



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇEVREDE VETERİNER ANTİBAKTERİYEL İLAÇLARININ
(TETRASİKLİN VE SULFONAMİDLER) ARAŞTIRILMASI**

Murat CENGİZ

(DOKTORA TEZİ)

Bursa-2007



**T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇEVREDE VETERİNER ANTİBAKTERİYEL İLAÇLARININ
(TETRASİKLİN VE SULFONAMİDLER) ARAŞTIRILMASI**

Murat CENGİZ

(DOKTORA TEZİ)

**Danışmanlar: Yard.Doç.Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ (Danışman)
Prof.Dr. Işıl BALCIOĞLU (Eş Danışman)**

Bursa-2007

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu tez, jürimiz tarafından oybirliği/oyçokluğu ile doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Adı ve Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Yard.Doç.Dr.Hasan Hüseyin ORUÇ	
Eş Danışman	Prof.Dr.Işıl BALCIOĞLU	
Üye	Prof.Dr. Songül SONAL	
Üye	Prof.Dr. Meltem ÇETİN	
Üye	Prof.Dr. Cengiz ÇETİN	

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun tarih, sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Kasım ÖZLÜK
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET	III
İNGİLİZCE ÖZET	IV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1 Veteriner Hekimliğinde Antibakteriyel İlaç Kullanımı	7
2.2 Antibakteriyel İlaçların Neden Olduğu Çevre Kirliliği	10
2.3 Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Düzeyi	12
2.4 Antibakteriyel İlaçların Çevrede Bulunan Canlılar Üzerindeki Olumsuz Etkisi	14
2.4.1 Antibakteriyel İlaçlara Karşı Bakterilerin Geliştirdiği Direnç	14
2.4.2 Diğer Etkiler (Antibakteriyel İlaçların Toksik Etkileri)	17
2.5 Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Döngüsünü Etkileyen Faktörler	18
2.5.1 Toprağın Fiziksel ve Kimyasal Özelliği	19
2.5.2 Tetrasiklin ve Sulfonamid Grubu Antibakteriyel İlaçların Yapısal Özelliği	20
2.6 Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Döngüsü	21
2.6.1 Abiyotik (Biyolojik Olmayan) Bozunma	22
2.6.2 Biyolojik Bozunma	22
2.6.3 Sorpsiyon	24
2.7 Antibakteriyel İlaçların Miktarlarının Belirlenmesi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	29
3.1 Gereçler	29
3.1.1 Araştırma Bölgeleri	29
3.1.2 Çalışmada Kullanılan Sarf Malzeme ve Teknik Donanım	33
3.2 Yöntemler	35
3.2.1 Örnekleme ve Örnek Hazırlama	35
3.2.2 Antibakteriyel İlaçların Ekstraksiyonu	36
3.2.3 Antibakteriyel İlaçların Analizi	39
3.2.4 Toprak Örneklerinin Karakterizasyonu	40
3.2.4.1 Bünye (Tekstür)	41
3.2.4.2 pH	41
3.2.4.3 Nem	41
3.2.4.4 Organik Karbon (OC)	42
3.2.4.5 Katyon Değişirme Kapasitesinin (KDK)	42
3.2.4.6 Azot, Fosfor ve Metaller için Digesdahl Yakma Yöntemi	43
3.2.4.7 Toplam Azot	43
3.2.4.8 Toplam Fosfor	43
3.2.4.9 Metal İçeriği	44
3.2.5 İstatistik Analizi	44
4. BULGULAR	46
4.1 Geri Kazanım ve İlaç Düzeyleri	46

4.2 Ekstraksiyon Ön Çalışması ve Geri Kazanım Sonuçları	50
4.3 Toprak Örneklerinin Karakterizasyonu	52
4.4 İstatistik Analizi Sonuçları	58
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	64
6. EKLER	80
7. KAYNAKLAR	87
8. TEŞEKKÜR	95
9. ÖZGEÇMİŞ	96

ÖZET

Antibakteriyel ilaç uygulanan hayvanların çikartım ürünlerinin tarım arazilerinde kullanılması sonucu önemli sorunlara neden olabilen ilaç kirliliği meydana gelebilir. Bu araştırmada, tarım arazilerinde antibakteriyel ilaç kirliliğinin belirlenmesi; antibakteriyel ilaçların çevredeki bozunma sürecine, toprağın yapısının ve mevsimsel farkların etkisinin saptanması ile ilaç kirliliğinin oluşturabileceği çevresel etkilerin irdelenmesi amaçlanmıştır.

Toprak örnekleri, 10 tanesi kanatlı, 7 tanesi sığır ve 4 tanesi kanatlı-sığır gübresi kullanılan tarım arazilerinden yaz (8 arazi) ve sonbahar (13 arazi) olmak üzere iki dönemde toplandı. Antibakteriyel ilaç miktarını belirlemede katı faz ekstraksiyonu ve HPLC sistemi, toprağın karakteristik özelliklerini belirlemek için standart yöntemler kullanıldı.

Yaz mevsiminde dört arazide 19-144µg/kg oksitetrasiklin ve bir arazide 33µg/kg klortetrasiklin, sonbaharda dokuz arazide 4.97-104.69µg/kg oksitetrasiklin ve bir arazide 72.83µg/kg klortetrasiklin tespit edildi, sulfonamid kirliliğine rastlanmadı. Sonbaharda, ilaç kirliliği (%77) yaz mevsimine (%63) göre daha yüksek bulundu. En yüksek antibakteriyel ilaç miktarları (144µg/kg, 104.69µg/kg) kanatlı hayvan gübresi kullanılan tarım arazilerinde tespit edildi.

Sonbaharda, yaz dönemi ile kıyaslandığında organik karbon, toplam N ve P ile Na miktarı artarken katyon değiştirme kapasitesinin azaldığı saptandı. Oksitetrasiklin miktarını, katyon değiştirme kapasitesi, N, organik karbon ve Na'nın etkilediği; katyon değiştirme kapasitesinin artması oksitetrasiklin miktarının azalmasına, N, organik karbon ve Na miktarlarının yükselmesi oksitetrasiklin miktarının artmasına neden olduğu belirlendi. Sulfonamid miktarlarının silt, organik karbon, K, Mg ve Ni miktarının yükselmesine bağlı olarak azaldığı saptandı.

İncelenen tarım arazilerinin yaygın bir şekilde tetrasiklinler ile (özellikle oksitetrasiklin) kirlendiği, bu kirliliğin kanatlı hayvan gübresi kullanılan tarım arazilerinde daha fazla olduğu belirlendi. Araştırma verileri ışığında, katyon değiştirme kapasitesinin tetrasiklinlerin toprağa bağlanmasında en etkin faktör olduğu, antibakteriyel ilaç kirliliğine bağlı olarak bazı arazilerde direncin gelişmesiyle çevre ve toplum sağlığının olumsuz yönde etkilenebileceği, ancak canlılar üzerinde toksik bir etki oluşmayacağı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Tetrasiklinler; Sulfonamidler; Toprak; Risk; Döngü

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF VETERINARY ANTIBACTERIAL DRUGS (TETRACYCLINES AND SULFONAMIDES) IN ENVIRONMENT

Antibacterial drug pollution caused important problems can occur when manure is applied to agricultural lands. The aim of this study was therefore to determine the antibacterial drug pollution and effects of soil characteristics and seasonal changes on the fate of these drugs, and to evaluate the effects of antibacterial drug pollution in the environment.

The soil samples were collected from agricultural lands fertilizing poultry ($n=10$), cattle ($n=7$) and poultry-cattle manure ($n=4$) in summer (total $n=8$) and autumn (total $n=13$). Solid phase extraction and HPLC system were used to detect the antibacterial drug concentrations in soil samples and standard methods were used to determine the soil characteristics.

In summer, oxytetracycline was detected in four lands at concentrations of 19-144 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ chlortetracycline was detected in one land. In autumn, oxytetracycline was detected in nine lands at concentrations of 4.97-104.69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 72.83 $\mu\text{g}/\text{kg}$ chlortetracycline was detected in one land. Sulfonamides could not be detected in any land. Antibacterial drug pollution prevalence in autumn was higher than in summer. The highest concentration of antibacterial drugs in each season was detected in the lands fertilizing with poultry manure.

In autumn, cation exchange capacity dropped while total N and P, organic carbon and Na concentrations enhanced when compared to the summer. It was detected that oxytetracycline concentration dropped while cation exchange capacity enhanced and the increasing of N, P, organic carbon and Na concentration caused to the detection at high concentrations of oxytetracycline in soil samples. Sulfonamid concentrations were dropped by enhancing of silt, organic carbon, K, Mg and Ni concentrations.

In this study, tetracycline contamination was commonly detected in agricultural lands. The most important factor is cation exchange capacity in sorption of tetracyclines to the soil. Bacterial resistance could emerge and thus public and environmental health could be negatively affected by antibacterial drug pollution. However, it could not be expected that any toxic effect occurs on organisms.

Key Words: Tetracyclines; Sulfonamides; Soil; Risk; Fate

1. GİRİŞ

İlaç, hastalıkları tedavi eden ve önleyen, farmakolojik, immunolojik veya metabolik bir etki oluşturarak fizyolojik fonksiyonları düzenleyen, onaran, değiştiren ve hastalıkların tanısında kullanılabilen herhangi bir madde veya maddelerin bileşimidir. İlaçlar, güvenlik ve etkinlikleri bakımından değerlendirilip ruhsatlandırılır ve ürünün etkileri pazarlama süreci boyunca izlenir (1). İyi bir ilaç uygulamasının prensibi, hayvan türü ve hastalıklara bağlı olarak ilaç seçmek, tedavi sürecinde seçilmiş ilacı uygun dozda kullanmaktır. İlaç kullanımı planlanırken, yararı, riskleri ve ekonomik yönleri dikkate alınır (2).

Antibakteriyel ilaçlar doğal veya sentetik yapıda olup mikroorganizmaların fonksiyonlarını önler veya ölümüne neden olurlar. Bakterilerin fonksiyonlarını önleyen antibakteriyel ilaçlar bakteriyostatik, ölümüne neden olanlar bakterisit olarak sınıflandırılır. Bazı ilaçlar, belirli koşullarda her iki etkiyi de gösterebilir. Bu grup ilaçlar, tıp ve veteriner hekimliğinde enfeksiyon hastalıklarını önlemek ve tedavi etmek veya hayvansal verimi artırmak amacıyla yaygın olarak kullanılır (3, 4).

Avrupa Birliği (AB) ülkelerinde, 1996 yılında üretilen antibiyotik miktarı 10200 tondur. Bu miktarın yarısı veteriner hekimliğinde enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek ve hayvan verimini artırmak amacıyla kullanılmıştır. Avrupa Hayvan Sağlığı Federasyonunun (European Federation of Animal Health, FEDESA) 2001 verilerine (5) göre, 1999 yılında tüketilen ilaç miktarı 13288 tondur, bunun %65'inin tıp ve %35'inin veteriner hekimliğinde kullanılmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), 2000 yılında 16200 ton antibiyotik üretilmiş ve bunun %70'i veteriner hekimliğinde kullanılmıştır. Dünya antibiyotik pazarının yaklaşık 100 ile 200 bin ton arasında olduğu tahmin edilmektedir (6). Türkiye'de 2006 verilerine göre, veteriner hekimliğinde ana ilaç grupları bakımından toplam tüketimin %77'sini, bakteriyel ve paraziter hastalıklarla mücadelede kullanılan ilaçlar ile hayvansal verimin artırılmasını destekleyici ürünler oluşturur (7).

İlaç uygulanan hayvanların idrar ve dışkılarında önemli düzeyde ana bileşik veya metabolit bulunabilir. Bu nedenle, özellikle dışkının tarım arazilerinde gübre olarak kullanılması sonucu, bu alanlarda antibakteriyel ilaç kirliliği oluşur (8). İlaç üretimi süreci antibiyotiklerin çevreye ulaşmasından sınırlı düzeyde sorumludur. Bu aşamada meydana gelen atık ürünler, bu maddelerin imhası için kullanılan alanların yüzey ve yer altı sularına ulaşarak kirliliğe neden olabilir (9). Kullanılmayan veya kullanım süresi aşılmış ilaçların kontrolsüz olarak imha edilmesi diğer bir kirlilik nedeni olarak kabul edilebilir (10). Antibakteriyel ilaçlar, çevreye ulaştıklarında su veya toprakta yaşayan organizmaları

olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle AB’de, tüm medikal ürünlerin çevredeki etkilerinin, AB parlamentosunun ilgili komisyonlarının direktiflerine göre değerlendirilmesi bir zorunluluktur ve çevredeki ilaç emisyonunun azaltılması risk değerlendirme sürecinin önemli bir hedefidir (1, 3, 6, 11).

Veteriner hekimliğinde kullanılan antibakteriyel ilaçlar çevreyi iki şekilde kirletirler. Bunlardan birincisi balık üretiminde suya ilave edilen antibakteriyel ilaçların neden olduğu doğrudan kirlenme; diğeri antibiyotik uygulanan hayvanların gübrelere tarım arazilerinde kullanılması sonucu oluşan dolaylı kirlenmedir. Tarım arazilerine uygulanan hayvan gübresi, ilaçların çevreye ulaşmasında önemli rol oynar. Genel olarak, oral yolla uygulanan ilaçların %80’ninin ana bileşik halinde vücuttan uzaklaştırıldığı göz önüne alındığında, bu yolla taşınımın önemi daha kolay anlaşılabilir. İlaçlar çevrede, biyolojik veya biyolojik olmayan yapılar üzerinde birikebilirler. Ayrıca, taşınabilir veya çevrede biyotik ve/veya abiyotik bozunmaya maruz kalırlar. Bozunmayı başlıca, sıcaklık, pH, mikrobiyal aktivite, matrisin yapısı, organik veya inorganik maddelerin varlığı, çözülmüş karbon miktarı, oksijen, biyokütleinin büyüklüğü ve mevsim gibi faktörler etkiler (12-16). Çevredeki bozunmanın etkisine bağlı olarak yapısını koruyabilen ilaçlar yağmur suyu etkisiyle toprağın alt katmanlarına doğru ilerleyip, yeraltı sularını kirletebilirler. Böylece, kirleticiler toprak veya su aracılığıyla bitkilere, hayvanlara ve insanlara ulaşabilir (8, 10, 17, 18). Farklı etkiye sahip birçok ilaç, çevredeki döngüleri nedeniyle farklı düzeylerde bir arada bulunur. Bu nedenle araştırma sonuçlarından, ilaçların neden olduğu çevre kirliliği ve etkileriyle ilgili genel bir kaniya ulaşmak güçtür (3).

Tarımsal faaliyetler, antibakteriyel ilaç kirliliğinden önemli ölçüde sorumludur. Çünkü hayvan gübresi tarım arazileri için önemli bir besin kaynağıdır. Sığır ve domuz gübresi, besin içeriklerinin diğerlerine göre yüksek olması nedeniyle birçok ülkede tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, kanatlı ve küçükbaş hayvan gübresi de tarım arazilerine uygulanmaktadır. Hayvan gübresinin tarım arazilerinde kullanılması sonucu toprağın nemi, pH’sı ve tampon kapasitesi değişerek organik karbon miktarı artar. Ayrıca hayvansal verimi artırmak amacıyla kullanılan iz element ve ek besin maddeleri gübre aracılığıyla çevreye taşınır. Gübre ve toprağın yapısıyla birlikte mevsim koşulları, ilaçların çevredeki düzeyini etkiler. Tüm bu faktörler topraktaki mikroorganizma düzeyi ve toprağın yüzey katmanındaki mikroorganizmaların yapısını değiştirebilir (19). Antibakteriyel ilaç içeriği yüksek olan tarım arazileri çevre (yüzey suyu, zemin suyu, sediment ve içme suyu) için kirlilik kaynağı oluşturur. Ayrıca dirençli bakterilerin gelişip yaygınlaşmasına neden olabilir (10, 18, 20, 21).

Veteriner hekimliğinde kullanılan antibiyotiklerin çevredeki etkisini, ilacın fiziksel ve kimyasal özelliği, kullanılan miktarı, uygulama yolu, tedavi şekli ve dozu, vücutta metabolize olma düzeyi, gübrenin depolanması sırasında meydana gelen bozunma ve çevrede bulunan canlılar üzerindeki toksik etkisi belirler (14, 22). Antibakteriyel ilaçlar, vücutta metabolize olduktan sonra çoğunluğu suda çözünür polar bileşiklere dönüşürler ve biyolojik etkili çevre kirleticisi olarak kabul edilirler. Bu nedenle, zamanla çevrede birikebilir ve ekosistemi olumsuz yönde etkileyebilirler (23). Farklı ülkelerde yapılan birçok araştırma bu saptamayı destekler niteliktedir, 80 farklı antibiyotiğin $\mu\text{g/L}$ veya ng/L düzeyinde hastane deşarjı, evsel atık su, yüzey ve yeraltı sularında bulunabildiğini göstermektedir (24, 25). Antibakteriyel ilaçlar toprağın bileşenlerine büyük oranda bağlanır ve bu nedenle biyolojik etkinlikleri azalır, ancak sona ermez. Bu ilaçların çevredeki etkileri bakteri, toprak omurgasızları, alg, dafnid (planktonik küçük kabuklu artropod), balık ve bitkiler üzerinde toksik; besin maddeleri aracılığıyla çocuklarda alerjik; ilaç (monensin-tiamulin, triasetiloleandomisin veya sulfametazin) ve besin maddelerinde bulunan diğer elementlerle olan etkileşimlerinden dolayı (monensin-tahıl distilatı) hayvanlarda bazen ölümcül olabilir (26-32). Ancak, antibakteriyel ilaç kirliliğinin etkileri bakımından öncelikli sorun insan, hayvan ve çevre sağlığında meydana gelen değişimler ve bu değişimlerin yaşam kalitesi üzerindeki etkileridir (29). Örneğin bakteriler, antibakteriyel ilaçların çevredeki biyolojik etkinlikleri nedeniyle bu ilaçlara karşı direnç geliştirebilir. Dirençli bir bakterinin neden olduğu enfeksiyon hastalığının tedavisi güçleşir ve etkin tedavi için daha fazla antibakteriyel kullanılmasını gerektirir. Yüksek miktarda antibakteriyel kullanılması ise çevredeki aktif kalıntı düzeyinin artmasına neden olur (15, 33).

Hayvansal verimi artırmak amacıyla antibakteriyel ilaçların düşük düzeyde kullanılması direnç gelişimine katkı sağlayabilir. Örneğin, non-tifoid *Salmonella*, *Campylobacter* ve enterohemorajik *E.coli* gibi zoonoz mikroorganizmaların direnç kazanması halinde, kendileri veya genetik materyallerinin besin maddelerini kirletme ve bu besinlerin tüketilmesiyle direnç faktörlerinin insanlara taşınma olasılığı vardır (34, 35). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), ABD ve AB'deki sağlık kuruluşları, veteriner hekimliği alanında hayvansal verimi artırmak amacıyla bazı ilaçların subterapötik dozda kullanılmasının yasaklanması halinde direncin sıklığında azalma olacağı görüşünü savunmaktadır. Bu doğrultuda, 2001 yılında Amerikan Medikal Birliği (AMA), ardından Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), WHO tarafından ve AB'nde düşük düzeyde ilaç kullanımı yasaklanmıştır (34, 35). Kanatlı hayvanların sindirim sistemi mikroflorasının bir

üyeyi olan ve besin maddeleri aracılığıyla hastalıklara neden olan *Campylobacter* türü bakterilerin fluorokinolon grubu bir antibiyotik olan enrofloksasine karşı direnç geliştirmesi nedeniyle bu ilacın kanatlı hayvanlarda kullanımı Temmuz 2005 tarihi itibariyle FDA tarafından yasaklanmıştır (36). AB, avorpasini 1997; basitrasini, sipiramisin, tilosin ve virjinyamisini 1999; monensin sodyum, salinomisin sodyum, avilamisin sodyum ve flavofosfolipölü 1 Ocak 2006'da yasaklamıştır (10, 37, 38). Veteriner hekimliğinde hayvanların verimini artırmak amacıyla ilaç kullanımının birçok ölkede yasaklanmış olması antibakteriyel ilaçların tüketim miktarlarında düşüşe neden olmuştur. Ancak, tedavi veya profilaksi için bu ilaçların kullanımı yaygın olarak devam etmektedir (6, 39).

Antibiyotik kullanımına bağlı olarak gelişen ve yaygınlaşan direncin izlenebilmesi ve kontrol altına alınabilmesi için, direkt etkinin olduğu bölgelerin belirlenmesi ve elde edilen verilerin literatür verileriyle karşılaştırılıp antimikrobiyal direnç gelişme riski en uygun biçimde tanımlanmalıdır. Bu prensiplerin benimsenmesi ve uygulanması daha öngörölü ve etkin antimikrobiyal kullanımının ilk adımıdır (40). Bu stratejik yaklaşımdan anlaşıldığı gibi antimikrobiyal direnç gelişme riskinin tanımlanması dirence neden olan faktörlerin belirlenmesi ve araştırılması esasına dayalıdır.

Türkiye'de veteriner ilaçları "Veteriner İspençiyari ve Tıbbi Müstahzarlar Ruhsat Yönetmeliği" esaslarına (41) göre kontrol edilmektedir. Bu yönetmeliğin 22/c maddesi insan, hayvan ve çevre sağlığı üzerinde olumsuz etki meydana getiren ilaçların reçetesiz satılmasını ve uygulanmasını yasaklamaktadır. Ancak ilaçların insan, hayvan ve çevre sağlığına olan etkilerini değerlendirme ve izlenme süreçleri detaylandırılmamıştır. Büyüme faktörü olarak antibakteriyel ilaçların hayvan yemlerine ilave edilmesi konusunda AB müktesebatının Türk Mevzuatına uyarlanması çalışmaları devam etmektedir. Bu kapsamda AB'nin "Yem Katkı Maddeleri", "Yemlerde İstenmeyen Maddeler" ve "İlaçlı Yemler" ile ilgili özel mevzuatların uyarlanması tamamlanmıştır. 2002/66 numaralı "Yem Katkı ve Premikslerinin Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı" hakkındaki tebliğe göre flavofosfolipöl, monensin sodyum, salinomisin sodyum ve avilamisinin yem katkı maddesi olarak kullanılması yasaklanırken, aynı tebliğde (42) yapılan değişiklikle 2006 yılının Ocak ayı itibariyle bu ilaçların kullanılmaları yasaklanmıştır. Antibiyotik kullanımının düzenlenmesini ve kontrolünü amaçlayan bu tebliğ Avrupa Parlamentosu ve Konseyinin yem katkı maddeleri hakkındaki EC/1831/2003 Numaralı düzenlemesine uygun olarak hazırlanmıştır (42, 43).

Hayvancılığın ve tarımsal faaliyetin yöntemine göre değişmekle beraber, tarım arazilerinde kullanılan hayvan gübresinin miktarının yaklaşık 2-4 ton/dekardır. Gübreleme ürün hasadını izleyen aylarda (Eylül-Ekim-Kasım) yapılmaktadır. Ancak, bazı entegre üretim bölgelerinde belirli bir dönem olmaksızın elde edilen hayvansal ürünler suyla seyreltilip tarım arazilerine sürekli uygulanabilmektedir. Bazı arazilerde hayvan gübresi yığın halinde tarım arazisinin içinde depolanıp hasat sonuna kadar bekletilebilmektedir. Bu nedenlerle Türkiye’de antibakteriyel ilaç içeren hayvan gübresinin kullanıldığı tarım arazilerinde ilaç kirliliği meydana gelebilir ve buna bağlı olarak insan, hayvan ve çevre sağlığı olumsuz olarak etkilenebilir.

Antibakteriyel ilaç kullanım miktarı ve hayvancılığın yapıma yoğunluğu temel alınarak riskli bölgelerin belirlenmesi, bu bölgelerle ilgili genel verilere (ilaç kullanım miktarları ve sıklığı gibi) ulaşılması, toprağın yapısının çözümlenmesi, ilaç kalıntılarının tespit edilmesi ve ilaçların çevredeki döngüsünü etkileyebilecek parametrelerin incelenmesi risk değerlendirme sürecinin tamamlanmasını sağlar.

Veteriner hekimliğine kullanılan ilaçlar, hayvan gübresinin tarım arazilerinde kullanılması sonucu çevrede ilaç kirliliğine neden olduğu için, gübre ilaç taşıyıcısı, toprak ise kirliliğin yayılmasının sağlayan bir kaynaktır. Bu nedenle, bu araştırmada, Güney Marmara Bölgesinin bir bölümünde, hayvan gübresi kullanılan ve ilaç kirliliği oluşabilecek tarım arazilerinde antibakteriyel ilaç (tetrasiklinler ve sulfonamidler) miktarlarının belirlenmesi ve kirliliğin olumsuz etkilerinin değerlendirilmesi, toprağın bazı yapısal özelliklerinin ve mevsimsel değişkenliklerin ilaçların çevredeki döngüsü üzerindeki etkinliğinin saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Biyolojik etkinlikleri nedeniyle antibakteriyel ilaçlar çevre için potansiyel mikro kirletici olarak kabul edilir (8). İlaç gibi kimyasal kirleticilerin bütünüyle kontrol edilmesi risk analizi sürecinde kapsamlı olarak incelenir. Daha somut bir ifadeyle, herhangi bir popülasyon üzerinde bir kirleticinin neden olduğu genel etkilerin incelenmesi veya bir kimyasal maddenin yerel miktarının belirlenmesi için yapılan alan çalışması risk analizi süreci içinde yer alır (44). Toksikoloji, risk analizi için temel verilerin temin edilmesini sağlar. Bu kapsamda risk analizinin temel aşamaları, ilgili kirleticinin araştırma matrisindeki düzeyinin belirlenmesi, bu kirleticinin düşük ve yüksek miktarlarının neden olduğu farklı yanıtları kapsayan doz-cevap ilişkisinin saptanması, türler arasındaki farklılıkların belirlenmesi ve maruz kalma sürecinin tanımlanmasıdır (45). Ekotoksikoloji, toksikolojini bir alt dalıdır ve bir kirleticinin, tek bir organizmadan topluluğa kadar tüm biyolojik sistemler üzerindeki etkileriyle ilgilenen bilim dalıdır. Ekotoksikoloji, bir çevre kirleticisinin etkisini 4 aşamalı olarak değerlendirir (46). Bunlar:

1. Kirleticinin çevreye salınması
2. Kimyasal dönüşümlü veya dönüşümsüz yolla bir canlıya geçişi
3. Tek bir organizmanın veya topluluğun etkilenmesi
4. Bir organizmanın veya topluluğun kirleticinin etkisine karşı gösterdiği yanıtıdır.

Bu nedenlerle ilaç kirliliği, oluşturduğu sorunlardan dolayı toksikolojinin önemli bir araştırma sahası olarak kabul edilebilir. Ayrıca, çevredeki antibakteriyel ilaçların neden olduğu bakteri direnci enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için önemli bir sorundur ve farmakolojide kemoterapinin konuları içinde yer alır.

Risk analizi, son yıllarda ilaçlar için de sık kullanılan sistemli bir araştırma ve değerlendirme sürecidir. Bu süreçteki araştırmalar, Ekonomik İşbirliği ve Gelişme Teşkilatı (OECD), WHO, Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Teşkilatı (EPPO), Kimyasalların Ekotoksikoloji ve Toksikoloji Avrupa Merkezi (ECETOC) ve özellikle Kimyasalların Güvenliğinde Uluslararası Programlar (IPSC) gibi kuruluşların kontrolünde yürütülmektedir (44).

Veteriner hekimliğinde kullanılan ilaçların neden olduğu çevre kirliliği sonucu meydana gelen olumsuz etkilerin belirlenmesi için risk analizi yapılması önemlidir. Bu süreç, ilaçların çevredeki davranışları hakkında veri toplamayı ve bu verilerin değerlendirilmesini kolaylaştırır (47).

Antibakteriyel ilaç kirliliği bakımından temel sorun çevredeki canlılar üzerinde oluşan toksik etki ve antibakteriyel ilaçlara karşı mikroorganizmaların geliştirdiği dirençtir.

Toksik etki, bazı canlıların yaşamsal fonksiyonlarını etkiler ve bu canlıların varlığını tehdit eder. Direnç ise, enfeksiyon hastalıklarının tedavi sürecini değiştirir ve tedavinin etkinliğini azaltır.

Antibakteriyel ilaçların canlılar üzerinde bazı toksik etkiler oluşturması için gerekli miktar, çevrede tespit edilen miktarın çok üzerindedir. Bu bakımından olağan koşullarda canlılar üzerinde toksik bir etki görülmeyebilir. Ancak, mikroorganizmaların direnç geliştirmesi için antibakteriyel ilaçların çevredeki miktarının vücuttaki etkin düzeyin altında olması yeterlidir. Bu nedenle ekolojik direnç, daha kolay karşılaşılabilecek önemli bir sorundur. İlaçların ekolojik etkilerinin oluşması için duyarlı popülasyonların belirli düzey ve sürede ilaca maruz kalması gerekir. Maruz kalınan ilaç düzeyi, karmaşık bir olgudur ve birçok faktör tarafından etkilenir. Çevrede bulunan ilaç düzeyini, başta ilacın fiziksel ve kimyasal özelliği, çevredeki döngüsü sırasında içinde bulunduğu tüm matrislerin yapısı ve diğer birçok çevresel etmen belirler. Bu nedenle, antibakteriyel ilaçların çevrede kalış süreleri ve buna bağlı olarak canlıları etkileme şekli değişkenlik gösterir.

Antibakteriyel ilaçların oluşturabileceği sorunlar, ilaçların çevreye salınmalarına bağlıdır. Salınmada, hatalı tarımsal uygulamalar önemli bir faktör olabilir. Antibakteriyel ilaçların oluşturacağı riskin düzeyi ve devamlılığı ilaçların çevreye salınmasına neden olan sorunun çözümüne bağlıdır. Kontrol programları geliştirilmediği sürece çevreye önemli miktarda ilaç salınması devam ederek, birikici nitelikteki ilaçların çevredeki düzeyi artabilir ve ilaç kirliliğine bağlı sorunlar yaygınlaşabilir.

Yukarıda belirtilen süreç kapsamında, ilaçların neden olduğu riskler bakımından daha önce incelenmemiş bölgeler, teorik ve gözlemsel verilerden yararlanarak inceleme kapsamına alınabilir. İlaçların çevredeki düzeyleri belirlenip, doz-yanıt ilişkisiyle ilgili mevcut verilerle karşılaştırılarak risk karakterizasyonu yapılabilir.

2.1. Veteriner Hekimliğinde Antibakteriyel İlaç Kullanımı

Bir mikroorganizma tarafından üretilen ve başka mikroorganizmaların ölmesine neden olan maddelere antibiyotik denir. Doğal, yarı sentetik veya sentetik yapıda olup, konakçıya zarar vermeden mikroorganizmaların gelişimini durduran veya ölümüne neden olan maddelere antibakteriyel denir.

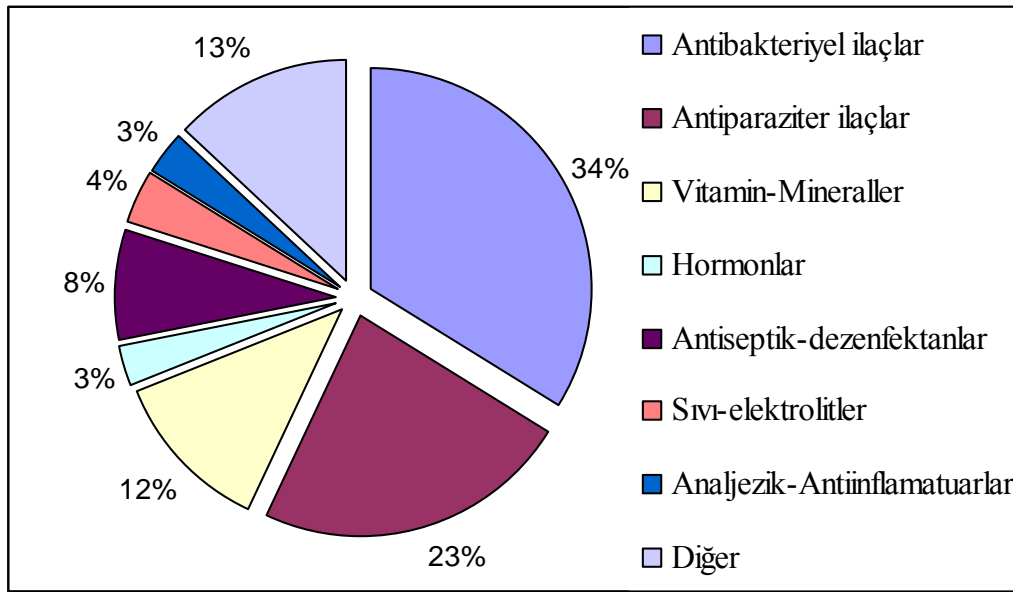
Veteriner hekimliğinde antibakteriyel ilaçlar, enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek (terapötik) veya hayvansal verimi artırmak (non-terapötik) amacıyla kullanılır. Bu

kapsamda, vücut fonksiyonlarının uyarılması, hastalıkların önlenmesi, belirtilerinin bakım ve tedavisinin yapılması hedeflenir. Bazı grup ilaçlar her iki amaca yönelik olarak da kullanılabilir (25, 48). Hayvansal üretim, hayvanların gelişme hızının ve besinlerden yararlanma düzeyinin artırılmasıyla daha verimli hale getirilebilir. Bu amaçla, hedef dokularda özel reseptörlere bağlanabilen hormon (doğal veya sentetik) veya sindirim sistemi mikroflorasının değişimine neden olan antibakteriyel bileşikler kullanılabilir (49).

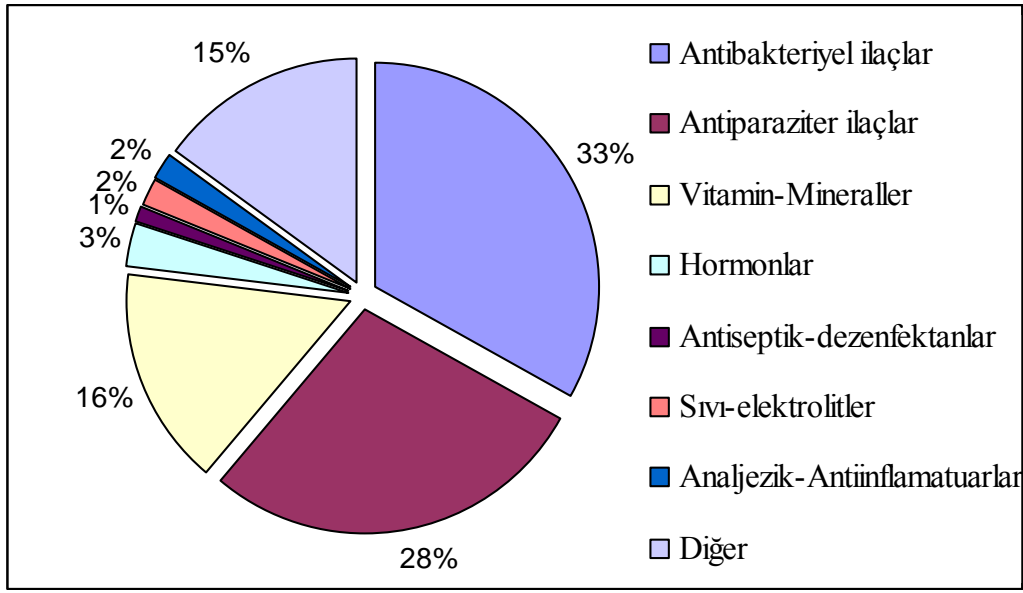
Genel olarak veteriner hekimliğinde yaygın olarak kullanılan antibakteriyel ilaç grupları şunlardır:

1. Tetrasiklinler
2. Sulfonamidler
3. Aminoglikozidler
4. Beta-laktamlar
5. Makrolidler

Türkiye’de ruhsatların ana ilaç gruplarına göre dağılımı Şekil 2.1’de, tüketimin ana ilaç gruplarına göre dağılımı ise Şekil 2.2’de gösterilmiştir (7). Her bir ana ilaç grubunda bulunan etken maddelerin toplam tüketim oranlarıyla ilgili verilere rastlanamamıştır.



Şekil 2.1 Ruhsatların ana ilaç gruplarına göre dağılımı (7)



Şekil 2.2 Tüketimin ana ilaç gruplarına göre dağılımı (7)

Antibakteriyel ilaçların pazar payları her ülkede farklıdır. Ancak, tetrasiklin ve sulfonamid grubu ilaçların daha yaygın kullanıldığı söylenebilir (13, 50-52). Tetrasiklinler antibakteriyel etkilerini, duyarlı bakterilerin 30S'lik ribozomal alt ünitelerine bağlanarak gösterir. Bu ilaçlar, mesajcı RNA-molekül/ribozom kompleksine aminoasil-tRNA'nın bağlanmasını önler ve böylece bakterinin yaşaması için gerekli olan protein sentezini bozarlar. Tetrasiklinler memeli hücrelerini etkilemezler ancak, sınırlı bir baskı oluşturabilirler. Memeli hücrelerinin etkilenmesi katabolik bir reaksiyonun göstergesi olarak kabul edilir. Bu grup ilaçlar, tedavi dozlarında bakteriyostatik ve geniş spektrumlu etki gösterir. Mikoplazma, klamidya, gram pozitif ve birçok gram negatif bakteriye karşı etkilidirler. Minosiklin ve doksisisiklin dışındaki tetrasiklinler vücutta önemli bir değişime maruz kalmazlar. Bu ilaçların uygulama dozunun yaklaşık %60'ı idrar, %40'ı ise dışkıyla vücuttan uzaklaştırılır. Birçok ülkede tetrasiklin (TC), oksitetrasiklin (OTC) ve klortetrasiklin (CTC) gibi bazı ilaçlar, hayvan sağlığının korunması ve veriminin artırılması amacıyla yaygın olarak kullanılır.

Sulfonamidler, folik (pteroylglutamik) aside bağlanan para-aminobenzoik asidin (PABA) etkinliğini önleyerek, bakteri hücresinde folik asidin sentezini bozarlar. Bu gruptaki ilaçlar, dihidrofolik asit sentetaz için PABA ile yarışır. Sulfonamidlerin memeli hücrelerine etkimemelerinin nedeni, bu hücreler için folik asit kaynağının farklı olmasıdır. Bakteri hücreleri folik asidi hücre içi yollarla sentezlerken, memeli hücreleri folik asidin ön formunu kullanır. Sulfonamidler, geniş etki spektrumlu ve bakteriyostatik etkili antibakteriyel ilaçlardır. Bakteri, toksoplazma ve koksidia gibi diğer protozoonlara karşı

etkilidirler. Sulfonamidler, böbrekler aracılığıyla metabolit veya ana bileşik halinde vücuttan uzaklaştırılır. Ayrıca gözyaşı, dışkı, safra, süt ve ter bu ilaçlar için çıkartım yolu olabilmektedir. Enterik sulfonamidlerin çoğunluğu vücudu dışkı aracılığıyla terk eder. Sistemik dolaşıma giren düşük düzeydeki enterik sulfonamidlerin çıkartım yolu ise böbreklerdir (2, 53).

2.2. Antibakteriyel İlaçların Neden Olduğu Çevre Kirliliği

İlaçların vücuttan uzaklaştırılmasında etkin olan mekanizmalar, biyotransformasyon (metabolizma) ve atılımdır. Genel olarak bu mekanizmalardan sadece biri baskın olduğu halde, birçok ilaç için hem hepatik metabolizma hem de renal atılım ilaçların vücuttan uzaklaştırılmasında etkin olabilir. Bir ilacın vücuttaki döngüsünü belirleyen önemli faktörler ilacın fiziksel ve kimyasal özellikleridir. Özellikle, ilacın yağdaki çözünürlüğü ve iyonlaşma derecesi önemlidir. Yağdaki çözünürlüğü yüksek olan ilaçlar hepatik mikrozomal enzim sistemleri sayesinde biyotransformasyona maruz kalır. Polar yapıdaki ilaçlar ve birçok ilaç metaboliti de böbrekler yoluyla vücudu terk eder. İlaçlar, metabolik değişimlere maruz kalarak vücuttan atılıma uygun bir form olan metabolitlere dönüşürler. Biyotransformasyon ürünlerinin büyük çoğunluğu polar, az miktarı ise yağda çözünebilir yapıdadır (2).

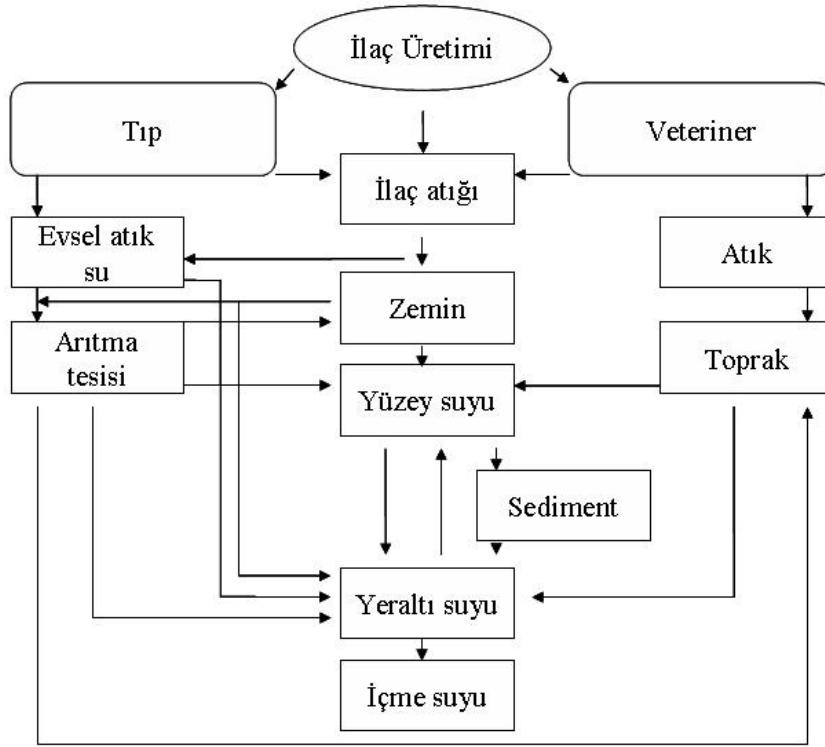
Endüstriyel maddelerle kıyaslandığında, veteriner hekimliğinde kullanılan ilaçların hangi yolla çevre kirliliğine neden olduğunu belirlemek daha kolaydır. İlaçların neden olduğu çevre kirliliğinde antibakteriyel ilacın hayvana uygulanan miktarı, vücutta uğradığı metabolik değişim ve atılım yolu gibi türler arasındaki farklılıklar etkilidir. Hayvansal üretimde izlenen yöntem de, kirliliğin boyutlarını belirler. Bu bakımdan, intansif hayvan yetiştiriciliğinden kaynaklanan ilaç içeren hayvan gübresinin tarım arazilerinde kullanılması sonucu ilaçların ana bileşikleri veya metabolitleri çevreye taşınır. Ekstansif üretimde ise ilaç kirliliği daha bölgesel ve sınırlıdır. İlaçların hayvan gübresinde yapılarını koruyabilmeleri kimyasal özelliklerine bağlıdır (48). Çevresel ortama taşınan ilaçların, gübre veya buldukları matriste hızla yapıları bozunabilir ve parçalanabilir. Ayrıca, yağışların etkisiyle antibakteriyel ilaç kirliliği toprak yüzeyinden daha derin katmanlarına doğru yayılabilir ve yeraltı su kaynaklarının ilaçlarla kirlenmesine neden olur (48).

Hayvan gübresi tarımda, bitki besin elementlerinin temin edilmesi için kullanılan organik bir bileşimdir ve içeriği bekleme süresine bağlı olarak değişir. Kanatlı hayvan gübresi, et ve yumurta üretimi amacıyla yetiştirilen kanatlı hayvanlar tarafından üretilir.

Bu gübre, kanatlı endüstrisinin önemli bir ürünü olup geleneksel tarım faaliyetlerinde toprak için besin maddesi olarak kullanılır. Bir tavuğun yıllık olarak ürettiği gübre miktarı yaklaşık 25kg'dır. Buna diğer kanatlı hayvanların ürettiği gübre miktarı eklenerek bir ülkenin yıllık kanatlı hayvan gübre miktarı belirlenir. Kanatlı hayvan gübresinin kimyasal bileşimini gübrenin kaynağı, besin maddesi içeriği, hayvanların yaşı ve fiziksel durumu, gübrenin depolanma şekli ve altlık tipi etkiler. Taze kanatlı hayvan gübresinin %20-23'ü kuru maddeden, geri kalan kısmı sudan oluşur. Gübre değeri bakımından kuru maddenin en önemli bileşenleri azot, fosfor ve potasyumdur. Gübrenin kimyasal kompozisyonu, gerek çevre etkisi, gerekse tarımda kullanımında önem taşır. Besin maddesi düzeyinin yüksek olması ve aşırı kullanılması durumunda gübre, toprak ve su kirliliğine neden olabilir. Ayrıca, farklı yapıda toksik gaz ve kötü koku üretebilir. Buna rağmen kanatlı hayvan gübresi, kimyasal bileşimi nedeniyle toprak için iyi bir besin kaynağıdır ve toprağın verimini artırır (54).

Sığır gübresi de, kanatlı hayvan gübresi gibi topraktaki besin maddesi ve organik madde düzeyini arttırarak tarımın kalitesini olumlu etkiler. Ancak, tarımsal bakımdan belirgin sonuçlar elde etmek için sığır gübresi kullanımını birkaç yıl tekrarlamayı gerektirmektedir. Sığır gübresi dışkı, altlık, artık besin maddesi ve suyun bileşiminden meydana gelir. Bir sığırın yıllık olarak ürettiği gübre miktarı 3.6 tondur. Yoğun miktarda organik madde içerir. Gübrenin organik kısmı, toprağın organik madde düzeyinin ve kalitesinin artmasına neden olur. Ayrıca, suyun toprağa infiltrasyonu kolaylaşır. Gübrenin fazla miktarda uygulanması durumunda ise besin maddeleri zemin sularına sızar ve atmosferik gazların kompozisyonu değişir. Ayrıca, toprakta biriken sodyum ve diğer çözünebilir tuzlar toprağın kalitesini ve verimliliğini azaltır. Sığırın türü ve yaşı, tükettiği besin maddelerinin kompozisyonu ve miktarı, iklim, altlık tipi, gübreye uygulanan işlemler ve gübrenin depolanma yöntemi bileşimini etkileyen diğer faktörlerdir (54-56).

Antibakteriyel ilaçların kullanımı, balık yetiştirme çiftliklerindeki sedimentlerde de kirliliğe neden olur. Balık yetiştiriciliğinde kullanılan ilaçların, yaklaşık %80-90 gibi yüksek bir miktarının çevreye taşınıp kirliliğe neden olduğu saptanmıştır. Kimyasal yapılarına bağlı olarak üretim bölgesinden değişik bölgelere taşınırlar. Polar yapıdaki bileşikler ortamda serbest halde, lipofilik yapıda olanlar ise organik maddenin yoğun olduğu toprak veya sediment üzerinde birikirler (48). İlaçların hangi yolla çevre kirliliğine neden olduğu ve çevredeki taşınım süreçleri Şekil 2.3'te özetlenmiştir.



Şekil 2.3. Çevre kirliliğine neden olan ilaçların kaynakları ve kirliliğin dağılımı

2.3. Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Düzeyi

Antibakteriyel ilaçlar yüzey sularında, ilk defa İngiltere’de Watss ve arkadaşlarının (57) yaptığı araştırmalarda tespit edilmiştir. Tespit edilen antibakteriyel ilaçlar, makrolid, sulfonamid ve tetrasiklin grubudur. Hirsch ve arkadaşları (9), yüzey sularında klaritromisin, eritromisin, roksitromisin, kloramfenikol, sulfadimidin, sulfametoksazol (SMZ) ve trimetoprim 0.06–1.70µg/L düzeyinde tespit etmiş, aynı antibiyotiklerin evsel atık su arıtma birimlerinin deşarjlarındaki düzeylerini 0.24–6.00µg/L olarak belirlemiştir. Christian ve arkadaşları (39), Almanya’da 16 farklı nehir suyunda 1–190ng/L düzeyinde flukloksasilin, piperasilin, azitromisin, klaritromisin, klindamisin, eritromisin, roksitromisin, trimetoprim, SMZ, siprofloksasin ve ofloksasin bulunduğunu tespit etmiştir. Gobel ve arkadaşları (58), evsel atık sularda sulfapridin, SMZ, trimetoprim, eritromisin, klaritromisin ve roksitromisinin düzeylerini 11–641ng/L olarak belirlemiştir. Meyer ve arkadaşları (59), ABD’nin altı eyaletinde hayvansal atıklarda en sık tespit edilen antibakteriyel ilaçların CTC, sulfametazin ve linkomisin olduğunu bildirilmiştir (10). Nakata ve arkadaşları (60), ABD ve Kanada’da topladıkları evsel atık su ve nehir suyu örneklerinde kinolon grubu antibiyotiklerin düzeylerini 31–49ng/L olarak belirlemiştir.

Yeraltı sularının antibakteriyel ilaç kalıntılarıyla kirlenmesine yağmur sularının neden olduğu ve bu kirliliğin esas kaynağının, tarım arazilerine uygulanan hayvan gübresi olduğu bilinmektedir (3). Sulfadimidin ile tedavi edilen (6-10mg/kg dozda) hayvanların gübresinde önemli miktarda (1mg/kg) ilaç saptanmıştır (39). Antibakteriyel madde içeren hayvan gübresinin kullanıldığı tarım arazilerinin yeraltı sularında düşük düzeyde SMZ ve sulfametazin (0.16–0.47ng/L) tespit edilmiş ve gübre önemli bir kirlilik kaynağı olarak gösterilmiştir (9). Bu nedenle, yeraltı sularının antibakteriyel ilaçlarla kirliliğinin sorumlusu olarak büyük oranda veteriner hekimliğinde kullanılan ilaçlar gösterilmiştir (10).

Antibakteriyel ilaçlar, tarım arazileri ve sedimentlerde bakterilerin faaliyetlerini etkileyebilecek kadar yüksek düzeyde bulunabilmektedir (61). Bu nedenle, antibakteriyel ilaçların düzeylerini belirlemeye ve zamana bağlı olarak miktarlarında meydana gelen değişimleri izlemeye yönelik araştırmalar önemlidir. Domuz gübresi kullanılarak yapılan bir araştırmada (13), 20mg/kg düzeyinde sulfakloropiridazin (SCP) ile kirlilik oluşturulmuş tarım arazisinde 9 aylık bir dönem içinde ilaç miktarında önemli düzeyde değişiklik olduğu saptanmıştır. Bu araştırmanın ilk haftasında topraktaki ilaç miktarı yüksek iken (590µg/L) dönem sonunda ilaç miktarı düşük seviyelere (0.6µg/L) doğru azalmıştır. Sulfadimidin ile tedavi edilen (6–10mg/kg dozda) hayvanların gübresinde de önemli düzeyde (1mg/kg) ilaç bulunur. Yüksek düzeyde antibakteriyel ilaç içeren hayvan gübresinin kullanıldığı tarım arazilerinde (2-4 ton/dekar) uygulamadan uzun bir süre sonra (7 ay) düşük düzeyde (15µg/kg) SMZ'ye rastlanmıştır (39).

Liguoro ve arkadaşları (15), oral yolla antibakteriyel ilaç tedavisi uygulanan hayvanların dışkı ve gübrelerinde, altlıklarında ve bu hayvanların gübresinin kullanıldığı tarım arazilerinde OTC ve tilosinin düzeylerini izlemiştir. Hızlı bir şekilde bozunması nedeniyle tedaviyi izleyen 45 günlük süre sonunda toprak ve etrafındaki sularda tilosin tespit edilememiştir. Ancak, OTC'nin yarılanma ömrü 30 gün olarak belirlenmiş ve gübrelemeden beş ay sonra bu ilacın toprakta tespit edilebilir düzeyde bulunduğu (820µg/L) bildirilmiştir. Bu nedenle, tedaviyle gübreleme arasında geçen süre, antibiyotiklerin çevredeki düzeylerinin azalması bakımından önemli olabilmektedir. Hayvan gübresinin tarım arazilerinde sürekli kullanılması, tetrasiklin gibi toprağa güçlü bağlanabilen ilaçların çevrede birikmesine neden olabilir (15). Bazı araştırmalarda (15, 62), mevsimsel faktörlerin tetrasiklinlerin çevredeki düzeyine etkisinin sınırlı olabileceği ve gübrelemenin bu ilaçların toprağın ilk 30cm'lik bölümünde yoğun bir şekilde bulunmasına neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, kirli toprak örneklerinin +4°C

bekletilmesinin antibiyotik düzeyinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir (62). Sonuç olarak, hayvan gübresinde, yüzey ve yeraltı sularında, nehir, sediment ve toprakta ekosistemi etkileyebilecek düzeyde antibakteriyel ilaç bulunabilmektedir.

Bitkiler kökleriyle, toprakta bulunan ilaçları yapısına alabilmekte ve bu ilaçlar bitkilerin gelişimlerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. OTC ve enrofloksasin gibi antibakteriyel ilaçlar bitki gelişimini engelleyen önemli ilaçlardan bazılarıdır. Florfenikol ile trimetoprim havuç ve marul gibi bitkilere bağlanarak olumsuz etki oluşturan diğer ilaçlardır. Enrofloksasini de bağlayabilen havuç gibi köklü bitkilerin dış katmanlarının soyulmasıyla ilaç miktarı önemli düzeyde azaltılabilmektedir (18). Topraktaki miktarı zamanla azalan CTC'nin, yeşil soğan ve lahananın yapısına girdiği saptanmıştır. Bitkilerde bulunan ilaçların düzeyinde meydana gelen azalma nedeninin, bitkinin büyümesi ve buna bağlı olarak ilacın yapısının bozunması olduğu ileri sürülmüştür (63).

2.4. Antibakteriyel İlaçların Çevrede Bulunan Canlılar Üzerindeki Olumsuz Etkisi

2.4.1. Antibakteriyel İlaçlara Karşı Bakterilerin Geliştirdiği Direnç

Antibiyotik üreten mikroorganizmalar, bu ürünlerin etkilerine karşı kendilerini korurlar. Mikroorganizmalar bunun için üç temel mekanizma kullanır. Bu mekanizmalar:

1. Antibakteriyel ilacın etkisizleştirilmesi
2. Bakteri hücrelerine giren ilacın geri çıkartılması
3. Duyarlı moleküler hedefin değiştirilmesi

Duyarlı patojen bakteriler de bu mekanizmaları kullanarak direnç geliştirebilir (4).

Direnç, bir mikroorganizmanın özel koşullarda uygulanan özel bir ilaca karşı göreceli olarak duyarsızlaşmasıdır ve aynı zamanda doğal bir savunma mekanizmasıdır. Bu nedenle, direncin gelişmesi tek başına herhangi bir antibakteriyel ilacın kullanılmasına bağlı değildir. Ancak, ilaçların kullanılması duyarlı bakterilerin gelişmesini önler, ilaca duyarsız olanlar yaşamlarını sürdürür ve buna bağlı olarak doğal bir seçicilik meydana gelir (2, 20).

Direnç, doğal veya kazanılmış olmak üzere iki şekilde gelişir. Doğal direnç, antibakteriyel ilacın etkisini göstereceği bakteriyel yapının bulunmamasına bağlı bir olgudur ve doğal bir duyarsızlık söz konusudur. *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerin vankomisin ve gram pozitif bakterilerin polimiksine karşı direnci bu tip dirence örnek olarak gösterilebilir. Kazanılmış direnç, genetik kökenlidir ve iki şekilde meydana gelir:

1. Kromozomal mutasyon
2. Genetik maddenin mikroorganizmalar arasında aktarılması

Kazanılmış direncin oluşmasını kolaylaştıran iki önemli etmen, antibakteriyel ilacın etkisi olmaksızın dirençli mikroorganizmaların vücut veya çevrede bulunması ve aynı yapıdaki mikroorganizmaların, direnci kendi aralarında aktarmalarıdır. Kazanılmış direncin oluşmasına neden olan kromozomal mutasyon, duyarlı hücrede bir takım yapısal değişimlere neden olur. Oysa aktarılabilir direnç olgusunda ilacı metabolize eden enzimler sentezlenir. Ayrıca, kromozomal direnç aşamalı olarak oluşurken, aktarılabilir dirençten ya söz edilemez ya da ileri düzeyde bir direnç gözlenir. Aktarılabilir direnç bakımından ekstrakromozomal DNA'nın kendi başına çoğalabilmesi ve farklı mekanizmalarla aktarılabilmesi önemlidir. Direnç belirleyicileri, kromozomlar sayesinde bakterinin kendi genetik yapısı içinde taşınabileceği gibi bakteriyofaj, plazmid veya transpozon gibi taşıyıcılar aracılığıyla toplulukta bulunan diğer mikroorganizmalara aktarılabilir. Aktarılabilen genler duyarlı mikroorganizmalar tarafından alındığında, direncin yaygınlığı artar (2).

Antibakteriyel ilaçların neden olduğu kirliliğin izlenmesi sonucu elde edilen veriler, patojenler arasında direncin yaygınlaştığını göstermektedir. Ayrıca, fitopatogenik direnç, genel olarak direncin gelişmesi ve yaygınlaşması bakımından göz ardı edilemez. Bu nedenle direnç belirleyicileri, besin maddeleri ve su aracılığıyla veya dirençli patojenlere direkt temasla insan ve hayvan vücuduna geçebilir (64). Takip programlarında elde edilen veriler, ilaçların insan ve hayvan sağlığını etkileme biçiminin anlaşılmasını da kolaylaştırır. Antibakteriyel ilaçların çevredeki düzeylerine bağlı olarak direncin geliştiği ve yaygınlaştığı bu verilere dayalı bir görüştür (65). Direncin yaygınlaşmasına bağlı olarak enfeksiyon hastalıklarını tedavi etmek güçleşir, böylece toplum sağlığı olumsuz yönde etkilenir. Ayrıca, direncin patojen olmayan mikroorganizmalardan patojenlere aktarılması hastalıkların salgın haline dönüşmesine neden olabilir (66). Veteriner hekimliğinde en yaygın kullanılan antibakteriyel ilaç gruplarına karşı mikroorganizmaların geliştirdiği direnç şekilleri Tablo 2.1'de verilmiştir (67).

Tablo 2.1 Bazı antibakteriyel ilaç gruplarının etki mekanizmaları ve mikroorganizmaların direnç şekilleri

Antimikrobiyal grup	Etki mekanizması	Direnç mekanizması	Direnç tipi
Tetrasiklinler	Protein sentezinin inhibisyonu (30S ribozomal birimlere bağlanarak)	Geri çıkartım mekanizması İlacın etkisizleştirilmesi Hedefin değiştirilmesi	Aktarılabılır Kromozomal
Sulfonamidler	PABA'nın yarışmalı olarak inhibisyonu	Azaltılmış geri alım Değiştirilmiş metabolik enzimler PABA üretiminin arttırılması	Aktarılabılır Kromozomal
Aminoglikozidler	Protein sentezinin inhibisyonu (30S ribozomal birimlere bağlanarak)	Ribozomal hedeflerin metilasyonu Enzim değişimi	Aktarılabılır Kromozomal
β-laktamlar	Bakteri hücre duvarının sentezinin önlenmesi	β-laktamazlar Azaltılmış geçirgenlik Hedef değişikliği	Aktarılabılır Kromozomal
Makrolidler	Protein sentezinin inhibisyonu (50S ribozomal birimlere bağlanarak)	23S RNA'nın metilasyonu	Aktarılabılır Kromozomal

Basillus subtilis (Tn916 transpozunun taşıyıcısı) ile kontamine edilen 100g toprakta zamana bağlı olarak tetrasiklin direnç genlerinin gelişiminin izlendiği bir çalışmada (68), oda ısısında inkübe edilen kontamine topraktan 4. gün alınan örneklerde önemli düzeyde tetrasiklin direnç geni tespit edilmiştir. Aynı örneklerde tetrasiklin direnç genlerinin görülme sıklığının yüksek ve tetrasiklin direnç belirleyicilerinin miktarının fazla olduğu saptanmıştır. Ancak, kirletilmiş toprak örneklerinde *tetM* genlerine rastlanamamıştır. Bu çalışmada, toprakta direnç genlerinin taşınması bakımından Tn916 transpozununun önemli bir etmen olduğu vurgulanmıştır. Kolon çalışmaları da bu verileri destekler niteliktedir. 30cm uzunluğunda ve 2.5cm çapında bir cam kolon vertikal pozisyonda sabitlenerek toprakla doldurmuş ve 6 örnekleme noktası oluşturularak tetrasiklinin (50 µg/L) heterotrofik bakteriler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, tetrasikline uzun süre maruz kalan dirençli bakterilerin sayısında bir artış, toplam heterotrof sayısında azalma meydana geldiğini göstermektedir (69). Ancak, bu konuda yapılan bazı araştırmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Danimarka'da iklim koşulları ve toprak yapısı dikkate alınarak hazırlanan deney matrislerine, ilaç içeren (TC ve CTC) hayvan gübresi ilave edilerek, tetrasiklin direnç genlerinin geliştiği saptanmıştır. Tetrasiklin direnç genlerinin miktarında 0–7 günlük ilk dönemde önemli artışlar belirlenirken, 45. günden sonra ilaçlı toprak örnekleri ile kontrol amacıyla kullanılan örnekler arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir (70). Bu nedenle, ilaç içeren hayvan gübresinin tarım arazilerinde kullanılmasının, ancak geçici bir direnç yaygınlaşmasına neden olabileceği sonucuna varılmıştır. Etkinin geçici bir nitelikte olmasının nedeni, mikroorganizmaların arazi veya hayvan gübresindeki aktivite sürelerinin sınırlı olmasıdır. Ayrıca, *tetM*

taşıyıcısı olan bazı bakterilerin topraktaki yaşam süresinin hayvan gübresi ilavesiyle değişmediği ve *tetM* geninin çevrede yapısını daha uzun süre (5 ay) koruyabildiği belirlenmiştir (70). Schmitt ve arkadaşları (71), deney matrislerinde, hayvan gübresinin direnç geni çeşitliliğine neden olduğunu saptamışlardır. Antibakteriyel ilaçlar patojenlerin direnç geliştirmesini kolaylaştırdığı halde, bu maddelerin yüksek düzeyinin direnç geni çeşitliliğine sınırlı bir katkı sağladığı tespit edilmiştir. Bu bulgu deney matrislerinde başka tolerans mekanizmalarının baskın olabileceğini ve mikroorganizma adaptasyonunun direnç geni prevalansında meydana gelen sayısal değişimlere bağlı olduğunu göstermektedir. Bazı arazilerden alınan örneklerde tespit edilen tetrasiklin direnç belirleyicilerinin çeşitliliğin nedeni, toprağın direnç genleri için doğal kaynak olması ve küresel yayılımın etkisidir.

Mevcut verilerin direncin gelişim ve dağılım sürecinin anlaşılabilmesi bakımından yetersizliği, bu konuda daha fazla sayıda çalışmanın yapılması gerektiğini göstermektedir (70).

2.4.2. Diğer Etkiler (Antibakteriyel İlaçların Toksik Etkileri)

Veteriner hekimliğinde antibakteriyel ilaçların kullanılmasının amacı vücutta hastalık yapan mikroorganizmaları kontrol altına almaktır. Antibakteriyel ilaçlar, bu etkilerini çevrede bulunan mikroorganizmalar üzerinde de gösterirler (72).

Her gruptan birçok farklı ilaç çevrede bulunan mikroorganizmaları olumsuz yönde etkileyebilir. Sulfonamid ve tetrasiklin grubu ilaçların toprakta yaşayan mikroorganizmalar üzerindeki etkisinin geçici ve seçici olduğu bildirilmiş, etkinin geçici olmasının nedeni olarak bu grup ilaçların toprağa güçlü bir şekilde bağlanması gösterilmiştir (32). Toprağın bileşenlerine bağlı halde bulunan tetrasiklin ve tilosin gibi antibakteriyel ilaçların, dirençli ve duyarlı *Salmonella* sp. ile *Escherichia coli* ATCC 25922'ye karşı antimikrobiyal etkinliğinin sürdüğü belirlenmiştir. Antibakteriyel ilacı bağlama kapasitesi farklı olan topraklardaki bakteri miktarındaki azalma oranı, kumlu toprakta %43, killi toprakta ise %28 olarak tespit edilmiştir (31). İlacın çevredeki düzeyi oluşan etkinin kapsamını değiştirebilir. 50µg/ml gibi düşük bir düzeyde ilacın neden olduğu mikroorganizma sayısında azalma %26 iken, 500µg/ml gibi yüksek bir düzeyde ise meydana gelen azalma miktarı %26'nın üzerindedir (31). Antibakteriyel ilaçların miktarlarına bağlı olarak bir etkinin meydana gelmesi tüm matrisler için genelleştirilebilir. Bu konuda yapılan bir çalışmada (30), tarımsal kaynaklı suların içerdiği antibakteriyel

ilaçların (tarım arazilerinden göle akan drenaj sularında), miktarlarına bağlı olarak gölde yaşayan mikroorganizmaları farklı düzeyde etkilediği tespit edilmiş, ilaç düzeyinin artmasıyla etkinin şiddetinin arttığı bildirilmiştir. Antibakteriyel ilaç metabolitlerinin antibakteriyel etkinliği ana bileşiğe göre düşük olmakla birlikte önemli düzeyde olabilmektedir (17). Tetrasiklin molekülünün C-1, C-2, C-3, C-4, C-10, C-11, C-12 ve C-12a pozisyonundaki herhangi bir değişiklik antibakteriyel etkiliğin azalmasına neden olabilir. Bu nedenle, teorik olarak ETC, EATC, ECTC, EACTC ve EOTC gibi 4-epi-tetrasiklin grubu metabolitler (C-4 pozisyonları değişmiş), iso-CTC (C-11 pozisyonu değişmiş) ve ter-OTC'nin (C-4 pozisyonu değişmiş) ana bileşiğe göre daha az antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu kabul edilmektedir. Ancak, ATC, α - ve β -Apo-OTC gibi bozunma ürünlerinde meydana gelen herhangi bir değişiklik antibakteriyel etkiyi değiştirmez. Bazı bozunma ürünlerinin (ATC, EATC, ACTC ve ECTC) tüm dirençli bakteri ve *Bacillus* türlerine karşı toksik etkisi gözlenir. Bu toksik etkinin nedeni, tetrasiklinlerin atipik formu olan bozunma ürünlerinin ana bileşikten farklı olarak bakteriyostatik değil, bakterisid bir etki oluşturmasıdır (17). Sonuç olarak antibakteriyel ilaçlar, toprağın mikrobiyal yapısını değiştirebilir ve bu etki uzun sürebilir (52). Ancak, diğer toprak canlıları antibakteriyel ilaçların topraktaki düzeyinden fazla etkilenmez (28, 52).

Çevredeki canlılar üzerinde antibakteriyel ilaçların etkilerini belirlemek için yapılan laboratuvar deneylerinde, bu ilaçların %20'sinin algler için fazla toksik ($EC_{50} < 1 \text{ mg/L}$), %16'sının dafnidler için aşırı toksik ($EC_{50} < 0.1 \text{ mg/L}$) ve %44'ünün fazla toksik etkili olduğu saptanmıştır (29).

2.5. Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Döngüsünü Etkileyen Faktörler

Antibakteriyel ilaçların çevredeki döngüsünü esas olarak, pH, organik madde ve mineraller etkiler. pH artarken, hem asidik hem de bazik bileşikler toprağa daha az bağlanır. Asidik bileşikler, yüksek pH değerlerinde negatif yüklenir ve bu nedenle negatif yüke sahip toprağa bağlanamazlar. Bazik bileşikler ise düşük pH değerlerinde pozitif yüklenir ve negatif yüklü toprağa bağlanabilirler. Hayvan gübresinin toprağa ilave edilmesi, uygulamadan birkaç hafta sonra toprağın pH düzeyinin yükselmesine neden olur (73). Toprağın özellikle yüzey katmanlarında pH düzeylerinde meydana gelen değişim, farklı pKa değerlerine sahip antibakteriyel ilaçların toprakla etkileşimini ve çevredeki

hareketini etkiler. Ayrıca, çevredeki antibakteriyel ilaç miktarı arttıkça bozunma daha hızlı gerçekleşir (74).

2.5.1. Toprağın Fiziksel ve Kimyasal Özelliği

Hayvan gübresi ve toprakta bulunan kimyasal maddeler çevre kirliliğine neden olabilir. Bu nedenle toprak, çevre kimyası bakımından önemlidir.

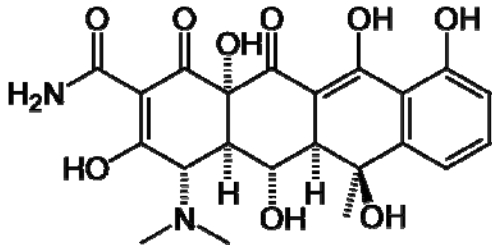
Toprak, farklı oranda mineral ve organik madde ile bitki yaşamı için gerekli besinleri içerir. Ayrıca, bakteri, mantar ve diğer canlıları (toprak solucanı gibi) barındırır. Genellikle, verimli bir toprağın katı bileşenlerinin yaklaşık %5'i organik ve %95'i inorganik maddeden oluşur. Ancak, bazı toprak türlerinde organik madde miktarı çok yüksek (%95) olabilir. Toprağın esas yapısını kum, alüvyon, kil, su ve değişen miktarda doğal organik karbon oluşturur. Bu karakteristiklerin bileşimi toprağın bağlayıcı özelliklerini değiştirir ve kirleticilerin toprağın alt katmanlarına geçişini etkiler (75).

Bünye, toprağı oluşturan parçacıkların büyüklüklerini ve topraktaki miktarını tanımlar. En büyük parçacık kum (2-0.02mm), orta büyüklükteki silt (0.02-0.002mm) ve en küçük olanı kildir (<0.002mm). Bu parçacıkların agregat (birbirine sıkı bir şekilde bağlanan toprak parçacıklarının oluşturduğu kümecik) içinde birbirine bağlanma biçimleri toprağın yapısını şekillendirir. Bünye, topraktaki gözenek miktarını etkiler ve küçük parçacık miktarı fazla olan toprak daha gözeneklidir. Bu nedenle yüksek düzeyde kil içeren toprağın gözenek miktarı, yüksek düzeyde silt veya kum içeren toprağın gözenek miktarından daha fazladır. Gözenek miktarı arttıkça toprağın hava ve su tutma kapasitesi artar. Demir ve organik madde, agregat olarak adlandırılan ünitelerde toprak parçacıklarının birbirine bağlanmasını sağlar. Organik madde, toprağın önemli bir bileşeni olarak, fiziksel durumunun iyileşmesi, su infiltrasyonu ve su tutma kapasitesinin artması, agregat stabilitesinin artarak yapısının iyileşmesi, erozyonla toprak kaybının azalması, bitki besinlerinin (azot, fosfor ve sülfür) temini ve katyon değiştirme kapasitesinin artmasını sağlar. Kaya, mineral ve organik maddenin toprağı oluşturmak için ayrıştığı fiziksel ve kimyasal aşınma süreci sırasında çok küçük parçacıklar da şekillenir. Kolloidal büyüklükteki parçacıklar çok küçüktür ve negatif olarak yüklenirler. Bu nedenle, bu parçacıklar katyon olarak bilinen pozitif yüklü iyonlarla etkileşir. Ayrıca, bu özellikleri sayesinde, değişmemiş bir formda birçok bitki besinini çeker ve tutarlar. Bir toprağın, katyonları tutma gücü katyon değiştirme kapasitesi (KDK) olarak adlandırılır ve bu kapasite topraktaki kolloidin (organik ve kil gibi inorganik yapıdaki çok küçük parçacıklardır, negatif yüklü olup toprağın katyon değiştirme bölgelerini oluştururlar)

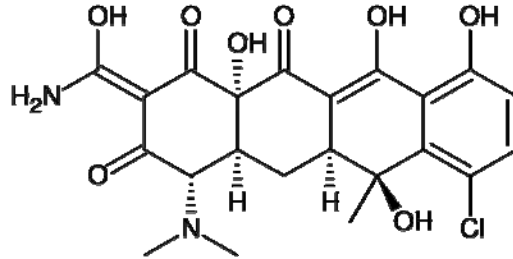
yapısı ile miktarına bağlıdır. Kil ve organik madde miktarı arttıkça KDK artar. KDK potasyum (K^+), amonyum (NH_4^+), hidrojen (H^+), kalsiyum (Ca^{++}) ve magnezyum (Mg^{++}) gibi pozitif yüklü bitki besinlerinin toprağa bağlanması sağlar. Organik kolloid, farklı yapıdaki kil kolloidi ile karşılaştırıldığında her birim ağırlıkta daha fazla miktarda negatif yük oluşturur (55).

2.5.2. Tetrasiklin ve Sulfonamid Grubu Antibakteriyel İlaçların Yapısal Özelliği

Tetrasiklinlerin karakteristik yapısı, bir korboksil fonksiyonel grubuna dört halkalı yapının bağlanmasıyla şekillenir (Şekil 2.4, 2.5). Tetrasiklin molekülünün iyonlaşabilen birkaç fonksiyonel grubu (trikarbonil metan, dimetil amonyum katyon ve fenolik diketon) vardır ve molekülün yükü, içinde bulunduğu ortamın pH değerine bağlıdır. TC (pKa 3.3–9.6), OTC (pKa 4.5) ve CTC'nin (pKa 4.5) pKa değerleri benzerdir. Çevresel matrislerde pH 4–8 olduğundan tetrasiklinler, çoğunlukla yüksüz olarak bulunur ve yüksüz tetrasiklin oranı pH 5.5'de maksimuma ulaşır. Çok değerlikli metal iyonları ve tetrasiklinler ortam şartlarına bağlı olarak çözünebilir kompleks moleküller oluşturabilir ve oluşan kompleksler, tetrasiklinlerin güçlü bir şekilde protein ve silanol (silikon atomlarına bağlı hidroksil gruplarının oluşturduğu fonksiyonel yapı) gruplarına bağlanmasına neden olabilir. Bu gruptaki antibakteriyel ilaçların sudaki çözünürlüğü düşüktür (2, 17, 76-78).



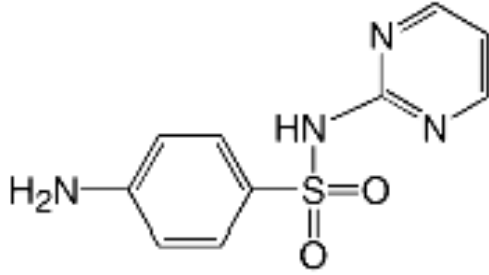
Şekil 2.4 OTC



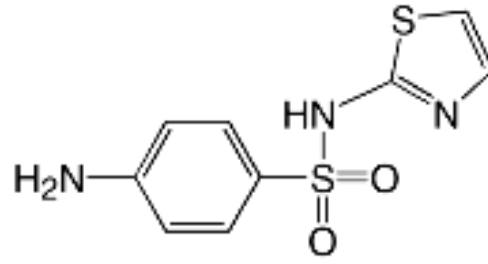
Şekil 2.5 CTC

Tetrasiklin grubu antibakteriyel ilaçlar, asidik ortamda yüksek kil içerikli toprağa daha fazla ilgi gösterir (79). Ayrıca, antibakteriyel ilacın bulunduğu ortamın pH düzeyine göre büyük oranda (%70-90) humik asitlere bağlanır. Tetrasiklin grubu antibakteriyel ilaçlar ile toprağın organik kısmı, katyon (iki değerli) bağlanma, iyon değişim ve tetrasiklin molekülünde bulunan polar gruplar ile humik asitteki asidik gruplar arasında oluşan hidrojen bağlama reaksiyonları sayesinde etkileşir (80).

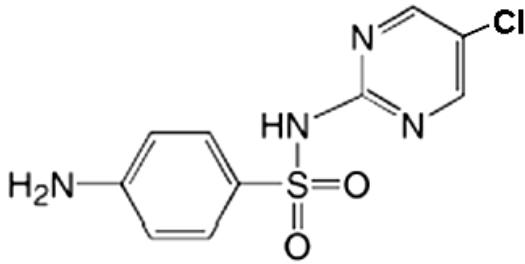
Sulfonamidler bir benzen halkası, amin (NH₂) ve sulfonamid grubundan oluşur (Şekil 2.6-2.9). Amfoter (hem asidik hem de bazik karakteri bir arada taşıyan) maddelerdir, ancak fizyolojik pH değerlerinde zayıf asit gibi davranırlar. Sulfonamidlerin farklı türevlerinin pKa değerleri 5.4 (sulfasetamid) ile 10.4 (sulfanilamid) arasında değişir ve bu ilaçların çoğu güçlü asidik bir ortamda pozitif, pH 2.5–6` da nötr ve alkali pH değerlerinde negatif yüklenir (81). Sulfonamid grubu antibakteriyel ilaçların bazıları sulfadiazin (SDZ), sulfatiazol (STZ), SCP ve SMZ`dir.



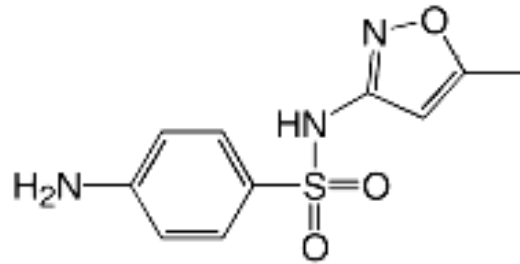
Şekil 2.6 SDZ



Şekil 2.7 STZ



Şekil 2.8 SCP



Şekil 2.9 SMZ

Toprağın organik madde miktarının artması, sulfonamidlerin toprakta birikmesine neden olur. Sulfonamidler, toprağın organik maddesi ile Van der Waals ve hidrojen bağları sayesinde kompleks oluşturur (82).

2.6. Antibakteriyel İlaçların Çevredeki Döngüsü

Bir antibakteriyel ilacın çevreye ulaşmasından sonra maruz kalacağı dört farklı durum vardır. Bu nedenle bir ilaç çevrede;

1. Çevrenin herhangi bir bileşenine tutunabilir
2. Bir matris içinde veya matrisler arasında hareket edebilir
3. Biyolojik bir yapı üzerinde birikebilir

4. Biyolojik ve abiyotik bozunma veya reaktivasyon gibi dönüşüm reaksiyonlarına maruz kalabilir.

Bir ilacın, çevrenin herhangi bir bileşenine tutunması ve bir matris içinde veya matrisler arası hareketi, ilaç (moleküler yapı, büyüklük, biçim ve çözünürlük gibi) ile çevre matrisinin yapısal özelliklerine bağlıdır. Sulfonamidler, çevrede matrisler arası kolay taşınıp suda daha yüksek miktarda bulunurken, tetrasiklin grubu ilaçlar toprak bileşenlerine güçlü bir şekilde bağlanır ve bu nedenle toprakta daha yüksek miktarda bulunurlar.

Veteriner hekimliğinde kullanılan ilaçların biyolojik birikimleri hakkında kesin verilere ulaşmak güçtür. Ancak, K_{ow} (oktanol/su dağılım katsayısı) değerlerine bakılarak yüksek birikim potansiyeli olan bazı ilaçların balık gibi su canlılarındaki birikimleri hakkında tahminler yapılabilmektedir (48).

Antibakteriyel ilaçların her matriste, tüm bozunma mekanizmaları hakkında verilere ulaşmak mümkün olmadığından, baskın olanlar açıklanmıştır.

2.6.1. Abiyotik (Biyolojik Olmayan) Bozunma

Abiyotik bozunma, fotoliz ve hidroliz reaksiyonlarını kapsayan antibakteriyel ilaçların suda maruz kaldığı bozunma şeklidir. Bu bozunma sürecinin çevredeki ilaçlar bakımından önemi tam olarak anlaşılammış olmasına rağmen, furazolidon gibi bazı ilaçların ışığa duyarlı olduğu bilinmektedir. Ayrıca, OTC'nin sulu bir çözelti içinde ve ışıksız bir ortamda iki ay boyunca yapısal bütünlüğünü koruyabildiği halde, ışığın etkisiyle yapısı önemli düzeyde değişmektedir. Bu nedenle, ışığın yoğun olarak bulunduğu bir ortamda OTC'nin yarılanma süresinin, içme sularında (pH 7) 30 gün ve deniz sularında 30 saate kadar kısaldığı kaydedilmiştir. Işığın etkisiyle OTC'nin yarılanma süresinin kısaldığı Samuelsen (83) tarafından yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. Benzer bir çalışmada (84), doğal koşulların sağlandığı bir havuzda tetrasiklinin ışığın etkisiyle bozunmaya maruz kaldığı ve bunun sonucunda bu ilacın yedi farklı metabolitinin şekillendiği belirlenmiştir. Ancak, ışıkla bozunma toprakta bulunan antibakteriyel ilaçları önemli düzeyde etkilemez. Hidroliz ise, toprakta bulunan tetrasiklin grubu bazı bileşiklerin bozunma sürecinde kısmen etkilidir (52).

2.6.2. Biyolojik Bozunma

Antibakteriyel ilaçlar, suda abiyotik bozunmaya maruz kalırken, hayvan gübresi, toprak ve sedimentte biyolojik bozunma mekanizmaları baskındır. Bu bozunma, mikrobiyal faaliyet sonucu gerçekleşir (48).

Geniş spektrumlu bir sefalosporin olan seftiofur sodyum, toprakta bozunarak çevrede yapısını çok iyi koruyabilen metabolitlere dönüşür. Ancak, gübre kaynağı olan sığır dışkısının sterilize edilmesi sonucu bozunmanın baskılandığı görülür. Farklı yapıdaki topraklarda seftiofur sodyumun maruz kaldığı aerobik bozunma sürecindeki yarılanma süresi 22–49 gün olarak saptanmış ve pH değerinin yükselmesiyle bu sürenin kısaldığı bildirilmiştir (85). Hayvan gübresinde monensin gibi bazı ilaçlar kolay bozunurken, diğer bazı ilaçlar (tetrasiklin grubu antibiyotikler) yapılarını uzun süre koruyabilmektedir (86).

Tetrasiklin grubu ilaçların yarılanma süreleri ve bozunma oranları hakkındaki farklı veriler, bu süreci etkileyen çok çeşitli faktörlerin olduğunu göstermektedir. Su ortamında bir ilacın bozunma ve/veya hareketini, ortamdaki sıcaklık, akıntı hızı, balık yetiştirme çiftliklerinde kafes ile sediment arası uzaklık, bakterilerin etkinliği, sedimentin derinliği ve kimyasal yapısı gibi faktörler etkiler. OTC'nin yarılanma süresinin, oksijenin bulunmadığı su tabanındaki sedimentte uzun olduğu (10 hafta) ve ilacın yapısını koruduğu saptanmış (87), benzer koşullarda yapılan başka bir araştırmanın (88) sonucuna göre ise OTC'nin yarılanma süresinin (13–16 gün) kısa olduğu görülmüştür. Biyolojik bozunmada, bakterilerin faaliyeti önemlidir. Bu nedenle, benzer koşullarda yapılan çalışmalarda OTC için farklı yarılanma sürelerinin belirlenmesi, bakteri etkinlik düzeyinin değişken olmasından ileri gelebilir. Tetrasiklinler, sedimentte bozunmadığı halde, Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi iyonlarla oluşturduğu kompleksler nedeniyle inaktive olur. Bu nedenle, ortamda bulunan bakterilere etkileri sınırlıdır. Kinolon grubu antibiyotiklerin döngüsü, tetrasiklinlere benzerdir ve kinolonların sedimente bağlanabildikleri belirlenmiştir. Ancak, SDZ ve trimetoprimin sedimente karşı ilgisi kinolonlara göre daha azdır. Florfenikol, sedimentte hızlı bozunur (florfenikol amin metaboliti oluşur) ve yarılanma süresi 4–5 gündür (89). Genel bir görüş olarak sedimentte birçok ilacın yapısında önemli değişim olmadığı, özellikle sedimentin alt katmanlarında bozunmanın oluşması için geçen süre (6 ay) ve yarılanma süresinin (10 ay) uzun olduğu saptanmıştır (48). Ancak bozunmanın, sediment yüzeyinde daha erken başladığı ve daha hızlı devam ettiği bildirilmiş ve bunun nedeni olarak, ilacın sedimentin alt katmanlarına hareketi ve matris içinde yeniden dağılıma maruz kalması gösterilmiştir.

Veteriner hekimliğinde kullanılan antibakteriyel ilaçların metabolitleri çevrede ana bileşiğe geri dönüşebilir. Reaktivasyon olarak adlandırılan bu süreç bazı ilaçların çevredeki döngüsü için önemlidir. Sıvı dışkıda bulunan kloramfenikol glukuronid ve N-4-asetile SMZ gibi metabolitler, kloramfenikol ve SMZ ana bileşiklerine geri dönüşür (90). Genel olarak metabolitler ana bileşiklerden daha az toksik niteliğe sahiptir. Ancak

metabolitlerin ana bileşiğe geri dönüşmesi durumunda çevrenin karşı karşıya kaldığı sorunların tanımlanması güçleşir.

2.6.3. Sorpsiyon

Sorpsiyon, toprak veya su matrisi (sorbent) ile genelde organik yapıda olan bir kirleticinin (sorbit) etkileşmesi olup, dağılım katsayısıyla (K_d) ifade edilir. Başka bir ifadeyle, bir maddenin katı fazdaki miktarının solüsyondaki miktarına oranıdır ve K_{ow} ile özdeşdir. K_d , su ile toprak veya organik madde arasında meydana gelen sorpsiyon sürecinin kolay anlaşılmasını sağlar. K_{oc} ise bir maddenin toprak/su dağılım katsayısıdır ve toprak veya sedimentin sorpsiyon katsayısının, sorbentin karbon miktarına oranıyla hesaplanır.

$$K_{oc} = K_d / OC$$

$$K_{ow} = \text{Oktanöl fazdaki miktar} / \text{Sudaki miktar}$$

Antibiyotiklerin çevredeki sorpsiyonu kimyasal yapılarına bağlı olarak değişir. Tetrasiklinler, toprakta bulunan mineral maddelerle üç farklı şekilde etkileşir (10). Bu mekanizmalar:

1. Tetrasiklinlerin protonlanmış amin grupları ile kil yüzey arasındaki iyon değişimi
2. Kildeki divalent katyonlarla etkileşim
3. Kilin kenar bölümlerindeki alüminyum iyonlarıyla etkileşim

Matris ile tetrasiklin grubu ilaç arasındaki etkileşim yüzeyinin az olması meydana gelecek reaksiyonları önemli düzeyde etkilemez. Katyon değiştirme, kildeki mineral maddelerle kompleks oluşturma ve hidrojen bağlama gibi reaksiyonlar ilaca bağlı olmayan ve etkileşimi belirleyen faktörlerdir (91). Tetrasiklinlerin, zengin organik madde içerikli toprak veya hayvan gübresine bağlanmasını, pH ve çözücü iyonik yapı etkiler (80). Tetrasiklinlerin toprağa güçlü bir şekilde bağlanmaları, yapılarında bir değişiklik olmadan çevrede uzun süre kalabilmelerine neden olur. Buna bağlı olarak tarım arazilerinde birçok kez hayvan gübresinin kullanılması sonucu tetrasiklinlerin çevredeki miktarları yükselir (92). OTC, düşük pH değerlerinde pozitif yüklenir ve katyon değişimine ilgi duyar. Ancak, yüksüz form (pH 5) ve hidrofobik mekanizmaların baskın olduğu hallerde katyon değişimine ilgisiz kalabilir (93). Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin topraktaki sorpsiyonunu birçok faktörün etkilemesi nedeniyle bu konuda yapılan araştırmaların birbirinden farklı

sonuçları olabilmektedir (10). Bu nedenle, bu verilerden genel bir görüş elde etmek güçtür.

Toprakta sulfonamid grubu antibakteriyel ilaçların sorpsiyon ve taşınma mekanizmaları benzerlik gösterir. Bazı bir ortamda, SCP, STZ ve sulfametazinin K_d değerleri birbirine yakın ve diğer ilaçlara göre düşüktür. Bu değerlerin düşük olması, çevrede SCP ve diğer sulfonamidlerin kolay hareket edebilmesinin nedenini açıklar. pH değerinin bilinmesi, sulfonamidlerin sorpsiyon mekanizmalarını tam olarak açıklamaya ve yorumlamaya yetmez. Çünkü bu ilaçlar bazı pH değerlerinde her zaman beklendiği gibi davranmazlar. SCP'nin K_d değerinin, pH 6–7.5 aralığında yükselmesi buna örnek olarak gösterilebilir. Bu bulgu, sulfonamidler için K_d sabitinin pH değerine bağlı bir faktör olmadığını gösterir. Bu nedenle, sulfonamid grubu antibiyotiklerin her biri için farklı bir sorpsiyon karakterinin olabileceği vurgulanmaktadır (13). Sulfonamidlerin toprak ve fraksiyonlarına sorpsiyonu etkileyen genel faktörler şunlardır:

1. Sulfonamidlerin pH değerlerindeki değişikliklerden etkilenen fiziko-kimyasal özellikleri ve moleküler yapısı
2. Organik ve mineral yüzeylerdeki bağlanabilir fonksiyonel gruplar
3. Toprağın organik maddesinin üç boyutlu yapısındaki bağlanabilir boşlukların mineral maddelerle kompleks oluşturmak üzere yaptığı kombinasyonlar (82).

Tüm organik kimyasal maddelerde olduğu gibi, antibakteriyel ilaçların çevredeki hareketini birçok faktör etkiler. Bir antibakteriyel ilacın kimyasal özelliği, toprağın nem ve sıcaklığı, gübrenin uygulanma zamanı ve iklim koşulları önemli olan faktörlerdir. Ayrıca, ilacın sudaki çözünürlüğü, ayrışma katsayısı, sorpsiyon-desorpsiyon süreci, farklı pH değerlerindeki dağılım katsayısı, toprağa bağlanması ve stabilitesi çevredeki hareket şeklini belirler (10). Sonuç olarak tetrasiklin grubu ilaçların toprağa ilgisi, sulfonamidlerden çok daha fazladır (Tablo 2.2).

Tablo 2.2 Bazı antibakteriyel ilaçların K_d değerleri

Antibakteriyel ilaç grubu	Antibakteriyel ilaç	Miktar (mg/kg)	Matris	pH	OC (%)	K_d (L/kg)	Kaynak
Tetrasiklinler	OTC	2.5-50	Kum	5.6-6.3	1.4-1.5	417-670	94
			Tınlı kum	6.1	1.6	680	
			Kumlu tın	5.6	1.1	1026	
Sulfonamidler	SDZ	1-10	Sitli tın	7.0	1.6	2.0	52
	STZ		Killi tın	6.2	3.1	3.0	52
	SCP	0.05-20	Killi tın	6.5	3.1	1.8	13
	SMZ	1.0-10	Sitli tın	7.0	1.6	2.4	52

Veteriner hekimliğinde sık kullanılan bazı antibiyotiklerin farklı matrislerde sıcaklığa göre değişen bozunma süreleri Tablo 2.3’de verilmiştir.

Tablo 2.3 Bazı antibiyotiklerin farklı matrislerdeki bozunma süreleri

Bileşik	Matris	Sıcaklık (°C)	Bozunma oranı (%)	Süre (gün)	Kaynak
OTC	Sediment	15	50	42–46	12
	Toprak	-	50	18–79	95
	Toprak + sığır gübresi	-	0	180	96
	Altlık + domuz gübresi	-	50	30	15
CTC	Toprak + sığır gübresi	4	0	30	97
		20	12		
		30	56		
Sulfonamidler	Aktive hayvansal atık	6 ve 20	50	0.4–4.1	98
	Toprak	-	50	3.5–127	95

2.7. Antibakteriyel İlaçların Miktarlarının Belirlenmesi

Veteriner hekimliğinde antibakteriyel ilaçlar, uygulandıktan sonra büyük çoğunluğu yüksek oranda ana bileşik veya metabolit olarak vücuttan çıkartılır, çıkartım ürünlerinin tarım arazilerinde gübre olarak kullanılması sonucu çevreye ulaşır ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak farklı matrislerde birikirler. Bu nedenle, antibiyotik ve diğer ilaçların çevredeki düzeylerinin belirlenmesi, döngüsü ve etkileri hakkında birçok makale bulunmaktadır (6, 10, 21, 25, 99).

Veteriner hekimliğinde kullanılan ilaçların risklerinin değerlendirilebilmesi için, çevredeki düzeylerinin belirlenmesi gerekir. Buradan elde edilecek veriler, ekolojik risklerin belirlenmesi amacıyla kullanılır. Güvenilir analitik metotlar, ilaçların çevredeki düzeylerinin belirlenmesini kolaylaştırır. İlaçların düzeylerinin belirlenmesi amacıyla kullanılacak metotların güvenilir, hassas, seçici ve farklı matrisler için etkin olması gerekir. Bu özelliklere sahip yöntemlerin geliştirilmesi laboratuvar ve alan çalışmaları için önemli avantaj sağlar. Ancak, mevcut birçok metot en fazla iki farklı gruptan bazı ilaçların, benzer yapıdaki matrislerde tespit edilmesi amacıyla kullanılabilir.

Organik yapıdaki kimyasal maddelerin ayrıştırılması için birçok farklı teknik kullanılmaktadır. Klasik metotlar, herhangi bir cihaz gerektirmese de, yoğun bir iş gücü, zaman ve büyük hacimlerde çözücülerin kullanılmasını gerektirir. Günümüzde, süperkritik

sıvı ekstraksiyonu (SFE), subkritik su ekstraksiyonu (SWE), basınçlı sıvı ekstraksiyon (PFE), hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) gibi donanım gerektiren teknikler daha yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu teknikler, otomatik olarak çalışır ve düşük miktarda veya daha az toksik etkili çözücüler yardımıyla etkin bir ekstraksiyonun yapılmasını sağlar. Ancak, pahalı olmaları bu tekniklerin önemli bir dezavantajıdır. Ultrasonik ekstraksiyon, pahalı donanım ve büyük hacimlerde çözücü kullanılmasını gerektirmeyip hızlı uygulanabilen bir yöntemdir. Topraktan tetrasiklin ve sulfonamidlerin ayrıştırılmasında kullanılan yöntem çok az yönü ile değiştirilerek aynı ilaçların sudan ayrıştırılmasında kullanılabilir. Böylece, iki grup ilacın farklı matrislerden ayrıştırılmasında identik yöntemlerin kullanılmasıyla, uygulama alanı genişlemiş olur (100, 101).

İlgili matristen ayrıştırılan analitlerin analiz edilmesi amacıyla farklı sistemler kullanılabilir. Bu sistemlerin bazıları, yüksek basınçlı sıvı kromatografi-elektrosprey iyonizasyon-kütle spektrometre (HPLC-ESI-MS), HPLC-UV (Ultraviyole) ve/veya HPLC-floresans detektör, HPLC-MS, enzim bağlı immün assay (ELISA) ve gaz kromatografi-kütle spektrometre(GC-MS)'dir. Bu sistemler, antibakteriyel ilaçların hassas ve seçici bir şekilde analiz edilmesini sağlar. Ancak, pahalı ve karmaşık yapıya sahip olmaları önemli bir dezavantajlarıdır. Antibakteriyel ilaçların topraktan ayrıştırılması ve analizinde kullanılan yöntemlerin bazıları Tablo 2.4'de verilmiştir.

Tablo 2.4 Bazı antibiyotiklerin topraktan ayrıştırılması ve analizi

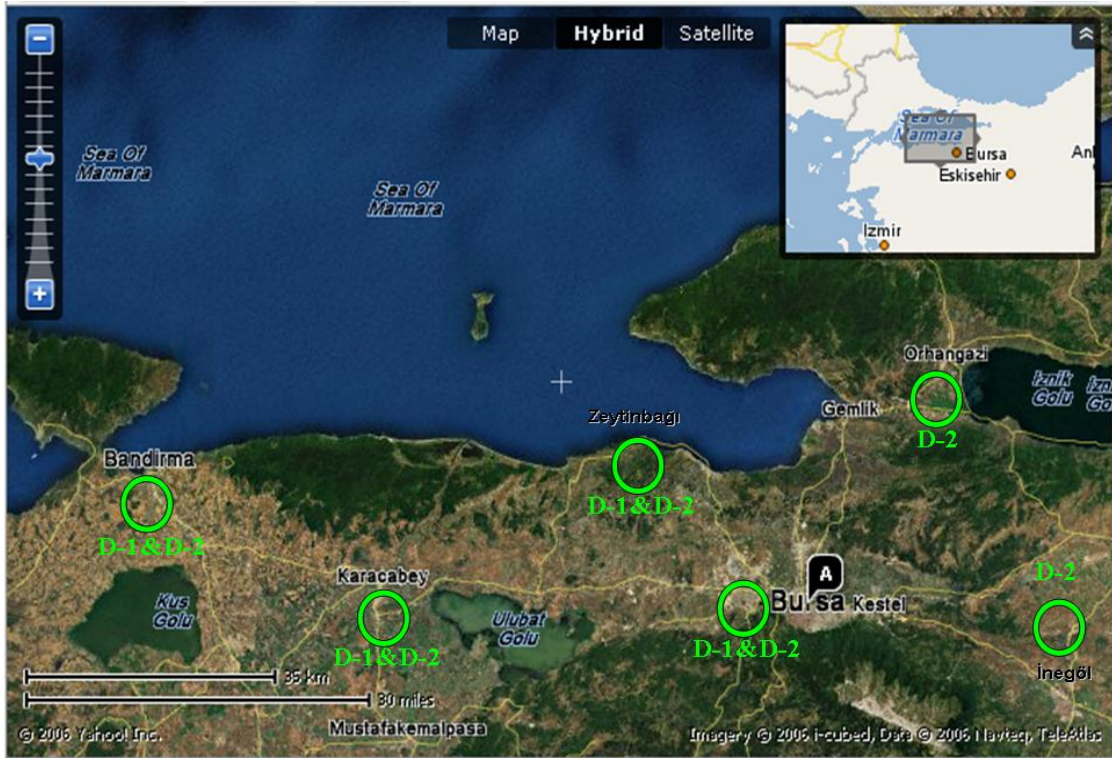
Antibakteriyel	Ekstraksiyon Yöntemi	Analiz Yöntemi	Kaynak
OTC SCP Tilosin	Ultrasonikasyon, SPE	HPLC-UV ve Floresans	100
B laktamlar Maktolidler Sulfonamidler Flourokinolonlar Tetrasiklinler	ASE	ELISA(SMZ) HPLC-ESI-MS	39
Sulfonamidler Makrolidler Trimetoprim	SPE	HPLC-ESI-MS	58
OTC CTC TC Tilosin	SPE	HPLC-ESI-MS-MS	62

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Gereçler

3.1.1 Araştırma Bölgeleri

Tez kapsamında örneklerin toplanması, yaz (Haziran, 2006) ve sonbahar (Kasım, 2006) mevsimi olmak üzere iki farklı dönemde gerçekleştirildi. Yaz döneminde (D-1) sekiz, sonbaharda (D-2) yaz dönemindekilere beş yeni arazinin daha ilave edilmesiyle toplam 13 adet hayvan gübresi ile gübrenilmiş tarım arazilerinden alınan topraklar araştırmada kullanıldı. D-1’de bu arazileri kapsayan dört ve D-2’de altı bölge değerlendirmeye alındı. Güney Marmara bölgesinin orta-kuzey hattında bulunan araştırma bölgelerinin konumu Şekil 3.1’deki uydu haritasında belirtilmiş, tarım arazilerinin coğrafik koordinatları Tablo 3.1 ve 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.1 Araştırma bölgelerinin uydu haritasında gösterimi

Araştırmada kullanılacak toprak örnekleri, yoğun hayvancılık faaliyetlerinin yürütüldüğü bölgelerdeki, hayvan gübresinin etkin bir şekilde kullanıldığı genel özellikleri belirlenen (Tablo 3.1 ve 3.2) tarım arazilerinden alındı. Bu nedenle örneklemeden önce, arazilerin alanı, yetiştirilen ürün, kullanılan gübre türü ve miktarı, gübrenin kaynağı ve

gübreleme tarihi, arazinin bulunduğu bölge ve coğrafik koordinatları belirlendi. Örneklem sayısı belirlenirken arazilerin alanları göz önüne alındı. Araştırmanın odağı olarak seçilen bölgelerde gübrelemenin plansız olarak gerçekleştirildiği belirlendi. Ancak, arazide yürütülen tüm faaliyetler hakkında kesin bilgilere ulaşılamadı. Buna rağmen, edinilen sınırlı bilgilerle bu arazilerin ilaç kirliliği potansiyeline sahip olabileceği kanısına varıldı. Arazilerde kullanılan hayvan gübresi miktarı ortalama 3 ton/dekar ve gübreleme döneminin yaz mevsiminin son ayları veya sonbahar olduğu belirlendi.

Tablo 3.1 D-1 arazilerinin tanımlanması

Arazinin kodu ve alanı	Yetiştirilen ürün	Gübre türü	Gübre miktarı	Gübrenin kaynağı	Gübreleme tarihi	Bölge	Örnekleme sayısı (<i>n</i> *)	Koordinatlar
E1 (10 dekar)	Ayçiçeği	Kanatlı	3 ton/dekar	Kendi kümesi	Ekim-Kasım 2005	Doğanpınar/ Bandırma	12	40°17'32 N 027°53'46 E
E2 (30 dekar)	Ayçiçeği	Kanatlı	3 ton/dekar	Kendi kümesi	Aralık 2005- Ocak 2006	Doğanpınar/ Bandırma	15	40°17'05 N 027°54'12 E
K1 (5 dekar)	Fiğ	Sığır	3 ton/dekar	Kendi çiftliği	Ağustos 2004	Karacabey	2	40°11'58 N 028°25'11 E
K2 (35 dekar)	Mısır	Sığır	Bilinmiyor	Kendi çiftliği	Sürekli	Karacabey	6	40°10'21 N 028°21'47 E
F1 (20 dekar)	Buğday, arpa, yulaf, fiğ	Sığır ve kanatlı	3 ton/dekar	Kendi çiftliği	Eylül 2005	Görükle/ Bursa	10	40°14'50 N 028°52'24 E
F2 (50 dekar)	Arpa	Sığır ve kanatlı	3 ton/dekar	Kendi çiftliği	Ağustos 2004	Görükle/ Bursa	5	40°14'11 N 028°52'16 E
T1 (5 dekar)	Zeytin	Kanatlı	3 ton/dekar	Entegre tesis	Eylül 2005	Zeytinbağı	5	40°21'58 N 028°42'20 E
T2 (5 dekar)	Zeytin	Kanatlı	3 ton/dekar	Kendi kümesi	Eylül 2005	Zeytinbağı	10	40°21'59 N 028°43'14 E

* Temsil örnek hazırlamak için her araziden toplanan örnek sayısı

Tablo 3.2 D-2 arazilerinin tanımlanması

Arazinin kodu ve alanı	Yetiştirilen ürün	Gübre türü	Gübre miktarı	Gübrenin kaynağı	Gübreleme tarihi	Bölge	Örnekleme sayısı (n*)	Koordinatlar
E1 (10 dekar)	Ayçiçeği	Kanatlı	3 ton/dekar	Kendi kümesi	Ekim-Kasım 2005	Doğanpınar/ Bandırma	18	40°17'32 N 027°53'46 E
E2 (30 dekar)	Ayçiçeği	Kanatlı	3 ton/dekar	Kendi kümesi	Aralık 2005- Ocak 2006	Doğanpınar/ Bandırma	18	40°17'05 N 027°54'12 E
K1 (5 dekar)	Fiğ	Sığır	3 ton/dekar	Kendi çiftliği	Ağustos 2004	Karacabey	10	40°11'58 N 028°25'11 E
K2 (35 dekar)	Mısır	Sığır	Bilinmiyor	Kendi çiftliği	Sürekli	Karacabey	12	40°10'21 N 028°21'47 E
F1 (20 dekar)	Buğday, arpa, yulaf, fiğ	Sığır ve kanatlı	3 ton/dekar	Kendi çiftliği	Ekim 2006	Görükle/ Bursa	10	40°14'50 N 028°52'24 E
F2 (50 dekar)	Arpa	Sığır ve kanatlı	3 ton/dekar	Kendi çiftliği	Ekim 2006	Görükle/ Bursa	10	40°14'11 N 028°52'16 E
T1 (5 dekar)	Zeytin	Kanatlı	3 ton/dekar	Entegre tesis	Ekim 2006	Zeytinbağı	9	40°21'58 N 028°42'20 E
T2 (5 dekar)	Zeytin	Kanatlı	3 ton/dekar	Kendi kümesi	Ekim 2006	Zeytinbağı	10	40°21'59 N 028°43'14 E
E3 (10 dekar)	Mısır	Sığır	3 ton/dekar	Kendi çiftliği	Ekim 2006	Doğanpınar	10	40°17'56 N 027°54'08 E
İ1 (10 dekar)	Şeftali	Kanatlı	4 ton/dekar	Kendi kümesi	Ağustos 2006	İnegöl	8	40°05'16 N 027°26'12 E
İ2 (13 dekar)	Kavak	Kanatlı	Sıvı/sulamayla	Kendi kümesi	Ağustos 2006	İnegöl	8	40°05'27 N 029°28'04 E
O1 (6 dekar)	Elma	Sığır	Sıvı/sulamayla	Satın alınmış	Ekim 2006	Orhangazi	10	40°29'43 N 029°20'04 E
O2 (8 dekar)	Elma	Sığır	Ağaç köklerine	Kendi çiftliği	Mayıs 2006	Orhangazi	10	40°28'14 N 029°18'20 E

* Temsil örnek hazırlamak için her araziden toplanan örnek sayısı

3.1.2 Çalışmada Kullanılan Sarf Malzeme ve Teknik Donanım

Araştırmada kullanılan antibakteriyel ilaç standartları Tablo 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.3 İlaç standartları

İlaç Standartları	Marka	CAS No	Moleküler Ağırlık (g/mol)
OTC hidroklorid (C ₂₂ H ₂₅ ClN ₂ O ₉)	Riedel-de Haën (HPLC, %96.2)	2058-46-0	496.90
CTC hidroklorid (C ₂₂ H ₂₄ Cl ₂ N ₂ O ₈)	Riedel-de Haën (HPLC, %85.7)	64-72-2	515.35
SDZ (C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S)	Riedel-de Haën (HPLC, %99.6)	68-35-9	250.28
STZ (C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂)	Riedel-de Haën (HPLC, %99.9)	72-14-0	255.32
SCP (C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S)	Riedel-de Haën (HPLC, %99.5)	80-32-0	284.73
SMZ (C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S)	Riedel-de Haën (HPLC, %99.9)	723-46-6	253.28

Antibakteriyel ilaç standartlarının stok solüsyonları 1mg/ml derişimde metanolde hazırlandı ve -20°C’de tutuldu.

Antibakteriyel ilaçların ekstraksiyonunda kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3.4’de verilmiştir.

Tablo 3.4 Ekstraksiyonda kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal	Marka	Kullanıldığı Aşama
Metanol (CH ₃ OH)	Sigma-Aldrich	Ekstraksiyon/SPE*
Sitrik asit monohidrat (C ₆ H ₈ O ₇ H ₂ O)	Merck	Ekstraksiyon
Sodyum asetat trihidrat (CH ₃ COONa. 3H ₂ O)	Merck	Ekstraksiyon/SPE
Disodyum hidrojen orto- fosfat (Na ₂ HPO ₄)	Merck	Ekstraksiyon
Disodyum EDTA dihidrat (Na ₂ EDTA. 2H ₂ O)	Merck	Ekstraksiyon/SPE
Ultra saf su	Millipore, MilliQ	SPE

* SPE: Katı faz ekstraksiyon (Solid Phase Extraction)

Antibakteriyel ilaç ekstraksiyonunda kullanılan diğer sarf malzemeleri ve teknik donanımlar Tablo 3.5’de verilmiştir.

Tablo 3.5 Antibakteriyel ilaçların ekstraksiyonda kullanılan diğer sarf malzemeleri ve teknik donanım

	Sarf Malzeme/ Teknik Donanım	Marka	Kullanıldığı Aşama
Sarf Malzeme	Teflon santrifüj tüpü (10ml)	Nalcon	Ekstraksiyon
	Hidrofilik-lipofilik balans kartuşu (HLB)	Oasis Waters	SPE
	Güçlü anyon değiştirici kartuşlar (SAX)	Supelco	SPE
	Teflon adaptör	Oasis Waters	SPE
	Esnek teflon hortum		SPE
Teknik Donanım	Vorteks	Nüve, NM110	Ekstraksiyon
	Ultrasonik Su Banyosu	Bandelin, Sonorex Super Rk 510	Ekstraksiyon
	Santrifüj	Selecta, Meditronic BI-S	Ekstraksiyon
	pH metre	WTW, pH 330	Ekstraksiyon
	Vakum Manifold	Phenomenex	SPE
	Vakum güç kaynağı	KIF, LAB LABORT	SPE

Antibakteriyel ilaçların analizinde Tablo 3.6’da tanımlanan kimyasal maddeler kullanılmıştır.

Tablo 3.6 Antibakteriyel ilaçların analizde kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	Marka	Kullanıldığı Aşama
Metanol (CH ₃ OH)	Sigma-Aldrich	Mobil faz
Asetonitril (CH ₃ CN)	Sigma-Aldrich	Mobil faz
Formik asit (CH ₂ O ₂)	Merck	Mobil faz
Ultra saf su	MilliQ	Mobil faz

Antibakteriyel ilaçların analizinde kullanılan yüksek performanslı sıvı kromatografi-fotodiode array detektör (HPLC-PDA) sistemi ve analitik kolon Tablo 3.7’de tanımlanmıştır.

Tablo 3.7 Antibakteriyel ilaçların analizinde kullanılan teknik donanım

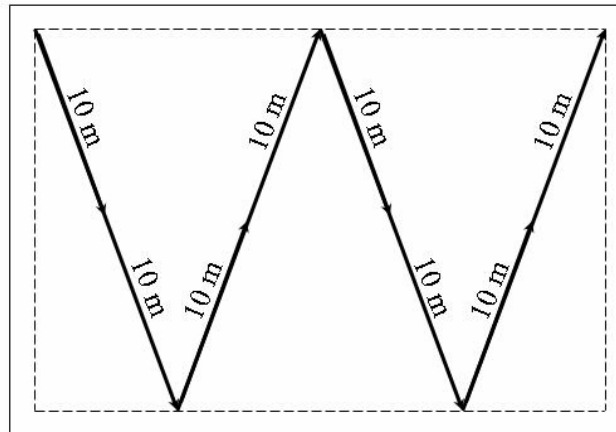
Teknik donanım	Marka
HPLC-PDA sistem	Agilent 1100, Agilent
ODS (okta-desil silan) analitik kolon (50mm x 4mm x 3µm)	AQ, YMC

Toprak örneklerinin karakterizasyonu ve metallerin analizinde kullanılan diğer tüm kimyasal maddeler analitik saflık kalitesindedir. Sodyum (Na), potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), krom (Cr), bakır (Cu), nikel (Ni), çinko (Zn) ve demir (Fe) miktarlarının ölçümünde atomik absorpsiyon-emisyon spektroskopisi (AAS, AAnalyst 300, PelkinElmer) sistemi kullanılmıştır.

3.2 Yöntemler

3.2.1 Örnekleme ve Örnek Hazırlama

Toprak örnekleri, toprak yüzeyinden yaklaşık 10 cm derinlikte ilk 10cm'lik yüzey tabakası kaldırıldıktan sonra ikinci 10cm'lik bölümünden (10-20cm) alındı. Tarım arazisinin alanına göre Şekil 3.2'de gösterilen yöntem uygun olarak farklı sayıda örnek toplandı (102).



Şekil 3.2 Araştırmanın her iki döneminde toprak örneklerinin tarım arazilerinden toplanma yöntemi

Arazinin örnekleme odağı olarak belirlenen her noktasından yaklaşık 0.5-1kg toprak alındı. Toprak örnekleri, bir bahçe küreği yardımıyla alınıp kilitli, plastik ve şeffaf yapıdaki torbalara konuldu ve üzeri kodlandı. Toprak içeriğinin, çevre şartlarından

etkilenmesini önlemek amacıyla örnekler, ışık geçirmeyen ve sıcaklığın etkisini bloke eden kutulara konuldu ve bu şartlarda laboratuara ulaştırıldı.

Oda sıcaklığında ve karanlıkta kurutulan toprak örnekleri, 2mm gözenek çapındaki elek ile elendi ve eşit miktarda karıştırılarak araziye ait temsil (kompozit) örnek oluşturuldu. Kompozitler, analiz ve diğer işlemlerin uygulanmasına kadar +4°C'de muhafaza edildi, böylece ışık ve sıcaklığın bozunma yapıcı etkisi önlendi.

3.2.2 Antibakteriyel İlaçların Ekstraksiyonu

Tetrasiklin ve sulfonamid grubu ilaçların toprak örneklerinden ekstraksiyon ve katı faz ekstraksiyonu Blackwell ve arkadaşları (100) tarafından geliştirilen yöntemin modifiye edilmesi ile gerçekleştirildi. Antibiyotik analizlerinde üç paralel örnek kullanıldı. Ekstraksiyon metodu, tez kapsamında araştırılan OTC, CTC, SDZ, STZ, SCP ve SMZ'nin farklı yapıdaki topraklardan ekstraksiyonu esasına dayanır. Metotta bazı değişiklikler yapılmış olmakla birlikte ana ilkelerde esas metoda (100) bağlı kalındı. Metottaki değişiklikler, güvenilirlik, en az iki farklı antibakteriyel ilaç grubu için geçerlilik, analiz süresinin kısalığı ve ekonomik olması ilkeleri temelinde yapıldı. Metodolojik çalışmalarda, toprağın suya göre daha az homojen olması ve tetrasiklinlerin toprağa güçlü bir şekilde bağlanması da dikkate alındı. Metodun genel kullanımı için, farklı yapıdaki topraklar ve daha fazla sayıda antibakteriyel ilaçla ilave çalışmalar yapıldı. Toprak örneğinin ekstraksiyon ve analiz aşamaları Şekil 3.3'de sunulmuştur.

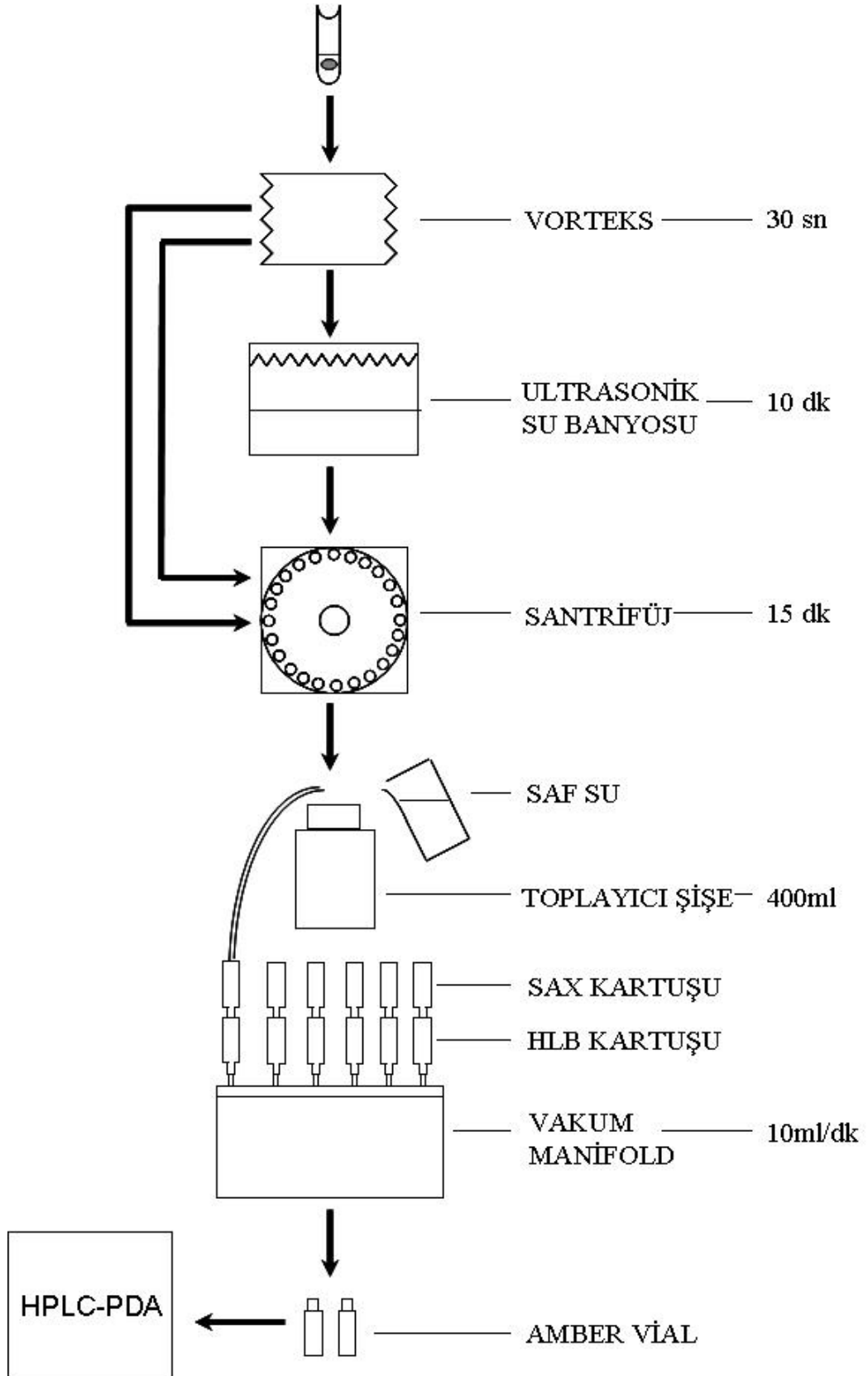
Kuru toprak örneğinden teflon santrifüj tüpüne 1 gram konuldu. 0.2 M sitrik asit ve 0.4 M Na₂HPO₄, 50:50 oranında karıştırılarak McIlvaine tampon çözeltisi hazırlandı. Metanol, 0.1 M Na₂EDTA ve McIlvaine tampon çözeltisinin 50:25:25 oranında karıştırılmasıyla hazırlanan ekstraksiyon (pH 7.2) çözeltisinin 5ml'si tartılan toprak örneğine ilave edildi Hazırlanan toprak örneği votekste 30 sn karıştırıldı ve ardından 10 dakika süreyle ultrasonik su banyosunda tutuldu. Bu işlemden sonra örneklere 1200 g'de 15 dakika santrifüj işlemi uygulandı ve üstteki sıvı katman 500ml hacmindeki cam bir şişeye alınarak soğuk (+4°C) ve karanlık bir ortamda muhafaza edildi. Bu işlem iki kez daha tekrarlandı ve sıvı katmanlar birleştirildi. Çözeltideki metanol düzeyini %2'nin altına düşürebilmek için, ultrasaf su ile 400ml'ye seyreltildi ve hazırlanan çözeltinin pH değeri fosforik asitle 2.9'a ayarlandı.

HLB ve SAX katı faz arındırma kartuşları birleştirilerek vakum manifold sistemine yerleştirildi. Ekstraksiyon çözeltisinin 3.75ml'sinin ultra saf suyla 100ml'ye tamamlanması ve fosforik asitle pH değerinin 2.9'a ayarlanmasıyla yıkama/şartlandırma çözeltisi

hazırlandı. Katı faz kartuşları 2ml metanol ve 2ml şartlandırma çözeltisi ile muamele edildi. Çözeltilerin ve örneklerin kartuşlardan geçiş hızı yaklaşık 10ml/dk olarak ayarlandı. Tüm örnek kartuşlardan geçirildikten sonra SAX kartuşları sistemden çıkarıldı ve HLB kartuşları sırayla 5ml yıkama çözeltisi, 5ml 0.1 M sodyum asetat (NaOAc), 5ml saf su ve 2ml %20'lik metanol kullanılarak yıkandı, ardından 10 dk hava ile kurumaya bırakıldı. Antibakteriyel ilaç HLB kartuşundan, 2 kez 1ml metanol kullanılarak çözeltiliye alındı, metanol içinde homojen dağılımlarını sağlamak için karıştırıldı ve karışımın yaklaşık 1ml'si HPLC analiz için gerçekleştirilmesi amacıyla 1.8ml hacmindeki vialde aktarıldı. Hazırlanan örnekler analiz için gerçekleştirilmesine kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Toprak örneklerinde antibakteriyel ilaçların geri kazanım düzeylerinin saptanması için, 1g toprak örneğine ilaç derişimi 0.2mg/kg ve 1mg/kg olacak şekilde 0.25µl 1mg/ml'lik stok çözeltilerden hazırlanmış çalışma çözeltileri ilave edildi. Her toprak örneği için geri kazanım düzeyleri, her bir derişimdeki 3 paralel çalışmanın sonucunda elde edilen ilaç derişim değerlerinin ortalamasının kirlilik düzeyine oranı ile hesaplandı. Kimyasal analiz sonuçlarının bir birine yakınlık derecesi nisbi standart sapma (RSD, %) olarak belirtildi (103). İlaçların tespit limitleri (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) sinyal/gürültü (S/N) oranına bağlı olarak hesaplandı. S/N oranının 6 katı LOQ, 3 katı ise LOD olarak değerlendirildi (62). LOD altındaki ilaç içeriğini hesaplayabilmek için 1g yerine 4g toprak kullanıldı. Matematiksel hesaplamalar için Microsoft 2003 Office Excel Programı kullanıldı.

Bu araştırmada, en az altı farklı karakteristik yapıya sahip tarım arazisinde (arazilerin bünyeleri dikkate alınarak bu sınıflama yapılmıştır), altı farklı ilacın (OTC, CTC, SDZ, STZ, SCP ve SMZ) kirlilik düzeyi araştırıldı. Bu nedenle, tarım arazilerinin antibakteriyel ilaç kirliliğinin belirlemede kullanılacak yöntem için ön çalışmalar yapıldı.



Şekil 3.3 Ekstraksiyon ve SPE'nin şematik gösterimi

Toprak ekstraksiyon yönteminin ön çalışmasında, toprak mikrokozmu örnekleri kullanıldı. Mikrokozmu, 300g kumlu (%90 kum, %8 silt ve %2 kil) ve %5 organik karbon içeren toprak kullanılarak hazırlandı, 25°C’de tutuldu ve nem miktarını sabitlemek için birkaç gün aryla deiyonize su püskürtüldü. Mikrokozmu hazırlamak için kullanılan toprak, BoBI projesi (development of an indicator system for biological soil quality) toprak koleksiyonundan temin edildi.

Tüm toprak örneklerinin ekstraksiyonu Blackwell ve arkadaşları (100) tarafından geliştirilen yöntemle yapıldı. Benzer bünyeye sahip olmaları nedeniyle yöntem ön çalışmasında elde edilen veriler, Blackwell ve arkadaşlarının (100) tınlı kum (%85.3 kum, %6.2 silt ve %8.5 kil) için elde ettiği geri kazanım düzeyleri ile karşılaştırıldı. Blackwell ve arkadaşlarının (100) geliştirdiği yöntemin performansını test etmek için, toprak örneklerinden OTC ve SCP ekstraksiyonunda bu yöntem kullanıldı. Çalışmalara, düşük kapasiteli SAX (100mg, 10ml) ile HLB (30mg, 1ml) katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşları ve 0.1ml antibakteriyel ilaç stok çözeltisi ile kirletilmiş 4g toprak ile başlandı.

SPE sırasında karşılaşılan sorunları gidermek ve başta OTC olmak üzere, ilaçların geri kazanım değerlerini daha kabul edilebilir düzeylere yükseltmek için ekstraksiyon yöntemi iyileştirildi. İyileştirme çalışmasında, SPE kartuşlarının istenmeyen organik madde ve ilaç tutma kapasitesinin ekstraksiyon sürecine ve geri kazanım değerlerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca, SPE kartuşlarında aşırı yüklemeyi önleyerek kartuş akış hızının artırılması ve uygulamaları kolaylaştırarak deney süresinin kısaltılması hedeflendi. Yöntemin ön çalışmasında yapılan değişiklikler Tablo 3.8’de gösterilmiştir.

Tablo 3.8 Ekstraksiyon yönteminde yapılan değişiklikler

Önce	Sonra
100mg, 10ml SAX SPE kartuşu	500mg, 6ml SAX SPE kartuşu
30mg, 1ml HLB SPE kartuşu	200mg, 6ml HLB SPE kartuşu
4g toprak	1g toprak
0.1ml ilaç stok çözeltisi	0.025ml ilaç stok çözeltisi
Pipetle kartuştan örnek geçirme	Teflon hortumla sistemden örnek geçirme

3.2.3 Antibakteriyel İlaçların Analizi

Hazırlanan örneklerde antibakteriyel ilaç düzeylerinin belirlenmesi için HPLC basamaklı elüsyon uygulandı. Basamaklı elüsyon için suda hazırlanmış %0.1’lik formik asit (Çözücü A) ve asetonitrilde hazırlanmış %0.1’lik formik asit (Çözücü B) kullanıldı.

Her bir analitin analiz süresi 12 dakika sürdürüldü. Sistem Tablo 3.9’da verildiği gibi programlandı. Sistemdeki solventlerin akış hızı tüm program boyunca 0.70ml/dk’dır. Tetrasiklin grubu ilaçların tespiti 360nm, sulfonamid grubu ilaçların tespiti ise 270nm dalga boyunda PDA dedektör ile yapıldı. Antibakteriyel ilaç karışımının analiz edilmesi sonucu elde edilen örnek kromatogram ve kalibrasyon eğrileri EK 2’de sunulmuştur.

Tablo 3.9 İlaçların tespitinde kullanılan gradient program

Zaman	Çözücü A	Çözücü B
0	95	5
7	70	30
8.5	70	30
10	95	5
12	95	5

İlaçların alıkonma zamanları Tablo 3.10’da verilmiştir.

Tablo 3.10 HPLC’de antibakteriyel ilaçların alıkonma zamanları

Antibakteriyel	Alıkonma zamanı (dakika)
OTC	5.4
CTC	7.3
SDZ	4.5
STZ	5.1
SCP	7.8
SMZ	8.4

İlaç miktarlarının hesaplanmasında kullanılan kalibrasyon eğrisi için ilaç standartları 0.05-5µg/ml (0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 ve 5µg/ml) arasında olacak şekilde 6 farklı derişimde hazırlandı.

3.2.4 Toprak Örneklerinin Karakterizasyonu

Araştırma bölgelerini tanımlamak ve bu kapsamda belirlenen her verinin antibakteriyel ilaçların topraktaki davranışına olan etkisini belirlemek için toplam 16 parametre ile örneklerin karakterizasyonu yapıldı.

Fiziksel parametreler:

Bünye (tekstür)

Nem

Kimyasal parametreler:

pH

Organik karbon (OC)

Kasyon değiştirme kapasitesi (KDK)

Azot (N)

Fosfor (P)

Na, K, Ca ve Mg

Metaller: Cr, Cu, Ni, Zn ve Fe

3.2.4.1 Būnye (Tekstūr)

Toprakta būnye tayini iin, hidrometre yōntemi (104) kullanıldı. Hidrometre yōnteminin prensibi, toprağı meydana getiren taneciklerin birbirleri ile olan bağlantılarını kaldırarak (dispersiyon) teksel hale getirmek suretiyle taneciklerin (kum, silt ve kil) yūzde oranlarının bulunmasıdır. Bu yōntemde, ōzgūl ağırlıklarının aynı ve Őekillerinin kūresel olduğu kabul edilen taneciklerin okme hızından faydalanılır.

Bu yōnteme gōre, nem dūzeyi belirlenmiş hava kuru toprak dispersiyon ozeltisi (%10'luk kalgon) ve saf su ilave edilerek dispersiyona bırakıldı. Ayrıca mikser (Hamilton Beach, Model 936 Single Spindle) yardımıyla yūksek devirde (14000 rpm) fiziksel dispersiyonu sağlamak amacıyla karıştırıldı. Bouyoucos silindirine (1030ml) aktarılan ozelti, karıştırıcı ubuk yardımıyla dipte herhangi bir okme kalmayacak Őekilde 20 defa karıştırıldı ve 40. saniye yoğunluk okuması yapıldı; hemen ardından ozeltinin sıcaklığı ōlūldū. Aynı işlem 2. saat okuması iin de yapıldı. Dūzeltilmiř hidrometre okuması iin 20°C'nin ūzerindeki her değer iin hidrometre okumasına 0.36 eklendi, 20°C'nin altındaki her değer iin 0.36 hidrometre okumasından ıkartıldı. Toprağın % kum, silt ve kil oranı aşağıdaki formūllerle hesaplandı.

$$\text{Kum (\%)} = 100 - [(40.\text{sn dūzeltilmiř hidrometre okuması} / \text{Toprak miktarı}) \times 100]$$

$$\text{Kil (\%)} = (2.\text{ saat dūzeltilmiř hidrometre okuması} / \text{Toprak miktarı}) \times 100$$

3.2.4.2 pH

5g olarak tartılan kuru toprak ōrneklerinin pH değerleri Forster (102) yōntemine gōre 1M KCl ozeltisinin 12.5ml'si iinde saptandı.

3.2.4.3 Nem

Topraęın nem dūzeyi, arazideki nem dūzeyi korunan toprak ile kuru topraęın aęırlık farkına dayalı olarak belirlendi (102) ve ařaęıdaki formūlle hesaplandı.

$$\text{Nem (\%)} = [(\text{Nemli ağırlık} - \text{Kuru ağırlık}) / \text{Nemli ağırlık}] \times 100$$

3.2.4.4 Organik Karbon (OC)

Toprağın organik karbon içeriği, Walkley-Black Metoduna dayalı olarak hazırlanmış Türk Standartları Enstitüsünün (TSE) TS 8336 (105) numaralı metodunda tanımlandığı gibi sülfürik asitte dikromatla oluşturulan oksidasyon reaksiyonuyla belirlendi.

Toprağın 0.1 gramı vidalı kapaklı tüpte 1 N dikromat ve derişik sülfürik asitten oluşan oksidasyon maddesi (hacmi) ile 200°C’de 2 saat yakılmıştır. Reaksiyona giren oksidasyon maddesinin miktarını belirlemek için dikromat solüsyonunun fazlası Ferröz Amonyum Sülfat (FAS) ve ferroin indikatörü ile geri titre edildi. Titrasyonda kullanılan FAS miktarı kaydedilerek, toprağın organik karbon içeriğinin belirlenmesi amacıyla aşağıdaki formülde kullanıldı.

$$\text{OC (\%)} = \frac{(\text{B} - \text{S}) \times \text{N} \times 0.389}{\text{T}}$$

B Şahit örnek için kullanılan FAS miktarı (ml)

S Örnek için kullanılan FAS miktarı (ml)

N_k FAS çözeltisinin normalitesi (N)

T Kullanılan toprak örneğinin miktarı (g)

3.2.4.5 Katyon Değişirme Kapasitesi (KDK)

Toprak örneklerinin KDK’leri, EPA-METOT 9081’e göre (106) belirlendi. Yöntemde kullanılan sodyum asetat ayırıcının (1 N NaOAc) pH değeri 8, amonyum asetat ayırıcının (1 N NH₄OAc) pH değeri 7 olarak ayarlandı.

Özetle yöntem, 6g toprak örneğinin 1 N NaOAc, isopropil alkol (%99) ve NH₄OAc solüsyonu eklenerek karıştırılması ve ardından santrifüj işlemi uygulanmasını kapsar. Son aşamada elde edilen su katmanı, amonyum asetat solüsyonu ile 100ml’ye tamamlandı ve KDK’nin hesaplanmasında kullanılacak sodyum miktarı AAS ile tespit edildi. KDK, aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{KDK (meq/100g)} = \frac{[\text{Na}^+] \times V \times \text{DF} \times 100}{m \times \text{MW}}$$

[Na⁺] Sodyum derişimi (mg/L)

V Ekstrakt miktarı (ml)

DF Seyreltme faktörü

m Kullanılan toprak örneği miktarı (g)

MW Sodyumun moleküler ağırlığı (23 g/mol = 23 mg/mEq)

3.2.4.6 Azot, Fosfor ve Metaller için Digesdahl Yakma Yöntemi

Toprak örneklerinde azot, fosfor ve metal miktarlarının saptanması amacıyla sülfürik asit (H₂SO₄) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) ile yakma işlemi uygulandı. 0.5g toprak örneği 6ml H₂SO₄ ve 15ml H₂O₂ 5 dakika 440°C’de (HACH Model 23130-21) yakıldı (107). Çözelti su ile 100ml hacime tamamlandı.

3.2.4.7 Toplam Azot

Yakma işlemi uygulanmış toprağın azot miktarı, Nessler (DR 2010 Spektrofotometre, HACH Manual) yöntemine göre belirlendi (108). Yöntemde yakılmış örneğe sırasıyla, bir damla TKN indikatörü, mavi renk görülünceye kadar 8 N KOH damlatılarak, 20ml saf su, 3 damla mineral stabilizer, 3 damla polivinil alkol ve son aşamada 1ml Nessler ayırıcı ilave edildi. Cihazın kalibrasyonu için aynı yöntemle hazırlanmış şahit örnek spektrofotometrede mg/L TKN cinsinden okutuldu ve değer sıfırlanarak yakılmış toprak örnekleri için hazır hale getirildi. Örnek saf suyla 25ml hacme seyreltilerek spektrofotometrede 460nm dalga boyunda mg/L TKN cinsinden ölçümü yapıldı. Azot miktarının hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanıldı.

$$\text{TKN (mg/L)} = \frac{75 \times A}{B \times C}$$

A Spektrofotometrede okunan değer (mg/L TKN)

B Kullanılan toprak örneğinin miktarı (g)

C Yakma işleminden sonra kullanılan örnek miktarı (ml)

3.2.4.8 Toplam Fosfor

Yakma işlemi uygulanmış toprağın içerdiği fosfor miktarı Askorbik asit yöntemine göre spektrofotometrik olarak belirlendi (108). Yöntemde, 1 damla fenol fitalein,

pembeleşinceye kadar 8 M KOH damlatılarak, pembe renk kayboluncaya kadar 6 N H₂SO₄ damlatılarak, hacmen 10ml'ye tamamlamak için saf su ve son aşamada PhosVer-3-Fosfat (askorbik asit) ilave edildi. Okuma, 890 nm dalga boyunda mg/L PO₄⁻³ cinsinden yapıldı ve seyreltme oranları dikkate alınarak fosfor miktarı hesaplandı.

$$P(\text{mg / L}) = \left(\frac{MW_P \times A}{MW_{PO_4^{-3}}} \right) \times DF$$

MW _P	Fosforun moleküler ağırlığı (g/mol)
MW _{PO₄⁻³}	Fosfatın moleküler ağırlığı (g/mol)
A	Spektrofotometrede okunan değer (mg/L)
DF	Seyreltme faktörü

3.2.4.9 Metal İçeriği

Yakma işlemi uygulanmış toprak örneklerinde Na, K, Ca, Mg, Cr, Ni, Cu, Zn ve Fe miktarları AAS ile ölçüldü. Seyreltme faktörleri dikkate alınarak her örneğin metal içeriği belirlendi.

3.2.5 İstatistiksel Analiz

Yapılan deneysel çalışmadan elde edilen veriler, istatistiksel analiz programı olan Statistical Package for the Social Science 10.0 (SPSS) programında veri tablosu olarak oluşturulmuştur.

Çalışmanın istatistiksel analizi iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

1. Dönem değerlerinin analizi
2. Parametrenin bir birleriyle ilişkileri

Araştırmanın yaz ve sonbahar dönemlerinde incelenen 8 arazinin (E1, E2, K1, K2, F1, F2, T1 ve T2) örnekleme zamanına bağlı olarak elde edilen farklı sonuçların anlamlılıkları Eşleştirilmiş Örnekler T-Testi (Paired-Samples T Test) kullanılarak değerlendirildi ve mevsimin parametreler üzerindeki etkisi belirlenmeye çalışıldı.

Toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri ile iki değerli metallerin antibakteriyel ilaçların çevredeki düzeyleri üzerindeki etkisi İki Değişkenli Karşılaştırma Testiyle (Bivariate Correlations) değerlendirildi. Ayrıca, tüm parametrelerin birbirleriyle ilişkileri

incelendi ve kontaminasyon bakımından önemlilik dereceleri belirlendi. Bu istatistiksel testte, iki mevsimde elde edilen tüm veriler kullanıldı.

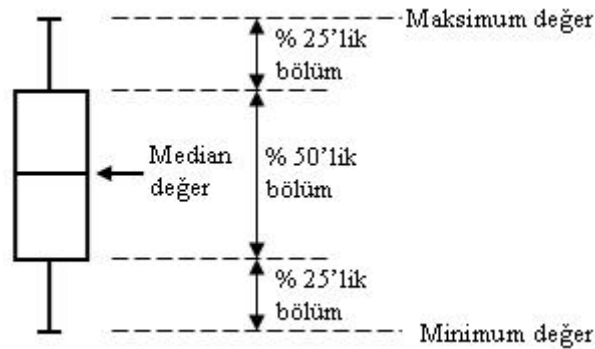
Anlamlılık (p) değeri, karşılaştırılan gruplar arasındaki değerlerin istatistiksel bir ölçüsüdür. Değişkenlerin rol oynadığı araştırmaların sayısal sonuçlarının sunulmasında p değeri önemlidir. Araştırmacılar genellikle p değerini vermek yerine, onun anlamlılık düzeyi olan α 'dan büyük ya da küçük ($p > \alpha$, $p < \alpha$) olduğunu belirtirler. α , bir dağılım üzerinde red ve kabul bölgeleri belirlendiğinde, red bölgesindeki (bölgelerindeki) olasılıkların toplamıdır. Buna anlamlılık düzeyi de denir. Örneğin $p < 0,05$ olması karşılaştırılan parametrelerin aralarında %5 hassasiyetle anlamlı olduğunu göstermektedir (109).

Bir istatistiğin gözlenme olasılığına bakarak önemliliğini belirlemek için dört koşul vardır. Bunlar aşağıda Tablo 3.11'deki gibi gösterilebilir (110).

Tablo 3.11 Test istatistiğinin önemlilik düzeyi

Karar olasılığı	Karar	Önemlilik düzeyi
$p \geq 0,05$	Önemli değil	-
$p < 0,05$	Önemli	*
$p < 0,01$	Çok önemli	**

Toprak karakteristiğinin belirlenmesinde yararlanılan parametrelerin dönemsel değişimleri ve ilaçlar üzerindeki etkilerini göstermek amacıyla dağılım ve box-plot tekniği ile diyagramlar oluşturulmuştur. Box-plot tekniğinde elde edilen veriler büyükten küçüğe doğru sıralanır. En üst çizgi elde edilen verilerin en büyük olanını, en alt çizgi ise verilerin en küçük olanını ifade etmektedir. Dikdörtgen kutu şeklindeki bölüm, elde edilen verilerin %50'lik bölümünü göstermektedir. Dikdörtgenin üstündeki bölüm verilerin %75-%100'lük arasındaki değerleri, dikdörtgenin altındaki bölüm de verilerin ilk %25'lik bölümünü ifade etmektedir. Ortadaki çizgi ise ortanca değeri (median değer) göstermektedir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Box-plot veri gösterme tekniği

4. BULGULAR

D-1’de, dört farklı bölgenin her birinden iki olmak üzere toplam sekiz adet, D-2’de altı farklı bölgenin sadece birinden üç, geri kalan bölgelerin her birinden iki olmak üzere toplam 13 adet arazi örneklendi. Araştırmalar iki aşamalı olarak yürütüldü. İlk aşama, geri kazanım ve ilaç düzeylerinin belirlenmesi, ikincisi örneklerin karakterizasyonudur. Araştırmanın esasını, tarım arazilerinde antibakteriyel ilaç kirliliğinin belirlenmesi ve bu kirliliğin neden olabileceği sorunların irdelenmesi oluşturdu. Diğer parametreler, antibakteriyel ilaçların çevredeki davranışlarını değerlendirmek için kullanıldı.

4.1 Geri Kazanım ve İlaç Düzeyleri

İlaçların LOD ve LOQ değerleri Tablo 4.1.’de verilmiştir.

Tablo 4.1 İlaçların LOD ve LOQ değerleri

		LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
D-1	OTC	12	25
	CTC	65	130
D-2	OTC	12	25
	CTC	65	130
	SDZ	85	170
	STZ	45	90
	SCP	99	199
	SMZ	153	307

Daha önceki bölümlerde antibakteriyel ilaçların çevredeki döngüsünü etkileyen faktörler irdelenmiştir. Belirtilen nedenlerden dolayı her arazi için birbirinden farklı geri kazanım düzeyi ve RSD hesaplanmıştır (Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5). D-1’de, arazilerin dört tanesinde OTC (Tablo 4.2) ve birinde CTC (Tablo 4.2), D-2’de dokuz arazide OTC (Tablo 4.3) ve bir tanesinde CTC (Tablo 4.3) kirliliği tespit edilmiştir.

Tablo 4.2. Geri kazanım, RSD ve ilaçların topraktaki kalıntı düzeyi (D-1)

Bölge	n*	OTC				Kalıntı (mg/kg)	CTC				Kalıntı (mg/kg)
		0.2mg/kg		1mg/kg			0.2mg/kg		1mg/kg		
		GK*** (%)	RSD (%)	GK (%)	RSD (%)		GK (%)	RSD (%)	GK (%)	RSD (%)	
E1	3	53,49	16.34	73,34	6.50	0,144	95,77	29.10	66,54	5.30	-
E2	3	54,29	2.60	105,29	3.08	0,019	85,54	20.26	75,03	4.20	-
K1	3	41,76	2.40	81,49	10.90	0,029	89,47	4.76	54,26	1.64	-
K2	3	11,05	4.40	60,14	2.22	0,048	71,44	11.16	41,81	8.68	-
F1	3	29,85	21.02	72,06	8.18	-**	48,49	33.16	52,42	20.48	0,033
F2	3	9,51	7.30	59,98	18.02	-	49,81	26.02	42,46	29.76	-
T1	3	14,87	43.66	67,35	1.68	-	61,29	8.72	48,05	12.18	-
T2	3	20,48	50.36	62,10	0.26	-	76,53	8.06	67,05	1.72	-

* Paralel örnek sayısı

** Tespit edilemedi

*** Geri kazanım

Tablo 4.3 OTC ve CTC için belirlenen geri kazanım, RSD ve ilaçların topraktaki kalıntı düzeyi (D-2)

Bölge	n*	OTC				Kalıntı (µg/kg)	CTC				Kalıntı (µg/kg)
		0.2mg/kg		1mg/kg			0.2mg/kg		1mg/kg		
		GK*** (%)	RSD (%)	GK (%)	RSD (%)		GK (%)	RSD (%)	GK (%)	RSD (%)	
E1	3	117,33	16,80	96,62	7,25	49,04	88,25	3,93	72,18	12,22	-
E2	3	97,44	25,12	111,00	10,74	24,71	91,54	8,80	73,66	6,83	-
E3	3	71,20	24,14	108,40	11,85	9,09	96,28	8,27	78,57	12,01	-
K1	3	69,66	16,04	100,87	17,58	7,32	80,37	17,92	60,20	16,55	-
K2	3	73,74	14,13	113,67	2,26	4,97	96,57	8,25	76,59	8,00	-
F1	3	76,56	22,13	86,13	25,47	-**	96,64	15,72	67,29	28,59	-
F2	3	78,37	22,13	82,27	10,45	34,38	84,48	41,96	67,11	16,45	-
T1	3	82,75	24,33	96,51	3,32	7,92	105,90	16,11	83,51	4,38	-
T2	3	125,43	10,43	114,71	0,17	104,69	97,29	11,89	86,42	6,17	-
İ1	3	76,37	6,78	86,64	3,43	-	114,56	1,89	67,98	2,51	-
İ2	3	78,27	2,83	93,97	6,49	7,27	92,90	19,28	70,28	9,64	-
O1	3	66,18	30,01	83,06	17,21	-	45,50	19,50	54,41	4,48	72,83
O2	3	48,59	18,89	76,74	10,03	-	69,25	9,21	67,40	5,05	-

* Paralel örnek sayısı

** Tespit edilemedi

*** Geri kazanım

Tablo 4.4 SDZ ve STZ için belirlenen geri kazanım, RSD ve ilaçların topraktaki kalıntı düzeyi (D-2)

Bölge	n*	SDZ					STZ				
		0.2mg/kg		1mg/kg		Kalıntı (mg/kg)	0.2mg/kg		1mg/kg		Kalıntı (mg/kg)
		GK*** (%)	RSD (%)	GK (%)	RSD (%)		GK (%)	RSD (%)	GK (%)	RSD (%)	
E1	3	113,33	11,53	65,91	10,51	-**	89,91	5,15	56,63	5,20	-
E2	3	90,18	2,38	76,26	5,91	-	113,63	4,26	57,23	7,46	-
E3	3	87,93	2,30	69,40	10,54	-	92,90	3,89	52,86	18,84	-
K1	3	90,30	19,93	68,18	10,64	-	89,41	21,43	50,65	20,99	-
K2	3	92,89	5,39	73,61	2,30	-	97,13	5,25	58,98	4,71	-
F1	3	88,61	14,06	71,29	16,31	-	123,08	11,78	66,02	14,94	-
F2	3	90,86	3,61	69,89	5,00	-	98,64	3,03	58,53	11,08	-
T1	3	89,43	10,73	74,94	7,45	-	106,27	11,64	61,30	8,28	-
T2	3	78,31	12,61	63,89	3,79	-	48,17	44,19	54,28	7,33	-
İ1	3	82,06	7,29	66,52	2,42	-	95,29	3,36	60,60	0,82	-
İ2	3	87,64	13,55	64,71	6,27	-	97,22	7,14	55,48	3,66	-
O1	3	90,94	12,80	72,18	6,83	-	102,47	5,46	63,32	2,66	-
O2	3	86,09	9,84	70,45	4,17	-	92,66	5,95	63,50	6,51	-

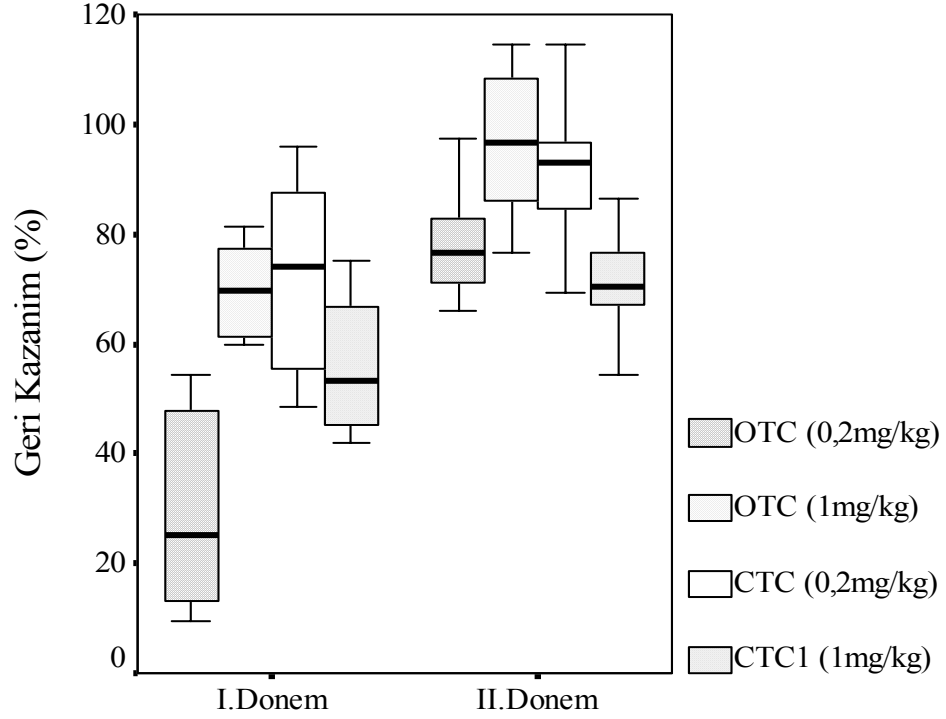
* Paralel örnek sayısı ** Tespit edilemedi *** Geri kazanım

Tablo 4.5 SCP ve SMZ için belirlenen geri kazanım, RSD ve ilaçların topraktaki kalıntı düzeyi (D-2)

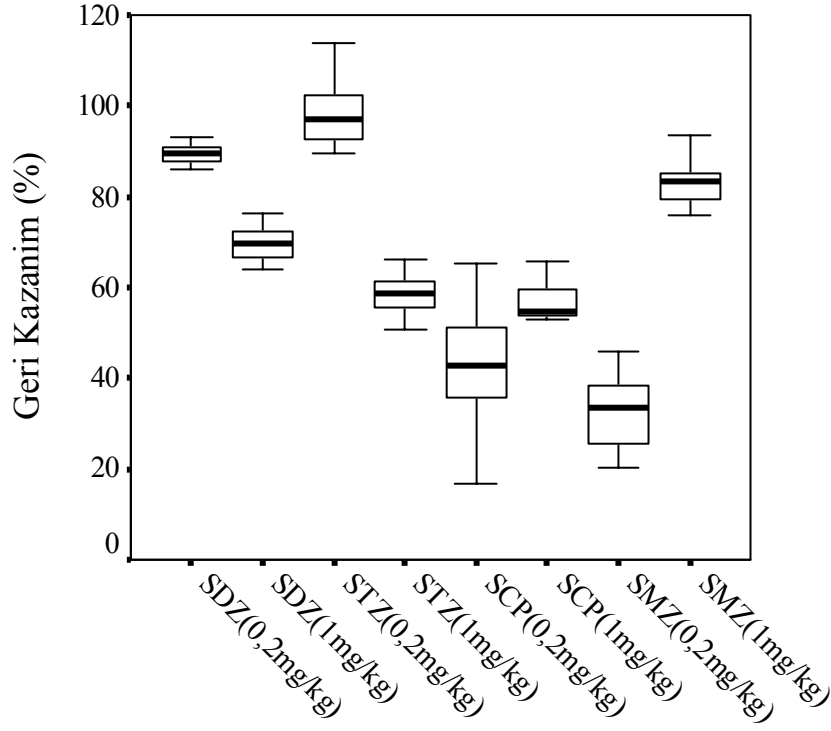
Bölge	n*	SCP					SMZ				
		0.2mg/kg		1mg/kg		Kalıntı (mg/kg)	0.2mg/kg		1mg/kg		Kalıntı (mg/kg)
		GK*** (%)	RSD (%)	GK (%)	RSD (%)		GK (%)	RSD (%)	GK (%)	RSD (%)	
E1	3	44,60	20,90	53,65	8,25	-**	20,34	52,21	77,93	6,38	-
E2	3	52,02	5,18	53,72	16,08	-	38,53	8,15	83,91	11,31	-
E3	3	54,98	15,94	63,70	7,52	-	33,72	46,22	85,26	21,03	-
K1	3	37,19	6,14	42,75	42,38	-	24,76	1,46	68,57	39,32	-
K2	3	51,21	3,94	59,45	6,85	-	30,45	5,20	85,67	7,09	-
F1	3	65,36	40,68	54,33	29,46	-	25,56	3,76	80,36	26,21	-
F2	3	36,07	4,84	54,57	18,49	-	23,22	14,55	79,41	14,24	-
T1	3	49,97	39,29	58,74	17,47	-	28,82	27,59	84,54	10,55	-
T2	3	16,86	52,32	44,60	14,77	-	38,13	37,45	79,66	7,47	-
İ1	3	28,90	3,93	55,24	1,82	-	45,71	10,60	83,17	1,50	-
İ2	3	43,00	28,08	52,73	10,22	-	40,23	36,01	75,99	8,59	-
O1	3	35,52	22,17	63,67	4,63	-	42,04	8,86	95,96	4,56	-
O2	3	31,23	21,22	65,60	5,37	-	34,35	16,99	93,59	5,84	-

* Paralel örnek sayısı ** Tespit edilemedi *** Geri kazanım

D-1 ve D-2’de kirlilik düzeyi araştırılan OTC ve CTC’nin geri kazanım düzeylerinin dönemsel farkları ve değer aralıkları Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Sulfonamid grubu ilaçlar sadece D-2’de değerlendirildiği için, geri kazanım düzeylerinin birbirlerine göre farkları Şekil 4.2’de gösterilmiştir. D-1’de, düşük kirlilik düzeyinde (0.2mg/kg) OTC için hesaplanan geri kazanım değerleri hem dönemin, hem de tüm geri kazanımların en düşük verileridir.



Şekil 4.1 OTC ve CTC’nin iki kontaminasyon düzeyinde geri kazanımlarının değer aralığı ve dağılımı



Şekil 4.2 SDZ, STZ, SCP ve SMZ'nin iki kontaminasyon düzeyinde geri kazanımlarının değer aralığı ve dağılımı

4.2 Ekstraksiyon Ön Çalışması ve Geri kazanım Sonuçları

Ekstraksiyon yönteminde bir değişiklik yapılmadan kullanılması sonucu aşağıda sıralanan sorunlar kaydedildi.

1. SPE'de örnek solüsyonunun ikili kartuş sisteminden geçirilmesi sırasında sabit bir akış hızı sağlanamadı.
2. Kartuşlarda, aşırı yüklenme ve buna bağlı olarak tıkanmalar oluştu
3. Her örnek için iki veya daha fazla sayıda SAX kartuşu kullanıldı.
4. Kartuş akış hızı, metotta belirtilen 10ml/dakikadan daha yavaş olduğu için, deney süresi (5-8 saat) çok uzadı.

HPLC analizi sonucu oksitetrasikin ve SCP için Tablo 4.6'da verilen geri kazanımlar belirlendi.

Tablo 4.6 Düşük kapasiteli katı faz ekstraksiyon kartuşları ve 4g toprak kullanılarak belirlenen geri kazanımlar

Kirlilik derişimi	n*	OTC		SCP	
		Geri kazanım	RSD (%)	Geri kazanım	RSD (%)
1mg/kg	3	15.2	0.28	62.0	11.65
10mg/kg	3	12.2	2.30	50.3	25.0

* örnek sayısı

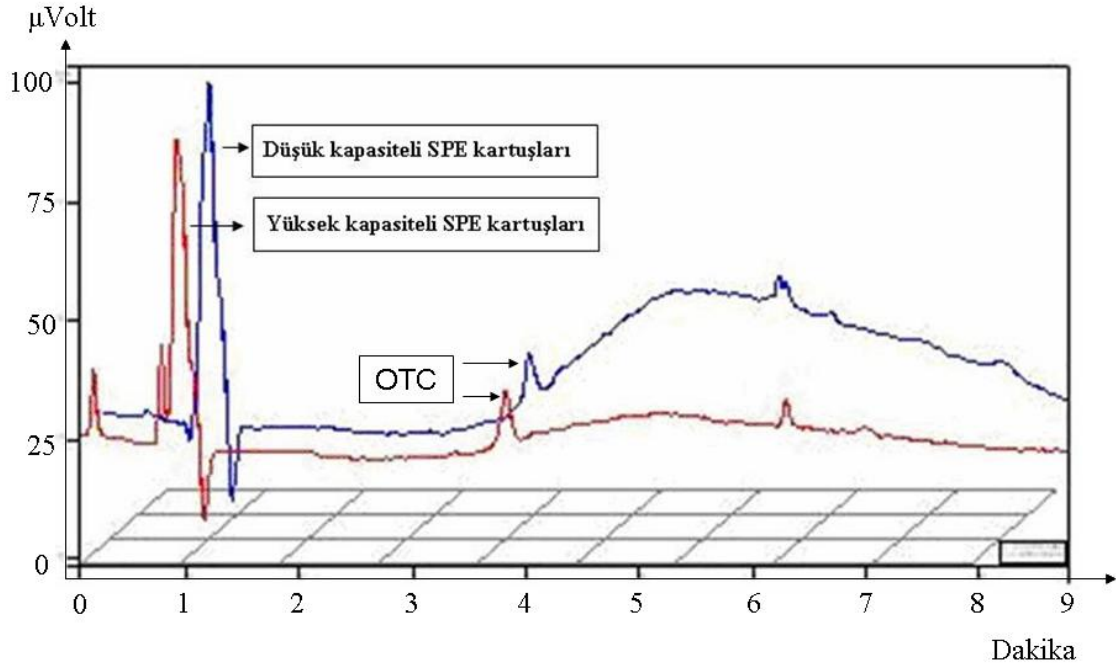
İyileştirilmiş ekstraksiyon metodu, CTC ve SDZ için de test edildi ve Tablo 4.7’de verilen geri kazanımlar hesaplandı.

Tablo 4.7 Yüksek kapasiteli katı faz ekstraksiyon kartuşları ve 1g toprak kullanılarak belirlenen geri kazanımlar

Kirlilik derişimi	n*	OTC		CTC		SDZ	
		Geri kazanım	RSD (%)	Geri kazanım	RSD (%)	Geri kazanım	RSD (%)
1mg/kg	3	%38.5	%4.3	%42.3	5.7	%53.8	0.3
10mg/kg	3	%78.5	%4.8	%51.5	9.8	%37.3	5.2

Yöntemde yapılan değişikliklerden sonra aşağıda belirtilen sonuçlara ulaşıldı:

1. SPE kartuşlarının değiştirilmesi ile sorbent kapasitesi beş kat, geri kazanım düzeyleri de buna paralel olarak yaklaşık aynı oranda arttı
2. Örnek solüsyonun SPE kartuşlarından geçiş hızı 2-5ml/dakikadan 10-12ml/dakikaya ulaştırıldı.
3. SPE kartuşlarının kapasitesinin artırılması, daha fazla miktarda istenmeyen maddenin bağlanmasını sağladığı için HPLC analizinde, çok daha pürüzsüz bir kromatogram elde edildi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 SPE kartuşlarının OTC kromatogram taban çizgisine etkisi

4.3. Toprak Örneklerinin Karakterizasyonu

Toprak örnekleri, 11 farklı parametrenin saptanması ile karakterize edildi. Bu kapsamda kullanılan parametreler, bünye, pH, nem, OC, KDK, N, P, Na, K, Ca ve Mg'dur. Yaz ve sonbaharda toplanan toprak örneklerinin karakteristikleri Tablo 4.8 ve Tablo 4.9'da ve tüm toprak örneklerinin tekstürel yapıları Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.8 Toprak örneklerinin karakteristiği (D-1)

		E1	E2	K1	K2	F1	F2	T1	T2
Bünye	Kil (%)	39,44	37,44	15,44	19,44	33,44	41,44	25,44	25,44
	Silt (%)	22,00	20,00	23,64	24,00	18,00	20,00	21,64	28,00
	Kum (%)	38,56	42,56	60,92	56,56	48,56	38,56	52,92	46,56
Organik C (OK)	(%)	1,83	2,12	1,09	1,11	1,88	1,64	1,01	1,78
pH	(1:2,51M KCl)	6,46	6,44	6,63	7,23	6,37	5,27	6,94	6,80
Toplam KDK	(mEq/100g)	39,13	33,70	21,27	26,63	164,86	200,72	122,46	181,52
Toplam N	(g/kg)	2,70	1,88	1,65	1,58	0,83	0,30	0,90	1,13
Toplam P	(g/kg)	0,78	0,67	0,24	0,23	0,41	0,05	0,29	0,24
Sodyum	(g/kg)	1,63	1,83	6,18	4,38	0,48	0,68	2,08	1,03
Potasyum	(g/kg)	19,53	14,63	29,08	28,73	18,18	17,18	13,33	14,98
Kalsiyum	(g/kg)	20,29	21,02	3,37	14,39	8,89	5,99	63,12	37,47
Magnezyum	(g/kg)	19,06	12,68	69,28	88,28	20,03	26,46	18,61	171,48
Su içeriği (Nem)	(%)	19,38	19,73	4,20	11,83	24,51	20,67	10,29	13,01

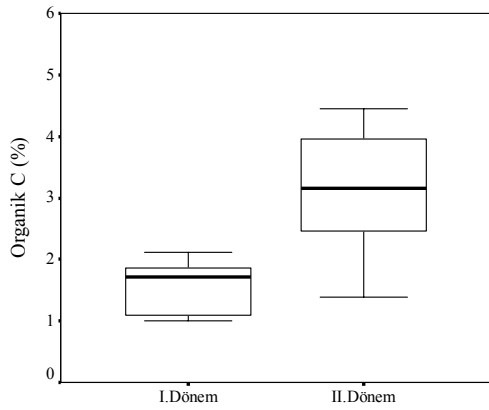
Tablo 4.9 Toprak örneklerinin karakteristiği (D-2)

		E1	E2	E3	K1	K2	F1	F2	T1	T2	İ1	İ2	O1	O2
Bünye	Kil (%)	39,44	37,44	41,44	15,44	19,44	33,44	41,44	25,44	25,44	11,44	11,44	43,44	23,44
	Silt (%)	22,00	20,00	20,00	23,64	24,00	18,00	20,00	21,64	28,00	24,00	18,00	24,00	24,00
	Kum (%)	38,56	42,56	38,56	60,92	56,56	48,56	38,56	52,92	46,56	64,56	70,56	32,56	52,56
Organik C (OK)	(%)	3,36	2,47	3,16	1,38	1,38	3,56	2,47	2,47	7,51	9,09	3,95	2,67	4,45
pH	(1:2,51M KCl)	6,49	6,52	6,75	7,31	7,33	6,46	6,44	6,80	6,79	6,53	7,27	6,89	7,07
Toplam KDK	(mEq 100 g ⁻¹)	44,53	45,04	49,17	16,38	15,22	33,51	33,01	18,91	37,86	28,01	20,33	28,01	24,20
Toplam N	(g/kg)	19,50	15,00	15,00	10,50	10,50	24,00	13,50	13,50	36,00	36,00	12,00	13,50	19,50
Toplam P	(g/kg)	11,94	7,37	3,59	3,65	3,03	17,49	2,87	7,31	10,31	73,42	14,36	4,11	3,72
Sodyum	(g/kg)	7,38	14,18	23,53	14,28	10,73	6,48	37,23	18,43	14,73	7,98	8,08	18,23	13,48
Potasyum	(g/kg)	27,88	30,28	24,23	22,88	5,93	18,48	36,33	31,58	39,93	46,93	28,88	33,18	46,03
Kalsiyum	(g/kg)	5,22	3,59	2,34	4,34	30,02	7,37	3,67	55,12	6,92	56,14	56,69	12,04	9,14
Magnezyum	(g/kg)	20,88	15,43	25,15	78,13	4,78	36,93	34,35	21,38	151,33	39,50	44,13	28,68	31,50
Su içeriği (Nem)	(%)	17,49	19,09	20,66	12,47	13,75	27,89	25,16	11,50	21,52	32,95	9,55	23,95	26,89

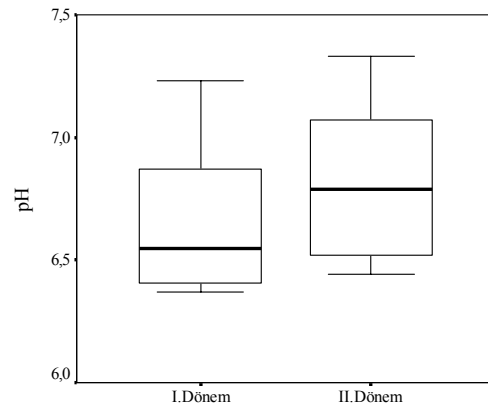
Tablo 4.10 Arazilerin tekstürel yapıları

Arazi	Bünye
E1	Killi tın
E2	Killi tın
E3	Killi
K1	Kumlu
K2	Kumlu
F1	Kumlu killi tın
F2	Killi
T1	Kumlu killi tın
T2	Tın
İ1	Kumlu tın
İ2	Kumlu tın
O1	Killi
O2	Kumlu killi tın

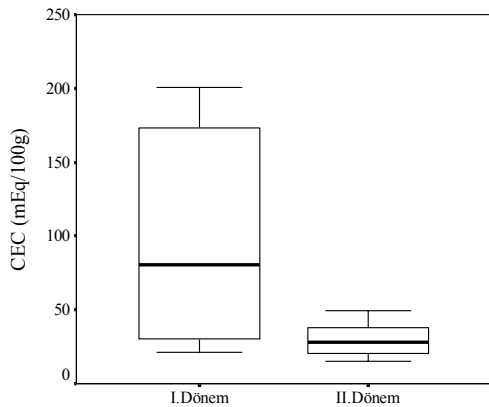
Arazilerin OC, pH, KDK, N ve P, nem, Na, K, Ca ve Mg içeriklerinin örnekleme dönemlerindeki değişimleri Şekil 4.4-4.9'de gösterilmiştir.



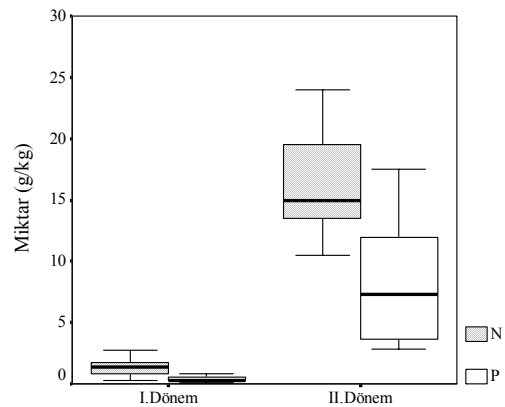
Şekil 4.4 OC miktarlarının örnekleme dönemine göre değişimi



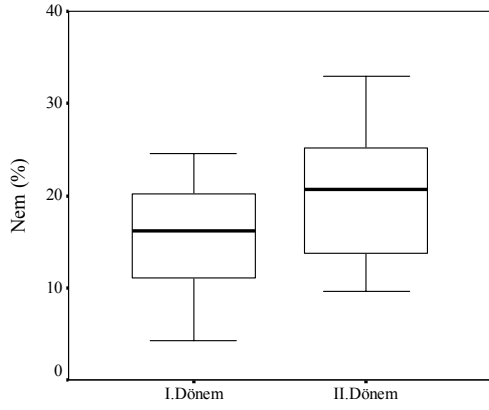
Şekil 4.5 pH miktarlarının örnekleme dönemine göre değişimi



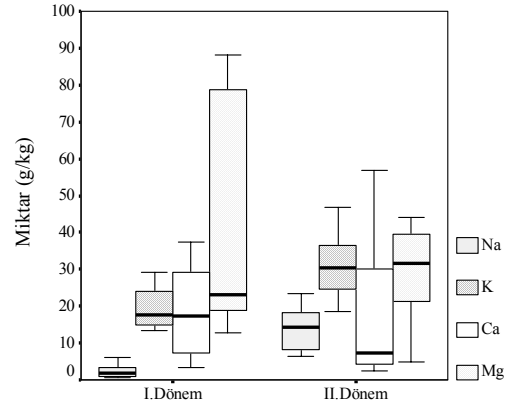
Şekil 4.6 KDK miktarlarının örnekleme dönemine göre değişimi



Şekil 4.7 N ve P miktarlarının örnekleme dönemine göre değişimi



Şekil 4.8 Nem miktarlarının örnekleme dönemine göre değişimi



Şekil 4.9 Na, K, Ca ve Mg miktarlarının örnekleme dönemine göre değişimi

Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin iki değerli metallere karşı yüksek ilgisi nedeniyle, araştırma kapsamında bazı metallerin düzeyleri belirlendi. Bu metaller, Cr, Cu, Ni, Zn ve Fe'dir, arazilerin metal içerikleri Tablo 4.11 ve 4.12'de verilmiştir.

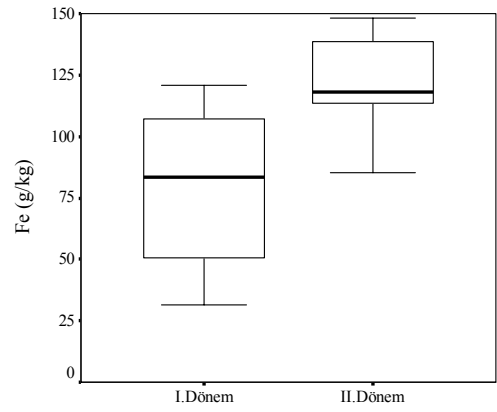
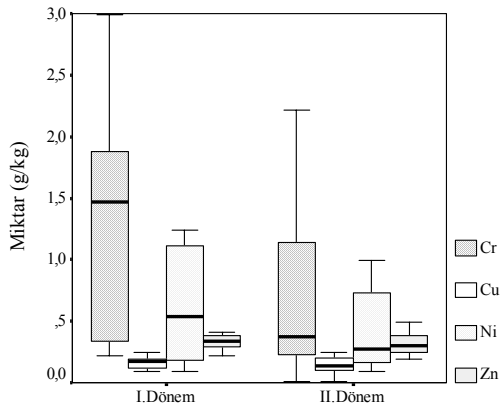
Tablo 4.11. D-1 arazilerinin metal düzeyleri

Bölge	Cr (g/kg)	Cu (g/kg)	Ni (g/kg)	Zn (g/kg)	Fe (g/kg)
E1	0.31	0.13	0.22	0.41	106.05
E2	0.36	0.19	0.14	0.36	58.45
K1	1.88	0.11	0.98	0.34	108.00
K2	1.87	0.17	1.24	0.40	104.35
F1	1.24	0.17	0.37	0.34	31.50
F2	1.70	0.09	0.70	0.22	62.65
T1	0.22	0.20	0.09	0.26	42.70
T2	2.99	0.25	2.73	0.32	120.80

Tablo 4.12 D-2 arazilerinin metal düzeyleri

Bölge	Cr (g/kg)	Cu (g/kg)	Ni (g/kg)	Zn (g/kg)	Fe (g/kg)
E1	0,25	0,15	0,16	0,37	148,10
E2	0,13	0,06	0,15	0,27	122,65
E3	0,19	0,10	0,19	0,19	116,90
K1	1,87	0,08	0,85	0,25	118,20
K2	1,12	0,01	0,99	0,25	102,85
F1	1,56	0,14	0,49	0,49	125,30
F2	1,14	0,14	0,73	0,20	117,60
T1	0,01	0,20	0,09	0,24	85,35
T2	2,22	0,17	2,13	0,38	185,90
İ1	0,73	0,44	0,60	1,19	99,25
İ2	0,28	0,12	0,16	0,30	113,70
O1	0,37	0,25	0,27	0,39	199,85
O2	0,23	0,45	0,21	0,34	138,75

Toprakta bulunan krom, bakır, nikel ve çinko miktarları bir birine yakın (Şekil 4.10), ancak demir miktarları (Şekil 4.11) diğer metallere göre belirgin derecede yüksek bulunmuştur.



4.4. İstatistik Analizi Sonuçları

D-1 ve D-2’de incelenen her bir parametrenin değerlerinde kaydedilen değişkenliklerin anlamlılıkları Eşleştirilmiş Örnekler T-Testi ile değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.13’de verilmiştir. Bu testin sonuçlarına göre incelenen 19 parametrenin 10’u anlamlı bulunmuştur.

Tablo 4.13 D-1 ve D-2 verilerinin Eşleştirilmiş Örnekler T-Testi ile değerlendirilmesi

	Eşleştirilmiş farklar					t	df	Anlam- lılık
	Ortalama	Standart sapma	Ortalama standart hata	%95 güven aralığı				
				Alt sınır	Üst sınır			
OC I – OC II	-1,5175	1,7998	,6363	-3,0221	-1,29E-02	-2,385	7	,049
pH I – pH II	-,2500	,4434	,1568	-,6207	,1207	-1,595	7	,155
CEC I – CEC II	68,2288	75,4139	26,6628	5,1811	131,2764	2,559	7	,038
N I – N II	-16,4413	8,7465	3,0924	-23,7535	-9,1290	-5,317	7	,001
P I – P II	-7,6325	4,9746	1,7588	-11,7914	-3,4736	-4,340	7	,003
Na I – Na II	-13,1438	10,2565	3,6262	-21,7184	-4,5691	-3,625	7	,008
K I – K II	-7,2063	15,9457	5,6377	-20,5372	6,1247	-1,278	7	,242
Ca I – Ca II	7,2862	13,9203	4,9216	-4,3514	18,9239	1,480	7	,182
Mg I – Mg II	7,8337	32,3641	11,4425	-19,2233	34,8908	,685	7	,516
Nem I – Nem II	-3,1562	3,8142	1,3485	-6,3450	3,246E-02	-2,341	7	,052
Cr I – Cr II	,2838	,3832	,1355	-3,66E-02	,6041	2,094	7	,074
Cu I – Cu II	4,50E-02	7,309E-02	2,58E-02	-1,61E-02	,1061	1,741	7	,125
Ni I – Ni II	,1100	,2273	8,04E-02	-8,00E-02	,3000	1,369	7	,213
Zn I – Zn II	2,50E-02	9,426E-02	3,33E-02	-5,38E-02	,1038	,750	7	,478
Fe I – Fe II	-46,4350	30,7617	10,8759	-72,1525	-20,7175	-4,270	7	,004
OTC(02) I – OTC(02) II	-60,7475	22,8959	8,0949	-79,8890	-41,6060	-7,504	7	,000
OTC(1) I – OTC(1) II	-27,5038	17,2249	6,0899	-41,9041	-13,1034	-4,516	7	,003
CTC(02) I – CTC(02) II	-20,3250	22,1661	7,8369	-38,8563	-1,7937	-2,594	7	,036
CTC(1) I – CTC(1) II	-17,4175	13,6957	4,8422	-28,8674	-5,9676	-3,597	7	,009

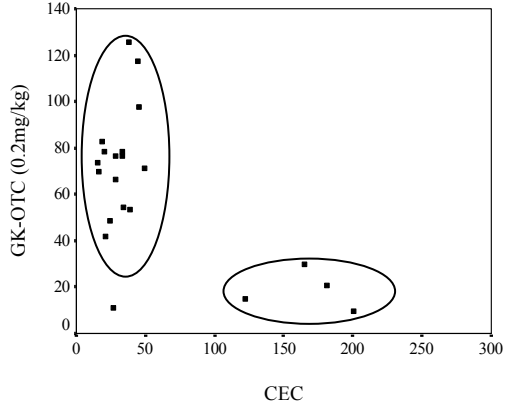
Tüm araştırmalarda elde edilen verilerin bir birleriyle olana ilişkilerini değerlendirmek ve anlamlı olan parametrelerin önemlilik düzeyleri belirlemek amacıyla istatistiksel İki Değişkenli Karşılaştırma Testi kullanılmış (EK 1) ve anlamlı bulunan parametreler Tablo 4.14 ve Şekil 4.12-4.33’de verilerek önemlilik düzeyleri belirtilmiştir.

Tablo 4.14 İki Değişkenli Karşılaştırma Testine (Bivariate Correlations) göre anlamlı parametrelerin önemlilik düzeyleri

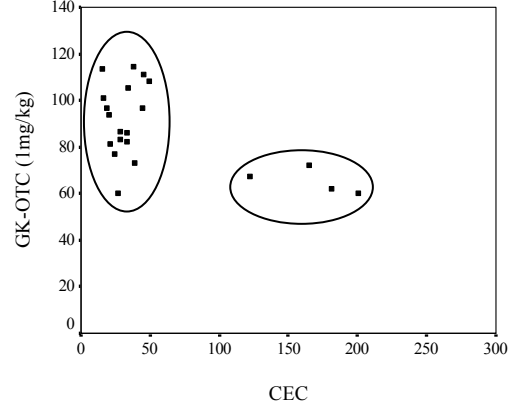
Parametre	Pearson Correlation	p değeri	Önemlilik düzeyi	Parametre	Pearson Correlation	p değeri	Önemlilik düzeyi
OC-OTC(02)	0.547	0.010	*	Kil-pH	-0.582	0.006	**
CEC-OTC(02)	-0.593	0.005	**	Kil-Ca	-0.443	0.044	*
CEC-OTC(1)	-0.581	0.006	**	Silt-Mg	0.710	0.000	**
N-OTC(02)	0.764	0.000	**	Silt-Cr	0.489	0.024	*
N-OTC(1)	0.512	0.018	*	Silt-Ni	0.732	0.000	**
Na-OTC(02)	0.508	0.019	*	Silt-Fe	0.484	0.026	*
OTC(02)-OTC(1)	0.816	0.000	**	Kum-pH	0.528	0.014	*
OTC(02)-CTC(02)	0.614	0.003	**	Kum-Ca	0.511	0.018	*
OTC(02)-CTC(1)	0.787	0.000	**	OC-N	0.895	0.000	**
OTC(02)-SCP(1)	-0.572	0.041	*	OC-P	0.802	0.000	**
OTC(1)-CTC(02)	0.585	0.005	**	OC-K	0.695	0.000	**
OTC(1)-CTC(1)	0.795	0.000	**	OC-Nem	0.598	0.004	**
OTC(1)-STZ(1)	-0.640	0.018	*	OC-Cu	0.564	0.008	**
Na-OTC(02)	0.508	0.019	*	OC-Zn	0.709	0.000	**
Fe-OTC(02)	0.591	0.005	**	pH-CEC	-0.555	0.009	**
OC-CTC(02)	0.462	0.035	*	CEC-N	-0.461	0.036	*
CEC-CTC(02)	-0.589	0.005	**	CEC-Na	-0.466	0.033	*
CEC-CTC(1)	-0.450	0.041	*	CEC-Fe	-0.469	0.032	*
N-CTC(02)	0.540	0.012	*	N-P	0.691	0.001	**
N-CTC(1)	0.576	0.006	**	N-K	0.665	0.001	**
P-CTC(02)	0.505	0.019	*	N-Nem	0.561	0.008	**
CTC(02)-CTC(1)	0.738	0.000	**	N-Zn	0.533	0.013	*
OC-SDZ(1)	-0.587	0.035	*	N-Fe	0.579	0.006	**
Mg-SDZ(1)	-0.622	0.023	*	P-K	0.497	0.022	*
SDZ(02)-SCP(1)	-0.619	0.024	*	P-Nem	0.493	0.023	*
SDZ(1)-SCP(02)	0.553	0.050	*	P-Cu	0.513	0.017	*
Silt-STZ(02)	-0.742	0.004	**	P-Zn	0.916	0.000	**
Mg-STZ(02)	-0.798	0.001	**	Na-K	0.478	0.028	*
Ni-STZ(02)	-0.749	0.003	**	Na-Fe	0.451	0.040	*
STZ(02)-SCP(02)	0.744	0.002	**	K-Cu	0.606	0.004	**
STZ(1)-SCP(1)	0.558	0.048	*	K-Fe	0.509	0.019	*
STZ(1)-SMZ(1)	0.638	0.019	*	Mg-Cr	0.801	0.000	**
Silt-SCP(02)	-0.757	0.003	**	Mg-Ni	0.913	0.000	**
OC-SCP(02)	-0.585	0.036	*	Nem-Cu	0.486	0.026	*
K-SCP(02)	-0.708	0.007	**	Nem-Zn	0.507	0.019	*
Mg-SCP(1)	-0.691	0.009	**	Cr-Ni	0.892	0.000	**
Cr-SCP(1)	-0.700	0.008	**	Cu-Zn	0.617	0.003	**
Ni-SCP(02)	-0.556	0.048	*	Na-K	0.478	0.028	*
Ni-SCP(1)	-0.585	0.036	*	Na-Fe	0.451	0.040	*
SCP(1)-SMZ(1)	0.859	0.000	**	K-Cu	0.606	0.004	**
K-SCP(02)	-0.708	0.007	**	K-Fe	0.509	0.019	*
OC-SMZ(02)	0.567	0.043	*	Mg-Cr	0.801	0.000	**

* p < 0.05

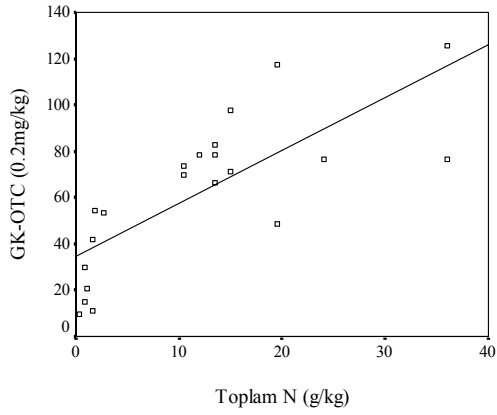
** p < 0.01



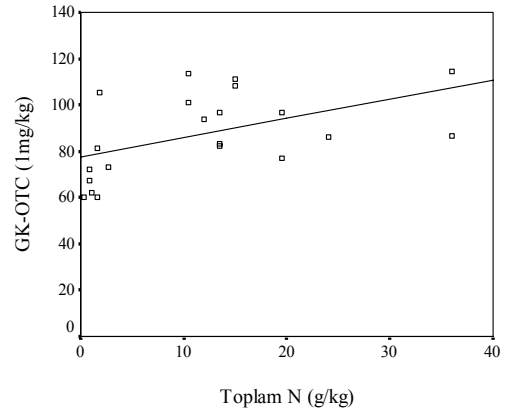
Şekil 4.12 Geri kazanım (OTC, 0.2mg/kg) ile KDK ilişkisi



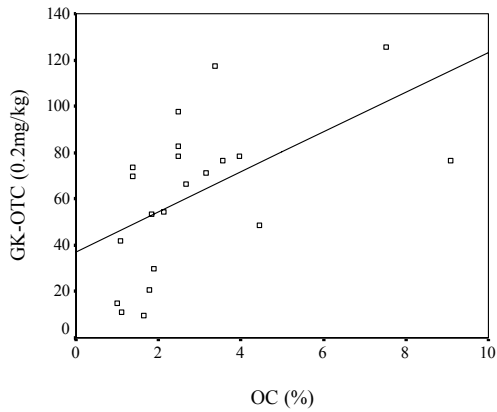
Şekil 4.13 Geri kazanım (OTC, 1mg/kg) ile KDK ilişkisi



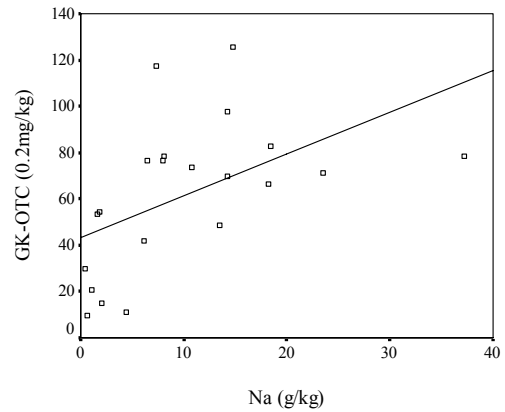
Şekil 4.14 Geri kazanım (OTC, 0.2mg/kg) ile Toplam N ilişkisi



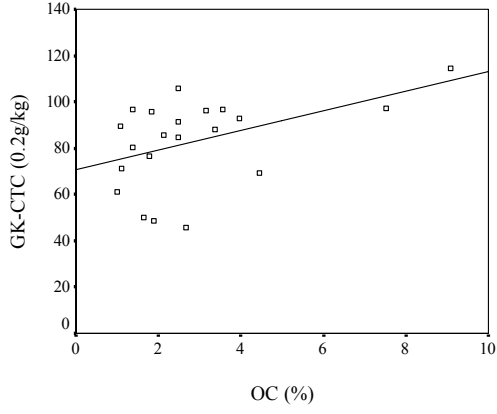
Şekil 4.15 Geri kazanım (OTC, 1mg/kg) ile Toplam N ilişkisi



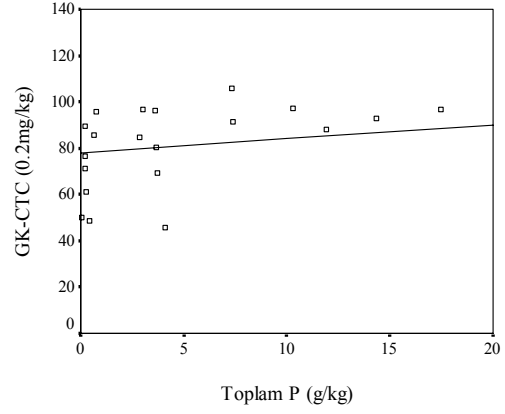
Şekil 4.16 Geri kazanım (OTC, 0.2mg/kg) ile OC ilişkisi



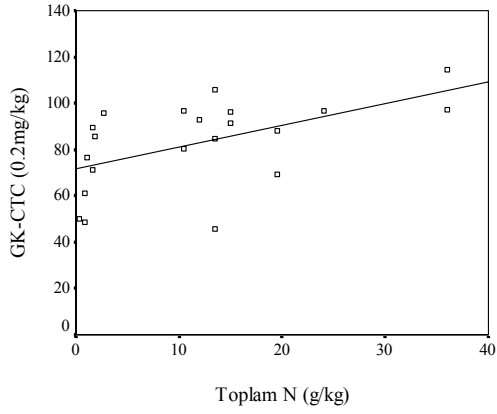
Şekil 4.17 Geri kazanım (OTC, 1mg/kg) ile OC ilişkisi



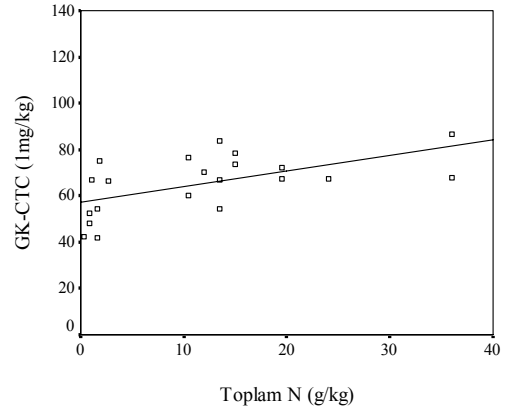
Şekil 4.18 Geri kazanım (CTC, 0.2mg/kg) ile OC ilişkisi



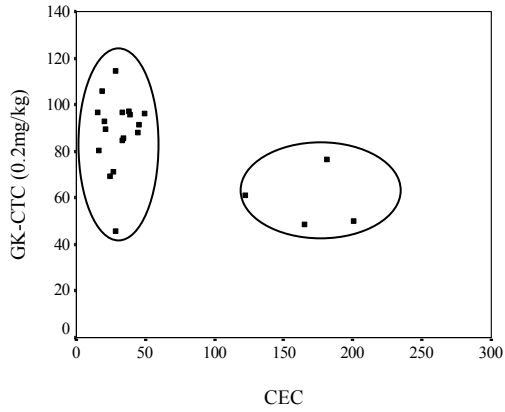
Şekil 4.19 Geri kazanım (CTC, 0.2mg/kg) ile Toplam P ilişkisi



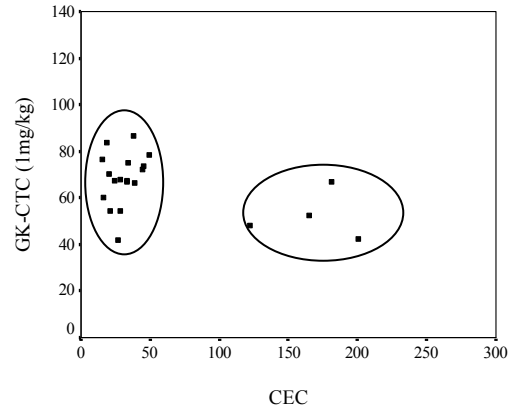
Şekil 4.20 Geri kazanım (CTC, 0.2mg/kg) ile Toplam N ilişkisi



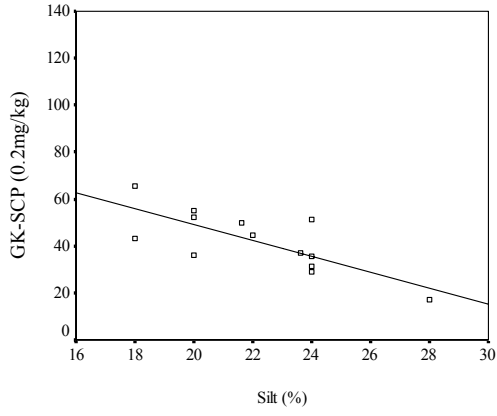
Şekil 4.21 Geri kazanım (CTC, 1mg/kg) ile Toplam N ilişkisi



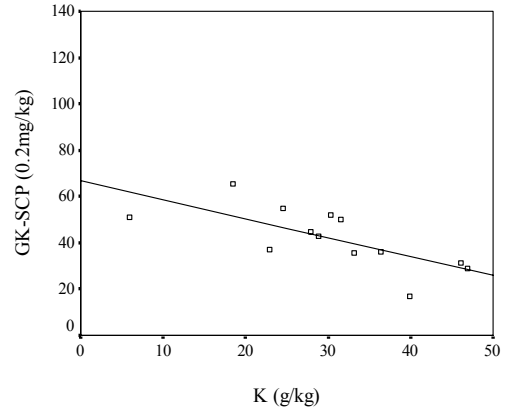
Şekil 4.22 Geri kazanım (CTC, 0.2mg/kg) ile KDK ilişkisi



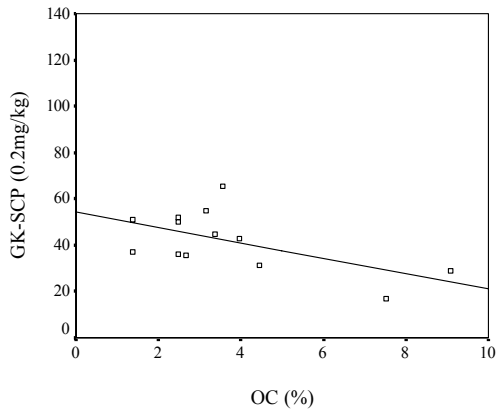
Şekil 4.23 Geri kazanım (CTC, 1mg/kg) ile KDK ilişkisi



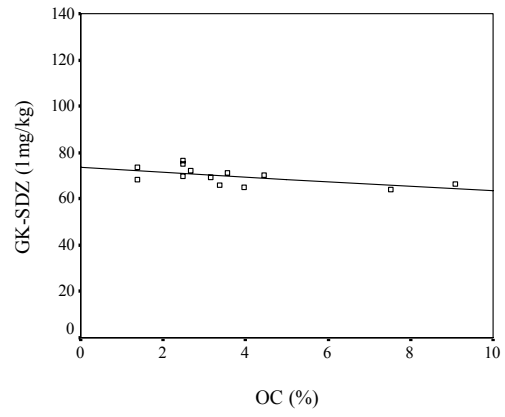
Şekil 4.24 Geri kazanım (SCP, 0.2mg/kg) ile silt ilişkisi



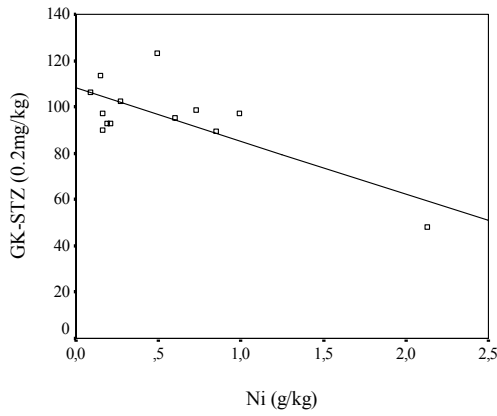
Şekil 4.25 Geri kazanım (SCP, 0.2mg/kg) ile K ilişkisi



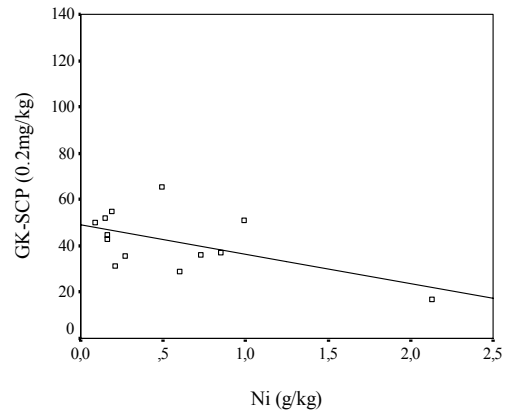
Şekil 4.26 Geri kazanım (SCP, 0.2mg/kg) ile OC ilişkisi



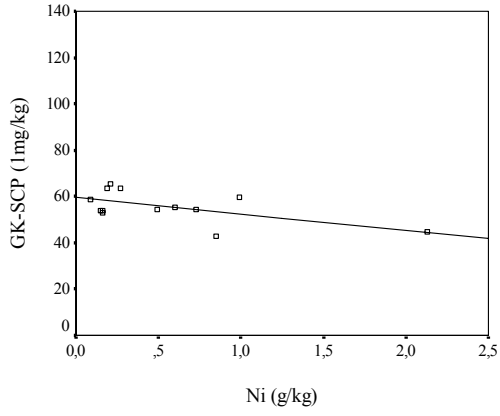
Şekil 4.27 Geri kazanım (SDZ, 0.2mg/kg) ile OC ilişkisi



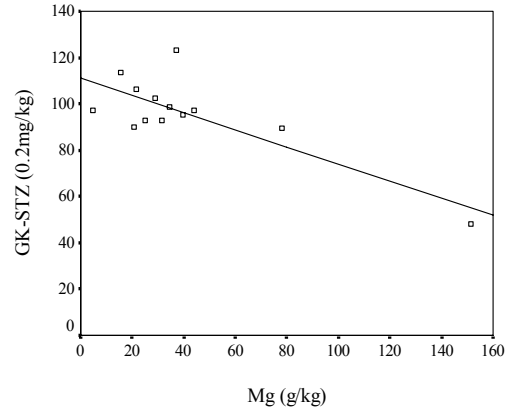
Şekil 4.28 Geri kazanım (STZ, 0.2mg/kg) ile Ni ilişkisi



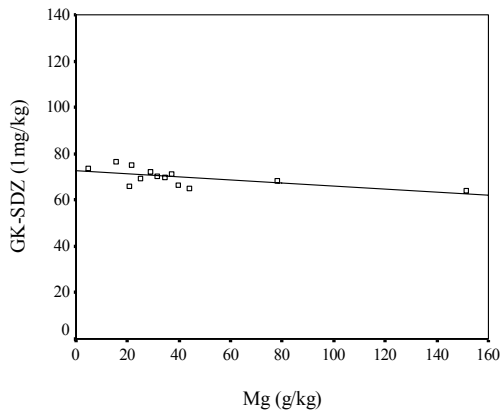
Şekil 4.29 Geri kazanım (SCP, 0.2mg/kg) ile Ni ilişkisi



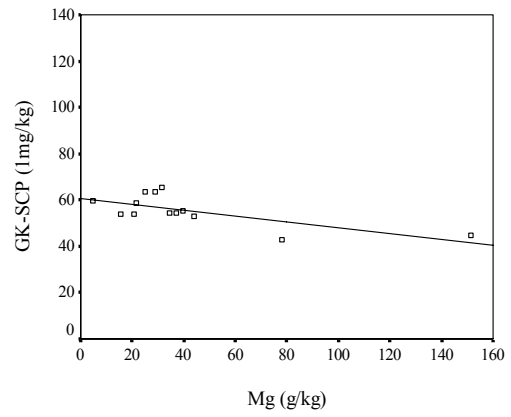
Şekil 4.30 Geri kazanım (SCP, 1mg/kg) ile Ni ilişkisi



Şekil 4.31 Geri kazanım (STZ, 0.2mg/kg) ile Mg ilişkisi



Şekil 4.32 Geri kazanım (SDZ, 1mg/kg) ile Mg ilişkisi



Şekil 4.33 Geri kazanım (SCP, 1mg/kg) ile Mg ilişkisi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hayvan gübresinin tarımda kullanılması toprağı yapısal, kimyasal veya ekolojik yönden etkileyebilir. Gübrenin aşırı ve plansız kullanılması ise çevredeki dengeyi bozabilir. Toprak besin elementlerinin döngüsü, bölgedeki hayvan yetiştiriciliğinin girdilerine bağlıdır. Bu girdileri, besleme rejimi, besin maddeleri, gübrenin depolanması ve uygulanması gibi etmenler belirler. Tarımsal açıdan gerekli temel besin elementlerinin kaynakları hayvansal atıklar (amonyak buharlaşması), bu atıkların depo alanları (P, K ve amonyum sızıntısı), hayvan gübresinin uygulanması (amonyak buharlaşması, N, P, K, Cu, Zn kirliliğı) veya toprak (nitrat ve P'nin zemindeki yapılara sızması)'tır. Genel olarak, toprağın verimini artırmak amacıyla kullanılan hayvan gübresinin miktarı bitkilerin gereksinim duyduğu ve toprağın tutabileceğı düzeylerden fazladır. Fazla miktarda besin elementi (N, K veya fosfatın bazı formları) ve gübrenin ilaç içeriğı suda çözünebilecek yapıda ise kirletici olarak tüm çevreye yayılır. Ancak, durağan yapılı maddeler (tetrasiklin grubu antibiyotikler gibi), toprakta kalır ve toprağın karakteristiğini değıştirir (111).

Antibakteriyel ilaç kirliliğinin belirlenmesi amacıyla geliştirilen yöntemlerin önemli bir kısmı sınırlı sayıda toprak örneğı ile denenmiştir. Hamscher ve arkadaşları (62), sekiz tarım arazisinin tetrasiklin kirliliğini; Blackwell ve arkadaşları (100), ise tınlı kum, kumlu killi tın, kumlu tın ve killi tın bünyeli dört farklı toprağın OTC, SCP ve tilosin içeriğini belirlemek için yöntem geliştirmiştir. Analiz verilerinin doğruluğunu ve güvenilirliğini göstermek amacıyla kullanılan geri kazanım değerlerinin, toprağa güçlü bir şekilde bağlanan OTC gibi bazı ilaçların mineral katyon veya organik madde ile yaptığı kompleksler nedeniyle değışken olabileceğı bildirilmiştir (112).

Antibakteriyel ilaçların ekstraksiyonunda kullanılan kartuşlar toprağın ilaç içeriğinin belirlenmesi bakımından büyük önem taşır. SAX SPE kartuşları, anyon ve katyonlar arasındaki etkileşime bağlı olarak iyon değışimi prensibi ile istenen maddelerin tutunmasını sağlar ve kartuştaki sorbent tarafından tutulan madde miktarı bir kartuşun kapasitesini belirler. Kapasiteye bağlı seçicilik, tutulması istenen madde üzerindeki fonksiyonel grupların kartuştaki sorbentle etkileşimi ile sağlanabilir. Yüksek kapasiteli bir SAX kartuşu (500mg), düşük kapasiteli bir SAX kartuşundan (100mg) beş kat daha fazla madde bağlar. Bu nedenle, bir ekstraksiyon için gerekli sorbent miktarı belirlenirken, analiz edilecek madde dışındaki bileşikler de göz önünde bulundurulmalıdır (113). HLB kartuşunun kapasitesinin artırılmasının da SAX kartuşlarına benzer şekilde olumlu bir etkiye neden olacağı düşünülmektedir.

Bu tezde, hayvan gübresinden kaynaklanan antibakteriyel ilaç kirliliği araştırılmış, yaz mevsiminde değerlendirilen bölgelerin dördünde (E1, E2, K1 ve K2) OTC ve birinde (F1) CTC tespit edilmiştir. E1 ve E2 bölgelerinde kanatlı, K1 ve K2 bölgelerinde sığır, F1 bölgesinde ise karma (sığır ve kanatlı) gübre kullanılmaktadır (Tablo 3.1). Ancak, E1 bölgesinde OTC'nin yüksek miktarda (0.144mg/kg) tespit edilmesi, kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde toplu ilaç kullanımının çevrede önemli düzeyde kirliliğe neden olabileceğini gösterir. Sığır yetiştiriciliğinde, ilaç kullanımı bireysel uygulamalarla sınırlı kalabildiği için arazilerdeki ilaç miktarları nispeten daha düşüktür. Yaz döneminin en dikkat çekici sonucu, gübrelemeden uzun bir süre sonra toprakta yüksek miktarda ilaç tespit edilmesidir. Bu bulgu, OTC'nin önemli miktarda kullanılabildiğini ve tetrasiklin grubu ilaçların çevrede uzun süre kalabildiğini göstermektedir.

Sonbaharda, araştırma kapsamındaki arazilerin %77'sinde ilaç tespit edilirken bu oranın yaz mevsiminde %63 olduğu saptanmıştır. Sonbaharda antibakteriyel ilaç kirliliği tespit edilen 5 bölgede kanatlı, 3 bölgede sığır ve bir bölgede karma gübre kullanıldığı belirlenmiştir (Tablo 3.2). Sığır gübresi kullanılan arazilerdeki OTC miktarı 10µg/kg'ın altında iken, kanatlı gübresinin kullanıldığı arazilerin birinde toprağın ilaç içeriği 100µg/kg'ı aşmaktadır ve birçoğunun ilaç içeriği 10µg/kg'ın üzerindedir. Ayrıca O1 arazisinde 72.83µg/kg düzeyinde CTC tespit edilmiştir. Bu veriler, kanatlı gübresinin ilaç içeriğinin daha yüksek olduğunu ve bu gübrenin antibakteriyel ilaç kirliliğinden büyük oranda sorumlu olabileceğini göstermektedir.

Gübrenin tekrar kullanılmadığı E1, K1 ve K2 arazilerinde ve yaz döneminde CTC tespit edilen F1 arazisinde toprağın ilaç içeriğinde bir azalma saptanmıştır. Ancak, E2 arazisinde toprağın ilaç içeriği yaklaşık 5µg/kg artmıştır. Bu artışı bilinen döngü mekanizmaları ile açıklamak güçtür. Yaz ve sonbahar dönemleri arasında, toprağın tetrasiklin içeriğine göre tahmini azalma oranları (%65-90) yaklaşık olarak aynı süreler için bildirilen (18, 101) miktarlarla (kayboluş süresi, = $DT_{90}>5$ ay) benzerlik göstermektedir.

İlaçların toprağa sorpsiyonu, birçok farklı mekanizma ile gerçekleşir. Bu mekanizmalar, organik maddeye bağlanma, toprakta bulunan mineral oluşumlara yüzey adsorpsiyonu, iyon değişimi, bazı metal iyonlarıyla kompleks oluşturma ve H bağlamadır (114). Gübre, toprakta bazı reaksiyonları kısa süre içinde değiştirmezken, organik madde miktarı ile buna bağlı olarak toprağın katyon ve metal bağlama kapasitesini önemli düzeyde artırır (115). Bu nedenle, azalma oranı arazilerin yapısal özelliklerine (OC, katyon miktarı ve KDK gibi) bağlı olarak değişkenlik gösterebilir.

İlaçların topraktaki miktarında meydana gelen değişikliklerde mikrobiyal faaliyet ve matrisler arası hareketin de önemli bir etkisi vardır. Deney şartlarında ve steril bir ortamda antibakteriyel ilaçların bozunmadığı; su sızıntıları sayesinde topraktan su ortamına ilaç geçişi olduğu saptanmıştır (52, 73). Yağışla birlikte toprakta yüzeysel akıntıların oluşması sonucu gübreye toprağa taşınan OTC ve SCP gibi ilaçlar bu akıntılara geçerek, su ortamındaki miktarları önemli düzeylere ulaşabilir ve sulfonamid gibi ilaçların toprakta tespit edilmesini güçleştirebilir (73). Bu veriler, antibakteriyel ilaçların döngüsünün çok boyutlu olduğunu göstermektedir ve antibakteriyel ilaç içeren arazilerin (E1, E2, E3, K1, K2, F1, F2, T1, T2, İ2 ve O1), yer altı sularının kirlenmesine neden olabileceği ileri sürülebilir.

Bu çalışmada, arazilerden alınan toprak örneklerinde sulfonamid grubu antibakteriyel ilaç tespit edilememiştir. Elde edilen bu sonucun nedeni, sulfonamid grubu ilaçların LOD (45-153µg/kg) ve LOQ (90-307µg/kg) değerlerinin yüksek olması, araştırma bölgelerinde kirlilik kaynağı olabilecek gübreyi üreten hayvanların hiçbirine sulfonamid grubu ilaçlarının uygulanmamış olması veya bu ilaçların çevredeki döngüleri olabilir. Sulfonamidlerin, tetrasiklin grubu antibiyotiklerin aksine topraktaki adsorbsiyonlarının düşük olması nedeniyle çevrede kolayca taşınabildiği ve bu nedenle yer altı veya yüzey sularında 590µg/L'ye ulaşan miktarlarda tespit edildiği bildirilmiştir (13). Ancak bu varsayımlardan geçerli olanı belirlemek güçtür. Çünkü hiçbir bölgede ilaçların tüketim miktarları hakkında güvenilir bir veri elde edilememiştir.

Araştırma kapsamı içindeki arazilerde sulfonamid ve tetrasiklin grubu antibakteriyel ilaçların tespitinde önem taşıyan diğer faktörler, hayvanlara uygulanan ilaçların dozları ve süresi, ana bileşik veya metabolit olarak vücuttan uzaklaştırılma şekli ile çevredeki bozunma sürecidir (114). Yakın zamanda yapılan bir araştırmada (116), 30 domuz gübresinin 22 tanesinde 0.21-29mg/kg arasında OTC, 30 sıvı domuz gübresinin 17 tanesinde 0.1-46mg/kg arasında CTC, 30 kanatlı gübresinin 18 tanesinde 20mg/kg SMZ, kanatlı yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerden alınan 36 örneğin 10 tanesinde 51-91mg/kg arasında SDZ saptanmıştır (39, 82).

Araştırma kapsamındaki toprak örneklerinde sulfonamid bulunamadığı için sulfonamidlerin neden olduğu kirlilikten kaynaklanan risklerin meydana gelme olasılığı düşük olarak kabul edilebilir. Ancak, tetrasiklin grubu ilaçların oluşturduğu kirlilik nedeniyle bazı sorunlar meydana gelebileceği söylenebilir. Gübrenin uygulamasından 4-21 ay sonra yaz döneminde E1, E2, K1, K2 ve F1 arazilerinde tetrasiklin grubu ilaçlara rastlanması, bu ilaçların tüketim miktarlarının yüksek olduğunu, yapıları gereği çevrede

uzun süre kalabildiğini ve bunun sonucunda oluşabilecek sorunların irdelenmesi gerektiğini gösterir.

Gübre, ilaç kalıntılarıyla birlikte dirençli bakteri gruplarının çevreye taşınmasını da sağlar. Dirençli bakteri gruplarını içeren hayvan gübresinin tarım arazilerine uygulanması belirli bir süre toprakta dirençli topluluğun gelişmesine olanak tanıyabilir. Yapılan araştırmalarda, direnç ile ilgili etkin gelişmelerin çoğunlukla gübrelemeyi izleyen ilk haftada gerçekleştiği ve dirençli topluluğun hızla çoğaldığı saptanmış, ancak gübrelemeden yaklaşık 45 gün sonra direnç bakımından ilaç kalıntılarının önemli bir etkisinin görülmediği de bildirilmiştir (92). İlk hafta görülen hızlı direnç gelişiminin nedeni gübrenin yüksek besin maddesi içeriği ile açıklanabilir. Gübredeki uygun şartlar dirençli topluluğun gelişimini sürdürmesini ve neticede direncin yaygınlaşmasını sağlayabilir (92). Gübre ile birlikte taşınan dirençli topluluk, horizontal olarak direncin toprakta bulunan diğer bakterilere aktarılmasına ve hızla çoğalmasına neden olabilir (70). Yapılan araştırmalar, zamanla toprakta bulunan dirençli bakteri sayısında azalmanın görüldüğünü bildirmektedir. Toprağın intestinal bakteriler için uygun bir gelişim alanı olmaması, intestinal bakterilerden toprak bakterilerine horizontal olarak direnç geni aktarılırken, bu aktarımın toprak bakterileri arasında çok az veya hiç gerçekleşmemesine neden olabilmektedir. Direncin varlığını sürdürmesini sağlayan seçici etkinin (antibakteriyel ilaç) toprakta istenilen düzeyde olmaması bu durumun nedeni olabilir. Direnç ile ilgili tüm belirtiler ve etkiler, gübrenin uygulanmasından yaklaşık beş ay sonra tamamen kaybolabilmektedir (92).

Direncin gelişim sürecini, minimum baskılayıcı miktarın (MIC) on kat daha altında olan ve bakteri gelişimi sürecini yavaşlatan minimum etkin miktarın (MEC) tetiklediği, bu nedenle MIC değerinin altındaki ilaç düzeylerinin seçici bir baskı yaratarak direncin gelişmesine katkı sağladığı bildirilmiştir. Bu koşullar altında yaşamını sürdüren ve uyum sağlayan bakterilerin, kazanımlarını (direnç) devam ettirdiği de saptanmıştır (19). Tetrasiklin grubu antibiyotikler iyi veya orta düzeydeki etkilerini $MIC \leq 4 \mu\text{g/ml}$ düzeyinde gösterdiği, dirençli bakteriler için daha yüksek miktarda ($MIC \geq 16 \mu\text{g/ml}$) tetrasiklin kullanılması gerektiği tespit edilmiştir. Genel olarak sulfonamid grubu antibakteriyel ilaçlar için MIC'i belirlemenin güç olduğu bildirilse de $8-32 \mu\text{g/ml}$ 'lik ilaç düzeyinin duyarlılık için kabul edilebilir bir değer olduğu, MIC'in dirençli olgularda artarak $\geq 64-128 \mu\text{g/ml}$ 'ye çıktığı ve bazı olgularda (boşaltım sistemi enfeksiyonları) $\leq 256 \mu\text{g/ml}$ düzeyine ulaştığı belirlenmiştir(53). Bu nedenle, dirençli bakterilerin neden olduğu

enfeksiyon hastalıklarında daha fazla ilaç kullanılması gerekebilir, bunun sonucunda da çevredeki ilaç miktarı artabilir.

Bu veriler ışığında, araştırma kapsamında tespit edilen OTC ve CTC'nin kalıntı miktarının MIC'ten daha düşük olduğu görülür. Bu nedenle, özellikle gübre uygulamasını izleyen ilk 45 günlük süre içinde intestinal floranın parçası olan dirençli bakteriler toprağa taşınabilir ve direnci toprak bakterilerine horizontal olarak aktarabilirler. Ancak bu etki bazı bölgeler için çok daha sınırlıdır. Çünkü bazı arazilerde (sonbaharda incelenen E3, K1, K2, T1 ve İ2) tespit edilen OTC düzeyleri (4.97-9.09µg/kg) direncin gelişimi ve yaygınlaşması için yeterli değildir. Direncin geliştiği OTC miktarının 24.8µg/kg ve klortetsiklin miktarının 9.62µg/kg olduğu bildirilmiştir (70). Bu grup ilaçların yarılanma süresi 18-180 gün (95, 96) olarak kabul edildiğinde, kısa bir süre içinde bakteriler için seçici etki ortadan kalkar ve buna bağlı olarak intestinal kökenli bakteriler hızla yok olur. Ancak, 24µg/kg'ın üzerinde OTC içeren arazilerde (E1, E2, F2, T2 ve O1) dirençli bakterilerin daha uzun süre ortamda bulunabileceği söylenebilir.

Yaz mevsiminde topraktaki ilaç miktarlarının sonbahara göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4.2 ve Tablo 4.3). Bu dönemde ilaç kirliliği tespit edilen tüm araziler, direnç riski taşıyabilir. Gübrenin uygulanmasından uzun bir süre sonra (4-21 ay) toprağın ilaç içeriğinin yüksek bulunması, başlangıçta bu ilaçların daha yüksek derişimde olduğunun göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu nedenle, direnç kolay gelişebilir ve ekolojik sorunlara yol açabilir. Yaz mevsiminde, E1 arazisinde yüksek direnç riski, E2, K1, K2 ve F1 arazilerinde ise direnç gelişimi bakımından şüpheli bir durum olduğu ifade edilebilir.

Direncin sürekliliği bakımından yukarıdaki tahminlerin tersini öngörmek de mümkün olabilir. Çünkü ilaçların seçici baskısı nedeniyle bakterilerin direnci sürdürmeleri için toprakta tespit edilen her düzeyin yeterli olmadığı ileri sürülmektedir (92). Sengelov ve arkadaşları (92), tetrasiklinlere karşı gelişen direncin topraktaki varlığını sürdürmesi için en az 85µg/kg derişimde ortamda ilaç bulunması gerektiğini, aksi halde direnç gelişmediğini saptamıştır. Arazilerin ilaç içerikleri bu miktara göre değerlendirildiğinde direnç riski çok daha sınırlı kalır ve ilaç kalıntı düzeyi 85µg/kg'ın üzerinde olup yaz mevsiminde incelenen E1 ile sonbaharda incelenen T2 arazisinde direnç riskinden söz edilebilir.

Toprağın 1 gramında on binden fazla farklı bakteri türü bulunabilmektedir ve antibakteriyel ilaç kirliliğinin direncin gelişmesine olan katkısı ile ilgili çelişkili sonuçlar

vardır (117). Bu nedenle, toprakta düşük derişimde bulunan (yaklaşık 10µg/kg) ilaç ile direncin varlığı hakkında kesin saptamalar yapmak güçtür.

Antibakteriyel ilaç kirliliğinin neden olduğu sorunlar çok boyutludur. Bu sorunlardan biri de kara canlıları üzerinde meydana gelen toksik etkilerdir (23). Antibakteriyel ilaç kalıntılarının 5-50mg/L derişimde *Daphnia magna* üzerinde kronik üreme faaliyetlerini baskılayıcı etki oluşturduğu, çevrede yaşayan canlıların bu derişimde bir ilaca uzun süre (en az üç hafta) maruz kalması sonucu anaç kuşakta ölümlere neden olabildiği, ancak bakteri veya alg gibi canlıların etkilendiği ilaç derişiminin 5-50mg/L'den daha düşük olduğu bildirilmiştir (23). Bu tezde tüm toprak örneklerinin antibakteriyel ilaç içeriği, 5-50mg/kg'dan çok daha düşük olduğu için kara canlıları üzerinde önemli bir toksik etkinin oluşması beklenemez. Antibakteriyel ilaçların toprakta bulunan mikroorganizmaların fiziksel durumları ve yapıları üzerindeki etkisini gösteren topluluk toleransının (kirliliğin oluşturduğu topluluk toleransı, PICT) ilaç kirliliği sayesinde arttığı, topraktaki OTC miktarı 1.3mg/kg'a ulaştığında PICT'in iki katına çıktığı saptanmıştır (117). Bu verilere göre, sonbaharda alınan toprak örneklerinin hiçbirinde PICT düzeyini artıracak bir riskten söz edilemez. Ancak, yaz dönemi örneklerinin başlangıç antibakteriyel ilaç derişimi PICT bakımından daha önemlidir. Kesin olarak ifade edilememekle birlikte, başlangıçta toprağın ilaç içeriğinin yüksek olduğu tahmin edilebilir ve mikrobiyal toleransın artması için gerekli koşulların oluşabileceği ileri sürülebilir.

OTC'nin DT₅₀<103 ve DT₉₀>152 gün ve insanlar için günlük kabul edilebilir miktarının 30µg/kg olduğu bildirilmiş, domuzların 20mg/kg/gün x 15 gün süreyle tedavi edilmesi ve gübrelerinin tarım arazilerine uygulanması halinde, bu arazilerde yetiştirilen marul ve havuç gibi köklü bitkilere geçebilecek ilaç miktarının sırayla <2.3µg/kg ve <1.4mg/kg olduğu tespit edilmiştir (18). Bu verilere göre, bitki gelişiminin engellenmesi dışında antibakteriyel ilaç kalıntılarının insan sağlığını direkt olarak etkilemesi pek olası görülmemekte, topraktaki ilaç miktarına bağlı olarak bitkilere geçen ilaç miktarının %5-7 olduğu ileri bildirilmektedir (18). Bu tezde, yaz ve sonbaharda hiçbir arazide 150µg/kg'ı aşan miktarda ilaç tespit edilememiştir. Bu nedenle, en yüksek miktarda OTC içeren E1 arazisinde (yaz dönemi) bitkiye geçebilecek ilaç miktarı 10µg/kg'dır. Bitki gövdesinde, ilaç miktarında meydana gelecek azalma ve insanlar için günlük kabul edilebilir limitin 30µg/kg/gün olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bitki tüketimi ile insanlarda toksik bir etkinin meydana gelmesi beklenmemektedir.

Tarım arazilerine uygulanacak gübre, hayvanlar tarafından üretilen gübre miktarına bağlıdır. Ancak temel ilke, büyük tarım arazilerinin az miktarda gübre kullanılarak

gübrelenmesidir. Bir başka deyişle dekar başına dört yerine iki ton gübre uygulanmalıdır (118). Bu verilere ve araştırma kapsamında incelenen arazilere uygulanan gübre miktarına bakılarak, seçilen bölgelerde gübrenin aşırı kullanıldığı söylenemez (Tablo 3.1 ve 3.2). Ancak, K2 arazisinde gübrenin sürekli uygulanması, T1 ve T2 arazilerinde gübrenin yığın halinde ve yaygın bir şekilde arazilerde depolanması, gübrenin olgunlaştırılmadan kullanılabilmesini göstermektedir. Bunun sonucunda karşılaşılabilecek önemli sorunlardan biri gübre ile tarım arazilerine antibakteriyel ilaç taşınmasıdır. Yüksek miktarda (46mg/kg CTC, 29mg/kg OTC, 23 mg/kg tetrasiklin ve 20mg/kg' kadar sulfonamid) antibakteriyel ilaç içeren hayvan gübresinin tarım arazilerine uygulanması sonucunda toprağın antibakteriyel ilaç içeriğinin arttığı görülmüştür (116). Genel olarak incelenen bölgelerde, hakkında kesin bilgi alınabilen arazilere uygulanan gübre miktarı 3 ton/dekardır. Ancak, şeftali üretimi yapılan İ1 arazisinin tamamına 3 ton/dekar hayvan gübresi uygulansa da gübrenin daha çok ağaç diplerine uygulanması nedeniyle, ağaç başına düşen gübre miktarının çok fazla olduğu gözlemlenmiştir. Gübre kullanım miktarları bakımından bölgeler arasında anlamlı bir fark gözlenmediği halde gübrelemeden sonra geçen süreler farklıdır. Yaz mevsimi örneklemelerine (Haziran 2006) en yakın gübreleme tarihi Ocak 2006 ve en uzak Ağustos 2004'tür. Örneklem tarihi esas alınarak gübreleme sonrası geçen süre 4–21 aydır. Sonbaharda, toprak örnekleri gübrelemeyi izleyen ilk birkaç hafta içinde alınmıştır.

Gübrenin olgunlaştırılmasına bağlı olarak su içeriğinde azalma, NH_4^+ miktarının azalmasına bağlı olarak N miktarında bir artış meydana geldiği, ayrıca pH'nın önemli ölçüde azaldığı ve asiditenin zamanla arttığı, karbon miktarında aşamalı bir azalmanın, KDK'da ise aşamalı olarak önemli düzeyde bir artışın meydana geldiği, P ve K miktarlarının olgunlaştırma döneminde artan diğer parametreler olduğu bildirilmiştir (119). Gübreleme sonrası geçen sürenin iki dönem için farklı olması nedeniyle aynı araziye ait toprak örneklerinin karakteristik yapısı değişkenlik gösterir (Tablo 4.8 ve Tablo 4.9). Gübrelemeye bağlı olarak özellikle toprağın OC, Toplam N, Toplam P, Na içeriği ve KDK'sında belirgin değişiklikler meydana gelmiştir (Tablo 4.13). Gübrenin uzun süre kullanıldığı arazilerde toprakta yapısal olarak meydana gelen değişimler daha belirgin olduğu ve toprakta N, P, KDK ile OC miktarlarının artabildiği bildirilmiştir (120-124). Hayvan gübresinin, sentetik gübreye göre toprağın OC miktarını %40 daha fazla artırdığı, Ca, Mg ve K gibi bazı katyonların miktarlarında da önemli artışlar meydana geldiği, gübrenin uygulanmasından kısa bir süre sonra pH'da bir azalma ve daha sonraki dönemlerde artış görüldüğü, ancak ağır metal miktarlarının önemli ölçüde

değişmeyebildiği, gübrenin ilk kez veya uzun bir aradan sonra uygulandığı arazilerin yapısında meydana gelen değişikliklerin, gübrenin periyodik olarak uygulandığı arazilere göre daha önemsiz olduğu belirtilmektedir (120, 124).

Sonbaharda tarım arazilerinin gübrenmesi sonucu OC miktarı Peu ve arkadaşlarının (123) bildirdiği değerlerle orantılı olarak yüksek bulunmuştur. Yaz ve sonbahar dönemleri arasında pH'da anlamlı bir değişiklik saptanmamış, ancak sonbahar değerlerinin bir miktar yüksek olduğu görülmüştür. pH artarken KDK'nın azaldığı ve toprağın N, Na ve Fe içeriğindeki artışla bu azalmanın ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ancak KDK'daki azalmanın asıl nedeninin pH'daki artış olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu alanda yapılan araştırmaların (55, 125) sonucunda, gübreleme sonrası ilk birkaç hafta içinde KDK'nın artmasının beklenmediği, ancak organik kolloidlerin çoğalmasına neden olan organik madde miktarına bağlı olarak artacağı bildirilmiş, organik maddenin mineralize olması sonucu ise KDK'nın yeniden azalabildiği saptanmıştır (115). Bu nedenlerle, iki dönem arasında geçen sürede KDK'nın azaldığı, sonbaharda gübreye bağlı olarak henüz önemli bir artışın meydana gelmediği düşünülmektedir.

İki dönem arasında arazilerin N ve P miktarları istatistiksel olarak anlamlı değişkenlik gösterir. Sonbaharda N ve P miktarı, gübreye bağlı olarak çok yüksektir. Periyodik olarak her yıl gübrelenen arazilerde ($986\text{m}^3/\text{ha}$) OC miktarı %50 ve N miktarı %60 oranında arttığı bildirilmiştir (123). Ancak, sunulan çalışmada sonbaharda arazilerin N ve P miktarı yaz dönemine göre çok yüksek bulunmuş ve dönemsel farkın %60'ın çok üzerinde olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni ağaçların bireysel olarak gübrenmesi olabilir. Bireysel gübre uygulamalarında (12-100kg/ağaç) ağaç başına düşen N miktarının 38-608g ve P miktarının 16-130g'a ulaşabildiği, kanatlı gübresi kullanılan arazilerdeki N miktarının, 14.5 ile 40.8g/kg arasında değişebildiği bildirilmiştir (122, 126). Bu verilere benzer şekilde, kanatlı gübresinin kullanıldığı İ1 arazisindeki P miktarı (73.42g/kg) çok yüksek bulunmuştur. Toprağın tüm karakteristik özelliklerinin birbirleriyle ilişkileri Tablo 4.14'de verilmiştir.

Nem, toprağın yapısı (agregasyon) ve bünyesine bağlı olarak arttığı, agregasyon ve gözeneklerin, toprakta daha fazla su tutulmasına neden olduğu, yüzeysel akıntıların azaldığı ve suyun daha derin katmanlara doğru hareket ettiği bildirilmiş, agregasyonun, toprağın mineral kompozisyonu, bünye, organik karbon, mikrobiyal faaliyet, değiştirilebilir iyonlar ve besin elementi rezervi gibi toprağın yapısal özelliklerinin etkileşimine bağlı olduğu belirlenmiştir (127). Sonbaharda nem miktarının artmasının nedeni meteorolojik koşullar ve/veya daha önce belirtilen (OC miktarının artması gibi) yapısal değişimlerdir.

İlaçların kullanılma yolu, bu ilaçların kendileri veya metabolitlerinin vücuttan uzaklaştırılma yolunu belirleyen önemli bir faktördür. Oral yolla kullanılan OTC'nin büyük ölçüde dışkı aracılığıyla vücuttan uzaklaştırıldığı, ancak sindirim kanalında Ca iyonlarının yüksek miktarda bulunması halinde bu iyonlarla kompleks yapabildiği ve sindirim kanalından emiliminin azalarak değişime uğramadan daha yüksek miktarda vücuttan uzaklaştırıldığı saptanmıştır. Bu nedenle ilacın altlıkta yüksek miktarda bulunduğu, ancak kısa süre içinde bozunma nedeniyle miktarının önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (15). İlaç dış ortama çıkarıldıktan veya çevreye ulaştıktan sonra adsorpsiyona bağlı olarak bozunma hızının yavaşladığı bildirilmiştir(15, 128). OTC'nin gübrenin katmanlarındaki miktarları bazı etmenlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Yüzey katmanlarında meydana gelen evaporasyon, orta katmandaki yüksek sıcaklık ve yoğun mikrobik faaliyete bağlı olarak artan bozunma ve yüzeyden derin katmanlara doğru meydana gelen sızıntılar bu etmenler arasında gösterilmektedir (15).

Genel olarak, tetrasiklinlerin sorpsiyonunu, ortamda bulunan organik ve mineral madde ile humik asit miktarı, iyon değişimi (KDK) ile Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} veya Al^{3+} gibi metallere yapılan kompleksler etkiler. Bu nedenle, tetrasiklin grubu ilaçların toprağa güçlü bir şekilde bağlanmasını sağlayan en önemli unsur çok değerli metal iyonlarıyla yaptığı kompleks yapılarıdır. Toprakta bu iyonların gübreye göre daha fazla miktarda bulunması ve iyonların gübre parçacıklarıyla etkileşiminin daha zayıf olması nedeniyle tetrasiklin grubu ilaçlar, toprağa gübreden daha sıkı bir şekilde bağlanırlar (31, 112, 128, 129). İstatistiksel sonuçlara göre (Tablo 4.14) OTC geri kazanım düzeylerini etkileyen faktörler, KDK, N, OC ve Na'dır. KDK'nın artması OTC geri kazanımlarının azalmasına (Şekil 4.12 ve 4.13) neden olur. Ancak, N, OC ve Na miktarının yüksek olduğu arazilerden alınan toprak örneklerinin geri kazanımları daha yüksektir (Şekil 4.14-4.17). Tetrasiklinlerin, üç değerlikli bileşikler (Fe^{+3} gibi) ile çözülmüş kompleks yapılar arasındaki dağılımını ortamda bulunan organik madde, bağlayıcı grup ve ilacın miktarı belirler, ortamda kompleks bir yapının oluşması ilacın hareketini ve tespit edilmesini olumsuz olarak etkiler (128). Yüksek sorpsiyon özelliği olan OTC, akışkan niteliği olan çözünmemiş yapıdaki OC ve koloidal maddelerle birlikte matris içi veya matrisler arası hareket etmez. OTC'in sorpsiyon davranışını etkileyen önemli unsurlardan biri ortamın pH'dır. pH'nın yükselmesiyle birlikte, tetrasiklinler daha hareketli hale gelir ve sorpsiyon azalır. Sıvı gübrenin tarım arazilerine uygulanmasından haftalar sonra, topraktaki suyun pH değeri önemli düzeyde artar. pH değerindeki artış miktarı yarım ünite (1/2) düzeyindedir ve bu değişim özellikle toprağın ilk 10cm'lik bölümünde gerçekleşir. Bu

olgu, toprağın yüzey katmanıyla etkileşen antibakteriyel ilaçların çevredeki döngüleri bakımından önemlidir (73). Tetrasiklin grubu ilaçlar, genel olarak çevrenin pH değerlerinde pozitif olarak yüklenir ve katyonik yapı pH 5.5 düzeyine kadar korunur. pH 7.5'in üzerindeki değerlerde ise negatif olarak yüklenirler. Tetrasiklinlerin pozitif olarak yüklendiği düşük pH değerlerinde en önemli sorpsiyon mekanizması katyon değişimidir. Ancak, tetrasiklinlerin pozitif ve negatif yüklenmesi durumunda iyonik yapılarına bağlı olarak toprağın anyon veya katyon değişiminin baskın olduğu bölümlerine ilgi gösterirler (79). Yüksek pH'da (>pH 9) katyon değişiminden çok, OTC ile metallerin yaptığı kompleksler önemlidir. Çünkü, OTC molekülü dimetil amin grubunda proton kaybettiği için katyon değişimi gerçekleşmez. Ancak, OTC'nin metallerle yaptığı kompleksler, katyon değişiminin baskın olduğu pH 5.5'de organik maddenin bağlayıcı grupları ile etkileşebilmektedir (bu etkileşim pH 8'de baskındır) (128). Bu verilere göre, ortamda OC miktarı arttıkça OTC geri kazanımının azalması gerekir. Oysa tez bulguları bunun tam tersidir. Bunun nedeni, toprak örneklerinin pH değerlerinde (Şekil 4.5) katyon değişiminin baskın olmasıdır.

Sonuç olarak, tetrasiklin grubu ilaçların topraktaki sorpsiyon davranışını etkileyen çok sayıda faktör olsa da, baskın olan etmenlerin pH ve KDK olduğu ile sürülmektedir (79). Yaz mevsiminde incelenen F2 arazisinin pH'sı (pH 5.27) dışında 5.5'in altında bir pH değeri tespit edilememiştir. Elde edilen pH değerlerinin en yüksek olanı (7.31) 7.5'in altındadır. Bu nedenle, incelenen bölgelerin pH değerleri çevre pH değer aralığı sınırları içinde kalır ve bu ilaçların pozitif yüklenerek katyon değişimine ilgi göstermelerine neden olur. KDK'nın artmasına bağlı olarak OTC geri kazanımlarının azalması, diğer araştırma sonuçlarıyla (73, 79) paraleldir. Bu nedenle, elde edilen verilere dayanarak tetrasiklinlerin topraktaki varlığını ve davranışını etkileyen en önemli unsurun KDK olduğu, buna bağlı olarak tetrasiklin grubu ilaçların tespitinin güçleştiği söylenebilir. Yüksek KDK değerlerinde OTC için daha düşük geri kazanım değerlerinin elde edildiği Şekil 4.12 ve 4.13'de gösterilmiştir.

Tetrasiklin grubu bir ilaç olması nedeniyle OTC'nin çevrede bulunuşunu ve davranışı etkileyen faktörler CTC'nin döngüsünü de etkiler. Bu nedenle, yapılan araştırmalarda (70, 79) her bir faktörün etkisini iki ilaç için birlikte değerlendirilmiştir. Yaz mevsiminde CTC için 0.2mg/kg kirlilik düzeyinde elde edilen geri kazanımlar, 1mg/kg kirlilik düzeyinde edilen değerlerden (Tablo 4.2) daha yüksek olup bu yönüyle OTC değerlerinden ayrılır. Ayrıca, elde edilen geri kazanımlar genel olarak OTC değerlerinden daha yüksektir. Benzer şekilde Hamscher ve arkadaşları (62), CTC için düşük kirlilik

(5µg/kg) düzeyinde daha yüksek geri kazanım (%76) elde etmiştir. OTC’de olduğu gibi CTC’in geri kazanımlarını değerlerine etkileyen faktörler, OC, KDK, N ve P’dir (Şekil 4.18-4.21). Aralarındaki tek fark, OTC ile P’nin, klortetrasiklin ile Na’nın herhangi bir ilişkisinin tespit edilememiş olmasıdır.

Tetrasiklin grubu ilaçların bozunma hızlarının düşük olması ve toprağa güçlü bir şekilde bağlanması nedeniyle çevredeki yarılanma ömürleri (bazı topraklarda 5 ay) ve bu nedenle kayboluş süreleri çok uzundur. Miktarlarındaki azalma, sadece çevredeki bozunmanın bir etkisi değil, yüzey akıntıları nedeniyle meydana gelen sızıntılardır (70). Bu verilere dayanarak, CTC’nin çevre pH değerlerinde katyon değişimine ilgi duyması ve bu nedenle toprak bileşenlerine güçlü bir şekilde bağlanması beklenir. KDK ile her iki kirlilik düzeyi için elde edilen geri kazanım değerleri arasındaki anlamlı ilişki (Tablo 4.14) bu görüşü desteklemektedir. Genel olarak yüksek KDK değerlerinde CTC için daha düşük geri kazanımların elde edildiği Şekil 4.22 ve 4.23’de gösterilmiştir.

Tetrasiklin grubu ilaçlar, ışıktan kolaylıkla etkilenen maddelerdir. Bu etkiye bağlı olarak 4-epitetrasiklin, anhidrotetrasikline ve epianhidrotetrasikline dönüşürler (130). Toprağa güçlü bir şekilde bağlandıkları için tetrasiklin grubu antibakteriyel ilaçların toprağa bağlanma oranları %95–99 düzeyindedir. Bu nedenle, OTC’nin K_d değeri çok yüksek olup kumlu bünyeli topraklar için 414 ile 1029ml/g arasında değişir. Sulfonamidlerden farklı olarak tetrasiklin grubu ilaçların su sızıntılarında tespit edilememesinin veya miktarlarının çok düşük olmasının nedeni toprak bileşenleriyle etkileşmesidir. Tüm bileşiklerin, yapılarına bağlı olarak toprakla olan etkileşimleri bir birlerinden farklıdır ve bu nedenle topraktaki davranışları bezerlik göstermez. İlacın çevredeki davranışı, sorpsiyonu, ilacın buzunmasına ve ortamda bulunan diğer bileşiklere bağlıdır. Bu veriler, topraktaki ilaç kirliliğinin risk değerlendirme sürecinde, sorpsiyon karakteristiğinin, stabilitenin, matriste kalış süresinin, bozunmaya etkileyen tüm çevresel faktörlerin dikkate alınması gerektiğine işaret eder. Ancak, bu faktörler tetrasiklin grubu ilaçların antibakteriyel etkinliklerinin azalmasına neden olmaz ve bakteriler üzerindeki baskılayıcı etki oluşturmaya devam ederler. Toprağa güçlü bir şekilde bağlanan ilaçlar bakteriler üzerinde, daha az bağlanan ilaçlardan daha fazla etki meydana getirebilirler. Dinamik koşullarda, topraktaki ajitasyona bağlı olarak, killi yapıdan tetrasiklin desorpsiyonu (salınması) olur ve statik koşullarda bakteriler daha fazla baskılanır. Çünkü ajitasyon, bakteri ile ilaç arasında etkileşimi artırır. Genel olarak, 500µg/ml düzeyindeki tetrasiklin grubu bir ilacın bakteri topluluğunda meydana getirdiği azalma %50 civarındadır (31, 94).

Sulfonamid grubu ilaçlar sonbaharda değerlendirilebildiği için mevsimsel veya tarımsal faaliyetlere bağlı değişimleri değerlendirmek mümkün olamamıştır. Ancak, her parametrenin sulfonamid grubu ilaçların geri kazanım düzeylerine etkisi istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve silt, OC, K, Mg ve Ni miktarının yüksek olmasına bağlı olarak sulfonamidlerin geri kazanımları düşük düzeyde tespit edilmiştir (Şekil 4.24-4.33).

Sulfonamid grubu ilaçların en sık kullanılan üyelerinden biri olan SCP'in topraktaki sorpsiyon katsayısının (K_d) çok düşük (0.9–1.81L/kg) olması nedeniyle bu ilaç toprakta kolay taşınır, kısa bir süre içinde yüzey sularına ulaşabilir ve buradan zemin sularına sızabilir (13). Ayrıca, SCPin kayboluş süresi ($DT_{50}=3.5$ ve $DT_{90}=18.9$ gün) OTC'nin kayboluş süresinden ($DT_{50}=21$ ve $DT_{90}=98.3$ gün) çok daha kısadır. Toprağa güçlü bir şekilde bağlanmadığı için tetrasiklin grubu ilaçlara göre sulfonamid grubu ilaçların suları kirletme olasılığı daha yüksektir. Yüzey akıntılarında tespit edilen ilaç düzeylerinin farklı olması (OTC maksimum düzeyi 0.9µg/L ve SCPin düzeyi 25.9µg/L) bu olasılığı destekler niteliktedir. Genel olarak, tetrasiklin grubu ilaçların yüzey ve zemin suları için düşük, toprak için yüksek potansiyelli bir kirlilik; sulfonamidlerin yüzey ve zemin suları için orta, toprak için düşük potansiyelli bir kirlilik oluşturabileceği ifade edilmektedir (101).

Sulfonamid grubu ilaçların toprağa bağlanması, sulfonil-fenil-amin halkasına bağlanan fonksiyonel grupların elektronegatif ve aromatisite niteliği sayesinde artar. Bu ilaçların toprağın bileşenlerine karşı gösterdiği ilgi, kaba silt>tüm toprak>orta büyüklükte silt>kum>kil>küçük parçalı silt şeklinde sıralanabilir. Ancak bu ilaçların toprağın bileşenlerine karşı gösterdiği ilginin en önemli belirleyicisi pH değeridir (82). Çevre pH değerleri dikkate alındığında bu ilaçların matris içi veya matrisler arası taşınmalarının pH değerlerindeki değişimlerden etkilenmediği görülmektedir (73). Bir başka deyişle sulfonamidlerin sorpsiyon davranışı çok daha düşük pH değerlerinden (pH 4) etkilenir, pH değerinin düşmeye başlamasıyla K_d değeri artar, kilde bulunan ve toprağın önemli katyon bağlayıcı unsuru olan mineral maddelere (illite ve montmorillonite gibi filosilikat kil minerallerine) tutunurlar (131). Sulfonamid grubu bir ilaç olan sulfadimetoksinin bozunma düzeyi toprağa uygulanan gübre ve nem miktarına bağlı olarak artar. Gübrenin depo süresinin uzamasına bağlı olarak ilaç, normalde ilgi duymadığı matrislere doğru hareket eder ve bağlayıcı yapılara tutunarak sorpsiyonun güçlenmesine ve bağlı haldeki ilaç miktarının yükselmesine neden olur. Depo süresinin uzun ve gübre miktarının fazla olmasının diğer bir etkisi mikroorganizma faaliyetlerinin yoğunlaşmasıdır. Yoğun mikrobiyal faaliyet, gübrede bulunan ilaçların bozunma sürelerine olumlu yönde etkiler.

Ancak sorpsiyonun güçlenmesi gübre uygulamasına bağlı olarak kirletici niteliği olan ilaçların çevreye yayılmasını kolaylaştırmaktadır (132).

Araştırma kapsamında değerlendirilen hiçbir bölgede sulfonamid sorpsiyonunu arttıracak kadar düşük pH değerleri bulunmadığı için bu ilaçların toprağa bağlanmalarından bahsedilemez. Bu nedenle SMZ dışındaki sulfonamidler için yüksek geri kazanımlar belirlenmiştir. Ayrıca, Thiele-Bruhn ve arkadaşlarının (82) bildirdiği sonuçlara paralel bir şekilde silt miktarındaki artmaya bağlı olarak düşük kirlilik düzeyinde bazı sulfonamidlerin (STZ ve SCP) geri kazanımlarının azalmıştır. SMZ geri kazanımlarının diğer sulfonamid grubu ilaçlara göre daha düşük olmasının nedeni ekstraksiyon yöntemi olabilir.

Sulfonamid grubu antibakteriyel ilaçlar bakımından daha önce sıralanan etmenlerin dışında, miktarlarında meydana gelen azalmanın önemli belirleyicilerinden biri ortamın yapısıdır. Oksijenli ortamda, sulfonamid miktarında oluşan %5.3–5.9 civarındaki bir azalma, antibakteriyel etkinliğe %30–34 bir azalma şeklinde yansır. Evsel atık sularda, azalma bir miktar daha fazladır (kalan ilaç miktarı %71.8) ve antibakteriyel etki %42.5 oranında azalır. Oksijenli bir ortamda, SDZ miktarı çok az değişir (%98.3-99.1), ancak antibakteriyel etkinliği önemli düzeyde (%43.3–61.9) azalır. Genel olarak, sulfonamid grubu ilaçların bakteriler üzerindeki baskılayıcı etkileri hem oksijenli hem de oksijensiz şartlarda azalır. Ancak, ortamın yapısı OTC'nin etkilerini önemli ölçüde değiştirmediği belirtilmektedir (133).

Yoğun hayvancılığın yapıldığı bölgelerde hayvanların çıkartım ürünleri tarımda yaygın olarak kullanılır. Bu tezde incelenen tarım arazilerinin küçük bir bölümü dışında, kullanılan gübre miktarının yeterli olduğu, ancak genel olarak plansız bir uygulamanın varlığından söz edilebilir. Hayvan gübresi, N ve P gibi bitki besin elementlerinin topraktaki miktarlarının artmasına neden olurken, ilaç ile Cu, Zn ve kadmiyum (Cd) gibi fitotoksik metallere kaynaklanan kirliliğe neden olabilir, Ca ve Mg gibi kationların topraktaki miktarı artabilmektedir (111, 125). Hayvansal verimin artırılması amacıyla hayvan diyetlerine metal ilave edilmesi sonucu Zn, Cu, Cr, Cd ve arsenik (As) gibi toksik etkili ağır metallere topraktaki içeriği yükselir. Toprağın metal bağlama kapasitesi, tuz miktarı ve pH ağır metallere toksik etkinliğini değiştirmemektedir (134). Toprağın metal içeriğinin neden olduğu diğer sorun, bazı ilaçları (tetrasiklin grubu antibiyotikler) adsorbe etmeleridir (31, 112, 129). Hayvan gübresiyle birlikte çevreye taşınan bu öğelerin her biri bağımsız olarak çevrede sorunlara neden olurken, bazıları birbirlerinin etki karakterlerini değiştirir. Bu etkileşime en iyi örnek tetrasiklin grubu ilaçların çok değerli metallere

oluşturduğu kompleks yapılar ve bunun sonucunda toprağa daha güçlü bir şekilde bağlanmalarıdır.

Genel olarak, ilaçların çevrede bulunuşunu etkileyen birçok faktör olsa da, ilaç etkinliğinin değerlendirilmesi ve döngülerinin izlenebilirliği bakımından baskın olan etmenlerin belirlenmesi gerekir. Böylece, ilacın ekolojik risklerinin yorumlanması kolaylaşır. Bu tezin sonuçlarına göre, çevrede diğer faktörlerden etkilenimleri ve kullanılan miktarları bakımından en önemli antibakteriyel ilaç grubu tetrasiklinlerdir. Yoğun hayvancılık faaliyetlerine bağlı olarak bu ilaçların gübre gibi hayvansal atıklarındaki düzeyleri yüksektir. Bu ilaçları içeren hayvan gübresinin toprak verimini artırmak amacıyla kullanılması, tetrasiklin grubu ilaçların çevreye taşınmasına neden olabilmektedir. İlaç, gübre ve toprağa bağlı yapısal özellikler antibakteriyel ilaçların çevredeki davranışını belirler. Ancak, temel parametrelerin çevredeki ilaçlar üzerindeki etkilerini değerlendirmek, her bir parametrenin birbirleriyle olan etkileşiminden dolayı karmaşık bir olgudur. pH değerinde meydana gelen değişimlerin KDK düzeyini etkilemesi, KDK'nın ise tetrasiklin grubu ilaçların topraktaki sorpsiyon davranışından sorumlu etkin bir parametre olması, çevredeki sürecin değerlendirilmesinin ne denli zor olduğunun kanıtıdır. Ayrıca, çevredeki genel pH değerlerinin aşılması durumunda, pH ikincil bir parametre olmaktan çıkar ve tetrasiklin gibi antibiyotiklerin çevredeki döngüsünden direkt sorumlu bir etmen haline gelebilir. Aynı olasılık, sulfonamid grubu ilaçlar için de geçerlidir. Çünkü pH 4'ün alındaki değerlerde sulfonamid grubu ilaçların toprağa sorpsiyonları artar ve durağan hale gelerek toprak bileşenlerine tutunurlar. Bu veriler, ilaçların çevre döngüsündeki değişkenliğin boyutunu anlamaya yardımcı olur. Bu nedenle, antibakteriyel ilaçların çevredeki miktarlarını araştırırken, bu maddelerin çevredeki varlığını etkileyebilen unsurların incelenmesi risk değerlendirme süreci bakımından yarar sağlar. Antibakteriyel ilaçların risk değerlendirmesinde temel soru veya başlama noktası, risk oluşturabileceğine karar verilen maddenin hedef matristeki düzeyinin belirlenmesidir. Ancak, bir maddenin çevrede belirli düzeylerde tespit edilmesi kesin olarak sorunun varlığına işaret etmez. İlgili maddenin diğer etmenlere (KDK ve pH gibi) bağlı olarak çevrede kalış süresi, etkilenen canlıların zararlı madde ile karşılaşma olasılığı ve maruz kalma süresi, sorunun tanımlanmasının esasını oluşturur. Bu bakımından, yaz ve sonbaharda özellikle tetrasiklin grubu (OTC ve CTC) ilaçların çevre pH değerlerinde en çok KDK'ye bağlı olarak toprağa bağlandığı ve bu nedenle uzun süreli sorunlara neden olabileceği öngörülebilir. Özellikle yaz mevsiminde gübrelemeden uzun bir süre sonra önemli düzeyde OTC ve CTC tespit edilmesi, başlangıç aşamasında çok ciddi bir etkinin

oluşabileceğine işaret eder. Çünkü gübre ile birlikte çevreye yayılan intestinal floranın dirençli olması, aynı kaynakla çevreye taşınan ilaçların seçici etkisi altında direncin varlığını sürdürmesi ve bunun yaygınlaşması anlamına gelebilir.

Direnç bakımından, birbirleriyle çelişen bir takım veriler olsa da, çevrede antibakteriyel ilaç kalıntılarının bulunması, direncin göz ardı edilmemesi gereken bir sorun olduğuna işaret eder. Bu durumda, sorunlu bölgede dirençli bakterilerin neden olabileceği enfeksiyon hastalıklarının tedavisi güçleşebilir, dirençli zoonoz mikroorganizmaların direnci insanlara taşıma olasılığı belirebilir ve bu durum ilaç gereksinimlerini arttırabilir. Bu döngünün her aşaması, birbirini olumsuz yönde etkileyebilir ve böylece sonuçlar geri dönülemez bir hale (dirençli etmenlerin neden olduğu epidemiler) gelebilir.

Sonuç olarak;

- Hedef bölgelerde hayvan gübresi, bitki besin elementlerinin temin edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle, toprak verimliliği için gerekli ve çevre için zararlı olabilen bileşikler (ilaç ve metal gibi) hayvan gübresiyle çevreye taşınabilir.
- Araştırma kapsamında, 13 bölgenin 11 tanesinde antibakteriyel ilaç kirliliği tespit edilmiştir. Bu sonuç, hedef bölgelerin %84.6'sında ilaç kirliliği oluştuğunu gösterir. Bu sonuca göre, OTC (%80) ve CTC'nin (%20) yaygın olarak kullanıldığı söylenebilir.
- Gübrenin kullanılmasından uzun bir süre sonra toprakta ilaç tespit edilebilmesi, ilaç tüketim miktarının yüksek ve/veya ilaçların çevrede kalıcı ve birikici olabileceğini gösterir. Bu yönüyle tetrasiklin grubu ilaçlar, dikkatle değerlendirilmelidir.
- Kanatlı hayvan gübresi kullanılan bölgelerin ilaç içeriğinin diğerlerine göre daha yüksek olması, kanatlılarda ilaç kullanımının daha yaygın olduğunun bir göstergesi olarak sunulabilir. Bu nedenle, incelenen bölgelerde kanatlı hayvan gübresinin önemli bir kirlilik kaynağı olduğu ileri sürülebilir.
- Sulfonamid grubu ilaçların neden olduğu bir ilaç kirliliğine rastlanamamıştır. LOD ve LOQ düzeylerinin yüksek olması, araştırma bölgelerinde hayvanlarda sulfonamid grubu ilaçların kullanılmamış olması veya ilaçların çevrede kolayca taşınabilmeleri sulfonamid kirliliğinin saptanamamış olmasının nedenleri arasında sayılabilir. Bu nedenle, sulfonamid grubu ilaçların gübre veya su ortamında da araştırılması gerekebilir.

- Araştırma kapsamında tespit edilen ilaçlar, vücutta antibiyotikten kaynaklanan seçici baskının toprakta da sürmesine ve böylece direncin çevredeki varlığını korumasına neden olabilecek düzeydedir. Böylece intestinal bakteriler, sahip oldukları direnci diğer bakterilere aktarabilir. Ancak, bu boyutta bir sorunun yaşanabileceği bölge sayısı azdır.
- Yaz ve sonbaharda antibakteriyel ilaçların tespit edilen düzeylerinin maksimum 100-150µg/kg arasında olması, bu ilaçlardan kaynaklanabilecek toksik bir etkinin şekillenme olasılığının düşük olduğunu gösterir. Bu nedenle, insan, hayvan, bitki ve diğer canlılar üzerinde, bu miktarlarda ilaçtan kaynaklanan bir toksik etki oluşması beklenmemektedir.
- Yaz dönemi ile kıyaslandığında sonbaharda gübrenin uygulanmasına bağlı olarak OC, toplam N, toplam P ve Na miktarı artarken KDK'nın azaldığı saptanmıştır.
- KDK, OC, Na, N ve P gibi faktörler tetrasiklin grubu ilaçların çevredeki varlığını etkiler. Çevre pH'sında KDK, tetrasiklinin grubu ilaçların toprağa bağlanmasına neden olan en baskın mekanizmadır. Ancak, araştırma bulgularına göre KDK dışındaki faktörlerin önemli bir etkisinden söz etmek güçtür.
- Tekstürel yapı, OC, K, Mg ve Ni gibi faktörler, sulfonamid grubu ilaçların çevredeki varlığını etkiler. Ancak bu etkinin boyutu çok sınırlıdır, çünkü çevre pH değerlerinde önemli bir sorpsiyonun oluşması beklenmez.

Bu tezle, veteriner hekimliğinde kullanılan antibakteriyel ilaçların hayvan gübresi aracılığıyla başta toprak olmak üzere yaygın bir çevre kirliliğine neden olabileceği saptanmıştır. Antibakteriyel ilaçların çevredeki kalıcılığını etkileyen faktörler değerlendirilerek bu konuda yapılacak diğer araştırmalara kaynak teşkil edecek verilere ulaşılmış ve antibakteriyel ilaç kirliliğinin toplum sağlığı ile çevredeki canlılar için oluşturabileceği riskler irdelenmiştir. Analizler sonucunda, canlılarda toksik etki oluşturacak miktarlarda ilaç saptanmamakla birlikte tarım arazilerinin bir kısmında belirlenen ilaçların bakteri direncinin gelişmesi için yeterli miktarda olabileceği kanısına varılmıştır.

6. EKLER

EK 1

Tüm verilerin ilişkilerinin İki Değişkenli Karşılaştırma Testi ile değerlendirilmesi

		Kil	Silt	Kum	OC	pH	KDK
Kil	Pearson Correlation	1,000	-,347	-,958**	-,192	-,582**	,278**
	Sig. (2-tailed)	,	,124	,000	,405	,006	,222
Silt	Pearson Correlation	-,347	1,000	,083	,231	,349	-,052
	Sig. (2-tailed)	,124	,	,722	,314	,121	,823
Kum	Pearson Correlation	-,958**	,083	1,000	,180	,528*	-,270
	Sig. (2-tailed)	,000	,722	,	,435	,014	,236
OC	Pearson Correlation	-,192	,231	,180	1,000	-,015	-,260
	Sig. (2-tailed)	,405	,314	,435	,	,949	,255
pH	Pearson Correlation	-,582**	,349	,528*	-,015	1,000	-,555**
	Sig. (2-tailed)	,006	,121	,014	,949	,	,009
KDK	Pearson Correlation	,278	-,052	-,270	-,260	-,555**	1,000
	Sig. (2-tailed)	,222	,823	,236	,255	,009	,
N	Pearson Correlation	-,122	,210	,097	,895**	,111	-,461*
	Sig. (2-tailed)	,600	,362	,675	,000	,632	,036
P	Pearson Correlation	-,340	,063	,377	,802**	-,042	-,233
	Sig. (2-tailed)	,131	,786	,093	,000	,857	,310
Na	Pearson Correlation	,197	-,020	-,214	,173	,190	-,466*
	Sig. (2-tailed)	,392	,930	,351	,454	,410	,033
K	Pearson Correlation	-,171	,234	,125	,695**	,089	-,431
	Sig. (2-tailed)	,458	,308	,589	,000	,700	,051
Ca	Pearson Correlation	-,443**	,053	,511*	,166	,288	,044
	Sig. (2-tailed)	,044	,821	,018	,471	,206	,848
Mg	Pearson Correlation	-,353	,710**	,168	,189	,212	,183
	Sig. (2-tailed)	,116	,000	,466	,411	,355	,427
Nem	Pearson Correlation	,419	-,145	-,371	,598**	-,381	,017
	Sig. (2-tailed)	,059	,529	,097	,004	,088	,940
Cr	Pearson Correlation	-,293	,489*	,147	-,074	-,049	,360
	Sig. (2-tailed)	,198	,024	,525	,750	,832	,109
Cu	Pearson Correlation	-,177	,323	,134	,564**	,066	-,015
	Sig. (2-tailed)	,442	,153	,561	,008	,775	,947
Ni	Pearson Correlation	-,285	,732**	,095	,095	,113	,279
	Sig. (2-tailed)	,210	,000	,682	,682	,625	,220
Zn	Pearson Correlation	-,315	,187	,310	,709**	-,063	-,173
	Sig. (2-tailed)	,164	,418	,171	,000	,787	,453
Fe	Pearson Correlation	,068	,484*	-,217	,390	,299	-,469*
	Sig. (2-tailed)	,768	,026	,345	,081	,188	,032
OTC(02)	Pearson Correlation	,070	,030	-,080	,547*	,155	-,593**
	Sig. (2-tailed)	,762	,896	,732	,010	,502	,005
OTC(1)	Pearson Correlation	-,029	-,024	,030	,309	,280	-,581**
	Sig. (2-tailed)	,901	,918	,896	,173	,218	,006
CTC(02)	Pearson Correlation	-,315	,071	,327	,462*	,206	-,589**
	Sig. (2-tailed)	,165	,761	,148	,035	,370	,005
CTC(1)	Pearson Correlation	,037	,106	-,046	,459*	,210	-,450*
	Sig. (2-tailed)	,873	,647	,844	,036	,360	,041
SDZ(02)	Pearson Correlation	,381	-,246	-,345	-,488	-,159	,207
	Sig. (2-tailed)	,199	,418	,248	,091	,604	,498
SDZ(1)	Pearson Correlation	,334	-,230	-,285	-,587*	-,063	-,098
	Sig. (2-tailed)	,265	,449	,346	,035	,837	,750
STZ(02)	Pearson Correlation	,214	-,742**	-,030	-,470	-,215	-,085
	Sig. (2-tailed)	,483	,004	,921	,105	,481	,783
STZ(1)	Pearson Correlation	,196	-,120	-,128	,091	-,291	-,172
	Sig. (2-tailed)	,522	,697	,677	,768	,334	,574
SCP(02)	Pearson Correlation	,287	-,757**	-,105	-,585*	-,134	,135
	Sig. (2-tailed)	,342	,003	,734	,036	,663	,661
SCP(1)	Pearson Correlation	,381	-,165	-,309	-,153	-,026	,045
	Sig. (2-tailed)	,199	,589	,304	,617	,934	,883
SMZ(02)	Pearson Correlation	-,255	,249	,238	,567*	,126	-,024
	Sig. (2-tailed)	,401	,412	,434	,043	,683	,938
SMZ(1)	Pearson Correlation	,389	,198	-,405	,055	-,061	,061
	Sig. (2-tailed)	,189	,517	,169	,859	,843	,844

		N	P	Na	K	Ca	Mg
Kil	Pearson Correlation	-,122	-,340	,197	-,171	-,443*	-,353
	Sig. (2-tailed)	,600	,131	,392	,458	,044	,116
Silt	Pearson Correlation	,210	,063	-,020	,234	,053	,710**
	Sig. (2-tailed)	,362	,786	,930	,308	,821	,000
Kum	Pearson Correlation	,097	,377	-,214	,125	,511*	,168
	Sig. (2-tailed)	,675	,093	,351	,589	,018	,466
OC	Pearson Correlation	,895**	,802**	,173	,695**	,166	,189
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,454	,000	,471	,411
pH	Pearson Correlation	,111	-,042	,190	,089	,288	,212
	Sig. (2-tailed)	,632	,857	,410	,700	,206	,355
KDK	Pearson Correlation	-,461*	-,233	-,466*	-,431	,044	,183
	Sig. (2-tailed)	,036	,310	,033	,051	,848	,427
N	Pearson Correlation	1,000	,691**	,405	,665**	-,007	,116
	Sig. (2-tailed)	,	,001	,068	,001	,977	,616
P	Pearson Correlation	,691**	1,000	,006	,497*	,384	-,034
	Sig. (2-tailed)	,001	,	,980	,022	,086	,883
Na	Pearson Correlation	,405	,006	1,000	,478*	-,243	-,089
	Sig. (2-tailed)	,068	,980	,	,028	,288	,702
K	Pearson Correlation	,665**	,497*	,478*	1,000	-,068	,145
	Sig. (2-tailed)	,001	,022	,028	,	,769	,530
Ca	Pearson Correlation	-,007	,384	-,243	-,068	1,000	-,039
	Sig. (2-tailed)	,977	,086	,288	,769	,	,867
Mg	Pearson Correlation	,116	-,034	-,089	,145	-,039	1,000
	Sig. (2-tailed)	,616	,883	,702	,530	,867	,
Nem	Pearson Correlation	,561**	,493*	,215	,395	-,238	-,212
	Sig. (2-tailed)	,008	,023	,349	,076	,299	,357
Cr	Pearson Correlation	-,107	-,119	-,212	-,169	-,246	,801**
	Sig. (2-tailed)	,645	,606	,355	,464	,283	,000
Cu	Pearson Correlation	,366	,513*	-,048	,606**	,315	,122
	Sig. (2-tailed)	,103	,017	,836	,004	,164	,598
Ni	Pearson Correlation	,041	-,062	-,105	-,048	-,074	,913**
	Sig. (2-tailed)	,859	,788	,649	,837	,750	,000
Zn	Pearson Correlation	,533*	,916**	-,220	,433	,311	,045
	Sig. (2-tailed)	,013	,000	,337	,050	,171	,848
Fe	Pearson Correlation	,579**	,088	,451*	,509*	-,338	,368
	Sig. (2-tailed)	,006	,706	,040	,019	,134	,101
OTC(02)	Pearson Correlation	,764**	,326	,508*	,408	-,144	-,044
	Sig. (2-tailed)	,000	,149	,019	,066	,533	,850
OTC(1)	Pearson Correlation	,512*	,138	,419	,092	-,122	-,146
	Sig. (2-tailed)	,018	,550	,059	,691	,597	,527
CTC(02)	Pearson Correlation	,540*	,505*	,229	,227	,236	,041
	Sig. (2-tailed)	,012	,019	,318	,322	,302	,861
CTC(1)	Pearson Correlation	,576**	,202	,403	,198	,086	,036
	Sig. (2-tailed)	,006	,380	,070	,389	,711	,876
SDZ(02)	Pearson Correlation	-,404	-,259	-,117	-,367	-,230	-,491
	Sig. (2-tailed)	,171	,393	,703	,217	,450	,088
SDZ(1)	Pearson Correlation	-,491	-,331	,204	-,322	-,070	-,622*
	Sig. (2-tailed)	,088	,269	,504	,284	,820	,023
STZ(02)	Pearson Correlation	-,454	,021	-,055	-,322	,126	-,798**
	Sig. (2-tailed)	,119	,945	,858	,283	,682	,001
STZ(1)	Pearson Correlation	,152	,189	-,150	,149	,173	-,405
	Sig. (2-tailed)	,619	,536	,624	,628	,571	,169
SCP(02)	Pearson Correlation	-,481	-,230	-,131	-,708**	-,036	-,657
	Sig. (2-tailed)	,096	,449	,669	,007	,908	,015
SCP(1)	Pearson Correlation	-,251	-,100	,165	,049	,084	-,691**
	Sig. (2-tailed)	,408	,744	,590	,873	,784	,009
SMZ(02)	Pearson Correlation	,362	,465	-,210	,443	,412	,143
	Sig. (2-tailed)	,224	,110	,492	,130	,162	,641
SMZ(1)	Pearson Correlation	,012	-,064	,109	,249	-,005	-,386
	Sig. (2-tailed)	,970	,836	,722	,413	,987	,193

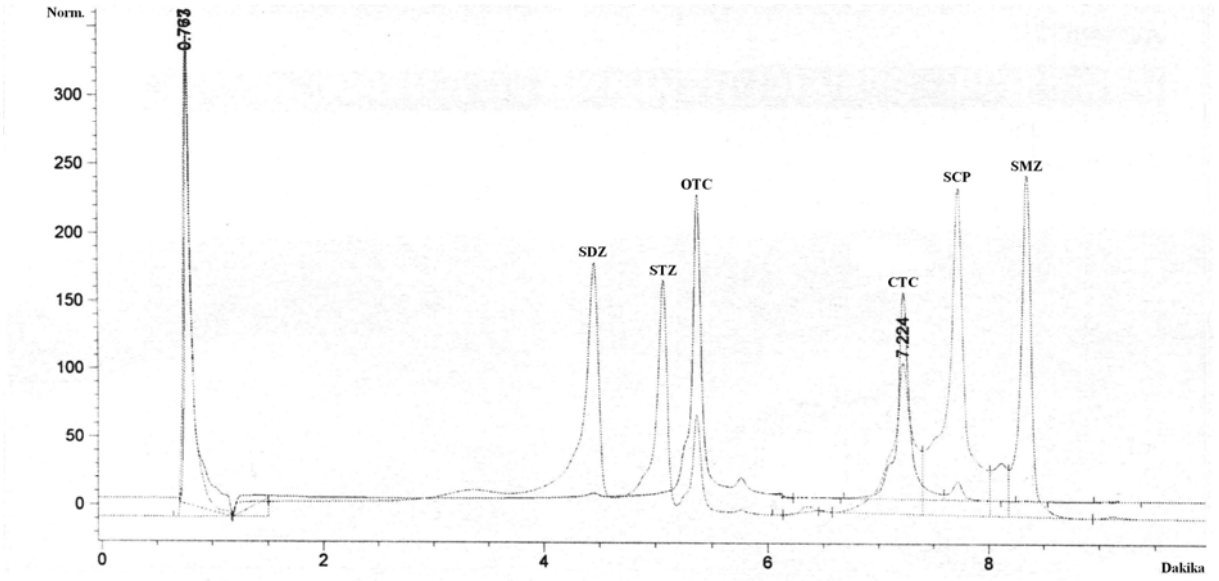
		Nem	Cr	Cu	Ni	Zn	Fe
Kil	Pearson Correlation	,419	-,293	-,177	-,285	-,315	,068
	Sig. (2-tailed)	,059	,198	,442	,210	,164	,768
Silt	Pearson Correlation	-,145	,489*	,323	,732**	,187	,484*
	Sig. (2-tailed)	,529	,024	,153	,000	,418	,026
Kum	Pearson Correlation	-,371	,147	,134	,095	,310	-,217
	Sig. (2-tailed)	,097	,525	,561	,682	,171	,345
OC	Pearson Correlation	,598**	-,074	,564**	,095	,709**	,390
	Sig. (2-tailed)	,004	,750	,008	,682	,000	,081
pH	Pearson Correlation	-,381	-,049	,066	,113	-,063	,299
	Sig. (2-tailed)	,088	,832	,775	,625	,787	,188
KDK	Pearson Correlation	,017	,360	-,015	,279	-,173	-,469*
	Sig. (2-tailed)	,940	,109	,947	,220	,453	,032
N	Pearson Correlation	,561**	-,107	,366	,041	,533*	,579**
	Sig. (2-tailed)	,008	,645	,103	,859	,013	,006
P	Pearson Correlation	,493*	-,119	,513*	-,062	,916**	,088
	Sig. (2-tailed)	,023	,606	,017	,788	,000	,706
Na	Pearson Correlation	,215	-,212	-,048	-,105	-,220	,451*
	Sig. (2-tailed)	,349	,355	,836	,649	,337	,040
K	Pearson Correlation	,395	-,169	,606**	-,048	,433	,509*
	Sig. (2-tailed)	,076	,464	,004	,837	,050	,019
Ca	Pearson Correlation	-,238	-,246	,315	-,074	,311	-,338
	Sig. (2-tailed)	,299	,283	,164	,750	,171	,134
Mg	Pearson Correlation	-,212	,801**	,122	,913**	,045	,368
	Sig. (2-tailed)	,357	,000	,598	,000	,848	,101
Nem	Pearson Correlation	1,000	-,156	,486*	-,164	,507*	,175
	Sig. (2-tailed)	,	,499	,026	,477	,019	,448
Cr	Pearson Correlation	-,156	1,000	-,130	,892**	-,004	,086
	Sig. (2-tailed)	,499	,	,573	,000	,987	,710
Cu	Pearson Correlation	,486*	-,130	1,000	,001	,617**	,118
	Sig. (2-tailed)	,026	,573	,	,998	,003	,611
Ni	Pearson Correlation	-,164	,892**	,001	1,000	,026	,267
	Sig. (2-tailed)	,477	,000	,998	,	,911	,241
Zn	Pearson Correlation	,507*	-,004	,617**	,026	1,000	,061
	Sig. (2-tailed)	,019	,987	,003	,911	,	,792
Fe	Pearson Correlation	,175	,086	,118	,267	,061	1,000
	Sig. (2-tailed)	,448	,710	,611	,241	,792	,
OTC(02)	Pearson Correlation	,229	-,277	-,114	-,110	,115	,591**
	Sig. (2-tailed)	,319	,224	,622	,635	,620	,005
OTC(1)	Pearson Correlation	,024	-,291	-,318	-,145	-,073	,326
	Sig. (2-tailed)	,918	,200	,159	,531	,754	,149
CTC(02)	Pearson Correlation	-,007	-,134	-,045	,025	,351	,161
	Sig. (2-tailed)	,976	,561	,847	,913	,119	,485
CTC(1)	Pearson Correlation	,142	-,259	-,017	,020	,012	,345
	Sig. (2-tailed)	,539	,257	,942	,931	,960	,125
SDZ(02)	Pearson Correlation	-,292	-,334	-,300	-,430	-,262	,015
	Sig. (2-tailed)	,333	,264	,320	,143	,387	,962
SDZ(1)	Pearson Correlation	-,072	-,359	-,197	-,403	-,306	-,269
	Sig. (2-tailed)	,815	,229	,520	,172	,309	,375
STZ(02)	Pearson Correlation	,060	-,454	-,088	-,749**	,000	-,444
	Sig. (2-tailed)	,847	,119	,775	,003	1,000	,128
STZ(1)	Pearson Correlation	,522	-,225	,497	-,298	,314	,054
	Sig. (2-tailed)	,068	,460	,084	,323	,296	,860
SCP(02)	Pearson Correlation	-,237	-,310	-,510	-,556*	-,298	-,464
	Sig. (2-tailed)	,435	,303	,075	,048	,323	,111
SCP(1)	Pearson Correlation	,261	-,700**	,355	-,585*	-,043	-,040
	Sig. (2-tailed)	,389	,008	,234	,036	,889	,896
SMZ(02)	Pearson Correlation	,257	-,208	,420	,044	,486	,207
	Sig. (2-tailed)	,397	,495	,154	,886	,092	,496
SMZ(1)	Pearson Correlation	,410	-,495	,473	-,277	,070	,312
	Sig. (2-tailed)	,165	,086	,103	,359	,819	,300

		OTC(02)	OTC(1)	CTC(02)	CTC(1)	SDZ(02)	SDZ(1)
Kil	Pearson Correlation	,070	-,029	-,315	,037	,381	,334
	Sig. (2-tailed)	,762	,901	,165	,873	,199	,265
Silt	Pearson Correlation	,030	-,024	,071	,106	-,246	-,230
	Sig. (2-tailed)	,896	,918	,761	,647	,418	,449
Kum	Pearson Correlation	-,080	,030	,327	-,046	-,345	-,285
	Sig. (2-tailed)	,732	,896	,148	,844	,248	,346
OC	Pearson Correlation	,547*	,309	,462*	,459	-,488	-,587*
	Sig. (2-tailed)	,010	,173	,035	,036	,091	,035
pH	Pearson Correlation	,155	,280	,206	,210	-,159	-,063
	Sig. (2-tailed)	,502	,218	,370	,360	,604	,837
KDK	Pearson Correlation	-,593**	-,581**	-,589**	-,450*	,207	-,098
	Sig. (2-tailed)	,005	,006	,005	,041	,498	,750
N	Pearson Correlation	,764**	,512*	,540*	,576**	-,404	-,491
	Sig. (2-tailed)	,000	,018	,012	,006	,171	,088
P	Pearson Correlation	,326	,138	,505*	,202	-,259	-,331
	Sig. (2-tailed)	,149	,550	,019	,380	,393	,269
Na	Pearson Correlation	,508*	,419	,229	,403	-,117	,204
	Sig. (2-tailed)	,019	,059	,318	,070	,703	,504
K	Pearson Correlation	,408	,092	,227	,198	-,367	-,322
	Sig. (2-tailed)	,066	,691	,322	,389	,217	,284
Ca	Pearson Correlation	-,144	-,122	,236	,086	-,230	-,070
	Sig. (2-tailed)	,533	,597	,302	,711	,450	,820
Mg	Pearson Correlation	-,044	-,146	,041	,036	-,491	-,622*
	Sig. (2-tailed)	,850	,527	,861	,876	,088	,023
Nem	Pearson Correlation	,229	,024	-,007	,142	-,292	-,072
	Sig. (2-tailed)	,319	,918	,976	,539	,333	,815
Cr	Pearson Correlation	-,277	-,291	-,134	-,259	-,334	-,359
	Sig. (2-tailed)	,224	,200	,561	,257	,264	,229
Cu	Pearson Correlation	-,114	-,318	-,045	-,017	-,300	-,197
	Sig. (2-tailed)	,622	,159	,847	,942	,320	,520
Ni	Pearson Correlation	-,110	-,145	,025	,020	-,430	-,403
	Sig. (2-tailed)	,635	,531	,913	,931	,143	,172
Zn	Pearson Correlation	,115	-,073	,351	,012	-,262	-,306
	Sig. (2-tailed)	,620	,754	,119	,960	,387	,309
Fe	Pearson Correlation	,591**	,326	,161	,345	,015	-,269
	Sig. (2-tailed)	,005	,149	,485	,125	,962	,375
OTC(02)	Pearson Correlation	1,000	,816**	,614**	,787**	,242	-,340
	Sig. (2-tailed)	,	,000	,003	,000	,425	,256
OTC(1)	Pearson Correlation	,816**	1,000	,585**	,795**	-,025	,038
	Sig. (2-tailed)	,000	,	,005	,000	,937	,902
CTC(02)	Pearson Correlation	,614**	,585**	1,000	,738**	-,185	-,139
	Sig. (2-tailed)	,003	,005	,	,000	,545	,650
CTC(1)	Pearson Correlation	,787**	,795**	,738**	1,000	-,159	-,031
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,000	,	,604	,921
SDZ(02)	Pearson Correlation	,242	-,025	-,185	-,159	1,000	,063
	Sig. (2-tailed)	,425	,937	,545	,604	,	,838
SDZ(1)	Pearson Correlation	-,340	,038	-,139	-,031	,063	1,000
	Sig. (2-tailed)	,256	,902	,650	,921	,838	,
STZ(02)	Pearson Correlation	-,477	-,374	-,046	-,393	,244	,670
	Sig. (2-tailed)	,099	,208	,882	,184	,422	,012
STZ(1)	Pearson Correlation	-,356	-,640*	-,181	-,254	-,047	,428
	Sig. (2-tailed)	,233	,018	,555	,403	,878	,144
SCP(02)	Pearson Correlation	-,178	,125	,197	,048	,361	,553*
	Sig. (2-tailed)	,562	,684	,520	,877	,225	,050
SCP(1)	Pearson Correlation	-,572*	-,369	-,294	-,102	,076	,467
	Sig. (2-tailed)	,041	,214	,329	,739	,804	,108
SMZ(02)	Pearson Correlation	-,121	,020	-,016	-,030	-,619*	-,085
	Sig. (2-tailed)	,694	,948	,959	,922	,024	,781
SMZ(1)	Pearson Correlation	-,387	-,300	-,430	-,095	-,138	,466
	Sig. (2-tailed)	,192	,320	,143	,757	,653	,108

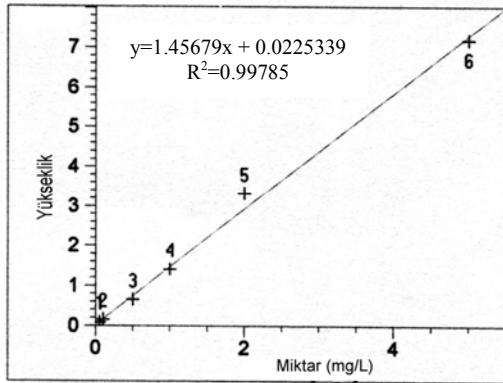
		STZ(02)	STZ(1)	SCP(02)	SCP(1)	SMZ(02)	SMZ(1)
Kil	Pearson Correlation	,214	,196	,287	,381	-,255	,389
	Sig. (2-tailed)	,483	,522	,342	,199	,401	,189
Silt	Pearson Correlation	-,742**	-,120	-,757**	-,165	,249	,198
	Sig. (2-tailed)	,004	,697	,003	,589	,412	,517
Kum	Pearson Correlation	-,030	-,128	-,105	-,309	,238	-,405
	Sig. (2-tailed)	,921	,677	,734	,304	,434	,169
OC	Pearson Correlation	-,470	,091	-,585*	-,153	,567*	,055
	Sig. (2-tailed)	,105	,768	,036	,617	,043	,859
pH	Pearson Correlation	-,215	-,291	-,134	-,026	,126	-,061
	Sig. (2-tailed)	,481	,334	,663	,934	,683	,843
KDK	Pearson Correlation	-,085	-,172	,135	,045	-,024	,061
	Sig. (2-tailed)	,783	,574	,661	,883	,938	,844
N	Pearson Correlation	-,454	,152	-,481	-,251	,362	,012
	Sig. (2-tailed)	,119	,619	,096	,408	,224	,970
P	Pearson Correlation	,021	,189	-,230	-,100	,465	-,064
	Sig. (2-tailed)	,945	,536	,449	,744	,110	,836
Na	Pearson Correlation	-,055	-,150	-,131	,165	-,210	,109
	Sig. (2-tailed)	,858	,624	,669	,590	,492	,722
K	Pearson Correlation	-,322	,149	-,708**	,049	,443	,249
	Sig. (2-tailed)	,283	,628	,007	,873	,130	,413
Ca	Pearson Correlation	,126	,173	-,036	,084	,412	-,005
	Sig. (2-tailed)	,682	,571	,908	,784	,162	,987
Mg	Pearson Correlation	-,798**	-,405	-,657*	-,691**	,143	-,386
	Sig. (2-tailed)	,001	,169	,015	,009	,641	,193
Nem	Pearson Correlation	,060	,522	-,237	,261	,257	,410
	Sig. (2-tailed)	,847	,068	,435	,389	,397	,165
Cr	Pearson Correlation	-,454	-,225	-,310	-,700**	-,208	-,495
	Sig. (2-tailed)	,119	,460	,303	,008	,495	,086
Cu	Pearson Correlation	-,088	,497	-,510	,355	,420	,473
	Sig. (2-tailed)	,775	,084	,075	,234	,154	,103
Ni	Pearson Correlation	-,749**	-,298	-,556*	-,585*	,044	-,277
	Sig. (2-tailed)	,003	,323	,048	,036	,886	,359
Zn	Pearson Correlation	,000	,314	-,298	-,043	,486	,070
	Sig. (2-tailed)	1,000	,296	,323	,889	,092	,819
Fe	Pearson Correlation	-,444	,054	-,464	-,040	,207	,312
	Sig. (2-tailed)	,128	,860	,111	,896	,496	,300
OTC(02)	Pearson Correlation	-,477	-,356	-,178	-,572*	-,121	-,387
	Sig. (2-tailed)	,099	,233	,562	,041	,694	,192
OTC(1)	Pearson Correlation	-,374	-,640*	,125	-,369	,020	-,300
	Sig. (2-tailed)	,208	,018	,684	,214	,948	,320
CTC(02)	Pearson Correlation	-,046	-,181	,197	-,294	-,016	-,430
	Sig. (2-tailed)	,882	,555	,520	,329	,959	,143
CTC(1)	Pearson Correlation	-,393	-,254	,048	-,102	-,030	-,095
	Sig. (2-tailed)	,184	,403	,877	,739	,922	,757
SDZ(02)	Pearson Correlation	,244	-,047	,361	,076	-,619*	-,138
	Sig. (2-tailed)	,422	,878	,225	,804	,024	,653
SDZ(1)	Pearson Correlation	,670*	,428	,553*	,467	-,085	,466
	Sig. (2-tailed)	,012	,144	,050	,108	,781	,108
STZ(02)	Pearson Correlation	1,000	,538	,774**	,409	-,145	,184
	Sig. (2-tailed)	,	,058	,002	,166	,638	,547
STZ(1)	Pearson Correlation	,538	1,000	,201	,558*	,097	,638*
	Sig. (2-tailed)	,058	,	,510	,048	,754	,019
SCP(02)	Pearson Correlation	,774**	,201	1,000	,283	-,377	-,029
	Sig. (2-tailed)	,002	,510	,	,349	,205	,925
SCP(1)	Pearson Correlation	,409	,558*	,283	1,000	,195	,859**
	Sig. (2-tailed)	,166	,048	,349	,	,522	,000
SMZ(02)	Pearson Correlation	-,145	,097	-,377	,195	1,000	,436
	Sig. (2-tailed)	,638	,754	,205	,522	,	,136
SMZ(1)	Pearson Correlation	,184	,638*	-,029	,859**	,436	1,000
	Sig. (2-tailed)	,547	,019	,925	,000	,136	,

* p < 0,05

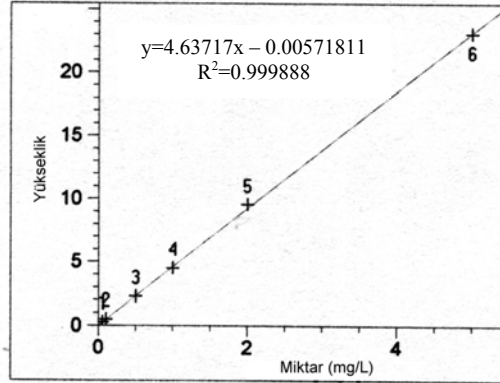
** p < 0,01



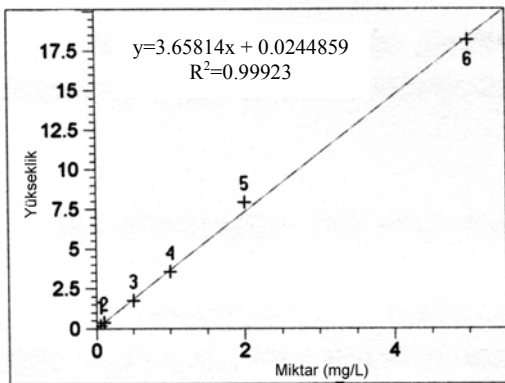
Antibakteriyel ilaç standartlarının bir arada analiz edilmesi sonucu elde edilen örnek kromatogram



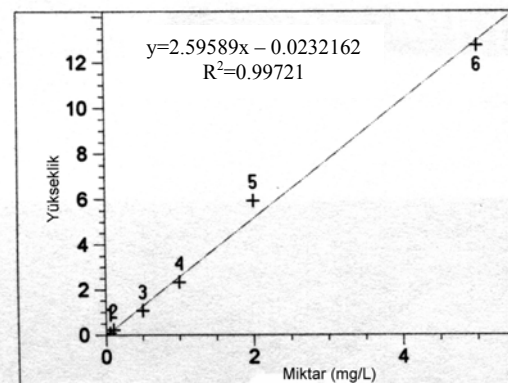
SDZ'ye ait kalibrasyon eğrisi



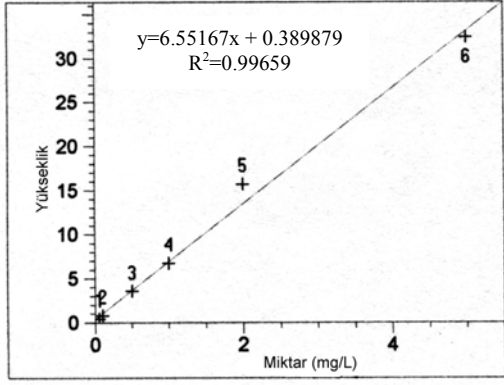
STZ'ye ait kalibrasyon eğrisi



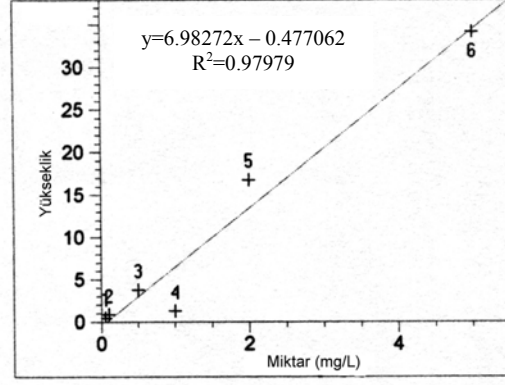
OTC'ye ait kalibrasyon eğrisi



CTC'ye ait kalibrasyon eğrisi



SCP'ye ait kalibrasyon eğrisi



SMZ'ye ait kalibrasyon eğrisi

KAYNAKLAR

1. EUROPEAN UNION (EU). Directive 2004/28/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/82/EC on the Community code relating to veterinary medicinal products. Official Journal of the European Union, L 136:58-84.
2. ADAMS HR. Veterinary pharmacology and therapeutics, 8th Edition, Iowa State University Press, South State Avenue, Ames, Iowa, 2001.
3. KUMMERER K. Pharmaceuticals in the environment, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 2001.
4. WALSH C. Antibiotics, actions, origins, resistance, ASM Press, Washington, 2003.
5. EUROPEAN FEDERATION OF ANIMAL HEALTH (FEDESA). Antibiotic Use in Farm Animals does not threaten Human Health. FEDESA/FEFANA Press release. 13 July, Brussels, Belgium, 2001.
6. KUMMERER K. Significance of antibiotics in the environment. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 52:5-7, 2003.
7. IX. KALKINMA PLANI İLAÇ SANAYİİ ÖZEL İHTİSAS KOMİSYONU. Veteriner İlaç Sanayii Alt Çalışma Grubu (VİSAD) Raporu, 2006.
8. HALLING-SORENSEN B, NORS-NIELSEN S, LANZKY PF, INGERSLEV F, HOLTEN LUTZHOFT HC, JORGENSEN SE. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- a review. Chemosphere, 36:357-393, 1998.
9. HIRSCH R, TERNES T, HABERER K, KRATZ KL. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. The Science of the Total Environment 225:109-118, 1999.
10. SARMAH AK, MEYER MT, BOXALL ABA. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. Chemosphere, 65:725-759, 2006.
11. EUROPEAN UNION (EU). Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to veterinary medicinal products, Official Journal of the European Union, L 311:1-61, 2001.
12. INGERSLEV F, TORANG L, LOKE ML, HALLING-SORENSEN B, NYHOLM N. Primary biodegradation of veterinary antibiotics in aerobic and anaerobic surface water simulation systems. Chemosphere, 44:865-872, 2001.
13. BOXALL ABA, BLACKWELL P, CAVALLO R, KAY P, TOLLS J. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. Toxicology Letters, 131:19-28, 2002.
14. BOXALL ABA, FOGG LA, BLACKWELL PA, KAY P, PEMBERTON EJ, CROXFORD A. Veterinary medicines in the environment. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 180:1-91, 2004.
15. LIGUORO MD, CIBIN V, CAPOLONGO F, HALLING-SORENSEN B, MONTESISSA C. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil. Chemosphere, 52:203-212, 2003.
16. ALEXY R, KUMPEL T, KUMMERER K. Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test. Chemosphere 57:505-512, 2004.
17. HALLING-SORENSEN B, SENGELOV G, TJORNELUND J. Toxicity of Tetracyclines and Tetracycline Degradation Products to Environmentally Relevant Bacteria, Including Selected Tetracycline-Resistant Bacteria. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 42:263-271, 2002.

18. BOXALL ABA, JOHNSON P, SMITH AJ, SINCLAIR CJ, STUTT E, LEVY LS. Uptake of Veterinary Medicines from Soils into Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54:2288-2297, 2006.
19. ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT OF VETERINARY MEDICINES IN SLURRY (ERAVMIS) EVK1-CT-1999-00003. A guide to risk assessment of veterinary medicinal products used in animal husbandry, (2003).
20. KUMMERER K. Resistance in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54:311–320, 2004.
21. ROOKLIDGE SJ. Environmental antimicrobial contamination from terraccumulation and diffuse pollution pathways. *Science of the Total Environment*, 325:1–13, 2004.
22. BOXALL ABA, FOGG LA, KAY P, BLACKWELL PA, PEMBERTON EJ, CROXFORD A. Prioritisation of veterinary medicines in the UK environment. *Toxicology Letters*, 142:207- 218, 2003.
23. WOLLENBERGER L, HALLING-SORENSEN B, KUSK KO. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40:723-730, 2000.
24. KUMMERER K, ALEXY R, HÜTTIG J, SCHÖLL A. Standardized tests fail to assess the effects of antibiotics on environmental bacteria. *Water Research*, 38:2111–2116, 2004.
25. HEBERER T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, 131:5–17, 2002.
26. BASARABA RJ, OEHME FW, VORHIES MW, STOKA GL. Toxicosis in cattle from concurrent feeding of monensin and dried distiller’s grains contaminated with macrolide antibiotics. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11:79–86, 1999.
27. NEBBIA C, CEPPA L, DACASTO M, CARLETTI M, NACHTMANN C. Oxidative metabolism of monensin in rat liver microsomes and interactions with tiamulin and other chemotherapeutic agents: evidence for the involvement of cytochrome P-450 3a subfamily. *Drug Metabolism and Disposition*, 27(9):1039-1044, 1999.
28. BAGUER AJ, JENSEN J, KROGH PH. Effects of the antibiotics oxytetracycline and tylosin on soil fauna. *Chemosphere*, 40:751-757, 2000.
29. SANDERSON H, BRAIN RA, JOHNSON DJ, WILSON CJ, SOLOMON KR. Toxicity classification and evaluation of four pharmaceutical classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. *Toxicology*, 203:27–40, 2004.
30. SCHALLENBERG M, ARMSTRONG A. Assessment of antibiotic activity in surface water of the lower Taieri Plain and impacts on aquatic bacteria in Lake Waipori, South Otago, New Zealand. *Schallenberg & Armstrong—Antibiotic activity in surface*, 38:19-28, 2004.
31. CHANDER Y, KUMAR K, GOYAL SM, GUPTA SC. Antibacterial Activity of Soil-Bound Antibiotics. *Journal of Environmental Quality*, 34:1952–1957, 2005.
32. THIELE-BRUHN S, BECK IC. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass. *Chemosphere*, 59:457–465, 2005.
33. YANG S, CARLSON K. Routine monitoring of antibiotics in water and wastewater with a radioimmunoassay technique. *Water Research*, 38:3155–3166, 2004.
34. FOOD MARKETING INSTITUTE (FMI). Low-level use of antibiotics in live stock and poultry, Washington.
35. THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS (EMA). Guidance on pre-approval information for registration of new

- veterinary medicinal products for food producing animals with respect to antimicrobial resistance, CVMP/VICH/644/01-FINAL, London, 2004.
36. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Department of Health and Human Services, Final Decision of the Commissioner, Withdrawal of Approval of the New Animal Drug Application, Docket No.2000N-1571, 2005.
 37. EUROPEAN UNION (EU). Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition, Official Journal of the European Union, L 268:29-43, 2003.
 38. CASEWELL M, FRIIS C, MARCO E, MCMULLIN P, PHILLIPS I. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52:159–161, 2003.
 39. CHRISTIAN T, SCHNEIDER RJ, FÄRBER HA, SKUTLAREK D, MEYER MT, GOLDBACH HE. Determination of Antibiotic Residues in Manure, Soil, and Surface Waters. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 31(1):36-44, 2003.
 40. THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS (EMA). A risk assessment management strategic plan for controlling antimicrobial resistance through the authorisation of veterinary medicines, EMA/CVMP/818/99-FINAL, 2000.
 41. VETERİNER İSPENÇİYARİ ve TIBBİ MÜSTEHZARLAR RUHSAT YÖNETMELİĞİ. Yetki Kanunu: 441, 3285, 6343, Yayımlandığı R.Gazete: 23.10.2002 / 24915.
 42. T.C.TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI. Yem Katkı ve Premikslerin, Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ. Resmi Gazete, 21/01/2006-26056, Tebliğ No:2006/1.
 43. T.C.TARIM VE KÖYİŞLERİ BAKANLIĞI. Yem katkı ve premikslerin üretimi, ithalatı, ihracatı, satışı ve kullanımı hakkında tebliğ. Yetki Kanunu: 1734, Yayımlandığı Resmi Gazete: 18.12.2002-24967, Tebliğ No: 2002/66.
 44. LEEUWEN CJ, HERMENS JLM. Risk assessment of chemicals, an introduction. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, 1995.
 45. SOCIETY OF TOXICOLOGY. Risk Assessment: What's it all about? 1999.
 46. WRIGHT DA, WELBOURN P. Environmental toxicology. Cambridge environmental chemistry series 11, Cambridge University Press, Cambridge, 2002.
 47. RODRICKS JV. Calculated risks. Understanding the toxicity and human health risks of chemicals in our environment. Cambridge University Press, Cambridge, 1992.
 48. HALLING-SORENSEN BH, NIELSEN SN, JENSEN J. Environmental Assessment of Veterinary Medicinal Products in Denmark. Environmental Project No.659 2002, Danish Environmental Protection Agency, Danish Ministry of the Environment, 2002.
 49. THE MERCK VETERINARY MANUAL. Eighth Edition, Merck&Co., Inc, Whitehouse Station NJ, 2006.
 50. BJORNEROT L, FRANKLIN A, TYSEN E. Usage of antibacterial and antiparasitic drugs in animals in Sweden between 1988 and 1993. *The Veterinary Record*, 139:282-286, 2000.
 51. UNGEMACH FR. Figures on quantities antibacterials used for different purposes in the EU-countries and interpretation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 93:89-98, 2000.
 52. THIELE-BRUHN S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils – a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 166:145-167, 2003.
 53. PRESCOTT JF, BAGGOT JD, WALKER RD. Antimicrobial therapy in veterinary medicine, Third Edition, Iowa State University Press/Ames, Iowa, 2000.

54. SASKATCHEWAN SOIL CONSERVATION ASSOCIATION. Soil Facts, Solid Cattle Manure, 2000.
55. BANDEL VA, JAMES BR, MEISINGER JJ. Basic principles of soil fertility II: Soil properties, Fact Sheet 640, 2002.
56. PARHAM JA, DENG SP, DA HN, SUN HY, RAUN WR. Long-term cattle manure application in soil. II. Effect on soil microbial populations and community structure. *Biology and Fertility of Soils*, 38:209-215, 2003.
57. WATTS CD, CRAYTHORNE B, FIELDING M, KILLOPS SD. Nonvolatile organic compounds in treated waters. *Environ. Health Persp.* 46:87–89, 1982.
58. GOBEL A, MCARDELL CS, SUTER MJF, GIGER W. Trace Determination of Macrolide and Sulfonamide Antimicrobials, a Human Sulfonamide Metabolite, and Trimethoprim in Wastewater Using Liquid Chromatography Coupled to Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 76(16): 4756-4764, 2004.
59. MEYER MT, FERRELL G, BUMGARNER JE, COLE D, HUTCHINS S, KRAPAC I, JOHNSON K, KOLPIN D. Occurrence of antibiotics in swine confined animal feeding operations lagoon samples from multiple states 1998–2002: indicators of antibiotic use. In: 3rd International Conference on Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Chemicals in Water, National Ground Water Association, Minneapolis, 2003.
60. NAKATA H, KANAN K, JONES PD, GIESY JP. Determination of fluoroquinolone antibiotics in wastewater effluents by liquid chromatography–mass spectrometry and fluorescence detection. *Chemosphere*, 58:759–766, 2005.
61. KUMMERER K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic, aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere*, 45:957-969, 2001.
62. HAMSCHER G, SCZESNY S, HOPER H, NAU H. Determination of Persistent Tetracycline Residues in Soil Fertilized with Liquid Manure by High-Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 74(7): 1509-1518, 2002.
63. KUMAR K, GUPTA SC, BAĪDOO SK, CHANDER Y, ROSEN CJ. Antibiotic Uptake by Plants from Soil Fertilized with Animal Manure. *Journal of Environmental Quality*, 34:2082–2085, 2005.
64. TEUBER M. Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 4:493-499, 2001.
65. WALTER MV, VENNES JW. Occurrence of multiple-antibiotic resistant enteric bacteria in domestic sewage and oxidative lagoons. *Applied and Environmental Microbiology*, 50:930-933, 1985.
66. KANAY H. Drug-resistance and distribution of conjugative R-plasmids in *E.coli* strains isolated from healthy adult animals and humans. *Japanese Journal of Veterinary Sciences* 45:171-178, 1983.
67. MATEU E, MARTIN M. Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? *Journal of Veterinary Medicine B*, 48:569-581, 2001.
68. NATARAJAN MR, ORIEL P. Transfer of Transposon Tn916 from *Bacillus subtilis* into a Natural Soil Population. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8):2701-2703, 1992.
69. RYSZ M, ALVAREZ PJJ. Amplification and attenuation of tetracycline resistance in soil bacteria: aquifer column experiments. *Water Research* 38:3705–3712, 2004.
70. AGERSO Y, WULFF G, VACLAVIK E, HALLING-SORENSEN, JENSEN LB. Effect of tetracycline residues in pig manure slurry on tetracycline-resistant bacteria

- and resistance gene tet(M) in soil microcosms. *Environment International*, 32:876–882, 2006.
71. SCHMITT H, STOOB K, HAMSCHER G, SMIT E, SEINEN W. Tetracyclines and Tetracycline Resistance in Agricultural Soils: Microcosm and Field Studies. *Microbial Ecology*, 51:267–276, 2006.
 72. WARMAN PR. The effect of Amprolium and Aureomycin antibiotic on the nitrification of poultry manure-amended soil. *Journal of the Soil Science Society of America* 44(6):1333-1334, 1980.
 73. KAY P, BLACKWELL PA, BOXALL ABA. Transport of veterinary antibiotics in overland flow following the application of slurry to arable land. *Chemosphere*, 59:951–959, 2005.
 74. LIGUORO M.D. POLTRONIERI C, CAPOLONGO F, MONTESISSA C. Use of sulfadimethoxine in intensive calf farming: evaluation of transfer to stable manure and soil. *Chemosphere*, 68:671-676, 2007
 75. MANAHAN SE. *Fundamentals of environmental chemistry*. Lewis Publishers, Michigan, 1993.
 76. OKA H, ITO Y, MATSUMOTO H. Chromatographic analysis of tetracycline antibiotics in foods. *Journal of Chromatography A*, 882:109–133, 2000.
 77. FIGUEROA RA, LEONARD A, MACKAY AA. Modeling tetracycline antibiotic sorption to clays. *Environmental Sciences and Technology*, 38:476–483, 2004.
 78. SASSMAN SA, LEE LS. Sorption of three tetracyclines by several soils: assessing the role of pH and cation exchange. *Environmental Sciences and Technology*, 39:7452–7459, 2005.
 79. STEPHEN A, LEE S, LEE LS. Sorption of Three Tetracyclines by Several Soils: Assessing the Role of pH and Cation Exchange. *Environmental Science & Technology*, 39 (19):7452-7459, 2005.
 80. SITHOLE, B.B., GUY, R.G. Models for tetracycline in aquatic environments. *Water, Air, Soil Pollution*, 32:315–321, 1987.
 81. HALLER MY, MULLER SR, MCADELL CS, ALDER AC, SUTER MJF. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography, A* 952, 111–120, 2002.
 82. THIELE-BRUHN S, SEIBICKE T, SCHULTEN HR, LEINWEBER P. Sorption of Sulfonamide Pharmaceutical Antibiotics on Whole Soils and Particle-Size Fractions. *Journal of Environmental Quality*, 33:1331–1342, 2004.
 83. SAMUELSEN OB. Degradation of oxytetracycline in seawater at two different temperatures and light intensities, and the persistence of oxytetracycline in the sediment from a fish farm. *Aquaculture*, 83:7-16, 1989.
 84. OKA H, IKAI Y, KAWAMURA N, YAMADA M, HARADA K, ITO S, SUZUKI M. Photodecomposition products of tetracycline in aqueous solution. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 37(1):226-231, 1989.
 85. GILBERTSON TJ, HORNISH RE, JAGLAN PS, KOSHY KT, NAPPIER JL, STAHL GL, CAZERS AR, NAPPLIER JM, KUBICEK MF, HOFFMAN GA, HAMLOW PJ. Environmental fate of ceftiofur sodium, a cephalosporin antibiotic. Role of animal excreta in its decomposition. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 38:890-894, 1990.
 86. DONOHO AL. Biochemical studies of the fate of monensin in animals and in the environment. *Journal of Animal Science*, 58(6):1528-1539, 1984.
 87. JACOBSEN P, BERGLIND L. Persistence of oxytetracycline in sediments from fish farms. *Aquaculture*, 70:365-370, 1988.

88. COYNE R, HINEY M, O'CONNOR B, CAZABON D, SMITH P. Concentration and persistence of oxytetracycline in sediments under a marine salmon farm. *Aquaculture*, 123:31-42, 1994.
89. HEKTOEN H, BERGE JA, HORMAZABAL V, YNDESTAD M. Persistence of antibacterial agents in marine sediments. *Aquaculture*, 133:175-184, 1995.
90. BERGER K, PETERSEN B, BUNING-PFAUE H. Persistence of drugs occurring in liquid manure in the food chain. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 37:99-102, 1986
91. TOLLS J. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. *Environmental Science Technology*, 35:3397–3406, 2001.
92. SENGELOV G, AGERSO Y, HALLING-SORENSEN B, BALODA SB, ANDERSEN JS, JENSEN LB. Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry. *Environment International*, 28:587–595, 2003.
93. KULSHRESTHA P, ROSSMAN JFG, AGA D. Investigating the molecular interactions of oxytetracycline in clay and organic matter: insights on factors affecting its mobility in soil. *Environmental Science & Technology*, 38:4097–4105, 2004.
94. RABOLLE M, SPLIID NH. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere*, 40:715-722, 2000.
95. KAY P, BLACKWELL PA, BOXALL ABA. Fate of veterinary antibiotics in a macroporous tile drained clay soil. *Environmental Toxicology Chemistry*, 23(5):1136–1144, 2004.
96. VAN GOOL S. Possible environmental effects of antibiotic residues in animal manure. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde: The Netherlands*, 8–10, 1993.
97. GAVALCHIN J, KATZ SE. The persistence of fecal-borne antibiotics in soil. *The Journal of AOAC International*, 177:481–485, 1994.
98. INGERSLEV F, HALLING-SORENSEN B. Biodegradability properties of sulfonamides in activated sludge. *Environmental Toxicology Chemistry*, 19:2467–2473, 2000.
99. CHRISTENSEN FM. Pharmaceuticals in the Environment—A Human Risk?. *Regulatory Toxicology And Pharmacology*, 28:212–221, 1998.
100. BLACKWELL PA, LUTZHOFT HCH, MA HP, HALLING-SORENSEN B, BOXALL ABA, KAY P. Fast and robust simultaneous determination of three veterinary antibiotics in groundwater and surface water using a tandem solid-phase extraction with high-performance liquid chromatography–UV detection. *Journal of Chromatography A*, 1045:111–117, 2004.
101. BLACKWELL PA, KAY P, BOXALL ABA. The dissipation and transport of veterinary antibiotics in a sandy loam soil. *Chemosphere*, 67:292-299, 2007.
102. FORSTER JC. Soil sampling, handling, storage and analysis. In: Alef K & Nannipieri P (Eds) *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry* (pp 49–121). Academic Press, London, 1995.
103. CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH (CDER). *Reviewer Guidance – Validation of Chromatographic Methods*, 1994.
104. BOUYOUCOS GD. A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of the soil. *Agronomy Journal*, 43: 434-438, 1951.
105. TÜRK STANDARDI (TS). *Topraklar-organik madde tayini, Metot TS 8336*, 1990. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Cation Exchange capacity of soils (sodium acetate). Method 9081-1, 1986
106. HACH COMPANY. *Instruction manual-Digesdahl digestion apparatus Model 23130-20*, 21.

107. HACH COMPANY. Procedures manual-DR/2010 spectrophotometer-Method 8048, 8075.
108. KAN İ. Biyoistatistik. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı, Yayın no:128, Bursa,1998.
109. ÖZDAMAR K. Paket Programlar ile İstatiksel Veri Aanalizi 2, Kaan Kitabevi, 4. Baskı, Ankara, 2002
110. EUROPEAN UNION (EU). The environmental impact of dairy production in the EU: practical options for the improvement of the environmental impact, Final Report, CEAS 1779/BDB, 2000.
111. LOKE ML, TJONELUND J, HALLING-SORENSEN B. Determination of the distribution coefficient (log K_d) of oxytetracycline, tylosin A, olaquinox and metronidazole in manure. *Chemosphere*, 48:351–361, 2002.
112. BIOTAGE. Analytical sample preparation catalogue. 2006.
113. SILVIA MDC, ALDA MJL, BARCELO D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends in Analytical Chemistry*, 22(6):340-351, 2003.
114. WEBER J, KARCZEWSKA A, DROZD J, LICZNAR M, LICZNAR S, JAMROZ E, KOCOWICZ A. Agricultural and ecological aspects of a sandy soil as affected by the application of municipal solid waste composts. *Soil Biology & Biochemistry*, 39:1294–1302, 2007.
116. MARTINEZ-CARBALLO E, GONZALEZ-BARREIRO C, SCHARF S, GANS O. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environmental Pollution*, Baskıda:1-10, 2007.
117. SCHMITT H. The effects of veterinary antibiotics on soil microbial communities. *Optima Grafische Communicatie B.V.*, Rotterdam, 2005.
118. KACAR, B, KATKAT V. Gübreler ve gübreleme tekniği. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı, Yayın no:144, Bursa,1999.
119. TIQUIA SM, TAM NFY, HODGKISS IJ. Changes in chemical properties during composting of spent pig litter at different moisture contents. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 67:79-89, 1998.
120. BULLUCK LR, BROSIUS M, EVANYLO GK, RISTAINO JB. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19:147–160, 2002.
121. ADANI F, GENEVINI P, TAMBONE F, MONTONERI E. Compost effect on soil humic acid: A NMR study. *Chemosphere* 65:1414–1418, 2006.
122. CHATZITHEODOROU IT, SOTIROPOULOS TE, MOUHTARIDOU GI. Effect of nitrogen, phosphorus, potassium fertilisation and manure on fruit yield and fruit quality of the peach cultivars “Spring Time” and “Red Haven”. *Agronomy Research* 2(2):135-143, 2004.
123. PEU P, BIRGAND F, MARTINEZ J. Long term fate of slurry derived nitrogen in soil: A case study with a macro-lysimeter experiment having received high loads of pig slurry (Solepur). *Bioresource Technology*, 2007.
124. KIHANDA FM, WARREN GP, MICHENI AN. Effect of manure application on crop yield and soil chemical properties in a long-term field trial of semi-arid Kenya. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 76:341–354, 2006.
125. WHALEN JK, CHANG C, CLAYTON GW, CAREFOOT JP. Cattle Manure Amendments Can Increase the pH of Acid Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 64:962–966, 2000.

126. GUERRA-RODRIGUEZ E, ALONSO J, MELGAR MJ, VAZQUEZ M. Evaluation of heavy metal contents in co-composts of poultry manure with barley wastes or chestnut burr/leaf litter. *Chemosphere*, 65:1801–1805, 2006.
127. BRONICK CJ, LAL R. Soil structure and management: a review. *Geoderma* 124:3-22, 2005.
128. MACKAY AA, CANTERBURY B. Oxytetracycline Sorption to Organic Matter by Metal-Bridging. *Journal of Environmental Quality*, 34:1964–1971, 2005.
129. MONTFORTS M. ERAVMIS: Environmental risk assessment of veterinary medicines in slurry. A guide to risk assessment of veterinary medicinal products used in animal husbandry, EVK1-CT-1999-00003. RIVM report 601450018/2003.
130. HALLING-SORENSEN B. Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming. *Chemosphere*, 40:731-739, 2000.
131. KAHLE M, STAMM C. Time and pH-dependent sorption of the veterinary antimicrobial sulfathiazole to clay minerals and ferrihydrite. *Chemosphere*, baskıda, 2007.
132. WANG Q, GUO M, YATES SR. Degradation Kinetics of Manure-Derived Sulfadimethoxine in Amended Soil. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54:157-163, 2006.
133. HALLING-SORENSEN B, SENGELOV G, INGERSLEV F, JENSEN LB. Reduced Antimicrobial Potencies of Oxytetracycline, Tylosin, SDZ, Streptomycin, Ciprofloxacin, and Olaquinox due to Environmental Processes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44:7–16, 2003.
134. LI Y, MCCRORY DF, POWELL JM, SAAM H, JACKSON-SMITH D. Survey of Selected Heavy Metal Concentrations in Wisconsin Dairy Feeds. *Journal of Dairy Science*, 88:2911–2922, 2005.

8. TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarına birlikte başladığım emekli hocam Prof.Dr.Selahattin Ceylan'a; tüm projelerime desteğini esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Songül Sonal'a; beni destekleyen ve bilimsel olarak yönlendiren danışmanım Yrd.Doç.Dr.Hasan Hüseyin Oruç'a ve çalışma arkadaşlarıma; tezimin şekillenmesinde önemli katkıları olan ve laboratuvar olanaklarını sunan danışmanım Prof.Dr.Işıl Balcıoğlu'na (Boğaziçi Üniversitesi, Çevre Bilimleri Enstitüsü) teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarında beni teknik olarak yönlendiren Utrecht Üniversitesinden Dr. Heike Schmitt'e ve moleküler biyolojiyi öğrenmemi sağlayan Prof.Dr.Christoph Leammeler ve Dr.Jörg Alber'e (Justus-Liebig Üniversitesi) teşekkür ederim. Merhum babama ve aileme bu konumda olmamı sağladıkları için minnet borçluyum. Yurt dışı çalışmalarımı büyük bir sabırla destekleyen sevgili eşim Dr.Tülin Gündüz Cengiz'e teşekkür ederim.

9. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Diyarbakır'ın Çermik ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi aynı yerde sürdürdüm ve 1994 yılında Çermik Lisesinden mezun oldum. 1995 yılında Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesine girdim ve 2000 yılında dereceyle yüksek lisans öğrenimi tamamladım. 2002 yılında Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında doktora eğitimine başladım. 2003 yılında Justus-Liebig University Institute of Pharmacology and Toxicology, Giessen, Almanya'da bir ay, 2004 yılında aynı yerde 3 ay, bakteri virulans faktörlerinin moleküler yöntemlerle araştırılması konusunda çalışmalarda bulundum. 2005 yılında Utrecht University Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS) ve Institute for Public Health and the Environment (RIVM, laboratory LER) Utrecht, Hollanda da 6. Çerçeve Programı kapsamında bir AB araştırma projesi olan ERAPharm'a katıldım ve antibakteriyel ilaçların farklı matrislerde tespit edilmesi konusunda üç ay çalışmalar yaptım. 2006 yılında aynı laboratuarlarda TÜBİTAK-BİDEB'in sağladığı destekle ekolojik direncin moleküler yöntemlerle araştırılması konusunda üç ay çalışmalara katıldım. Halen, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Evliyim.