İncelen 26 adet çiğ rnekerinin (izelge 4.7) 16 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler tespit edilmiştir. rnekerin; 14 tanesinde; OTC altı tanesinde; DC, CTC, 12 tanesinde; TC, 1 tanesinde; SMX, SDX, SQX saptanmıştır.

Çeşitli martketlerde satılan 30 adet pastörize süt rnekerinin (izelge 4.8) 14 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler tespit edilmiştir. rnekerin; 14 tanesinde; OTC, bir tanesinde; SDM, iki tanesinde; CTC, SQX, SMT dört tanesinde; SDX tespit edilmiştir.

İncelenen 93 adet UHT süt rnekerinin (izelge 4.9) 30 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler tespit edilmiştir. rnekerin; dokuz tanesinde; SD, 14 tanesinde, SMT, beş tanesinde SDM, iki tanesinde TC ve SMX, bir tanesinde SQX ve DC, dört tanesinde SDX, CTC  tanesinde de OTC bulunmuştur. UHT süt rnekerinin hiç birinde ST, SP, SMR kalıntılarına rastlanmamıştır.



**Çizelge 4.6 :** Antibiyotik pozitif süt örneklerinin dağılımı

Süt		A+	SD	ST	SP	SMR	SMT	SCP	SDM	SMX	SQX	SDX	TC	OTC	DC	CTC
Çiğ n: 26	n	16	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	12	14	6	6
	%	61,54	-	-	-	-	-	-	-	3,85	3,85	3,85	46,16	53,85	23,00	23,00
Pas n:30	n	14	-	-	-	-	2	-	1	-	2	4	-	14	-	2
	%	46,67	-	-	-	-	6,67	-	3,34	-	6,67	13,34	-	46,67	-	6,7
UHT n:93	n	30	9	-	-	-	14	-	5	2	1	4	2	3	1	4
	%	32,26	9,68	-	-	-	15,00	-	5,38	2,15	1,07	6,35	2,15	3,23	1,07	4,30
Toplam n:149	n	60	9	-	-	-	16	-	6	3	4	9	14	31	7	12
	%	40,27	6,04	-	-	-	10,74	-	4,02	2,02	2,68	6,04	9,40	20,80	4,70	8,05

A+: Antibiyotik pozitif; SP:Sulfapyridin, SD:Sulfadiazin, ST:Sulfatiazol, SMR : Sülfamerazin , SMT: Sülfametazin , SMX : Sülfametoksazol  
SDM:Sülfazdimetoksin,SCP:Sulfakloropyridizin,SQX:Sulfaquinoksilin,SDX:Sulfadoksin,TC:Tetrasiklin,OTC:OksitetrasiklinDC:Doksiklin  
,CTC :Klortetrasiklin - : Tespit edilmedi.

**Çizelge 4.7: Çiğ Süt Örneklerin Analiz Sonuçları (µg/kg)**

Örnekler	SD	ST	SP	SMR	SMT	SCP	SDM	SMX	SQX	SDX	TC	OTC	DC	CTC
ÇS01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,32	-	6,23
ÇS03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,90	-	4,00
ÇS04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS05	-	-	-	-	-	-	-	13,29	-	0,83	-	-	-	-
ÇS06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS09	-	-	-	-	-	-	-	-	9,95	-	-	-	-	-
ÇS10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÇS15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,83	11,19	13,76	-
ÇS16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,93	6,80	12,73	11,80
ÇS17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,71	4,50	5,31	6,12
ÇS18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,52	3,80	4,01	3,75
ÇS19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,16	3,00	1,20	2,28
ÇS20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,23	2,63	1,20	-
ÇS21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,50	1,91	-	-
ÇS22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,20	2,03	-	-
ÇS23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,98	1,83	-	-
ÇS24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,70	1,44	-	-
ÇS25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,70	1,43	-	-
ÇS26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,60	1,64	-	-

SP:Sulfapyridin,SD:Sulfadiazin,ST:Sulfatiazol,SMR:Sülfamerazin,SMT:Sülfametazin

SMX:Sülfametoksazol,SDM:Sülfazdimetoksin,SCP:SülfakloropyridizinSQX:Sülfakuinoksilin,

SDX:Sülfadoksin,TC:Tetrasiklin,OTC:OksitetrasiklinDC:Doksiklin ,CTC :Klortetrasiklin

ÇS: Çiğ süt , - : Tespit edilmedi

**Çizelge 4.8:** Pastörize Süt Örneklerin Analiz Sonuçları (µg/kg)

Örnekler	SD	ST	SP	SMR	SMT	SCP	SDM	SMX	SQX	SDX	TC	OTC	DC	CTC
PS01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,86	-	0,95	-	-
PS03	-	-	-	-	0,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,79	-	0,90	-	-
PS06	-	-	-	-	0,59	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,72	-	-
PS14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,20	-	-
PS16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PS23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,46	-	-
PS24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,50	-	-
PS25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,44	-	-
PS26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,40	-	-
PS27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,06	-	-
PS28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,40	-	2,20
PS29	-	-	-	-	-	-	-	-	1,95	0,70	-	2,00	-	-
PS30	-	-	-	-	-	-	0,63	-	0,89	0,67	-	4,50	-	2,40

SP:Sulfapyridin, SD:Sulfadiazin, ST:Sulfatiazol, SMR : Sülfamerazin , SMT: Sülfametazin ,  
SMX:Sülfametoksazol,SDM:Sülfazdimetoksin,SCP:Sulfakloropyridizin,SQX:Sulfaquinoksilin,

SDX:Sulfadoksin,TC:Tetrasiklin,OTC:OksitetrasiklinDC:Doksiklin ,CTC :Klortetrasiklin PS:  
Pastörize süt , - : Tespit edilmedi.

**Çizelge 4.9:** UHT Süt Örneklerinin Analiz Sonuçları (µg/kg)

Örnekler	SD	ST	SP	SMR	SMT	SCP	SDM	SMX	SQX	SDX	TC	OTC	DC	CTC
ES01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,14	-	2,02	-
ES06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES07	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES10	0,45	-	-	-	0,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES11	-	-	-	-	0,53	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES12	-	-	-	-	0,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ES32	1,00	-	-	-	-	-	0,70	-	-	0,69	-	-	-	-

SP:Sulfapyridin, SD:Sulfadiazin, ST:Sulfatiazol, SMR : Sülfamerazin , SMT: Sülfametazin ,  
SMX:Sülfametoksazol,SDM:Sülfazimetoksin,SCP:Sülfakloropyridizin,SQX:Sülfakuinoksilin,SDX:Sülfadoksin,TC:Te  
trasiklin,OTC:OksitetrasiklinDC:Doksiklin ,CTC :Klortetrasiklin ES: Ege bölgesi süt örnekleri, MS: Marmara bölgesi  
süt örnekleri , İS: İç Anadolu bölgesi süt örnekleri - : Tespit edilmedi.

**Çizelge 4.9: (Devamı)**

Örnekler	SD	ST	SP	SMR	SMT	SCP	SDM	SMX	SQX	SDX	TC	OTC	DC	CTC
MS01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS04	-	-	-	-	-	-	0,97	-	-	3,00	-	-	-	-
MS05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7	-	-	-
MS06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,58	-	0,50
MS07	-	-	-	-	-	-	-	0,53	-	-	-	-	-	-
MS08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,90	-	-
MS10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS13	-	-	-	-	-	-	-	-	0,30	-	-	-	-	-
MS14	-	-	-	-	0,52	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS15	-	-	-	-	0,51	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS16	0,42	-	-	-	0,53	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS17	0,42	-	-	-	0,51	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS18	0,46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS19	0,44	-	-	-	0,71	-	0,40	-	-	-	-	-	-	-
MS20	0,39	-	-	-	-	-	0,50	-	-	-	-	-	-	-
MS21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS22	-	-	-	-	0,55	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS23	-	-	-	-	0,42	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS28	-	-	-	-	-	-	-	6,16	-	-	-	-	-	-
MS29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MS33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,50
MS34	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-	0,65	-	-	-	-
MS35	1,00	-	-	-	-	-	0,70	-	-	0,65	-	-	-	2,50

**Çizelge 4.9 : (Devamı)**

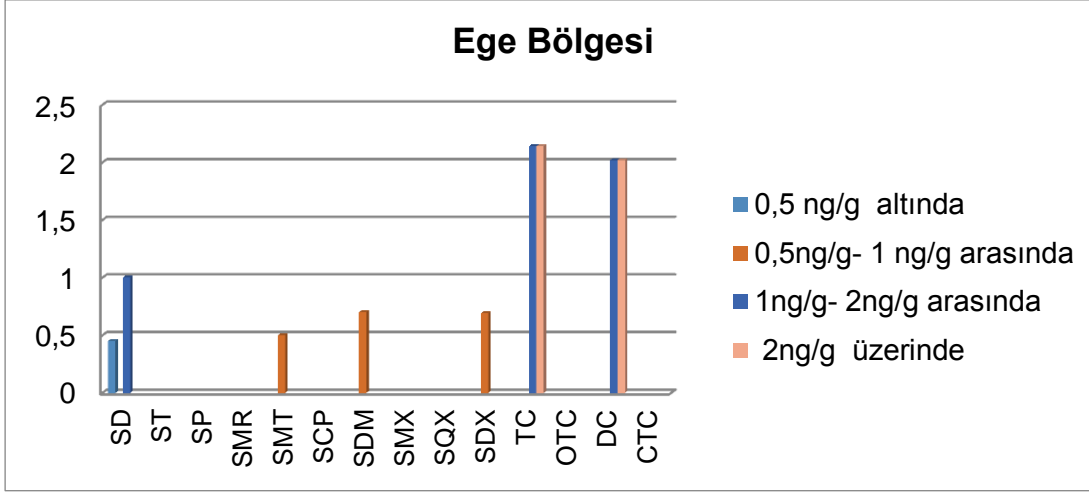
Örnekler	SD	ST	SP	SMR	SMT	SCP	SDM	SMX	SQX	SDX	TC	OTC	DC	CTC
İS01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS05	-	-	-	-	0,52	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS06	-	-	-	-	0,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS07	-	-	-	-	0,52	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS08	-	-	-	-	0,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
İS13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İS26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,45	-	-

UHT sütlerin 3 ayrı bölge olarak incelenmiş olup 32 Adet Ege bölgesi, 35 adet Marmara Bölgesi, 26 adet İç Anadolu bölgesinde üretilip farklı markalarda İstanbula satışı sunulan toplam 93 adet UHT süt örneklerinde sülfonamid ve tetrasiklin kalıntıları aranmıştır (Çizelge 4.10).

**Çizelge 4.10 : UHT Sütlerin Bölgelere Göre Pozitif Örneklerin Dağılımı**

Bölge		A+	SD	ST	SP	SMR	SMT	SCP	SDM	SMX	SQX	SDX	TC	OTC	DC	CTC
E	n	5	2	-	-	-	3	-	1	-	-	1	1	-	1	1
	n:32	%	15,62	6,25	-	-	9,38	-	3,13	-	-	3,13	3,13	-	3,13	3,13
İA	n	6	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	1	-	1
	n:26	%	23,08	-	-	-	11,54	-	-	-	-	-	-	3,85	-	3,85
M	n	19	7	-	-	-	7	-	4	2	1	3	1	2	-	3
	n:35	%	54,28	20,00	-	-	20,00	-	11,43	5,72	2,86	8,57	2,86	5,72	-	8,57
Toplam	n	30	9	-	-	-	13	-	5	2	1	4	2	3	1	5
	n:93	%	32,26	9,68	-	-	13,98	-	5,38	2,15	1,08	4,30	2,15	3,22	1,08	5,38

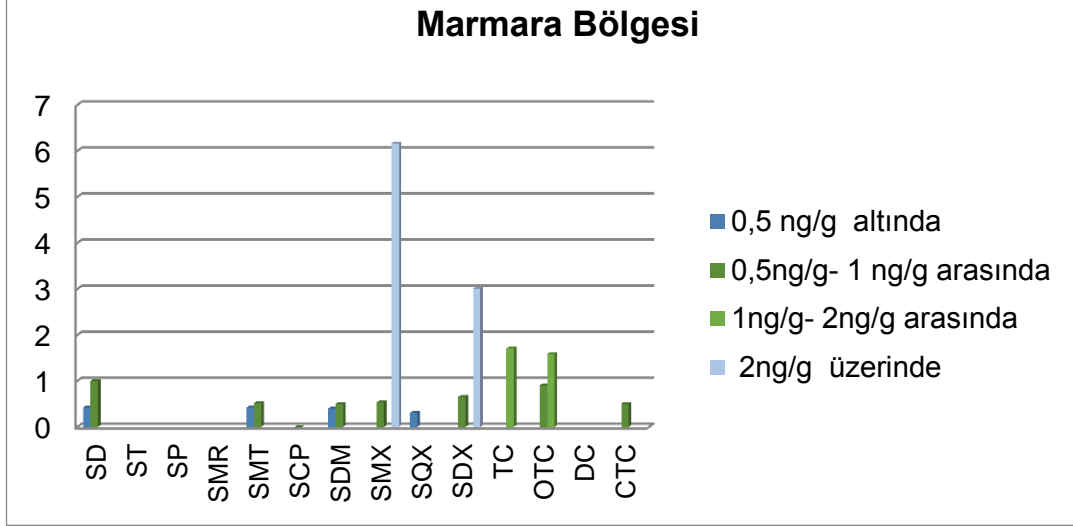
Ege bölgesinde üretilen 35 adet süt örneğinden 5 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler tespit edilmiştir. Beş örnekten 1 tanesinde; TC ve DC, bir tanesinde; SDX ve CTC, diğer bir tanesinde; SDM, iki örnekte ise SD,3 örnekte SMT bulunmuştur. Ege bölgesinde üretilen UHT sütlerdeki kalıntıları miktarlarının ölçümleri Şekil 4.4 de gösterilmiştir.



**Şekil 4.4:** Ege bölgesinde üretilen UHT sütlerindeki kalıntıların ölçülen miktarlarının dağılımı

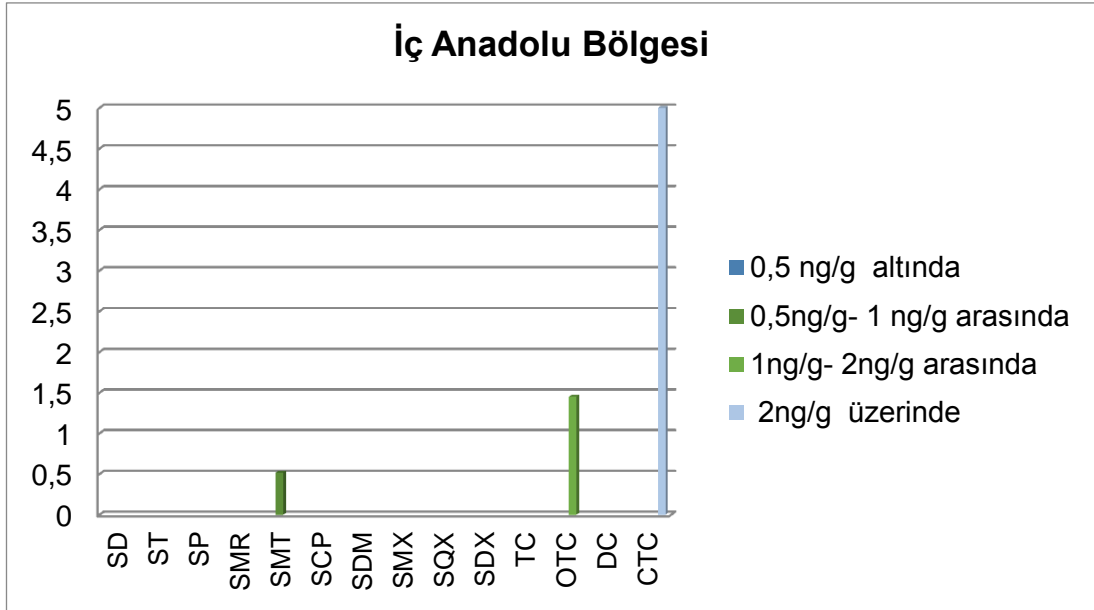
Marmara bölgesinde üretilen 35 adet süt örneğinden 19 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler tespit edilmiştir. Örneklerin; 2 tanesinde; SMX, OTC, 4 tanesinde; SDM, 3 tanesinde; SDX, 1 tanesinde; SQX, bir tanesinde; TC, diğer 3 tanesinde; CTC,7 tanesinde; SMT, SD, bulunmuştur. Marmara bölgesinde üretilen UHT sütlerdeki kalıntıları miktarlarının ölçümleri Şekil 4.5 de gösterilmiştir.





**Şekil 4.5:** Marmara bölgesinde üretilen UHT sütlerindeki kalıntıların ölçülen miktarlarının dağılımı

İç Anadolu bölgesinde üretilen 26 adet süt örneğinden 6 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler tespit edilmiştir. Örneklerin; 3 tanesinde; SMT, bir tanesinde CTC, 1 tanesinde de; OTC bulunmuştur. İç Anadolu bölgesinde üretilen UHT sütlerdeki kalıntıları miktarlarının ölçümleri Şekil 4.6 de gösterilmiştir.



**Şekil 4.6:** İç Anadolu bölgesinde üretilen UHT sütlerindeki kalıntıların ölçülen miktarlarının dağılımı



## 5.TARTIŞMA ve SONUÇ

İstanbul piyasasında satılan UHT, pastörize ve çiğ sütlerde sülfamid ve tetrasiklin grubu antibiyotik kalıntılarının belirlenmesi amacıyla LC-MS/MS yöntemi kullanılarak 30 pastörize, 26 çiğ süt, 93 UHT süt olmak üzere toplamda 149 süt örneğinde sülfamid ve tetrasiklin grubu antibiyotik kalıntılarının varlığı araştırılmıştır. Örneklerdeki antibiyotiklerin çeşitlerini ve miktarlarını belirlemek için 149 süt örneğinde LC-MS/MS yöntemi uygulanmış ve bazı süt örneklerinde sadece sülfamid ya da tetrasiklin grubu, bazılarında ise her iki gruptan antibiyotik kalıntısına rastlanılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda 149 süt örneğinin 60 tanesinde (%40,27) çeşitli tetrasiklin ve sulfonamid grubu antibiyotikler bulunmuştur. Hiçbir örnekte Türk Gıda Kodeksinin belirlemiş olduğu maksimum kalıntı seviyesi olan 100 µg/L'yi aşan örneğe rastlanmamıştır.

Pozitif örnekler içerisinde en fazla oksitetrasiklin (%20,8), en az ise Sülfametoksazol (%2,02) kalıntısına rastlanması dikkati çekmektedir. UHT sütlerin 30 tanesinde antibiyotik kalıntısı bulunmuş sonuçlar çiğ süt ve pastörize sütler ile karşılaştırıldığında, UHT sütlerde bulunan kalıntı miktarlarının çok düşük olduğu görülmüştür. Çiğ sütlerde 16 örnekte kalıntı bulunmuş en yüksek doksisisiklin (13,76 µg/kg), klortetrasiklin (11,8 µg/kg) ve Sülfametoksazol (13,29 µg/kg) kalıntıları tespit edilmiştir. Pastörize sütlerde ise en fazla OTC (%46,67) kalıntısı saptanmıştır. Süt örneklerinin hiç birinde ST, SP, SMR kalıntılarına rastlanmamıştır.

Analiz edilen 26 adet çiğ örneklerinin (Çizelge 4.7) 16 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler tespit edilmiştir. Örneklerin; 14 tanesinde OTC, altı tanesinde DC ve CTC,12 tanesinde TC, 1tanesinde SMX, SDX ve SQX saptanmıştır. Çeşitli marketlerde satılan 30 adet pastörize süt örneklerinin (Çizelge 4.8) 14 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler bulunmuştur. Örneklerin; 14 tanesinde; OTC, bir tanesinde; SDM, 2 tanesinde; CTC, SQX, SMT dört tanesinde; SDX tespit edilmiştir.

İncelenen 93 adet UHT süt örneklerinin (Çizelge 4.9) 30 tanesinde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotikler tespit edilmiştir.

Örneklerin 9 tanesinde SD, 14 tanesinde SMT, beş tanesinde SDM, 2 tanesinde TC ve SMX, bir tanesinde SQX ve DC, 4 tanesinde SDX, CTC 3 tanesinde de OTC bulunmuştur. UHT süt örneklerini bölgelere göre değerlendirdiğimizde; Marmara, Ege ve İç Anadolu bölgelerinde sonuçlarda farklılık görülmemiş her üç bölgeden alınan süt örneklerinde bulunan antibiyotik kalıntıları yasal limitlerin çok altında olduğu tespit edilmiştir.

Çeşitli ülkelerde süt ve süt ürünlerine antibiyotik ilaç kalıntılarının bulaşma olasılığı, yasal düzenlemelere, denetim etkinliklerine, yetiştiricilerin konuyla ilgili bilinçli olmalarıyla doğrudan ilgilidir.

Amerikan Gıda ve İlaç dairesi (FDA)'nin 2015 yılında açıklamış olduğu teknik rapor göre antibiyotiklerin bilinçli kullanıldığını göstermektedir. Amerika'daki 50 eyalet ve Porto Rico'yu içeren çalışmada 2013 ve 2014 yılları arasında; süt örnekleri herhangi bir proseden geçmeden antibiyotik kalıntısı için analiz edilmiştir. Bu periyot içerisinde yaklaşık 4 milyon süt örneğinde 31 adet farklı antibiyotik analiz edilmiş bu örneklerde sadece 700 süt örneğinde antibiyotik kalıntısına rastlanmıştır (Anonim, 2015a).

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO), uzmanlar komisyonu (JECFA) süt hijenine yönelik olarak hazırlanan teknik rapor sonuçlarına göre ABD, İskoçya, İngiltere, Avustralya gibi gelişmiş ülkelerde 1962 yılına kadar süt ve süt ürünlerinde antibiyotik ilaç kalıntısı bulunma sıklığı %13 civarındadır. Bu tarihten itibaren gerekli önlemlerin alınmasında sonra bu oran oldukça düşmüştür. Bu oranlar AB'de 1990 'da %0,12, 1996'da %0,14, 2003'de % 0,0067, İtalya'da 2003'de %0,034, İngiltere'de 2000 yılında % 0,03, İsveç'te 1998 ile 2003 yılları arasında %0,26 ile % 0,08, İrlanda'da 2003 yılında %1 ve Kanada'da 2001 ile 2002 yılları arasında % 0 olarak rapor edilmiştir. Bu rapor ayrıca hijen koşulları açısından az gelişmiş, denetim yönünden yetersiz kalan bazı ülkeler için de sonuçlar içermektedir. Brezilya'da 2000 ile 2001 yıllarında %4 ile % 50, Hindistan'da 1995'de %9, Polonya'da % 13 ile %22, Portekiz'de 1981 ile 1985 yılları arasında %10 ile % 64 gibi yüksek düzeylerde kirlenme oluşu bildirilmektedir (Ghidini, 2003; Moats ve Romanowski, 1998; Leon, 1992; Barbosa ve diğ. 1990; Shitandi, 2002; Anonim,2004; Anonim, 2005a; Anonim, 2005b).

Ülkemizde ve çeşitli ülkelerde sülfonamid ve tetrasiklin grubu antibiyotik kalıntıları sütlerde araştırılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Ankara'da (Geçer,2006) yapmış olduğu çalışmada Charm Rosa Test kullanılarak satışa sunulan 100 adet UHT ve 100 adet pastörize sütler antibiyotik kalıntısı için analiz edilmiş, UHT sütlerin 10 tanesi, pastörize sütlerin 26 tanesi olmak üzere toplam 36 süt örneği pozitif bulunmuştur.

Daha sonra HPLC yöntemiyle doğrulama yapılmış, pastörize sütlerin 17 tanesinde, UHT sütlerin 3 tanesinde MRL seviyesini aşan antibiyotik kalıntısı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda pastörize, UHT ve çiğ süt olmak üzere toplamda 60 süt örneğinde pozitif bulunmuş fakat hiçbir süt örneğinde MRL seviyesini aşan antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır. Ayrıca LC-MS/MS cihazı kullanıldığı için doğrula yapmaya gerek kalmamıştır. Bu metodumuzun avantajı olarak görülebilir. Pozitif örnek sayısının çok olmasının sebebi ise dedeksiyon limitlerine kadar görebilecek ve diğer yöntemlere göre daha hassas yöntem(LC-MS/MS) kullanılması olabilir.

Türk Gıda kodeksi maksimum limiti aşan herhangi bir örneğin bulunmadığı çalışmamızda en fazla oksitetrasiklin (%20,8) tespit edilmiş ve en yüksek değeri ise 11,19 µg/kg bulunmuştur. (Geçer,2006)'in yapmış olduğu çalışmada ise oksitetrasiklin 318,51 µg/kg, başka bir çalışmada ise analiz edilen 200 içme sütü örneğinden sadece bir tanesinde limit üzerinde (150 µg/L) oksitetrasiklin tespit edilmiştir (Kaya ve Filazi, 2010). Tespit etmiş olduğumuz oksitetrasiklin miktarının MRL seviyesinde çok çok altında olması süt toplama ve alım merkezlerinde antibiyotik kalıntılarının tespitine önem verilmesi miktarın düşük olmasına etkili olabileceği düşünülmektedir. Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin etkilerine karşı dirençli bakteri suşları ortaya çıkmasına rağmen veteriner hekimler tarafından en çok tercih edilen OTC, *Streptomyces rimosus* bakteri tarafından üretilmekte, geniş spektrumlu olduğu için özellikle sığırlarda solunum yolu enfeksiyonları tedavisinde kullanılmaktadır (Gürel, 2009).Oksitetrasiklin kalıntısının bu kadar sık görülmesinin sebebi bu antibiyotiğin yaygın olarak kullanılmasına işaret etmektedir.

Elazığ'da ise dört farklı bölgelerden içme sütü toplanarak 48 adet örnekte oksitetrasiklin, klortetrasiklin, tetrasiklin ve penisilin kalıntısı araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucu hiçbir örnekte maksimum kalıntı limitinin üzerinde antibiyotik kalıntısı tespit edilmemiştir(Kara, 2014).

Çalışmamızda da olduğu gibi kalıntı limitinin üzerinde antibiyotik kalıntısının olmamasını üreticilerin antibiyotiklerin sütte atılma sürelerine önem verdiklerini göstermektedir.

İran'da ise UHT, pastörize ve çiğ süt olmak üzere toplam 114 süt analiz edilmiş; klortetrasiklin, oksitetrasiklin ve tetrasiklin kalıntıları araştırılmıştır. Oksitetrasiklin en yüksek çiğ sütlerde tespit edilmiş ve miktarı 40ng/g 'dır. Klortetrasiklin miktarlarının en yüksek değerleri ise pastörize sütlerde 330,9 µg/kg, UHT sütlerde 287,1 µg/kg, çiğ sütlerde ise 340,8 µg/kg tespit edilmiştir. Tetrasiklin ise pastörize sütlerde en yüksek 18,3 µg/kg ,çiğ sütlerde 22,2 µg/kg bulunmuştur (Abbasi ve diğ.,2011). Benzer bir çalışma da Çek Cumhuriyeti'nde yapılmıştır.

Toplam 170 çiğ süt örneği analiz edilmiş tüm sütlerde oksitetrasiklin, klortetrasiklin ve tetrasiklin antibiyotik kalıntısı aranmıştır. Analiz sonuçlarına göre 86 süt örneğinde oksitetrasiklin bulunmuş, en yüksek değeri 9,35 µg/L 'dir. Klortetrasiklin kalıntısı hiçbir örnekte saptanmamış, tetrasiklin kalıntısı miktarı ise en yüksek 24,47 µg/L bulunmuştur (Navrátilová ve diğ.,2009). Çalışmamızda OTC (11,18 µg/kg), CTC(11,8 µg/kg), TC (8,83 µg/kg ) çiğ sütlerde fazla bulunması, antibiyotik kalıntılarının gıdalardan geçme olasılığını düşündüğümüzde çiğ süt kullanımının diğer sütlere göre riskli olabileceğini düşünebiliriz.

Yine Ankara'da yapılan diğer araştırmaya göre yedi farklı firmadan temin edilen 120 adet pastörize ve 120 adet çiğ süt analiz edilmiştir. Toplam 240 örnekte ampisilin, amoksisilin, danafloksasin, enrofloksasin, eritromisin, florfenikol, kloksasilin kalıntıları araştırılmıştır. Pastörize süt örneklerinin sadece 1 tanesi 300µg/L ampisilin kalıntısı içerdiği tespit edilmiştir (Karaçal, 2004).

Kenya'da yapılan bir çalışmaya göre 1109 adet çiğ süt analiz edilmiş 165 (%14,19) numunede penisilin G kalıntısı bulunmuştur. Pozitif numunelerin 118 tanesinde penisilin için maksimum kalıntı limiti olan 4 µg/kg üzerinde sonuçlar tespit edilmiştir (Shitandi, 2001). Ülkemiz dışında yapılan araştırmalara diğer bir çalışma Pakistan'da yapılmıştır. Toplam 137 örnekte B-laktam grubu antibiyotik kalıntısı analiz edilmiş, süt örneklerin %36,5'i pozitif bulunmuştur. Pozitif süt örneklerinde en yüksek miktarda penisilin (400 µg/L) bulunmuş bunun dışında ise örneklerde ampisilin (141) µg/L, amoksisilin (190 µg/L) kalıntısı tespit edilmiştir (Khaskheli ve diğ., 2008).

Sütlerde çok sık rastlanan tetrasiklin ve sülfonamid grubu antibiyotik kalıntılarının dışında penisilin gibi B-laktam grubu antibiyotiklerin de kalıntılarına rastlamak mümkün olacağından bu antibiyotik kalıntılarının da miktarlarının tespit edilmesi gerektiği düşünülmüştür.

Tetrasiklin grubu antibiyotikler büyük bir kısmı idrar yoluyla, az olarak da safra yoluyla atılırlar. Safra yoluyla bağırsaklara gelen tetrasiklin grubu antibiyotiklerin bir kısmı geri emilir. Daha sonra enterohepatik dolaşıma karışarak süte de geçtiği bilinmektedir (Kaya ve diğ., 2000). Analizlerin sonuçları elde edilen sonuçlar az miktarda da olsa antibiyotiklerin süte geçtiğini göstermektedir. Süt örneklerinde tetrasiklin grubu antibiyotiklerin fazla görülmesini buna bağlamamız mümkündür.

Son yıllarda direnç sorununun başlıca nedeni olan hayvancılıkta aşırı ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı, antibiyotik direncini arttırmakla beraber kalıntı içeren gıdaların yaratmış olduğu enfeksiyon riskini de arttırmıştır.

Süt ve süt ürünlerinden insanlara direnç geni taşınması kontamine gıdaların tüketilmesiyle hayvanlardan insanlara transferi ile gerçekleşmektedir. Gıda kaynaklı enfeksiyonlar son yıllarda şekil değiştirmiştir. Avrupa'daki birçok ülkede, *Listeria EHEC* bakterisi tarım ürünleri kaynaklı hastalığa ve ölümlere neden olmuş, ciddi ekonomik kayıplar meydana getirmiştir (Anonim, 2015b).

Yapılan analizler neticesinde İstanbul'da satışa sunulan sütlerin %40,27'de tetrasiklin ve sülfanamid grubu antibiyotik kalıntısı içerdiği, ancak hiçbirisindeki antibiyotik kalıntı seviyesinin yasal limit olan 100 µg/kg'ı geçmediği tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular incelenen örneklerin yasal açıdan bir sorun oluşturmadığını göstermektedir. Bu durum içme sütü üreticilerinin piyasaya sundukları ürünlerin antibiyotik içeriği konusunda hassasiyet gösterdiklerine işaret etmektedir. Diğer taraftan yasal limitler dahilinde olmakla birlikte sütlerin yarıya yakın kısmının antibiyotik kalıntısı içermesi antibiyotik verilmiş hayvanlardan gerekli arınma süresi dolmadan elde edilen sütlerin tüketime verildiği şeklinde değerlendirilebilir. Çiğ sütlerdeki antibiyotik kalıntı miktarlarının gerek pastörize gerekse UHT sütlerindeki yüksek bulunması ise açıkta satılan sütlerin riskli olduğunu doğrulamaktadır.





## KAYNAKLAR

**Abbasi, M.M., Babaei, H., Ansarin, M., Nemati, M., Nourdadgar, S.** (2011). Simultaneous Determination of Tetracyclines Residues in Bovine Milk Samples by Solid Phase Extraction and HPLC-FL Method.

**Akkan H., Karaca, M.** (2003). Veteriner İç Hastalıklarında Antibiyotiklerin Kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, Cilt 14, Sayı 2, Sf. 72-77.

**Alkan, P.** ( 2007). The Conformation of the Commercial Kits Used in the Detection of Antibiotics in Milk with HPLC. *Master of Science*, İzmir Institute of Technology, İzmir.

**Altun, B., Besler, T., Ünal, S.** (2002). Ankara'da Satılan Sütlerin Değerlendirilmesi, *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, Cilt 11, Sayı 2, Sf. 51-55.

**Anderson, K.,L., Moats, W.,A., Rushing, J.,E., Wesen, D.,P., Papich, M.,G.** (1995). Potential for oxytetracycline administration by three routes to cause milk residues in lactating cows, as detected by radioimmunoassay (Charm II) and high-performance liquid chromatography test methods., *American Journal of Veterinary Research*, Cilt 56, Sayı 1, Sf. 70-77.

**Astier , H., Renard, C., Cheminel, V., Soares, O., Mounier,C., Peyron , F., Chaulet, J.F.** (1997). Simultaneous determination of pyrimethamine and sulphadoxine in human plasma by high-performance liquid chromatography after automated liquid-solid extraction. *Journal of Chromatography B*, Sayı 698, Sf. 217-223.

**Bakırcı, İ., Akyüz, N.** (1996). Süt ve mamüllerinde antibiyotik kalıntı problemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 6, Sayı 19, Sf. 119-131.

**Barbaso, M., Calhau, I., Correia, M.** (1990).Detection of antibiotic residues in consumption milk(1981-1985) *Brisf communciations of the XXIII International Dairy Congress*, October8-12, Montreal, Cilt 1 Sf. 114.

**Bekele, K.,L., Gebeyehu, G.,G.** (2012). Application of Different Analytical Techniques and Microbiological Assays for the Analysis of Macrolide Antibiotics from Pharmaceutical Dosage Forms and Biological Matrices, International Scholarly Research Network ISRN Analytical Chemistry, Article ID 859473, Sf. 17.

**Blasco, C., Corcia, A. D., Picó, Y.** (2009). Determination of tetracyclines in multi-specie animal tissues by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, Sayı 116, Sf. 1005–1012.

**Boca, M., B., Apostolides, Z., Pretorius, E.** (2005). "A validated HPLC method for determining residues of a dual active ingredient anti-malarial drug on manufacturing equipment surfaces. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Sayı 37, Sf. 461-468.

**Bogdanov, S.** (2003). Current status of analytical methods for the detection of residues in bee products., *Apiacta*, Sayı 38, Sf. 190-197.

**Bohm, D.,A., Stachel, C.,S., Gowik, P.** (2009). Multi-method for the determination of antibiotics of different substance groups in milk and validation in accordance with Commission Decision 2002/657/EC. *Journal of Chromatography A*, Sayı 1216, Sf. 8217–8223.

**Campbell, K.,L.** (1999). Sulphonamides: Updates On Veterinary Medicine. *Veterinary Dermatology*, Sayı 10, Sf. 205-215.

**Cannavan, A., Hewitt, S.,A., Blanchflower, W.,J., Kennedy, D.,G.** (1999). Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Determination Of Sulfamethazine In Animal Tissues Using A Methyl/Trimethylsilyl Derivative. *Analyst*, Sayı 121, Sf. 1457-1461.

**Cavaliere, C., Curini, R., Corcia, A.,D., Nazzari, M., Samperi, R., Agric, J.** (2003). A simple and sensitive liquid chromatography-mass spectrometry confirmatory method for analyzing sulfonamide antibacterials in milk and egg., *Food Chemistry*, Sayı 51, Sf. 558-566.

**Ceyhan, I., Bozkurt.** (1986). Ankara piyasasında satılan sütlerde penisilin araştırması, *Türk Hijyen Derneği, Biyoloji Dergisi*. Sayı 44, Sf. 1-5.

**Chafer, P., C., Maquieira, A., Puchades, R.** (2010). Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples., *Trends in Analytical Chemistry*, Sayı 29 Sf. 1038-1049.

**Cingi, M.,İ., Erol, K.** (1996). Farmakoloji. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No: 494, Açıköğretim Fakültesi Yayınları No: 223, Eskişehir.

**Corcia, A.D., Nazzari, M.** (2002). Liquid chromatographic-mass spectrometric methods for analyzing antibiotic and antibacterial agents in animal food products. *Journal of Chromatography A*, Sayı 974, Sf. 53-89.

**Cristina, J, Juan, C.,M., Jordi, M., Guillermina, F.** (2010). Determination of macrolide and lincosamide Antibiotics by pressurised liquid extraction and liquid chromatography- tandem mass spectrometry in meat and milk. *Food Control*, Cilt 21, Sayı 12, Sf. 1703-1709.

**Demet, Ö., Acet, A., Tras, B., Baş, L., Eğilmez, İ.** (1992). Konya'da faaliyet gösteren çeşitli mandralardan toplanan süt örneklerinde penislin G, ampisilin ve penisilin V kalıntılarının araştırılması, *Selçuk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, Sayı 8, Sf. 33-35.

**Dokuzlu, C., Tayar, M.** (2001). Bursa ve çevresinde çiğ sütlerde antibiyotik varlığının belirlenmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi* Cilt17, Sayı 1, Sf. 153-157.

**Erol, İ.** (2007). Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbacılık, Ankara.

**Fletouris, D.,J., Psomas, J.,E., Botsoglou, N.A.** (1990). Trace analysis of oxytetracycline and tetracycline in milk by high-performance liquid chromatography,. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Sayı 38, Sf. 1913-1917.

**Geçer, B.** (2006). Pastörize ve UHT sütlerde antibiyotik kalıntılarının HPLC yöntemi ile belirlenmesi., *Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

**Ghidini, S., Zanardi, E., Varisco, G., Chizzolini, R.** (2003). Residues of b-lactam antibiotics in bovine milk: confirmatory analysis by liq. Chrom. tandem mass spectrometry after microbial assay screening. *Food Addit and Contam.* Cilt 20, Sayı 6, Sf. 528-534.

**Güley, Z., Akbulut. N.** (2000). *Antimikrobiyal Maddeler ve Süt Teknolojisindeki önemi.Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri*. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Sf.254-265.

- Gürel, H.** (2009). Sığırlarda Solunum Sistemi Hastalıklarının Tedavisinde Kullanılan Antibiyotikler. *Vet Hekim Der Derg.*, 80(3): 29-33.
- Gürsoy, O., Kınık, Ö., Gönen, İ.** (2005). Probiyotikler ve Gastrointestinal Sağlığa Etkileri. *Türk Mikrobiyol Cemiyet Dergisi*, Sayı 35, Sf. 136-148.
- Han, W., Zheng, N., Wang, J., Zheng, P., Li Song, L., Yu qun, L.** (2013). Survey of Tetracyclines, Sulfonamides, Sulfomethazine, and Quinolones in UHT Milk in China Market. *Journal of Integrative Agriculture* 2013, Cilt 12, Sayı 7, Sf. 1300-1305.
- Hemling, T., C., McKinzie, M., Laquiere, I., DeVliegher, S.** (2004). Milk iodine residues: AMS versus conventional. Symposium, Automatic milking; a better understanding Sf. 368-370.
- Horne, E., Cadogan, A., O’Keeffe, M, Hoogenboom, LA.** (1996). Analysis of protein-bound metabolites of furazolidone and furaltadone in pig liver by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry. *Analyst*. Sayı 121, Sf. 1463-1468.
- Junior, H., A., M., Kussumi, T., A., Wang, A., Y., Lebre, D., T.** (2007). A rapid method to determine antibiotic residues in milk using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 18 São Paulo.
- Kahle, M., Stamm, C.** (2007). Time and pH-dependent sorption of the veterinary antimicrobial sulfathiazole to clay minerals and ferrihydrite. *Chemosphere*, Sayı 68, Sf. 1224-1231.
- Kara, N.** (2014). Elazığ yöresinde piyasada satışı sunulan sütlerde antibiyotik kalıntılarının HPLC yöntemiyle belirlenmesi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Karaçal, F.** (2004). Ankara piyasasında satılan sütlerde bazı antibiyotik kalıntıları. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Karagözlü, C., Karagözlü, N.** (2004). Süt Endüstrisinde Deterjan ve Dezenfektan Kalıntılarının Önemi Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, Cilt 8, Sayı 3, Sf. 73-81.
- Karcı, A.** (2008). Investigation of tetracycline, sulfonamide and fluoroquinolone antimicrobial compounds in manure and agricultural soils in North Marmara Region by BS. in Chemistry. Çevre Bilimleri Yüksek Lisans Tezi, Boğaziçi Üniversitesi Çevre Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kaya, S., Ünsal, A.** (2000). Besinlerdeki ilaç kalıntıları ve denetimi. Veteriner Uygulamalı Farmakoloji Cilt 2. Baskı 2, , Medisan Yayınevi, Ankara, Sf. 713-730.
- Khaskheli, M., Malik, R.S., Arain, M.A, Soomro, A.H., Arain, H.H.** (2008). Detection of  $\beta$  - Lactam Antibiotic Residues in Market Milk. *Pakistan Journal of Nutrition*, Cilt 7, Sayı 5, Sf. 682-685.
- Khong, S.,P., Gremaud, E., Richoz, J., Delatour, T., Guy, P., A., Stadler, R., H., Mottier, P.** (2004). Analysis of matrix-bound nitrofurantoin residues in worldwide -originated honeys by isotope dilution high- performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Sayı 52, Sf. 5309-5315.
- Koesukwiwat, U., Jayanta, S., Leepipatpiboon, N.** (2007). Validation of a liquid chromatography–mass spectrometry multi-residue method for the simultaneous determination of sulfonamides tetracyclines, and pyrimethamine in milk. *Journal of Chromatography A*, Cilt 1140, Sayı 1, Sf. 147-156.

- Leblebicioğlu, H.** (2002). Yeni Kinolonlarda Mikrobiyolojik ve Klinik Etkinlik. *Ankem Derg.*, Cilt 16, Sayı 3, Sf. 226-232.
- Leitner, A., Zollner, P., Lindner, W.** (2001). Determination of the metabolites of nitrofuran antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, Sayı 939, Sf. 49-58.
- Leon, D.** (1990). Antibiotic residues in milk and meat: Perceptions and Realities. Sf.1222-1228.
- Long, A., R, Hsieh, L.,C., Marlborough, M.S., Short ,C.,R., Barke, S.,A.** (1990). Matrix solid-phase dispersion (MSPD) isolation and liquid chromatographic determination of oxytetracycline, tetracycline, and chlortetracycline in milk. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, Sayı 73, Sf. 379-384.
- Macun, H.,C., Yağcı, I., Ünal, N., Kalender, H., Sakraya, F., Yıldırım, M.** (2011). Kırıkale'de Belirlenen Subklinik Masatitli İneklerde Etken İzolasyonu ve Antibiyotik Direnç Dururumu. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg.* Cilt 8, Sayı 2, Sf. 83-89.
- Maris, P.** (1998). Regulatory procedures for disinfectans in Europe. *International Biodeterioration and Biodegration*, Cilt 41, Sayı 3, Sf. 297-301.
- Martinez, M., Silley, P.** (2010). Antimicrobial drug resistance Handbook of experimental pharmacology, Sayı 199, Sf. 227-64.
- McCracken, R.,J., Kennedy, D.,G.** (1997). Determination of the furazolidone metabolite, 3-amino-2-oxazolidinone, in porcine tissues using liquid chromatography-thermospray mass spectrometry and the occurrence of residues in pigs produced in Northern Ireland. *Journal of Chromatography B*, Sayı 691, Sf. 87-94.
- Metin, M.** (2012) . Süt Teknolojisi, Süt Bileşimi ve İşlenmesi. Sayı 11, Sf. 637.
- Mitchell, J., M., Griffiths, M., W., McEwen, S., A., McNab, W., B., Yee, A., J.** (1998). Antimicrobial drug residues in milk and meat: Causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. *J. Food Protect.* .Sayı 61, Sf. 742-756.
- Moats, W.,A., Anderson, K.,L., Rushing, J.,E., Wesen, D.,P.** (1995). Comparison of a radioimmunoassay (Charm II) test with high-performance liquid chromatography for detection of oxytetracycline residues in milk samples from lactating cattle. *American Journal of Veterinary Research*, Cilt 56, Sayı 6, Sf. 795-800.
- Moats, W.,A., Romanowski, R.,D.** (1998). Multi residue of b-lactam antibiotics in milk and tissues with the aid of high-performance liquid chromatographic fractionation for clean up. *J Chromatogr A*. Sayı 812, Sf. 237-247.
- Morlot, M., Beaune, P.** (2003). An experience with Charm II system. *Apiacta*, Sayı 38, Sf. 226-234.
- Navratilova, P., Borkovc, O., Drackova, M., Bohumira, J., Vorlova, L.** (2009). Occurrence of Tetracycline, Chlortetracyclin and Oxytetracycline Residues in Raw Cow's Milk. *Czech. J. Food Sci.* Sayı 5, Sf. 379-385.
- Niessen, W.,M.,A.** (1998). Analysis of antibiotics by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, Sayı 812, Sf. 58-62.
- Nina, B., Bozika, K., Ivana, V., Giampiero, S., Loredana, A., Matko, B., Nevenka, R.** (2011). Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. *Food Control* Sayı 22, Sf. 1941-1948.

- Oka, H., Ikai, Y., Hayakawa, J., Masuda, K., Hayride, K.,I., Suzuki, M.** (1994). Improvemenet of chemical analysis of antibiotics.19 Determination of tetracycline in milk by liquid chromatography and thin-layer chromatography/fast atom bombardment mass spectrometry. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists Int.* Sayı 77, Sf. 891-895.
- Önal, A., Aydın, N., Ayaz, Y., İşcan, D., Savaş, N.** (1993). Süt ve etlerde bulunan Bazı antibiyotiklerin çeşitli yöntemlerle saptanması. *Etlık Vet Mikrobiyol Enst Derg*, Sayı 7, Sf. 34-51.
- Pang, G.,F., Cao,Y.,Z., Fan, C.,L., Zhang, J.,J., Li, X.,M., Li, Z.,Y., Jia, G.,Q.** (2003). Liquid chromatography-fluorescence detection for simultaneous analysis of sulfonamide residues in honey. *Analytical and Bioanalytical Chemistry.* Cilt 376, Sayı 4, Sf. 534-541.
- Papich, G.,M ve Riviere, J.,E.** (2009).  $\beta$ -Lactam Antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, Tetracyclines and Related Drugs, *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Sf. 883, 866, 867,895.
- Reybroec, W., Ooghe, S., Brabander, H. de, Daseleire, E.** (2007). Validation of the tetrasensor honey test kit for the screening of tetracyclines in honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Sayı 55, Sf. 8359-8366.
- Schaik, V.,G.,M., Lotem, Y.,H., Schukken, S.** (2002). Milk quality in New York state. Trends in somatic cell counts, bacterial counts, and antibiotic residue violations in New York State in 1999-2000. *Journal of Dairy Science*, Sayı 85, Sf. 782-789.
- Schencka, F. J. , Callery, P.S.** (1998). Chromatographic methods of analysis of antibiotics in milk. *Journal of Chromatography A*, Sayı 812, Sf. 104-105.
- Shao, B., Dong, D., Wu, Y., Hu, J., Meng, J., Tu, X., Xu, S.** (2005). Simultaneous determination of 17 sulfonamide residues in porcine meat, kidney and liver by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta.* Sayı 546, Sf.174-181.
- Shidante, A. , Sternesjö, A.** (2007). Detection Of Antimicrobial Drug redidues In Kenyan Milk. Sayı 21, Sf. 205-214.
- Shitandi, A.** (2002).Risk factors and control strategies forantibiotic residue in milk at farm level in Kenya. *J Food Protect.* Cilt 67, Sayı 21, Sf. 399-402.
- Suhren, G., Beukers, R.** (1998). Delvotest sp for detection of kloksasilin and sulfamethoxazole in milk: IDF interlaboratory study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists.* Sayı 81, Sf. 978-990.
- Şanlı, Y.** (1994). *Hayvansal üretimde antibakteriyel ilaç kullanımı ve çok yönlü sakıncaları. Türkiye’de veteriner ilaçları üretimi, pazarlaması, güvenli kullanımı ve kalıntı sorunları sempozyumu*, 13-14 Ekim Ankara.
- Şanlı, Y., Kaya, S., Yavuz, H., Aydın, N., Akar, F., Doğan,A.** (1991) Süt örneklerinde kloramfenikol kalıntıları. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi.* Cilt 38 Sayı 3, Sf. 402-416.
- Şenel, F.** (2011). Yaşam Karşıtları-Antibiyotikler. *Bilim ve Teknik Dergisi*, Sayı 519 Sf. 95-97.
- Şimşek, O., Çetin, C., Bilgin, B.** (2005). İstanbul İlinde İçme Sütü Tüketim Alışkanlıkları ve Bu Alışkanlıkları Etkileyen Faktörlerin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma., *Ziraat Fakültesi Dergisi* , (2)-1.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E.** (2005). Laktöz Türevleri ve Gıda Sanayinde Kullanımı. *GIDA.* Cilt 30, Sayı 4, Sf. 261-267.

- Tenson, T. , Lovmar, M., Ehrenberg, M.** (2003). The Mechanism of Action of Macrolides, Lincosamides and Streptoramin B Reveals The Nascet Peptide Exit Path in Ribosome. *J. Mol. Biol.* Cilt 330, Sayı 5, Sf. 1005-14.
- Thiele, B.,S.** (2003). Pharmaceutical antibiotic compounds in soils-A rewiev. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, Sayı 166, Sf. 145-167.
- Thomas, M.,H.** (1989). Simultaneous determination of oxytetracycline, tetracycline, and chlortetracycline in milk by liquid chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, Sayı 72, Sf. 564-567.
- Uysal, H., Kınık, Ö., Gönc, Z.** (1995). Yoğurda işlenecek sütün özellikleri ve antibiyotiklerin yoğurt kalitesine ve teknolojisine etkileri. 3. Milli Süt Ürünleri Sempozyumu Kitabı, Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları, Ankara, Sayı 548, Sf. 26-37.
- Üçüncü, M.** (2005). Süt ve Mamülleri Teknolojisi, Ege Üniversitesi Mühendislik Faültesi çoğaltma yayın no:49. Bornova, İzmir. 254s.
- Ünal, R., N., Besler, H.,T.** (2008). Beslenmede Sütün Önemi Hacettepe Üniversitesi - Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü.
- Valero, E., Villamiel, M., Miralles, B., Sanz, J. ve Martinez-Castro, I.** (2001). Changes in Flavour and Volatile Components During Storage of Whole and Skimmed UHT Milk. *Food Chemistry*. Sayı 72, Sf. 51-58.
- Velioğlu, S.,D.** (2006). Sütteki Antibiyotik Kalıntılarının Isıl İşlem Etkisiyle ve Depolama Süresince Değişimi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Walstra, P.** (1999). Chapter 2: Milk Components, Chapter 6: Heat Treatment, *Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes New York*, Sf. 71-91, Sf. 189-244.
- Wang, S, Zhang, H.,Y, Wang, L, Duan, Z., J, ve Kennedy, I.** (2006). Analysis of sulphonamide residues in edible animal products. *Food Additives and Contaminants*, Cilt 23, Sayı 4, Sf. 362–384.
- Wang, S., Xu, B., Zhang, Y., He, J., X.** (2009). Development of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of neomycin residues in pig muscle, chicken muscle, egg, fish, milk and kidney. *Meat Science*, Sayı 82, Sf. 53–58.
- Wen, Y., Zhang, M., Zhao, Q., Feng, Y.** (2005). Monitoring of five sulfonamide antibacterial residues in milk by in-tube solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Cilt 53, Sayı, Sf. 8468-73.
- Wiles, J., A., Bradbury, B.,J., Pucci, M., J.** (2010). New quinolone antibiotics: a survey of the literatüre from 2005 to 2010 Expert Opinion on Therapeutic Patents, Sayı 20, Sf. 1295-1319.
- Winnik, W., M., Kitchin, K., T.** (2008). Measurement of oxidative stress parameters using liquid chromatography–tandem mass spectroscopy (LC–MS/MS). *Toxicology and Applied Pharmacology*, Cilt 223, Sayı 1, Sf. 100-106.
- Xua, J.Z., Dinga, T., Bin, W., Wen, Q. Y., Zhanga, X. Y. Liua, Y., Shena, C., Y., Jianga, Y.** (2008). Analysis of tetracycline residues in royal jelly by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, Sayı 868, Sf. 42–48.
- Yaygın, H.** (1999). Yoğurt Teknolojisi, Akdeniz Üniversitesi Basımevi, Antalya, 28-31.

**Yibar, A., Çetinkaya, F., Soyutemiz, G., E.** (2012). Nitrofuran metabolite 3-amino-2-oxazolide-nine residues in chicken liver. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, Sayı 7, Sf. 346-350.

**Yibar, A., Soyutemiz, E.** (2013). Gıda Değeri Olan Hayvanlarda Antibiyotik Kullanımı ve Muhtemel Kalıntı Riski. *Atatürk Üniversitesi Veterinerlik Bilimleri Dergisi*, Cilt 8, Sayı 1, Sf. 97-104.

## **İNTERNET KAYNAKLARI**

**Anonim**, (2004). <<http://www.nationaldairycouncil.org>>, alındığı tarih 11.06.2015

**Anonim** (2001). <<http://www.agilent.com/library/support/documents/>>, alındığı tarih 14.02.2015

**Anonim** (2005). Tarım ve Köyisleri Bakanlığının Ulusal Kalıntı İzleme Planı Sonuçları; 2000, 2001, 2002, 2003, 2004 yılı kalıntı izleme planı sonuçları. Tarım Ve Köyisleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Ankara.

**Anonim** (2005a). Canadian food inspection agency-food safety directorate-report on pesticides in: [www.inspection.gc.ca.](http://www.inspection.gc.ca), alındığı tarih: 10.06.2015

**Anonim** (2005b). Dept of Agriculture&food [http:// www.agriculture.gov.ie.](http://www.agriculture.gov.ie), alındığı tarih: 11.06.2015.

**Anonim** (2015a). National Milk Drug Residue Data Base. Fiscal Year 2014 Annual Report.<http://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/milk/ucm434757.pdf>, alındığı tarih:01.06.2015.

**Anonim** (2015b). *Bilinçli Antibiyotik Kullanımı ve Antimikrobiyal Direnç Sempozyumu* ve "IV. Zoonotik Hastalıklar Sempozyumu (Gıda Kaynaklı Zoonozlar) 18-19 Ekim 2012.

**Tekin R.**(2014). Antibiyotik sınıflandırılması ve etki mekanizması. <<http://www.dicle.edu.tr/Contents/1847d747-6909-48e9-86cd-357b541e8ed4.pdf>,> Alındığı tarih: 03.03.2014





## **EKLER**

### **EK A: Kalibrasyon Eğrileri**

**Şekil A.1:** Doksisiklin ve Tetrasiklin Kalibrasyon Eğrileri

**Şekil A.2:** Oksitetrasiklin ve Klorotetrasiklin Kalibrasyon Eğrileri

**Şekil A.3:** Sulfadiazin ve Sulfadiazin Kalibrasyon Eğrileri

**Şekil A.4:** Sulfapiridin ve Sulfamerazin Kalibrasyon Eğrileri

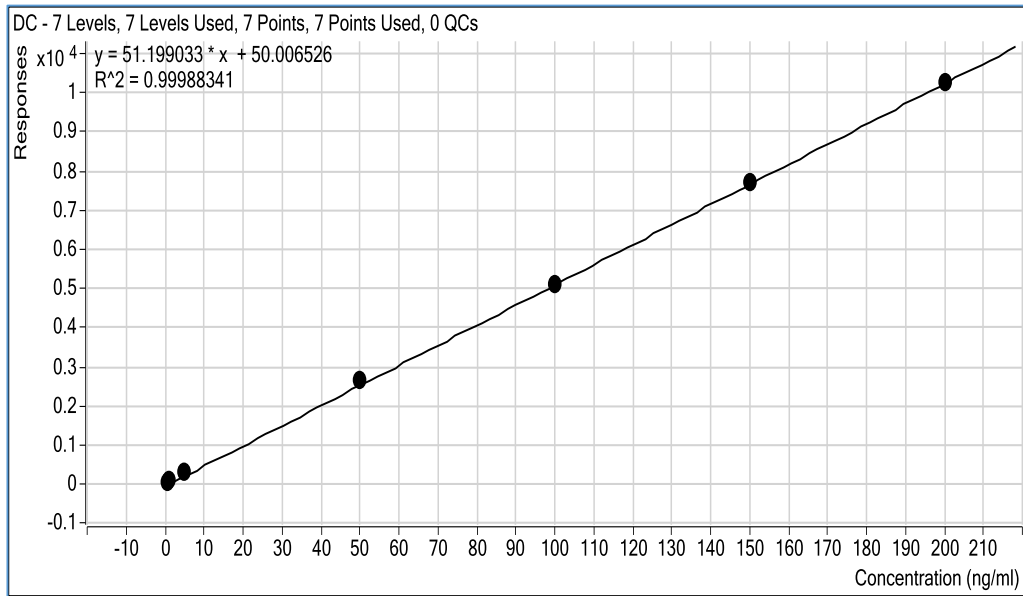
**Şekil A.5:** Sulfametazin ve Sulfakloropiridazin Kalibrasyon Eğrileri

**Şekil A.6:** Sulfadimetoksin ve Sulfametoksazol Kalibrasyon Eğrileri

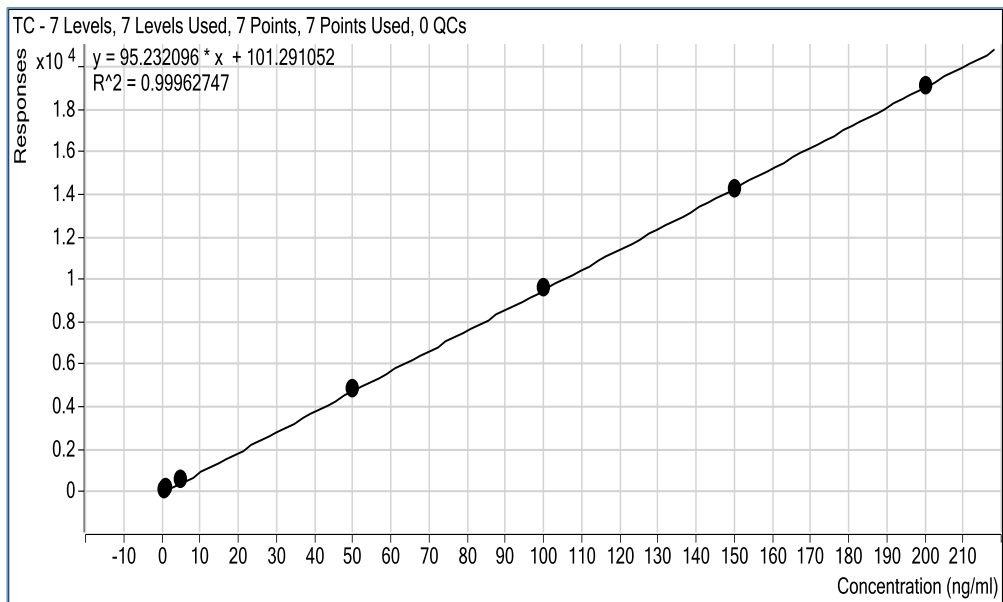
**Şekil A.7:** Sulfadoksin ve Sulfakinozalin Kalibrasyon Eğrileri



## Doksisiklin



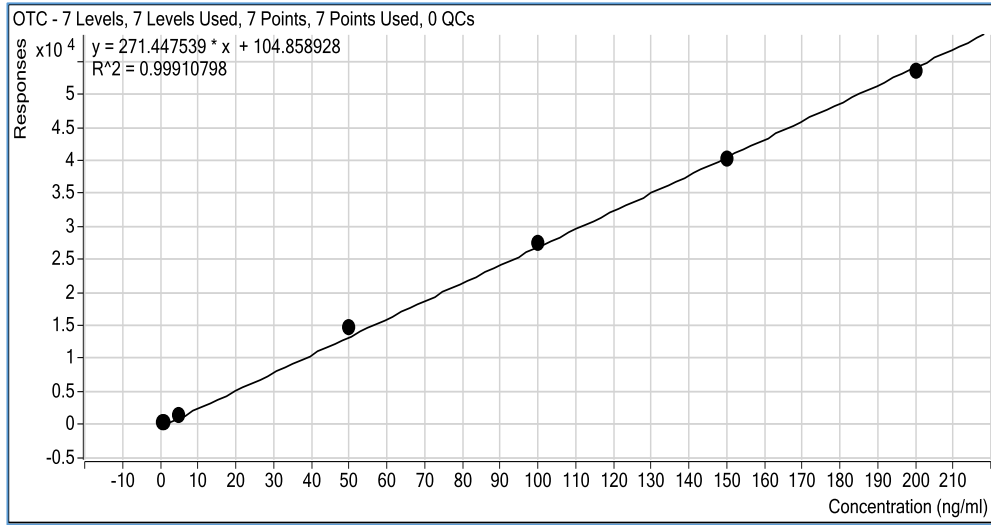
## Tetrasiklin



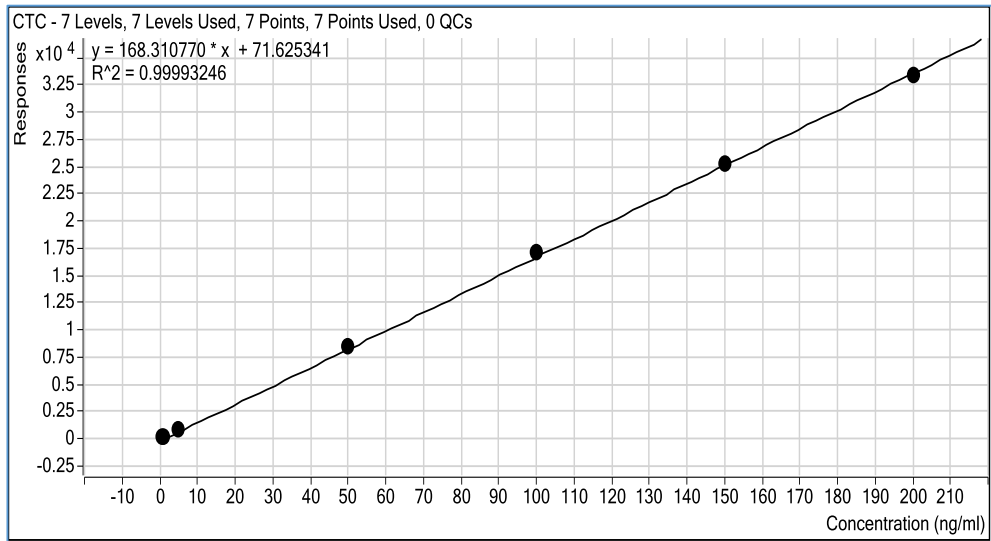
## Şekil A1



## Oksitetrasiklin



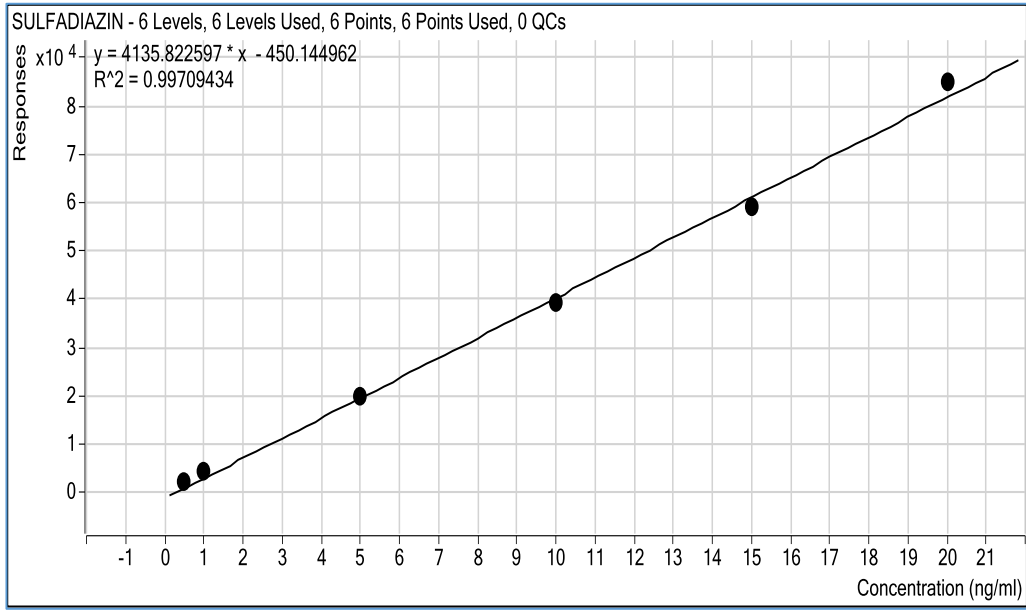
## Klorotetrasiklin



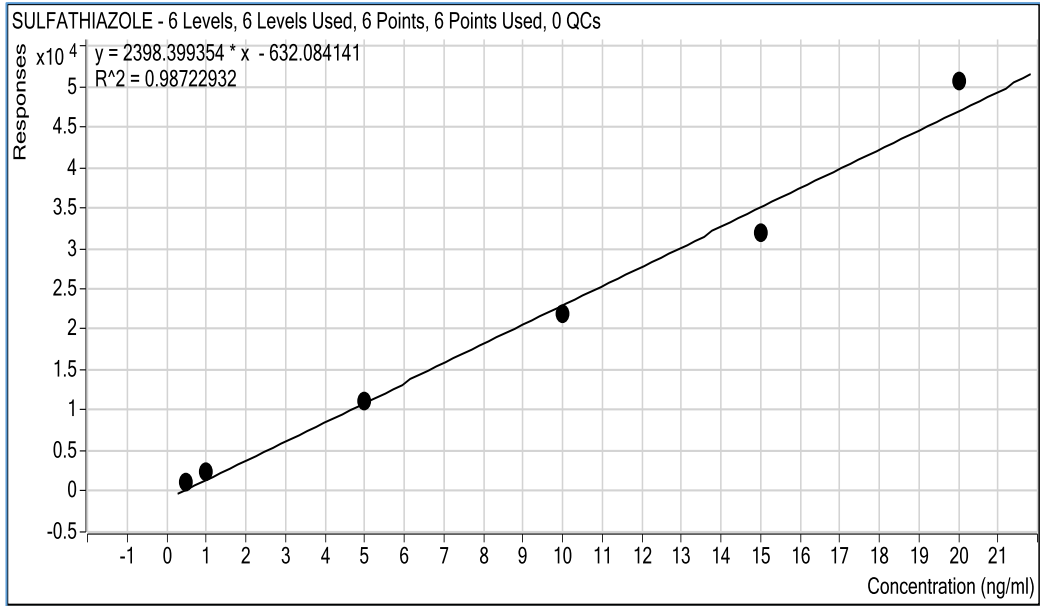
Şekil A2



## Sülfadiazin



## Sülfatiazol

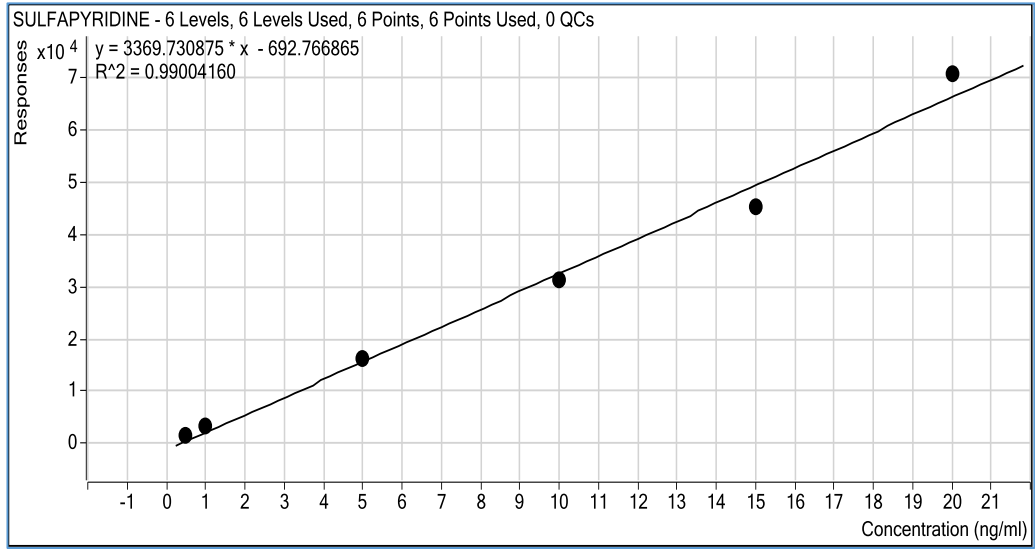


Şekil A3

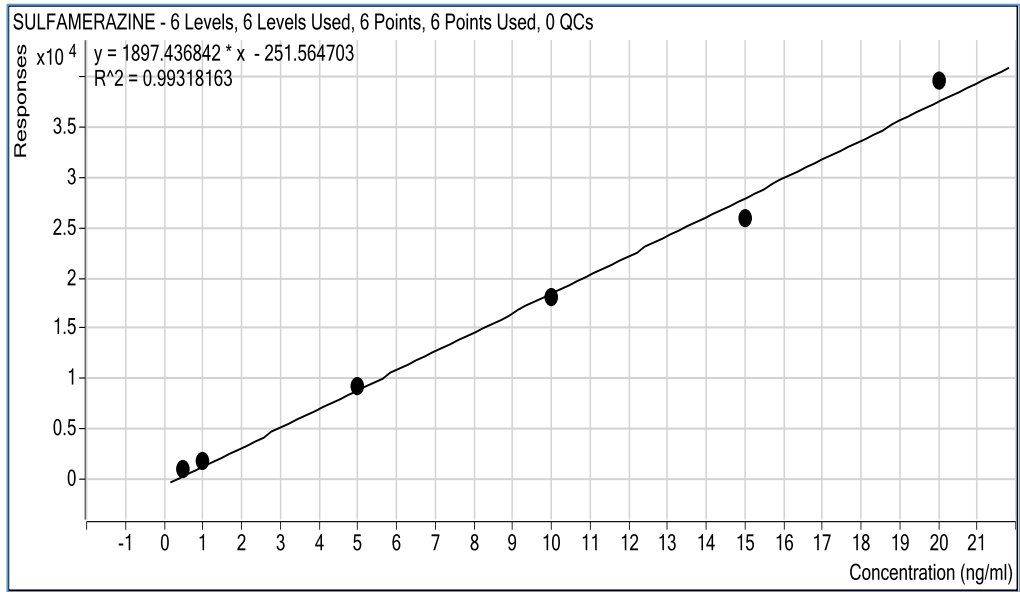




## Sülfapiridin



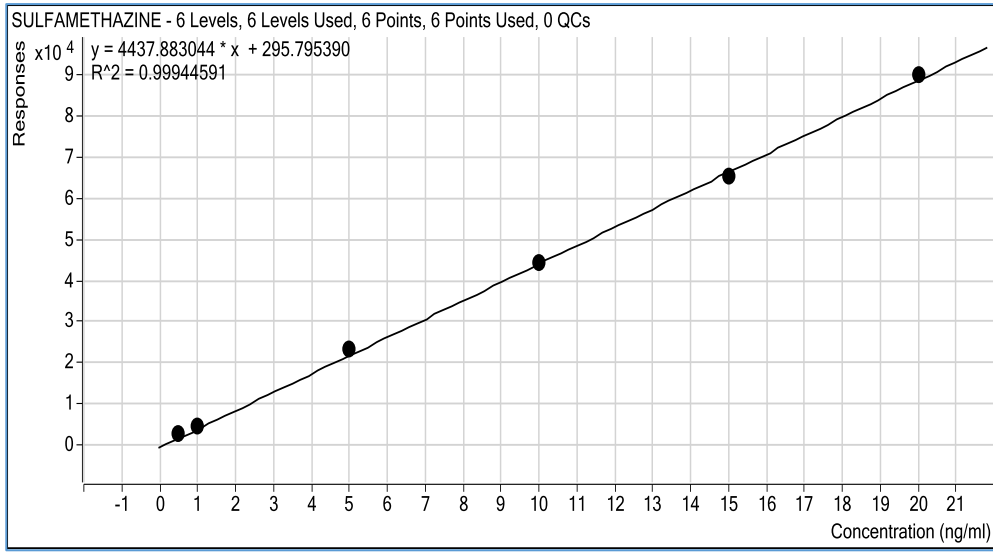
## Sülfamerazin



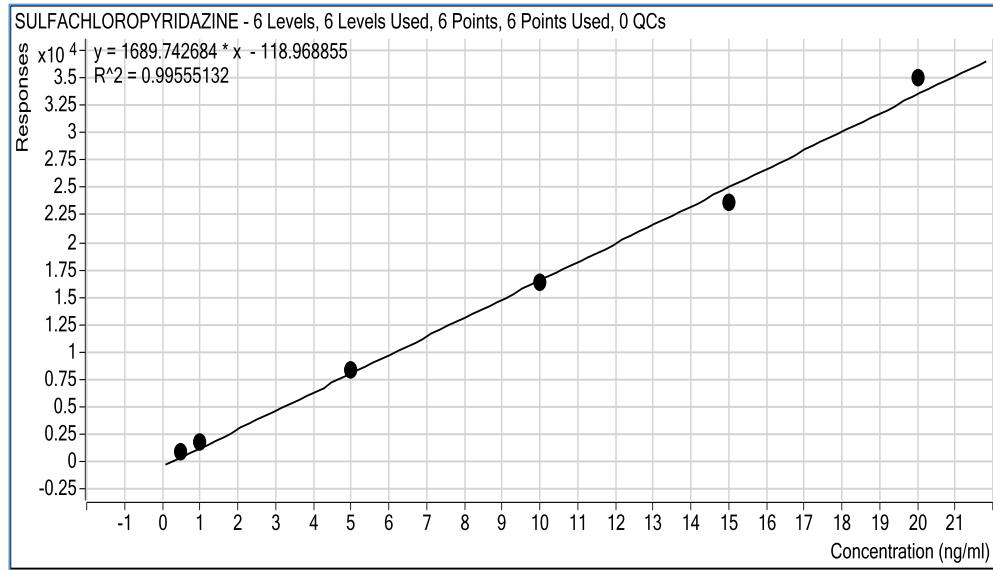
## Şekil A4



## Sülfametazin



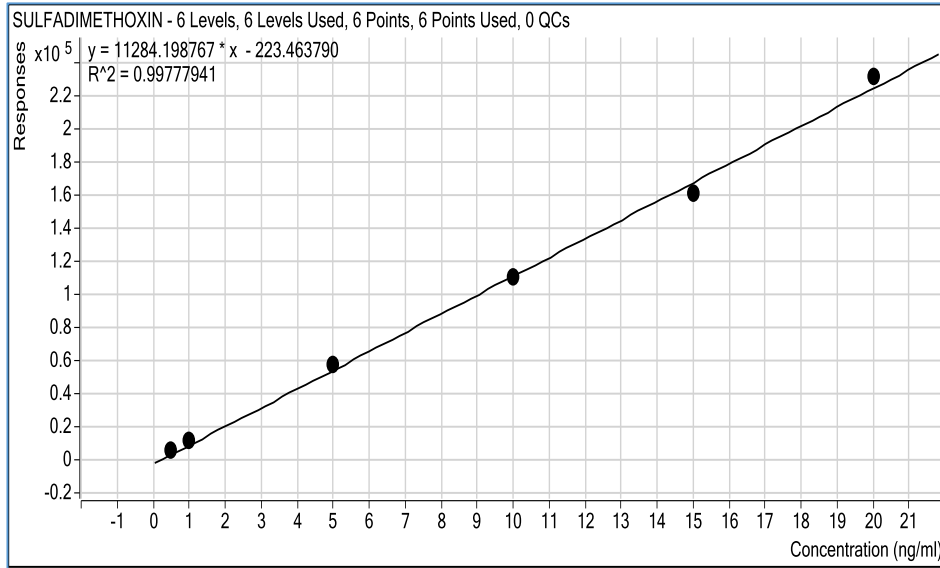
## Sülfakloropiridazin



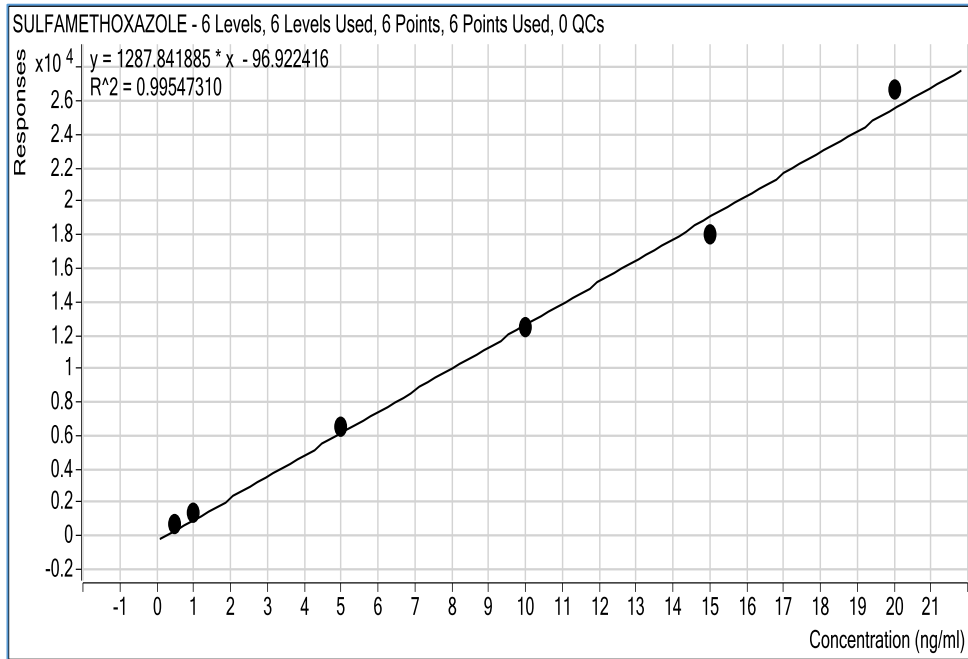
## Şekil A5



## Sülfadimetoksin



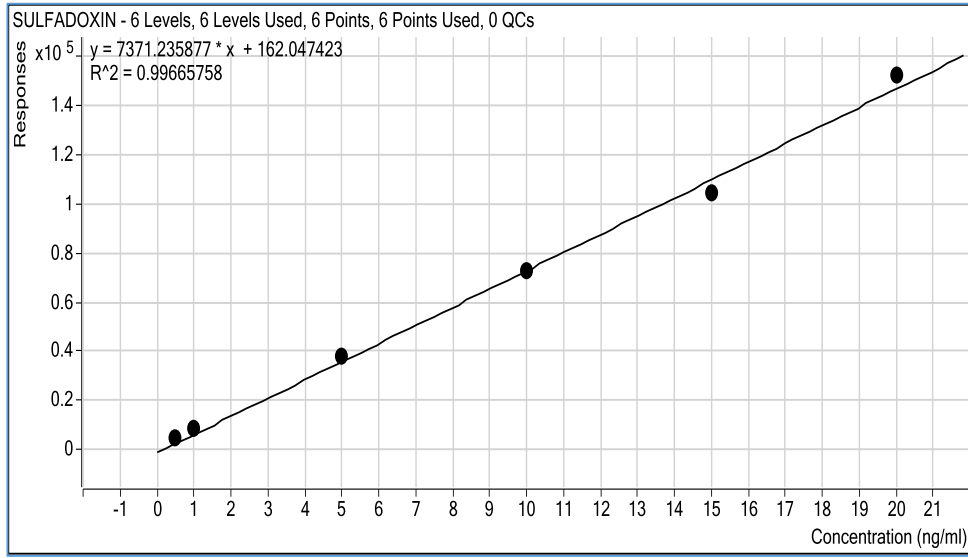
## Sülfametoksazol



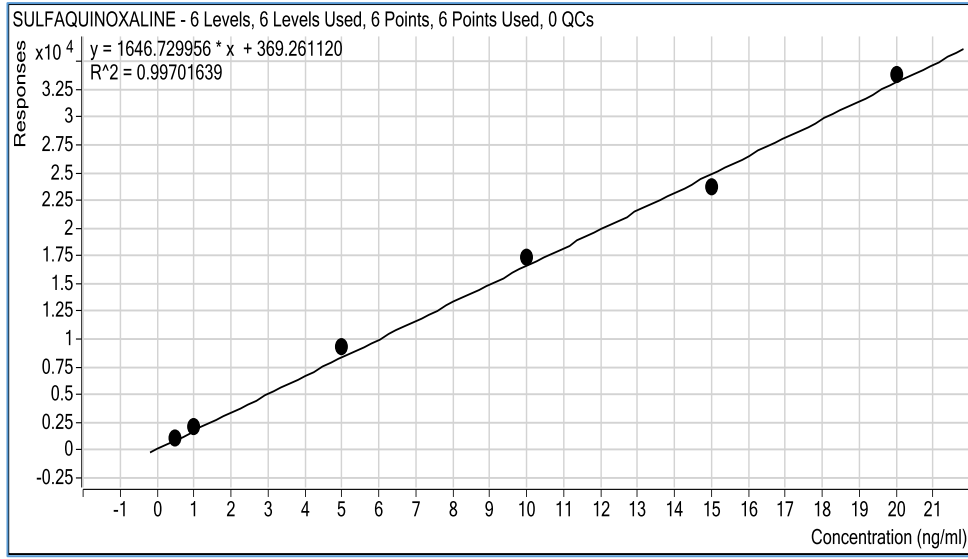
## Şekil A6



## Sülfadoksin



## Sülfakinozalin



Şekil A7





## **ÖZGEÇMİŞ**

**Ad- soyadı:** YASEMİN SARAÇ

**Doğum Tarihi ve Yeri:** 10.06.1980/ İSTANBUL

**E-posta:** sarac.yasemin@hotmail.com

**Öğrenim Durumu:** 1997,Taksim Atatürk Lisesi ,

**Lisans:** İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü

### **MESLEKİ DENEYİM**

Analist, Hohentem Institute Çevre Endüstriyel Analiz Laboratuvarı , Aralık 2001-  
Haziran 2004

Enstrumental lab supervisor, SGS Supervise Gözetme Etüd Kontrol Servisleri A.Ş,  
Haziran-2004-Ocak 2013

Aplikasyon (kromatografi) validasyon supervisor, SGS Supervise Gözetme Etüd  
Kontrol Servisleri A.Ş, Haziran-2004-Ocak 2013

Aplikasyon ve Method geliştirme Uzmanı (ARGE ), Jasem Laboratuvar Sistemleri  
ve Çözümleri A.Ş , Şubat 2013-

### **SERTİFİKA BİLGİLERİ**

Katılım,Sem lab kromatografi müşteri Destek Grubu - 05.2013,Agilent Technologies  
6460 LCMSMS kullanıcı eğitimi

Katılım, Sem lab kromatografi müşteri Destek Grubu - 07.2012,Agilent Technologies  
6460 LCMSMS kullanıcı eğitimi

Katılım, Sem lab kromatografi müşteri Destek Grubu - 05.2012,Agilent Technologies  
7000 GCMSMS kullanıcı eğitimi.

Eğitim,Imeco Industrial Management & Engineering - 01.2012,İletişim Bilinci

Katılım,SGG süpervise gözetme etüd kontrol servisleri A.Ş - 10.2011,Basınçlı Gaz  
Tüplerinin Güvenli Kullanımı

Katılım,Sem lab kromatografi müşteri Destek Grubu - 09.2011,Agilent Technologies  
6460 LCMSMS kullanıcı eğitimi.

Konferans,SGS INSTITUT FRESENIUS - 03.2011,PESTICIDE RESIDUES IN  
FOOD 6TH FRESENIUS CONFERENCE

Katılım,SGG süpervise gözetme etüd kontrol servisleri A.Ş - 12.2010,SGS Annual  
Integrity Training 2010

Katılım,Sem lab kromatografi müşteri Destek Grubu - 07.2010,Agilent Technologies  
7500 ICPMSMS kullanıcı eğitimi.

Eğitim,SGS süpervise gözetme etüd kontrol servisleri a.ş - 01.2010,iş sağlığı ve  
güvenliği eğitim sertifikası

Eğitim başarı sertifikası,kalite rehberi - 10.2009

TS EN ISO /IEC 17025 :2005 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği  
için Genel Şartlar

## **SEMİNER VE KURSLAR**

10 th European Pesticide Residue Workshop, EPRW 30 haziran-3 Temmuz 2014  
Convention Center Dublin,

SGS GLOBAL CTS MARKETING , INTERNAL WEBINAR PROGRAMME 2012 :  
Heavy Metal Analysis in Food Best Practices, Konuşmacı: Yasemin Saraç

TS EN ISO /IEC 17025:2005 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının yeterliliği  
için genel şartlar, KALİTE REHBERİ 04.10.2010 - 05.10.2010 (10 Hours)

Agilent Technologies 1200 HPLC sistemi ve chemstation software,SEM LAB  
01.12.2009 - 03.12.2009 (20 Hours)

Kimyasal maddelerle çalışmalarda alınması gereken güvenlik tedbirleri,DETAM  
04.11.2009 - 04.11.2009 (4 Hours)

Temel iş sağlığı ve güvenliği eğitimi,Global eğitim merkezi 04.04.2007 - 04.04.2007  
(4 Hours)

Laboratuvar güvenliği bilgilendirme eğitimi,SGS supervizer gözetme etüd kontrol  
13.11.2006 - 13.11.2006 (4 Hours)

Maintenance ,Principles & Practices of 200 ion trap GCMS traning course,varian ltd  
oxford England 30.10.2006 - 03.11.2006 (20 Hours)

Varian GC-MSD workstation data handling traning course,Varian ltd oxford England  
30.10.2006 - 03.11.2006 (20 Hours)

Agilent technologies 1100 lc/msd trap software ve aplikasyon uygulamaları,SEM  
LAB 14.06.2004 - 25.06.2004 (50 Hours)

HP 5972 Gaz kromatoğrafi -mass selective dedector,SEM LAB 08.12.2003 -  
08.12.2003 (5 Hours)

LC-DAD,dolunay eğitimmerkezi 10.11.2003 - 10.11.2003 (5 hours)

