

## Ankara Piyasasında Satılan Sütlerde Bazı Antibiyotik Kalıntılarının İnce Tabaka Kromatografisi ve Biyootografik Yöntemle Saptanması

Füsun TEMAMOĞULLARI \* 

Sezai KAYA \*\*

\* Department of Pharmacology and Toxicology, Veterinary of Faculty, University of Harran, 63200, Şanlıurfa - TURKEY

\*\* Department of Pharmacology and Toxicology, Veterinary of Faculty, University of Ankara, 06130, Ankara - TURKEY

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2009-416

### Özet

Bu çalışmada, 120 çiğ süt ve 7 ticari firmadan sağlanan 120 pastörize süttten oluşan toplam 240 adet örnekte ampisilin, amoksisilin, danofloksasin, enrofloksasin, eritromisin, florfenikol ve kloksasilin kalıntı analizi gerçekleştirilmiştir. Kalıntı analizlerinde İTK ve mikrobiyolojik disk difüzyon tekniğine dayalı biyootografik (İTK/Biyootografik) yöntem kullanılmıştır. Sonuçlara göre 1 pastörize süt örneğinde ampisilin kalıntısına rastlanmıştır. 239 örnekte hiçbir antibiyotik kalıntısı belirlenmemiştir. Örneklerin tümünde ampisilin ile kirlenme sıklığı %0.4 olarak hesaplanmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Antibiyotik, Kalıntı, İTK/Biyootografik yöntem, Süt

## Determination of Various Antibiotic Residues in Milk Samples Sold in Ankara Markets by Thin Layer Chromatography and Bioautographic Method

### Summary

In this study, ampicillin, amoxycillin, cloxacillin, danofloxacin, enrofloxacin, erythromycin, florfenicol residue analysis were carried out in a total of 240 milk samples consisting of 120 raw and 120 pasteurized milk obtained from 7 commercial firms separate dairying units. Residue analysis were performed by bioautography method based on the combination of thin layer chromatography and microbiologic disc diffusion test. According to the results, one pasteurized milk samples was found positive for ampicillin. In 239 samples weren't detected any antibiotic residues. It was calculated that the mean ampicillin residue incidence of contamination was %0.4 in all of the samples.

**Keywords:** Antibiotic, Residue, TLC/Bioautografic method, Milk

### GİRİŞ

Son yıllarda özellikle dünya nüfusunun beslenme ihtiyacını karşılamak amacıyla çiftlik hayvanlarında hastalıkların sağaltımı ve önlenmesi, yemden yararlanmanın artırılması, paraziter hastalıkların kontrolü ve beslenmenin desteklenmesi amacıyla ilaçlar geniş şekilde kullanılmaktadır <sup>1</sup>. Ülkeden ülkeye değişmekle birlikte, hayvancılıkta kullanılan ilaç ve yem katkı maddelerinin %30'unu antibiyotiklerin oluşturduğu <sup>1</sup> bunların en az %40'nun koruyucu ve verim arttırıcı amaçla kullanıldığı kabul edilmektedir <sup>2,3</sup>.

Ülkemizde hayvan sağlığına verilen önemin artmasıyla birlikte antibiyotik kullanımı da artmaktadır. Bununla beraber, antibiyotik kullanımından sonra sağılan sütlerin tüketilmemesi gerektiğini çoğu üretici bilmektedir <sup>4,5</sup>. Antibiyotiklerin kullanılmalarıyla birlikte toplum sağlığını yakından ilgilendiren ve hatta giderek evrensel boyutlara ulaşan sakıncalarını da tartışma konusu haline getirmektedir <sup>6</sup>.

Hayvanlarda hastalıkların sağaltımı, önlenmesi ve



İletişim (Correspondence)



+90 414 3183901



karacal9876@hotmail.com

kontrolü ile gelişmenin hızlandırılması amacıyla doğrudan veya yem ya da suya katılarak uygulanan ilaç ve diğer kimyasal maddelerin kullanılmalarını takiben hayvanın doku ve organlarında biriken veya depolanan değişmemiş, metabolitleri, parçalanma ürünleri, serbest veya bağlı haldeki ilaç ya da kimyasal madde miktarları kalıntı olarak tanımlanır <sup>1</sup>.

Antibiyotiklerin ve diğer kalıntıya neden olan maddeler, insan ve çevre sağlığı yanında, ülke ekonomisine ek yük getirmektedir. Gıdalardaki kalıntılar insanlarda alerjiden şiddetli zehirlenmelere; ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişmesine (dişilerde erkeksi, erkeklerde kadınsı davranışlar), üremenin bozulmasına; dirençli suşların ortaya çıkmasına; ince ve kalın bağırsak bakteri topluluğunun değişmesine; teratojenik ve karsinojenik etkilere sebep olabilirler. Ekonomik açıdan fermente besin maddelerinin (yoğurt, peynir gibi) üretilmesinde sorunlar yaşanmasına; dirençli bakterilere karşı yeni ilaçların araştırılması ve geliştirilmesine neden olur <sup>7-9</sup>.

Bu çalışmada veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılan ampisilin, amoksisilin, danofloksasin, enrofloksasin, eritromisin, florfenikol, kloksasilin gibi bazı antibiyotiklerin sütlerdeki kalıntı durumu incelenerek, sütlerde gıda güvenliği ve toplum sağlığı yönünden yapılan çalışmalara katkı sağlamaya çalışılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Araştırmada 03.04.2003 ile 30.03.2004 tarihleri arasında Ankara piyasasında çeşitli satış yerlerinden her ay 10 çiğ süt ve 10 pastörize süt olmak üzere 240 süt örneği toplandı. Yeni üretilmiş çeşitlerden seçilmeye çalışılan süt örnekleri analiz edilinceye kadar buzdolabında (+4°C) saklandı. Süt örneklerinden antibiyotik kalıntılarının özütlenmesinde likit kromatografiye özel yöntemden yararlanıldı <sup>5</sup>. Süt özütlerinde bulunan antibiyotik kalıntılarının tanısı ve yarı nicel ölçümü için Neidert ve ark.<sup>10</sup> tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Süt özütlerindeki antibiyotik kalıntıları ince tabaka kromatografisi ile ayrıldıktan sonra, mikrobiyolojik disk diffüzyon tekniğine dayalı biyootografik yöntemle tanı ve yarı nicel ölçüm yapıldı.

Ampisilin trihidrat (Sigma, A 6140, %97.4) standart çalışma çözeltisi (0.001-0.005 µg/mL), amoksisilin (Sigma, A 8523, %93.3) standart çalışma çözeltisi (0.1-0.06 µg/mL), danofloksasin (Sigma, D 1356, %100) standart çalışma çözeltisi (0.1-0.7 µg/mL), enrofloksasin (Sigma, E 4140, %100) standart çalışma çözeltisi (0.1-0.6 µg/mL), eritromisin (Sigma, E 8630, %95.5) standart çalışma çözeltisi (0.5-0.9 µg/mL), florfenikol (Sigma, F 8940, %100) standart çalışma çözeltisi (0.1-0.6 µg/mL), kloksasilin (Sigma, C 9393, %98) standart çalışma çözeltisi (0.05-0.2

µg/mL) ve örnek 20x20 cm'lik hazır silikajel G60 (Merck, 1.11845) ince tabaka plakalarına uygulandıktan sonra geliştirme tanklarına konuldu. Tank 1 için geliştirme çözelti 1: 16 ml Aseton (Merck, 100013) + 20 ml Kloroform (Merck, 102431) + 27 ml n-Propanol (Merck, 100997) + 16 ml İmpregnat Sıvısı. İmpregnat Sıvısı: 19 ml 0.1 N'lik fitalat tampon + 1 ml Gliserin. 0.1 N'lik fitalat tamponun hazırlanması 2.0423 mg potasyum hidrojen fitalat (Merck, 4874) 25 ml'lik cam balona tartılıp üzeri distile su ile tamamlanarak hazırlandı. Isı ile erimesi sağlandıktan sonra 50 ml'lik cam balona süzüldü. Üstü distile su ile tamamlandı. Tank 2 için geliştirme çözelti 2: 49 ml Kloroform + 30 ml Metanol + 20 ml Aseton + 1 ml Gliserin (Merck, 818702). Ampisilin, amoksisilin, florfenikol ve kloksasilin standartlarının uygulandığı İTK plakaları Tank 1'e, eritromisin, danofloksasin ve enrofloksasin standartlarının uygulandığı İTK plakaları ise Tank 2'ye konuldu. Çözelti sınırı 15 cm yükselineye kadar beklendi. Geliştirme aşaması tamamlandıktan sonra plakalar tanklardan çıkartıldı. Tank 1'den çıkartılan plaka oda ısısında 2.5 saat, Tank 2'den çıkartılan plaka ise 2 saat kurumaya bırakıldı. Kuruma aşaması tamamlandıktan sonra biyootografiye geçildi. Agar 120°C'de 1 atmosfer basıncı altında 15 dakika tutularak steril hale getirildi (Etüv; Dedeoğlu). Agarın pH'sı 7.2'ye ayarlandı. Bacillus subtilis ATCC 6633 (Etlik Merkez Kontrol ve Araştırma Enstitüsü) sporları üremesi için gereken sıcaklığa kadar (32-38°C) suyla arada sırada temas ettirilmek suretiyle ısı düşürüldü. Agarın her 100 ml'sinde 100 µl *B. subtilis* spor süspansiyonu eklendi. Agar önceden steril hale getirilmiş biyoplaklara homojen bir yüzey oluşturacak şekilde döküldü. Agarın katılaşması için 20 dakika beklendi. Farklı yoğunluklarda hazırlanan standart antibiyotik ekimi yapılan İTK plakaları besi yeri yüzeyine kapatılarak 20 dakika bekletildi. Bekletme süresi sonunda ince tabaka plakaları biyoplaklardan kaldırıldı. İnkübasyon (37°C'lik etüvde 16 saat) aşamasından sonra, inhibisyon alanlarının çapları kompas ile ölçüldü. Antibiyotikler değişik yoğunluklarda temiz süt örneklerine katılıp yöntemde izlenen yol takip edilerek geriye kazanç denemeleri de yapıldı.

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiki yönden karşılaştırılması ki-kare testiyle (MINITAB, Release 12.1, Minitab Inc.) yapıldı <sup>11</sup>.

## BULGULAR

### Antibiyotiklerin İTK'de ayrılması

Antibiyotik standartları ile hazırlanan uygulama çözeltilerinin İTK plakaları Tank 1 ve 2'ye yerleştirilerek geliştirme yapıldı. Biyootografik aşamasından sonra ampisilin, amoksisilin, kloksasilin, florfenikol Tank 1'de; danofloksasin, enrofloksasin ve eritromisin ise Tank 2'de geli-

tirildiğinde takdirde Biyootografik aşamada daha iyi sonuç verdiği bulundu. İTK/Biyootografik yöntem ile ampisilin, amoksisilin, danofloksasin, enrofloksasin, eritromisin, florfenikol ve kloksasilin kalıntılarının aranmasında kullanılan standartların yöntemine uygulaması sonucunda farklı yoğunluklarda hazırlanan antibiyotikleri Rf değerleri ve inhibisyon zon çapları **Tablo 1**'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Farklı yoğunluklarda hazırlanan antibiyotik standartlarının Rf değerleri ve inhibisyon alan çapları

**Table 1.** Rf values and inhibition zone diameters of antibiotic standards prepared in different concentration

Etkin Madde	Doz Miktarı (µg/ml)	Rf Değeri (cm)	İnhibisyon Zon Çapları (cm)
Ampisilin	0.002-0.005	0.72-0.76	0.3-1.0
Amoksisilin	0.03-0.06	0.85-0.91	0.5-1.3
Danofloksasin	0.4-0.7	0.11-0.15	0.3-1.0
Eritromisin	0.1-0.5	0.22-0.23	0.35-1.0
Enrofloksasin	0.5-0.8	0.46-0.48	0.6-1.1
Florfenikol	0.2-0.5	0.46-0.49	0.4-1.1
Kloksasilin	0.06-0.1	0.26-0.33	0.5-1.0

Süt örneği özütlerinin uygulanmasıyla hazırlanan biyoplaklarda oluşan inhibisyon alanlarının değerlendirilmesinde aynı plakalarda kontrol ve yarı nicel ölçüm amacıyla incelenen antibiyotiklerin EKEY temel alınmıştır. İncelenen 7 antibiyotik için geri kazanç oranı %60-100 arasında değişmektedir. Ayrıca, fazla miktarda antibiyotik içeren sütlerde, biyootografi plakasında geniş inhibisyon zonları meydana gelmesi durumunda sütlerin 1/5-1/10 oranında seyreltilmesi gerekmektedir. Değişik miktarlarda eklenen antibiyotiklerin EKEY'leri, Rf değerleri ve geri kazanç yüzdeleri **Tablo 2**'de verilmiştir.

**Tablo 2.** Sütte aranan antibiyotiklerin en küçük etkili yoğunlukları (EKEY). Rf değerleri

**Table 2.** Minimal inhibitory concentrations (MICs). Rf values. Antibiotics investigated in milk

Etkili Madde	EKEY (mg/ml)	Rf Değeri (cm)	Geri Kazanç (%)
Ampisilin	0.002	0.72	90-95
Amoksisilin	0.03	0.85	80-90
Danofloksasin	0.4	0.10	100
Eritromisin	0.1	0.22	75-84
Enrofloksasin	0.5	0.46	100
Florfenikol	0.2	0.47	60-75
Kloksasilin	0.06	0.26	78-84

### Sütte Antibiyotik Kalıntıları

Yapılan analizlerde sadece bir pastörize süt örneğine ait özüt biyoplakta aynı Rf değerini belirten 0.5 cm çapında inhibisyon alanı belirlenmiştir. Kontrol biyoplak-

larla karşılaştırıldığında bunun ampisilin'in Rf değeriyle uygunluk gösterdiği dikkati çekmiştir. Diğer süt örneklerinin hiçbirinde herhangi bir inhibisyon alanı görülmemiştir. Ampisilin standart eğrisi ile karşılaştırılması durumunda, örneğin 300 µg/L miktarda kalıntı içerdiği hesaplanmıştır. Toplam analiz örneği sayısına göre antibiyotikle kirlenme sıklığı %0.4 olarak belirlenmiştir. İncelenen antibiyotiklerin biyoplak Rf değerlerine uymayan lekeler dikkate alınmamıştır.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Hayvansal ürünlerde bulunan antibiyotik kalıntılarının insan sağlığı üzerindeki istenmeyen etkilerinden dolayı, hayvansal dokularda ve biyolojik sıvılarda analizlerinin yapılması giderek önem kazanmıştır<sup>6</sup>. Hayvansal besinlerde antibiyotik kalıntılarının arındırılabilmesi için uygulanması gereken "yasal bekletme süresi", ilaçla tedavinin durdurulması ve besinlerde bulunmasına izin verilen kalıntı miktarlarının sınırlarının belirlenmesi amacıyla yapılan analizler gıda güvenliği ve toplum sağlığı yönünden yapılan çalışmalara katkı sağlar<sup>12</sup>. Çalışmada kullanılan yöntem ve analiz sonuçlarına ilişkin verilerin benzeri yöntemler ve sonuçlarla karşılaştırılmasında yarar görülmüştür.

Yapılan bir çalışmada<sup>13</sup>, ince tabaka kromatografisi kullanarak sütte eritromisin için geriye kazancı %51 olarak belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada<sup>14</sup>, çift iyonlu sıvı kromatografisi kullanarak inek sütünde enrofloksasin ve metaboliti olan siprofloksasinin analizlerinde geriye kazancı sırasıyla %92-102, %92-105 olarak belirlenmiştir. İTK/Biyootografik yöntem kullanarak yapılan bu çalışmada geri kazanç ampisilin için %90-95; amoksisilin için %80-90; danofloksasin için %100; eritromisin için %75-84; enrofloksasin için %100; florfenikol için %60-75; kloksasilin için %78-84 olarak bulunmuştur. Yukarıdaki çalışmalardaki verilerle karşılaştırıldığında, genellikle benzerlik bulunduğu anlaşılmıştır.

Ampisilin ile ilgili kalıntı çalışmalarında süt örneklerinde yapılan hızlı silindir plak mikrobiyolojik yöntem ile 0.0025-0.04 µg/ml<sup>9</sup>; düzlemsel kromatografisi yöntemi kullanarak yapılan çalışmada sütlerde 4 µg/L miktarda ampisilin belirlenmiştir<sup>15</sup>. Sağım dönemindeki ineklerde etiket dışı ampisilin (1M yolla 22 mg/kg) uygulanmasından 156 saat sonra topladıkları süt örneklerinde sıvı kromatografisi ile 2-5 ppb miktarlarında antibiyotik kalıntısı bulunmuştur<sup>16</sup>. Biyootografik/Elektroforetik yöntem ile sütte yapılan analizlerde 20 ppb ampisilin belirlenmiştir<sup>17</sup>. HPLC/Biyootografik yöntemi ile çiğ süt örneklerinde 0.002 µg/ml miktarda ampisilin bulunmuştur<sup>18</sup>. Konya ilinden toplanan 50 süt örneğinde HPLC ile ampisilin kalıntısı yönünden incelenen çalışmada

ampisilin kalıntısı bulamadıkları bildirilmiştir <sup>19</sup>.

Amoksisilin ile ilgili kalıntı çalışmalarında, Biyooto-grafik/Elektroforetik yöntem ile sütte yapılan analizlerde 30 ppb amoksisilin saptamışlardır <sup>17</sup>. HPLC yöntemi ile çiğ sütlerde yapılan çalışmada 1.4 µg/L miktarında amoksisilin bulunmuştur <sup>20</sup>.

Eritromisin ile ilgili kalıntı çalışmalarında, *Micrococcus lutea* suşunun kullanıldığı mikrobiyolojik analizlerde 0.05 µg/ml <sup>21</sup>; süt örneklerinde İTK yöntem ile 0.02 mg/kg <sup>13</sup>; HPLC/Biyootografik yöntemi kullanarak çiğ süt örneklerinde 0.004 µg/ml miktarında eritromisin bulunmuştur <sup>18</sup>.

Ülkemizde yedi ticari firma ve 9 ayrı sütçülük biriminden elde edilen 75 çiğ ve 14 pastörize toplam 89 süt örneğinde kloramfenikol kalıntısı yönünden yapılan çalışmada, İTK/Biyootografik yöntemle 6 süt örneğinde 0.8-1.6 ppm yoğunluğunda kloramfenikol kalıntısı bulunmuştur <sup>22</sup>.

Bursa ve çevresinde toplanan 150 adet çiğ süt örneğinde yapılan bir çalışmada, intertest yöntemi kullanılarak süt örneklerinin 2'sinde kloramfenikol kalıntısına rastlanmıştır <sup>23</sup>.

Konya'da faaliyet gösteren çeşitli mandıralardan toplanan 61 süt örneğinde HPLC ile kloramfenikol yönünden yaptıkları çalışmada, 28 süt örneğinde kloramfenikol kalıntısı belirlenmiştir <sup>24</sup>.

Ankara ve çevresinde süt sığırcılığı yapılan kamu ve özel sektöre ait işletmelerden sağlanan 444 çiğ ve pastörize süt örneğinde intertest ve üçlü plak testleriyle kloramfenikol kalıntısı yönünden yapılan çalışmada, intertest yöntemiyle 78 pozitif (%17.56), 65 şüpheli (14.63), 301 negatif (67.79), *B. subtilis* ile yapılan üçlü plak yöntemiyle 24 (%5.40) pozitif, 1 şüpheli (%0.22), 419 (%94.36) negatif sonuç belirlenmiştir. Bu farklılığın uygulanan yöntemden, örnek alma zamanından ve işletmelerden kaynaklandığı ifade edilmiştir <sup>3</sup>.

Kloksasilin ile ilgili kalıntı çalışmalarında *Bacillus stearothermophilus* suşunun kullanıldığı hızlı silindir plak mikrobiyolojik yöntem ile analizi yapılan sütlerde 0.03-0.48 µg/ml kloksasilin kalıntısı belirlenmiştir <sup>25</sup>. Biyooto-grafik/elektroforetik yöntem ile sütte yapılan analizlerde 30 ppb kloksasilin bulunmuştur <sup>17</sup>. Delvo-SP testine göre örnek sütlerde kloksasilin 0.026 µg/ml kalıntısı bulunmuştur <sup>8</sup>. HPLC yöntemi ile çiğ sütlerde yapılan çalışmada 1.4 µg/L miktarında kloksasilin bulunmuştur <sup>20</sup>.

Türkiye'de yapılan çalışmalardan elde edilen benzeri sonuçlarla karşılaştırıldığında bu çalışmada süt örneklerinde antibiyotik kalıntılarının rastlanma sıklığının di-

ğerlerinden son derece düşük olduğu; bir pastörize süt örneğinde ölçülen 300 µg/L miktarındaki ampisilin kalıntısı son derece yüksek olarak değerlendirilmiştir. Bu miktar Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre hazırlanan tebliğinde <sup>9</sup> belirtilenin 75 katıdır. Bu miktar pastörize işleminin hatalı yapıldığını ya da yeterli pastörizasyon işleminin yapılmadığı ve dolayısıyla halk sağlığı bakımından da son derece önemli olarak değerlendirilmiştir.

## KAYNAKLAR

- 1. Kaya S, Ünsal A:** Besinlerdeki ilaç kalıntıları ve denetimi. In, Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A (Eds): Veteriner Uygulamalı Farmakoloji Cilt 2. Baskı 2, s. 713-730, Medisan Yayınevi, Ankara, 2000.
- 2. Anonim:** Gıdalarda katkı-kalıntı ve bulaşanların izlenmesi. Gıdalarda veteriner ilaç ve anabolizan maddelerin kalıntı düzeylerinin tespiti. Uludağ Üniv Basımevi, Bursa, s. 165-176, 1997.
- 3. Önal A, Aydın N, Ayaz Y, İşcan D, Savaş N:** Süt ve etlerde bulunan bazı antibiyotiklerin çeşitli yöntemlerle saptanması. *Etlık Vet Mikrobiol Enst Derg*, 7, 48-51, 1993.
- 4. Sarp H, Yaygın H:** SEK İzmir süt ve mamülleri fabrikasına gelen sütlerde antibiyotik aranması ve antibiyotiğin beyaz peynirin bazı nitelikleri üzerine araştırmalar. *Ege Üniv Zir Fak Derg*, 21 (3): 203-217, 1984.
- 5. Temiz A, Öner Z:** Ankara'daki iki ayrı süt işletmesine gelen çiğ sütlerde antibiyotik varlığının belirlenmesi. *Gıda*, 13 (4): 289-295, 1988.
- 6. Şanlı Y:** Hayvansal üretimde antibakteriyel ilaç kullanımı ve çok yönlü sakıncaları. *Türkiye'de Veteriner İlaçları Üretimi, Pazarlaması, Güvenli Kullanımı ve Kalıntı Sorunları Sempozyumu*, Ankara, 13-14 Ekim 1994.
- 7. Booth ND, Mcdonald LE:** Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 6th ed., pp. 796-820. Iowa State Univ. Pres. Ames. 1988.
- 8. Aerts MM, Beers HJ, Herben PJ:** Comparative activity of nafcillin, oxacillin and cloxacillin on mastitis/metritis pathogens. Sensivity of microbiological milk residue test. International Dairy Federation. *Symposium on Residues of Antimicrobial Drugs and other Inhibitors in Milk*, Kiel, Germany. pp. 39-40, 1995.
- 9. Türk Gıda Kodeksi Tebliği:** Türk gıda kodeksi hayvansal kökenli gıdalarda veteriner ilaçları maksimum kalıntı limitleri tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliğ. (Tebliğ no: 2007/17) 09.03.2007 tarih ve 26457 sayılı Resmi Gazete. [http://rega.basbakanlik.gov.tr]. *Erişim tarihi:* 15.06.2007.
- 10. Neidert E, Saschenbrecker PW, Tittiger F:** Drug residues in animal tissues. Thin layer chromatographic/bioautographic method for identification of antibiotic residues in animal tissues. *J Assoc Off Anal Chem*, 70 (2): 197-200, 1987.
- 11. Ergün G, Aktaş S:** ANOVA modellerinde kareler toplamı yöntemlerinin karşılaştırılması. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 15 (3): 481-484, 2009.
- 12. Booth JM, Harding F:** Testing for antibiotic residues in milk. *Vet Res Dec*, 119 (23): 565-569, 1986.
- 13. Petz M, Solly R, Lymburn M, Clear MH:** Thin-layer chromatographic determination of erythromycin and other

macrolide antibiotics in livestock products. *J Assoc Off Anal Chem*, 70 (4): 691-697, 1987.

**14. Tyczkowska KL, Voyksner RD, Anderson KL, Papich MG:** Simultaneous determination of enrofloxacin and its primary metabolite ciprofloxacin in bovine milk and plasma by ion-pairing liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl*, 658 (2): 341-348, 1994.

**15. Abjean JP, Lahogue V:** Planar chromatography for quantitative determination of ampicillin residues in milk and muscle. *J Assoc Off Anal Chem Int*, 80 (6): 1171-1176, 1997.

**16. Anderson KL, Moats MA, Rushing JE, Wesen DP, Papich MG:** Ampicillin and amoxicillin residue detection in milk, using microbial receptor assay (Charm II) and liquid chromatography methods, after extra-label administration of the drugs to lactating cows. *Am J Vet Res*, 57 (1): 73-78, 1996.

**17. Cutting JH, Kiessling WM, Bond FL, Mccarron JE, Kreuzer KS, Hurlbut JA, Sofos JN:** Agarose gel electrophoretic detection of six beta-lactam antibiotic residues in milk. *J Assoc Off Anal Chem Int*, 78 (3): 663-667, 1995.

**18. Ramirez A, Gutierrez R, Diaz G, Gonzalez C, Perez N, Vega S, Noa M:** High-performance thin-layer chromatography-bioautography for multiple antibiotic residues in cow's milk. *J Chromatogr B*, 784, 315-322, 2003.

**19. Demet Ö, Acet A, Tıraş B, Baş AL, Eğilmez İ:** Konya'da

faaliyet gösteren çeşitli mandıralardan toplanan süt örneklerinde penisilin G, ampisilin, penisilin V kalıntılarının araştırılması. *Selçuk Üniv Vet Fak Derg*, 8 (1): 33-35, 1992.

**20. Sorensen LK, Rasmussen BM, Boison JO, Keng L:** Simultaneous determination of six penicillins in cow's raw milk by a multiresidue high-performance liquid chromatographic method. *J Chromatogr B*, 694, 383-391, 1997.

**21. Harpster CP, Katz SE:** Improved microbiological procedure for determining erythromycin in milk and some milk product. *J Assoc Off Anal Chem*, 63 (5): 1144-1148, 1980.

**22. Şanlı Y, Kaya S, Yavuz H, Aydın N, Akar F, Doğan A:** Süt örneklerinde kloramfenikol kalıntıları. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 38 (3): 402-416, 1991.

**23. Dokuzlu C, Tayar M:** Bursa ve çevresinde çiğ sütlerde antibiyotik varlığının belirlenmesi. *Pendik Vet Mikrobiol Derg*, 31 (2): 61-64, 2000.

**24. Demet Ö, Acet A, Tıraş B:** Konya'da faaliyette gösteren çeşitli mandıralardan toplanan süt örneklerinde kloramfenikol ilaç kalıntılarının araştırılması. *Selçuk Üniv Vet Fak Derg*, (1): 35-37, 1992.

**25. Vilim AB, Moores SD, Larocques L:** Microbiological determination of penicillin G, ampicillin, and cloxacillin residues in milk. *J Assoc Off Anal Chem Int*, 62 (6): 1247-1250, 1979.