

Etlik Piliç Dokularındaki Levamizol Kalıntıları Üzerine Çeşitli Pişirme ve Dondurma İşlemlerinin Etkisinin Araştırılması ^[1]

Emine SEVER *  Emine BAYDAN **

[1] Aynı başlıklı doktora tez çalışmasından özetlenmiştir

* T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarım İl Müdürlüğü, TR-58060 Sivas - TÜRKİYE

** Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-06110 Dışkapı, Ankara - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2012-7609

Özet

Bu çalışma Türkiye'de paraziter hastalıklarının sağaltımı amacıyla kullanılan levamizolün kanatlı dokularındaki kalıntıları üzerine çeşitli pişirme ve soğukta muhafaza işlemlerinin etkisi olup olmadığını belirlemek amacıyla yapıldı. Bu amaçla 10 adet Ross PM-3 ırkı etlik civcivlere levamizol oral gavaj ile 36 mg/kg/2 ml olacak şekilde verildi. Tavuklar ilacın verilmesini takiben 12 saat sonra kesilerek sağ but, sağ göğüs ve karaciğer dokusu alındı. Numuneler çiğ, ızgara, haşlama, derin dondurucuda (-18°C) 15 ve 30 gün bekletmek için beş eşit parçaya ayrıldı. Daha sonra dokular ekstrete edilerek yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemiyle (HPLC) analiz edildi. Buna göre but, göğüs ve karaciğer dokularındaki levamizol miktarı sırasıyla çiğ dokuda $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak 0.258 ± 0.019 , 0.178 ± 0.021 , 0.188 ± 0.011 ; ızgara işlemine tabii tutulan dokularda 0.152 ± 0.019 , 0.094 ± 0.011 , 0.123 ± 0.011 ; haşlama işlemine tabii tutulan dokularda 0.079 ± 0.010 , 0.089 ± 0.093 , 0.088 ± 0.005 ; 15 gün -18°C'de dondurma işlemine tabii tutulan dokularda 0.117 ± 0.015 , 0.119 ± 0.009 , 0.169 ± 0.014 ; 30 gün -18°C'de dondurma işlemine tabii tutulan dokularda ise 0.087 ± 0.008 , 0.089 ± 0.093 , 0.128 ± 0.011 şeklinde bulundu. Yapılan bu çalışmada dokularda levamizolün kaybolmadığı, sadece uygulanan işleme göre konsantrasyonunun azaldığı, analizi yapılan dokuların çeşidine göre de dağılımının homojen olmadığı, aksine sırasıyla çiğ ve ızgarada but, karaciğer, göğüs haşlamada ise göğüs, karaciğer, but sırasını izleyerek azalma gösterdiği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Levamizol, Etlik piliç eti, Pişirme, Dondurma, HPLC

The Effect of Various Cooking and Freezing Processes on the Levamisole Residues in Broiler Tissues

Summary

This study was carried out to investigate the effect of various cooking and freezing processes on the levamisole residues in poultry tissues, which is one of most commonly used antiparasiter drug, has been frequently using in Turkey as well. For this purpose, 10 of Ross PM-3 breed chicks were given levamisole by oral gavage at 36 mg/kg/2 ml. After 12 h administration of drug, chicken were sacrificed, after that, their right legs, breasts and livers were cut out. The samples were divided into 5 equal parts in order to asses different processing such as raw, grilled, boiled and deep frozen (-18°C) for 15 and 30 days storage. After processes, the extraction of tissues was done and analyzed by high pressure liquid chromatography (HPLC) method. Therefore, the levamisole amount in leg, breast and liver tissues were determined as follows, respectively: In raw tissues ($\mu\text{g}/\text{kg}$): 0.258 ± 0.019 , 0.178 ± 0.021 , 0.188 ± 0.011 ; in grilled tissues 0.152 ± 0.019 , 0.094 ± 0.011 , 0.123 ± 0.011 ; in boiled tissues 0.079 ± 0.010 , 0.089 ± 0.093 , 0.088 ± 0.005 ; in frozen tissues for 15 days (-18°C) 0.117 ± 0.015 , 0.119 ± 0.009 , 0.169 ± 0.014 ; in frozen tissues for 30 days (-18°C) 0.087 ± 0.008 , 0.089 ± 0.093 , 0.128 ± 0.011 . Finally, this study showed that levamisole did not clean from the tissues totally, but its amount reduced, depends on the kinds of processing, also its distribution regarding analyzed tissues was not homogeneous, on contrary, it showed a decline as follows respectively; legs, livers, breasts in raw and grilled samples and breasts, livers, legs in boiled samples.

Keywords: Levamisole, broiler meat, cooking, freezing, HPLC

GİRİŞ

Hayvanlarda hastalıkların sağaltımı ve önlenmesi, gelişmenin hızlandırılması ve yemden yararlanmanın artırılması,

paraziter hastalıkların kontrolü ve beslenmenin desteklenmesi amacıyla çok sayıda ilaç, hormon, vitamin ve mineral



İletişim (Correspondence)



+90 346 2151721



dr_eminesever@hotmail.com

madde kullanılmaktadır. Özellikle etlik piliçlerde olduğu gibi hayvanlardan bazıları son derece kısa süreli olan yaşamlarını tümüyle ilaçlı olarak geçirmektedirler^{1,2}. Bir imidazol türevi olan levamizol bu ilaçlardan biridir. Bugün için birçok hayvan türünde geniş bir antelmentik spektruma sahip olması, aynı zamanda sindirim ve solunum sistemi nematodları üzerinde etkili olabilmesi ve ağızdan ve parenteral yollarla da verilebilmesi gibi üstünlükleri nedeniyle bu alanda en fazla kullanılan ilaçlardan biridir³⁻¹². Benzimidazol bileşikleriyle karşılaştırıldığında levamizol ile tetramizolün çok geniş bir güvenlik eşliğine sahip olduğu bildirilmektedir. Levamizol kanatlı hayvanlara genellikle içme sularında çözülmüş olarak verilir. Sağaltım dozlarında 36-48 mg/kg levamizol alımının sağlanabilmesi için hayvanların su tüketimi dikkate alınarak %0.01 yoğunlukta levamizol içeren suların 12 saat süreyle verilmesi öngörülür¹³.

İlacın tüketilmeden önce besinlerin pişirilme veya konserveleme gibi herhangi bir işlemde geçirilmesiyle mevcut kalıntıların kalış ve kaybolma durumunu açıklayacak konulara ilişkin yeterli bir bilgi yoktur. Pişirme esnasında proteinlerde yıkılma, sıcaklığa ve pişirilme şekline bağlı olarak rutubet ve yağ kaybı ile pH'da değişim olabilir. Bu faktörlerin bir veya bir kaçında görülen değişikliklere bağlı olarak ilaç kalıntılarının çözünabilirliği veya miktarında değişim görülebilir¹⁴. Keza çok sayıda olmamakla birlikte yapılan bazı araştırmalar hayvansal ürünlere uygulanan haşlama, kızartma, konserveleme gibi pişirme işlemleri, soğukta (+4°C) ve dondurma (-20,-76°C) ile depolamanın ilaç kalıntılarında azalmaya sebep olacağını göstermiştir¹⁵.

Rose ve ark.¹⁶ bazı ithal sığır ve domuz etlerindeki levamizol kalıntıları üzerine bazı pişirme işlemlerinin etkisini araştırmışlardır. Yapılan araştırma sonucunda levamizolün 100°C'de kaynatmaya dayanıklı olduğu ancak 260°C'de yağda yaklaşık 5 dak. kızartma ile ilacın yarı yarıya kayba uğradığı gözlenmiştir. Günümüze kadar hayvan dokularındaki levamizol kalıntıları üzerine yapılan araştırmalar çoğunlukla çiğ dokudaki düzeyleri üzerine olmuştur. Ancak çok sayıda olmasa da domuz ve sığır etlerindeki levamizol kalıntıları üzerine pişirme işlemlerinin etkileri değerlendirilmiştir^{14,16}. Fakat bu araştırmalarda kanatlı dokularındaki levamizol kalıntıları ile ilgili olarak ne pişirmenin ne de soğukta muhafazanın etkisi değerlendirilmemiştir. Bu araştırmada, Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemiyle tavuk dokularında bulunan levamizol kalıntıları üzerine kömürde ızgara ve haşlama gibi pişirme yöntemleri ile dondurucuda (-18°C) saklamanın etkisi değerlendirilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan antelmentik standardı Levamizol HCl (%99 L-9756 Lot 97H3459) Sigma (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA), diğer kimyasal maddeler ise ticari firmalardan temin edildi.

Hayvan Materyali

Materyal olarak Abaloğlu Tavukçuluk A.Ş.'den temin edilen kuluçkadan yeni çıkmış 10 adet Ross-PM3 ırkı etlik civcivler kullanıldı. Civcivler 1.5-2.0 kg ağırlığa ulaşıncaya kadar 45 gün süreyle ilaç kalıntısı ihtiva etmeyen 1-9. günler arası etlik civciv başlangıç granül yemi; 10-26. günler arası etlik civciv granül yemi; 27-38. günler arası etlik piliç pelet yemi; 39-42. günler arası piliç bitirme pelet yemi ile beslendi. Bu yemlerin ham protein miktarları sırasıyla %23, %22, %19-20, %19-20'dir. Metabolik enerji miktarları ise kcal/g/gün cinsinden 3050, 3150, 3200, 3150'dir. Ortamın ısı ilk günden son güne kadar 34°C'den 22°C'ye kadar giderek azalan oranlarda günlük olarak değişim gösterirken, nem oranı ise %56'dan %78'e kadar giderek artan oranlarda günlük değişim göstermiştir. Ayrıca çalışma ile ilgili Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (18.01.2002/2).

Deneyisel Aşama

Çalışmaya alınan tavuklara canlı ağırlıkları göz önünde tutularak levamizol hidroklorür teknik standardı 36 mg/kg/2 ml olacak şekilde ince bir plastik sondaya bağlı enjektör yardımı ile doğrudan kursağa verildi. İlaç verilme işleminden 12 saat sonra levamizolün kanatlılardaki kinetiği göz önünde tutularak tavuklar kesildi¹⁷.

Kesim işlemleri sırasında her hayvandan sağ but, sağ göğüs ve karaciğer dokuları alınarak laboratuvara getirildi. Daha sonra laboratuvarında bekletilmeden çiğ, ızgara, haşlama, derin dondurucuda (-18°C) 15 ve 30 gün bekletme için beş eşit parçaya ayrıldı. Dondurulacak dokular alüminyum folyolara sarılarak derin dondurucuya yerleştirildi ve günü geldiğinde analiz işlemine tabii tutuldu. Izgara işlemleri meşe kömürü ile 7 dakikalık bir pişirme süresi içerisinde gerçekleştirildi. Haşlama işlemleri bir balon içersinde dokunun üzerine 25 ml'lik su ilavesi ile 100°C'de 20 dak. kaynatılarak yapıldı; ısının kontrollü olması için de ayarlı elektrikli ocak kullanıldı.

Ekstraksiyon

Ekstraksiyon işlemi Bukanski ve ark.'nın¹⁸ bildirdiği yöntem göre yapıldı. Sağ but ve sağ göğüs doku örneklerinden 10 g, karaciğerden 7 g alınarak 100 ml'lik santrifüj tüpüne konuldu. Sağ but ve sağ göğüs doku örneklerinin üzerine 30 ml etil asetat, %50'lik 1ml potasyum hidroksit ve 5 g sodyum sülfat, karaciğer doku örneğine 21 ml etil asetat, 0.7 ml %50'lik potasyum hidroksit, 3.5 g sodyum sülfat ilave edildi. Numuneler 1 dak. vortekste çalkalandı. 15 dak. santrifüj tüpünde beklettikten sonra 10 dakika daha çalkalanarak karışım 3.000 devirde 5 dak. santrifüj edildi.

100 ml'lik santrifüj tüplerine but ve göğüs dokusu bulunan tüplerdeki etil asetat fazından ayrı ayrı 20 ml, karaciğer dokusu bulunan santrifüj tüpünden de 14 ml aktarıldı. But ve göğüs dokusu bulunan tüplere 5 ml 0.5 mol hidroklorik asit, karaciğer dokusu bulunan tüpe 3.5 ml 0.5 mol hidroklorik asit ilave edildi. Tüpler elle kuvvetlice çalkalandıktan

sonra iki dakika boyunca da vortekste çalkalandı ve 3.000 devirde 5 dak. santrifüj edildi. Üst tabakadaki etil asetat kısmı atılarak alttaki but ve göğüs için 5 ml, karaciğer için 3.5 ml 0.5 mol hidroklorik asit 10 ml'lik santrifüj tüplerine boşaltıldı. Sulu asit solüsyonlarından levamizolü ekstrakte etmek için ortam alkali yapıldı. Bunun için tüplere 1 ml %50'lik potasyum hidroksit solüsyonu ilave edilerek karıştırıldı ve oda ısısında soğumaya bırakıldı. 500 µl kloroform ilavesinden sonra karışımlar elle çalkalanarak 2 dak. vorteks cihazında karıştırıldı ve 10 dak. bekletildi. İki tabakanın ayrılması için tüpler 2.500 devirde 5 dak. santrifüj edildi. Tüplerin üstünde bulunan sıvı tabaka atıldı ve kloroform tabakası başka bir santrifüj tüpüne aktarıldı. Bu aktarma işlemi hareketli (mobil) fazdaki mevcut kirlilikleri bertaraf etmek için yapıldı. Kloroform 50-55°C'de ısıtılan buharlaştırıcıda azot gazı akımı altında uçuruldu ve kalıntı 500 ml mobil fazda (0.03 mol/litre sodyum asetat/metanol, %35 + %65 hacimle) tekrar çözdürüldü. Elde edilen bu ekstrakt bir steril enjektörle mikrofiltreden geçirilerek şişelere aktarıldı. Bununun 100 ml'si cihaza uygulandı.

Kromotografi Cihazının Hazırlanması

Numunelerin kromatografik analizinde HPLC (Agilent 1100, Agilent Technologies, Germany) cihazı kullanıldı. Cihazın hazırlanması işlemi için sodyum asetat (0.03 mol/litre) ve metanol 0.45 ml'lik kağıt filtrelerden süzülerek viallere alındı. Hazırlanan mobil faz sıvı kromatografisi sistemiyle bağlanarak dakikada kolondan (C-18) 1 ml geçecek şekilde ayarlandı. DAD dedektörün sig=250.100 ref=360.100 dalga boyu seçildi. Analiz süresi 11 dakika olarak belirlendi. HPLC'ye 100 ml enjekte edildi. Mobil fazın akışı 1 ml/dak. olacak şekilde ayarlanarak yaklaşık 1 saat süresince kolondan geçiş sağlandı ve kolon analiz edilecek maddeyi belirlemesi yönünde şartlandırıldı.

Numunelerin Analizi

Ekstraksiyon işleminden geçirilerek toplanan ve viallere konulan numune eluatından 100 ml hacimde kromatografiye enjekte edildi. Analiz edilen numunede aynı yerde pik alanı oluşturup oluşturmadığı, eğer pik alanı mevcut ise kalibrasyon eğrisine göre hangi yoğunluğa tekabül ettiği belirlenerek değerlendirildi. Ayrıca çalışmada 7.5 mg/ml'lik stok solüsyonundan 250 ml (1.875 mg) ve 500 ml (3.75 mg) miktarlar (n=3) geri kazanım çalışmasında kullanıldı (Şekil 2, 3 ve 4).

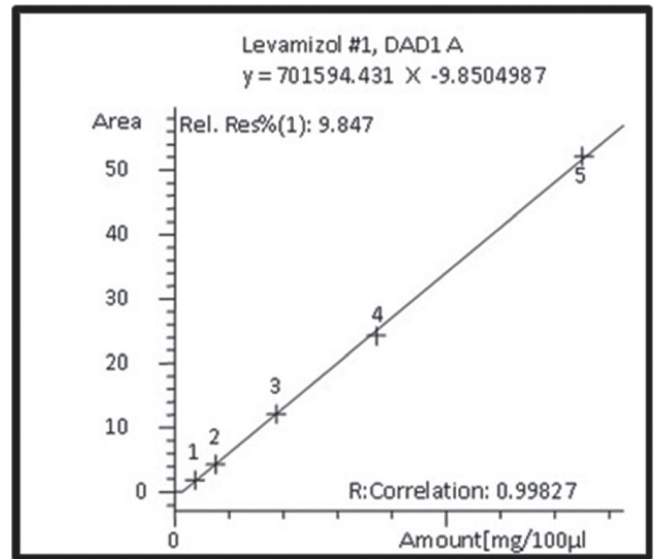
İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS paket programı kullanıldı. Analizde tek yönlü varyans analizi ve gruplar arası değerlen-

dirmeler ise Duncan metoduna göre yapıldı. Çalışmadan elde edilen veriler aritmetik ortalama ve standart hata ile minimum ve maksimum değerler şeklinde verildi. İstatistiksel olarak önemlilik $P < 0.05$ şeklinde ifade edildi.

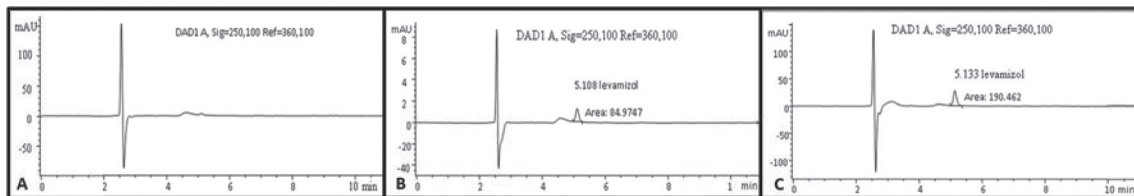
BULGULAR

Araştırmada her çalışma başlangıcında numune analizinden önce 7.5 mg/ml olacak şekilde hazırlanan stok solüsyondan ayrı ayrı 2 defa enjekte edilerek levamizol alıkonma süresi (dakika) belirlendi. Yapılan 16 deneme sonucunda levamizolün ortalama alıkonma süresi 5.051 ± 0.141 dak olarak tespit edildi. Yapılan denemeler ve hesaplamalar sonucunda levamizolün cihazda tespit edilebilir en alt düzeyi 9.15 ng/kg olarak belirlendi. Levamizol çalışma standart çözeltisinin kalibrasyon eğrisi Şekil 1'de verilmiştir. Çalışmada levamizol çalışma standart çözeltisinin 0.37; 0.75; 1.875; 3.75 ve 7.5 mg/ml'lik yoğunluklarına karşılık ölçülen alanlar sırasıyla 18.08; 42.74; 121.07; 231.45 ve 527.32 olarak belirlenmiştir. Her bir dokuya ait kalıntısız, 1.875 mg ve 3.75 mg levamizol eklenmiş kromotogram analiz sonuç grafikleride sırasıyla Şekil 2, 3 ve 4'te gösterilmiştir. Tavuklara ağızdan 36 mg/kg/2 ml miktarında verilen levamizolün çığ, haşlama, ızgara, 15 günlük ve 30 günlük (-18°C) dondurma işlemlerine tabii tutulmuş sağ buttaki, sağ göğüsteki ve karaciğer doku ekstrakt kromotografileri sırasıyla Şekil 5, 6 ve 7'de gös-



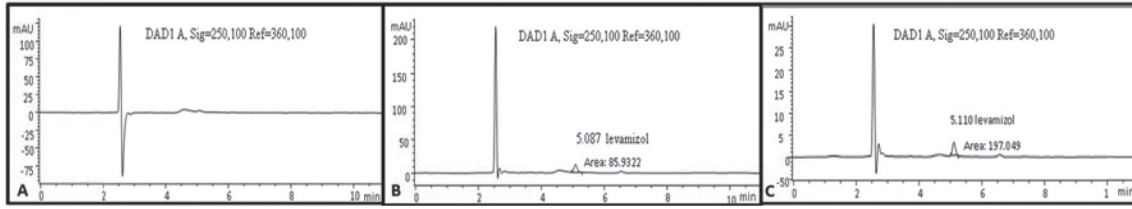
Şekil 1. Levamisolün kalibrasyon eğrisi

Fig 1. Calibration curve of levamisole application



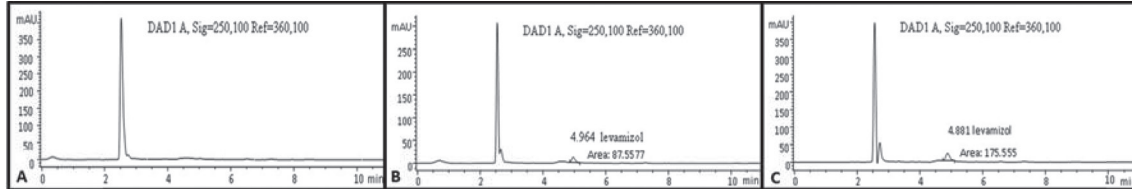
Şekil 2. Kalıntısız (A), 1.875 mg (B) ve 3.75 mg (C) levamisol eklenmiş tavuk but dokusundaki kromotogram analiz sonuçları

Fig 2. Chromatography analysis results of nonresidue (A) and added levamisole at 1.875 mg (B), and 3.75 mg (C) in chicken leg tissue



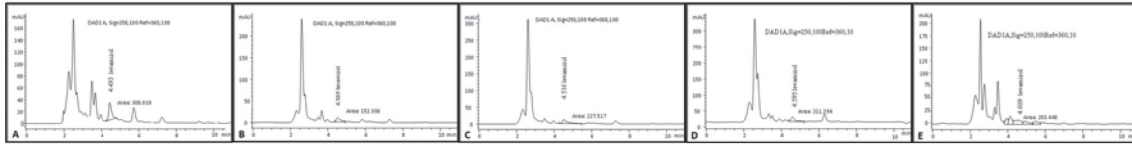
Şekil 3. Kalıntısız (A), 1.875 mg (B) ve 3.75 mg (C) levamisol eklenmiş tavuk göğüs dokusundaki kromatogram analiz sonuçları

Fig 3. Chromatography analysis results of nonresidue (A) and added levamisole at 1.875 mg (B), and 3.75 mg (C) in chicken breast tissue



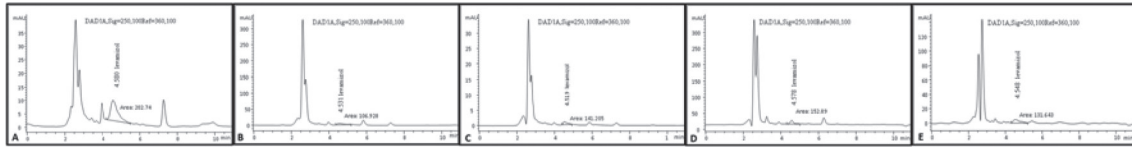
Şekil 4. Kalıntısız (A), 1.875 mg (B) ve 3.75 mg (C) levamisol eklenmiş tavuk karaciğer dokusundaki kromatogram analiz sonuçları

Fig 4. Chromatography analysis results of nonresidue (A) and added levamisole at 1.875 mg (B), and 3.75 mg (C) in chicken liver tissue



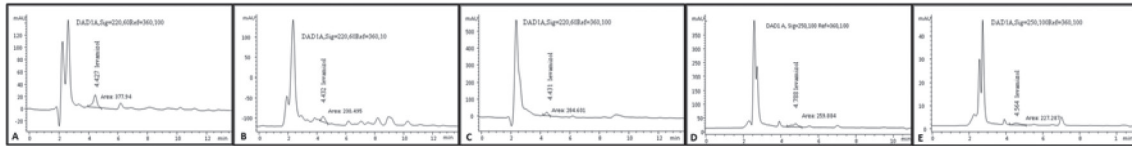
Şekil 5. Ağızdan 36 mg/kg/2 ml miktarında verilen levamisolün çiğ (A), haşlama (B), ızgara (C), 15 (D) ve 30 (E) günlük (-18°C) dondurma işlemlerine tabii tutulmuş but dokusundaki kalıntı kromatogram sonuçları

Fig 5. Leg tissue residue chromatography results given perorally 36 mg/kg/2 ml levamisole to animals in raw (A), boiled (B), grilled (C), 15 (D), and 30 (E) freezing (-18°C) days



Şekil 6. Ağızdan 36 mg/kg/2 ml miktarında verilen levamisolün çiğ (A), haşlama (B), ızgara (C), 15 (D) ve 30 (E) günlük (-18°C) dondurma işlemlerine tabii tutulmuş göğüs dokusundaki kalıntı kromatogram sonuçları

Fig 6. Breast tissue residue chromatography results given perorally 36 mg/kg/2 ml levamisole to animals in raw (A), boiled (B), grilled (C), 15 (D), and 30 (E) freezing (-18°C) days



Şekil 7. Ağızdan 36 mg/kg/2ml miktarında verilen levamisolün çiğ (A), haşlama (B), ızgara (C), 15 (D) ve 30 (E) günlük (-18°C) dondurma işlemlerine tabii tutulmuş karaciğer dokusundaki kalıntı kromatogram sonuçları

Fig 7. Liver tissue residue chromatography results given perorally 36 mg/kg/2 ml levamisole to animals in raw (A), boiled (B), grilled (C), 15 (D), and 30 (E) freezing (-18°C) days

Tablo 1. Farklı pişirme işlemlerinin etlik piliç dokularındaki levamisol kalıntısı üzerine etkisi (µg/kg)

Table 1. The effect of different cooking procedures on the levamisole residues in broiler tissues (µg/kg)

Doku	Çiğ	ızgara	Haşlama
Sağ But	0.258±0.019 ^{a,A}	0.152±0.019 ^{a,B}	0.079±0.010 ^{a,C}
Sağ Göğüs	0.178±0.021 ^{b,A}	0.094±0.011 ^{c,B}	0.089±0.093 ^{b,B}
Karaciğer	0.188±0.011 ^{b,A}	0.123±0.011 ^{b,B}	0.088±0.005 ^{b,C}

^{A,B,C}: Büyük harfler sütunlar arası farklılığı belirtir; ^{a,b,c}: Küçük harfler satırlar arası farklılığı belirtir. Ortalama ± Standart sapma, n: 10, P<0.05

Tablo 2. Farklı sürelerde soğukta (-18°C) bekletmenin etlik piliç dokularındaki levamisol kalıntısı üzerine etkisi (µg/kg)

Table 2. The effect of cold waiting in different periods (-18°C) on the levamisole residues in broiler tissues (µg/kg)

Doku	1. gün	15. gün	30. gün
Sağ But	0.258±0.019 ^{a,A}	0.117±0.015 ^{b,B}	0.087±0.008 ^{a,C}
Sağ Göğüs	0.178±0.021 ^{b,A}	0.119±0.009 ^{a,B}	0.089±0.093 ^{a,C}
Karaciğer	0.188±0.011 ^{b,A}	0.169±0.014 ^{b,B}	0.128±0.011 ^{b,C}

^{A,B,C}: Büyük harfler sütunlar arası farklılığı belirtir; ^{a,b,c}: Küçük harfler satırlar arası farklılığı belirtir. Ortalama ± Standart sapma, n: 10, P<0.05

terilmiştir. Ayrıca 7.5 µg/ml'lik levamizol stok solusyonundan 250 ml (1.875 mg) ve 500 ml (3.75 mg) miktarında ilave- siyle elde edilen geri kazanım sonuçları, sırasıyla, sağ butta 52.62±0.028 ve 61.71±0.014 mg; sağ göğüste 53.14±0.042 ve 63.89±0.070 mg, karaciğerde 54.24±0.056 ve 56.93±0.070 mg olarak tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmada 10 adet tavuğa ait sağ but, sağ göğüs ve karaciğer dokularına ızgara, haşlama gibi pişirme işlemleri ve soğukta 15-30 gün bekletme işlemleri yapılarak elde edilen 150 adet numune analiz edilmiştir. Çalışmada farklı pişirme işlemlerinin levamizol kalıntısı üzerine etkisi *Tablo 1*'de verilmiştir. Buna göre, levamizol kalıntısı içeren sağ but dokularına uygulanan ızgara işlemleri sonucunda, kalıntı miktarı çığ dokuya göre %41.1 oranında, haşlama işlemi sonucunda ise % 69.4 oranında azalma göstermiştir (P<0.05). Sağ but dokusundaki pişirme işlemleri incelendiğinde haşlama yapılan dokulardaki ilaç kalıntı miktarları ızgaraya göre daha fazla azalmıştır (P<0.05). Sağ göğüs dokularında ızgara ve haşlama işlemi sonucunda bulunan levamizol kalıntı değerleri çığ dokuya göre sırasıyla %47.2 ve %50'lik bir azalmaya yol açmıştır (P<0.05). Izgara ve haşlama dokuları incelendiğinde yine haşlama yapılan dokulardaki ilaç kalıntı- larının ızgaraya göre azaldığı görülmüştür (P>0.05). Çığ, ızgara ve haşlama yapılan karaciğer dokularındaki ilaç kalıntı miktarları incelendiğinde de ızgara ve haşlama dokularındaki ilaç kalıntısı çığ dokuya göre sırasıyla %34.6 ve %53.2 azalma göstermiştir (P<0.05). Izgara yapılan ve haşlama işlemine tabi tutulan dokulardaki ilaç miktarları karşılaştırıldığında haşlama sonucu ilaç miktarının ızgaraya göre daha çok azal- dığı belirlenmiştir (P<0.05).

Çalışma sonunda elde edilen verilerle ilgili olarak, farklı sürelerde soğukta (-18°C) bekletmenin levamizol kalıntısı üzerine etkisi *Tablo 2*'de gösterilmiştir. Soğukta bekletme sonucu levamizol kalıntısının çığ dokuya göre sağ butta; 15. gün -18°C'de bekletmede %55, 30. gün -18°C'de bekletildi- ğinde ise %66.3 azaldığı, çığ dokuya göre sağ göğüste 15. gün -18°C'de bekletmede %33.1, 30. gün -18°C'de beklet- mede %50, çığ dokuya göre karaciğerde 15. gün -18°C'de bekletmede %10.1, 30. gün -18°C'de bekletmede %32 azal- dığı (P<0.05) görülmüştür.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Veteriner ilaç kalıntılarının et ve et ürünlerinde bulun- ması tüketicilerin sağlığı açısından önemli sakıncalar oluşturu- maktadır¹⁹. Bu durum, giderek bilinçlenen, kaliteli ve sağlıklı ürün satın almak isteyen tüketicilerde kaygı uyandırmak- tadır²⁰. Bu çalışmada Türkiye'de paraziter hastalıklarının sağaltımı amacıyla kullanılan levamizolün kanatlı dokuların- daki kalıntıları üzerine çeşitli pişirme ve soğukta muhafaza işlemlerinin etkisinin olup olmadığı amaçlanmıştır. Yetmiş- beş kanatlı ürününde veteriner ilaç kalıntısının araştırıldığı bir çalışmada oksitetrasiklin, sülfadiazin, neomisin ve gentamisin kalıntısı ince tabaka kromatografisi ile araştırıl- mıştır. Bunlardan 39 örnekte oksitetrasiklin ve sülfadiazin

yönünden pozitiflik belirlenmiş, 25'nin karaciğer, göğüs ve but, 7'sinin ise karaciğer ve göğüs et örneklerinde sülfadiazin ve oksitetrasiklin, 7'sinin but etinde ise sadece oksitetrasiklin tespit edilmiştir. Neomisin ve gentamisinin ise tüm et örnek- lerinde tespit edildiği bildirilmiştir²¹. Yapılan bir diğer çalış- mada da çığ et materyallerinden tüketim için hazırlanan ürünlerde antibiyotik kalıntılarının %88-92 arasında kaldığı belirlenmiştir. Çeşitli işlemlere tabi tutulan bu materyallerde etin yıkamasıyla antibiyotiklerin %12-25, kaynatılmasıyla %5-10, fermentasyonu %10 azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Sonuçta ilaç veya metabolitlerinin insan sağlığını tehdit eder nitelikte ürünlerde kaldığı ve etlerin kalitesinin bozulduğu sonucuna varılmıştır²².

Levamizol kalıntılara yönelik yapılan çalışmalarda²³⁻²⁵ geri kazanım düzeyleri %63-75 arasında bulunmuştur. Mevcut çalışmada tespit edilen geri kazanım değerlerinin bu araştırmalarla uyumlu olduğu görülmüştür. Sadece karaciğer dokusundaki geri kazanım düzeyinin daha düşük olmasın- daki nedenin dokunun daha fazla bağlayıcı özelliğinin olmasından ileri geldiğini akla getirmektedir.

Mevcut çalışmada levamizol kalıntısı içeren sağ but, sağ göğüs ve karaciğer dokularına uygulanan ızgara ve haşlama işlemleri sonucunda, kalıntı miktarının azaldığı belirlenmiştir. Bu dokulardaki pişirme işlemleri incelendi- ğinde haşlama yapılan dokulardaki ilaç kalıntı miktarlarının ızgaraya göre daha fazla azaldığı görülmektedir. Haşlama işlemindeki bu azalmanın ısı etkisinin yanında, suya geç- mesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir²⁶. Haşlamanın ilaç kalıntıları üzerine etkisine yönelik yapılan diğer çalışmalara göre de çığ dokudaki ilaç kalıntılarının bir kısmı ısı etkisiyle yıkılanmakta, bir kısmı da suya geçerek haşlanmış dokudaki ilaç miktarının azalmasına yol açmaktadır²⁷. Rose ve ark.¹⁶ bazı ithal edilen sığır ve domuz etlerindeki levamizol kalıntı- larını araştırmışlardır. Çalışmada 7.5 mg/kg dozunda levamizol domuzda verilmiş ve 48 saat sonra kesilerek örnekler alınmıştır. Yapılan araştırma sonucunda levamizolun 100°C'de kaynat- maya dayanıklı olduğu, ancak 260°C'de yağda yaklaşık 5 dak. kızartma ile ilacın yarı yarıya kayba uğradığını göstermiş- lerdir. Yapılan çalışmada levamizol düzeyinin haşlama işlemi sonucunda dokuda Rose ve ark.'nın¹⁶ aksine düşük bulun- masının nedeni çalışılan hayvan türünün farklılığından dolayı ilacın suya kolayca geçmesi şeklinde değerlendirilebilir.

Sonuçlar 15 ve 30. günlerdeki ilaç kalıntıları açısından incelendiğinde karaciğerdeki ilaç kalıntılarının göğüs ve buta göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Soğukta bekletme sonucu levamizol kalıntısının çığ dokuya göre sağ butta, sağ göğüste ve karaciğerde azaldığı görülmüştür. Dondurma işleminin dokulardaki ilaç kalıntılarına yönelik etkilerinin incelendiği kimi çalışmaların²⁸ aksine bu çalışmada; but, göğüs ve karaciğer dokusundaki levamizol kalıntılarının 15 ve 30 günlük dondurma işlemi sonunda önemli oranlarda azaldığı görülmüştür.

Sağ but, sağ göğüs ve karaciğer dokularından elde edilen sonuçlar incelendiğinde çığ, ızgara ve haşlama yapılan doku-

larda ilaç kalıntısının en fazla bulunduğu bölgenin sağ but olduğu görülmektedir. Bu durum vücudun diğer bölgelerine göre bacadaki hareketliliğin fazla olması, dolayısıyla da dokuda kan dolaşımının daha fazla olmasıyla açıklanabilir. Çiğ ve ızgara yapılmış dokularda ilaç kalıntısı yoğunluğu but > karaciğer > göğüs; haşlama yapılan dokularda ise göğüs > karaciğer > but şeklindedir.

El-Kholy ve Kempainen²⁹ levamizolün tavuk dokularında ve yumurtalarında kalıntı durumunu araştırdıkları çalışmada, oral olarak 40 mg/kg dozda verilen levamizolün 9. günden sonra yumurtada tolere edilebilir limitin ($\leq 0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$; MRL-Amerika Birleşik Devletleri) altına düştüğünü ve tedaviden sonraki 18. günden sonra ise kesilen hayvanların etlerinin tüketici sağlığı için kalıntı bakımından güvenli olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada sağ but, sağ göğüs ve karaciğer dokularındaki ilaç kalıntı miktarları çiğ, ızgara, haşlama işlemleri sonucunda ve geri kazanımdaki kayıplar göz önüne alınarak da değerlendirildiğinde, Türk Gıda Kodeksi³⁰ ve EMEA'da¹⁷ belirlenen $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ olan tolerans düzeylerinin bir hayli altında kalmaktadır. Buradan yola çıkarak ağızdan $36 \text{ mg}/\text{kg}/2 \text{ ml}$ dozunda tavuklara verilen levamizol kalıntılarının kesim öncesi en az 12 saatlik bir bekletmeden sonra tüketilmesinin insan sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmayacağı söylenebilir.

Sonuç olarak, yapılan araştırma kapsamında levamizolün etlik piliç dokularındaki kalıntıları üzerine ızgara, haşlama ve soğukta 15-30 gün bekletme işlemlerinin etkisi incelenmiş ve bu işlemlere rağmen levamizol kalıntısının tamamen yok olmadığı sadece miktarının azaldığı, azalmanın özellikle haşlama ile daha fazla olduğu görülmüştür. Analizi yapılan dokuların çeşidine göre de levamizol kalıntı düzeyinin aynı olmadığı aksine yoğunluğa göre sırasıyla çiğ ve ızgarada but, karaciğer, göğüs; haşlamada ise göğüs, karaciğer, but sırasını izleyerek azaldığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca gerek çiğ dokularda gerekse haşlama ve dondurma işlemine tabi tutulmuş dokulardaki levamizol kalıntısının Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limitin çok altında olduğu ve $36 \text{ mg}/\text{kg}/2 \text{ ml}$ dozda levamizol verilen tavuklarda ilaç verildikten en az 12 saatlik bekletmeden sonra yapılacak kesim işlemiyle etlerinin insan sağlığı açısından çok fazla bir risk taşımayacağı sonucuna da varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Baydan E: Immunodepresant ve immunostimulantlar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 42, 45-46, 1995.
2. Kaya S, Ünsal A: Besinlerde ilaç kalıntıları. In, Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A (Eds): Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. 2. Baskı. s. 713-729. Medisan Yayınevi, Ankara, 2000.
3. Marriner S, Galraith EA, Bogan JA: Determination of the anthelmintic levamisole in plasma and gastro-intestinal liquids by high-performance liquid chromatography. *Analyst*, 105, 993-996, 1980.
4. Bogan JA, Marriner SE, Gabraith EA: Pharmacokinetics of levamisole in sheep. *Res Vet Sci*, 32, 124-126, 1982.
5. Berger H, Garces TR, Fisher RK, Delay R L, Gale GO, Boyd JE: Efficacy, safety, and residue evaluation of levamisole gel formulation in sows. *Am J Vet Res*, 48, 852-854, 1987.
6. Stout SJ, Dacunha AR, Tondreau R E, Boyd JE: Confirmation of levamisole residues in cattle and swine livers by capillary gas chromatography-electron

impact mass spectrometry. *J Assoc Off Anal Chem*, 71, 1150-1153, 1988.

7. Ünsüren H, Baydan E, Liman BC, Sancak A: Bir köpekte akut tetramizol zehirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 38, 199-205, 1991.
8. Kurtde A, Baydan E, Börkür MK, Kalınbacak A: Köpeklerde tetramizol ve triklorfonun kan parametrelerine etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 39, 168-173, 1992.
9. Ünsüren H, Baydan E, Sancak A, Kalınbacak A: Köpeklerde tetramizolün toksik etkilerinin araştırılması. 1. Çeşitli kan parametreleri üzerine etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 42, 217-223, 1995.
10. Baydan E, Salmanoğlu B, Vural R, Öge H, Çakmak N: Subklinik mastitisli ineklerde levamisoleün bazı kan değerlerine etkileri. *Türk Vet Hek Derg*, 8, 53-62, 1995.
11. Gökçe G, İrmak K, Sural E, Uzlu E: Koyun çiçeğinde immunomodülatörlerin sağaltıcı ve koruyucu etkileri üzerinde klinik gözlemler. II. Koyun çiçeğinin sağaltımı ve korunmasında PIND-ORF (Baypamun) kullanımı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 3, 217-221, 1997.
12. Ince S, Kozan E, Kucuk Kurt I, Bacak E: The effect of levamisole and levamisole + vitamin C on oxidative damage in rats naturally infected with *Syphacia muris*. *Exp Parasitol*, 124, 448-452, 2010.
13. Courtney CH, Roberson EL: Chemotherapy of parasitic diseases. In, Adams HR (Ed): Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 7th ed., pp. 900-904, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 1995.
14. Kaya S, Baydan E, Yarsan E: Hayvan dokularındaki veteriner ilaç kalıntılarının pişirme ve dondurma işlemlerinin etkileri. *Türk Vet Hek Derg*, 10, 50-54, 1998.
15. Baydan E, Tıraş B, Bilgili A, Tanyıldızı S, Filazi A, Yarsan E, Özdemir M, Akkaya R: Etlik piliçlerde kullanılan çeşitli veteriner ilaç kalıntıları üzerine, dondurma ve benzeri işlemlerin etkilerinin araştırılması. 1. Sulfonamid grubu bazı antibakteriyellerin incelenmesi. 2. Kinolon grubu bazı antibakteriyellerin incelenmesi. *Etlik Vet Mikrob Derg*, 13, 56-76, 2002.
16. Rose MD, Argent LC, Shearer G, Farrington WHH: The effect of cooking on veterinary drug residues in food: 2. levamisole. *Food Add Cont*, 12, 185-194, 1995.
17. EMEA: Committee for veterinary medicinal products, levamisole (2) summary report. http://www.emea.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500014675.pdf. Accessed: 02.10.2012.
18. Bukanski BW, Degroodt JM, Beernaert H: Determination of levamisole and thiabendazol in meat by HPLC and photodiode array detection. *Z Lebensm Unters Forsch*, 193, 545-547, 1991.
19. Reig M, Toldra F: Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection. *Meat Sci*, 78, 60-67, 2008.
20. Sever E, Okumus B, Ince S: Erzurum yöresinde satışı sunulan kırmızı etlerde 17 β -östradiol, dietilstilbestrol ve zeranol kalıntılarının araştırılması. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 18, 267-272, 2012.
21. Shareef AM, Jamel ZT, Yonis KM: Detection of antibiotic residues in stored poultry products. *Iraq J Vet Sci*, 23, 45-48, 2009.
22. Kal'nitskaya OI, Usha BV, Mishiev EA: Veterinary-sanitary estimation of the animal products containing antibiotics. *Vet Med J*, 2, 61-63, 2010.
23. Mourot D, Delepine B, Boisseau J, Gayot G: High pressure liquid chromatographic analysis of veterinary anthelmintics. I- Quantitative determination of tetramisole. *J Pharmaceutical Sci*, 68, 796-797, 1979.
24. Dreassi E, Corbini G, La Rosa C, Politini N, Corti P: Determination of levamisole in animal tissues using liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Agric Food Chem*, 49, 5702-5705, 2001.
25. Sakamoto M, Takeba K, Fujinuma K, Jimbo K, Miyazaki T: Determination of levamisole in livestock products using high performance liquid chromatography. *Shokun Eiseigaku Zasshi*, 43, 6-9, 2002.
26. Cooper KM, Whelan M, Danaher M, Kennedy DG: Stability during cooking of anthelmintic veterinary drug residues in beef. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 28, 155-165, 2011.
27. Baydan E, Özdemir M, Kanbur M: Sülfadiazin kalıntısı üzerine pişirme ve dondurmanın etkisi. *Çiftlik Derg*, 230, 81-90, 2001.
28. Verdon E, Fuselier R, Hurtaud-Pessel D, Couedor P, Cadieu N, Laurentie M: Stability of penicillin antibiotic residues in meat during storage ampicillin. *J Chromatog A*, 882, 135-143, 2000.
29. El-Kholy H, Kempainen BW: Levamisole residues in chicken tissues and eggs. *Poult Sci*, 84, 9-13, 2005.
30. TGK: Türk Gıda Kodeksi Tebliği: Türk gıda kodeksi hayvansal gıdalarda bulunabilecek veteriner ilaçlarına ait farmakolojik aktif maddelerin sınıflandırılması ve maksimum kalıntı limitlerinin belirlenmesi hakkında tebliğ. *Tebliğ no*: 2011/20, 2011.