

BİYOLOJİK MATERYALDE ARSENİK ARANMASI

Yusuf Şanlı*

Sezai Kaya*

The investigation of arsenic residues in Biological material

Summary: *This study was conducted to determine the residues of total arsenic in some toxicological material and to modify a method that was simple and fairly sensitive. The residues of arsenic were determined by modified Gutzeit procedure. Organic material was destructed with the aid of sulfuric acid, hydrochloric acid and perchloric acid. Digested material was dissolved in deionized water that was transferred quantitatively to arsin generator. After the solution was made acidic with hydrochloric acid, potassium iodide and stannous chloride was added to mixture. Thus, the arsenic was converted to pentavalent form. Thereafter, arsin gase was produced. The method that was used has based upon the formation of orange color spot on the filter paper that was impregnated with mercuric chloride.*

It was found from the results of recovery experiments that the sensitivity of the method was 0.0375 ppm arsenic.

During the period March 1981 November 1983, 38 biological materials consisting of four fish, one wheat and 33 tissue, ingluve, rumen, stomach and intestinal content samples that belong to various animals (chicken, goose, sheep, cattle, dog and turkey) were analysed for residues of total arsenic. It was calculated from the residue analysis that 47 percent of them (consisting of four ingluves content, seven intestinal content, four liver samples, one kidney, spleen and wheat sample) contained on average 4.52 ppm arsenic. The highest level arsenic was determined in the content of chicken ingluves, while the lowest level was observed in the liver of same species.

It is concluded from the interpretation of results that the low level residues of arsenic can be determined in biological material by this procedure and arsenic is kept its importance as causative agent in poisoning in animal species.

* Doç.Dr., A.Ü.Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Bilim Dalı. Ankara.
* Dr. A.Ü.Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Bilim Dalı. Ankara

Özet: *Bu çalışmada, bazı toksikolojik materyalde arsenik varlığının saptanması ve buna yönelik olarak mikrogram düzeyinde duyarlı ve nisbeten basit bir metod modifikasyonu amaçlanmıştır. Modifikasyonu denenen metod doğum halindeki arsının civa-2-klorür emdirilmiş süzgeç kağıdında turuncu renkte leke oluşturması esasına dayanmaktadır. Klasik Gutzeit metodundan esinlenerek modifiye edilen metoda göre yapılan kazanç denemeleri sonucunda 0.0375 ppm düzeyinde arsenik varlığının saptanabileceği anlaşılmıştır.*

Mart 1981 - Kasım 1983 tarihleri arasında Farmakoloji-Toksikoloji Bilim Dalına gönderilen çeşitli toksikolojik analiz materyali arasından seçilen toplam 38 nümunenin 18'inde (4 kursak içeriği, 7 mide-barsak içeriği, 4 karaciğer, 1 böbrek, 1 dalak ve 1 buğday) ortalama 4.52 ppm düzeyinde arsenik saptanırken, geri kalan nünunelerde arsenik varlığına rastlanamamıştır.

Çalışmaya ilişkin bulguların değerlendirilmesi sonucunda, modifiye edilen yöntemle çok düşük düzeylerdeki arsenik varlığının saptanabileceği ve evcil hayvanlarda zehirlenmelere neden olma bakımından arseniğin geleneksel önemini koruduğu anlaşılmıştır.

Giriş

Arsenik evcil hayvanlarda sık sık zehirlenmelere neden olan metallerden biridir. Çeşitli inorganik ve organik bileşikleri halinde doğrudan insektisid, herbisid ve akarısit olarak kullanılmasına koşut olarak boya endüstrisi, süs kağıtçılığı, seramikçilik ve ağaç prezervatifi olarak geniş bir uygulama alanı bulmuş olması belirtilen önemini daha da artırmaktadır (3, 15, 17, 24). Ayrıca, cinayet ve intihar amacıyla fazlaca başvuru maddelerden birisidir. Kanatlı ve domuz besiciliğinde metabolik etkinlikleri kamçılایıcı madde olarak ppm yoğunluklarda yemlere katılan organik arsenik bileşiklerinin aşırı yoğunluklarda kullanılması ve benzeşim hataları da evcil hayvanlarda zehirlenme olasılığını artırmaktadır (1, 4, 5, 26, 32).

Çevrede bulunan arsenikli artıklar doğal koşullara çok dayanıklı olduğundan, pestisid uygulamaları kalıcı kirlenmelere yol açar (11, 25, 28). Ekilebilen alanların doğal arsenik içeriği 5 ppm düzeyindedir. Pek çok kültür bitkisinde bu değerler 0.1-10 ppm arasında değişir (16). Arsenik püskürtülmüş meyve ve sebzeler zehirlenme kaynağı olabilirler. Toz ya da sprey halindeki tarımsal mücadele ilaçları, uygulayıcılara olduğu kadar, bunlarla kirlenmiş ürünleri tüketenler için de sürekli bir tehlike kaynağı oluşturulur (2, 28, 32).

Arsenik yönünden zengin olan yörelerden sağlanan yeraltı suları ya da böyle alanlardan geçen akarsular arsenikle kirlenebilirler. Bu durumdaki suların kanser riski taşıdığı ve böyle suları kullananlarda kansere yakalanma sıklığının yüksek olduğu belirtilmişse de (12), organik ve inorganik arsenik bileşikleriyle yapılan hayvan denemelerinde tümörlere yol açtığına ilişkin kesin kanatlara rastlanamamıştır (27).

Arsenik, değişik yoğunluklarda maden kömüründe de bulunur ve yakılma sırasında çevreye yayılır. Metal cevherlerinin işlenmesi ve arsenik üretimi aşamalarında da trioksit bileşiği halinde çevreye yayılarak toprak, su ve bitkilerin farklı derecelerde kirlenmesine yol açar (2, 20).

Ayrım göstermeksizin tüm canlılar üzerinde toksik etkili olan arsenik genellikle elementer, üç ve beş değerli bileşikler halinde bulunur. Zehirlilikleri vücutta birikme ya da atılma hızıyla yakından ilişkilidir. Genellikle zehirlilikleri arsin, As^{3+} As^{5+} R-As-X sırasını izleyerek azalır. Beş değerli arsenik bileşikleri (sodyum arsenilat, kurşun arsenat) enzimlerin tiyol gruplarıyla daha zayıf bağlar oluşturdıklarından üç değerli bileşiklerden (potasyum arsenit, arseniyöz asit bileşikleri) daha az zehirlidirler (1, 5, 11, 28).

Zehir etkisinin ve zehirlenme olgusunun gelişmesine çok sayıda etken karıştığından, arsenikli bileşiklerin zehirliliği de önemli derecede ayırım gösterir. Bir örnek vermek gerekirse; arsenik trioksitin ağız yoluyla öldürücü dozları gram olarak sığırdada 5-15, koyun ve keçide 3-10, köpekte 0.1-1.5 ve kanatlılarda 0.05-0.3; sodyum arsenitin sığırdada 1-4, koyun ve keçide 0.2-0.5 köpekte 0.05-0.15 ve kanatlıda 0.01-0.1'dir (5). Sodyum arsenitin sığırlara deri altı verilen öldürücü dozu da 0.15 mg/kg'dır (28).

Sindirim kanalından emilebilen tüm arsenik bileşikleri zehirlidir. Arsin ve atil arsin akciğerlerden de emilir. Arsenitler suda daha kolay çözünürler ve o ölçüde de kolay emilirler. Barsak içeriği ve mukozası ile daha az reaksiyona girmeleri sebebiyle beş değerli arsenik bileşikleri üç değerlilere göre daha kolay emilirler. Alınan arsenik başlıca karaciğer olmak üzere böbrek, sindirim kanalı çepere, dalak ve akciğerde birikir. Sinir ve kas dokusunda da düşük yoğunluklarda bulunur. Keratinize dokular bağlayıcı nitelikli sülfidril gruplarınca zengin olması nedeniyle, arsenik, kıl, tüy ve tırnaklarda yüksek yoğunluklarda birikir. Düşük dozlarda alınan arsenik iki hafta içerisinde

kıllarda birikmeye başlar ve uzun süre yoğunluğunu korur. Ergin koyunların çeşitli dokularında bulunan doğal arsenik yoğunluğu mg/100 g olarak şöyledir: karaciğer 0.005, böbrek ve beyin 0.0048, kıl 0.01 .Besin maddelerinde bulunmasına izin verilen kalıntı miktarı 0.25 p.p.m'le sınırlandırılmıştır (1, 30).

Arsenik başlıca idrar ve gaitayla olmak üzere ter, süt, deri, kıl, ve akciğerlerden atılır. Alınan tek bir dozun vücuttan atılması 10 gün kadar sürmesine karşın, tekrarlanan dozlarının alınması söz konusu olduğunda bu süre 70 güne kadar uzayabilir. Belirtilen özelliği nedeniyle arsenik kolaylıkla canlı organizmalarda birikebilir. Arsenikli yabancı ot ilaçlarının püskürtüldüğü bitkilerle beslenen ineklerin sütlerinde insanlar için zehirleyici olabilecek düzeyde arsenik bulunabilmektedir (5, 11, 26, 30).

Canlı vücudunda bulunan arseniğin biyokimyasal temeldeki etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla beraber protoplazmik bir zehir olarak davranmak suretiyle mitokondriyal oksidasyon ve fosforilasyon etkinliklerini önlediği bilinmektedir. Keza arsenat halinde inorganik fosfat yerine geçmek suretiyle sonuçta hızla hidrolize olabilen doymamış bir arsenat esteri oluşturması ile bu bileşiğe ilişkin etkinlikleri bloke ettiği sanılmaktadır. Tüm arsenit bileşikleri sülfidril gruplarına karşı aşırı derecede ilgi söterirler. Bu nedenle de sülfidrilli enzimlerle birleşerek onları güçlü bir şekilde inhibe ederler. Belirtilen türden olumsuz etkilerinc karşı özellikle yapılarında iki sülfidril grubu içeren piruvat dehidrojenaz enzim sistemi duyarlılık gösterir. Çünkü söz konusu enzimler arsenikle halkalı bir kompleks oluşturmak suretiyle uzun süre inhibisyona uğrarlar (11).

Arsenik insan lökosit hücre kültürlerinde kromazomal bozukluklara neden olur. Hamsterlerde teratojenik etkiye sahiptir (11, 14).

Arsenikle zehirlenmede tanı, klinik ve laboratuvar bulgularına dayanır. Klinik olarak ani başlayan sancı, sürgün ve kusma gibi belirtilerin ortaya çıkışı irkiltici zehirlerden ileri gelen bir zehirlenmeyi akla getirir. Başlangıcının hızlı oluşu arseniği düşündürür (2, 4, 21, 22, 29). Gerek akut ve gerekse kronik zehirlenmeler kesin şekilde laboratuvar analizleriyle ortaya konulabilir (2, 9, 10, 19, 20, 31, 32).

Bu çalışmada, tanı, denetim, kirlenme varlığının ortaya çıkarılması ve adli gereksinimleri karşılayabilecek şekilde çeşitli biyolojik doku ve sıvılarda arsenik analizi amacıyla geleneksel Gutzeit yöntemi esasına dayanan değişik bir uyarılma denendi ve söz konusu materalden seçilen analiz örneklerinde total arsenik içeriği saptandı.

Materyal ve Metot

Çalışmada analiz materyali olarak toksikolojik tanı amacıyla çeşitli kamu kuruluşları ve özel şahıslar tarafından bilim dalımıza getirilen 18 rumen, kursak, mide ve barsak içeriği, 9 karaciğer, 4 böbrek, 2 dalak, 4 balık ve 1 buğdaydan oluşan toplam 38 örnek kullanıldı. Mart 1981 ile Kasım 1983 tarihleri arasında zehirlenme sonucu ölmekten şüpheli 23 hayvandan (3 ısrır, 2 koyun, 6 köpek, 11 kanatlı ve balık) alınan örneklerin ya istem üzerine ya da yoklama niteliğinde arsenik varlığı yönünden analizleri yapıldı.

Ayrıçlar ve Aygıtlar

- 1- *Derişik nitrik asit*, Merck Art. No: 443.
- 2- *Derişik sülfirik asit*, Merck Art. No: 713.
- 3- *Derişik hidroklorik asit*, Merck Art. No: 314.
- 4- *Perklorik asit* (% 60 yoğunluklu), Merck Art. No: 420.
- 5- *Standart arsenik çözeltileri* : 0.1 g. arı arsenik trioksit 100 ml'lik balon jodede önce 25 ml % 20'lik sodyum hidroksitte çözdürüldükten sonra damıtık suyla hacmi 100 ml'ye ulaştırıldı (stok çözelti 1). 4 ml stok çözelti 100 ml'ye seyreltilerek stok çözelti 2 elde edildi. Bundan da 5 ml alınıp 100 ml'ye seyreltilmek suretiyle 2 µg/ml yoğunluklu çalışma standardı hazırlandı.
- 6- % 15'lik *potasyum iyodür çözeltisi* : Ağırlık/hacim esasına göre damıtık suda hazırlandı ve çözelti koyu renkli şişede tutuldu.
- 7- % 40'lık *kalay klorür çözeltisi* : Konsantre HCl' ile hazırlandı.
- 8- % 5'lik *süblime çözeltisi* : Ağırlık/hacim esasına göre % 95'lik etil alkolde hazırlandı.
- 9- *Civa-2-klorür emdirilmiş süzgeç kağıdı* : 10 cm çapında ya da 10 × 10 boyutlarında kesilmiş Whatmann No: 1 süzgeç kağıtları % 1' lik süblime çözeltisine daldırılarak 1 saat süreyle tutuldu. Bu süre sonunda çözelti tankından çıkartılan kağıtlar cam bagetlere asılarak kurutuldu ve sıkıca kapatılmış koyu renkli şişede saklandı (9).
- 10- *Arseniksiz çinko granülleri*, B.D.H.
- 11- *Aktive edilmiş çinko granülleri* : Uygun hacimde bir erklenmayer-200 g. çinko granülü konulup üzeri kapatılana kadar 1 kısım derişik hidroklorik asit ve 3 kısım damıtık su karışımıyla doldurulduktan sonra 2 ml kalay klorür çözeltisi katılarak 15 dakika bekletilip, asitli su dö-

külerek çinko granüllerinin sıcak damıtık suyla iyice yıkanması suretiyle hazırlandı.

12- *Doymuş amonyum oksalat çözeltisi.*

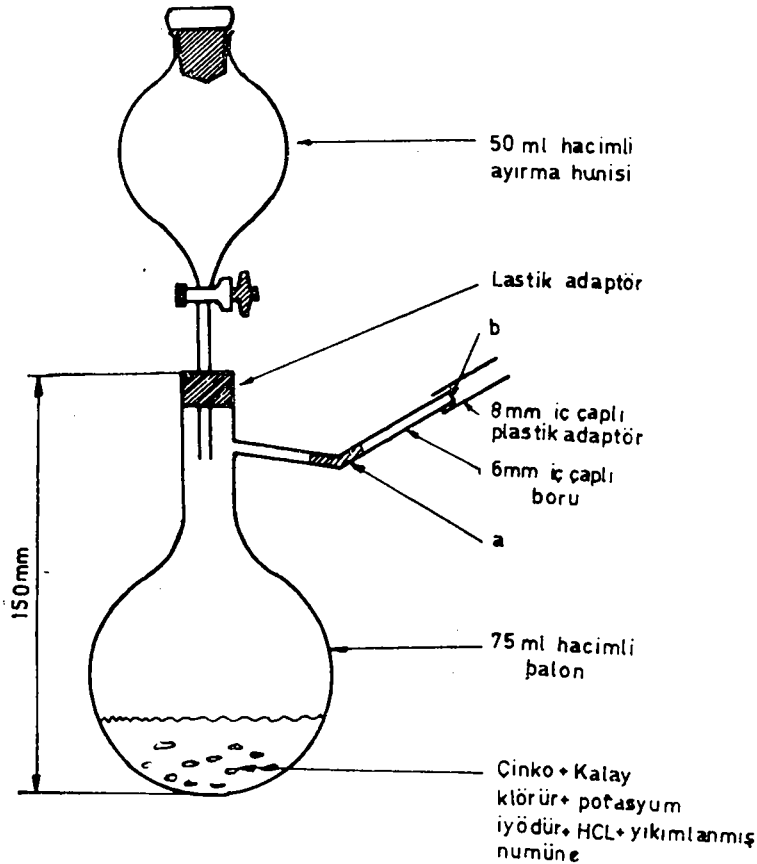
13- % 20'lik kurşun asetat çözeltisi: Ağırlık/hacim esasına göre damıtık suyla hazırlandı.

14- *Değiştirilmiş Gutzeit aygıtı*: Biçimi ve ölçüleri Şekil 1'de görülen aygıtın uyarlanmasında uygun hacimli balon kısmında yeterli ölçüde hidrojen üretilip ortamda bulunan elementer arsenikle arsin oluşturduktan sonra şekillenen basınçlı gaz akımıyla bu bileşiğin, ucunda civa-2-klorürlü kağıt bulunan, dar bir soru kısmından etkili yoğunlukta sürüklenmesi amaçlanmıştır.

Organik maddelerin yıkımlanması: Analiz materyalini oluşturan kursak, mide-barsak içeriği ve doku örnekleri homojenize edildikten sonra 10 ± 0.1 g tartılarak yıkımlanma balonuna kondu. Birinci aşamada üzerine 10 ml derişik nitrik asit ve 5 ml derişik sülfirik asit katıldıktan sonra, çeker ocakta uygun bir ısıtıcı yardımıyla dokusal çözümlü sağlanana değin ısıtıldı. İkinci aşamada bir kaç kez 2 ml hacimde derişik nitrik asit katılarak ısıtılma işlemi sürdürülmek suretiyle organik madde içeriğinin tümüyle yıkımlanması sağlandı. Bu işlemin gerçekleşme derecesi, yıkımlama sıvısı renginin koyu kahveden açık sarı renge dönmesiyle ve beyaz renkli asit buharlarının çıkmaya başlamasıyla kontrol edildi. Üçüncü aşamada yıkımlama sıvısına 0.5 ml perklorik asit katılarak hacmi 2-3 ml'ye incine değin tekrar ısıtıldı. Dördüncü aşamada soğutulmuş yıkımlama balonuna 17 ml amonyum oksalat çözeltisi katılarak karıştırıldı ve ısıtıcıya yerleştirilerek sıvı içerik tükenene değin kaynatıldı. Tümüyle kurumadan ısıtıcıdan indirilen yıkımlama balonu soğutulduktan sonra içeriği 15 ml damıtık suda çözdürüldü.

Yarı-nicel ölçüm: Çalışma materyalini oluşturan biyolojik örneklerin arsenik yönünden analizinde Thienes ve Haley (32) tarafından önerilen modifiye Gutzeit yöntemi esas alındı. Analiz aşamaları laboratuvar olanaklarımıza göre uyarlanan yöntemin ilkesi; Şekil 1'de görülen aygıtta basınçlı hidrojen üretilip, aynı ortama katılan elementer arsenik ile arsin oluşturduktan sonra, balonda biriken gaz aracılığıyla arsin içeriğinin dar bir boru kısmından geçerken aynı borunun çıkış ucuna yerleştirilen süzgeç kağıdında bulunan civa-2-klorür ile birleşerek turuncu renkli lcke oluşturması esasına dayanır.

İşlemler: Yıkımlama sıvısı değiştirilmiş Gutzeit aygıtına aktarıldı. Üzerine 5 ml derişik hidroklorik asit, 5 ml potasyum iyodür ve 4 damla da kalay klorür çözeltileri katıldı. Karışım oda ısısında 10 dakika bekletildikten sonra, aygıtın çıkış borusunun "a" ile işaretlenen kısmına kurşun asetat emdirilmiş pamuk tamponu yerleştirildi ve uç kısmına da (Şekil 1/b, 1.5 cm çaplı civa-2-klorör emdirilmiş süzgeç kağıdı yerleştirilerek, plastik boru adaptörüyle sıkıştırıldı. Aygıtta 25 g. aktive edilmiş çinko granülü katılarak, hızla ağzına adaptörlü ayırma hunisi yerleştirildi. Huni yardımıyla sıvı içeriğın hacmi 40 ml'ye ulaşacak şekilde damıtık su katıldı. Aygıt, tepkimenin gelişi-



ARSİN JENERATÖRÜ

mesi ve tamamlanması için oda ısısında 1.5 saat bekletildi. Bu süre sonunda civa-2-klorörlü süzgeç kağıdı alınarak numaralandıktan sonra sıcak parafine daldırıldı. Buradan çıkartılan kağıt parafin katmanının katılması için kısa bir süre bekletildikten sonra, yarı nicel ölçümde değerlendirilmek üzere iki saat camı arasına yerleştirildi.

Standart leke kromatogramlarının hazırlanması: İşlem bölümünde belirtildiği şekilde yıkımlama sıvısı yerine çalışma standardından ayrı ayrı, 0.1; 0.25; 0.50; 1.0; 2.0; 4.0; 8.0; ve 10.0 ml konulmak ve aynı işlemler uygulanmak suretiyle standart leke kromatogramları hazırlandı. Standart lekeler hazırlanırken her defasında aynı miktarlarda ayıraç ya da kimyasal madde kullanılmasına, benzer laboratuvar koşullarının sağlanmasına ve belirtilen tepkime süresince bekletilmesine özen gösterildi.

Yoğunluk saptanması: Saat camları arasına yerleştirilmiş olan analiz örneği ve arsenik standartlarına ait leke kromatogramları büyüklük ve renk koyuluğu bakımından karşılaştırıldı. Belirtilen yönlerden analiz örneğinden elde edilen leke ile aynı veya en yakın durumda olan standart arsenik lekesinin yoğunluğu örnekte bulunan arsenik varlığı olarak seçildi ve sonuç ppm olarak değerlendirildi.

Bulgular

Bireysel analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1'de görüldüğü gibi 23 hayvandan alınan toplam 38 analiz örneğinin 18 inde (% 47) arsenik varlığı saptanmıştır. Söz konusu analiz örneklerindeki ortalama arsenik yoğunluğu 4.52 ppm olarak hesaplanırken, en düşük ve en yüksek analiz değerleri de sırayla 0.125 ppm. ile 24 ppm. boyutlarında görülmüştür. Bunlardan 0.125-0.3 ppm yoğunlukları arasında kalan ve hepsi de karaciğer örneklerinde saptanan değerlerin anılan organlardaki doğal arsenik düzeylerini temsil etmesine karşın, geri kalanların da olağan dışı arsenik varlığının birer yansıması olabileceği anlaşılmıştır.

Analiz yönteminde yapılan uyarlamalarla Thienes ve Haley (32) in önerdiği modifiye Gutzeit yöntemine göre nisbeten daha basit aygıtlarla ve kısıtlı olanaklarla arsenik analizi amaçlanmıştır. Ayrıca daha küçük hacimli bir jeneratörde arsin oluşturarak, bunu daha küçük çaplı bir tepkime borusundan geçirmek suretiyle, aygıtın verimliliğinin ve sonuçta yöntemin duyarlılık düzeyinin artırılması tasarlanmıştır. Belirtilen yönde yapılan uyarlamaların geçerliliğini doğrula-

Tablo 1. Arsenik analiz sonuçları (ppm veya mg/kg olarak)

Sıra No	Gönderilen Yer	Marazi Maddenin Türü	Bulunan Arsenik
1	Bergama Vet.Hek.	Dana: Mide içeriği	1.1
2	Kula Vet.Hek.	Sığır: Mide-barsak içeriği	—
3	Kastamonu Vet.İş.Md.	Tavuk: Kursak içeriği	1.8
4	Köyceğiz Vet.Hek.	Tavuk: Kursak içeriği	—
5	Mamak Em.Amırlığı/Ankara	Kaz: Mide içeriği	0.3
6	Havza Vet.Hek.	Koyun: Karaciğer içeriği Dalak Böbrek	0.3 — —
7	Dinar Vet.Hek.	Koyun: Karaciğer	—
8	Mamak/Ankara	Tavuk: Kursak içeriği	—
9	Kula Vet.Hek.	Kaz: Kursak içeriği	6.6
		Sığır : Rumen içeriği Karaciğer	— —
11	Yenimahalle/Ankara	Tavuk: Mide-barsak içeriği Kursak içeriği Karaciğer Böbrek Dalak	12.0 24.0 2.3 2.8 1.5
12	Pat.Ana.Bil.Dal.Baş./Vet.Fak.	Köpek: Karaciğer	—
13	Afyon Vet.İş.Müd.	Kaz: Mide-barsak içeriği	—
14	Çorum Vet.İş.Müd.	Köpek: Mide-barsak içeriği	1.7
15	Emirdağ Cumhuriyet Sav.	Hindi: Kursak içeriği	2.75
16	İçel Vet.İş.Müd.	Tavuk: Barsak içeriği	4.2
17	Ereğli Demir-Çelik Fb.	Balık (2 adet)	—
18	Pat.Ana Bil.Dal.Baş./Vet.Fak.	Köpek Karaciğer Böbrek	—
19	Patolojik-Baş./Vet.Fak.	Köpek: Mide içeriği Karaciğer	2.6 1.1
20	Gerede Veteriner Hekimliği	Köpek: Mide içeriği	—
21	Karadeniz Ereğli Vet.Hek.	Balık (2 adet)	—
22	Çorum Vet.İş.Müd.	Tavuk: Karaciğer Buğday	0.125 0.2
23	Pat.Ana Bil.Dal.Baş./Vet.Fak.	Köpek: Mide içeriği	1.0
24	Sandıklı Vet.Hek.	Tavuk: Kursak içeriği Karaciğer Böbrek	— — —

mak için gerçekleştirilen ön çalışmalarda arsenik standardı katılmaksızın yürütülen analiz işlemleri sonucunda civa-2-klörlü kağıtta hiç bir leke oluşmadığı belirlenmiştir. Buna karşın farklı yoğunluklarda arsenik katılarak yapılan aynı işlemler sonucunda civa-2-klörlü kağıtta kalıcı nitelikli ve arsenik yoğunluklarına göre farklı tonlarda turuncu renkli lekelerin oluştuğu görülmüştür.

Azalan yoğunluklarda arsenik standardı kullanılarak yapılan duyarlılık denemeleri sonucunda 0.5 μg 'dan daha düşük düzeylerde arsenik kullanılarak yapılan analizlerde civa-2-klörlü kağıtta değerlendirilecek nitelikte leke oluşmadığı saptanmıştır. Böylece uyarlanan yöntemin minimum duyarlılık düzeyinin 0.5 μg boyutunda olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber, çalışmada standart olarak arsenik trioksit kullanıldığından 0.5 μg bileşik elementer arseniğe çevrildiğinde uyarlanan yöntemle 0.375 μg (yaklaşık olarak 0.4 μg) arseniğin varlığı saptanabileceği anlaşılmaktadır. Ayrıca, mineralizasyon işleminde 10 g doku ya da biyolojik madde örneği kullanıldığından, kuramsal olarak yöntemin duyarlılık düzeyinin 0.0375 μg 'a (ya da ppm'e) kadar inebileceği hesaplanmıştır.

Yukarıda yapılan açıklanmalardan da anlaşılacağı gibi uyarlanan yöntemle yürütülen işlemlere engelleyici ve maskeleyici etkenlerin karışmadığı ve 0.0375 ppm'e kadar inebilen duyarlılık düzeyiyle, örneklerde bulunabilen doğal arsenik varlığının bile saptanabileceği anlaşılmıştır.

Tartışma ve Sonuç

Bilim dalımıza gönderilen ve çoğunluğu zehirlenmekten ölmekle şüpheli çeşitli türden hayvanlardan alınan otopsi materyalinde yoklama niteliğinde yapılan analiz sonuçlarına ilişkin bulguların değerlendirilebilmesi için literatürlerde benzeri verilerin elde edildiği olayların incelenmesinde yarar görülmüştür.

Arsenik yer kabuğunun doğal oluşumuna katılan elementlerden biridir. Bu nedenle tüm ekosistemlerde ve canlı türlerinde iz halinde arsenik bulunur. Ancak, canlılarda bulunan yoğunluğu yaşam koşullarına, beslenme şekline ve endüstriyel etkinliklerin derecesine göre önemli ölçüde değişebilir (3, 12, 22). Nitekim endüstriyel etkinlikler ve tarımsal savaş uygulamalarının yol açtığı çevre ve besin kirlenmelerinin sonucu olarak sağlıklı hayvan ve insanlara yansıyan arsenik yoğunluğunun giderek artış gösterdiği bilinmektedir (13, 25, 26, 28).

Arsenikli insektisid kalıntılarıyla bulaşmış rasyonlarla beslenen insanların idrar örneklerinde 0.01 mg/100 ml'ye ulaşan yoğunluklarda arsenik varlığına rastlanmıştır. Oysa sağlıklı insanların karaciğerlerinde 0.01-0.1 ppm, böbreklerinde 0.0-0.01 ppm, kanlarında 0.0-0.02 ppm saç örneklerinde de 0.05-0.5 ppm, arsenik bulunabilmektedir (32). Yoklama niteliğinde yürütülen kalıntı analizleri sonucunda tüketim amacıyla kesilen çeşitli türden hayvanların farklı organ ve dokularında 0.07-0.36 ppm yoğunlukları arasında arsenik varlığına rastlanmıştır (13, 18). Holm (13)'ün domuz, sığır ve at türlerinden oluşan toplam 2220 baş hayvan kesiminden sağladığı karaciğer, böbrek ve et örneklerinde gerçekleştirdiği kalıntı araştırması sonucunda bulunan arsenik değerlerinin 0.25 ppm'lik tolerans düzeyinden daha düşük yoğunluklarda olduğu anlaşılmıştır.

Çalışma materyalini oluşturan çeşitli biyolojik örneklerde saptanan arsenik değerleri yukarıda özetlenen literatür verileri karşılaştırıldığında, 6 No'lu koyun ile 22 No'lu tavuk karaciğer örneklerinde saptanan değerlerin doğal dokusal arsenik yoğunluğu düzeyinde kalmasına karşın, diğerlerindeki arsenik düzeylerinin anlamlı ölçüde yüksek olduğu dikkati çekmektedir.

Kaza sonucu veya deneysel amaçlarla zehirlenmiş ya da çevre ve besin kirlenmelerinden etkilenmiş hayvanların çeşitli organ ve dokularında arsenik analizlerini konu alan çok sayıda araştırmaya rastlamak olanaklıdır (7, 8, 13, 17, 18, 19, 22, 23, 30). Rosiles (26) tarafından yapılan bir araştırmada, akut arsenik zehirlenmesi sonucu ölmüş sığırların karaciğer örneklerinde ortalama olarak 15 ppm böbreklerinde 13 ppm ve kıl örneklerinde de 1.3 ppm arsenik bulunmuştur. Canlı kalan hayvanlardan zehirlenmenin 10. günü ve 4. haftasında alınan idrar örneklerinde sırasıyla ortalama olarak 18 ppm ve 3 ppm yoğunluklarda arsenik varlığı saptanmıştır. Mc Parland (24) kaza sonucu kurşun arsenatla zehirlenerek ölmüş 11 baş sığırın rumen içeriklerinde 478-531 ppm, barsak içeriklerinde 0.0-11.7 ppm, böbreklerinde 18.5-31.1 ppm arasında ve karaciğer örneklerinde de ortalama 15.7 ppm arsenik bulmuştur.

Bergeland ve Ark. (2) tarafından incelenen dolaylı bir toplu zehirlenme olgusunda, arsenik içeriğince zengin (2200 ppm) topraklarla bulaşmış mısır silajlarının 140 ppm. arsenikle kirlendiği ve bunlarla beslenme sonucu zehirlenerek ölen sığırların karaciğerlerinde 3 ppm., böbreklerinde 7 ppm ve kıl örneklerinde 2.4-22.0 ppm arasında arsenik belirlenmiştir. Öte yandan, arsenikli insektisid artıklarıyla

bulaşmış banyo teknesinde toplanan yağmur sularını içen 30 baş sığır ve danada başgösteren zehirlenme olayı, bunlardan 5'inin ölümüyle sonuçlanmıştır. Zehirlenmeye neden olan su örneğinde 200 ppm ve ölen hayvanların rumen içeriklerinde de 45 ppm arsenik saptanmıştır (23).

Analiz materyali olarak kullanılan kursak, rumen, mide-barsak içerikleri ve çeşitli dokulara ilişkin arsenik bulgularıyla yukarıda özetlenen literatür veriler karşılaştırıldığında, rakamsal değerlerin çoğunluğu arasında yakınlık bulunduğu fark edilmektedir. Bu durumda 5, 9, 11, 15 ve 16 numaralı örneklerin alındığı hayvanların ya arsenikle zehirlendiklerini ya da sakıncalı düzeylerde arsenik aldıklarını vurgulamaktadır. Analiz örneklerinin zehirlenerek ölmekten şüpheli hayvanlardan alınarak gönderilen materyalden oluşturduğu dikkate alınırca, sakıncalı derecelerde arsenik içeren örneklere rastlama ve % 13'e ulaşan zehirlenme olgularının sıklığı fazla şaşırtıcı bulunmamıştır.

Son yıllarda arseniğin çeşitli amaçlarla kullanımı giderek azalmakla beraber, halen insektisid, yabancı ot ilacı, ağaç prezervatifi, hayvanlarda gelişme hızlandırıcı amaçlarla yem katkı maddesi olarak, boya endüstrisi ve seramikçilikte azımsanmayacak ölçülerde kullanılmaktadır (7, 20, 30). Belirtilen alanlarda tüketilen arsenik evcil hayvanlarda sık sık zehirlenmelere kaynak oluşturduğu gibi bu metalin kasıtlı amaçlarla verilmesiyle oluşan, ya da benzeşim ve doz hatalardan kaynaklanan zehirlenmeler de ihmal edilemeyecek boyutlara ulaşır (3, 24).

Ülkemizde evcil hayvanlarda arsenikle zehirlenme olaylarının varlığına ya da sıklığına ilişkin yapılmış herhangi bir yayına rastlanmamıştır. Ancak, Ceylan ve Şener (6) tarafından yapılan bir yayında 1966-1975 yılları arasında toksikolojik tanı amacıyla Farmakoloji-Toksikoloji Bilim Dalına gönderilen 921 adet çeşitli toksikolojik materyalin 26'sında arsenik varlığına rastlandığı bildirilmektedir. Gerek söz konusu yayından (6) elde edilen veriler ve gerekse bu çalışmayla sağlanan bulgular ülkemiz evcil hayvanlarında da çeşitli nedenlerden kaynaklanan arsenikle zehirlenme olgularının bulunduğunu ve tüm zehirlenmeler içerisinde azımsanmayacak bir paya sahip olduğunu vurgulamaktadır. Bu gerçekler karşısında, arseniğin canlılarda kolayca birikici özelliğe sahip olduğu ve bir defada alınan miktarlarının bile ancak aylarca sonra vücuttan atıldığı dikkate alınırca (5), pek çoğu insan besini olarak kullanılan evcil hayvanlardaki

zorunlu kesimlerin ya da tanısı yapılamayan zehirlenmelerin yaratacağı halk sağlığı sakıncalarının önemi açıkça ortaya çıkmaktadır.

LİTERATÜR

- 1- **Arena, J.M.** (1974): *Poisoning: Toxicology, symptoms, treatments*. 3th ed. Charles Thomas publisher. Illionis U.S.A.
- 2- **Bergeland, M.E., Ruth, G.R., Stack, R.L. and Emerick, R.J.** (1976): *Arsenic toxicosis in cattle associated with soil and water contamination from mining operations*. Reprint from 9th Annual Proceedings American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians.
- 3- **Buck, W.B.** (1973): *Hazardous arsenical residues associated with the use of a lown crobgrass control preparation*. Vet. Toxicol., 15(2), 25-27.
- 4- **Case, A.A.** (1973): *Toxicity of various chemical agents to sheep*. J.A.V.M.A., 164(3), 277-283.
- 5- **Ceylan, S.** (1980): *Veteriner Toksikoloji* (Ders notları teksiri) F.Ü.Vet.Fak. Yayınları, Elazığ.
- 6- **Ceylan, S. ve Şener, S.** (1977): *1966-1975 yılları arasında Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsünde yapılan toksikolojik analizlerin sonuçları üzerine bir inceleme*. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 24 (2), 191-200.
- 7- **Daghir, N.J. and Hariri, N.N.** (1977): *Determination of total arsenic recidues in chicken eggs*. J.Agric.Food Chem., 25 (5), 1009-1010.
- 8- **Dorn, V.P. and Knoppler, H.O.** (1977): *Analysis of eggs and poultrymeat for chlorinated hydrocarbons, arsenic and for residues of lead, cadmium and mercury*. Berl.Münch.Tierarztl. Wschr., 90, 137-140.
- 9- **Furman, H.N.** (1972): *Standard methods of chemical analysis*. 6th ed., Vol 1. D.Van Nostrad Comp., Inc. New York-London.
- 10- **George, G.M., Frobrm, L.J. and Mc Donnell, J.P.** (1973): *Dry ashing method for the determination of total arsenic in animal tissues: Colloborative study*. Journal of the A.O. A.C., 56 (4), 793-797.
- 11- **Goodman, L.S. and Gilman, A.** (1980): *The pharmacological basis of therapeutics*. 6 th. ed. New York, Mac Millan.
- 12- **Gürtunca, Ş., Ceylan, S. ve Şanlı, Y.** (1973): *Ankara ve yöresindeki bazı işme ve kullanma suları örneklerinin arsenik yönünden araştırılması*. A.Ü.Vet.Fak.Derg., 20(1), 84-95.
- 13- **Holm, J.** (1978): *Arsenic residues in meat and organ samples from farm animals, water fowl and game*. Fleischwirtschaft, 58 (9), 1545-1546.
- 14- **Hood, R.D. and Bishop, S.L.** (1972): *Teratogenic effects of sodium arsenate in mice*. Arch. Environ. Health, 24 (1), 62-65.
- 15- **Humphreys, D.J.** (1980): *Recent trends in animal poisoning in UK*. Un trends in veterinary pharmacology and toxicology. Proceedings of the First European Congress. Zeist, Sep. 1979. Amsterdam, Netherlands, Elsevier.

- 16- **Kaçar, B.** (1972): *Bitki Analizi*. Ziraat Fakültesi Yayınları: 453 Uygulama Klavuzu 155. Ankara.
- 17- **Knopp, F.W., Labore, D.E. and Mac Lean, G.J.** (1977): *Cattle poisoned after ingestion of ashes from wood treated with heavy metal preservative*. *Vet.Med.Smoll Anim.Clin.*, 72(12), 1883-1884.
- 18- **Knoppler, H.O., Donnerbauer, H.J. und Philipp, A.** (1975): *Untersuchung von schlachtschweinen auf pestizid-und arsenrückstände*. *Fleischwirtschaft*, 55(10). 1460-1462.
- 19- **Krocza, W. und Schuh, M.** (1973): *Arsenrückstände im fleisch von schlachttieren*. *Wiener tierärztliche monatschrift*. 60 heft 12, 366-371.
- 20- **Ledet, A.E., and Buck, W.B.** (1978): *Toxicity of organic arsenical in feedstuffs. In toxicity of heavy-metals in the environment*. Part 1. (Ed. by Oehme, F.W.). New York, U.S.A. Mercel Dekker. pp. 375-391.
- 21- **Ledet, A.E., Duncan, J.R., Buck, W.B. and Ramsey, F.K.** (1973): *Clinical, toxicological and pathological aspects of arsenic acid poisoning in swine*. *Clinical Toxicol.*, 6 (3), 439-457.
- 22- **Maitau, C.K., Kamau, J.K., Gacuhi, D.M. and Njoroge.** (1975): *An outbreak of arsenic and toxaphane in Kenya cattle*. *Vet. Rec.*, 96(7), 151-152.
- 23- **McLean, M.W. and Dodsan, M.E.** (1972): *Arsenic poisoning in cattle*. *Australian Vet. J.*, 48 (6), 367.
- 24- **McParland, P.J. and Thompson, R.H.** (1971): *Deaths in cattle following ingestion of lead arsenate*. *Vet.Rec.*, 89 (16), 450-451.
- 25- **Radeleff, R.D.** (1970): *Veterinary Toxicology*. 2th ed., Lea and Febiger. U.S.A.
- 26- **Rosiles, M.R.** (1977): *Levels of arsenic detected in cattle at various intervals after accidental poisoning*. *Veterinaria, Mexico*, 8(4), 119-122.
- 27- **Schwabe, R.** (1978): *Biological effects of arsenicals: Literature review*. Inaugural Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover, 264 pp.
- 28- **Selby, L.A., Case, A.A., Dorn, C.R. and Wagsstaff, D.J.** (1974): *Public health hazards associated with arsenic poisoning in cattle*. *J.A.V.M.A.*, 165 (11), 1010-1014.
- 29- **Selby, L.A., Case, A.A., Osweiler, G.D. and Hayes, H.M.Jr.** (1977): *Epidemiology and toxicology of arsenic poisoning in domestic animals*. *Environmental Health perspectives*, 19, 183-189.
- 30- **Süren, K.** (1977): *Untersuchungen über arsenrückstände bei schlachtschweinen nach füttern von arsenisäure*. Inaugural Dissertation, Fachbereich Tiermedizin, München.
- 31- **Taras, M.J.** (1963): *Water analysis*. In: Welcher, F.J. ed. *Standard methods of chemical analysis*. Vol 2B. Industrial, natural products and noninstrumental methods. 6th ed. D.Von Nostrand Comp., Inc., New York-London, pp. 2402-2405.
- 32- **Thienes C.H. and Haley T.J.** (1972): *Clinical toxicology*. 5th ed. Lea and Febiger. Philadelphia, U.S.A.

Yazı 7.12.1983 günü alınmıştır.