



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TİCARİ OLARAK SATILAN KOLAJENLERDE OLASI AĞIR
METAL VE ANTİBİYOTİK KALINTISI VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Devran DEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Özlem YILDIZ GÜLAY

BURDUR-2023

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TİCARİ OLARAK SATILAN KOLAJENLERDE OLASI
AĞIR METAL VE ANTİBİYOTİK KALINTISI
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

Devran DEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FİZYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Özlem YILDIZ GÜLAY

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından BAP-0767-YL-21 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2023

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim ve tez dönemim süresince bana her konuda destek veren, yardım ve tavsiyelerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem YILDIZ GÜLAY'a, yine bu süreç boyunca kıymetli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak tez çalışmamın bütün aşamalarında yardımını benden esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY olmak üzere, Doç. Dr. Ahu DEMİRTAŞ'a, teşekkürü bir borç bilirim. Hayatım boyunca beni her destekleyen çok değerli abime anneme babama müteşekkirim. Eğitim sürecimde yanımda olan sevgili eşime desteklerinden dolayı teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL ve ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	v
TABLolar	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kolajenler	3
2.1.1. Kolajenlerin Yapısı	3
2.1.2. Kolajen Türleri	5
2.1.3. Kolajen Kaynakları	11
2.1.3.1. Doğal Kaynaklar	11
2.1.3.2. Sentetik Kaynaklar	12
2.2. Ağır Metaller	13
2.2.1. Cıva	14
2.2.2. Arsenik	17
2.2.3. Kurşun	20
2.2.4. Kadmiyum	23
2.2.5. Çinko	27
2.3. Antibiyotikler	32
2.3.1. Sülfonamidler	34
2.3.2. Tetrasiklinler	37
2.3.3. Streptomisin	42
2.3.4. Kloramfenikol	45
3. MATERYAL ve METOT	49
3.1. Analizlerde Kullanılan Cihazlar	49
3.2. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	49
3.3. Numune Örneklerinin Elde Edilmesi ve Saklanması	50
3.4. Numunelerde Ağır Metal Seviyelerinin Analizleri	50
3.5. Numunelerde Antibiyotik Seviyelerinin Analizleri	54
3.6. İstatistiksel Analizler	56
4. BULGULAR	57
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	93

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	A. Üçlü heliks yapısına sahip kollajen molekülü (Kramer ve ark., 1999) ve B. amino asit dizilimi(Li ve Wu, 2018).	5
Şekil 2.2.	En yaygın olarak bulunan bazı kolajen gruplarının mikroskopisi: A, Fibril oluşturuu kolajen (kolajen tip I), B, Bazal membran kolajen (kolajen tip IV), C, Mikrofibriler kolajen (kolajen tip VI), D, Ankraj fibril kolajen (kolajen tip VII), E, Kesintili Üçlü Helikslere Sahip Fibril İlişkili (FACIT) kolajen (kolajen tip XIII), ve F, Transmembran kolajen (kolajen tip XIII) (Avila Rodriguez ve ark., 2017).	7
Şekil 2.3.	A-Sülfonamid (SN), B-sülfametazin (SMZ) ve C-sülfadiazin'nin (SDZ-c) genel kimyasal yapıları (Ovung ve Bhattacharyya, 2021).	36
Şekil 2.4.	Minimum tetrasiklin farmakoforu olan 6-deoksi-6-demetiltetrasiklinin yapısı (Chopra ve Roberts, 2001).	40
Şekil 2.5.	Streptomisin'in kimyasal yapısı	43
Şekil 2.6.	Kloramfenikolün kimyasal yapısı	46
Şekil 3.1.	Çinko (Zn), Kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), Cive (Hg) ve arsenik (As) için ICPOES'de kalibrasyon grafikleri.	53
Şekil 4.1.	Gruplar arasındaki kadmiyum (Cd) seviyelerinin dağılımı. TRT1=balık kolajeni, TRT2=çiftlik hayvanı kaynaklı kolajen.	59
Şekil 4.2.	Gruplar arasındaki çinko (Zn) seviyelerinin dağılımı. TRT1=balık kolajeni, TRT2=çiftlik hayvanı kaynaklı kolajen.	59

TABLÖLAR

Tablo 2.1.	Kolajen türleri, insan vücudundaki işlevler veya endüstri alanındaki kullanımları.	9
Tablo 2.2.	Bazı İnorganik ve Organik Cıva Bileşiklerinin Kimyasal Kimliği	16
Tablo 3.1.	ICPOES analizinde kullanılan ölçüm alt sınırı (LOD), dalga boyu ve R^2 değerleri	51
Tablo 3.2.	Optima™ 8000 Optimize Edilmiş Deney Koşulları	52
Tablo 3.3.	HPLC analizinde kullanılan ölçüm alt sınırı (LOD), dalga boyu ve kalibrasyon fonksiyon değerleri.	55
Tablo 4.1.	Numunelerde bulunan kolajen seviyeleri	57
Tablo 4.2.	Numunelerde bulunan ağır metal konsantrasyonları (mg/kg).	58
Tablo 4.3.	Numunelerde bulunan antibiyotik kalıntı miktarları (mg/kg).	60

SİMGELER ve KISALTMALAR

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACN	Asetonitril
As	Arsenik
Asp	Aspartat
As₄	Sarı arsenik
CAS	Kimyasal Abstract Servis
CCA	Kromatlı bakır arsenat
Cd	Kadmiyum
CdS	Greenockite
CF	Çiftlik hayvanlarından elde edilen kolajen
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DSMA	Disodyummetilarsenat
ESI	Elektrosprey iyonizasyon kaynağı
FDA	ABD Gıda ve İlaç Dairesi
FACİT	Kesintili Üçlü Helikslere Sahip Fibril İlişkili Kollajen
Gly	Glisin
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HNO₃	Nitrik asit
HPLC	Hidroklorik asit
Hyp	Hidroksiprolin
Hg	Cıva
ICPOES	İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi
kDa	Kilodalton
L	Litre
MAPK	MAP kinaz
MeOH	Metanol
Mg	Magnezyum
µg	Mikrogram
mL	Mililitre
Mpa	Megapaskal
MRM	Çoklu reaksiyon izleme modu
MS	Kütle spektrometre analizi
MSMA	Monosodyum metil arsenat
Na	Sodyum
ng	Nanogram
NPAP	Nitrofenilaminaminopropanedion
OH	Hidroksil radikali
pH	Hidrojen gücü
ppb	Milyarda bir
Pb	Kurşun
ppm	Milyonda bir
PTFE	Politetrafloroetilen
RİPE	Rifampin, izoniazid, pirazinamid ve etanbutol
RNA	Rübonükleik asit

rRNA	Ribozomal RNA
RoHS	Tehlikeli mahhe kısıtlaması
SDZ	Sülfadiazin
SMZ	Sülfametazin
SN	Sülfanamid
Tm	Denatürasyon sıcaklığı
Ts	Büzülme sıcaklığı
UV	Ultraviole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Zn	Çinko
ZnS	Sfalerid



ÖZET

Ticari Olarak Satılan Kolajenlerde Olası Ağır Metal ve Antibiyotik Kalıntısı Varlığının Araştırılması

Ticari olarak satılan ambalajlanmış kolajenlerde ağır metal ve/veya antibiyotik kalıntısı olma riski bulunmaktadır. Çünkü kolajenler genel olarak çiftlik hayvanlarından ve deniz canlılarından elde edilmektedir. Günümüzde çevre kirliliğinde kritik aşamalara gelinmiştir. Piyasada satışa sunulan kolajen ürünlerinde "ağır metal içermez" veya "antibiyotik içermez" gibi bilgi notları bulunmamaktadır. Çalışmamızda bu yüzden bir destek ve besin maddesi olarak kolajenlerin fizyolojik güvenli sınırlarda olup olmadığının belirlenmesi amaçlı olarak satışta bulunan çiftlik ve deniz hayvanlarından elde edilen kolajenlerden laboratuvar koşullarında gerekli incelemeler yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla internet üzerinde satılan en popüler 25 sığır ve balık kolajenden 10'ar tanesi rastgele olarak seçilerek Burdur il merkezinde bulunan bir eczaneden satın alınmıştır. Satın alınan ürünler analizleri yapılana kadar -5°C'de saklanmıştır. Daha sonra bu ürünlerdeki çinko, kurşun, kadmiyum, cıva ve arsenik seviyeleri indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICPOES) kullanılarak analiz edilmiştir. Örneklerdeki streptomisin, sülfonamid, tetrasiklin ve kloramfenikol seviyeleri ise yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemi ile tayin edilmiştir. Bütün analizler Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne ait laboratuvarında yapılmıştır. Numunelerin hiçbirisinde kurşun, cıva ve arsenik kalıntısına rastlanmamıştır. Balık ve çiftlik hayvanlarından (CF) elde edilen kolajen örneklerindeki ortalama kadmiyum seviyesi gruplar arasında önemsiz bulunmuştur ($P=0,2548$). Balık kolajen numunelerindeki en düşük kadmiyum seviyesi 0,152 mg/kg, en yüksek kadmiyum seviyesi ise 0,288 mg/kg olarak tespit edilmiştir (ortalama $0,2495 \pm 0,0393$). CF kaynaklı kolajen örneklerinde tespit edilen kadmiyum seviyeleri 0,183 mg/kg ile 2,78 mg/kg arasında değişmiştir (ortalama $0,2311 \pm 0,0301$). İstatistiki olarak balık ve CF kolajenlerindeki ortalama çinko miktarı önemsiz bulunmuştur ($P=0,2644$). Balık kolajenlerindeki çinko seviyesi en düşük 1,368 mg/kg, en yüksek 2673 mg/kg olarak gözlenmiştir ($553,89 \pm 498,53$) olarak bulunmuştur. CF kolajenlerinde ise en düşük ve en yüksek çinko seviyelerinin sırasıyla 1,750 mg/kg ile 1528 mg/kg olarak ($155,92 \pm 148,49$) bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre değerlendirilmesi yapılan hiçbir kolajen numunesinde streptomisin, sülfonamid ve tetrasiklin kalıntısına rastlanmamıştır. Kloramfenikol sadece iki balık kolajen numunesinde gözlenirken, bu değerler normal ölçüm alt sınırının altında kalmıştır. Elde edilen değerler, ülkemizde satılan ticari kolajenlerde ağır metal ve antibiyotik kalıntısı riskinin düşük olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Ağır Metal, Antibiyotik, Balık Kolajeni, Çiftlik Hayvanları Kaynaklı Kolajen

ABSTRACT

Investigation of Possible Heavy Metals and Antibiotic Residues in Comercial Collagens

There is a risk of heavy metal and/or antibiotic residues in commercially available packaged collagen. This is because collagens are generally derived from farm animals and sea creatures, and today we have reached critical stages in environmental pollution. There are no information notes such as "heavy metal free" or "antibiotic free" on the collagen products offered for sale in the market. Therefore, the current study aimed to determine whether collagens as a support and nutrient substance were within physiologically safe limits and to ensure their safer use. For this purpose, 10 of the 25 most popular collagen from fish and farm animals (CF) sold on the internet were randomly selected and purchased from a pharmacy in Burdur city center and necessary analyzes were carried out under laboratory conditions. The purchased products were stored at -5°C until they were analyzed. The zinc, lead, cadmium, mercury and arsenic levels in these commercial products were then analyzed using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICPOES). Streptomycin, sulfonamide, tetracycline and chloramphenicol levels in the samples were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) method. All analyses were carried out in the laboratory of Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Scientific and Technology Application and Research Center. No lead, mercury and arsenic residues were found in any of the tested samples. The mean cadmium levels in fish and CF collagen samples were not significant between the groups ($P=0.2548$). The lowest cadmium level in fish collagen samples was 0.152 mg/kg and the highest cadmium level was 0.288 mg/kg (mean 0.2495 ± 0.0393). Cadmium levels detected in CF collagen samples ranged from 0.183 mg/kg to 2.78 mg/kg (mean 0.2311 ± 0.0301). The mean zinc levels in fish and CF collagen were not found significant ($P=0.2644$). The lowest zinc level in fish collagen was 1.368 mg/kg and the highest was 2673 mg/kg (553.89 ± 498.53). The lowest and highest zinc levels in CF collagen were 1.750 mg/kg and 1528 mg/kg, respectively (155.92 ± 148.49). According to the current results, no streptomycin, sulfonamide and tetracycline residues were found in any of the collagen samples evaluated. Chloramphenicol was only observed in two fish collagen samples, but these values were below the lower limit of normal detection. The results of the current study indicated that the risk of heavy metal and antibiotic residues in commercial collagen sold in our country is low.

Keywords: Heavy Metals, Antibiotics, Fish Collagen, Collagen from Livestock

1. GİRİŞ

Kolajen memelilerde en bol bulunan proteindir ve toplam protein içeriğinin yaklaşık %25'ini oluşturur. Kolajenler, basit ve tekrarlayan bir amino asit dizisine sahiptir. Amino asitlerin doğal diziliş özellikleri, üç benzer zincirin ayırt edici üçlü-helikal bir yapıda kendiliğinden bir araya gelmesini sağlar. Bu bağlamda işlevleri enzimler gibi globüler proteinlerden farklı olan uzun, lifli yapısal proteinlerden biridir. Kolajen lifleri olarak adlandırılan sert kolajen demetleri, çoğu dokuyu destekleyen ve hücrelere dışarıdan yapı kazandıran hücre dışı matrisin önemli bir bileşenidir, ancak kolajen bazı hücrelerin içinde de bulunur. Kolajen yüksek gerilme mukavemetine sahiptir ve kıkırdak, bağlar, tendonlar, kemik ve dişlerin ana bileşenidir. Yumuşak keratin ile birlikte cildin sağlamlığından ve elastikiyetinden sorumludur ve bozulması yaşlanmaya eşlik eden kırışıklıklara yol açar. Kan damarlarını güçlendirir ve doku gelişiminde rol oynar. Kozmetik cerrahi ve yanık cerrahisinde de kullanılır (Homes ve ark., 2018; Nimni, 1980).

Kolajen kozmetik cerrahide ve yanık hastaları için bazı deri ikamelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kolajenler, özellikle ciddi yanıkların tedavisinde kullanılan yapay deri ikamelerinin yapımında kullanılmaktadır. Bu kolajenler sığır veya domuz kaynaklı olabilir ve silikonlar, glikozaminoglikanlar, fibroblastlar, büyüme faktörleri ve diğer maddelerle birlikte kullanılır. Kolajen ticari olarak eklem hareketliliği takviyesi (glukozamin, glukozamin ve kondroitin) olarak satılmaktadır. Ayrıca, yaşlanma ile birlikte, mevcut kolajen miktarında azalma meydana gelir ve vücudun kolajen üretiminde bir azalma meydana gelir. Sonuç olarak, günümüzde birçok insan kolajen içeren hayvansal kaynaklı ticari preparatlar kullanmaya başlamıştır (Lafarga ve Hayes, 2014; Schmidt vd., 2016).

Günümüzde hem sağlık hem de genç kalma isteğine bağlı olarak ticari kolajen kullanımı da gün geçtikçe artmaktadır. Fakat, sanayileşmenin yaygınlaşması ve çiftlik hayvanlarından mümkün olduğunca fazla kar sağlama çabası yüzünden hem ağır metallerin yeryüzüne bırakılma oranları hem de antibiyotik kullanımı ciddi olarak artmaktadır. Bu metaller yeryüzünden yok edilemedikleri için ciddi ve kalıcı bir çevre kirliliğine yol açabilirler. Antibiyotikler de kullanıldıkları canlılarda belli

bir süre etkilerini sürdürürler (Laxminarayan ve ark., 2013). Böylece bu metaller ve antibiyotikler hayvanal ürünlere geçebilir ve bu ürünleri tüketenlerde dokularda birikerek ciddi sağlık problemlerine yol açabilir. Ağır metaller esansiyel ve esansiyel olmayan ağır metaller olarak sınıflandırılır. Esansiyel metaller arasında kobalt, krom, bakır, demir, nikel ve çinko ayılabılır. Esansiyel olmayan metaller arasında ise arsenik, kadmiyum, cıva ve kurşun bulunur. Hayvan yemleri ile hayvanların yaşadığı kontamine olmuş çevre, hayvansal ürünlerdeki ağır metal kirliliğinden sorumludur. Gıda güvenliği ve insani kaygılar açısından etteki ağır metal kontaminantları, bu kontaminantların çok az miktarda bile olsa toksik doğası nedeniyle büyük endişe kaynağıdır. Kurşun, krom, cıva ve arsenik daha toksik ağır metallerdir ve insanlar kontamine olmuş gıda maddelerini tükettiklerinde tehlikeli etkilere neden olurlar. Bu metaller ve antibiyotiklere maruz kalma, bu maddelere ait kalıntıların o hayvanın vücudunda birikmesine yol açmaktadır. Kirlenmiş toprakların bulunduğu bölgelerde otlatma nedeniyle bu tür ağır metallerin koyun ve sığır etinde tespit edildiği de bildirilmiştir.

Kolajenin hayvan kaynaklı bir protein olması, kolajen içeren ürünlerde de farklı ağır metal ve antibiyotik kalıntılarının olabileceği ihtimalini akla getirmektedir. Genel olarak incelendiğinde, hem ülkemizde hemde dünyada bu konu ile ilgili çok fazla araştırmanın olmadığı görülmektedir. Bu yüzden bu tez çalışmasında ticari amaçla üretilen ve satılan farklı kolajen ürünlerinin içermesi muhtemel farklı ağır metallerin ve antibiyotiklerin fizyolojik güvenli sınırlar içerisinde olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolajenler

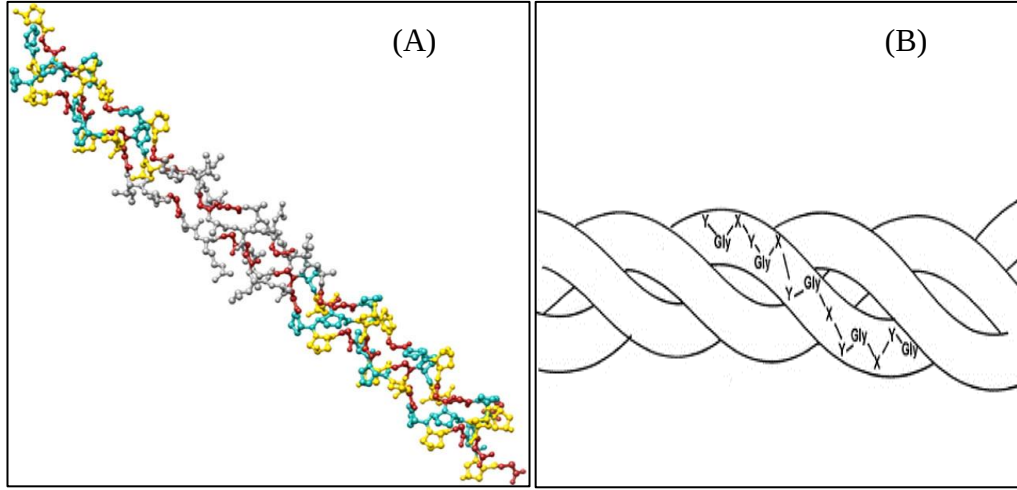
Kolajen kelimesi Yunanca'dan köken almaktadır: “kola” sakız ve “gen” üretmek anlamına gelir. Kolajen, insanda ve birçok canlıda en çok üretilen proteinlerden birisidir. Bu özel molekül deri, tendon, eklemler ve kemiklerdeki bağ dokularında bulunan ana yapısal fibriler bir proteindir. Fibriler özelliği sayesinde hücresel yapılar arasında destek ağları oluşturarak vücut dokularının stabilitesinden ve gücünden sorumludur (Nimni, 1980). Yaşlanmaya bağlı olarak kolajen lifleri hasar görebilir ve kolajen desteğinin sağlandığı birçok dokuda fonksiyon kaybına yol açabilir. Bu yüzden kozmetik ve farmasötik ürünler gibi birçok biyomedikal üründe kullanılmak üzere bir polimer olarak kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Meena ve ark., 1999; Sionkowska ve ark., 2020). Günümüzde, düşük immünojenikliği ve yüksek biyouyumluluğu nedeniyle doku mühendisliği ve klinik uygulamalarda güvenli ve etkili bir biyomateryal olarak kullanılmaya başlanmıştır. Diş kompozitlerinde, cilt rejenerasyon şablonlarında ve biyolojik olarak parçalanabilen matrislerde bir bileşendir ve kardiyovasküler cerrahi, plastik cerrahi, ortopedi, üroloji, nöroloji ve oftalmolojide kullanılmıştır. Kozmetik endüstrisi cilt yaşlanmasına karşı kullanmak üzere bu biyomolekülü mevcut birçok ürüne dahil etmek için büyük çaba sarf etmektedir. Ayrıca, yüksek protein içeriğine ve su emme kapasitesi ve emülsiyon oluşturma yeteneği gibi iyi fonksiyonel özelliklere sahip olduğu için gıda endüstrisinde kolajene büyük bir talep vardır (Lafarga ve Hayes, 2014; Schmidt vd., 2016).

2.1.1. Kolajenin Yapısı

Omurgalıların tüm doku ve organlarındaki hücresel olmayan bir bileşen olarak bulunan ekstraselüler matriks, hücre yapışmasını ve göçünü yönlendirebilen ve hücresel büyümeyi ve metabolizmayı düzenleyen yapısal bir iskelettir (Theocharis vd., 2016). Memelilerdeki çoğu bağ dokusunun matrisini oluşturan kolajen, protein kolajenin iç içe geçmiş liflerinden oluşur. Kolajen fibrilleri, ekstraselüler matriksteki karmaşık yapının gerilime karşı direnç oluşturan ana yapılarıdır (Homes ve ark.,

2018). Tüm kolajenler kendisine ait özel bir moleküler yapıya ve amino asit dizilimine ve sahiptir. Bu fibriller yaklaşık 300 nm uzunluğunda ve 1,5 nm çapındadır, her biri sol yönlü sarmal konformasyonuna sahip üç polipeptit iplikten (alfa zincirleri olarak adlandırılır) oluşur. Bu üç sol yönlü sarmal birlikte bükülerek sağ yönlü üçlü (tripleks) bir sarmala veya "süper sarmala" dönüşür. Başka bir deyişle üç α zinciri tarafından bir tripleks sarmal oluşturulur (Şekil 2.1A). Böylece, çok sayıda hidrojen bağı ile stabilize edilen ortak bir dörtlü yapı oluşturur: Bir kolajen proteininin birincil yapı (amino asit üçlüsü), ikincil yapı (α -sarmal), üçüncül yapı (üçlü sarmal) ve dördüncül yapı (fibriller) olmak üzere dört yapısal seviyesi bulunur (Gelse ve ark., 2003). Bu üç polipeptidik fibril, karakteristik fibriller helikoidal yapısını veren 10-500 nm çapa (Woodley ve ark., 2004), yaklaşık 285 kDa moleküler ağırlığa (Ottani ve ark., 2002), karakteristik olarak her üç kalıntıda bir glisin içeren 1400 amino asit uzunluğuna sahip olabilir (Goodsell, 2005).

Sıkı ve kararlı bir yapı oluşturmak için birbirleri etrafında dolanan kolajen alfa zincirlerinin her birinde düzenli bir amino asit dizilimi bulunur (Leon-Lopez ve ark., 2019). Her zincir toplamda 1000 amino asit tarafından oluşturulur ve sıralama genellikle Gly-X-Y modelini takip eder; burada Gly glisin, X ve Y ise herhangi bir amino asit kalıntısı anlamına gelir. Her bir kolajen zincirindeki tüm amino asitlerin üçte biri glisindir. Bu aşırı sayıdaki Gly kalıntısı, her bir amino asit kalıntısının sıkı bir şekilde sarılmasını sağlar. Bu zincir üzerinde sürekli tekrar eden Gly-X-Y amino asit dizisinin en az bir uzantısını bulundurulur (Şekil 2.1B). Bu dizilim içerisinde genellikle X prolin (Pro) ve Y hidroksiprolin (Hyp) olsa da herhangi bir başka amino asit de olabilir. Bu zincir içerisinde 19 farklı amino asit bulunmasına rağmen, toplam amino asitlerin %57'sini glisin, hidroksiprolin ve prolin oluşturur ve molekülün yaklaşık %10'u Glisin-Prolin-Hidroksiprolin dizisine sahiptir (Li ve Wu, 2018). Bunların yanı sıra esansiyel amino asitlerden fenilalanin, histidin, treonin, valin, metiyonin, lösin, izolösin, tirozin ve lizin de yaygın olarak kolajen zinciri içerisinde mevcuttur (Li ve Wu, 2018).



Şekil 2.1. A. Üçlü heliks yapısına sahip kollajen molekülü (Kramer ve ark., 1999) ve B. amino asit dizilimi (Li ve Wu, 2018).

Kolajen lifleri genellikle beyaz ve opak olmasından dolayı dokularda kolayca tanınır. Gerilme direnci yüksek viskoelastik bir malzeme olarak kabul edilir. İzoelektrik noktası pH 5,816 civarındadır. Çoğu memeli kolajen fibrilinin büzülme sıcaklığı (Ts) 62°C ile 65°C arasındayken, balık fibrillerinin Ts'si 38°C ile 54°C arasında değişir. Öte yandan, denatürasyon sıcaklığı (Tm), büzülme sıcaklığından 25°C - 30°C daha düşüktür (Patino ve ark., 2002). Kolajenin düşük immünojeniteye sahip bir molekül olduğu bilinmektedir, bu da yutulduğunda veya enjekte edildiğinde red edilme olasılığını azaltmaktadır. İmmün yanıtı neden olabilen fraksiyonlar zincirlerin helikal bölgesinde ve telopeptit bölgesinde yer almaktadır (Kumar ve ark., 2014). Ayrıca, kolajenler düşük antijeniteye sahip olsa da zincirdeki bantlı yapının ısı veya kimyasal işlemle ortadan kaldırılması, helikal olmayan bölümün proteinazlar tarafından bozulması veya çapraz bağlama yoluyla gerçekleştirilen yapısal modifikasyon sayesinde oluşabilecek herhangi bir immün yanıt ortadan kaldırılabilir (Chanjuan ve Yongnang, 2016; Park, 2007).

2.1.2. Kolajen Türleri

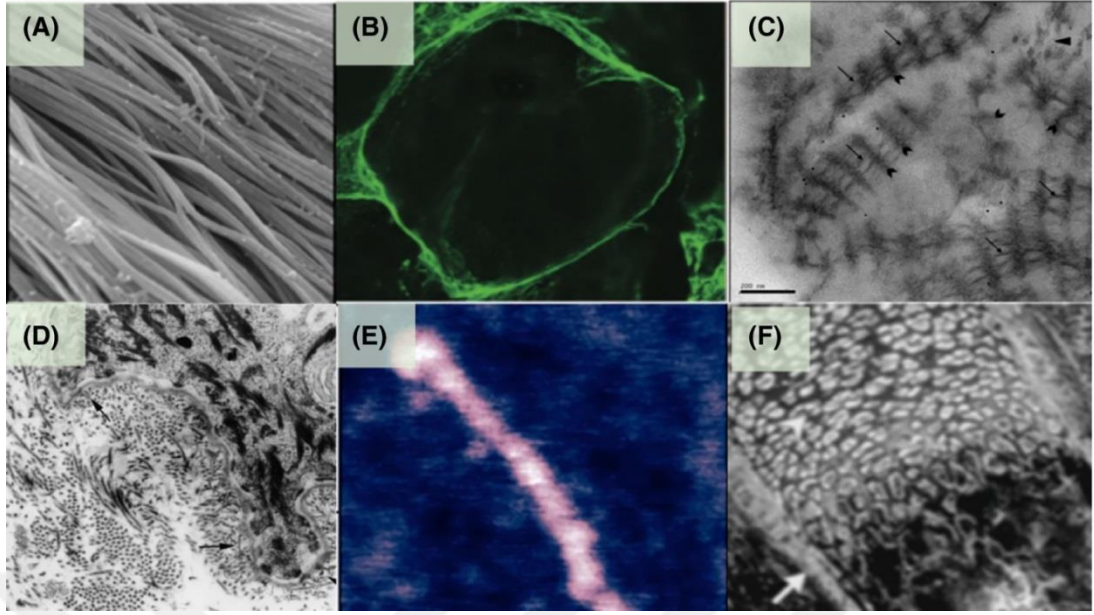
Şimdiye kadar 29 tip kolajen tanımlanmış ve tarif edilmiştir (Seth ve ark., 2018). Kolajenler moleküler bileşimleri, morfolojik özellikleri, dağılımları ve işlevleri ile ayırt edilebilir. Çok sayıda türü keşfedilmiş olmasına rağmen, baskın kolajen kolajen tip I'dir. Neredeyse tüm bağ dokularında yaygın olması nedeniyle

insan vücudundaki kolajenin %90'ından fazlası kolajen tip I'dir (Cheah, 1985). Bunun yanında tip II, III ve IV'de yaygın olarak bulunur. Günümüzde düzeltici amaçlar için en çok kullanılanların sadece fibril oluşturan türler olduğunu belirtmek önemlidir. Kozmetik endüstrisinde kolajen, bulunabilirliği, biyouyumluluğu ve biyolojik olarak parçalanabilirliği nedeniyle kozmetik formülasyonlar için seçilebilir bir hammaddedir (Nurs ve Archana, 2016). En yaygın olarak bulunan grupların karakteristik yapısı Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

LC Junqueira kolajenleri yapı ve işlevlerine göre 4 grupta sınıflandırmıştır (Seth ve ark., 2018). Uzun fibriller oluşturan kolajenler tip I, II, III, V ve XI'i içerir. Bu sınıfta bulunan kolajen molekülleri elektron mikroskopunda görülebilen fibriller oluşturacak şekilde toplanır. Fibril ilişkili kolajenler tip IX, XII ve XIV'ü içerir. Bunlar kolajen fibrillerini birbirine ve ekstra hücrel matrisin diğer bileşenlerine bağlayan kısa yapılardır. Ağ oluşturan kolajenler tip IV kolajeni içerir, molekülleri bazal laminanın yapısal bileşenlerini oluşturan bir ağ örgüsünde bir araya gelir ve ankraj (bağlayıcı) fibril oluşturan kolajenler tip VII kolajeni içerir, bunlar kolajen liflerini bazal laminaya bağlar.

Bununla birlikte günümüzde omurgalılara ait kolajenleri işlevlerine göre 7 ana grupta sınıflandırmak mümkündür:

1. Fibril Oluşturucu Kolajenler: Bunlar hayvan dokusunda gerilme mukavemetinin ana kaynağıdır ve 67 nm *D*-periyodik fibriller olarak ortaya çıkar (Kadler ve ark., 1996). Bu fibrillerin uzunluğu belirsizdir ve gelişim aşamasına ve dokuya bağlı olarak çapları 12 nm ila >500 nm arasında değişir. Fibrillerin periyodik yapısı, üçlü sarmal kolajen moleküllerinin düzenli olarak dizilmesinden kaynaklanmaktadır. Memeliler, filogenetik olarak üç farklı alt sınıfta kümelenen 11 fibriler kolajen genine sahiptir (Huxley ve ark., 2007). Fibril oluşturan kolajenlerin Gly-X-Y alanı yaklaşık 1000 kalıntı içerir.



Şekil 2.2. En yaygın olarak bulunan bazı kolajen gruplarının mikroskopisi: A, Fibril oluşturuucu kolajen (kolajen tip I), B, Bazal membran kolajen (kolajen tip IV), C, Mikrofibriller kolajen (kolajen tip VI), D, Ankraj fibril kolajen (kolajen tip VII), E, Kesintili Üçlü Helikslere Sahip Fibril İlişkili (FACIT) kolajen (kolajen tip XIII), ve F, Transmembran kolajen (kolajen tip XIII) (Avila Rodríguez ve ark., 2018).

2. Bazal Membran Kolajenleri: Kolajen IV, prototipik olarak ağ oluşturan bir kolajendir. Önemli bir moleküler filtrasyon işlevine sahip olduğu bazal membranlarda iç içe geçmiş bir ağ yapısı oluşturur. Ağ, iki trimerik NC1 alanının kafa kafaya etkileşimleri ile oluşturulur. Ortaya çıkan hegzamer, kovalent Metionin-Lizin çapraz bağlantıları ile stabilize edilir (Scully ve ark., 2005). Dört kolajen IV molekülü arasındaki N'den N'ye etkileşimler, genişletilmiş bir ağda önemli bir etkileşim düğümü olan çapraz bağlı '7S alanını' oluşturur.

Kolajen VIII, kornea endotel hücrelerini kornea stromasından ayıran bazal Descemet membranının vasküler subendotelyal matrislerin ve medial elastik liflerle ilişkili olarak önemli bir bileşenidir. Yapısal olarak ilişkili kolajen X, büyüme plağı kırıkdağının hipertrofik bölgesinde oluşur ve kolajen VIII'inkine benzer bir ağ oluşturduğu düşünülmektedir (Stephan ve ark., 2004).

3. Mikrofibriler Kolajen: Kolajen VI, arketipik tanecikli (boncuk tarzında) filament oluşturan kolajendir. Hücrelerle yapısal bağlantılar oluşturan pek çok

dokuda bulunur. Kolajen VI monomerleri tetramerlere çapraz bağlanır. Mikrofibriller olarak bilinen ve 105 nm'lik boncuklu bir tekrara sahip olan uzun moleküler zincirler halinde bir araya gelirler (Karl, 1955).

4. Ankraj Fibrilleri: Kolajen VII, epitelin lamina densa tabakasının altındaki bağlayıcı fibrillerin ana bileşenidir.

5. Kesintili Üçlü Helikslere Sahip Fibril İlişkili Kolajenler (FACİT): FACİT'ler nispeten kısa kolajenlerdir, üçlü helikal alanda kesintilere sahiptir ve kolajen fibrillerinin yüzeylerinde bulunabilir. Kolajen IX tipik bir FACİT'tir; kolajen II'ye kovalent olarak çapraz bağlıdır ve bir glikozaminoglikan yan zinciri taşıyacak şekilde post-transnasyonel olarak modifiye edilmiştir (Jiann-Jiu ve ark., 1992).

6. Transmembran Kolajenler: Bunlar kolajen XIII ve XVII'yi içerir. Hücre yapışkan özelliklerine sahiptirler ve malign hücreler de dahil olmak üzere çok sayıda hücre tipinde görülürler. Omurgalı ve omurgasızlarda üçlü helikal ekto alanlara sahip giderek artan sayıda kolajen benzeri trans membran proteinleri tanımlanmaktadır. Bunlar belirli bir sınıfa atanmamıştır ancak nöral fonksiyon ve nöral tüp dorsalizasyonunda, göz gelişiminde, büyüme faktörü aktivitesinin modülasyonunda önemli rollere sahiptir ve hücre yapışkan fonksiyonları vardır. Bu tür kolajenler ektodisplazın, gliomedin ve transmembran kolajenlerin kolmedin alt ailesinin diğer üyelerini içerir (Maertens ve ark., 2007).

7. Multipleksin (Endostatin Üreten) Kolajenler: Kolajen XV, bazal membranların yakınında bitişik kolajen fibrilleri arasında köprü oluştururken bulunur ve çeşitli oligomerik düzenekler oluşturabilir (Myers ve ark., 2007). Kolajen XVIII bazı bazal membranlarda bulunur. Kolajen XV ve XVIII'in NC1 alanlarının bir kısmının bölünmesi, endotelial hücre göçü ve anjiyogenez inhibitörleri olan endostatinleri serbest bırakır ve hayvanlarda tümör büyümesini azaltır (Marnros ve ark., 2005).

Tablo 2.1. Kolajen türleri, insan vücudundaki işlevler veya endüstri alanındaki kullanımları (Avila Rodríguez ve ark., 2018).

Tip	Aile	Dokulardaki dağılımı	Kullanım alanı/Fonksiyonu
I	Fibril Oluşturucu	Bol miktarda ve yaygın;tendonlar, ligamentler, kemik ve kornea	Membranlarda yönlendirilmiş doku rejenerasyonu
II	Fibril Oluşturucu	Kıkırdak, vitröz cisimcik, nukleus pulpozus	Kıkırdak onarımı ve artrit tedavisi
III	Fibril Oluşturucu	Deri, damar duvarları, çoğu organın (akciğer, karaciğer, dalak gibi) retiküler lifleri	Kanama durdurucu ve doku yapıştırıcısı
IV	Bazal membran	Bazal membranlar	Hücre kültürüne bağlanma arttırıcı (fare nöroblastomu) ve diyabetik nefropati göstergesi
V	Fibril Oluşturucu	Yaygın;akciğer, kornea,kemik, plasenta, fetal zarlar;TipI ile birlikte bulunur	Kornea tedavisinde biyomateryal için hammadde
VI	Mikrofibriler	Yaygın; Dermis, plasenta, damar duvarları, kıkırdak, intervertebral diskler	Kanama durdurucu
VII	Ankraj fibriller	Oral mukoza, serviks, dermal ve epidermal bağlantı, deri, idrar kesesi	Kıkırdak ve vitreus gövdede tip II kolajen ile birlikte dağılım gösterir
IX	FACIT	Kornea, kıkırdak, ve vitröz humor	Kolajen I içeren fibrillerle ilişkilidir. XIV kolajen ayrıca fibrilogenезin erken aşamalarında bir fibril çapı düzenleyicisidir
XI	Fibril Oluşturucu	Kıkırdak, vitreus cisimcik, intervertebral disk	Osteoartrit için monoklonal antikor geliştirilmesi
XII	FACIT	Perikondrium, bağlar, tendon, dermis	Kemik ve kas bütünlüğünü koruması, kıkırdak doku oluşumunun erken evrelerinde primer kondrositlerin yeniden farklılaştırılması ve hiyalin kıkırdak gelişimine yardım
XIII	Transmembran	Saç folikülü, bağırsaklar, karaciğer, dermal ve epidermal birleşme bölgeleri, karaciğer, göz ve akciğer	Kemik oluşumunu etkiler ve kemik kütlelerinin düzenlenmesinin mekanik kullanıma bağlanmasında bir işlevi olabilir. Enflamasyon ve vaskülogenezde rol oynar.

FACIT= Kesintili Üçlü Helikslere Sahip Fibril İlişkili Kollajenler.

Tablo 2.1. Devam. Kolajen türleri, insan vücudundaki işlevler veya endüstri alanındaki kullanımları (Avila Rodríguez ve ark., 2018)..

Aile	Tip	Dokulardaki dağılımı	Kullanım alanı/Fonksiyonu
XIII	Transmembran	Saç folikülü, bağırsaklar, karaciğer, dermal ve epidermal birleşme bölgeleri, karaciğer, göz ve akciğer	Kemik oluşumunu etkiler ve kemik kütlelerinin düzenlenmesinin mekanik kullanıma bağlanmasında bir işlevi olabilir. Enflamasyon ve vaskülogenezde rol oynar.
XIV	FACIT	Yaygın; kemik, damar duvarları, plasenta, karaciğer, kıkırdak, dermis ve akciğer	Hücre dışı matris oluşumu ve doku fonksiyonu için önemlidir. Mekanik dokunun korunmasında rol oynar.
XIX	FACIT	İnsan rabdomiyosarkoması	Bazal membran bölgesinde bulunur ve antianjiyojenik ve antitümöral özellikler gösterir
XV	Multipleksin	Böbrekler, düz kas hücreleri, tetis, kapillar damarlar, fibroblastlar ve pankreas	Büyük, bantlı fibrilleri, muhtemelen kolajen I ve III içeren fibrilleri birbirine bağlayan bir köprü oluşturur
XVI	Multipleksin	Keratinositler, fibroblastlar, dermis ve amniyon	Çeşitli hastalıklarda rol oynadığından, muhtemelen bir ilaç hedefi veya biyobelirteç olarak kullanılabilir
XVII	Transmembran	Dermal ve epidermal birleşme bölgeleri, epitel hemidesmozomları	Varsayılan işlevi, epitel hücrelerinin çevredeki hücre dışı matrise yapışmasını stabilize etmektir. Dış oluşumunda önemli rolleri vardır.
XVIII	Mutipleksin	Karaciğer, akciğer ve bazal membran	Retina yapısının oluşumunda ve nöral tüpün kapanmasında önemli bir role sahiptir.
XXI	FACIT	Damar duvarları, mide, böbrek	XII, XIV ve XX kolajenleri ile yakından ilişkilidir. Ekspresyonu trombosit kaynaklı büyüme faktörü tarafından uyarılır, bu da bu kolajenin kan damarı oluşumu sırasında vasküler ağın matris yapımına katkıda bulunabileceğini gösterir.

FACIT= Kesintili Üçlü Helikslere Sahip Fibril İlişkili Kolajenler.

2.1.3. Kolajen Kaynakları

2.1.3.1 Doğal Kaynaklar

Kolajenler farklı hayvansal kaynaklardan elde edilebilir. Hayvansal kaynaklardan en yaygın olanları sığır, domuz, insan kolajeni ve balık pulu ve balık derisi gibi deniz organizmalarıdır (Fan, 2013; Gelse ve ark., 2003; Ivipriya ve ark., 2015; Sibilla ve ark., 2015). Bu hayvansal kaynaklar arasında sığır kolajeni yaygın olarak ağız dışı yaralar ve ayrıca vücuttaki yanıklar için geçici bir örtü olarak kullanılmaktadır. Yararlılığı ve biyoyumluluğu nedeniyle geniş bir uygulama alanına sahiptir (Karsdal, 2016). Domuz kolajen matrisleri ise yumuşak dokuların greftlenmesi için yararlı olma potansiyeline sahiptir (Herford ve ark., 2010). Otojen nakle alternatif olarak biyoyumlu bir cerrahi malzeme sağlar (Brinckmann, 2005).

Karasal hayvan kaynakları tavuk derisi ve ayağı, kanguru kuyruğu, sıçan kuyruğu tendonları, ördek ayağı, at tendonu, timsah kemiği/derisi, kuş ayağı, koyun derisi ve kurbağa derisinden oluşmaktadır. Tip I ve II at derisi, kıkırdak ve ligamentlerinden elde edilir. Tip I, II, III ve V tavuk boynundan gelir. Tip IX tavuk embriyosu sternal kıkırdağında, Tip I ve III deride ve Tip IV kas dokusunda bulunur (Gupta ve ark., 2009).

Söz konusu kaynaklar ucuz ve elde edilmesi kolaydır, ancak uzun süreli kullanım ve somut karakterizasyondan sonra, bu kaynakların kolajenleri alerjenik olma ve osteogenezis imperfekta gibi çeşitli hastalıklara neden olma eğilimi göstermiştir (Campbell, 2005; Lupi, 2002). Bu soruna çözüm olarak, uygulanabilir bir diğer doğal kaynak ise deniz kolajenidir. Tatlı veya tuzlu su balıklarının kemikleri, derileri, yüzgeçleri, pulları, denizyıldızları, denizanaları, süngerler, deniz kestanesi, ahtapot, kalamar, mürekkepbalığı, deniz anemonu ve karides bu amaçla kullanılmaktadır ve bunlar düşük moleküler ağırlık nedeniyle daha fazla emilim, biyolojik kirlenici ve toksinlerin neredeyse yok denecek kadar az olması, düşük enflamatuvar yanıt gibi kara hayvanı kaynaklarına göre birçok avantaja sahiptir (Silvipriya ve ark., 2015). Balıkların deri, kemikler, yüzgeçler ve pullar %50-%70'e kadar kolajen içermektedir. Baltık marina balığı derisi, trampet balığı (Pogonias

cromis) ve upra iyi bir tip I kolajen kaynağıdır. Deniz Sngerinin (spp-*Geodia cydonium*, *Speridita* ve *Icinia fusca*) organik bileşenleri zengin fibriler kolajen kaynağıdır (tip I ve IV). Ayrıca deniz anası (spp-*Rhopilema asamushi*, *Stomolophus meleagris*, *Catostylus tagi* ve *Rhizostoma pulmo*) %60 oranında ve çoğunlukla tip IV, V ve II kolajen içerir.

Bu deniz kolajenleri, hastalık bulaşma riski olmadığı ve yüksek verime sahip oldukları için iyi alternatif kaynaklar olarak kabul edilmiştir. Amerikan Gıda ve İlaç Ajansı (FDA) tarafından “genel olarak güvenli kabul edilir” şeklinde sınıflandırılmıştır (Dynka ve Wlczak, 2009). Aynı zamanda ucuz bir üretim hammaddesidir çünkü deniz ürünlerinden elde edilen kolajen çoğunlukla bu ürünlerin vücut atık parçalarını içerir. Bununla birlikte, kolajenin çeşitli uygulamalarda kullanımı genellikle vücut sıcaklığı ve organizmanın yaşam ortamı ile ilgili olan termal stabiliteye bağlıdır. Deniz kolajeni ve düşük termal stabilitesi uygulamalarını sınırlamaktadır (Kim ve ark., 2012).

2.1.3.2. Sentetik Kaynaklar

Kolajen kanın pıhtılaşmasına, iyileşmeye ve dokuların yeniden şekillenmesine yardımcı olmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Hayvan kaynaklı (doğal) kolajen birçok klinik uygulamada kullanılmaktadır, ancak inflamasyondaki rolü, partiden partiye değişkenlik ve olası hastalık transfeksiyonu ile ilgili bazı endişeler vardır (Kumar ve ark., 2014). Bağışıklık sorunlarından kaçınmak için, ticari olarak KOD olarak adlandırılan malzeme gibi bazı sentetik kaynaklar bulunmuştur. KOD, l sarmal nanofiberler ve hidrojeller halinde kendiliğinden bir araya gelen 36 amino asitten oluşan sentetik bir proteindir; doğal kolajeni taklit eder ve doğal olarak türetilmiş kolajene dayalı ticari süngerleri veya tedavileri geliştirebilir. Peptidin dizilimi (Pro-**Lys**-Gly) (Pro-**Hyp**-Gly) (**Asp**-Hyp- Gly) şeklindedir ve tek harfli amino asit kısaltması (P-**K**-G) (P-**O**- G) (**D**-O-G) şeklindedir ve bu da ona KOD adını vermektedir (Kumar ve ark., 2014). Bu materyal, protein yapısı ve katlanmasında doğal kolajene teorik analoglar ve trombosit aktivasyonunu ve agregasyonunu teşvik edebilecek prokoaglatr fraksiyonlar sunar. Kanamayı durdurmak için kırmızı kan hücrelerini yakalama kapasitesi sayesinde hemostat veya

pıhtılaşma ajanı olarak kullanılabilir. Ayrıca pıhtı oluşturmak ve enflamasyonu teşvik etmeden iyileşmeyi desteklemek için trombositleri bağlar ve aktive eder (Farndale ve ark., 2004).

Kolajen için bir başka sentetik kaynak, yüksek kaliteli ve hayvan kaynaklı kontaminant içermeyen kolajenler üretmek için rekombinant teknoloji kullanılarak geliştirilmiştir. Bu rekombinant kolajenler memeli hücrelerinde, böcek hücre kültürlerinde, mayada ve çoğunlukla bitki hücre kültüründe üretilmiştir. Bitki kaynaklı rekombinant kolajen üretimi tütünde, transgenik mısır tohumunda ve arpada rapor edilmiştir (Xu ve ark., 2011). Bunlar kemik, oküler ve deri uygulamalarında çoğunlukla sünger olarak, ancak daha yakın zamanda lif ve jel olarak kullanılmış ve işleme kabiliyeti ve terapötik etkinlik açısından hayvan kolajenleriyle olumlu bir şekilde benzerlik göstermiştir. Bunlar umut verici işaretler olsa da rekombinant teknolojilerin yüksek maliyet, düşük verim ve sistemlerde biyofonksiyonel ve biyoaktif kolajenlerin istikrarlı oluşumu için kritik olan kofaktörlerin veya enzimlerin eksikliği gibi bazı dezavantajları vardır. Bu eksiklikler, hayvansal kolajenin hem araştırma hem de klinik alanlarda kullanım için standart olarak kalmasına neden olmuştur (Browne ve ark., 2013).

2.2. Ağır Metaller

Ağır metal terimi, nispeten yüksek yoğunluğa sahip ve düşük konsantrasyonlarda toksik veya zehirli olan herhangi bir metalik kimyasal elementi ifade eder. Bilimde ağır metal, toksik olan ve yüksek yoğunluğa, özgül ağırlığa veya atom ağırlığına sahip metalik elementlerdir. Kullanılan kriterler ve metaloidlerin dahil edilip edilmeyeceği yazara ve bağlama göre değişir. Örneğin metalürjide ağır metal yoğunluk temelinde tanımlanabilirken, fizikte ayırt edici kriter atom numarası olabilir, bir kimyager ise muhtemelen kimyasal davranışla daha fazla ilgilenecektir. Günümüzde bu terim yaygın anlamda biraz farklı kullanılmakta ve sağlık sorunlarına veya çevresel hasara neden olabilecek herhangi bir metale atıfta bulunmaktadır. Ağır metaller için yoğunluğun 5 g/cm^3 'ten fazla olması yaygın olarak kullanılan bir kriterdir. Ağır metaller örnek olarak cıva (Hg), kadmiyum (Cd), arsenik (As), çinko (Zn) ve kurşun (Pb) verilebilir (Pourret ve ark., 2021).

Ağır metaller yer kabuğunun doğal bileşenleridir. Parçalanamaz veya yok edilemezler. Gıda, içme suyu ve hava yoluyla vücudumuza girebilirler. Eser elementler olarak, bakır, selenyum ve çinko gibi bazı ağır metaller memelilerde metabolik aktivitelerin devam ettirilebilmesi için gereklidir. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda zehirlenmeye yol açabilirler. Ağır metal zehirlenmesi, içme suyu kirliliğinden (örn. kurşun borular), emisyon kaynaklarının yakınındaki yüksek ortam havası konsantrasyonlarından veya gıda zinciri yoluyla meydana gelebilir. Bu bölümde çalışmamızda araştırılan ağır metaller hakkında bilgi verilecektir.

2.2.1. Cıva

Cıva, atom numarası 80 olan kimyasal bir elementtir. "Hg" cıvanın modern kimyasal sembolüdür. Cıvanın eski Yunanca adı olan hydrargyros'tan hydrargyrum olarak kısaltılmasıyla elde edilmiştir. Hydrargyros Yunanca "su-gümüş" anlamına gelen bileşik bir kelimedir, hydr- veya hydor "su" ve argyros "gümüş" köklerinden gelir. İngilizce'deki "quicksilver" (hareketli gümüş) adı gibi, bu ad da cıvanın akıcı ve parlak özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Modern İngilizce'de "cıva" adı Merkür gezegeninden gelmektedir. Ortaçağ simyasında, bilinen yedi metal (cıva, altın, gümüş, bakır, demir, kurşun ve kalay) yedi gezegenle ilişkilendirilmiştir. "Quicksilver" en hızlı gezegenle ilişkilendirilmiş ve adını hız ve hareketlilikle ilişkilendirilen Roma tanrısı Merkür'den almıştır (Stillman, 2003).

Cıva, oda sıcaklığında sıvı halde bulunan ağır, gümüşü beyaz bir metaldir. Diğer metallerle karşılaştırıldığında ısıyı zayıf iletirken, iyi bir elektrik iletkenidir (Lide, 2005). Ağır, gümüşü bir element olan cıva periyodik tabloda d-blok elementi olarak yer alır. Cıva, standart sıcaklık ve basınç koşullarında sıvı olduğu bilinen tek metalik elementtir; bu koşullar altında sıvı halde bulunan ve metal olmayan tekelement halojen bromdur. Donma noktası $-38,83\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve kaynama noktası $356,73\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'dir (Lide, 2005; Norby, 1991). Donma ve kaynama değerleri kararlı metaller arasında en düşük değerlerdir. Donduğu zaman cıvanın hacmi %3,59 oranında azalır. Yoğunluğu sıvı haldeyken $13,69\text{ g/cm}^3$ iken katı halde geçtiğinden $14,184\text{ g/cm}^3$ 'e çıkar. Hacim genleşme katsayısı $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de $181,59 \times 10^{-6}$, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de $181,71 \times 10^{-6}$ ve

100 °C'de $182,50 \times 10^{-6}$ 'dır. Katı cıva dövülebilir, yumuşaktır ve bıçakla kesilebilir (Simons, 1968).

Cıva farklı değerlik durumlarında ve çeşitli bileşik türlerinde bulunur. Cıva bileşikleri üç genel kategoride sınıflandırılır: (1) elementel cıva; (2) inorganik cıva bileşikleri (örneğin, cıva klorür); ve (3) organik cıva bileşikleri (örneğin, metilcıva). Her cıva sınıfı, farklı toksikokinetik ve toksikodinamiklere katkıda bulunan farklı kimyasal özelliklere sahiptir (Tablo 2.2.).

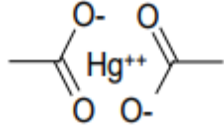
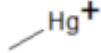
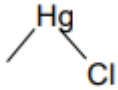
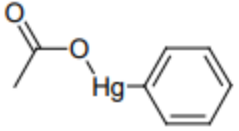
Cıva doğal ortamda bir mineral olarak bulunur. Hem doğal hem de insana bağlı (antropojenik) süreçlerle çevreye dağılır. Cıvanın doğal döngüsü, elementin topraktan ve yüzey sularından gaz formunda ayrılmasını, ardından atmosferik taşınımını, daha sonra karaya ve yüzey sularına geri çökmesini ve bileşiğin toprağa veya tortu partiküllerine emilmesini içerir. Karada ve açık sularda biriken cıva kısmen atmosfere geri döner. Antropojenik cıva emisyonları tipik olarak atmosfere doğru olmuştur; bu emisyonlar küresel emisyonlar geleneksel altın madenciliği ve fosil yakıt yakma gibi faaliyetler nedeniyle artmaya devam etmektedir (Gworek ve ark., 2020).

Atmosferik cıva daha çok Hg⁰ (gaz halindeki elementel cıva) formundadır ve uzun mesafelere taşınabilir. Bu nedenle cıva orijinal kontaminasyon bölgesinden çok daha uzak yerlerde bulunabilir. Sulara karıştığında, anaerobik bakteriler tarafından metillenebilir ve sucul besin ağında biyolojik olarak biriken organik cıvanın (metil cıva) yüksek biyoakümülatif formunu oluşturabilir. Bu nedenle, cıva balıklarda ve diğer su organizmalarında, pirinçte ve diğer bitki örtüsünde genellikle yüksek seviyelerde tespit edilebilir (Schroeder ve Munthe, 1998).

Cıva, benzersiz özellikleri nedeniyle birçok kullanım alanına sahiptir. Cıva termometrelerde, barometrelerde, manometrelerde, tansiyon aletlerinde, şamandıralı valflerde, cıvalı anahtarlarda, cıvalı rölelerde, floresan lambalarda ve diğer cihazlarda kullanılmıştır. Tarihsel olarak, cıva bileşikleri ayrıca çeşitli endüstriyel süreçlerde ve ürünlerde (örneğin, keçe, patlayıcılar) ve farmasötik ajanlar olarak da

(örneğin, antibiyotikler, cıva diüretikleri) kullanılmıştır. Ancak elementin toksisitesiyle ilgili endişeler, cıvalı termometrelerin ve tansiyon aletlerinin klinik ortamlarda alkol veya galinstan dolgulu cam termometreler ve termistör veya kızılötesi tabanlı elektronik cihazlar gibi alternatifler lehine büyük ölçüde aşamalı olarak kaldırılmasına neden olmuş, mekanik basınç göstergeleri ve elektronik gerinim ölçer sensörler cıvalı tansiyon aletlerinin yerini almıştır. Benzer şekilde alkalın piller, elektronik anahtarlar ve aydınlatma uygulamaları, mantar ilaçları ve böcek ilaçları, boyalar ve pigmentler, termometreler ve diğer bilimsel ve tıbbi cihazlarda kullanımının birçoğu kısıtlanmış veya yasaklanmıştır (Clarkson ve Magos 2006).

Tablo 2.2. Bazı İnorganik ve Organik Cıva Bileşiklerinin Kimyasal Kimliği

Karakteristik	İnorganik	İnorganik	Organik
Kimyasal adı	Cıva (I) klorür	Cıva (II) asetat	Metilciva
Kimyasal formül	Hg ₂ Cl ₂	HgC ₄ H ₆ O ₄	CH ₃ Hg
Kimyasal yapı	Cl–Hg–Hg–Cl		
CAS Tescil Numarası	10112-91-1	1600-27-7	22967-92-6
Karakteristik	Organik	Organik	Organik
Kimyasal adı	Metilmerkürük Klorür	Dimetil cıva	Fenilmerkürük asetat
Kimyasal formül	CH ₃ HgCl	C ₂ H ₅ Hg	C ₆ H ₅ HgO ₂
Kimyasal yapı			
CAS Tescil Numarası	115-09-3	593-74-8	62-38-4

Cıva, bilimsel araştırma uygulamalarında ve bazı bölgelerde diş restorasyonu için amalgamda kullanılmaya devam etmektedir (Soratur, 2002). Ayrıca floresan aydınlatmada da kullanılmaktadır. Bir floresan lambadaki cıva buharından geçen elektrik kısa dalga ultraviyole ışık üretir, bu da tüpteki fosforun floresan yapmasına neden olarak görünür ışık oluşturur (Howatson, 1965).

Bununla birlikte, genel nüfusun maruz kaldığı organik cıva kaynağı esas olarak diyetle alınan metil cıva (örn. balık, deniz ürünleri, pirinç) ve diş amalgamlarından gelen elementel cıvadır. Organik ve elementel cıvaya kıyasla, genel nüfusun inorganik cıva bileşiklerine maruziyeti minimum düzeydedir. Mesleki maruziyetler esas olarak elementel cıvaya yöneliktir (örn. diş hekimliği, kloralkali işlemleri yapan fabrika çalışanları) (Pacyna ve ark., 2006; Pimple ve ark., 2002).

2.2.2. Arsenik

Arsenik, 33 atom numarasına sahip, doğada yaygın olarak bulunan, doğal olarak oluşan ve esansiyel olmayan bir eser elementtir. Arsenik, periyodik tablonun nitrojen grubunda yer alır ve Albertus Magnus tarafından izole edilmiştir. Atom ağırlığı 74,922 olan bu element Latince'de Yunanca bir kelime olan arsenicum'dan benimsenmiş, Fransızca'ya arsenik olarak geçmiş ve İngilizce kullanılan arsenik kelimesi buradan alınmıştır. Arsenik sülfürleri ve oksitleri antik çağlardan beri bilinmekte ve kullanılmaktadır (Ronald ve Chasteen, 2002). Yönetici sınıfında bulunanlar tarafından, farkedilemesi çok zor olduğu ve toksitesinin yüksekliği sebebiyle sık olarak rakiplerini öldürmek için kullanılmıştır. Arsenik bu yüzden "kralların zehri" ve "zehirlerin kralı" olarak adlandırılmıştır (Vahidni ve ark., 2007). Rönesans döneminde arsenik, aile üyelerini öldürmede kullanılması nedeniyle "miras tozu" olarak adlandırılmıştır (Ketha ve Garg, 2020).

Arsenik su, hava, gıda ve toprakta yaygın olarak bulunur ve mikro besin maddesi olarak rol oynar. Arsenik, yerkabuğunun yaklaşık 1,5 ppm'ini (%0,00015) oluşturur ve en bol bulunan 53. elementtir. Arseniğin tipik arka plan konsantrasyonları atmosferde 3 ng/m³'ü; toprakta 100 mg/kg'ı; bitki örtüsünde 400 µg/kg'ı; tatlı suda 10 µg/L'yi ve deniz suyunda 1,5 µg/L'yi aşmamaktadır. Çevrede

arsenik oksijen, klor ve sülfür ile birleşerek inorganik arsenik bileşikleri oluşturur. Hayvanlar ve bitkilerdeki arsenik, karbon ve hidrojen ile birleşerek organik arsenik bileşikleri oluşturur. Atom ağırlığı 74,92 olan arseniğin kimyasal sembolü As'dir. Arsenik birçok mineralde, genellikle sülfür ve metallerle birlikte, aynı zamanda saf element kristali olarak da bulunur (Rieuwerts, 2015).

Arsenik bir metaloiddir. Arsenik siyah, sarı ve gri olmak üzere üç allotropik formda bulunur. Sadece metalik bir görünüme sahip olan gri formu endüstri için önemlidir (Norman, 1998). Gri arsenik (α -As), birbirine kenetlenmiş çift katmanlı bir yapıya sahiptir. Gri arsenik bir yarı metaldir, ancak amorflaştırılırsa 1,2-1,4 eV bant aralığına sahip bir yarı iletken haline gelir (Otfried, 2004). Gri arsenik aynı zamanda en kararlı formdur. Sarı arsenik yumuşak ve mumsu bir yapıya sahiptir.(Seidl ve ark., 2019). Katı sarı arsenik (As_4), arsenik buharının hızlı soğutulmasıyla üretilir. Işıkla hızla gri arseniğe dönüşür. Sarı formun yoğunluğu 1,97 g/cm³'tür. Siyah arsenik yapı olarak siyah fosfora benzer (Holleman ve ark., 1985). Siyah arsenik ayrıca buharın 100-220 °C civarında soğutulmasıyla ve cıva buharlarının varlığında amorf arseniğin kristalleşmesiyle de oluşabilir. Camsı ve kırılgan olan siyah arsenik aynı zamanda zayıf bir elektrik iletkenidir. Arseniğin üç fazının (gaz, sıvı ve katı) termodinamik dengede bir arada bulunduğu sıcaklık ve basınç 3,628 MPa (35,81 atm) olduğundan, standart basınçta bir erime noktasına sahip değildir, bunun yerine 887 K'de (615 °C veya 1137 °F) katıdan buhara süblimleşir ve As_4 molekülleri halinde bulunur. Kuru havada karardır ve nemli havada siyah bir oksit ile kaplanma eğilimindedir. Süblimleşen arsenik buharı havada ısıtılarak arsenik oksit oluşturur (Grund ve ark., 2008).

Arsenik, düşük ısı ve elektrik iletkenliğine sahiptir. Hava ile temas ettiğinde ve yüksek sıcaklıklarda beyaz görünümlü arsenik trioksit bulutu oluşturarak hızla kararır. Elementin metalik formu kırılgandır ve arsenik trioksite oksitlendiğinde kararma yapar. Metalik olmayan formu daha az reaktiftir ancak güçlü oksitleyici asitler ve alkalilerle ısıtıldığında kolayca çözünür (Grund ve ark., 2008).

Bilinmeyen bir etki mekanizması ile orta veya yüksek seviyelerde akut veya kronik maruziyette oldukça toksik olan arsenik, birçok endüstriyel işlemin yanı sıra ilaçlarda, yem katkı maddelerinde ve pestisitlerde kullanılmıştır. Arseniğin birincil kullanımı kurşun alaşımlarıdır (örneğin, araba aküleri). Arsenik, yarı iletken elektronik cihazlarda yaygın olarak kullanılan bir katkı maddesidir. Aynı zamanda yarı iletken galyum arsenidin bir bileşenidir (Grund ve ark., 2008).

Arseniğin böcekler, bakteriler ve mantarlar üzerindeki toksisitesi, ahşap koruyucu olarak kullanılmasına yol açmıştır. Arsenik ve bileşikleri (özellikle trioksit) işlenmiş ahşap ürünlerinin üretiminde kullanılmıştır. 1930'larda, ahşabın kromatlı bakır arsenat (CCA) ile işlenmesi işlemi icat edilmiş ve on yıllar boyunca bu işlem arseniğin en kapsamlı endüstriyel kullanımı olmuştur. Arseniğin toksisitesinin giderek daha fazla anlaşılması, 2004 yılında Avrupa Birliği (AB) ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD) tarafından başlatılan tüketici ürünlerinde CCA'nın yasaklanmasına yol açmıştır (Lichtfouse, 2004). Arsenik ayrıca çeşitli tarımsal böcek ilaçlarında ve zehirlerde de kullanılmıştır. Örneğin, kurşun hidrojen arsenat meyve ağaçları üzerinde yaygın bir böcek ilacıydı ancak bileşikle temas bazen püskürtücülerde çalışanlarda beyin hasarına neden oluyordu (Peryea, 1998). Yirminci yüzyılın ikinci yarısında, arseniğin daha az toksik organik formları olan monosodyum metil arsenat (MSMA) ve disodyum metil arsenat (DSMA) tarımda kurşun arsenatın yerini almıştır. Bu organik arsenikler de pamuk tarımı hariç tüm tarımsal faaliyetlerde 2013 yılına kadar aşamalı olarak kullanımdan kaldırılmıştır (Organic Arsenicals, 2021). Arsenik, kümes hayvanları ve domuz üretiminde, özellikle ABD'de kilo alımını artırmak, yem verimliliğini iyileştirmek ve hastalıkları önlemek için yem katkı maddesi olarak kullanılmıştır (Nachman ve ark., 2005). Bunun bir örneği, ABD'deki broyler yetiştiricilerinin yaklaşık %70'i tarafından broyler başlatıcı olarak kullanılan roxarsone'dur (Jones, 2007). Bu ilaçla beslenen tavuklarda bir kanserojen olan inorganik arsenik seviyelerinin yükseldiğini gösteren çalışmalara yanıt olarak ilacın satışı gönüllü olarak askıya alınmıştır (FDA, 2011).

Arsenik 19. ve 20. yüzyılın başlarında tıbbi maddelerde kullanılmış, ancak yerini daha güvenli ve daha etkili maddelere bırakmış ve 50 yılı aşkın bir süredir

kullanılmamaktadır. Maruziyet soluma, yutma veya temas yoluyla gerçekleşir. Orta veya yüksek seviyelerde arseniğe kazara veya kasıtlı olarak akut veya kronik maruziyet, bazen maruziyetten uzun süre sonra ortaya çıkan karaciğer hasarına neden olabilir. Bu uygulamalar, arsenik ve bileşiklerinin toksisitesinin giderek daha fazla fark edilmesiyle azalmaktadır (Grund ve ark., 2008).

ABD Çevre Koruma Ajansı, arseniğin tüm formlarının insan sağlığı için ciddi bir risk olduğunu belirtmektedir (Dibyendu ve Datta, 2007). ABD Toksik Maddeler ve Hastalık Kayıt Ajansı, Superfund sahalarındaki Tehlikeli Maddelerin 2001 Öncelikli Listesinde arseniği 1 numara olarak sıralamıştır (Carelton, 2007). Arsenik, Grup-A kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (Dibyendu ve Datta, 2007).

2.2.3. Kurşun

Kurşun, sembolü Pb (Latince plumbum) ve atom numarası 82 olan kimyasal bir elementtir. Çoğu yaygın malzemeden daha yoğun olan ağır bir metaldir. Kurşun yumuşak ve dövülebilir bir yapıdadır ve ayrıca nispeten düşük bir erime noktasına sahiptir. Yeni kesildiğinde kurşun, mavi bir tonla birlikte parlak gri bir görünümü vardır (Greenwood ve Earnshaw, 1998). Nemli hava ile temas ettiğinde kararır ve tonu mevcut koşullara bağlı olarak donuk bir görünüm alır. Kurşunun karakteristik özellikleri arasında yüksek yoğunluk, işlenebilirlik, yumuşaklık ve pasivasyon nedeniyle korozyona karşı yüksek direnç yer alır. Kurşun, kararlı elementler arasında en yüksek atom numarasına sahiptir ve nispeten reaktif olmayan bir geçiş sonrası metalidir. Zayıf metalik karakteri amfoterik doğası ile gösterilir; kurşun ve kurşun oksitler asitler ve bazlarla reaksiyona girer ve kovalent bağlar oluşturma eğilimindedir. Kurşun bileşikleri genellikle karbon grubunun daha hafif üyeleriyle ortak olan +4 durumundan ziyade +2 oksidasyon durumunda bulunur (Greenwood ve Earnshaw, 1998).

Kurşun, Mohs sertliği 1,5 olan çok yumuşak bir metaldir ve tırnakla çizilebilir. Oldukça yumuşaktır ve esneme özelliğine sahiptir. Kurşunun sıkıştırılabilirliğinin bir ölçüsü olan yığın modülü 45,8 GPa'dır. Kurşunun erime noktası -327,5 °C ve kaynama noktası 1749 °C'dir; karbon grubu elementleri

arasında en düşük olanıdır. Kurşunun 20 °C'deki elektrik direnci 192 nΩ-m'dir ve bakır, altın ve alüminyum gibi diğer endüstriyel metallerinkinden neredeyse bir kat daha yüksektir (Lide, 2005). Kurşun 7,19 K'den düşük sıcaklıklarda süper iletkenidir. Bu, tüm tip-I süper iletkenler arasında en yüksek kritik sıcaklık ve elementel süper iletkenler arasında üçüncü en yüksek sıcaklıktır (Blakemore, 1985). Nemli havaya maruz kalan dökme kurşun, farklı bileşimlerde koruyucu bir tabaka oluşturur. Kurşun karbonat yaygın bir bileşendir (Thümmerve ark., 2002). Sülfat veya klorür bileşenleri de kentsel veya deniz ortamlarında mevcut olabilir (Greenwood and Earnshaw, 1998).

Kurşun, Goldschmidt sınıflandırması altında bir kalkofil olarak sınıflandırılır, yani genellikle kükürt ile birlikte bulunur (Langmuir ve Broecker, 2012). Nadiren doğal, metalik formda bulunur (Davidson ve ark., 2014). Birçok kurşun minerali nispeten hafiftir ve dünyanın oluşum tarihi boyunca yeryüzününün tabakaları yerine yüzey kısmında kalmıştır. Bu, kurşunun 14 ppm'lik nispeten yüksek bir seviyede bulunmasına yol açar ve yer yüzünde en bol bulunan 38. elementtir (Emsley, 2011).

Kurşunun yüksek yoğunluğu, düşük erime noktası, esnekliği ve oksidasyona karşı göreceli eylemsizliği onu kullanışlı kılmaktadır. Bu özellikleri, göreceli bolluğu ve düşük maliyetiyle birleşince inşaat, sıhhi tesisat, piller, mermi ve saçmalar, ağırlıklar, lehimler, kalaylar, eriyebilir alaşımlar, beyaz boyalar, kurşunlu benzin ve radyasyon kalkanlarında yaygın olarak kullanılmasına neden olmuştur. Kurşun metali, yüksek yoğunluk, düşük erime noktası, esneklik ve göreceli inertlik dahil olmak üzere birçok yararlı mekanik özelliğe sahiptir. Birçok metal bu özelliklerin bazılarında kurşundan üstündür, ancak genellikle daha az yaygındır ve ana cevherlerden çıkarılması daha zordur. Kurşunun toksisitesi, bazı kullanımlar için aşamalı olarak kullanımdan kaldırılmasına yol açmıştır (Baird ve Cann, 2012).

Kurşun, matbaanın geliştirilmesinde çok önemli bir rol oynamıştır (Lide, 2005). Kurşunun yüksek yoğunluğu, atom numarası ve şekillendirilebilirliği, ses, titreşim ve radyasyonu emen bir bariyer olarak kullanılmasının temelini oluşturur.

Kurşunun doğal rezonans frekansları yoktur; sonuç olarak, kurşun levha ses stüdyolarının duvarlarında, zeminlerinde ve tavanlarında ses yalıtım katmanı olarak kullanılır (Guruswamy, 2000). Kurşun, yoğunluğu ve yüksek zayıflama katsayısı nedeniyle nükleer bilimlerde ve X-ışını odalarında radyasyona karşı yerleşik bir koruyucu malzemedir (Thornton ve ark., 2001). Erimiş kurşun, kurşun soğutmalı hızlı reaktörler için soğutucu olarak kullanılmıştır (Tuček ve ark 2006).

Kurşunun 21. yüzyılın başlarındaki en büyük kullanım alanı kurşun-asit akülerdir. Akülerdeki kurşun insanlarla doğrudan temas etmez, bu nedenle toksisite endişeleri daha azdır. Kurşun akü üretim tesislerinde çalışan insanlar kurşun tozuna maruz kalabilir ve bu tozu soluyabilir. Aküde kurşun, kurşun dioksit ve sülfürik asit arasındaki reaksiyonlar güvenilir bir voltaj kaynağı sağlar. Bu bataryalar lityum-iyon bataryalardan daha düşük enerji yoğunluğuna ve şarj-deşarj verimliliğine sahiptir, ancak önemli ölçüde daha ucuzdur (Olinsky-Paul, 2013).

Kurşun, yüksek gerilim güç kablolarında, yalıtımın içine su difüzyonunu önlemek için kabuk malzemesi olarak kullanılır; kurşun kullanımdan kaldırıldıkça bu kullanım azalmaktadır. Elektronik lehimlerde kullanımı da bazı ülkeler tarafından çevreye zararlı atık miktarını azaltmak için aşamalı olarak kaldırılmaktadır. Kurşun, müze malzemeleri için Oddy testinde kullanılan üç metalden biridir ve organik asitleri, aldehitleri ve asidik gazları tespit etmeye yardımcı olur (Beiner ve ark., 2015).

Kurşunun toksisitesi 19. yüzyılın sonlarında geniş çapta kabul görmüştür. Kurşun, yumuşak dokularda ve kemiklerde biriken bir nörotoksindir; sinir sistemine zarar verir ve biyolojik enzimlerin işlevini engelleyerek davranış sorunlarından beyin hasarına kadar değişen nörolojik bozukluklara neden olur ve ayrıca genel sağlık, kardiyovasküler ve böbrek sistemlerini de etkiler. Kurşunun doğrulanmış bir biyolojik rolü yoktur ve kurşuna maruz kalmanın doğrulanmış güvenli bir seviyesi yoktur (WHO, 2018). 2009 Kanada-ABD çalışması, çok az risk oluşturduğu veya hiç risk oluşturmadığı düşünülen seviyelerde bile kurşunun "olumsuz zihinsel sağlık sonuçlarına" neden olabileceği sonucuna varmıştır (Bouchard ve ark., 2009). Kurşun

tuzları vücut tarafından çok etkili bir şekilde emilir. Kurşunun küçük bir miktarı (%1) kemiklerde depolanır; geri kalanı maruziyetten sonraki birkaç hafta içinde idrar ve dışkı ile atılır. Vücuda alınan kurşunun sadece yaklaşık üçte biri atılabilir ve bu yüzden sürekli maruziyet kurşunun biyolojik birikimine neden olabilir (Luckey ve Venugopal, 1979).

2.2.4. Kadmiyum

Kadmiyum 48 atom numarasına sahip kimyasal bir elementtir. Kadmiyumun sembolü Cd'dir. Bu element adını Yunan mitolojik karakteri Cadmus'tan alır; Latince cadmia, Yunanca kalamın anlamına gelir (Rolof, 1795). Kadmiyum, 1817 yılında Stromeyer ve Hermann tarafından aynı zamanda keşfedilmiştir (Hermann, 1818). Kadmiyum kimyasal olarak 12. gruptaki çinko ve cıvaya benzer. Bu yumuşak, gümüşü beyaz metal, bileşiklerinin çoğunda çinko gibi +2 oksidasyon durumu gösterirken, cıva gibi, 3 ila 11. gruplardaki geçiş metallerinden daha düşük bir erime noktasına sahiptir (Holleman ve ark., 1985). Diğer metallerin bir çoğunun aksine kadmiyum korozyona karşı dayanıklıdır ve diğer metaller üzerinde koruyucu bir plaka olarak kullanılır. Dökme metal olarak kadmiyum suda çözünmez ve yanıcı değildir; ancak toz halindeyken yanabilir ve zehirli dumanlar çıkarabilir (Harbison, 1998).

Kadmiyum yerkabuğunun yaklaşık 0,1 ppm'sini oluşturur. Kadmiyum içeren cevherlerin bulunduğu önemli bir kaynak bilinmemektedir. Önemli tek kadmiyum minerali olan greenockite (CdS) neredeyse her zaman sfalerit (ZnS) ile ilişkilidir. Bu birliktelik, çinko ve kadmiyum arasındaki jeokimyasal benzerlikten kaynaklanır ve onları ayıracak jeolojik bir süreç yoktur. Bu nedenle, kadmiyum çoğu çinko cevherinde küçük bir bileşen olarak bulunur ve esas olarak sülfidik çinko cevherlerinin ve daha az ölçüde kurşun ve bakırın madenciliği, eritilmesi ve rafine edilmesinin bir yan ürünü olarak üretilir (Rieuwerts, 2015). Çinko sülfat cevherlerinden elde edilen bazı çinko cevheri konsantreleri %1,4'e kadar kadmiyum içerir. Az miktarda kadmiyum, tüketimin yaklaşık %10'u, ikincil kaynaklardan, özellikle demir ve çelik hurdalarının geri dönüştürülmesiyle ortaya çıkan tozdan üretilmektedir. ABD'de üretim 1907 yılında başlamış olsa da, mineralin geniş çaplı

kullanım I. Dünya Savaşı'ndan sonra başlamıştır. Kadmiyumun tipik arka plan konsantrasyonları atmosferde 5 ng/m^3 ; toprakta 2 mg/kg ; tatlı suda $1 \text{ } \mu\text{g/L}$ ve deniz suyunda 50 ng/L 'yi aşmaz. $10 \text{ } \mu\text{g/L}$ 'nin üzerindeki kadmiyum konsantrasyonları, düşük toplam çözünen konsantrasyonlarına ve pH'ya sahip suda kararlı olabilir ve geleneksel su arıtma işlemleriyle giderilmesi zor olabilir (Rieuwerts, 2015).

Fosfatlı gübreler için çıkarılan kayalar değişen miktarlarda kadmiyum içerir, bu da gübrelerde 300 mg/kg kadar kadmiyum konsantrasyonuna ve tarımsal topraklarda yüksek kadmiyum içeriğine neden olabilir (Jiao ve ark., 2014). Kömür önemli miktarlarda kadmiyum içerebilir, bu da çoğunlukla kömürün uçucu külünde kalır (Bettinelli ve ark., 1988). 2009 yılında kadmiyumun %86'sı pillerde, ağırlıklı olarak da yeniden şarj edilebilir nikel-kadmiyum pillerde kullanılmıştır. Nikel-kadmiyum hücreleri pozitif bir nikel hidroksit elektrot ve bir alkalın elektrolit (potasyum hidroksit) ile ayrılmış negatif bir kadmiyum elektrot plakasından oluşur (Krishnamurthy, 2013). AB, 2004 yılında elektronikte kadmiyum için bazı istisnalar dışında %0,01'lik bir sınır koymuş ve 2006 yılında kadmiyum içeriği sınırını %0,002'ye kadar düşürmüştür (OJEU, 2016).

Küresel üretimin %6'sı, uçak endüstrisinde çelik bileşenlerin korozyonunu azaltmak için kadmiyum elektrokaplama kullanılır. Bu kaplama kromat tuzları ile pasifleştirilir. Kadmiyum kaplamanın bir sınırlaması, yüksek mukavemetli çeliklerin elektrokaplama işleminden kaynaklanan hidrojen gevrekleşmesidir. Bu nedenle, 1300 MPa üzerindeki gerilme mukavemetine kadar ısıtıl işlem görmüş çelik parçalar alternatif bir yöntemle (özel düşük kırılmalığa sahip kadmiyum elektrokaplama işlemleri veya fiziksel buhar biriktirme gibi) kaplanmalıdır (Scoulllos ve ark., 2001).

Kadmiyum, nükleer reaktörlerin kontrol çubuklarında kullanılır ve nükleer fisyonunda nötron akışını kontrol etmek için çok etkili bir nötron zehiri görevi görür. Kadmiyum çubuklar bir nükleer reaktörün çekirdeğine yerleştirildiğinde, kadmiyum nötronları emerek ek fisyon olayları yaratmalarını engeller ve böylece reaktivite miktarını kontrol eder. Basınçlı su reaktörlerinde %80 gümüş, %15 indiyum ve %5 kadmiyumdan oluşan bir alaşım kullanılmaktadır (Scoulllos ve ark., 2001).

Kadmiyumun yüksek organizmalarda bilinen bir işlevi yoktur ve toksik olarak sınıflandırılır. Kadmiyum, canlı organizmalar için sağlık tehlikesine neden olan çevresel bir kirletici olarak kabul edilir (Xu ve ark., 2020). Kadmiyumun hücrelere uygulanması oksidatif strese neden olur ve makro moleküler hasara karşı korunmak için hücreler tarafından üretilen antioksidanların seviyelerini artırır (Lane ve ark., 2005). Ancak bazı deniz diatomlarında kadmiyuma bağlı bir karbonik anhidraz bulunmuştur. Diatomlar çok düşük çinko konsantrasyonlarına sahip ortamlarda yaşamakta ve kadmiyum normalde diğer anhidrazlarda çinko tarafından gerçekleştirilen işlevi yerine getirmektedir (Lane ve Morel, 2000).

Kadmiyuma mesleki maruziyetin en tehlikeli şekli ince toz ve dumanların solunması veya yüksek oranda çözünür kadmiyum bileşiklerinin yutulmasıdır. Kadmiyum dumanlarının solunması başlangıçta metal dumanı ateşiyle sonuçlanabilir, ancak kimyasal pnömoni, pulmoner ödem ve ölüme kadar ilerleyebilir. Kadmiyum aynı zamanda çevresel bir tehlikedir. İnsanların maruziyeti temel olarak fosil yakıtların yanması, fosfatlı gübreler, doğal kaynaklar, demir ve çelik üretimi, çimento üretimi ve ilgili faaliyetler, demir dışı metal üretimi ve kentsel katı atıkların yakılmasından kaynaklanmaktadır. Diğer kadmiyum kaynakları arasında ekmek, kök bitkileri ve sebzeler yer almaktadır (Morrow, 2010).

Tütün bitkisi, çevresindeki topraktan kadmiyum gibi ağır metalleri emer ve yapraklarında biriktirir. Tütün dumanının solunmasını takiben, bu metaller kullanıcıların vücuduna kolayca emilir (Dias ve ark., 2012). Tütün içimi, genel popülasyonda kadmiyuma maruz kalmanın en önemli kaynaklarından biridir. Bir sigaradaki kadmiyum içeriğinin tahminen %10'u sigara içimi yoluyla solunmaktadır. Kadmiyumun akciğerler yoluyla emilimi, bağırsak yoluyla emiliminden daha etkilidir. Sigara dumanında solunan kadmiyumun %50'si emilebilir. Ortalama olarak, sigara içenlerin kanındaki kadmiyum konsantrasyonu içmeyenlere göre 4-5 kat, böbreklerindeki kadmiyum konsantrasyonu ise 2-3 kat daha fazladır. Sigara dumanındaki yüksek kadmiyum içeriğine rağmen, pasif içicilikten kaynaklanan kadmiyum maruziyeti çok az gibi görünmektedir (Jarup, 1998).

Sigara içmeyen bir popülasyonda, gıda en büyük maruziyet kaynağıdır. Kabuklular, yumuşakçalar, sakatat, kurbağa bacağı, kakao katıları, bitter ve yarı bitter çikolata, deniz yosunu, mantar ve alg ürünlerinde yüksek miktarlarda kadmiyum bulunabilir. Ancak tahıllar, sebzeler ve nişastalı kökler ve yumrular ABD'de çok daha fazla miktarda tüketilmektedir ve buradaki en büyük diyet maruziyetinin kaynağıdır. Çoğu bitki kadmiyum gibi metal toksinleri biyolojik olarak biriktirir ve organik gübre oluşturmak için kompostlandığında, her kilogram gübre için genellikle yüksek miktarlarda (örneğin, 0,5 mg'ın üzerinde) metal toksin içerebilen bir ürün verir. Hayvan gübresi (örneğin inek gübresi) veya kentsel atıklardan yapılan gübreler de benzer miktarlarda kadmiyum içerebilir. Gübrelerden (kaya fosfatları veya organik gübreler) toprağa eklenen kadmiyum, yalnızca toprak pH'sı düşükse (yani asidik topraklar) biyolojik olarak kullanılabilir ve toksik hale gelir (EFSA, 2012).

Kadmiyum, AB'nin elektrikli ve elektronik ekipmanlardaki tehlikeli maddeleri düzenleyen, ancak yasanın kapsamından bazı muafiyet ve istisnalara izin veren Tehlikeli Maddelerin Kısıtlanması (RoHS) direktifi tarafından yasaklanan altı maddeden biridir (OJEU, 2016). Kadmiyum tercihen insanların böbreklerinde emilir. İnsanların çocukluk ve ergenlik dönemlerinde yaygın olarak yaklaşık 30 mg kadmiyum solunur (Perry ve ark., 1976). Kadmiyumun insanlarda kanser, kardiyovasküler hastalık ve osteoporoz risklerini artırma potansiyeli olan toksisitesi araştırılmaktadır (Luevano ve Damodaran, 2014). Kadmiyum maruziyeti böbrek hastalığı, erken ateroskleroz, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere çok sayıda hastalıkla ilişkilidir. Çalışmalar insan popülasyonlarında kadmiyum maruziyeti ile hastalık oluşumu arasında önemli bir korelasyon olduğunu gösterse de, moleküler bir mekanizma henüz tanımlanmamıştır. Bir hipoteze göre kadmiyum bir endokrin bozucudur ve bazı deneysel çalışmalar kadmiyumun farklı hormonal sinyal yollarıyla etkileşime girebileceğini göstermiştir. Örneğin, kadmiyum östrojen reseptörü alfaya bağlanabilir ve düşük dozlarda östrojen ve MAPK sinyal yolları boyunca sinyal iletimini etkileyebilir (Ali ve ark., 2010; Fecher ve ark., 2011; Jhonson ve ark., 2003).

2.2.5. Çinko

Sembolü Zn olan çinko elementinin atom numarası 30'dur. Çinko, oda sıcaklığında hafif kırılğan bir metaldir. Oksitlenmemiş metal mavimsi beyaz ve parlak olsa da (David, 2006), en yaygın ticari kaliteler mat bir yüzeye sahiptir (Heiserman, 1992). Periyodik tablonun 12. grubundaki (IIB) ilk elementtir. Element, muhtemelen Almanca "Zinke" (çatal, diş) kelimesinden esinlenerek simyacı Paracelsus tarafından adlandırılmıştır (Habashi, 2016). Alman kimyager Andreas Sigismund Marggraf, 1746'da saf metal çinkoyu keşfetmesiyle tanınır (Margraff, 1746). Çinkonun elektrokimyasal özellikleri 1800 yılında Luigi Galvani ve Alessandro Volta'nın çalışmaları ile ortaya çıkarılmıştır (Hoover, 2003).

Çinko çoğu sıcaklıkta sert ve kırılğanken, 100 ila 150 °C arasında yumuşak hale gelir. 210 °C'nin üzerinde metal tekrar kırılğan hale gelir ve toz haline getirilebilir. Çinko iyi bir elektrik iletkenidir. Bir metal için çinko nispeten düşük bir erime noktasına (419,5 °C) ve kaynama noktasına (907 °C) sahiptir. Cıva ve kadmiyum hariç tüm d-blok metalleri arasında en düşük erime noktasına sahiptir; bu nedenle çinko, kadmiyum ve cıva genellikle diğer d-blok metaller gibi geçiş metalleri olarak kabul edilmez (David, 2016).

Çinkonun beş kararlı izotopu bulunur ve yerkabuğunun yaklaşık 75 ppm'ini oluşturur. Bu da çinkoyu yer kabuğunda en bol bulunan 24. element yapar. En yaygın çinko cevheri, bir çinko sülfür minerali olan sfalerittir. Çinkonun tipik arka plan konsantrasyonları atmosferde 1 µg/m³'ü; toprakta 300 mg/kg'ı; bitki örtüsünde 100 mg/kg'ı; tatlı suda 20 µg/L'yi ve deniz suyunda 5 µg/L'yi aşmaz (David, 2016). Element normalde cevherlerde bakır ve kurşun gibi diğer baz metallerle birlikte bulunur. Bir çinko sülfid formu olan sfalerit, yoğunlaştırıldığı zaman %60-62 oranında çinko içerir. Bu yüzden günümüzde en çok madenciliği yapılan çinko içeren cevherdir. Çinko için diğer kaynak mineraller arasında hemimorfit (çinko silikat), wurtzit (sfaleritten farklı bir çinko sülfid şekli), smitsonit (çinko karbonat) ve daha az yaygın olarak hidrozinkit (bazik çinko karbonat) bulunur. Wurtzit hariç, tüm bu diğer mineraller işlenmemiş çinko sülfitlerin ayrışmasıyla oluşmuştur (Greenwood ve Earnshaw, 1998; Letho, 1968; Rieuwerts, 2015). Dünya üzerinde

işlenebilir en büyük kaynaklar ABD, Asya ve Avustralya'da bulunmaktadır (Rieuwerts, 2015).

Çinko sülfid cevherinin rafine edilmesi, büyük miktarlarda kükürt dioksit ve kadmiyum buharı oluşturur. Üretim ve saflaştırma sırasında oluşan kalıntılar önemli miktarda çinko metali bulundurur. 1850'li yıllarda, madencilik ve eritme işlemlerinden kaynaklanan çinko emisyonları yılda 10.000 ton civarındaydı. Çinko emisyonları yaklaşık olarak 2.000 yıl öncesi ile kıyaslandığında on kat artarak 1980'lerde yılda 3,4 milyon tonla zirve yapmıştır. Bu rakam 1990'larda yılda 2,7 milyon tona düşmüş olsa da, 2005'te yapılan bir araştırma, Kuzey Kutbu troposferinde bulunan çinko konsantrasyonların bu düşüşü tam olarak yansıtmadığını göstermiştir. Antropojenik emisyonların doğal emisyonlara oranının 20'ye 1 olduğu belirtilmektedir (Broadley ve ark., 2007).

Endüstriyel ve madencilik alanlarına yakın bölgelerden geçen akarsu ve nehirlerde 20 ppm'e kadar çinko mineralinin bulunabileceği bildirilmiştir. Akarsu ve nehirlerdeki olası çinko kontaminasyonu, bu su içerisinde yaşayan canlılar için risk oluşturabilir. Toplam 2 ppm düzeyindeki çinko konsantrasyonlarının bile balıkların kanlarında taşıyabilecekleri oksijen miktarını olumsuz etkilediği bildirilmiştir. (Heath, 1995). Ancak, etkili arıtım yöntemleri akarsu ve nehir kirliliğini önemli ölçüde azaltabilir. Bu arıtım çalışmalarına en iyi örneklerden birisi Ren Nehri boyunca yapılan çalışmalardır ve çinko seviyelerini 50 ppb'ye kadar düşürmede etkili olmuştur (Emsley, 2001). Ayrıca, madencilik faaliyetleri, rafine etme işlemleri veya çinko içeren çamurlarla yapılan gübreleme işlemleri çevre bölgelerde bulunan toprakta da kontaminasyona yol açabilir ve kirlenmiş topraklar kilogram başına birkaç gram çinko içerebilir. Toprakta 500 ppm'nin üzerindeki çinko seviyeleri, demir ve manganez gibi diğer temel metallerin bitkiler tarafından emilebilmesini olumsuz etkiler. Bazı toprak numunelerindeki çinko seviyeleri 2000 ppm ila 180.000 ppm (%18) arasında değişebilmektedir (Emsley, 2001).

Korozyon önleyici bir madde olan çinko en çok demir ve çelik gibi maddelerin galvanize edilmesi için kullanılır. ABD'nde 2009 yılında tüketilen

Çinkonun yaklaşık %55'i (yaklaşık 893.000 ton) galvanizleme işlemleri kullanılmıştır. Diğer uygulamalar elektrikli bataryalar, küçük yapısal olmayan dökümler ve pirinç gibi alaşımlardır. Çinko karbonat ve çinko glukonat (besin takviyesi olarak), çinko klorür (deodorantlarda), çinko piritiyon (kepek önleyici şampuanlarda), çinko sülfür (ışıldayan boyalarda) ve organik laboratuvarlarda dimetil çinko veya dietil çinko gibi çeşitli çinko bileşikleri yaygın olarak kullanılmaktadır (USGS, 2011).

Çinko oksit ve çinko sülfat boyalarda ve pigmentlerde kullanılan bir kimyasaldır. Çinko piritiyon, zehirli boyalarda kullanılır (Davis, 2006; Konstantinou ve Albanis, 2004). Çinko oksitten ayrıca kauçuk üretiminde bir katalizör olarak (ısıyı dağıtmak için) yaygın bir şekilde yararlanılmaktadır. Çinko oksit kauçuk polimerleri ve plastikleri ultraviyole radyasyondan korumak için de kullanılır (Emsley, 2001). Çinko oksit yarı iletken bir özelliğe sahiptir ve bu yüzden varistörlerde ve fotokopi ürünlerinde kullanım alanı bulmuştur. Çinko/inko-oksit döngüsü hidrojen üretimi için çinko ve çinko okside dayalı iki aşamalı bir termokimyasal süreçtir (Zhang, 1996).

Çinko klorür genellikle kereste sanayisinde yangın geciktirici ve bazen ahşap koruyucu olarak eklenir (Heiserman, 1992). Çinko metil bir dizi organik sentezde kullanılır. Çinko sülfür ışığı emmesi ve karanlıkta ışıldaması yüzünden saatlerde, televizyon ekranlarında ve ışıklı boyalar gibi ışıldayan pigmentlerin üretiminde yararlanılmıştır. Çinko sülfür kristalleri, spektrumun orta kızılötesi bölümünde çalışan lazerlerde kullanılır. Ayrıca, %70 inko ve %30 sülfür tozundan oluşan sıkıştırılmış karışımlar ateşlendiğinde şiddetli bir kimyasal reaksiyon meydana getirdiğinden dolayı, çinko tozu zaman zaman model roketlerde itici gaz olarak da kullanılmaktadır (Davis, 2006; Emsley, 1998).

Çinko, piller için anot malzemesi olarak kullanılır. Alkalın pillerde toz çinko kullanılır ve çinko-karbon pillerin kasası (aynı zamanda anot görevi görür) levha çinkodan oluşturulur. Çinko, inko-hava pilinin/yakıt hücresinin anotları veya yakıtı olarak kullanılır. Çinko-seryum redoks akış pili de çinko bazlı bir negatif yarı hücreye dayanır (Cooper ve ark., 1995; Xie ve ark., 2013).

Çinko minerali memeliler, omurgalılar bitkiler ve mikroorganizmalar için temel bir eser elementtir (Prasad, 2008; Sugarman, 1983). Çinko yüzlerce enzim ve transkripsiyon faktörünün işlevi için gereklidir (Plum ve ark., 2010). Çinko tüm enzim sınıflarının yapısında bulunan tek metaldir. Ayrıca, demirden sonra memelilerde en fazla bulunan ikinci eser element olarak göze çarpar (Broadley ve ark., 2017).

Kabaca insan vücudunda 2-4 gr çinkonun farklı doku ve organlarda bulunduğu bildirilmiştir (Rink ve Gabriel, 2000). Özellikle beyin, kas, kemik, böbrek ve karaciğerde çinkonun yoğun olarak bulunduğu gözlenirken, en yüksek konsantrasyonlara prostat bezinde ve gözün bazı bölgelerinde rastlanmaktadır. Seminal plazma özellikle çinko açısından zengindir. Prostat bezi fonksiyonu ve üreme organlarının gelişiminde önemli bir faktördür (Berdanier ve ark., 2007).

Çinkonun biyolojik rolleri özellikle memeliler için önemlidir. Çinko apoptozisin düzenlenmesinde görev alırken, gen transkripsiyonunda, RNA ve DNA'nın metabolizmasında ve nöronlardaki sinyal iletiminde önemli rolleri vardır. Çinko iyonları genellikle proteinlerin aspartik asit, glutamik asit, sistein ve histidin amino asit yan zincirlerine bağlanır (Cotton ve ark., 1999). 2015 yılında yapılan bir çalışmada, insan proteinlerinin yaklaşık %10'unun çinko ile bağlandığını ve yüzlerce proteinin de çinko taşıdığını göstermiştir (Djoko ve ark., 2015). Merkezi sinir sistemi içerisinde çinko, glutamaterjik nöronlar tarafından spesifik sinaptik veziküllerde depolanır ve nöronal uyarılabilirliği düzenlenmesinde görev alabilir. Beyindeki sinaptik plastisitedeki katkısı sayesinde yeni bilgilerin kazanılmasında kilit bir rol oynadığı bildirilmektedir (Prakash ve ark., 2015). Ayrıca, çinkonun merkezi sinir sisteminin işlevsel düzenlenmesinde de kritik bir rol oynar (Bitanhirwe ve Cunningham, 2009). Merkezi sinir sisteminde aşırı sinaptik çinko konsantrasyonlarıyla sonuçlanan çinko homeostazının düzensizliğinin mitokondriyal oksidatif stres yoluyla nörotoksisteye neden olduğuna inanılmaktadır. Çinko homeostazisindeki problemlerin elektron taşıma zincirinde yer alan belirli enzimleri bozarak, kalsiyum homeostazında düzensizliği yol açtığı ve glutamaterjik nöronal

eksitotoksisite ve intranöronal sinyal iletimine müdahale yoluyla nörotoksisiteye neden olduğu düşünülmektedir (Tyszka-Czochara ve ark., 2014).

Çinkonun memelilerde vücut sağlığı için temel bir ihtiyaç olmasına rağmen, bu mineralin normal seviyelerden fazla alınması toksik etki gösterebilir. Diyetle fazla çinko bulunması ve buna bağlı aşırı emilimi bakır ve demir absorpsiyonunu bozabilir (Blake, 2007). Sularda çözünmüş serbest çinko iyonları hem bitkiler, hem omurgasız canlılar ve hem de balıklar için oldukça toksiktir (Eiser, 1993). Serbest çinko iyonun sadece mikromolar düzeyleri bazı organizmaların ölümüne sebep olduğu gözlenmiştir. Yakın zamanda yapılan bir çalışma, suya ilave edilen 6 mikromolar düzeyindeki çinkonun bu ortamda buluna *Daphnia*'ların %93'ünü öldürdüğünü göstermiştir (Muyssen ve ark., 2006).

Güçlü bir Lewis asidi olan serbest çinko iyonları korozyona yol açabilir. Mide asidin hidroklorik asit içeriği yüksektir ve bu ortamda bulunan metalik çinko kolayca çözünerek hidroklorik asit içerisinde korozif özellikteki çinko klorür oluşturur. Yüksek oranda çinko içeren maddelerin ağızdan alınması, çinko iyonunun asidik midede yüksek çözünürlüğü nedeniyle mide yüzeyine zarar verebilir (Bothwell ve ark., 2003). Ayrıca, günde 80 mg çinko alan yaşlı erkeklerin, plasebo grubuna göre üriner komplikasyonlar nedeniyle hastaneye kaldırılma riskinin arttığı gözlemlenmiştir (Johnson ve ark., 2007).

Diyetteki yüksek çinko, bazı minerallerin emilimini olumsuz etkileyebilir. Günlük olarak 100-300 mg çinko alan bireylerde demir ve bakır emiliminin azalabileceği rapor edilmiştir. Çinko titremesi veya "çinko üşümesi" olarak adlandırılan bir durum, galvanizli malzemelerin lehimlenmesi veya kaynaklanması sırasında çinko dumanının solunmasıyla ortaya çıkabilir (Davis, 2006). Çinko, gram başına 17 ila 38 mg çinko içerebilen protez kreminin yaygın bir bileşenidir. Bu ürünlerin aşırı kullanımından kaynaklanan sakatlıklar ve hatta ölümler iddia edilmiştir (Johnson ve ark., 2007).

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) çinkonun burundaki sinir reseptörlerine zarar vererek anosmia'ya neden olduğunu belirtmektedir. Koku almadaki problemler 1930'larda çocuk felci enfeksiyonlarını önlemek için çinko preparatları kullanıldığında da gözlemlenmiştir. 16 Haziran 2009'da FDA, soğuk algınlığı için kullanılan çinko bazlı burun içi sprey ürünlerin satışını yasaklamıştır. FDA, koku alma bozukluğu olan kişilerin sızan gaz veya dumanı tespit edememesi ve yiyecekleri yemeden önce bozulup bozulmadığını anlayamaması nedeniyle koku kaybının hayatı tehdit edebileceğini önermiştir (Oxford ve Oberg, 1985).

2.3. Antibiyotikler

Antibiyotik terimi - Yunanca anti, "karşı" ve bios, "yaşam" kelimelerinin birleşiminden oluşur ve "yaşama karşı" anlamına gelir. Bu terim mikroplara karşı kullanılan herhangi bir maddeyi ifade etmek için geniş anlamda kullanılır, ancak penisilinde olduğu gibi olağan tıbbi kullanımda antibiyotikler doğal olarak üretilenlerdir (bir mikroorganizmanın başka bir mikroorganizmayı etkisiz hale getirmesi), sülfonamidler ve antiseptikler gibi antibiyotik olmayan antibakteriyeller ise tamamen sentetiktir. Öte yandan, hem antibiyotikler hem de antibakteriyeller mikroorganizmaları yok etmek veya büyümelerini önlemek gibi aynı amaca sahiptir ve antimikrobiyal tedavi amacı için kullanılır.

"Yaşama karşı" anlamına gelen "antibiyozis" terimi, Fransız bakteriyolog Jean Paul Vuillemin tarafından bu ilk antibakteriyel ilaçların sergilediği olgunun tanımlayıcı bir adı olarak ortaya atılmıştır (Foster ve Raoult, 1974). Antibiyoz ilk olarak 1877 yılında Louis Pasteur ve Robert Koch'un havadaki bir basilin *Bacillus anthracis*'in büyümesini engellediğini gözlemlemesiyle bakterilerde tanımlanmıştır (Saxena, 2015). Bu ilaçlar daha sonra 1947 yılında Amerikalı bir mikrobiyolog olan Selman Waksman tarafından antibiyotik olarak yeniden adlandırılmıştır (Waksman., 1947). Antibiyotik terimi ilk olarak 1942 yılında Selman Waksman ve çalışma arkadaşları tarafından dergi makalelerinde, bir mikroorganizma tarafından üretilen ve yüksek seyreltmede diğer mikroorganizmaların büyümesine karşı antagonistik olan herhangi bir maddeyi tanımlamak için kullanılmıştır (Saxena, 2015). Bu tanım, bakterileri öldüren ancak mikroorganizmalar tarafından üretilmeyen maddeleri (mide

suları ve hidrojen peroksit gibi) ve sülfonamidler gibi sentetik antibakteriyel bileşikleri hariç tutmuştur. Güncel kullanımda "antibiyotik" terimi, bir mikroorganizma tarafından üretilip üretilmediğine bakılmaksızın, bakterileri öldüren veya büyümelerini engelleyen herhangi bir ilaca uygulanmaktadır (Davies ve Davies, 2010).

Antibiyotikler çok eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Eski uygarlıkların enfeksiyonlara karşı otlar, bal ve hatta hayvan dışkısı gibi doğal yollarla elde edilebilen çeşitli tedavileri kullandıklarına dair iyi tarihsel kanıtlar da bulunmaktadır (Keyes ve ark., 2003). En başarılı tedavilerden biri, eski Mısır, Çin, Sırbistan, Yunanistan ve Roma'da yararlı etkilerine dair birçok referans bulunan küflü ekmeğin topikal olarak uygulanmasıydı. 1640 yılında yayınlanan *Theatrum Botanicum* adlı kitabında John Parkinson (1567-1640) tarafından yapılan referanslarla küflerin yararına dair bu fikir yıllar boyunca devam etmiştir. Daha modern bazı antibiyotikler bile eski çağlarda mevcut olabilir. Nubia'da ve Mısır'ın Roma işgali sırasında kazılan insan iskeletlerinde tetrasiklin izlerine rastlanmıştır ve tetrasiklinin kökeni hala gizemini korumaktadır (Basset ve ark., 1980).

Alexander Fleming'in (1881-1955) 1928'de penisilini nasıl keşfettiğine dair hikayeye herkes aşinadır, ancak muhtemelen başkaları ondan önce bu noktaya ulaşmıştır (Gold, 2016). 1870 yılında Sir John Scott Burdon-Sanderson (1828-1905) küfle kaplı kültür sıvısının bakteri üremesini nasıl engellediğini tarif etmiştir. Bir yıl sonra Joseph Lister (1827-1912) 'Penicillium glaucium ile deneyler yapmış ve insan dokuları üzerinde antibakteriyel etkisi olduğunu göstermiştir. 1875 yılında Dr. John Tyndall (1820-1893) Penicillium notatum ile yaptığı deneyleri Royal Society'ye sunmuştur. Son olarak, 1897'de Ernest Duchesne (1874-1912) Arap seyislerin eyer yaralarını eyerlerine yayılan küfle tedavi ettiklerini gözlemledi. Penicillium notatum olduğu doğrulanan bu küfü aldı ve kobaylarda indüklenmiş tifoyu başarıyla tedavi etmek için kullandı (Porter, 1999).

Fleming penisilinde büyük bir potansiyel olduğunu fark etti, ancak laboratuvarında gösterilebilenleri yaygın olarak kullanılabilecek bir ilaca

dönüştürmede önemli zorluklar vardı. Neyse ki, bir farmakolog ve patolog olan Howard Florey (1898-1968) ve Oxford'da çalışan bir biyokimyacı olan Ernst Chain (1906-1979) aynı yıl bir saflaştırma tekniğini tanımlayan makale yayınladı. Bu buluş, penisilinin 1945'te sınırlı kullanım için hazır hale gelmesini sağladı (Aminov, 2010).

Alexander Fleming (1881-1955) 1928 yılında modern penisilini keşfetmiş ve yaygın kullanımı savaş zamanında önemli ölçüde faydalı olmuştur. Fleming penisilini saflaştırmaya çalışırken, Almanya'da Bayer'deki bilim insanları Ehrlich'in izinden gidiyor ve boyaların antibakteriyel etkilerini araştırıyorlardı. Sülfanilamid 1908'de sentezlenmiş ve bir boya ile birleştirilerek 1931'de Prontosil üretilmiştir; bu kombinasyonun farelerde *streptokok* enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmıştır. 1933 yılında *stafilokok* septisemisinden ölmek üzere olan bir çocuğa ilaç verildi ve mucizevi bir başarı elde edildi. 1935 yılında araştırmacılar Prontosil'in sülfanilamide metabolize olması nedeniyle boya bileşeninin gereksiz olduğunu fark etti ve böylece sülfonamid dönemi başlamış oldu (Shambaugh, 1966).

Bununla birlikte, antibiyotiklerin etkinliği ve kolay erişimi aşırı kullanımlarına da yol açmış (Laxminarayan ve ark., 2013) ve bazı bakteriler bunlara karşı direnç geliştirmiştir (Gualerzi ve ark., 2013; Gold, 2016). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) antimikrobiyal direnci yaygın bir "ciddi tehdit olarak sınıflandırmıştır. Antimikrobiyal dirence atfedilebilecek küresel ölümler 2019'da 1,27 milyondur (Murray ve ark., 2022).

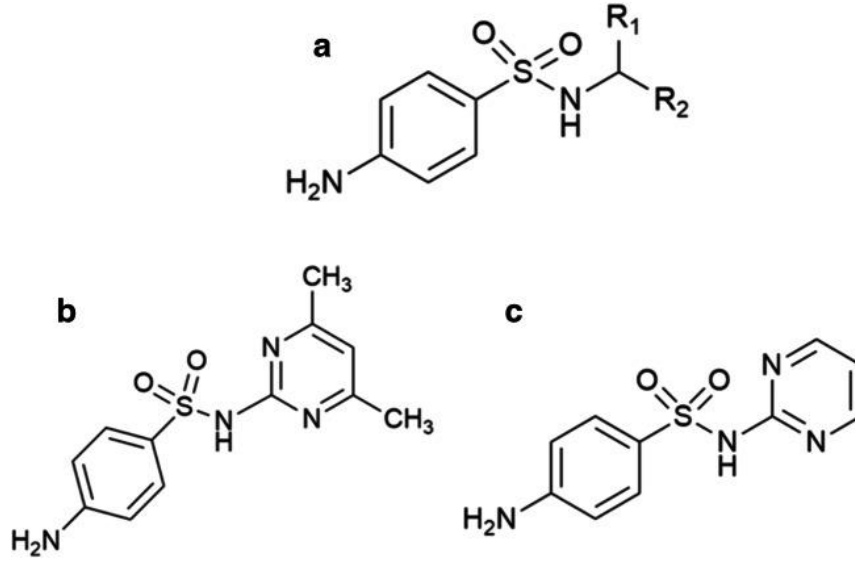
2.3.1. Sülfonamidler

Sülfonamidler veya sülfanilamidler, insan ve hayvan bakteriyel enfeksiyonlarının tedavisi için farmakolojik olarak geniş spektrumlu olarak kullanılan önemli bir sentetik antimikrobiyal ilaç sınıfına aittir (Seydel, 1968; Supuran ve ark., 2003). Sülfonamid yapıları $-SO_2NH_2$ ve/veya $-SO_2NH-$ grubu içeren organo-sülfür bileşikleridir ve sülfanilamid grubunun ve farklı 6 veya 5 üyeli heterosiklik halkaların varlığı ile karakteristiktir. Sülfonamidler biyolojik olarak kolayca parçalanamazlar ve sindirim ve solunum yolları hastalıkları da dahil olmak üzere çeşitli olumsuz yan etkilere neden olma potansiyeline sahiptirler (Sultan,

2015). Sulfonamid ilaçlarının alerjik olmayan reaksiyonlarından bazıları ishal, bulantı, kusma, baş dönmesi, kandidiyaz, folat eksikliği ve baş ağrısıdır (Mathews ve ark. 2015). Sulfonamidler yüksek dozlarda kullanıldığında Stevens-Johnson sendromu ve toksik epidermal nekroliz gibi güçlü bir alerjik reaksiyona neden olabilir (Shah ve ark., 2018).

Sulfanamid alerjisine yönelik advers ilaç reaksiyonlarının genel insidansı yaklaşık %3-8 olup penisilin için görülene yakındır (Giles ve ark. 2019; Warrington ve ark. 2018). Bu alerjik yanıtın temel belirleyici özelliği, sülfametoksazol, sülfasalazin ve sülfadiazinde olduğu gibi N4 arilamin grubu pozisyonunda süstitüsüyonu içerir (Dibbern ve Montanaro 2008; Tilles 2001). Arilamin grubu içermeyen diğer sulfonamidler alerjik yanıtı indüklememe eğilimindedir ve bu nedenle güvenle alınabilir (Giles ve ark. 2019; Khan ve ark. 2019). Bu alerji etkisinin bir sonucu olarak, sulfonamidler iki gruba ayrılır: (i) anti-bakteriyel sulfonamidler (aromatik amin içeren) ve (ii) antibakteriyel olmayan sulfonamidler (aromatik amin içermeyen) (Yousef ve ark. 2018; Zawodniak ve ark. 2010).

Tersiyer sulfonamidlerin tipik yapısı, aynı zamanda bir azot atomuna (değiştirilmiş bir amin olarak bulunur) ve R1/R2'nin hidrojen, alkil, aril veya hetero aril grupları da olabileceği bir anilin grubuna (Şekil 2.3A) bağlı iki çift bağlı oksijene sahip merkezi bir sülfür atomu içerir. Prototipik sulfonamid ilaç yapısını tanımlamanın alternatif bir yolu, bir sulfonamid grubu ile türevlendirilmiş anilinden oluşan organik bir bileşiktir (Pareek ve ark. 2013; Sonu ve ark. 2017). Sulfonamidlerin türev yapısında (Şekil 2.2A) Sülfametazin (SMZ) ve sülfadiazin (SDZ) arasındaki fark (Şekil 2.2B ve C), piridin halkasının 4. ve 6. karbonunda bulunan ekstra dimetil grubunda yatmaktadır. Sulfonamidlerin IUPAC adı 4-aminobenzensulfonamiddir ve iki türev ilaç sırasıyla SMZ için 4-amino-N-(4, 6-dimetilpirimidin-2-il) benzen sulfonamid ve SDZ için 4-amino-N-(pirimidin-2-il) benzen-1-sulfonamiddir (Robertson ve ark., 2020).



Şekil 2.3. A-Sülfonamid (SN), B-sülfametazin (SMZ) ve C-sülfadiazin'nin (SDZ-c) genel kimyasal yapıları (Ovung ve Bhattacharyya, 2021).

Sülfonamidler, farklı amaçlar için kullanılabilmeleri nedeniyle (bakteriyel enfeksiyonların tedavisi ve ayrıca çiftlik hayvanlarının büyümesini teşvik etmek gibi) yaygın olarak kullanılan sentetik antimikrobiyal ilaçlardır. Sülfonamid ilaç türevlerinin çeşitli formları üretilmiştir. Sülfonamid türevi ilaçlar arasında sulfamethazine, sulfadiazine, sulfamethoxazole, sulfasalazine, sulfisoxazole, sulfamerazine, sulfadimethoxine, sulfafurazole ve sulphanilamide bulunmaktadır (Hehui ve ark., 2021; Supuran, 2017). Bu sülfonamid türevleri arasında 1906 yılında ilk geliştirilen sülfanilamid olmasına rağmen, 1930'ların sonlarına kadar antimikrobiyal bir ajan olarak kullanılmamıştır (Fernández-Villa ve ark., 2019).

SMZ ve SDZ, aromatik amin grubu içeren sülfonamid grubu antibiyotik ilaçların türevleri arasındadır. SMZ ve SDZ, veteriner hekimlikte gastrointestinal ve solunum yolu enfeksiyonları gibi çiftlik hayvanları hastalıklarını tedavi etmek için antibakteriyel bir bileşik olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Rama ve ark., 2017). SMZ, hayvanlarda büyümeyi teşvik etmek için hayvan yemlerinde veya yem katkı maddelerinde kullanılmıştır (Awaisheh ve ark., 2019; Chattopadhyay, 2014). SDZ ise öncelikle yanık yaralarının neden olduğu enfeksiyonun tedavisinde kullanılmaktadır (Banerjee ve ark., 2019; Dai ve ark., 2010). SDZ ayrıca

memelilerde toksoplazmoz tedavisi için anti-sıtma ilacı pirimetamin ile birlikte kullanılır (Islam ve ark., 2013; Winters ve Janney, 2015). SN, SMZ ve SDZ hakkında çevresel etkileri, antibakteriyel etkileri ve belirli biyo-makromoleküllerle etkileşimlerini ele alan çeşitli raporlar bulunmaktadır (Bendjeddou ve ark., 2016; Biošić ve ark., 2017; Islam ve ark., 2016).

Sülfonamidler, gram-pozitif ve bazı gram-negatif bakterilere karşı çok etkili olan, geniş bir aktivite yelpazesine sahip önemli bir antibiyotik ilaç sınıfıdır (White ve Cooper, 2003). Duyarlı gram-negatif bakterilerden bazıları *Klebsiella*, *Salmonella*, *Escherichia coli* ve *Enterobacter* türlerini içerir; ancak sülfonamidler *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia* türlerine karşı inhibitör aktivite (bakteriyel direnç) göstermez (Lavanya, 2017). Sülfonamidler tonsillit, septisemi, meningokok menenjit, basilli dizanteri ve bir dizi idrar yolu enfeksiyonunun tedavisinde kullanılmaktadır (Seneca, 2015; Wiedemann ve ark., 2014). Sülfonamidler ayrıca bazı mantarlara (*Pneumocystis carinii*) ve protozoalara (*Toxoplasma*, *Coccidia*) karşı da inhibitör aktivite göstermektedir (Chio ve ark., 1996; McFarland ve ark., 2016). Sülfonamid, sülfametazin ve sülfadiazin ilaçlarının antibakteriyel etkisini gösteren birçok yayınlanmış rapor vardır (Blanchard ve ark., 2016; Peng ve ark., 2015; Tailor ve Patel, 2015; Ueda ve ark., 2020). Sülfonamidler ve türevleri *Nocardia*, *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'nin neden olduğu bakteriyel enfeksiyonlara karşı kullanıldığında belirgin antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Genç ve ark., 2008; Işık ve Özdemir-Kocak, 2009). Sülfonamid grubu ilaçların artan antibakteriyel aktivitesi, nitro grubu gibi elektron çeken gruplarla ikame edildiğinde görülmüştür (Radha Mothilal ve Thamaraichelvan, 2016; Tailor ve Patel, 2015; Vagdevi, 2018). Sülfonamidlerin etki şekli, bakteriyel DNA sentezinin rekabetçi inhibisyonu yoluyla bakterileri inhibe etmesidir.

2.3.2. Tetrasiklinler

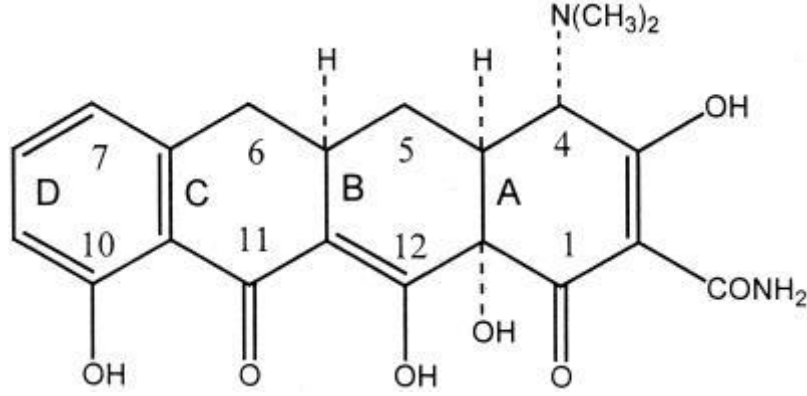
1940'larda keşfedilen tetrasiklinler, aminoasil-tRNA'nın ribozomal akseptör (A) bölgesine bağlanmasını önleyerek protein sentezini inhibe eden bir antibiyotik ailesidir. Tetrasiklinler, çok çeşitli gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere, klamidyaya, mikoplazma ve riketsiya gibi atipik organizmalara ve protozoan

parazitlere karşı aktivite gösteren geniş spektrumlu ajanlardır. Bu ajanların olumlu antimikrobiyal özellikleri ve önemli yan etkilerinin olmaması, insan ve hayvan enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmalarına yol açmıştır. Ayrıca, meflokin dirençli *Plasmodium falciparum*'un neden olduğu sıtmanın önlenmesi için profilaktik olarak da kullanılırlar. Ayrıca, ABD de dahil olmak üzere bazı ülkelerde, tetrasiklinler, büyümeyi destekleyici olarak hareket etmek için hayvan yemlerine subterapötik seviyelerde eklenmektedir. Tetrasiklinler hem insan hem de veterinerlik tıbbında önemli rollerini korusalar da, mikrobiyal direncin ortaya çıkması etkinliklerini sınırlamıştır. (Nelson ve ark., 1993; Nelson ve Levy, 1999).

Klortetrasiklin ve oksitetrasiklin 1940'ların sonunda keşfedilen, tetrasiklin grubunun tanımlanan ilk üyeleridir. Bu moleküller sırasıyla *Streptomyces aureofaciens* ve *S. rimosus*'tan elde edilen ürünlerdi. Diğer tetrasiklinler daha sonra ya *S. aureofaciens*, *S. rimosus* ve *S. viridofaciens*'ten tetrasiklin ve *S. aureofaciens*'ten dimetil klortetrasiklin gibi doğal olarak oluşan moleküller olarak ya da metasiklin, doksisisiklin ve minosiklin gibi yarı sentetik yaklaşımların ürünleri olarak tanımlanmıştır. İlk tetrasiklinlerin başarısına rağmen, parenteral uygulamaya izin vermek ya da oral emilimi artırmak için suda çözünürlüğü artırılmış analoglar aranmıştır. Bu yaklaşımlar, yarı sentetik bileşikler olan rolitetrasiklin ve limesiklinin geliştirilmesiyle sonuçlanmıştır. En son keşfedilen tetrasiklinler glisilsiklinler olarak adlandırılan yarı sentetik gruptur. Bu grup içerisinde 9-(N,N-dimetilglisilamido)-6-demetil-6-deoksitetrasiklin, 9-(N,N-dimetilglisilamido)-minosiklin ve 9-t-(butilglisilamido)-minosiklin bulunur. Bu bileşikler 9-glisilamido süstitüentine sahiptir. Bu antibiyotikler birinci nesil (1948-1963), ikinci nesil (1965-1972) ve üçüncü nesil (glisilsiklin) tetrasiklinler olarak gruplandırılabilir. Minosiklinin 9-t-butilglisilamido türevi (tigilsiklin; daha önce GAR-936 olarak biliniyordu) Ekim 1999'da faz I çalışmalarına başlamıştır ve faz II klinik deneylerden 2001 yılında geçmiştir. Daha önceki bileşiklerden bazıları, örneğin klomosiklin, artık pazarlanmamaktadır ve diğerleri, örneğin rolitetrasiklin, limesiklin ve klortetrasiklin, tüm ülkelerde mevcut değildir (Finch, 1997; Kucers ve Bennett, 1987).

Tetrasiklinlere antibakteriyel aktivite kazandıran yapısal özellikler iyi bir şekilde belirlenmiştir (Rogalski, 1985). Tetrasiklin molekülleri, çeşitli fonksiyonel grupların bağlandığı doğrusal kaynaşmış bir tetrasiklik çekirdekten (A, B, C ve D olarak adlandırılan halkalar) oluşur. Saptanabilir antibakteriyel aktivite gösteren en basit tetrasiklin 6-deoksi-6-demetiltetrasiklidir (Şekil 2.4) ve bu nedenle bu yapı minimum farmakofor olarak kabul edilebilir (Mitscher, 1978). Tetrasiklinler arasında antibakteriyel aktivite için önemli olan özellikler lineer kaynaşmış tetracycle'nin korunması, 4a, 12a (A-B halka birleşimi) ve 4 (dimetilamino grubu) pozisyonlarında doğal olarak oluşan (α) stereokimyasal konfigürasyonlar ve fenolik D halkasına yakın keto-enol sisteminin (11, 12 ve 12a pozisyonları) korunmasıdır.

Tetrasiklinler güçlü şelatlama ajanlarıdır (Blackwood, 1985; Chopra ve ark., 1992) ve hem antimikrobiyal hem de farmakokinetik özellikleri metal iyonlarının şelatlanmasından etkilenir. Şelasyon bölgeleri arasında β -diketon sistemi (11 ve 12. pozisyonlar) ve A halkasının enol (1 ve 3. pozisyonlar) ve karboksamid (2. pozisyon) grupları bulunmaktadır (Blackwood, 1985; Chopra ve ark., 1992). Yeni keşfedilen glisilsiklinler de diğer tetrasiklin türevleri gibi iki değerlikli katyonlarla şelasyon kompleksleri oluşturur (Someya ve ark., 1995). C-2 karboksamid parçasının başka gruplarla değiştirilmesi genellikle daha düşük antibakteriyel aktiviteye sahip analoglarla sonuçlanmıştır (Mitscher, 1978), çünkü muhtemelen bakteriler bu molekülleri zayıf bir şekilde biriktirmektedir (Chopra, 1986). Bununla birlikte, amid azotuna sübstituentlerin eklenmesi, rolitetrasiklin ve limesiklin örneğinde olduğu gibi, önemli ölçüde suda çözünürlük kazandırabilir. Ön ilaçların in vivo ayrışması tetrasiklini serbest bırakır (Mitscher, 1978, Rogalski, 1985). Ayrıca 1, 3, 4a, 10, 11 veya 12 pozisyonlarındaki sübstitüsyonlar antibakteriyel aktivite için her zaman zararlıdır (Mitscher, 1978). Bununla birlikte, B, C ve D halkaları üzerindeki farklı pozisyonlarda bir dizi başka sübstitüsyon tolere edilir ve bu sübstitüentlere sahip moleküller, günümüzde klinik kullanımda olan tetrasiklinlerin yanı sıra şu anda klinik deneylerden geçen yeni glisilsiklin moleküllerinin ortaya çıkmasına neden olmuştur.



Şekil 2.4. Minimum tetrasiklin farmakoforu olan 6-deoksi-6-demethyltetrasiklinin yapısı (Chopra ve Roberts, 2001).

Yukarıda bahsedilen kapsamlı yapı-aktivite çalışmaları, bir istisna dışında, moleküllerin antibakteriyel aktiviteyi koruyabilmesi için doğrusal olarak kaynaşmış tetrasiklik çekirdekteki halkaların her birinin altı üyeli ve tamamen karbosiklik olması gerektiğini ortaya koymuştur. Örneğin, B halkasının beş üyeli bir karbosiklik içerdiği türevler olan nortetrasiklinler esasen antibakteriyel aktiviteden yoksundur (Rogalski, 1985). Bununla birlikte, C halkasının 6. pozisyonunda bir sülfür atomuna sahip olan 6-tiatetrasiklin, bu serideki moleküller güçlü antibakteriyel özelliklere sahip olduğundan, aktivite için tamamen karbosiklik altı üyeli bir halka yapısının gerekli olduğu kuralının belirgin bir istisnasıdır (Rogalski, 1985). Bununla birlikte, tiyatetrasiklinlerin ve topluca atipik tetrasiklinler olarak adlandırılan bir dizi diğer tetrasiklin analogunun (Rogalski, 1985; Chopra ve ark., 1992), tetrasiklinlerin çoğundan farklı bir yapı-aktivite ilişkisi sergilediği artık tespit edilmiştir. Anhidrotetrasiklinleri, 4-epi-anhidrotetrasiklinleri ve chelocardin'i de içeren bu moleküller, bakteriyel sitoplazmik membranı doğrudan bozarak bakterisidal bir tepkiye yol açıyor gibi görünmektedir (Rogalski, 1985; Olivia ve Chopra, 1992; Olivia ve ark., 1992). Bu durum, bakteriyel protein sentezini inhibe etmek için ribozomla etkileşime giren ve geri dönüşümlü bir bakteriyostatik etki gösteren tipik tetrasiklinlerle tezat oluşturmaktadır. Atipik tetrasiklinlerin membran bozucu özellikleri muhtemelen B, C ve D halkalarının göreceli düzlemselliği ile ilgilidir, böylece lipofilik, noniyonize bir molekül baskın hale gelir. Atipik tetrasiklinlerin hücre ile etkileşime girdiklerinde tercihen sitoplazmik membranın hidrofobik

ortamında hapsolmaları ve işlevini bozmaları muhtemeldir. Bu moleküller terapötik adaylar olarak ilgi görmemektedir çünkü insanlarda muhtemelen ökaryotik ve prokaryotik hücre membranları ile nonspesifik olarak etkileşime girme yetenekleri ile ilişkili olan olumsuz yan etkilere neden olmaktadır (Chopra, 1994; Rogalski, 1985).

Tetrasiklinler, gram-negatif enterik bakterilerin dış membranını OmpF ve OmpC porin kanalları aracılığıyla pozitif yüklü katyon (muhtemelen magnezyum)-tetrasiklin koordinasyon kompleksleri olarak geçer (Chopra ve ark., 1993; Schnappinger ve Hillen, 1996). Katyonik metal iyonu-antibiyotik kompleksi, dış zar boyunca Donnan potansiyeli tarafından çekilerek periplazmada birikime yol açar ve burada metal iyonu-tetrasiklin kompleksi muhtemelen iç (sitoplazmik) zarın lipid çift katmanlı bölgelerinden difüze olabilen zayıf lipofilik bir molekül olan yüksüz tetrasiklini serbest bırakmak için ayrışır. Benzer şekilde, elektroneutral, lipofilik formun gram-pozitif bakterilerin sitoplazmik membranı boyunca transfer edilen tür olduğu varsayılmaktadır. Tetrasiklinlerin sitoplazmik membran boyunca alımı enerjiye bağlıdır ve proton hareket kuvvetinin ΔpH bileşeni tarafından yönlendirilir (Nikaido ve Thanassi, 1993; Schnappinger ve Hillen, 1996). Sitoplazma içinde, tetrasiklin moleküllerinin şelatlanması muhtemeldir çünkü iç pH ve iki değerlikli metal iyon konsantrasyonları hücre dışındakilerden daha yüksektir (Schnappinger ve Hillen, 1996). Gerçekten de ribozoma bağlanan aktif ilaç türünün bir magnezyum-tetrasiklin kompleksi olması muhtemeldir (Chopra ve ark., 1993; Levy, 1984). Tetrasiklinlerin ribozomla birleşmesi geri dönüşümlüdür ve bu antibiyotiklerin bakteriyostatik etkilerini açıklar (Chopra ve ark., 1993).

Birçok çalışma, ribozomal 30S alt biriminde tetrasiklinler için tek, yüksek afiniteli bir bağlanma bölgesi olduğunu göstermiştir; fotoafinite etiketleme ve kimyasal ayak izi çalışmaları, protein S7 ve 16S bazları G693, A892, U1052, C1054, G1300 ve G1338'in bağlanma cebine katkıda bulunduğunu göstermektedir (Chopra ve ark., 1993; Moazed ve Noller, 1987; Oehlerve ark., 1997, Schnappinger ve Hillen, 1996). Bununla birlikte, Schnappinger ve Hillen (1996) ribozomdaki ilaç etkileşimi için bu görünür bölgelerin gerçek bağlanma bölgesini tam olarak

yansıtmayabileceğine dikkat çekmiştir. Gerçekten de, yukarıda bahsedilen probleme çalışmalarının yorumlanması, tetrasiklinin (yaklaşık 8'e 12 Å ölçülerinde) ribozoma bağlanmasının 16 S rRNA'da geniş kapsamlı yapısal değişikliğe neden olduğu gözlemiyle karmaşıklaşmaktadır (Noah ve ark.,1999). Ayrıca, foto-korporasyon yöntemleri, ışınlama üzerine ribozomlarla daha fazla reaksiyona girebilecek tetrasiklin foto-ürünlerinin üretilmesi sınırlamasına tabidir (Oehler ve ark., 1997). Bununla birlikte, doğal olarak oluşan tetrasikline dirençli propiyonibakteriler 16S rRNA'da 1058 pozisyonunda sitozinden guanine bir nokta mutasyonu içerir, bu da en azından kimyasal ayak izi ile tanımlanan komşu U1052 ve C1054 bazlarının tetrasiklinlerin 30S alt birimine bağlanması için işlevsel bir öneme sahip olabileceğini düşündürmektedir (Moazed ve Noller, 1987).

Majör antieukaryotik aktivitenin yokluğu, tetrasiklinlerin seçici antimikrobiyal özelliklerini açıklamaktadır. Moleküler düzeyde bu, 80S ribozomlar tarafından desteklenen protein sentezinin nispeten zayıf inhibisyonundan (van den Bogert ve Kroon, 1982) ve antibiyotiklerin memeli hücreleri tarafından zayıf birikiminden kaynaklanmaktadır (Franklin, 1966). Ancak tetrasiklinler, bu organellerde 70S ribozomların bulunması nedeniyle mitokondrilerdeki protein sentezlerini inhibe etmektedir (Riesbeck, 1990). Tetrasiklinlerin aktivite spektrumunun *P. falciparum*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Leishmania major*, *Trichomonas vaginalis* ve *Toxoplasma gondii* gibi çeşitli protozoan parazitleri kapsadığı bir süredir bilinmektedir (Bunnag ve ark., 1996; Chopra ve ark., 1993; Kucers, 1987; Pukrittayakamee ve ark., 2000). Antiparazitik aktivite bazı durumlarda *P. falciparum* gibi belirli organizmaların mitokondri içerdiği bulgusuyla açıklanmaktadır (Edlind, 1991). Bununla birlikte, mitokondri içermeyen bir dizi diğer protozoa yine de tetrasiklinlere karşı duyarlı kalmaktadır. Şu anda bu bulgular için tatmin edici bir moleküler açıklama bulunmamaktadır (Edlind, 1991).

2.3.3. Streptomisin

Streptomisin, orijinal olarak *Streptomyces griseus* bakterisinden izole edilen ilk aminoglikozid antibiyotiktir (Şekil 2.5). Streptomisin 1943 yılında keşfedildikten sonra, 1948 yılından beri tüberküloz tedavisinde kullanılan bir antibiyotiktir

C[C@H]1O[C@H](O[C@@H]2[C@H](O)[C@H](O)[C@@H](CO)O2)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]1O

Bu yan etkiler arasında ateş, döküntü, ototoksisite, nefrotoksisite ve böbrek fonksiyon bozukluğu yer almaktadır (Syal ve ark., 2013). Streptomisin geçmişte akciğer tüberkülozu için ilk ve en etkili tedavilerden biri olmasına rağmen, günümüzde büyük ölçüde mevcut standart "RIPE" (rifampin, izoniazid, pirazinamid ve etambutol) tedavisine alternatif bir tedavidir. Bununla birlikte, potansiyel olarak etkili bir tedavi olmaya devam etmektedir ve RIPE tedavisinin tolere edilemediği veya başka bir şekilde kullanılamadığı durumlarda akıld tutulması önemlidir. Streptomisin kullanımı, rifampin, izoniazid, pirazinamid ve etambutolden oluşan standart kombinasyon tedavisinin etkili olmadığı ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonunun nasıl tedavi edileceğine dair ortaya çıkan tartışmada

özellikle uygulanabilir hale gelmektedir. Bu durumlarda streptomisin, rifapentin, rifabutin, linezolid ve levofloksasin, gatifloksasin ve moksifloksasin gibi bazı florokinolon antibiyotikler gibi *M. tuberculosis*'e karşı etkinliği olan diğer seçenek antibiyotikler arasında kabul edilebilir bir alternatif tedavi olarak kabul edilir (Mitnick ve ark., 2009).

Tüm aminoglikozidlerde olduğu gibi streptomisin de bakterisidaldır ve ribozomal peptid/protein sentezine müdahale sağlar. Streptomisin, kendisini 16S rRNA'ya bağlayarak ve genom zincirinin proteinlere çevrilmesine müdahale ederek bir protein sentezi inhibitörü olarak hareket eder ve daha fazla protein sentezini durdurur (Gale ve ark., 1981; Sharma ve ark., 2007). Aminoglikozidler hidrofildir, yani hidrofobik bakteri hücre zarına nüfuz edemezler. Bunu başarmak için hücrenin solunum döngüsü sırasında kullanılan bir elektron taşıma sistemine ihtiyaç vardır, bu nedenle aminoglikozidler sadece aerobik bakterilere karşı aktiftir (Ball ve ark., 1975; Germovsek ve ark., 2017; Vianna ve ark., 2019). Streptomisin ile ilişkili direnç, 16S rRNA'nın kodlanmasından sorumlu olan *rpsL* ve *rrs* genlerinin modifikasyonundan kaynaklanmaktadır (Finken ve ark., 1993; Funatsu ve Wittmann, 1972; Honore ve Cole, 1994). Mutasyon, 16S rRNA yapısının değişmesine ve 16S rRNA ile streptomisin arasındaki etkileşimin bozulmasına neden olur (Nair ve ark., 1993; Stasio ve ark., 1989). Streptomisine dirençli izole edilen tüberkülozis suşlarının yaklaşık %50-70'i *rrs* ve *rpsL* genlerinde mutasyon gösterirken, izolatların yaklaşık %30'u başka bir direnç mekanizması göstermektedir. Mutasyon *gidB* geni düşük streptomisin seviyeleri için dirence neden olmaktadır (Spies ve ark., 2008). Streptomisin hasta için birçok yan etkiye neden olabilir.

Streptomisin gastrointestinal sistemde zayıf bir şekilde emilir ve tipik olarak derin kas içi enjeksiyon yoluyla parenteral olarak uygulanır. Alternatif olarak, birden fazla doza ihtiyaç duyan veya yeterli kas kütlesine sahip olmayan hastalar ağrı nedeniyle enjeksiyonları tolere edemeyebilir. Bu durumlarda intravenöz uygulama alternatif bir uygulama yöntemi olabilir. Streptomisinin serum yarılanma ömrü yaklaşık 2,5 saattir ve serum ilaç seviyeleri yaklaşık 50 mg/ml seviyesinde zirve yapar (Germovsek ve ark., 2017; Zhu ve ark., 2001).

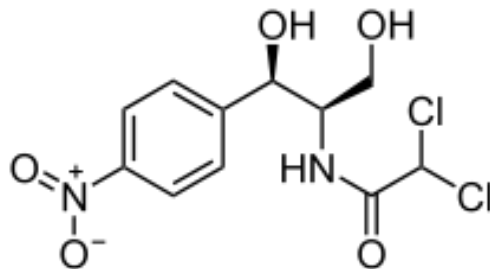
Streptomisin kullanımında aşırı duyarlılık reaksiyonları nadir değildir ve genellikle döküntü veya hafif ateş şeklinde kendini gösterir. Diğer potansiyel yan etkiler arasında uzun süreli tedavide hipomagnezemi, nöbetler ve aşırı durumlarda ensefalopati yer alır (Germovsek ve ark., 2017). Streptomisinin immüno-alerjik hemolitik anemi ile gevşek ilişkileri vardır (Pla ve ark., 1976). Ek olarak, streptomisin toksisitesiyle ilgili sayısız daha ciddi yan etkilerle ilişkilidir.

Streptomisin toksisitesinin izlenmesi özellikle gençlerde ve böbrek yetmezliği olan hastalarda önemlidir, çünkü streptomisin glomerüler filtrasyon yoluyla gerçekleşir. Böbrek yetmezliği ilacın yarılanma ömrünü 50 ila 100 saat uzatabilir. Ototoksisite ve vestibüler bozukluğun genellikle streptomisin toksisitesinin ayırt edici özelliği olduğu düşünülmektedir. Aşırı durumlarda, ototoksisite nedeniyle sağırılık meydana gelebilir; bu nedenle, streptomisin diğer potansiyel ototoksik ilaçlarla kombine edilirken dikkatli olunmalıdır. Vestibüler bozukluk genellikle tedavi sırasında ortaya çıkar ve tipik olarak kalıcıdır. Streptomisin ayrıca potansiyel olarak nefrotoksik bir ajandır. Bu durum hafif proteinüri, aşırı hücrel atılım ve kan üre değerlerinde hafif yükselmeler şeklinde kendini gösterir. Ototoksik etkilerin aksine, nefrotoksisite genellikle sadece geçicidir. Vücut boşluklarına yerleştirme, nöromüsküler bloke edici ajanların kullanımını içeren anestezi sırasında kullanım ve çocuklarda aşırı doz ile ilişkili olarak streptomisin kullanımı ile nöromüsküler blokaj raporları da vardır. Nörotoksik etkiler optik sinir disfonksiyonu, periferik nörit ve ensefalopatiye yol açabilir. İntratekal kullanım, nadiren kullanılsa da, araknoidit ile ilişkilendirilmiştir. İlaç toksisitesi durumunda, diyaliz serum streptomisin konsantrasyonunu düşürebilir (Ball ve ark., 1975; Vianna ve ark., 2019; Germovsek ve ark., 2017).

2.3.4. Kloramfenikol

Kloramfenikol (Kloromisetin) ilk olarak 1947 yılında *Streptomyces venezuelae* toprak organizmasından izole edilmiş geniş spektrumlu bir antibiyotiktir ancak günümüzde sentetik olarak üretilmektedir (Şekil 2.6). Uygulama yoluna bağlı olarak sistemik tedavi için üç yaygın form kullanılır; kloramfenikolün serbest baz formu, kloramfenikol palmitat ve kloramfenikol süksinat. Topikal kullanım için

başka formülasyonlar da mevcuttur. Kloramfenikol geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Antibakteriyel Kloramfenikol, protein sentezini inhibe ederek bakteriyel büyümeyi durduran bakteriyostatik bir ilaçtır. Kloramfenikol, bakteriyel ribozomun peptidil transferaz aktivitesini inhibe ederek protein zinciri uzamasını önler. Özellikle 50S ribozomal alt biriminin 23S rRNA'sındaki A2451 ve A2452 kalıntılarına geri dönüşümlü olarak bağlanarak peptit bağı oluşumunu engeller ve bakteriyel protein sentezini inhibe eder. Kloramfenikol ve makrolid sınıfı antibiyotiklerin her ikisi de ribozomlarla etkileşime girerken, kloramfenikol bir makrolid değildir. Substrat bağlanmasına doğrudan müdahale eder, oysa makrolidler sterikal olarak büyüyen peptidin ilerlemesini engeller (Jardetzky, 1963; Wolfe ve Hahn, 1963). Kloramfenikol genellikle bakteriyostatik olarak etki gösterir. Ancak daha yüksek konsantrasyonlarda veya bazı çok duyarlı organizmalara karşı bakterisidal olabilir. Kloramfenikol, spektrumu çeşitli gram pozitif ve gram negatif bakterileri, spiroketleri ve Rickettsiae'leri içeren geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Kloramfenikole duyarlı yaygın patojenler arasında *Salmonella typhi* ve diğer *Salmonella* türleri ile merkezi sinir sistemi ve solunum yollarının yaşamı tehdit eden diğer enfeksiyonları (*S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *N. meningitidis* gibi) bulunur (Parfitt, 1999). İlaç, bakteriyel menenjit gibi ciddi enfeksiyonlar ve Rocky Mountain benekli ateşi gibi riketsiyal hastalıklar için alternatif bir ilaçtır. Veteriner hekimlikte kloramfenikol, hayvanlarda özellikle anaerobik bakterilerin neden olduğu veya diğer antimikrobiyal ajanlara dirençli olan çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Hayvanlarda kloramfenikol hem oral hem de parenteral yollarla iyi emilir (Plumb, 2002).



Şekil 2.6. Kloramfenikolün kimyasal yapısı.

Çoğu hayvan türünde serumda kloramfenikol için olağan terapötik aralık 5-15mg/ml'dir. Dozlamadan sonra, kloramfenikol vücutta yaygın olarak dağılır. Refakatçi hayvanlarda bildirilen kloramfenikol dağılım hacmi köpekte 1,8 L/kg, kedide 2,4 L/kg ve atta 1,4 L/kg'dır. Glukuronidatif mekanizma ile hepatik metabolizma, kloramfenikolün inaktif bir metabolit olan kloramfenikol glukuronide biyotransformasyona uğradığı temel yoldur. İlacın sadece yaklaşık %5-15'i idrarla değişmeden atılır. Köpekler değişmemiş ilacın sadece yaklaşık %6'sını idrarla atarlar. Kedilerin ilaçlarla glukuronid konjugatları oluşturma yeteneği sınırlıdır ve bu nedenle kloramfenikolü diğer hayvanlara göre daha yavaş atarlar; uygulanan dozun %25'i veya daha fazlası idrarla değişmeden atılır. Kloramfenikolün eliminasyon yarı ömrü köpeklerde 1,1-5,0 saat, tay ve midillilerde <1 saat ve kedilerde 4-8 saattir (Adams, 1995; Plumb, 2002). Etlik piliçlerde oral yoldan uygulanan kloramfenikolün farmakokinetik özellikleri, kloramfenikolün hızla emildiğini göstermektedir. İlaç, 30 veya 50 mg/kg ağırlık dozunda maksimum plazma konsantrasyonuna 0,72 saat veya 0,60 saatte ulaşmış, ortalama yarılanma ömrü 6,87 veya 7,41 saat olmuş ve biyoyararlanımı sırasıyla %29 veya %38 olmuştur. Plazmada 15 dakikada >5mg/ml kloramfenikol konsantrasyonuna ulaşılmış ve 30 veya 50mg/kg ağırlık dozunda kloramfenikol uygulamasından sonra 2 veya 4 saate kadar devam etmiştir. Tavuklar 4 gün boyunca günde bir kez 50 mg/kg ağırlık oral kloramfenikol dozu aldığıında, böbrek, karaciğer ve kasta üç metabolit, dehidrokloramfenikol; nitrofenilaminopropanedione kloramfenikol (NPAP kloramfenikol); ve nitrosokloramfenikol bulunmuştur. Çalışma, kalıntıların, özellikle de NPAP kloramfenikol ve nitroso kloramphenikol kalıntılarının yavaş bir şekilde temizlendiğini ortaya koymuştur. Dozlamadan 12 gün sonra dokularda tespit edilmiştir (Anadon ve ark., 1994).

Kloramfenikol ile ilişkili en önemli advers reaksiyonlar oral, parenteral ve hatta topikal kullanımda görülen geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz kemik iliği depresyonudur. Geri dönüşümlü tip doza bağlıdır ve muhtemelen anemi, lökopeni veya trombositopeniyle sonuçlanan mitokondriyal protein sentezinin

inhibisyonundan kaynaklanır. "İdiosenkratik" kemik iliği aplazisi dozla ilişkili değildir; ilaç kesildikten haftalar veya aylar sonra başlayabilir; ve sıklıkla ölümcül aplastik anemi ile kendini gösterir, insidansı herhangi bir uygulama yolu ile kloramfenikol alan 24.500 ila 40.800 hastada 1 gibi görünmektedir. Bu insidans, genel popülasyonda aplastik aneminin spontan rastlantısal oluşumundan 13 kat daha fazladır. Topikal kullanım 440.000 kullanımda 3 vaka riski ile ilişkilidir. Bu idiyosenkratik aplastik aneminin nedeni bilinmemektedir, ancak genetik olarak belirlenen bir karaciğer metabolitine bağlı olabilir (Kumar, 2017).

Kloramfenikol ile ilişkili "gri bebek sendromu", yenidoğanların olgunlaşmamış karaciğerinin ilacı konjugasyon yoluyla detoksifiye edememesinden kaynaklanan toksisiteden kaynaklanır. Belirti ve semptomlar arasında abdominal distres, siyanoz, kusma, dolaşım kollapsı ve muhtemelen ölüm yer alır. Orofasiyal enfeksiyonların tedavisinde kloramfenikol için herhangi bir endikasyon bulunmamaktadır. İlaç, özellikle kemik iliği aplazisi gibi önemli yan etkileri nedeniyle nadiren kullanılmaktadır (Kumar, 2017).

3. MATERİYAL ve METOT

Çalışmamız Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0767-YL-21 numaralı proje ile desteklenmiştir.

3.1. Analizlerde Kullanılan Cihazlar

Araştırmada Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi ve Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'nde bulunan ELISA (Mindray MR-96A), Autosampler (SIL 20ACHT), Dijital pH metre (Metrohm 744 pH meter), Dedektör: (DAD, SPD-M20A), HPLC (Shimadzu Prominence), Vorteks (IKA® MS1Minishaker), İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (Perkin Elmer ICPOES Optima 8000), Homojenizatör (IKA® Yellow line DI 18 basic), Derin dondurucu (DAIHAN Scientific, UniFreeze U500, -80°C), Kolon Fırını (CTO-10ASVp), Hassas terazi (Shimadzu BL-220H), Pompa (LC20 AT), Isıticılı manyetik karıştırıcı (IKAMAG® RH), Distile su cihazı (Tuğrul Mühendislik) ve Etüv (Memmert BE 500) kullanıldı.

3.2. Araştırmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Araştırma sırasında kimyasal madde olarak HNO₃ (Merck®, Supra-pure), Kloramfenikol standardı (Cat no: C1425000, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO), Tetrasiklin standardı (Cat no: 31741, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO), Sülfanamid standardı (Cat no: 33973, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO), Streptomisin standardı (Cat no: S1400000, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO), Cıva standardı (Cat no: 16482, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO), Kadmiyum standardı (Cat no: 36379, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO), Kurşun standardı (Cat no: 109969, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO), Arsenik standardı (Cat no: 72718, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO) ve Çinko standardı (Cat no: 109953, Sigma-Aldrich Co, St. Louis, MO) kullanılmıştır.

3.3. Numune Örneklerinin Elde Edilmesi ve Saklanması

Analizleri yapılacak kolajen numunelerinin belirlenmesi için yurt dışı bir şirket tarafından yapılan araştırmada Türkiye’de 2021 yılı içerisinde Türkiye merkezli en popüler olan internet alışveriş sitelerinden ilk 4’ü belirlendi. Bu sitelerden bir tanesi kura yöntemi ile rastgele seçildi. Bu sitede mineral katkısı içermeyen sığır ve balık kolajen markaları ayrı ayrı popülerite filtresi kullanılarak listelendi. Bu liste içerisinde ilk 25 içerisinde bulunan balık ve sığır kolajenlerinden 10’ar tanesi kura usulü ile seçildi. Bu markalar Burdur şehir merkezinde bulunan bir eczaneden sipariş edildi. Sipariş sonrası temin edilen kolajenler analizler yapılncaya kadar -5 °C’de tutuldu.

3.4. Numunelerde Ağır Metal Seviyelerinin Analizleri

Numunelerdeki ağır metal analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne ait laboratuvarlarda yapılmıştır. Örneklerdeki çinko (Zn), kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), cıva (Hg) ve arsenik (As) seviyeleri indüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (Perkin Elmer ICPOES Optima 8000) kullanılarak analiz edilmiştir. Analizlerdeki ölçüm alt sınırı (LOD), dalga boyu ve R^2 değerleri Tablo 3.1’de verilmektedir.

Tüm örneklerde altı eser elementin (Zn, Pb, Cd, Hg, ve As) konsantrasyonları analiz edilmiştir. Bu araştırmada, organik matrisin etkilerini en aza indirmek ve ayrıca numune kirliliği ve analit kayıpları olasılığını önlemek için kapalı kap, mikrodalga fırın sisteminde asit ayrıştırma kullanılmıştır. Her bir sıvı, toz ve hap ekindeki numune 0,5g’lık iki örnek mikrodalga kaplarına alınmıştır. Her bir kaba 8 ml % 65 HNO₃ (Merck®, Supra-pure) ve 2 ml % 30 H₂O₂ (Merck®, Supra-pure) karışımı eklenmiş ve örnekler homojenize olana sonikatörde 10-15 dakika iyice çalkalanmıştır. Daha sonra, kaplar kapalı Politetrafloroetilen (PTFE) kap içinde muhafaza edilmiştir. Bir sonraki adım olarak, tek aşamalı sindirim programını takiben örnekler 15 dakika boyunca 150 °C’ye ısıtılmıştır [toplam gücün %80’inde (1800 W)]. Soğutulduktan sonra, ekstra asidi ortadan kaldırmak için, sonraki

çözeltiler yarı kuru kütleye kadar buharlaştırılmıştır ve daha sonra deiyonize su ile volumetrik şişelerde 50,0 mL'ye kadar seyreltildikten sonra stok olarak tutulmuştur.

Elde edilen ekstraktların tüm analizleri indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan ICP-OES (Perkin Elmer ICPOES Optima 8000)'ye ait enstrümantal koşullar Tablo 3.2'de sunulmuştur. Tayin basamağı sırasında, her çalışmamızda değerleri ölçülen her element için standart çözeltiler hazırlanmış, bu standard numuneler de % 65 HNO₃ ve % 30 H₂O₂ ile aynı oranlarda muamele edilerek hazırlanmış ve her bir element için kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Elde edilen kalibrasyon eğrileri ise Şekil 3.1.'de verilmektedir.

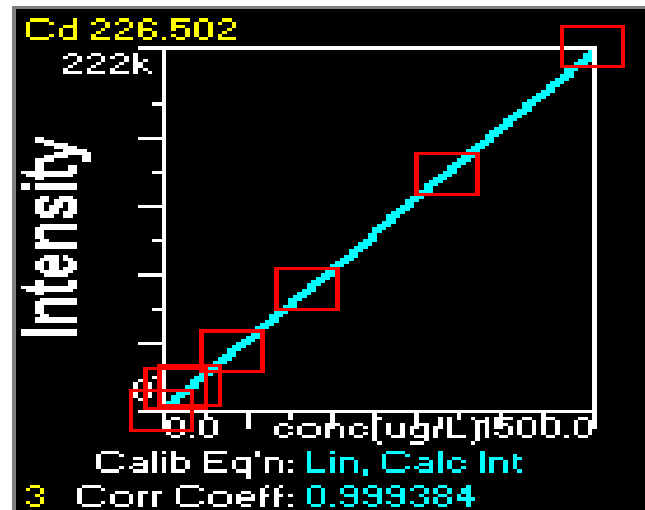
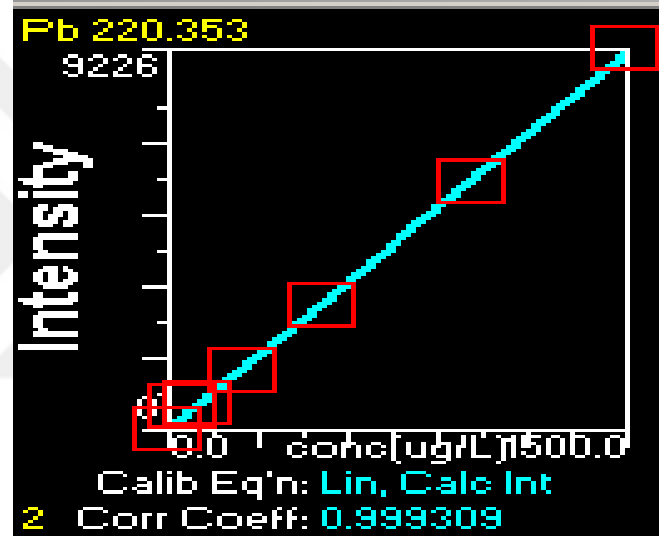
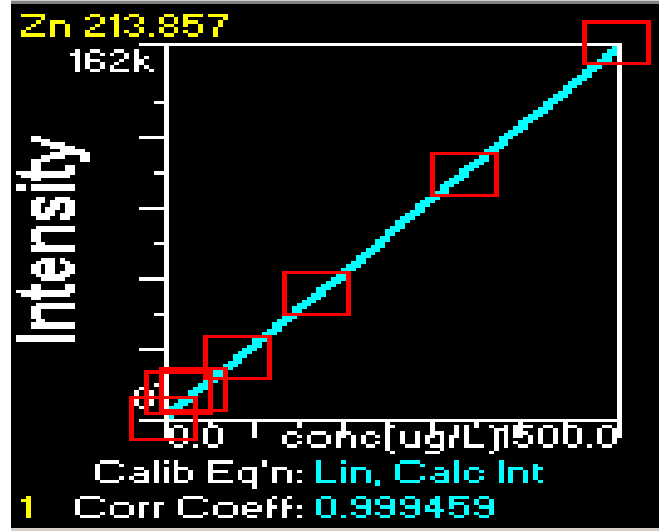
Tablo 3.1. ICPOES analizinde kullanılan ölçüm alt sınırı (LOD), dalga boyu ve R² değerleri

Değerler	Ağır Metaller				
	Zn	Pb	Cd	Hg	As
LOD (µg/L)	5	5	5	1	5
Dalga Boyu	213,85	220,353	226,502	253,652	188,9
R ²	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999

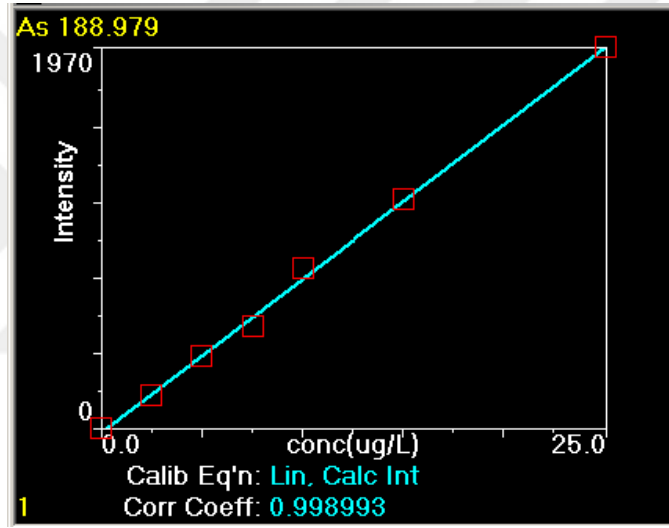
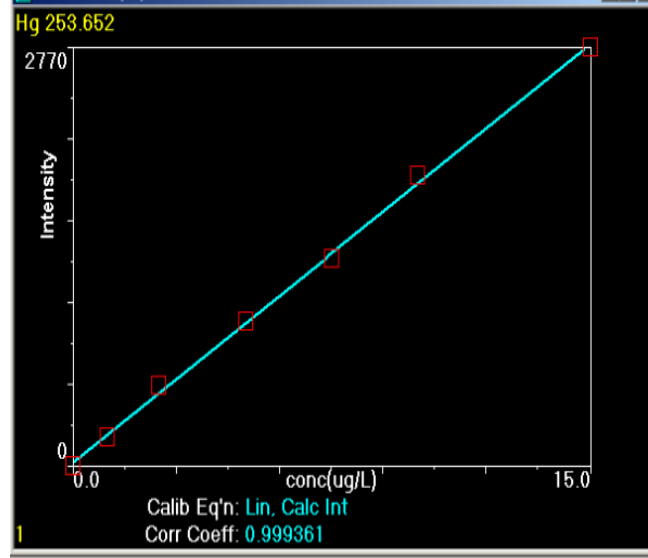
Zn=çinko, Pb=kurşun, Cd=kadmiyum (Cd), Hg=cıva, As=arsenik.

Tablo 3.2. Optima™ 8000 Optimize Edilmiş Deney Koşulları

Plazma gaz akışı	8 L/dak
Yardımcı gaz akışı	0,4 L/dak
Nebülizör gaz akışı	0,6 L/dak
RF gücü	1500 Watt
Görüntüleme yüksekliği	15 mm
Tahliye Akışı	Yüksek
Plazma görünümü	Eksenel
Okuma parametreleri	Otomatik (1 ila 5(Min-Maks))
Peristaltik pompa akış hızı	1,5 mL/dak
İşleme Piki	Alan/Yükseklik
Kalibrasyon	Doğrusal Hesaplanan Kesişim
Püskürtme Odası	Siklonik Cam
Nebülizör	Konsantrik Cam, MEINHARD® Tip C
Enjektör	Alümina 2,0 mm i.d.
Kuvars torç	1-slot



Şekil 3.1. Çinko (Zn), Kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), Cive (Hg) ve arsenik /As) için ICPOES’de kalibrasyon grafikleri.



Şekil 3.1.Devam. Çinko (Zn), Kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), Cive (Hg) ve arsenik /As) için ICPOES’de kalibrasyon grafikleri.

3.5. Numunelerde Antibiyotik Seviyelerinin Analizleri

Numunelerdeki antibiyotik analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğüne ait laboratuvarlarda yapılmıştır. Numulere ait kromogram değerleri Tablo 3.3’de verilmiştir. Analizler için kullanılan antibiyotik standartları Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) Vetranal™ analitik sınıf standartları (sertifikalı saflık oranı >%95)

olarak satın alınmıştır. Metanol (MeOH), amonyum format, asetonitril (ACN) ve formik asit (HPLC sınıfı >%95) Merck'ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Disodyum etilen-diaminetetraasetat (Na₂EDTA) Sigma Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir. Ultra saflaştırılmış su laboratuvarında H₂OPRO-VF-T/Arium Ultrapure cihazı (Sartorius, Almanya) kullanılarak elde edilmiştir. Bir ay boyunca stabil kalabilen stok standardın uygun alikotları seyreltilerek ACN içinde hazırlanan çalışma standardı çözeltileri (10 µg/mL) amber cam içinde 2-4 °C'de saklanmıştır.

Tablo 3.3. HPLC analizinde kullanılan ölçüm alt sınırı (LOD), dalga boyu ve kalibrasyon fonksiyon değerleri.

Değerler	Antibiyotikler			
	Streptomisin	Sülfonamid	Tetrasiklin	Kloramfenikol
LOD (ppb)	1,21	3,11	1,48	2,13
RT	1,9	4,5	2,6	3,4
Dalga boyu (nm)	190	190	270	280
Kalibrasyon Fonksiyonu	$Y=1.11 \cdot 10^{-6}x+7.43 \cdot 10^{-5}$	$Y=2.13 \cdot 10^{-6}x+3.18 \cdot 10^{-5}$	$Y=3.14 \cdot 10^{-6}x+2.22 \cdot 10^{-4}$	$Y=4.33 \cdot 10^{-6}x+3.12 \cdot 10^{-5}$

Jank ve arkadaşları (2015) tarafından önerilen ekstraksiyon prosedürü, numunelerdeki antibiyotikler için modifiye edildikten sonra kullanılmıştır. Örneklerdeki antibiyotik kalıntılarının ekstraksiyonu için 10 mg örnek 50 mL'lik bir polipropilen tüpe alınmış, ardından 10 mL ACN eklenmiştir. Karışım, Ultra-Turrax kullanılarak homojenize edilmiştir. Daha sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant alınmıştır. Süpernatant döner vakum buharlaştırıcı (40 °C'de su banyosu) kullanılarak konsantre edildi. Kalıntı daha sonra 1 mL mobil faz içinde 0,1 M potasyum dihidrojen fosfat içeren (pH:3,5, pH'yı ayarlamak için % 4 fosforik asit kullanılmıştır) su-asetonitril karışımı (90:10, v/v) içerisinde çözüldü. Örnek karışımı 0,45-µm membran filtreden hızlı bir şekilde süzüldü.

Shimadzu Prominence Marka HPLC cihazı kullanılmıştır. Analizler kuaterner pompa, otomatik örnekleyici, kolon ısıtıcı (sıcaklık 30°C'de sabit tutulmuştur), geçiş vanası, otomatik gaz giderici ve Agilent 6460 Triple Quadrupole LC/MS cihazından

(Agilent Technologies, ABD) oluşan bir Agilent 1200 LC sisteminde gerçekleştirilmiştir. Kromatografik ayırmalar, Mikro Vakum Gaz Giderici, 600 bar ikili pompa, C18,5 mikronkolon (250 mm X 4,6 mm, 1,8 µm, p/n 822700-902) kullanan otomatik bir enjeksiyon sistemi ve 30°C sıcaklıkta bir kurutma fırını ile donatılmış bir Agilent Ultra Yüksek Performanslı sıvı kromatografi sistemi (1200 HPLC sistemi) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimum ayırma koşulları çözücü A: ACN içinde %0,1 formik asit (v/v) ve çözücü B: ACN 0,3 mL/dak akış hızında gerçekleşmiştir. Ekstraktlar LC-MS/MS sistemine 1 µL miktarında enjekte edilmiştir.

Tandem kütle analizi, elektrosprey iyonizasyon kaynağı (ESI) ile donatılmış bir 3200 Agilent 6460 Triple Quadrupole kütle spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir. Kütle spektrometresi analizi (MS) pozitif iyon modunda (PI) gerçekleştirilmiştir. Doğrulayıcı ve kantitatif analiz için her bileşik için iki izlenen geçiş ile çoklu reaksiyon izleme modlarında (MRM) çalıştırılmıştır. Ayrıca, her bileşik için iki MRM geçişi izlenmiş, en bol fragman iyonu miktar tayini için kullanılmış ve diğeri tanımlama için kullanılmıştır. Tüm antibiyotikler için iyon çifti başına 100 ms'lik bir bekleme süresi kullanılmıştır. Bileşiklere bağlı MS parametreleri arasında çarpışma enerjisi ve çarpışma hücresi yer almaktadır ve bunlar her bir bileşiğin 5 mg/L konsantrasyonlarda ayrı standart çözeltilerinin infüzyonu ile optimize edilmiştir. Pozitif iyonizasyon modlarında genel kaynak ayarı olarak 400 °C sıcaklıkta elektrosprey kaynağı kullanılmıştır. İyon Püskürtme Voltajı 3600 V idi. Perde gaz basıncı 10 psi'de tutulur ve her iki iyon kaynağı gaz basıncı (GS1 ve GS2) 50 psi idi.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme için SAS istatistik programının T Test prosedürü kullanıldı.

4. BULGULAR

Numunelerde bulunan günlük alım dozunda bulunan toplam kolajen miktarları (mg) Tablo 4.1’de verilmiştir. Ticari kolajenlerde bulunan oranlar geniş bir aralıkta değişim göstermiştir.

Tablo 4.1. Numunelerde bulunan kolajen seviyeleri

Numune	Kolajen (günlük doz/mg)	Form	Numune	Kolajen (günlük doz/mg)	Form
B1	600	kapsül	CF1	1000	tablet
B2	1000	toz	CF2	1000	toz
B3	1200	tablet	CF3	1000	tablet
B4	1650	tablet	CF4	8000	toz
B5	1500	toz	CF5	1000	tablet
B6	5000	sıvı	CF6	900	tablet
B7	1000	tablet	CF7	300	kapsül
B8	5000	şase	CF8	500	tablet
B9	5000	toz	CF9	1000	tablet
B10	1050	tablet	CF10	720	tablet

B1-B10=Balık kolajen numuneleri. CF1-CF10; Çiftlik hayvan kaynaklı kolajen numuneleri.

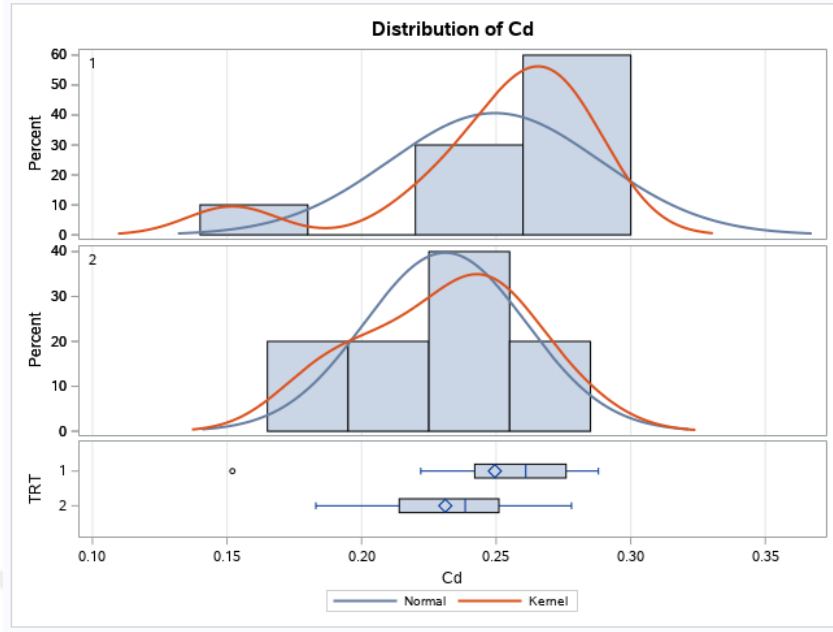
Numunelerden elde edilen ağır metal miktarları Tablo 4.2’de gösterilmiştir. Analizi yapılan hiçbir numunede kurşun, cıva ve arsenik kalıntısına rastlanmamıştır. Gruplar arasındaki kadmiyum seviyelerinin dağılımı Şekil 4.1’de verilmiştir. Balık kolajen numunelerindeki en düşük kadmiyum seviyesi 0,152 mg/kg olurken en yüksek kadmiyum seviyesi 0,288 mg/kg olarak bulunmuştur (ortalama $0,2495 \pm 0,0393$). Çiftlik hayvanları kaynaklı (CF) kolajen örneklerinde tespit edilen seviyeler de düşüktü ve 0,183 mg/kg ile 2,78 mg/kg arasında değişmiştir (ortalama $0,2311 \pm 0,0301$). Balık ve CF kolajen örneklerindeki ortalama kadmiyum seviyesi gruplar arasında önemsiz bulunmuştur ($P=0,2548$).

Tablo 4.2. Numunelerde bulunan ağır metal konsantrasyonları (mg/kg).

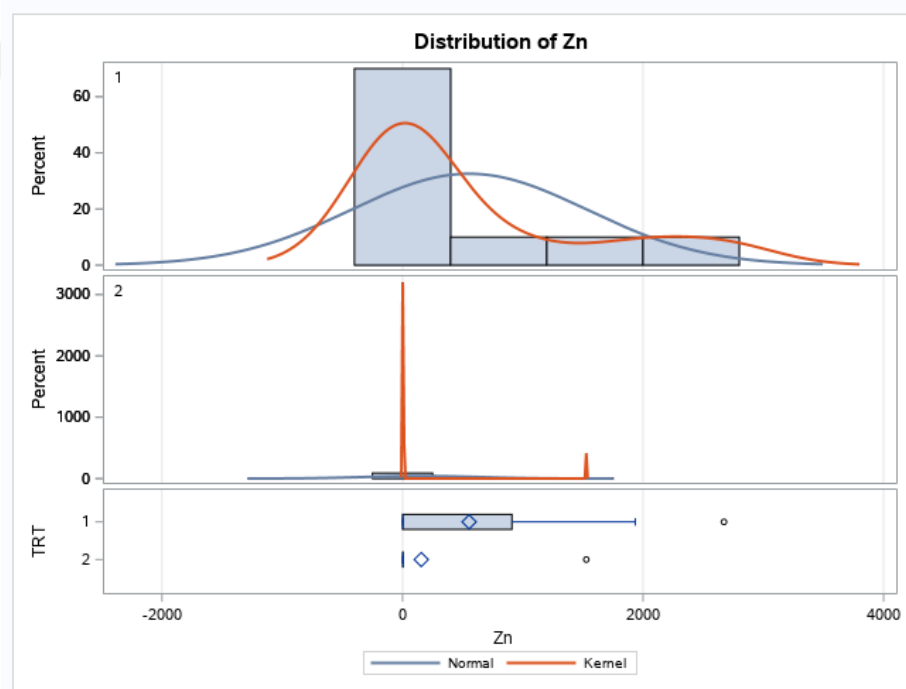
Numune	Zn	Pb	Cd	Hg	As
B1	2,118	ÖA	0,152	ÖA	ÖA
B2	3,424	ÖA	0,248	ÖA	ÖA
B3	1,546	ÖA	0,277	ÖA	ÖA
B4	1,368	ÖA	0,261	ÖA	ÖA
B5	5,831	ÖA	0,222	ÖA	ÖA
B6	1935,0	ÖA	0,268	ÖA	ÖA
B7	910,50	ÖA	0,288	ÖA	ÖA
B8	4,169	ÖA	0,276	ÖA	ÖA
B9	1,973	ÖA	0,242	ÖA	ÖA
B10	2673,0	ÖA	0,261	ÖA	ÖA
CF1	4,480	ÖA	0,257	ÖA	ÖA
CF2	2,204	ÖA	0,278	ÖA	ÖA
CF3	3,133	ÖA	0,240	ÖA	ÖA
CF4	1,770	ÖA	0,246	ÖA	ÖA
CF5	1528,0	ÖA	0,214	ÖA	ÖA
CF6	2,938	ÖA	0,190	ÖA	ÖA
CF7	5,200	ÖA	0,237	ÖA	ÖA
CF8	4,059	ÖA	0,183	ÖA	ÖA
CF9	2,654	ÖA	0,215	ÖA	ÖA
CF10	4,718	ÖA	0,251	ÖA	ÖA

B1-B10=Balık kolajen numuneleri;. CF1-CF10; Çiftlik hayvan kaynaklı kolajen numuneleri.
ÖA=ölçülebilir seviyenin altında.

Gruplar arasındaki cıva seviyelerinin dağılımı Şekil 4.2’de verilmiştir. Numunelerdeki çinko seviyelerinin dağılımı örnekler arasında çok farklı seviyelerde oynama göstermiştir. Balık kolajenlerindeki çinko seviyesi en düşük 1,368 mg/kg seviyesindeyken en yüksek 2673 mg/kg olarak gözlenirken grup ortalaması 553,89 ($\pm 498,53$) olarak bulunmuştur. CF kolajenlerinde ise en düşük ve en yüksek çinko seviyelerinin sırasıyla 1,750 mg/kg ile 1528 mg/kg olduğu anlaşılmaktadır ve grup ortalaması 155,92 ($\pm 148,49$)’dir. Hem balık hem de CF kolajen numuneleri arasında çinko seviyelerinde ciddi anlamda bir dalgalanma göze çarpmaktadır. Ayrıca istatistiki olarak balık ve CF kolajenlerindeki ortalama çinko miktarı önemsiz bulunmuştur ($P=0,2644$).



Şekil 4.1. Gruplar arasındaki kadmiyum (Cd) seviyelerinin dağılımı. TRT1=balık kolajeni, TRT2=çiftlik hayvanı kaynaklı kolajen.



Şekil 4.2. Gruplar arasındaki çinko (Zn) seviyelerinin dağılımı. TRT1=balık kolajeni, TRT2=çiftlik hayvanı kaynaklı kolajen.

Balık ve sığır kolajenlerinde ölçümü yapılan antibiyotik kalıntılarına dair sonuçlar Tablo 4.3.'te gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre değerlendirilmesi yapılan hiçbir kolajen numunesinde streptomisin, sülfonamid ve tetrasiklin kalıntısına rastlanmamıştır. Kloramfenikol sadece iki balık kolajen numunesinde gözlenirken, bu değerler normal ölçüm alt sınırının altında kalmıştır.

Tablo 4.3. Numunelerde bulunan antibiyotik kalıntı miktarları (mg/kg).

Numune	Streptomisin	Sülfonamid	Tetrasiklin	Kloramfenikol
B1	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
B2	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
B3	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
B4	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
B5	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
B6	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
B7	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
B8	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
B9	ÖA	ÖA	ÖA	0,001
B10	ÖA	ÖA	ÖA	0,001
CF1	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF2	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF3	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF4	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF5	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF6	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF7	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF8	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF9	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA
CF10	ÖA	ÖA	ÖA	ÖA

B1-B10=Balık kolajen numuneleri; CF1-CF10; Çiftlik hayvan kaynaklı kolajen numuneleri.
ÖA=ölçülebilir seviyenin altında.

5. TARTIŞMA

Pazar araştırma şirketi Nutrition Business Journal'a göre, sadece ABD'de tüketicilerin 2014 yılında 50 milyon dolar olan kolajen takviyeleri için yaptıkları harcamanın 2022 yılında 293 milyon doları aşması beklenmektedir (Marshall, 2019). Küresel kolajen peptit pazarının ise 2019 yılında yaklaşık 1 milyar dolar değerinde olduğu tahmin edilmekte ve yıllık bileşik büyüme oranının %7,7 olması beklenmektedir. Kolajen daha fazla yiyecek ve içeceğe, topikal ürünlere ve hatta hasta tedavisi için kullanılmaya devam ettikçe, küresel olarak pazarın 2025 yılına kadar 6,5 milyar Dolara ulaşması mümkündür (Watrous, 2020). Küresel pazarın büyümesini sağlayan başlıca faktörler arasında diyet takviyelerine yönelik artan talep, yiyecek ve içecek endüstrisinde kolajenin giderek daha fazla benimsenmesi ve tüketicilerin sağlıklı ve protein açısından zengin diyetlere yönelik artan eğilimi yer almaktadır. Özünde, protein tozlarının ve kolajen pazarının giderek büyümesi, tüketicilerin gıdanın ilaç, ilacın da gıda olduğu yönündeki bakış açısıyla daha fazla hız kazanmaktadır.

Şaşırtıcı olan, kendisini sağlıklı gıda olarak lanse eden, tendon, kemik ve eklem desteğinin yanı sıra ince çizgilerin ve kırışıklıkların varlığını azaltmak için invazif olmayan, daha doğal çabalar arayan sporculara ve sporcu olmayanlara hitap eden kolajen endüstrisinin, “sertifikalı organik” gibi temel tüketici değerlerini benimsememiş olmasıdır. “Amazon.com” gibi global düzeyde en çok satan kolajen peptitler listesine bakıldığında, kolajen peptidlerin %10'undan azının organik sertifikalı olduğu görülmektedir. Bu oran ülkemizde satılan kolajen preparatları için çok daha düşük seviyededir. Bu sebepten, ambalaj ve reklamlarında "tamamen doğal" ve "mümkün olan en temiz ve sağlıklı beslenme" gibi iddiaların sürekli olarak dikkat çekildiği bu ürünlerin içinde tam olarak ne olduğu tartışma konusu olmaya başlamıştır (Marshall, 2019).

Literatürde kolajenlerde ağır metal kontaminasyonu ile ilgili yapılan bir çalışma bulunamamıştır. Bunun yanında, Consumer Reports (2010), ABD’de en çok satan 15 protein tozunu satın almış ve arsenik, kadmiyum, kurşun ve cıva açısından

test etmiştir. Sonuçlar insan sağlığını tehdit etmeyecek düzeylerde ağır metal bulunduğunu ortaya çıkarsa da, birkaç üründe tespit edilen seviyeler endişe verici sınırlarda bulunmuştur. Bazı ürünleri günde üç porsiyon tüketmek, önerilen sınırları aşan günlük arsenik, kadmiyum veya kurşuna maruz kalmaya neden olabilecek düzeyde bulunmuştur. Çalışma, kadmiyumun aşırı protein tüketiminden zarar görebilecek organlar olan böbreklerde biriktiği ve böbreklere zarar verebileceği için özel bir endişe yarattığı sonucuna varmıştır. Yine 2018 yılında, ulusal bir sivil toplum kuruluşu olan Clean Label Project, 52 markaya ait 134 protein tozu ürünü üzerinde yaptığı araştırmada ağır metaller, bisfenoller ve pestisitler gibi kanser ve diğer sağlık koşullarıyla bağlantılı kirleticiler de dahil olmak üzere 130'dan fazla toksin açısından taramıştır. Bu çalışmada ABD'de en çok satan protein tozlarının %70'inde ölçülebilir seviyelerden 123,5 ppm arasında değişen oranlarda kurşun seviyelerine ve %74'ünde ölçülebilir ile 306 ppm arasında değişen kadmiyum seviyelerine sahip oldukları tespit edilmiştir (Organic Consumer Reports, 2020).

Ülkemizde kullanılan aromatik masaj yağları üzerine yapılan bir tez çalışmasında, farklı özler içeren 10 adet aromatik masaj yağı rastgele bir biçimde seçilmiş ve bu yağlardaki civa, arsenik, kurşun, krom, çinko ve kadmiyum gibi ağır metal içerikleri analiz edilmiştir (Öztürk, 2022). ICP-MS tekniği ile gerçekleştirilen ölçümlerde örneklerde arsenik tespit edilememiş olmasına rağmen, numunelerin 4'ünde lityum, 1'inde alüminyum, 6'sında krom saptanmıştır. Ayrıca, kurşun kalıntılarına 1, çinko ve kadmiyum kalıntılarına 2, civa kalıntılarına ise 4 örnekte rastlanmıştır. Bu tez çalışması neticesinde, Türkiye'de üretimi ve satışı yapılan aromatik masaj yağlarının kullanıcı sağlığı açısından gizli bir tehlike oluşturabileceği sonucuna varılmıştır (Öztürk, 2022).

Yine yakın zamanda yapılan bir çalışmada, günümüzde popüler gıda takviyelerinden olan krill yağları içinde de bazı ağır metaller belirlenmiştir (Kızılırmak ve ark., 2022). Rastgele seçilen 11 farklı krill yağı markasına ait test edilen örneklerinin kadmiyum (1,0 mg/kg) ve civa (0,1 mg/kg) seviyeleri belirlenen standart limitlere uygun bulunsa da, test edilen krill yağlarının tümü Codex Alimentarius tarafından gıda takviyeleri için belirtilen tolere edilebilir kurşun

sınırlarının (0,08 mg/kg) üzerinde kurşun içermektedir. Ayrıca, sadece 1 örnekte arsenik seviyeleri kabul edilebilir sınırların (0,1 mg/kg) altında bulundu. Sonuçlar Türkiye’de atılan kril yağlarının uzun vadede halk sağlığı için potansiyel bir tehdit oluşturabileceğini göstermiştir (Kızılırmak ve ark., 2022).

Bu bağlamda aynı kaygılar kendisi de bir hayvansal bir kaynak olan kolajen için de geçerlidir. ABD’nin Kaliforniya eyaletinde yapılan bir çalışmada Clean Label Project, internet sitesi üzerinden satın alınabilen 30 kolajen ürününü arsenik, kadmiyum, kurşun ve cıva açısından test etmiştir. Bu numuneler, toplam arsenik, kadmiyum, kurşun ve cıva seviyeleri test edilmek üzere akredite analitik kimya laboratuvarlarına gönderilmiş ve yöntemi ile analizler yapılmıştır. Test edilen takviyelerin %66’sında cıva miktarının tespit edilebilecek seviyenin altında olduğu, geri kalan %34’ünde eser miktarda cıva tespit edilmiş olmasına rağmen bu değerlerin 8ppm’den daha düşük ve önemsiz olduğu bildirilmiştir. Bu analizlerin sonucunda test edilen kolajen ürünlerinin %36’sında arsenik, %83’ünde kadmiyum ve %63’ünde kurşun tespit edilememiştir. Kolajen ürünlerinin %64’ünde günlük önerilen miktar içerisinde 0,09 mikrogram ile 4,7 mikrogram arasında değişen ölçülebilir seviyelerde arsenik bulursa da bu değerler Kaliforniya Eyaletine ait 10 mikrogram seviyesinin altında bulunmuştur. Test edilen kolajen ürünlerinin %17’sinde ise günlük önerilen kolajen miktarı içerisinde 0,23 ila 9,17 µg arasında değişen kadmiyum bulunmuştur. Bu 4,1µg dozun Kaliforniya eyaleti için kabul edilen günlük sınırın 2 katından fazla olduğu tespit edilmiştir. Kurşun ise test edilen ürünlerin %37’sinde günlük önerilen kolajen değerleri göz önüne alındığında 0,09 ile 1,57 µg arasında değişen seviyelerde ölçülmüştür. Araştırılan 4 üründe bulunan kurşun miktarının maksimum kabul edilebilir seviye olan 0,5 µg değerinden 2 ila 3 katından daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Test edilen ürünlerden bir tanesi hem kadmiyum hem de kurşun kategorilerinde güvenlik kriterlerini karşılayamamıştır. Ayrıca, toplam 30 üründen dördü (%13), Collagen Stewardship Alliance’ın "açıkça kabul edilemez" olarak nitelendirdiği maksimum limitlerle ilgili standartları karşılayamamıştır (Clean Label Project, 2021).

Bu çalışmaların aksine, yapmış olduğumuz çalışmada örneklerin hiçbirisinde tespit edilebilir düzeyde kurşun, cıva ve arseniğin bulunmaması, kadmiyumun ise minimum düzeylerde bulunması sevindiricidir. Arsenik, doğal olarak dünya yüzeyinde bulunan bir elementtir ancak madencilik ve eritme işlemleri gibi endüstriyel ortamlarda da kullanılır. Aynı zamanda insanlar ve hayvanlar için toksiktir ve bitkiler tarafından emilebileceği toprağa ve suya sızabilir. Arseniğin doğal olarak yüksek seviyelerde bulunmadığı bölgelerde, günlük arsenik alımına genellikle gıdalar en fazla katkıda bulunur. Balık, kabuklu deniz ürünleri, et, kümes hayvanları, süt ürünleri ve tahıllar diyetle alınan arseniğin ana kaynaklarıdır. Arseniğin doğal olarak yüksek seviyelerde bulunduğu bölgelerde, yüksek arsenikli suyla hazırlanan pirinç gibi yiyecekler ve kirlenmiş suyla sulanan gıda ürünleri de toplam günlük alım miktarına katkıda bulunur. Kadmiyum dünya çapında bulunan zehirli bir doğal elementtir. Toprak ve suyun endüstriyel kirlenmesi yoluyla gıda zincirine girer, ancak sigaralarda da bulunur. Kadmiyum meyve, sebze ve pirinç gibi tahılların yanı sıra organ etleri, kabuklu deniz ürünleri ve protein içeceklerinde de bulunabilir. Cıva çevrede doğal olarak bulunan bir metaldir, ancak kirlilik, tarım, endüstriyel uygulamalar ve üretim (örneğin işlenmiş gıda kutuları) nedeniyle de bulunabilir. Cıvanın bir formu olan metil cıvanın çoğu deniz ürününde bulunur, bu nedenle FDA son yıllarda deniz ürünü tüketiminde dikkatli olunmasını tavsiye etmiştir. Cıva gibi kurşun da zararlı toksik bir ağır metaldir. Birçok endüstriyel işlemde kullanılır ve eskiden boya ve su borularının yapımında yaygın bir malzemeydi. Diğer toksinler gibi kurşun da suya ve toprağa sızabilir ve gıdaları kirletebilir. Bu bağlamda çalışmamızda test ettiğimiz kolajen ürünlerinde bu ağır metallerin bulunmaması, ülkemizde satılan bu ürünlerin ağır metaller bakımından sağlığı tehdit edici bir durum oluşturmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda kolajen örneklerinde farklı seviyelerde çinkoya ratlanmıştır. Temel bir mineral olan çinko, bazı gıdalarda doğal olarak bulunur ve besin takviyesi olarak da temin edilebilir. Çinko ayrıca bazı soğuk algınlığı pastillerinde, soğuk algınlığına karşı satılan reçetesiz ilaçlarda ve bazı protez yapıştırıcı kremlerde de bulunur. Çinko, hücresel metabolizmanın birçok yönüyle ilgilidir. Yüzlerce enzimin katalitik aktivitesi için gereklidir ve bağışıklık fonksiyonunu, protein ve DNA

sentezini, yara iyileşmesini ve hücre sinyalizasyonunu ve bölünmesini arttırmada rol oynar (Institute of Medicine, 2001; Ryu ve Aydemir, 2020; King ve Cousins, 2014; MacDonald, 2000). Çinko ayrıca hamilelik, bebeklik, çocukluk ve ergenlik dönemlerinde sağlıklı büyüme ve gelişmeyi destekler ve tat alma duyusunda görev yapar (Ryu ve Aydemir, 2020; King ve Cousins, 2014; Nagraj ve ark., 2017). Vücuttaki toplam çinko miktarı kadınlarda yaklaşık 1,5 gr, erkeklerde ise 2,5 gr'dır (Ryu ve Aydemir, 2020). Bu çinkonun çoğu iskelet kası ve kemikte depolanır (Institute of Medicine, 2001; King ve Cousins, 2014; Ryu ve Aydemir, 2020). Serum veya plazma çinko seviyeleri klinik uygulamada tipik olarak çinko durumunu değerlendirmek için kullanılır. Sağlıklı kişilerde serum veya plazmadaki çinko miktarı 80 ila 120 mcg/dL (12 ila 18 mmol/L)'dir (Ryu ve Aydemir, 2020). Kadınlarda 70 mcg/dL'nin ve erkeklerde 74 mcg/dL'nin altındaki serum çinko seviyeleri yetersiz çinko durumunu gösterir. Bununla birlikte, hem serum hem de plazma ölçümlerinin önemli sınırlamaları vardır. Serumdaki çinko konsantrasyonları hastanın cinsiyeti ve yaşının yanı sıra kan örneklerinin ne zaman alındığı ile (sabah veya akşam) ilişkilidir ve diyetle veya takviye çinko alımıyla her zaman korelasyon göstermez (Hennigar ve ark., 2018). Çinko seviyeleri ayrıca enfeksiyonlar, steroid hormonlarındaki değişiklikler ve kilo kaybı veya hastalık sırasında kas katabolizması gibi diğer faktörlere yanıt olarak da dalgalanır (Institute of Medicine, 2001; King ve Cousins, 2014). Klinisyenler bir hastanın çinko durumunu değerlendirirken risk faktörlerini (yetersiz kalori alımı, kronik alkol kullanımı ve malabsorptif sindirim hastalıkları gibi) ve çinko eksikliği belirtilerini (bebeklerde ve çocuklarda büyüme bozukluğu gibi) göz önünde bulundurur (Institute of Medicine, 2001). Bu bağlamda örneklerden elde edilen çinko değerleri genel anlamda bir sağlık riski oluşturmamaktadır.

Öte yandan, günümüzde çevresel olarak çok sayıda çinko kaynağı bulunduğundan, çinko maruziyeti ve toksisite nadir değildir. Mesleki kaynaklardan inhalasyon, diyet takviyelerinin aşırı kullanımı, protez kremi kullanımı ve bebeklerde hatalı olarak hazırlanan total parenteral beslenme sonucunda toksisite vakaları bildirilmiş ve bu vakaların bazıları ölümle sonuçlanmıştır (Berg ve Shi, 1996; Greenberg ve Vearrier, 2015; Grisinger, 2011; Irving ve ark., 2003). Bu yüzden,

etiket üzerinde çinko içerdiğine dair bir ibare olmamasına rağmen bazı örneklerdeki göreceli yüksek çinko seviyeleri, sağlık açısından gıda takviyesi olarak çinko alan kişilerde problem oluşturabilir. Yüksek çinko alımları bulantı, baş dönmesi, baş ağrısı, mide rahatsızlığı, kusma ve iştah kaybına neden olabilir (Ryu ve Aydemir, 2020; King ve Cousins, 2014). Haftalarca kullanılırsa, 50 mg veya daha fazla çinko dozları (tipik olarak takviyelerden veya çinko içeren protez yapıştırıcı kremlerin aşırı kullanımından) bakır emilimini engelleyebilir (düşük bakır durumuna neden olabilir), bağışıklık fonksiyonunu azaltabilir ve HDL kolesterol seviyelerini düşürebilir (Institute of Medicine, 2001; King ve Cousins, 2014; Plum ve ark., 2017; Ryu ve Aydemir, 2020). Takviyelerden alınan çok yüksek çinko dozları (142 mg/gün) da magnezyum emilimini engelleyebilir ve magnezyum dengesini bozabilir (Spencer ve ark., 1994). Farklı raporlara göre, gram ürün başına 34 mg'a kadar çinko içeren protez yapıştırıcı kremlerin aşırı kullanımı nörolojik semptomlara (duyusal ataksi ve miyelopati dahil) ve anemiye yol açabilir. Bu etkileri önlemek için çinko içermeyen formülasyonlar mevcuttur (Ryu ve Aydemir, 2020; Nations ve ark., 2008; Doherty ve ark., 2011).

Amerikan Gıda ve Belenme Kurumu (Food and Nutrition Board), bakır durumu üzerinde olumsuz etkisi olan seviyeler temelinde sağlıklı bireyler için gıda ve takviyelerden alınan çinko için en fazla günlük olarak alım düzeyleri belirlemiştir. Bu değerler 9-13 yaş aralığındakiler için 23 mg, 14-18 yaş aralığındaki bireylerde 34 mg, 18 yaş üstü bireylerde ise 43 mg'dır. Gıdalardan elde edilen çinko miktarı nadiren 50 mg kadar yüksektir, bu nedenle gıdalardaki çinkonun çinko toksisitesine neden olması olası değildir. Ayrıca bu değerler tıbbi tedavi için çinko alan bireyler için geçerli değildir, ancak bu tür bireyler bir doktorun bakımı altında olmalıdır. Bu yüzden farkında olmadan alınabilecek fazla çinko birey sağlığı açısından zararlı olabilir ve bu yüzden kolajen gibi takviyelerde mutlaka etiket üzerinde belirtilmelidir.

Günümüzde antibiyotikler hayvanlarda sadece hastalıkları tedavi etmek için değil, hayvansal üretimi iyileştirmek için de kullanılır. Antibiyotik kullanımı hayvan hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde gereklidir. Veteriner ilaçları, özellikle de

antibiyotikler, hayvan yemi üretimiyle ilgili en önemli bileşikler arasındadır. Gıda üretiminde kullanılan hayvanların yaklaşık %80'i şu anda yaşamlarının belirli bir bölümünde veya tamamında veteriner ilaçları ile tedavi edilmektedir (Pavlov ve ark., 2008).

Antibiyotiklerin hayvanlarda ana kullanım alanı mastitis, artrit, solunum yolu hastalıkları, gastrointestinal ve diğer bakteriyel enfeksiyonlar gibi hastalıkların tedavisi ve önlenmesidir (Darwish ve ark., 2013). Ayrıca, bu antibiyotikler büyüme ve yem verimliliği performansını iyileştirir, üreme döngüsünü ve üreme performansını senkronize eder. Antibiyotiklere bağlı büyümede iyileşme ilk olarak 1940'ların ortasında tanımlanmış ve takip eden beş yıl içinde büyümeyi teşvik edici antibiyotiklerin eklenmesi yaygın bir uygulama haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Amerikan Tıp Birliği ve Amerikan Halk Sağlığı Birliği, kullanımlarının insanlarda çeşitli sağlık sorunlarına yol açtığını savunarak büyümeyi teşvik eden antibiyotiklerin yasaklanması çağrısında bulunmuştur (Graham ve ark., 2007). Bunun sebebi, bu antibiyotikler dikkatli kullanılmazsa et, süt ve yumurtada insan tüketimine yönelik gıdalarda bulunmasına izin verilmeyen kalıntıların birikmesine neden olabilir.

Antibiyotikler insan vücuduna doğrudan ya da hayvanlarda büyüme uyarıcı, hastalık önleyici ve tedavi edici ve kontaminasyon amaçlı kullanılarak dolaylı olarak farklı şekillerde girebilmektedir (Phillips ve ark., 2004). Hayvanlarda antibiyotik kullanımı süt, yumurta ve et gibi gıda maddelerinde antibiyotik kalıntıları bırakabilir. Hayvansal ürünlerde kalıntı oluşumunu etkileyen faktörlerin arasında kullanılan antibiyotiğin yapısı ve farmakokinetik özellikleri yanında, antibiyotiğin uygulandığı hayvanın ve bu hayvandan elde edilen ürünlerinin fizikokimyasal veya biyolojik süreçleri de dahil birçok faktör rol oynayabilir. Bu kalıntılar antibiyotiğe dirençli bakterilerin insanlara geçişi, alerji, immünopatolojik etkiler, karsinojenite (sülfametazin, oksitetrasiklin, furazolidon), mutajenite, nefropati (gentamisin), hepatotoksisite, üreme bozuklukları, kemik iliği toksisitesi (kloramfenikol) ve hatta insanlarda anafilaktik şok gibi çeşitli toksik etkilere neden olabilir (Darwish ve ark., 2013; Nisha, 2008). Antibiyotik kullanımına bağlı zararlı kalıntıların etkilerini en aza

indirilebilmesi için geri çekme sürelerine uyulmalıdır. Bu geri çekme süreleri, kalıntıların gıdalarda ihmal edilebilir olmasını veya artık tespit edilmemesini sağlar. Bununla birlikte, geri çekme süresi, insanları gıdalara eklenen antibiyotiklere maruz kalmaktan korumak için belirlenmiştir. Bu süreye uyulmaması, insanlarda doğrudan toksisiteye yol açabilecek potansiyel bir tehdit oluşturabilir. Ayrıca, düşük seviyelerde antibiyotik maruziyeti mikrofloranın değişmesine, hastalığa ve antibiyotik tedavisinin başarısız olmasına neden olan dirençli suşların olası gelişimine neden olabilir. Hayvansal gıdalardaki bu kalıntıların düzenlenmesi, insan sağlığını korumak için gereklidir.

Van Boeckel ve arkadaşları (2015) ülkelere göre gıda hayvanlarında antibiyotik kullanım sıralamasını ortaya koymuştur. Çin, gıda hayvanlarında antibiyotik kullanımında %23'lük bir oranla ilk sırada yer almaktadır. Diğer ülkelerin sıralaması ise şu şekildedir: ABD (%13), Brezilya (%9), Hindistan (%3) ve Almanya (%3). Antibiyotik kalıntıları, antibiyotiklerin uygulanmasından sonra hayvansal ürünün yenilebilir herhangi bir kısmında eser miktarda bulunan metabolitlerdir. Gıda hayvanlarında kabul edilebilir maksimum kalıntı limitini aşan antibiyotik kalıntıları, hayvanlarda veya insanlarda antibiyotik direnci gelişimine katkıda bulunabilir. Bu bağlamda ticari olarak satılan kolajenlerde antibiyotik kalıntılarının bulunmaması halk sağlığı açısından önemlidir. Yaptığımız literatür taramasında kolajen ürünlerinde olası antibiyotik kalıntılarını araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler, yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerden sülfanamid, kloramfenikol, tetrasiklin ve streptomisin hem balık hem de sığır kolajen takviyelerinde bulunmadığını ortaya çıkarmıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Alüminyum, arsenik, kadmiyum, kurşun, cıva, ve çinko çevre kirliliğine yol açan en yaygın ağır metallerdir. Sülfonamidler, tetrasiklinler, kloramfenikol ve streptomisinler ise en çok kullanılan antibiyotiklerdendir. Ağır metallerle maruziyet hayvan ve insanlarda psikolojik ve nörolojik süreçleri etkilemektedir. Literatürler, maruz kalınan ağır metal oranına göre davranış bozuklukları, nörofizyolojik fonksiyon düzensizlikleri, metabolizma sorunları hatta organ yetmezlikleri ve organ kayıplarına kadar uzanabilen durumlara yol açabileceğini belirtmektedir. Bunun yanında hayvanlarda kullanılan antibiyotiklerin, hayvansal ürünlere geçebildiği ve bu kalıntıların insan sağlığı üzerine uzun vadede olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar, ülkemizde rastgele örnekleme ile seçilen ticari kolajenlerde (çiftlik hayvanı ve balık kaynaklı) halk sağlığını tehdit edebilecek bir boyutta test edilen ağır metal (çinko, kurşun, kadmiyum, cıva ve arsenik) ve antibiyotik (streptomisin, sülfonamid, tetrasiklin ve kloramfenikol) kalıntısı bulundurmadığını göstermiştir. Çalışmamızda memeliler için yararlı bir metal olan çinko'nun bazı numunelerde hatırı sayılır bir oranda bulunduğu da anlaşılmıştır. Toksik seviyelerde olmasa da etikette yer almayan bir metalin bu seviyelerde bulunması, gıda takviyesi olarak dışarıdan yüksek oranda çinko alan kişilerde uzun vadede sağlık sorunlarına yol açabilir.

Çalışma konumuz olan ve ana kaynak olarak çiftlik hayvanlarından ve deniz ürünlerinden elde edilen kolajenin günümüzde kullanımı hem kozmetik hem de medikal kullanım açısından cazip hale gelmiştir. Ancak global kirlenme kolajen kaynakları üzerinde risk oluşturmaktadır. Bu durum, daha bilinçli beslenme ve daha iyi bir yaşam sürmek amacıyla kolajen tüketimine yönelimin, farkında olmadan ağır metal ve/veya antibiyotik kalıntılarına maruz kalma riskini olası hale getirmektedir. Ticari olarak satılan kolajen ürünlerinde ağır metal ve antibiyotik kalıntıları üzerine araştırmalar henüz yeni başlamış durumdadır. Kolajen ürünlerinin ağır metal ve antibiyotik kalıntıları açısından güvenliği ile ilgili çalışmalar yetersiz sayılabilecek düzeyde olup, güvenli ürün süreci henüz tamamlanmamış durumdadır. Satışta olan markalar incelendiğinde, kullanılan kolajenlerin menşei konusunda herhangi bir

ibareye rastlanmamaktadır. Ayrıca, ticari olarak satışı olan kolajen ürünlerinin önemli bir kısmı etiket bilgilerinde yeterli düzeyde açıklayıcı bilgi içermemektedir. Birey ve toplum sağlığı için önemli bir güvenli kullanım imkânı oluşabilmesi için bu tür ürünlerde gerekli ibarelerin daha detaylı bir şekilde yer alması ve ürün içerisinde bulunan kimyasalların tam olarak listelenmesi yararlı olacaktır. Aynı zamanda hayvan kaynaklı doğal kolajenlerin inflamasyona yol açabilme ihtimali ve olası zoonoz hastalıklara sebep olabilmesi ile ilgili endişeler, sentetik kolajen üretiminin daha düşük maliyetler ve daha yüksek verim sağlanarak kullanımının yaygınlaşmasının doğal kolajenlere iyi bir alternatif teşkil edebileceğini düşündürmektedir.



KAYNAKLAR

- Adams HR (1995).** *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 7th Edition, Ames: Iowa State Press, p: 820-824.
- Ali I, Penttinen-Damdimopoulou PE, Mäkelä SI, Berglund M, Stenius U, Akesson A, Håkansson H, Halldin K (2010).** Estrogen-like effects of cadmium in vivo do not appear to be mediated via the classical estrogen receptor transcriptional pathway. *Environ. Health. Perspect.*, **118 (10)**, 1389-1394.
- Aluko RE (2015).** Antihypertensive peptides from food proteins. *Ann. Rev. Food Sci. Technol.*, **6**, 235-262.
- Aminov RI (2010).** A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Front. Microbiol.*, **1**, 134-145.
- Anadon A, Bringas P, Martinez-Larranaga MR, Diaz MJ (1994).** Bioavailability, pharmacokinetics and residues of chloramphenicol in the chicken. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, **17**, 52-58.
- Awaishah SS, Khalifeh MS, Rahahleh RJ, Al-Khaza'Leh JM, Algroom RM (2019).** Sulfamethazine contamination level and exposure assessment in domestic and imported poultry meats in Jordan. *Vet World.*, **12**, 1992-1997.
- Avila Rodríguez MI, Rodríguez Barroso LG, Sánchez ML (2018).** Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *J. Cosmet. Dermatol.* **17**, 20-26. doi: 10.1111/jocd.12450
- Baird C, Cann N (2012).** *Environmental Chemistry*. 5th Edition, New York: W. H. Freeman and Company, p: 620-811.
- Ball AP, Gray JA, Murdoch JM (1975).** Antibacterial Drugs today: II. *Drugs*, **10**, 81-111.
- Banerjee J, Seetharaman S, Wrice NL, Christy RJ, Natesan S (2019).** Delivery of silver sulfadiazine and adipose derived stem cells using fibrin hydrogel improves infected burn wound regeneration. *PLoS One.*, **14(6)**, 1-22.
- Banerjee I, Mishra D, Das T, Maiti S, Maiti TK (2012).** Caprine (Goat) collagen: A potential biomaterial for skin tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **23**, 355-373.
- Bassett EJ, Keith MS, Armelagos GJ, Martin DL, Villanueva AR (1980).** Tetracycline-labeled human bone from ancient Sudanese Nubia (AD 350). *Science*, **209**, 1532-1534.
- Bayrak A, Pruger P, Stock UA, Seifert M (2013).** Absence of immune responses with xenogeneic collagen and elastin. *Tissue Eng. Part. A.*, **19**, 1592-1600.

Beiner GG, Lavi M, Seri H, Lev O, Gun J, Rabinovich R (2015). Oddy Tests: Adding the Analytical Dimension. *Collection Forum*, **29(1–2)**, 22-36.

Bendjeddou A, Abbaz T, Khacha N, Benahmed M, Gouasmia A, Villemin D (2016). Antibacterial activity of sulfonamide derivatives against clinical strains of bacteria. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.*, **7 (2)**, 799-804.

Berdanier CD, Dwyer JT, Feldman B (2007). *Handbook of Nutrition and Food*. Boca Raton, Florida: CRC Press, p: 706-840.

Berg JM, Shi Y (1996). The galvanization of biology: a growing appreciation for the roles of zinc. *Science*, **271 (5252)**, 1081-1085.

Bettinelli M, Baroni U, Pastorelli N (1988). Determination of arsenic, cadmium, lead, antimony, selenium and thallium in coal fly ash using the stabilised temperature platform furnace and Zeeman-effect background correction. *J. Anal. At. Spectrom.*, **3(7)**, 1005-1011.

Biošić M, Mitrevski M, Babić S (2017). Environmental behavior of sulfadiazine, sulfamethazine, and their metabolites. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **24 (10)**, 9802-9812.

Bitanhirwe BK, Cunningham MG (2009). Zinc: the brain's dark horse. *Synapse.*, **63(11)**, 1029-1049.

Blackwood RK (1985). *Structure determination and total synthesis of the tetracyclines*. In: Hlavka JJ, Boothe JH. (Eds), *Handbook of experimental pharmacology*. Berlin, Germany: Springer-Verlag KG, p. 59–136.

Blake S (2007). *Vitamins and Minerals Demystified*. United States: McGraw-Hill Professional, p. 242-286.

Blakemore JS (1985). *Solid State Physics*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 293-404.

Blanchard C, Brooks L, Ebsworth-Mojica K, Didione L, Wucher B, Dewhurst S, Krysan D, Dunman PM, Wozniak RA (2016). Zinc pyrithione improves the antibacterial activity of silver sulfadiazine ointment. *mSphere*, **1 (5)**, 1-14.

Bothwell DN, Mair EA, Cable BB (2003). Chronic Ingestion of a Zinc-Based Penny. *Pediatrics*, **111 (3)**, 689-691.

Bouchard MF, Bellinger DC, Weuve J, Matthews-Bellinger J, Gilman SE, Wright RO, Schwartz J, Weisskopf MG (2009). Blood Lead Levels and Major Depressive Disorder, Panic Disorder, and Generalized Anxiety Disorder in US Young Adults. *Arch. Gen. Psychiatry*, **66 (12)**, 1313-1319.

Brinckmann JCBC, Notbohm H, Müller PK, Bächinger HP (2005). *Collagen: Primer in Structure, Processing and Assembly*. Berlin, Germany: Springer, p.56-69.

Broadley MR, White PJ, Hammond JP, Zelko I, Lux A (2007). Zinc in plants. *New Phytologist*, **173** (4), 677-702.

Browne S, Zeugolis D, Pandit A (2013). Collagen: finding a solution for the source. *Tissue Eng. Part. A.*, **19**, 1491-1494.

Bunnag D, Karbwang J, Na-Bangchang K, Thanavibul A, Chittamas S, Harinasuta T (1996). Quinine-tetracycline for multidrug resistant falciparum malaria. *Southeast Asia J. Trop. Med. Public. Health.*, **27**, 15-18.

Calderon CB, Sabundayo BP (2007). *Antimicrobial Classifications: Drugs for Bugs*. In Schwalbe R, Steele-Moore L, Goodwin AC. (Eds), *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. Boca Raton, Florida: CRC Press, Taylor & Frances, p: 24-63.

Camba SA, Alterthum F, De Carvalho Lima LP (1976). Some evidences for the hypothesis of active transport of streptomycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherap.*, **22** (6), 341-345.

Campbell P (2005). Critical review, bovine spongiform encephalopathy-some surprises for biochemists. *Life*, **54**, 273-276.

Carellon J (2007). Final Report: Biogeochemistry of Arsenic in Contaminated Soils of Superfund Sites. EPA. United States Environmental Protection Agency. <https://www.epa.gov/> (Erişim Tarihi 25.11.2022)

Chanjuan D, Yonggang L (2016). Application of collagen scaffold in tissue engineering: recent advances and new perspectives. *Polymers.*, **8**, 42-48.

Charriere G, Bejot M, Schnitzler L, Ville G, Hartmann DJ (1989). Reactions to a bovine collagen implant: Clinical and immunologic study in 705 patients. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **21**, 1203-1208.

Chattopadhyay MK (2014). Use of antibiotics as feed additives: a burning question. *Front. Microbiol.*, **5**, 1-3.

Cheah KS (1985). Collagen genes and inherited connective tissue disease. *Biochem J.*, **229**, 287-303. doi: 10.1042/bj2290287.

Chio LC, Bolyard LA, Nasr M, Queener SF (1996). Identification of a class of sulfonamides highly active against dihydropteroate synthase from *Toxoplasma gondii*, *Pneumocystis carinii*, and *Mycobacterium avium*. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **40**, 727-733.

Chopra I, Hawkey P M, Hinton M (1992). Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *J. Antimicrob. Chemother.*, **29**, 245-277.

Chopra I, Roberts M (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **65** (2), 232-260.

Chopra I (1994). Tetracycline analogs whose primary target is not the bacterial ribosome. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**, 637-640.

Chopra I (1986). Transport of tetracyclines into *Escherichia coli* requires a carboxamide group at the C2 position of the molecule. *J. Antimicrob. Chemother.*, **18**, 661-666.

Clean Label Project (2021). The True Content and Faces Behind America's Best-Selling Collagen. <https://www.organicconsumers.org/> (Erişim Tarihi: 15.12.2022)

Consumer Reports (2010). Health risks of protein drinks - consumer reports. (n.d.). <https://www.consumerreports.org/> (Erişim Tarihi 22.12.2022)

Cooper JF, Fleming D, Hargrove D, Koopman R, Peterman K (1995). A refuelable zinc/air battery for fleet electric vehicle propulsion. NASA Sti/Recon Technical Report N. Society of Automotive Engineers future transportation technology conference and exposition. **96**, 11394.

Coppola D, Oliviero M, Vitale GA, Lauritano C, D'Ambra I, Iannace S, de Pascale D (2020). Marine Collagen from Alternative and Sustainable Sources: Extraction, Processing and Applications. *Mar. Drugs.*, **18**, 214.

Cotton FA, Wilkinson G, Murillo CA, Bochmann M (1999). *Advanced Inorganic Chemistry*. 6th Edition, New York: John Wiley & Sons, Inc., p: 75-151.

Dai T, Huang YY, Sharma SK, Hashmi JT, Kurup DB, Hamblin MR (2010). Topical antimicrobials for burn wound infections. *Recent Pat. Antiinfect. Drug. Discov.*, **5** (2), 124-151.

Daniel TM (2005). Selman Abraham Waksman and the discovery of streptomycin. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.*, **9** (2), 120-122.

Darwish WS, Eldaly EA, El-Abbasy MT, Ikenaka Y, Nakayama S, Ishizuka M (2013). Antibiotic residues in food: the African scenario. *Jpn. J. Vet. Res.*, **61**, S13-S22.

David RL (2006). *Handbook of Chemistry and Physics (87th ed.)*. Boca Raton, Florida: CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN 978-0-8493-0487-3.

Davidson CL, Rabinowitz M (1992). *Lead in the Environment, from sources to human receptors*, In: Needleman H. (Eds.), *Human Lead Exposure*. Boca Raton, FL: CRC Press, p: 245-287.

Davies J, Davies D (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **74** (3), 417-433.

Derkach SR, Voron'ko NG, Kuchina YA, Kolotova DS (2020). Modified Fish Gelatin as an Alternative to Mammalian Gelatin in Modern Food Technologies. *Polymers (Basel)*, **12**, 3051. doi: 10.3390/polym12123051.

Dias FS, Bonsucesso JS, Oliveira LC, Dos Santos WNL (2012). Preconcentration and determination of copper in tobacco leaves samples by using a minicolumn of sisal fiber (*Agave sisalana*) loaded with Alizarin fluorine blue by FAAS. *Talanta*., **89** (1), 276-279.

Dibbern DA, Montanaro A (2008). Allergies to sulfonamide antibiotics and sulfur-containing drugs. *Ann. Allergy. Asthma. Immunol.*, **100** (2), 91-101.

Dibyendu S, Datta R (2007). Biogeochemistry of Arsenic in Contaminated Soils of Superfund Sites. EPA. United States Environmental Protection Agency. <https://www.epa.gov/> (Erişim Tarihi 25.11.2022)

Djoko KY, Ong CL, Walker MJ, McEwan AG (2015). The Role of Copper and Zinc Toxicity in Innate Immune Defense against Bacterial Pathogens. *J. Biol. Chem.*, **290** (31), 18954-18961.

Doherty K, Connor M, Cruickshank R (2011). Zinc-containing denture adhesive: a potential source of excess zinc resulting in copper deficiency myelopathy. *Br. Dent. J.*, **210**, 523-525.

Dybka D, Wlczak P (2009). Collagen hydrolysates as new diet supplement. *Food Che. Biotechnol.*, **1058**, 83-92.

Edlind TD (1991). *Protein synthesis as a target for antiprotozoal drugs*. In: Coombs G, North M. (Eds), *Biochemical protozoology*. London, United Kingdom: Taylor & Francis; p: 569-586.

EFSA (2012). Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA J.*, **10** (1), 2551. doi:10.2903/j.efsa.2012.2551.

Eisler R (1993). Zinc Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. *Contaminant Hazard Reviews*, **3**, 126.

Emsley J (1998). *The Elements*. 3rd Edition, Oxford, UK: Clarendon Press, p:120-121.

Emsley J (2001). *Zinc. Nature's Building Blocks: An A-Z Guide to the Elements*. Oxford, UK: Oxford University Press, p: 499-505.

EPA (2021). Organic atrsenicals. U.S. Environmental Protection Agency. <https://www.epa.gov/> (Erişim tarihi: 25.11.2022)

Fan J (2013). Effects of collagen and collagen hydrolysate from jellyfish umbrella on histological immunity changes of mice photoaging. *Nutrients*, **5**, 223-233.

Farndale RW, Sixma JJ, Barnes MJ, de Groot PG (2004). The role of collagen in thrombosis and hemostasis. *J. Thromb. Haemost.*, **2**, 561-567.

Fauzi MB, Lokanathan Y, Aminuddin BS, Ruszymah BHI, Chowdhury SR (2016). Ovine tendon collagen: Extraction, characterisation and fabrication of thin films for tissue engineering applications. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, **68**, 163-171.

FDA (2011). Questions and Answers Regarding 3-Nitro (Roxarsone). U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/> (Erişim Tarihi 25.11.2022)

Fechner P, Damdimopoulou P, Gauglitz G (2011). Biosensors paving the way to understanding the interaction between cadmium and the estrogen receptor alpha. *PLoS One.*, **6 (8)**, e23048.

Fernández-Villa D, Aguilar MR, Rojo L (2019). Folic acid antagonists: antimicrobial and immunomodulating mechanisms and applications. *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 1-30.

Finch RG (1997). *Tetracyclines*. In: O'Grady F, Lambert HP, Finch RG, Greenwood D. (Eds), *Antibiotic and chemotherapy*. 7th Edition, New York, N.Y: Churchill Livingstone Ltd, p: 469-484.

Finken M, Kirschner P, Meier A, Wrede A, Bottger EC (1993). Molecular basis of streptomycin resistance in mycobacterium tuberculosis: alterations of the ribosomal protein S12 Gene and point mutations within a functional 16s ribosomal RNA pseudoknot. *Mol. Microbiol.*, **9 (6)**, 1239-1246.

Foegeding E, Lanier T, Hultin HJFC (1996). Collagen. *Food Chem.*, **3**, 902-906.

Foster W, Raoult A (1974). Early descriptions of antibiosis. *J. R. Coll. Gen. Pract.*, **24 (149)**, 889-894.

Franklin T J (1996). *Mode of action of the tetracyclines*. In: Newton B A, Reynolds P E, editors. *Biochemical studies of antimicrobial drugs. Sixteenth Symposium of the Society for General Microbiology*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press, p: 192–212.

Fu Y, Young JF, Løkke MM, Lametsch R, Aluko RE, Therkildsen M (2016). Revalorisation of bovine collagen as a potential precursor of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides based on in silico and in vitro protein digestions. *J. Funct. Foods.*, **24**, 196-206.

Funatsu G, Wittmann HG (1972). Ribosomal proteins: Xxxiii. location of amino-acid replacements in protein S12 isolated from escherichia coli mutants resistant to streptomycin. *J. Mol. Biol.*, **68 (3)**, 547-550.

Gale EF, Cundliffe E, Reynolds PE, Richmond MH, Waring MJ (1981). The molecular basis of antibiotic action, John Wiley and Sons, Inc., New York. doi.org/10.1002/jps.2600620955.

Gelse K, Poschl E, Aigner T (2003). Collagens--Structure, function, and biosynthesis. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **55**, 1531-1546. doi: 10.1016/j.addr.2003.08.002.

Genç Y, Özkanca R, Bekdemir Y (2008). Antimicrobial activity of some sulfonamide derivatives on clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, **7**, 1–6.

Germovsek E, Barker CI, Sharland M (2017). What do I need to know about aminoglycoside antibiotics? *Arch. Dis. Child. Educ. Pract. Ed.*, **102 (2)**, 89-93.

Giles A, Foushee J, Lantz E, Gumina G (2019). Sulfonamide allergies. *Pharmacy*, **7(3)**, 1-12.

Greenberg MI, Vearrier D (2015). Metal fume fever and polymer fume fever. *Clin. Toxicol (Phila.)*, **53(4)**, 195-203.

Goodsell D (2005). Collagen. PDB-101. https://doi.org/10.2220/rcsb_pdb/mom_2000_4/ (Erişim Tarihi 18.11.2022)

Gould K (2016). Antibiotics: from prehistory to the present day. *J. Antimicrob. Chemother.*, **71(3)**, 572-575.

Graham JP, Boland JJ, Silbergeld E (2007). Growth promoting antibiotics in food animal production: an economic analysis. *Pub. Health. Rep.*, **122**, 79-87.

Greenwood NN, Earnshaw A (1998). *Chemistry of the Elements*. Butterworth-Heinemann (Eds), Boston, USA: Elsevier Press, p:324-408.

Grissinger M (2011). A fatal zinc overdose in a neonate: confusion of micrograms with milligrams. *P. T.*, **36 (7)**, 393-409.

Gualerzi CO, Brandi L, Fabbretti A, Pon CL (2013). *Antibiotics: Targets, Mechanisms and Resistance*. New Jersey, USA: John Wiley & Sons, p: 1-25.

Gupta RC, Canerdy TD, Skaggs P, Stocker A, Zyrkowski G, Burke R, Wegford K, Goad JT, Rohde K, Barnett D, DeWees W, Bagchi M, Bagchi D (2009). Therapeutic efficacy of undenatured type-ii collagen (UC-II) in comparison to glucosamine and chondroitin in arthritic horses. *Vet. Pharmacol. Ther.*, **32**, 577-584.

Guruswamy S (2000). *Engineering properties and applications of lead alloys*. CRC Press, p: 528-648.

Gworek B, Dmuchowski W, Baczeńska-Dąbrowska AH (2020). Mercury in the terrestrial environment: a review. *Environ. Sci. Eur.*, **32**, 128. doi.org/10.1186/s12302-020-00401-x.

Habashi F (2016). *Discovering the 8th metal: History of the zinc*. International Zinc Association. Brussels – Belgium.

Hamama Z (2013). *Management of drug-resistant TB*. In: Mahboub, B. (Eds), *Tuberculosis-Current Issues in Diagnosis and Management*. Rijeka, Croatia: InTech Publishing, p:197-232.

Harbison RD (1998). *Industrial toxicology*. St Louis, MO: Mosby Elsevier Health Science, p:1-128.

He LR, Theato P (2013). Collagen and collagen mimetic peptide conjugates in polymer science. *Eur. Polym. J.*, **49**, 2986-2997.

Heath AG (1995). *Water pollution and fish physiology*. Boca Raton, Florida: CRC Press, p: 57-78.

Heiserman DL (1992). *Element 30: Zinc. Exploring Chemical Elements and their Compounds*. New York: TAB Books. ISBN 978-0-8306-3018-9.

Hennigar SR, Lieberman HR, Fulgoni VL 3rd, McClung JP (2018). Serum Zinc Concentrations in the US population are related to sex, age, and time of blood draw but not dietary or supplemental zinc. *J. Nutr.*, **148**, 1341-1351.

Herford A, Akin L, Cicciu M, Maiorana C, Boyne P (2010). Use of a porcine collagen matrix as an alternative to autogenous tissue for grafting oral soft tissue defects. *J. Oral. Maxillofac. Surg.*, **68**, 1463-1470.

Hermann CS (1818). Noch ein schreiben über das neue Metall. *Annalen der Physik*. **59(5)**, 113-116.

Holleman AF, Wiberg E, Wiberg N (1985). *Cadmium. Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 91–100 (in German). Walter de Gruyter, p:1056-1057.

Holmes DF, Lu Y, Starborg T, Kadler KE (2018). Collagen fibril assembly and function. *Curr. Top. Dev. Biol.*, **130**, 107-142.

Honore N, Cole ST (1994). Streptomycin resistance in mycobacteria. *Antimicrob. Agents. Chem.*, **38 (2)**, 238-242.

Hoover HC (2003). *Georgius Agricola de Re Metallica*. Montana, USA: Kessinger Publishing, p:1-674.

Howatson A H (1965). *An Introduction to Gas Discharges*. Oxford, UK: Pergamon Press, p:191-227.

Huxley J J, Robertson DL, Boot Hand ford RP (2007). On the origins of the extracellular matrix in vertebrates. *Matrix Biol.*, **26**, 2-11.

Institute of Medicine (2001). (US) Panel on Micronutrients. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. Washington, DC: National Academy Press (US).

Irving JA, Mattman A, Lockitch G, Farrell K, Wadsworth LD (2003). Element of caution: a case of reversible cytopenias associated with excessive zinc supplementation. *CMAJ*, **169** (2), 129-31.

Isik K, Özdemir-Kocak F (2009). Antimicrobial activity screening of some sulfonamide derivatives on some *Nocardia* species and isolates. *Microbiol. Res.*, **164** (1), 49-58.

Islam MM, Sonu VK, Gashnga PM, Moyon NS, Mitra S (2016). Caffeine and sulfadiazine interact differently with human serum albumin: a combined fluorescence and molecular docking study. *Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, **152**, 23-33.

Ivipriya K, Kumar K, Bhat A, Kumar D, John A, Lakshmanan P (2015). Collagen: animal sources and biomedical applications. *J. App. Pharm. Sci.*, **5**, 123-127.

Jardetzky O (1963). Studies on the mechanism of action of chloramphenicol. I. The conformation of chlioramphenicol in solution. *J. Biol. Chem.*, **238**, 2498-2508.

Jarup L (1998). Health effects of cadmium exposure – a review of the literature and a risk estimate. *Scand. J. Work. Environ. Health.*, **24**, 11–51.

Jiann-Jiu WS, Woods PE, Eyre DR (1992). Identification of Cross-linking Sites in Bovine Cartilage TypeI X Collagen Reveals an Antiparallel Type 11-Type IX Molecular Relationship and Type IX to Type IX Bonding. *J. Biol. Chem.*, **267**, 23007-23014.

Jiao Y, Grant CA, Bailey LD (2004). Effects of phosphorus and zinc fertilizer on cadmium uptake and distribution in flax and durum wheat. *J. Sci. Food. Agric.*, **84** (8), 777-785.

Johnson AR, Munoz A, Gottlieb JL, Jarrard DF (2007). High dose zinc increases hospital admissions due to genitourinary complications. *J. Urol.*, **177**(2), 639-643.

Johnson MD, Kenney N, Stoica A, Hilakivi-Clarke L, Singh B, Chepko G, Clarke R, Sholler PF, Lirio AA, Foss C, Reiter R, Trock B, Paik S, Martin MB (2003). Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat. Med.*, **9** (8), 1081-1084.

Jones FT (2007). A Broad View of Arsenic. *Poultry Sci.*, **86** (1), 2-14.

Kadler KE, Holmes DF, Trotter JA, Chapman JA (1996). Collagen fibril formation. *Biochem. J.*, **316** (1), 1-11.

Karsdal M (2016). *Biochemistry of Collagens Structure, Function and Biomarkers*. London, United Kingdom: Academic Press.

Keefe J, Wauk L, Chu S, DeLustro F (1992). Clinical use of injectable bovine collagen: A decade of experience. *Clin. Mater.*, **9**, 155-162.

Ketha H, Garg U, Ketha H, Garg U (2020). *Toxicology Cases for the Clinical and Forensic Laboratory*, Cambridge, USA: Academic Press, p: 413-418.

Keyes K, Lee MD, Maurer JJ (2003). *Antibiotics: mode of action, mechanisms of resistance and transfer*. In: Torrance ME, Isaacson RE. (Eds). *Microbial Food Safety in Animal Agriculture Current Topics*. Ames, IA, USA: Iowa State Press, p:45-56.

Khan DA, Knowles SR, Shear NH (2019). Sulfonamide hypersensitivity: fact and fiction. *J. Allergy. Clin. Immunol. Pract.*, **7** (7), 2116-2123.

Kim B, Choi J, Kim J, Yoon H, Choi Y, Cho Y (2012). Human collagen isolated from adipose tissue. *Biotechnol. Prog.*, **28**, 973- 980.

Kim BS, Choi JS, Kim JD, Yoon HI, Choi YC, Cho YW (2012). Human collagen isolated from adipose tissue. *Biotechnol. Prog.*, **28**, 973-980.

King JC, Cousins RJ (2014). *Zinc. Modern Nutrition in Health and Disease*. 11th Edition. Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR. (Eds), Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 189-205.

Konstantinou IK, Albanis TA (2004). Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review. *Environ. Int.*, **30** (2), 235-248.

Krishnamurthy N (2013). *Engineering Chemistry*, 2/e. New York: PHI Learning Private Limited, p: 82–83.

Kucers A, Bennett Mc KN (1987). *The use of antibiotics:A Comprehensive Review with Clinical Emphasis*. 4th Edition. Oxford, United Kingdom: Heinemann Medical, p: 273-298.

Kumar V, Taylor N, Jalan A, Hwang L, Wang B, Hartgerink J (2014). A nanostructured synthetic collagen mimic for hemostasis. *Biomacromol.*, **15**, 1484-1490.

Kumar P (2017). *Pharmacology of Specific Drug Groups:Antibiotic Therapy*. In: Mariotti A. (Eds), *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*, Boston, USA: Elsevier Press, p: 457–487.

Kumbargere NS, George RP, Shetty N, Levenson D, Ferraiolo DM, Shrestha A (2017). Interventions for the managing taste disturbances. *Cochrane Database Syst Rev* CD010470. doi: 10.1002/14651858.CD010470.pub3.

Lafarga T, Hayes M (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: Generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Sci.* **98**, 227-239. doi: 10.1016/j.meatsci.

Lane TW, Morel FM (2000). A biological function for cadmium in marine diatoms. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **97 (9)**, 4627-4631.

Lane TW, Saito MA, George GN, Pickering IJ, Prince RC, Morel FM (2005). A cadmium enzyme from a marine diatom. *Nature*, **435 (7038)**, 42. doi: 10.1038/435042a.

Langmuir CH, Broecker WS (2012). *How to build a habitable planet: The story of Earth from the Big Bang to humankind*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, p:134-217

Lavanya R (2017). Sulphonamides: a pharmaceutical review. *Int. J. Pharmaceutical Sci. Invention*, **6(2)**, 1-3.

Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, Vlieghe E, Hara GL, Gould IM, Goossens H, Greko C, So AD, Bigdeli M, Tomson G, Woodhouse W, Ombaka E, Peralta AQ, Qamar FN, Mir F, Kariuki S, Bhutta ZA, Coates A, Bergstrom R, Wright GD, Brown ED, Cars O (2013). Antibiotic resistance-the need for global solutions. *Lancet Infect. Diseases.* **13 (12)**, 1057-1098. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70318-9.

Lehto RS (1968). Zinc. *The Encyclopedia of the Chemical Elements*. Clifford AH. (Eds), New York, USA: Reinhold Book Corporation, p: 822-830.

Leon-Lopez A, Morales-Penaloza A, Martinez-Juarez VM, Vargas-Torres A, Zeugolis DI, Aguirre-Alvarez G (2019). Hydrolyzed Collagen-Sources and Applications. *Molecules.* **24**, 4031. doi: 10.3390/molecules24224031.

Levy SB (1984). *Resistance to the tetracyclines*. Bryan LE. (Eds), Antimicrobial drug resistance. Orlando, FL: Academic Press, p: 191-240.

Li D, Gao Y, Wang Y, Yang X, He C, Zhu M, Zhang S, Mo X (2019). Evaluation of biocompatibility and immunogenicity of micro/nanofiber materials based on tilapia skin collagen. *J. Biomater. Appl.*, **33**, 1118-1127.

Lichtfouse E (2004). *Electrodialytical Removal of Cu, Cr and As from Threaded Wood*. Lichtfouse E, Schwarzbauer J, Didier R. (Eds), Environmental Chemistry: Green Chemistry and Pollutants in Ecosystems. Berlin, Germany: Springer, p:345-387.

Lide DR (2005). *CRC-Handbook of Chemistry and Physics*. 86th Edition, Boca Raton, FL: CRC-Press, Taylor & Francis, p:1-489.

Lim YS, Ok YJ, Hwang SY, Kwak JY, Yoon S(2019). Marine Collagen as A Promising Biomaterial for Biomedical Applications. *Mar. Drugs* **17**, 467. doi: 10.3390/md17080467.

Luckey TD, Venugopal B (1979). *Physiologic and Chemical Basis for Metal Toxicity*. Boston, MA: Springer, p:1-37.

Luevano J, Damodaran C (2014). A Review of Molecular Events of Cadmium-Induced Carcinogenesis. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, **33 (3)**, 183-194.

Lupi O (2002). Prions in dermatology. *J. Am. Acad. Dermatol.* **46**, 790- 793. PMID: 12004327.

MacDonald RS (2000). The Role of Zinc in Growth and Cell Proliferation. *J. Nutr.*, **130**, 1500S-1508S.

Maertens B, Hopkins D, Franzke CW, Keene DR, Tuderman LB, Greenspan DS, Koch M (2007). Cleavage and oligomerisation of gliomedin, a transmembranous collagen required for nodes of ranvier formation. *J. Biol. Chem.*, **282**, 10647-10659.

Marggraf A (1746). Experiences sur la maniere de tirer le Zinc de sa veritable miniere, c'est à dire, de la pierre calaminaire. *Histoire de l'Académie Royale des Sciences et Belles-Lettres de Berlin*. **2**, 49-57.

Marnros AG, Oslen BR (2005). Physiological role of collagen XVIII and endostatin. *Faseb J.*, **19**, 716-728.

Marshall L (2019). Collagen:“fountain of youth” or edible hoax? <https://www.webmd.com/> (Erişim Tarihi:07.11.2022)

Mathews SM, Jiju V, Thomas I, Panicker JT, Kuriakose LS (2015). Sulfa drugs and the skin. *World J. Pharm. Res.*, **4 (10)**, 382-390.

McFarland MM, Zach SJ, Wang X, Potluri LP, Neville AJ, Vennerstrom JL, Davis PH (2016). Review of experimental compounds demonstrating anti-toxoplasma activity. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **60 (12)**, 7017-7034.

Meena C, Mengi SA, Deshpande SG (1999). Biomedical and industrial applications of collagen. *Proc. Indian. Acad. Sci. Chem. Sci.*, **111**, 319-329.

Mitchison, D.A., 1985. The action of antituberculosis drugs in short-course chemotherapy. *Tubercle* **66 (3)**, 219-225, doi:10.1016/0041-3879(85)90040-6.

Mitnick CD, McGee B, Peloquin CA. (2009). Tuberculosis pharmacotherapy: strategies to optimize patient care. *Expert. Opin. Pharmacother.*, **10 (3)**, 381-401.

Mitscher L A (1978). The chemistry of the tetracycline antibiotics. New York, N.Y: Marcel Dekker, Inc., p:118-148.

Moazed D, Noller HF (1987). Interaction of antibiotics with functional sites in 16S ribosomal RNA. *Nature*, **327**, 389-394.

Mokrejš P, Mrázek P, Gál R, Pavlačková JJP (2019). Biotechnological preparation of gelatines from chicken feet. *Polymers*, **11**, 1060-1067.

Morrow H (2010). *Cadmium and Cadmium Alloys*. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, p: 1-36.

Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, Han C, Bisignano C, Rao P, Wool E, Johnson SC (2019). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in a systematic analysis. *Lancet*, **399 (10325)**, 629-655.

Muyssen BT, De Schamphelaere KA, Janssen CR (2006). Mechanisms of chronic waterborne Zn toxicity in *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol.*, **77 (4)**, 393-401.

Myers JC, Amenta PS, Dion AS, Sciancalepore JP, Nagaswami C, Weisel JW, Yurchenco PD (2007). The molecular structure of human tissue type XV presents a unique conformation among collagens. *Biochem. J.*, **15**, 535-544.

Nachman KE, Graham JP, Price LB, Silbergeld EK (2005). Arsenic: A Roadblock to Potential Animal Waste Management Solutions. *Environmental Health Perspectives*. **113(9)**, 1123-1124. doi:10.1289/ehp.7834.

Nair J, Rouse DA, Bai GH, Morris SL (1993). The rpsL gene and streptomycin resistance in single and multiple drug-resistant strains of mycobacterium tuberculosis. *Mol. Microbiol.*, **10 (3)**, 521-527.

Nations SP, Boyer PJ, Love LA, Burritt MF, Butz JA, Wolfe GI, Hynan LS, Reisch J, Trivedi JR (2008). Denture cream: an unusual source of excess zinc, leading to hypocupremia and neurologic disease. *Neurology*. **71**, 639-643. doi: 10.1212/01.wnl.0000312375.79881.94.

Nelson ML, Levy SB (1999). Reversal of tetracycline resistance mediated by different bacterial tetracycline resistance determinants by an inhibitor of the Tet(B) antiport protein. *Antimicrob Agents. Chemother.*, **43**, 1719-1724.

Nelson ML, Park BH, Andrew JS, Georgian VA, Thomas BC, Levy SB (1993). Inhibition of the tetracycline efflux antiport protein by 13-thio-substituted 5-hydroxy-6-deoxytetracyclines. *J. Med. Chem.*, **36**, 370-377.

Nikaido H, Thanassi DG (1993). Penetration of lipophilic agents with multiple protonation sites into bacterial cells: tetracyclines and fluroquinolones as examples. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **37**, 1393-1399.

Nimni M (1980). The molecular organization of collagen and its role in determining the biophysical properties of the connective tissues. *Biorheology*, **17**, 51-82.

Nisha A (2008). Antibiotic residues-a global health hazard. *Vet. World.*, **1(12)**, 375-377.

Noah JW, Dolan MA, Babin P, Wollenzien P (1999). Effects of tetracycline and spectinomycin on the tertiary structure of ribosomal RNA in the Escherichia coli 30S ribosomal subunit. *J. Biol. Chem.*, **274**, 16576–16581.

Norman NC (1998). *Chemistry of Arsenic, Antimony and Bismuth*. Berlin, Germany: Springer, p:50-67.

Norrby LJ (1991). Why is mercury liquid? Or, why do relativistic effects not get into chemistry textbooks? *J Chem Education*. **68** (2),110. Doi:10.1021/ED068P110

Nurs S, Archana S (2016). Collagen: new dimension in cosmetic and health care. *Int. J. Biochem. Res. Rev.*, **14**, 1-8.

Oehler R, Polacek N, Steiner G, Barta A (1997). Interaction of tetracycline with RNA: photoincorporation into ribosomal RNA of Escherichia coli. *Nucleic Acids. Res.*, **25**, 1219-1224.

OJEU (2016). Official Journal of the European Union. Directive 2006/66/EC OF The European Parliament and of the Council. EUR-lex.europa.eu. (Erişim tarihi 25 Kasım 2022).

Olinsky-Paul T (2013). East Penn and Ecoulst battery installation case study webinar. Clean Energy States Alliance. https://East_Penn_Manufacturing-Delivers-New-Battery-Technology-Electrical-Grid-Support.pdf (energy.gov)/ (Erişim tarihi 21 Ekim 2022).

Oliva B, Chopra I (1992). Tet determinants provide poor protection against some tetracyclines: further evidence for division of tetracyclines into two classes. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **36**, 876-878.

Oliva B, Gordon G, McNicholas P, Ellestad G, Chopra I (1992). Evidence that tetracycline analogs whose primary target is not the bacterial ribosome cause lysis of Escherichia coli. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **36**, 913-919.

Organic Consumer Reports (2020). Collagen reports. https://www.organicconsumers.org/sites/default/files/collagen_white_paper.pdf/ (Erişim tarihi 30.11.2022).

Otfried M (2004). *Semiconductors: data handbook*. Berlin, Germany: Springer, p:404-418.

Ottani V, Martini D, Franchi M, Ruggeri A, Raspanti M (2002). Hierarchical structures in fibrillar collagens. *Micron.*, **33**, 587-596.

Ovung A, Bhattacharyya J (2021). Sulfonamide drugs: structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. *Biophys. Rev.*, **13**(2), 259-272.

Öztürk A (2022). *Türkiye’de satışa sunulan masaj yağlarında ağır metal kontaminasyonu ve mikrobiyolojik kalitenin araştırılması.* Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar/Türkiye.

Oxford JS, Öberg B (1985). *Conquest of viral diseases: a topical review of drugs and vaccines.* Boston, USA: Elsevier Press, p:142-159.

Pacyna EG, Pacyna JM, Steenhuisen F, Wilson S (2006). Global anthropogenic mercury emission inventory for 2000. *Atmos. Environ.*, **40**(22), 4048-4063.

Pareek A, Rani P, Kishore D (2013). A short review on: Sulphonamides. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.*, **4**(1), 812-820.

Parisi JR, Fernandes KR, Avanzi IR, Dorileo BP, Santana AF, Andrade AL, Gabbai-Armelin PR, Fortulan CA, Trichês ES, Granito RN, Renno ACM (2019). Incorporation of Collagen from Marine Sponges (Spongin) into Hydroxyapatite Samples: Characterization and In Vitro Biological Evaluation. *Mar Biotechnol.*, **21**, 30-37.

Park J (2007). *Biomaterials: An Introduction.* 3rd Edition. Berlin, Germany: Springer, p:150-167.

Patino MG, Neiders ME, Andreana S, Noble B, Cohen RE (2002). Collagen: an overview. *Implant Dent.*, **11** (3), 280-285.

Peng FJ, Ying GG, Liu YS, Su HC, He LY (2015). Joint antibacterial activity of soil-adsorbed antibiotics trimethoprim and sulfamethazine. *Sci. Total. Environ.*, **506-507**, 58-65.

Perry HM Jr, Thind GS, Perry EF (1976). The biology of cadmium. *Med. Clin. North. Am.*, **60** (4), 759-769.

Peryea FJ (1998). Historical use of lead arsenate insecticides, resulting in soil contamination and implications for soil remediation. 16th World Congress of Soil Science. Montpellier, France. Archived from the original on 7 December 2008.

Phillips I, Casewell M, Cox T, De Groot B, Friis C, Jones R, Nightingale C, Preston R, Waddell J (2004). Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J. Antimicrob. Chemother.*, **53**, 28-52.

Pimple KD, Pedroni JA, Berdon V (2002). *Syphilis in history.* Poynter Center for the Study of Ethics and American Institutions at Indiana University-Bloomington.

Pla RP, Martin C, Odriozola J, Armengol R, Triginer J (1976). Immuno-allergic hemolytic anemia connected with streptomycin. *Rev. Fr. Transfus. Immunohematol.*, **19** (2), 379-382.

Plum L, Rink L, Haase H (2010). The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. *Int. J. Environ. Res. Public. Health.*, **7** (4), 1342-1365.

Plumb DC (2002). *Veterinary Drug Handbook*, 4th Edition, Ames, USA: Iowa State Press, p:166-169.

Porter R (1999). *The Greatest Benefit to Mankind*. Waukegan, IL, USA: Fontana Press, p:52-89.

Pourjavadi A, Kurdtabar M (2007). Collagen-based highly porous hydrogel without any porogen: Synthesis and characteristics. *Eur. Polym. J.*, **43**, 877-889.

Pourret O, Bollinger JC, Hursthouse A (2021). Heavy metal: a misused term? *Acta Geochemica.*, **40** (3), 466-471.

Prakash A, Bharti K, Majeed AB (2015). Zinc: indications in brain disorders. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, **29** (2), 131-149.

Prasad AS (2008). Zinc in Human Health: Effect of Zinc on Immune Cells. *Mol. Med.*, **14** (5-6), 353-357.

Pukrittayakamee S, Chantira A, Vanijanonta S, Clemens R, Looareesuwan S (2004). Therapeutic responses to quinine and clindamycin in multidrug-resistant falciparum malaria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**, 2395-2398.

Radha Mothilal SKK, Thamaraichelvan AE (2016). Synthesis, characterization and biological studies of sulfadiazine drug based transition metal complexes. *J. Chem. Pharm. Res.*, **8** (8), 202-211.

Rahman MA (2019). Collagen of Extracellular Matrix from Marine Invertebrates and Its Medical Applications. *Mar. Drugs*. **17**, 118. doi: 10.3390/md17020118.

Rama A, Lucatello L, Benetti C, Galina G, Bajraktari D (2017). Assessment of antibacterial drug residues in milk for consumption in Kosovo. *J. Food. Drug. Anal.*, **25**(3), 525-532.

Riesbeck K, Bredberg A, Forsgren A (1990). Ciprofloxacin does not inhibit mitochondrial functions but other antibiotics do. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **34**, 167-169.

Rieuwerts J (2015). *The Elements of Environmental Pollution*. London, UK: Routledge, p:145-286.

Rink L, Gabriel P (2000). Zinc and the immune system. *Proc. Nutr. Soc.*, **59** (4), 541-552.

Robertson LP, Moodie LWK, Holland DC, Jandér KC, Göransson U (2020). Sulfadiazine masquerading as a natural product from scilla madeirensis (Scilloideae). *J. Nat. Prod.*, **83 (4)**, 1305–1308.

Rogalski W (1985). *Chemical modification of the tetracyclines*. In: Hlavka J J, Boothe J H, editors. Handbook of experimental pharmacology. Vol. 78. Berlin, Germany: Springer-Verlag KG; pp. 179–316.

Rolof (1795). "Wichtige Nachricht für Aerzte und Apoteker – Entdeckung eines Arsenikgehalts in der Zinkblume und des Zinkvitriols in Tartarus vitriolis". *Journal des practischen Arzneykunde und Wundarzneykunst (Hufelands Journal)* (2 Februar Stück): **110**.

Ronald B, Chasteen TG (2002). Arsenic Curiosa and Humanity. *Chem. Educator.*, **7 (2)**, 51-60.

Ryu MS, Aydemir TB (2020). *Zinc. Present Knowledge in Nutrition*. 11th Edition, Marriott BP, Birt DF, Stallings VA, Yates AA. (Eds), Cambridge, Massachusetts: Wiley-Blackwell, p:393-408.

Sadowska M, Kolodziejska I, Niecikowska C (2003). Isolation of collagen from the skins of Baltic cod (*Gadus morhua*). *Food Chem.*, **81**, 257-262.

Salamanca E, Tsai CY, Pan YH, Lin YT, Huang HM, Teng NC, Lin CT, Feng SW, Chang WJ (2016). In Vitro and In Vivo Study of a Novel Porcine Collagen Membrane for Guided Bone Regeneration. *Materials(Basel)*, **9 (11)**, 949. doi: 10.3390/ma9110949.

Santana JCC, Gardim RB, Almeida PF, Borini GB, Quispe APB, Llanos SAV, Heredia JA, Zamuner S, Gamarra FMC, Farias TMB, Ho LL, Berssaneti FT (2020). Valorization of chicken feet by-product of the poultry industry: High qualities of gelatin and biofilm from extraction of collagen. *Polymers*. **12 (3)**, 529. doi: 10.3390/polym12030529.

Saxena S (2015). *Microbes in Production of Fine Chemicals (Antibiotics, Drugs, Vitamins, and Amino Acids)*. Applied Microbiology. India: Springer India, p: 83-120.

Schatz A (1993). The true story of the discovery of streptomycin. *Actinomycetes*, **6 (2)**, 27-39.

Schmidt MM, Dornelles RCP, Mello RO, Kubota EH, Mazutti MA, Kempka AP, Demiate IM (2016). Collagen extraction process. *Int. Food. Res. J.*, **23**, 913-922.

Schnappinger D, Hillen W (1996). Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Arch. Microbiol.*, **165**, 359-369.

Scoulllos MJ, Vonkeman GH, Thornton I, Makuch Z (2001). *Mercury-Cadmium-Lead: Handbook for Sustainable Heavy Metals Policy and Regulation*. Berlin, Germany: Springer, p:23-78.

Scully C, Bagan JV, Black M, Carrozzo M, Eisen D, Escudier M, Farthing P, Kuffer R, Lo Muzio L, Mignogna M, Porter SR (2005). Epithelial biology. *Oral Dis.*, **11**, 58-71.

Seneca H (2015). Long-Acting Sulfonamides in Urinary Tract Infections. *JAMA*, **198 (9)**, 975-980.

Seth P, Bhattacharya A, Agarwal S, Tripathi RM, Thahriani A, Gianchandani P (2018). Collagen: A review article. *Pharma Innovation.*, **7 (9)**, 203-207.

Seydel JK (1968). Sulfonamides, structure-activity relationship, and mode of action. *J. Pharm. Sci.*, **57**, 1455-1478.

Shah TJ, Moshirfar M, Hoopes PC (2018). Doctor, I have a Sulfa Allergy: Clarifying the myths of cross-reactivity. *Ophthalmol Therapy.*, **7 (2)**, 211–215.

Shambaugh GE (1966). History of sulphonamides. *Arch Otolaryngol.*, **83**, 1-2.

Sharma D, Cukras AR, Rogers EJ, Southworth DR, Green R (2007). Mutational analysis of S12 protein and implications for the accuracy of decoding by the ribosome. *J. Mol. Biol.*, **374**, 1065-1076.

Sibilla S, Godfrey M, Brewer S, Budh-Raja A, Genovese L (2015). An overview of the beneficial effects of hydrolysed collagen as a nutraceutical on skin properties: scientific background and clinical studies. *Open Nutraceutical J.*, **8**, 29-42.

Silva TH, Moreira-Silva J, Marques ALP, Domingues A, Bayon Y, Reis RL (2014). Marine Origin Collagens and Its Potential Applications. *Mar. Drugs.*, **12**, 5881-5901.

Silvipriya K, Krishna K, Bhat A, Dinesh K, Anish J, Panayappan I (2015). Collagen: animal sources and biomedical applications. *J. App. Pharm. Sci.*, **5**, 123-127.

Simons EN (1968). *Guide to Uncommon Metals*. London, UK: Frederick Muller, p:111-129.

Sionkowska A, Adamiak K, Musial K, Gadomska M (2020). Collagen Based Materials in Cosmetic Applications: A Review. *Materials*. **13**, 2417. doi: 10.3390/ma13194217.

Slam MM, Moyon NS, Gashnga PM, Mitra S (2013). Received Interaction of sulfadiazine with model water soluble proteins: a combined fluorescence spectroscopic and molecular modeling approach. *J. Fluoresc.*, **24 (2)**, 579-588. doi: 10.1007/s10895-013-1330-7.

Someya Y, Yamaguchi A, Sawai T (1995). A novel glycylicycline, 9-(N,N-dimethylglycylamido)-6-demethyl-6-deoxytetracycline, is neither transported nor recognized by the transposon Tn10-encoded metal-tetracycline/H⁺ antiporter. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39**, 247-249.

Song WK, Liu D, Sun LL, Li BF, Hou H (2019). Physicochemical and Biocompatibility Properties of Type I Collagen from the Skin of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) for Biomedical Applications. *Mar. Drugs*, **17**, 137. doi: 10.3390/md17030137.

Sonu VK, Rajkumar I, Bhattacharjee K, Joshi SR (2018). Interaction of caffeine and sulfadiazine with Lysozyme adsorbed at colloidal metal nanoparticle interface: influence on drug transport ability and antibacterial activity. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **37(2)**, 321-335.

Soratur (2002). Essentials of Dental Materials. London, UK: Jaypee Brothers Medical Publishers, p:14-48.

Spencer H, Norris C, Williams D (1994). Inhibitory effects of zinc on magnesium balance and magnesium absorption in man. *J. Am. Coll. Nutr.*, **13**, 479-484.

Spies FS, da Silva PEA, Ribeiro MO, Rossetti ML, Zaha A (2008). Identification of mutations related to streptomycin resistance in clinical isolates of mycobacterium tuberculosis and possible involvement of efflux mechanism. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **52 (8)**, 2947-2949.

Stasio EA, de Moazed D, Noller HF, Dahlberg AE (1989). Mutations in 16S ribosomal RNA disrupt antibiotic-RNA interactions. *EMBO J.*, **8 (4)**, 1213-1216.

Stephan S, Sherrat MJ, Hodson N, Shuttleworth CA, Keilty CM (2004). Expression and supramolecular assembly of recombinant $\alpha 1(\text{viii})$ and $\alpha 2(\text{viii})$ collagen homotrimers. *J. Biol. Chem.*, **279**, 21469-21477.

Stillman JM (2003). *Story of Alchemy and Early Chemistry*. Whitefish, MT: Kessinger Publishing, p:163-201.

Sugarman B (1983). Zinc and infection. *Rev. Infect. Dis.*, **5 (1)**, 137-147.

Sultan EA (2015). *Pathophysiologic mechanisms of immune-mediated drug hypersensitivity reactions to sulfonamides*. Electronic Thesis and Dissertation Repository:1-125

Supuran CT, Casini A, Scozzafava A (2003). Protease inhibitors of the sulfonamide type: anticancer, antiinflammatory, and antiviral agents. *Med. Res. Rev.*, **23 (5)**, 535-558.

Supuran CT (2017). Special issue: Sulfonamides. *Molecules.*, **22 (10)**, 1-5.

Syal K, Srinivasan A, Banerjee D (2013). Streptomycin interference in jaffe reaction -possible false positive creatinine estimation in excessive dose exposure. *Clin. Biochem.*, **46 (1-2)**, 177-179.

Tailor SM, Patel UH (2015). Synthesis, spectroscopic characterization, antimicrobial activity and crystal structure of silver and copper complexes of sulfamethazine. *J. Coord. Chem.*, **68 (13)**, 2192-2207.

Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK (2016). Extracellular matrix structure. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **97**,4-27. doi: 10.1016/j.addr.2015.11.001.

Thornton I, Rautiu R, Brush SM (2001). *Lead: The Facts*. International Lead Association. ISBN 978-0-9542496-0-1.

Thürmer K, Williams E, Reutt-Robey J (2002). Autocatalytic oxidation of lead crystallite surfaces. *Science*, **297 (5589)**, 2033-2035.

Tilles SA (2001). Practical issues in the management of hypersensitivity reactions: sulfonamides. *South Med. J.*, **94 (1-10)**, 817-824.

Tuček K, Carlsson J, Wider H (2006). Comparison of sodium and lead-cooled fast reactors regarding reactor physics aspects, severe safety and economical issues. *Nuclear Engineering and Design.*, **236 (14-16)**, 1589-1598.

Tyszka-Czochara M, Grzywacz A, Gdula-Argasińska J, Librowski T, Wiliński B, Opoka W (2014). The role of zinc in the pathogenesis and treatment of central nervous system (CNS) diseases. Implications of zinc homeostasis for proper CNS function. *Acta Pol. Pharm.*, **71(3)**, 369-377.

Ueda Y, Miyazaki M, Mashima K, Takagi S, Hara S, Kamimura H, Jimi S (2020). The effects of silver sulfadiazine on methicillin-resistant staphylococcus aureus biofilms. *Microorganisms*, **8 (10)**, 1-12.

USGS (2011). *Minerals Yearbook U.S.* Geological Survey: ZINC. Department of the Interior U.S.

Vagdevi GSHM (2018). Synthesis and in vitro antibacterial activity of novel substituted N-1, 3-benzoxazol-2yl benzene sulfonamides. *Int. J. Sci. Res.*, **7 (12)**, 715-717.

Vahidnia A, Van Der Voet GB, De Wolff FA (2007). Arsenic neurotoxicity – a review. *Hum. Exp. Toxicol.*, **26(10)**, 823-832.

Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *P. Ntl. A. Sci.*, **112**, 5649-5654.

Van den Bogert C, Kroon AM (1981). Tissue distribution and effects on mitochondrial protein synthesis of tetracyclines after prolonged continuous intravenous administration to rats. *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 1706-1709.

Vianna JF, S Bezerra K, I N Oliveira J, Albuquerque EL, Fulco UL (2019).. Binding energies of the drugs capreomycin and streptomycin in complex with tuberculosis bacterial ribosome subunits. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **21 (35)**, 19192-19200.

Waksman SA (1947). What is an antibiotic or an antibiotic substance? *Mycologia*, **39 (5)**, 565-569.

Watrous M (2020). Collagen rising in functional Food formulations. <https://www.foodbusinessnews.net/> (Erişim Tarihi 22.12.2022)

White RJ, Cooper R (2003). Silver sulphadiazine: a review of the evidence. *Clinic. Rev.*, 51-61.

Wiedemann B, Heisig A, Heisig P (2014). Uncomplicated urinary tract infections and antibiotic resistance-epidemiological and mechanistic aspects. *Antibiotics*, **3 (3)**, 341-352.

Winston EI (2012). The technological edge. *Akron Intellect. Prop. J.*, **6 (361)**, 361-382.

Winters KJ, Janney FR (2015). Sulfadiazine review of its use in treatment of children. *Am. J. Dis. Child.*, **734**, 702-712.

Wolfe AD, Hah FE (1965). Mode of Action of Chloramphenicol. Ix. Effects of Chloramphenicol Upon a Ribosomal Amino Acid Polymerization System and Its Binding to Bacterial Ribosome. *Biochim. Biophys. Acta.*, **95**, 146-155.

Woodley DT, Keene DR, Atha T, Huang Y, Lipman K, Li W, Chen M (2004). Injection of recombinant human type VII collagen restores collagen function on dystrophic epidermolysis bullosa. *Nat. Med.*, **10**, 693- 695.

WHO (2018). Lead poisoning and health. <https://www.who.int/> (Erişim tarihi 28 Eylül 2022)

Xie Z, Liu Q, Chang Z, Zhang X (2013). The developments and challenges of cerium half-cell in zinc–cerium redox flow battery for energy storage. *Electrochimica Acta.*, **90**, 695–704.

Xu X, Gan Q, Clough RC, Pappu KM, Howard JA, Baez JA, Wang K (2011). Hydroxylation of recombinant human collagen type I alpha 1 in transgenic maize co-expressed with a recombinant human prolyl 4-hydroxylase. *BMC Biotechnol.* **11**, 69,doi: 10.1186/1472-6750-11-69.

Xu L, Zhang F, Tang M, Wang Y, Dong J, Ying J, Chen Y, Hu B, Li C, Liu L (2020). Melatonin confers cadmium tolerance by modulating critical heavy metal chelators and transporters in radish plants. *J. Pineal Res.* **69** (1), e12659.doi:10.1111/jpi.12659.

Yokel RA (2006). Blood-brain barrier flux of aluminum, manganese, iron and other metals suspected to contribute to metal-induced neurodegeneration. *J Alzheimers Dis.*, **10**(2–3), 223–253.

Yousef F, Mansour O, Herballi J (2018). Sulfonamides: historical discovery development (Structure-activity relationship notes). *Iij.*, **1** (1), 1-15.

Zawodniak A, Lochmatter P, Beeler A, Pichler WJ (2010). Cross-reactivity in drug hypersensitivity reactions to sulfasalazine and sulfamethoxazole. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **153** (2), 152-156.

Zhang D, Wu X, Chen J, Lin K (2018). The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration. *Bioact Mater.*, **3**, 129-138.

Zhang XG (1996). *Corrosion and Electrochemistry of Zinc*. Berlin, Germany: Springer, p:93-95.

Zhang Y, Olsen K, Grossi A, Otte J (2013). Effect of pretreatment on enzymatic hydrolysis of bovine collagen and formation of ACE-inhibitory peptides. *Food Chem.*, **141**, 2343-2354.

Zhu M, Burman WJ, Jaresko GS, Berning SE, Jelliffe RW (2001). Peloquin CA. Population pharmacokinetics of intravenous and intramuscular streptomycin in patients with tuberculosis. *Pharmacotherapy*, **21** (9), 1037-1045.

Zhu L, Xie Y, Wen B, Ye M, Liu Y, Imam KM, Cai H, Zhang C, Wang F, Xin F (2020). Porcine bone collagen peptides promote osteoblast proliferation and differentiation by activating the PI3K/Akt signaling pathway. *J. Funct. Foods*, **64**, 103697.

