



BİLİMSEL GÖRÜŞ

Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri İzleme Programı Sonuçları ve Halk Sağlığı Açısından Riski Hakkında Bilimsel Görüş¹

Bulaşanlar Komisyonu

ÖZET

Pirolizidin alkaloid (PA) grubu bileşikler bazı bitkiler tarafından sentezlenen toksik etkili sekonder metabolitlerdir. Bu nedenle, PA'ların baharat, çay, bitkisel çay, takviye edici gıda ve bal gibi ürünlerde varlığının tespit edilmesi ve bunlardan kaynaklanan insan sağlığı risklerinin belirlenmesi önemlidir. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarda, PA'ların, ülkemizin önemli bir ihracat kalemi olan kekik ürününde sıklıkla ve yüksek seviyelerde tespit edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada, ülkemizde yetiştirilen ve piyasada bulunan kuru kekiklerdeki PA'lerden kaynaklanan maruz kalma miktarının belirlenmesi amacıyla izleme programı yürütülmüş ve risk değerlendirmesi yapılmıştır. PA'lar için *sağlık bazlı kılavuz değer* belirlenmemiş olup maruz kalma değerlendirmelerinde genotoksik karsinojen kimyasallar için uygulanan *maruz kalma sınırı* (MOE) yaklaşımı kullanılmıştır. MOE hesaplamasında, referans değer olarak, EFSA tarafından da kullanılan 237 µg/kg v.a./gün BMDL₁₀ (%10'luk kıyaslama dozu düşük güven sınırı) değeri dikkate alınmıştır. Bu çalışmada, 57 paketli, 35 dökme numune olmak üzere toplam 92 kuru kekik numunesi LC-MS/MS ile analiz edilmiştir. Numunelerin 84'ünde (%91,3) en az bir adet PA'ya rastlanmıştır. Toplam PA miktarları alt sınırdaki 4,5-7.386,5 µg/kg, üst sınırdaki ise 67-7.444 µg/kg arasındadır. En sık tespit edilen PA'lar europine-N-oxide (%83,7), europine (%68,5) ve lasiocarpine-N-oxide (%54,3)'dir. Paketli numunelerin %49,2'sinde, dökme numunelerin ise %19,4'ünde, AB 1881/2006 sayılı Tüzüğünde belirlenmiş olan 1.000 µg/kg maksimum limit değerinin üzerinde PA tespit edilmiştir. Yapılan risk değerlendirmesinde; kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma miktarlarının, ortalama kişi başı tüketim miktarına (0,1 g/gün) göre tüm yaş gruplarında düşük sağlık endişesine neden olabileceği değerlendirilmiştir. Farklı yaş grupları ve tüketim senaryolarına göre sağlık endişesi riski varlığı değişiklik göstermekle birlikte özellikle yüksek tüketim miktarlarında (günde 2 ve 4 g) olası sağlık endişesi riski bulunmaktadır.

GKGM - Risk Değerlendirme Daire Başkanlığı, 2023

ANAHTAR KELİMELER

Pirolizidin alkaloidleri, PA, kekik, oregano, maruz kalma, maruz kalma sınırı.

¹ Bitki ve Bitkisel Ürünler Sınır Kontrol Daire Başkanlığı ile Gıda İşletmeleri ve Kodeks Daire Başkanlığının 24/02/2021 ve 25/02/2021 tarihli taleplerine istinaden hazırlanmış, 25/04/2023 tarihli toplantıda kabul edilmiştir.

**İÇİNDEKİLER**

ÖZET	1
İÇİNDEKİLER	2
KONUNUN GEÇMİŞİ	3
PA'ların Toksisitesi.....	5
PA'lar ile İlgili Yapılmış Çalışmalar	7
PA'larla İlgili Yasal Düzenlemeler	11
Sağlık Bazlı Kılavuz Değer.....	13
GÖREV TANIMI	15
MATERYAL VE YÖNTEM	15
1. Numune Alımı	15
2. Tüketim Verisi ve Yaş Grupları	16
3. Analiz Yöntemi ve Verilerin Değerlendirilmesi	17
4. Maruz Kalınan Miktar Hesaplaması	18
DEĞERLENDİRME.....	19
1. Analiz Sonuçları.....	19
2. Maruz Kalma Düzeyleri.....	22
3. MOE'nin Değerlendirilmesi	22
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	25
KAYNAKLAR	27
KISALTMALAR.....	32
EKLER.....	34



KONUNUN GEÇMİŞİ

Pirolizidin alkaloid (PA) grubu bileşikler bazı bitkiler tarafından sentezlenen toksik etkili sekonder metabolitlerdir. Sekonder metabolitler, bitkilerin zararlılara, hastalıklara, olumsuz çevre koşullarına karşı dayanıklılık oluşturması ve bazı yabancı otlara karşı rekabetçi etki göstermesinden dolayı bitkinin yaşamsal işlevi açısından en az primer metabolitler kadar önemlidir (Tiring vd., 2021). PA'lar oldukça yaygın doğal toksinlerdir ve PA içeren yabancı otların karıştığı bitkisel çaylar, geleneksel ilaçlar, tahıl ve tahıl ürünlerinin tüketiminin insanlarda zehirlenmelere sebep olduğu rapor edilmiştir (FEHD, 2017).

PA içeren bitkiler çok çeşitli ve yaygın olmaları nedeniyle birçok ortamda bulunabilirler. Dünyadaki tüm çiçekli bitkilerin %3'ünün veya diğer bir deyişle 6000'den fazla bitki türünün PA üretebildiği tahmin edilmektedir. PA'lar ilk olarak 18 yy.da İngiltere'de *Senecio* familyasına ait bir bitkiden (*S. jacobaea*) izole edilmiştir. 1950'lerde 27 adet PA belirlenmiş, bu sayı 1960'larda 100'e kadar yükselmiştir. 1980'lerde yaklaşık 350 bitki türünden 200 adet PA izole edilmiştir (Hartmann and Witte, 1995). Bugüne kadar 660'tan fazla PA ve bunların N-oksitleri izole edilmiştir ve izole edilen bu maddelerin %50'den fazlasının toksik olduğu bildirilmiştir (Ning vd., 2021).

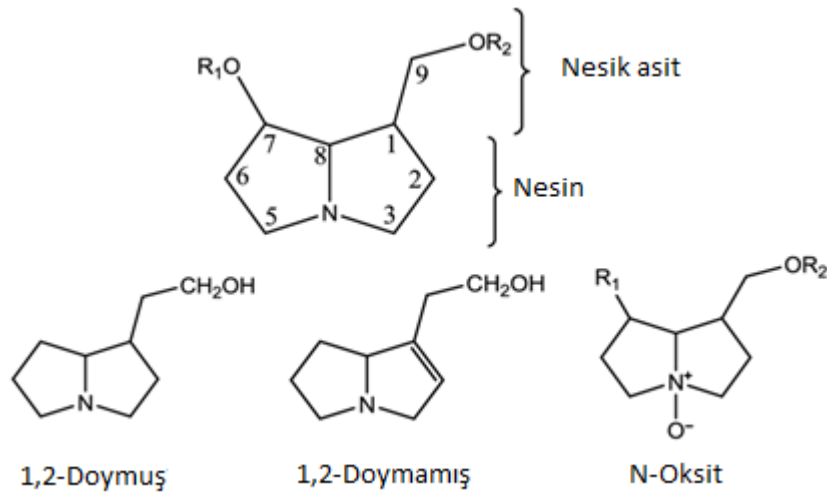
Senecio, *Crotalaria*, *Heliotropium*, *Echium*, *Trichodesma* ve *Symphytum* türleri PA içerdiği bilinen ve en sık rastlanılan bitkilerdir. Bu bitki türlerinin çoğu ülkemizde de yaygın bir şekilde yetişmekte ve her bölgede geniş bir dağılım göstermektedir. Özellikle *Echium vulgare* ve *Echium plantagineum* arıcılık sektöründe önemli nektar kaynakları arasında yer alır. Ülkemizde *Echium vulgare* daha çok Marmara ve Karadeniz Bölgesinde bulunur. *Echium plantagineum* ise genellikle Akdeniz Bölgesinde yer alır. PA bileşikleri içeren diğer tür ise Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesi ile İç Anadolu Bölgesinde bulunan *Borago officinalis*'tir (Soylu, 2016).

Bitkilerin PA içerikleri çok sayıda faktöre (tür, bitkinin organı, hasat, depolama, ekstraksiyon prosedürleri) bağlıdır. Bitkilerde bulunabilecek PA miktarları iz düzeyden kuru madde bazında %19 düzeylerine kadar değişim gösterebilmektedir (EFSA, 2011). PA'lar bitkinin türüne bağlı olarak bitkinin köklerinde, sürgünlerinde veya her iki bölgede sentezlenebilmektedir (Hartmann ve Witte, 1995).

PA'lar gıda zincirine çeşitli şekillerde girebilir. Gıda maddesi olarak tüketilen bitkinin kendisi PA oluşturabileceği gibi PA içeren başka bir yabancı ot hasadı sırasında PA içermeyen bitkisel gıda maddesine de karışabilir. Takviye edici gıda üretiminde kullanılan bitki/bitkiler PA oluşturan bitki ya da bitki parçalarını içerebilir. Ayrıca, PA'ların PA içeren hayvan yemlerinden hayvansal kaynaklı gıdalara geçebildiği rapor edilmiştir (Mulder, 2015; BfR, 2020). Hayvanlarda da önemli düzeyde zehirlenmelere yol açması nedeniyle, PA'ların kimyasal ve biyolojik özellikleri kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. Birçok ülkede PA içeren yemlerden kaynaklanan evcil hayvan zehirlenmeleri gözlenmiş ve at, sığır, koyun, keçi, domuz ve kümes hayvanlarını etkilediği bildirilmiştir (Rizk, 1991).

Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

PA'lar, bir amino asit olan ornitinden türemiş heterosiklik organik bileşiklerdir. Çoğu PA, hidroksillenmiş 1-metilpirolizidinlerin esterleridir (Moreira vd., 2018). PA'lar amino alkollerin çift bağlı pirol halkası ve farklı tipteki organik asitlerin esterifikasyonu ile oluşur. Çift bağlı pirol halkası "nesin", organik asit kısmı ise "nesik asit" olarak adlandırılmaktadır. PA'ların kimyasal yapısı; nesinin 1,2 pozisyonunda çift bağ bulunup bulunmamasına bağlı olarak doymuş ve doymamış olarak ikiye ayrılır. Doymuş PA'ların genellikle toksik etki göstermediği ya da düşük toksik etkili oldukları; doymamış PA'ların ise insanlarda karaciğer üzerine toksik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Ning vd., 2021). Saf alkaloidlerin bazıları sakızimsı veya amorf katı yapıdayken, çoğunluğu katı kristal yapıdadır. Bazıları suda az çözünür, fakat asit ile nötralize edildiklerinde tamamı çözünür (WHO-IPCS, 1989). PA'ların biyosentezi bitki köklerinde oluşursa N-oksitler (PANO'lar) meydana gelir. Kolayca suda çözünebilir formda olan PANO'lar, bitkinin hava ile temas eden kısımlarına taşınarak buralarda boşluk kısımlarında depo edilirler (Roeder ve Wiedenfeld, 2011). Nesin, nesik asit, doymuş ve doymamış PA'lar ile PANO'ların genel kimyasal yapıları aşağıdaki gibidir (Şekil 1).



Şekil 1. Nesin, nesik asit, doymuş ve doymamış PA'lar ile PANO'ların genel kimyasal yapıları

Nesin bazlarının ve nesik asitlerin kombinasyonlarına ve bağlanma şekillerine göre PA'lar 5 farklı gruba ayrılırlar:

- Senecionine benzeri PA'lar (100'den fazla yapı)
- Triangularine-tip PA'lar (50'den fazla yapı)
- Lycopsamine-benzeri PA'lar
- Monocrotaline-tip PA'lar (30'dan fazla yapı)
- Phalaenopsine ve ipanguline-tip PA'lar (Schramm vd., 2019).



PA'ların Toksisitesi

PA'ları içeren bitkisel çay ve bitkisel ilaçların tüketiminin insanlarda farklı düzeylerde zehirlenme vakalarına yol açtığı bilinmektedir.

PA'ların toksisitesinin, pirolizidin halkasının 1,2 pozisyonundaki bağından kaynaklandığı belirtilmiştir. 1,2-doymamış PA'ların toksisiteye sebep olmadığı, ancak metabolik aktivasyon sonrası toksik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Fu vd., 2007; Gao vd., 2015). Hayvan çalışmalarında 1,2-doymamış PA'ların genotoksik etki, karsinojenik etki ve gelişimsel toksik etki ile karaciğer ve akciğer toksisitesine sebep oldukları gösterilmiştir (EFSA, 2011).

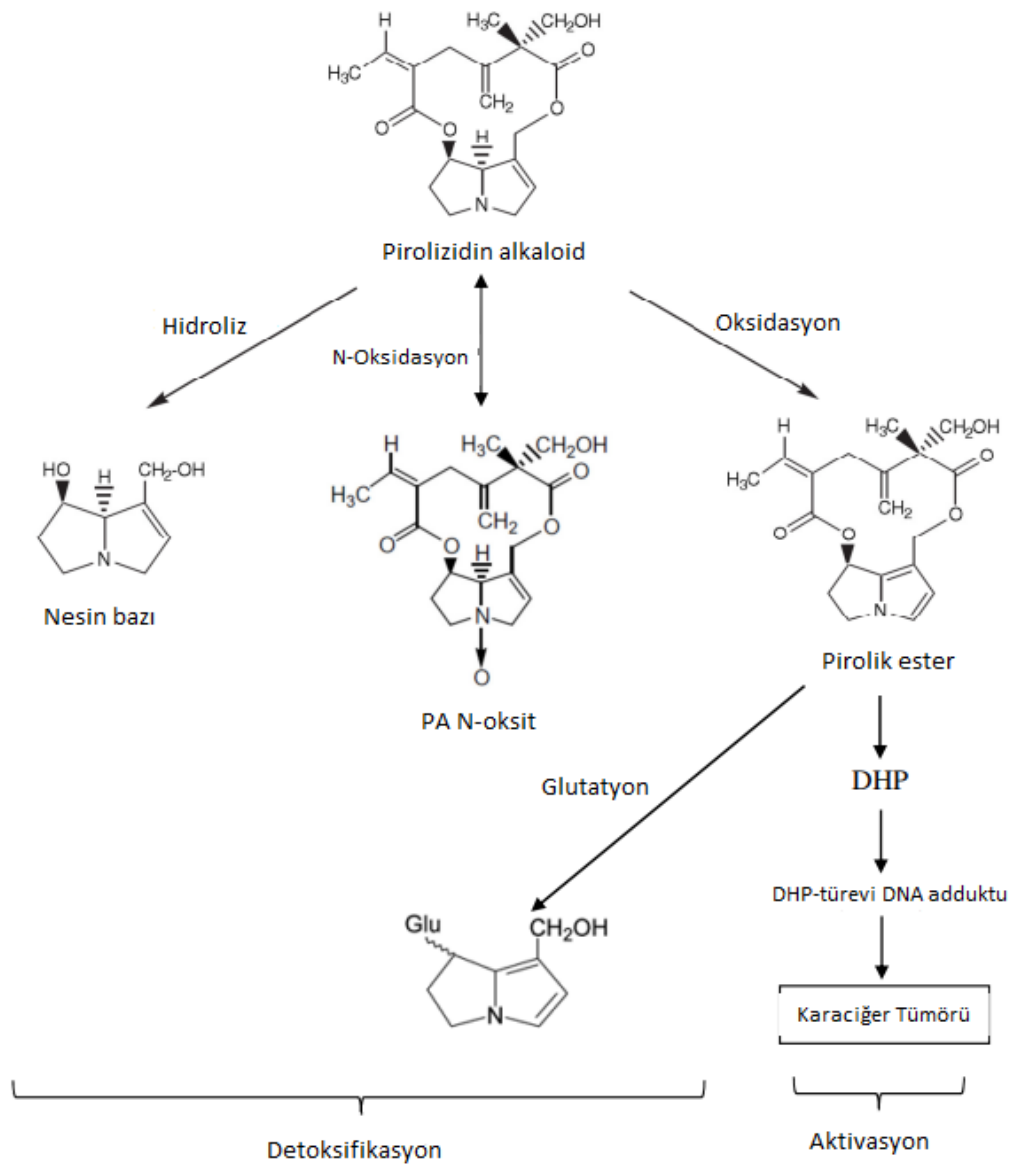
PA'ların Toksikokinetik Özellikleri

Beslenme yoluyla maruz kalmada, PA'lar gastrointestinal sistem boyunca hızla emilir ve biyotransformasyon reaksiyonlarının gerçekleştiği karaciğere ulaşır. PA'ların böbrek ve akciğer gibi diğer organlara dağılımı da bildirilmiştir. PA'lar ve bunların N-oksitleri doğada oldukça hidrofildir ve bir gün içinde idrarla değişmeden atılır (ANZFA, 2001). Çalışmalarda PA'ların karaciğerde üç ana metabolik yol ile detoksifikasyona veya biyoaktivasyona uğrayabileceği gösterilmiştir (EFSA, 2011; Wiedenfeld, 2011; Edgar, 2011; Edgar, 2015) (Şekil 2). Bunlar aşağıda özetlenmiştir:

PA'ların ester grubunun hidrolizi ile nesin bazları ve nesik asitlerin oluşumu: Nesin bazları ve nesik asitler toksik olmayan ürünlerdir ve sudaki çözünürlüklerinin fazla olması sebebiyle idrarla kolayca atılabilir. Bu nedenle, bu bir detoksifikasyon yolu olarak kabul edilir. PA'ların nesik asit türevleri ne kadar fazla dallanmışsa ester gruplarının hidrolizinin de o kadar zor olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, daha karmaşık asit gruplarına sahip makrosiklik diesterlerin, daha düşük hidrolitik detoksifikasyon oranları nedeniyle toksisitelerinin daha fazla olduğu bildirilmektedir. Makrosiklik PA'ların toksisitesinin, diester PA'lardan; diester PA'ların toksisitesinin de monoester PA'lardan daha fazla olduğu bildirilmiştir (Dreger, 2009).

PA'ların (heliotridin tipi ve retronesin tipi) karşılık gelen N-oksitlerine oksidasyonu: Yüklü moleküller olan N-oksitler suda yüksek oranda çözünür ve idrarla hızla atılırlar. Bu nedenle, karşılık gelen PA'larından N-oksit oluşumu da bir detoksifikasyon yolu olarak kabul edilir.

PA'ların reaktif dehidropirolizidin ester metabolitlerine (pirrolük ester) oksidasyonu: Pirolik esterlerin hidrolizi ile 6,7-dihidropirolizin (DHP) oluşur. Bu pirolük ester metabolitleri ve DHP DNA molekülüne hızlı bir şekilde bağlanabilir ve DNA adduktlarının, DNA-DNA çapraz bağları veya DNA-protein çapraz bağlarının oluşumuna yol açar. DNA adduktlarının proteinlere bağlanması sonucu hücre fonksiyonları bozulabilir, hücre hasarına ve ölümüne neden olabilir. DNA yapısında meydana değişiklikler de karsinogenezi başlatabilir. Aynı zamanda pirolük esterler, glutasyon ile konjuge edilerek detoksifiye edilebilir.



Şekil 2. PA'ların biyotransformasyonu (FEHD, 2017)

PA'ların Toksik Etkileri

İnsanda akut toksik etkiler için hedef organ karaciğerdir. PA'ya yüksek miktarlarda maruz kalınması sonucunda, hepatomegali, karın bölgesinde inflamasyon ve birçok vakada siroza kadar ilerleyen bir tablo ile karakterize akut veno-okluzif hastalık olarak tanımlanan durum ortaya çıkar (EFSA, 2011). PA'lara subakut veya kronik olarak daha düşük seviyelerde maruz kalınması sonucu, karaciğer, akciğerler ve kan damarları üzerine toksik etkilerin görüldüğü bildirilmiştir. Kronik maruz kalma karaciğerde hücre büyümesine (megalositoz) ve fibrozise yol açabilir, bu da karaciğer sirozu ile sonuçlanabilir (WHO-IPCS, 1988).



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

PA'ların genotoksisitesi, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. 1,2-doymamış PA'ların farklı yapısal grupları (retronesin, heliotridin ve otonesin) metabolik aktivasyona uğrar ve reaktif pirolik ara ürünler (pirolik esterler veya DHP) ve dolayısıyla genotoksik karsinojenik mekanizmalar ile ilişkili olabilecek DNA adduktlarının oluşmasına sebep olur (EFSA, 2011). Çeşitli PA'lar ve türevlerinin metabolik aktivasyondan sonra çeşitli hücre kültür sistemlerinde mutasyonlar, kardeş kromatit değişimleri, kromozom aberasyonları gibi genotoksik etkilere sebep olduğu gösterilmiştir (Kraus vd., 1985; Fu vd., 2004; Mei vd., 2010). Bazı PA'ların farelerde kemik iliğindeki eritrositlerde ve fetal karaciğerde mikronükleus oluşumunu indüklediği bildirilmiştir (WHO-IPCS, 1988).

Deney hayvanlarında 1,2-doymamış PA'ların karsinojenik etkisi için hedef bölge karaciğer olmakla birlikte, diğer birçok dokuda (akciğer, böbrek, deri, mesane, beyin ve omurilik, pankreas adacıkları ve adrenal bez) da tümörlerin geliştiği rapor edilmiştir (Chen vd., 2010). Bununla birlikte, epidemiyolojik çalışmalarda insanlarda PA'ya maruz kalma ve kanser arasında bir bağlantı olduğunu düşündüren bir veriye rastlanmamıştır (EFSA, 2011).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından lasiocarpine, monocrotaline ve riddelliine Grup 2B (olası insan karsinojeni), isatidine, retrorsine, senkirkine, hidroxysenkirkine, jakobine, seneciphylline ve symphytine Grup 3 (insandaki karsinojenik etkileri yönünden sınıflandırılabilir olmayanlar) olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 1987; 2002; 2022).

Literatürde gebe kadınların bitkisel çaylar veya bitkisel ilaçlardaki PA'lara maruz kalmasının yeni doğanlarda ölümcül veno-okluzif hastalığa neden olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Rasenack, 2003). Sıçanlarda da PA'ların plasentayı geçtiği ve yavruların erken doğumunu veya ölümünü indüklediği, teratojenik ve fetotoksik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. PA'ların anne sütü yolu ile bebeğe de geçtiği bilinmektedir (WHO-IPCS, 1988). 2011 yılında Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (The European Food Safety Authority, EFSA), deney hayvanlarında parenteral uygulamayı takiben PA'ların gelişimsel toksisiteye sebep olduğu ve bunun maternal toksisite ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesinin mümkün olmadığı sonucuna varmıştır (EFSA, 2011).

PA'lar ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

EFSA tarafından oluşturulan, PA'lar hakkındaki ilk bilimsel görüş, hayvan yemleriyle alakalı olarak 2007 yılında yayımlanmıştır (EFSA, 2007). Bilimsel görüşte, hayvanların PA'lara maruz kalması, PA içeren bitkilerin yemlerle birlikte doğrudan tüketilmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir. Ayrıca, hayvancılık için en yüksek riskin, *Senecio*, *Heliotropium*, *Trichodesma* ve *Symphytum* türleri ile belirli coğrafi bölgelerde *Echium* spp.'nin hayvanlar tarafından tüketilmesi ile ilişkili görüldüğü belirtilmiştir. Hayvanlar çoğunlukla zehirli bitkileri tanıyıp onlardan kaçındığı için PA içeren bitkilerden de uzak durduğu ve eğer başka besleme alternatifleri yoksa ancak onları tüketebildiği belirtilmiştir. Görüşte, ayrıca, yenilebilir dokuya PA'ların taşınmasına ilişkin deneysel verilerin, PA metabolitlerinin kalıntılarının kas



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

dokusunda meydana gelmediğini, ancak PA'ların ve/veya metabolitlerinin düşük bir oranda da olsa süt ve yumurtalara aktarılmasının muhtemel olduğunu gösterdiği; balın düzenli olarak PA'larla kontamine olduğu ve süt, yumurta ve balda bulunan PA metabolit seviyelerinin, insan tüketiminde yer alan bitki ve baharatlardaki ölçülebilir seviyelerden önemli ölçüde düşük olduğuna dikkat çekilmiştir.

EFSA Bulaşanlar Paneli tarafından 2011 yılında yayımlanan bir diğer bilimsel görüşte, özellikle küçük çocuklar gibi fazlaca bal tüketen bireyler için muhtemel sağlık endişesi varlığı bildirilmiştir. Panel tarafından, yeterince veri bulunmadığı için bal dışındaki gıdalardan kaynaklanabilecek PA'ya maruz kalma miktarı konusunda görüş bildirilemediği eklemiştir (EFSA, 2011).

Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü (Bundesinstitut für Risikobewertung, BfR), 2013 yılında gıda ve yem numunelerinde PA'ların belirlenmesi amacıyla bir proje yürütmüştür. Proje kapsamında, 221 farklı ticari çay, bitki çayı ve bitkisel ilaç analiz edilmiştir. Elde edilen ilk sonuçlara göre, kuru bitkisel ve siyah çaylarda toplam PA miktarı 0-3,4 mg/kg olarak tespit edilmiş ve maruz kalınan miktarın esasen rezene, papatya, nane, ısırgan otu ve melisa çayından kaynaklanabileceğinin tahmin edildiği bildirilmiştir. Proje sonucunda; yüksek seviyede PA içeren ürünlerin uzun süreli tüketilmesi durumunda, özellikle çocuklarda, hamilelerde ve emziren annelerde sağlık riski oluşabileceği bildirilmiştir (BfR, 2013a).

2016 yılında, EFSA, Avrupa halkının PA'lara beslenme yoluyla maruz kalma miktarını tespit etmek amacıyla bir çalışma gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada, toplam 4.581 bitkisel kökenli gıda örneği (bal, çay ve bitki çayları) analiz edilmiştir. Çalışma sonunda, çay ve bitki çaylarının PA'lara maruz kalmaya neden olan en önemli kaynak olduğu belirtilmiştir (EFSA, 2016).

2015 yılında PA'ların gıdalarda varlığının araştırılması amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, süt ve süt ürünleri, yumurta, et ve et ürünleri, (bitkisel) çaylar ve (bitkisel) gıda takviyeleri dahil olmak üzere toplam 1.105 hayvansal ve bitkisel üründe 28 veya 35 PA varlığı analiz edilmiştir. Hayvan kaynaklı ürünlerin %2'sinde, bitkisel çayların %91'inde ve gıda takviyelerinin %60'unda bir veya daha fazla PA tespit edilmiştir. PA, on bir süt örneğinde (%6) düşük seviyelerde (0,05 ve 0,17 µg/L), sadece iki yumurta örneğinde eser miktarda (0,10-0,12 µg/kg) bulunurken diğer hayvansal ürünlerde tespit edilmemiştir. Buna karşın, incelenen tüm bitkisel çay türlerinin PA içerdiği ve bitkisel çay infüzyonunda ortalama 6,13 µg/L konsantrasyonunda (460 µg/kg kuru çaya karşılık) PA içerdiği bulunmuştur. En yüksek ortalama konsantrasyonların rooibos çayında (7,99 µg/L çay infüzyonu) ve en düşük konsantrasyonların papatyada (3,65 µg/L çay infüzyonu) bulunduğu rapor edilmiştir (Mulder vd, 2015).

Literatürde, bitkilerde PA analizine yönelik çalışmalar mevcut olup bu konu üzerine gerçekleştirilen araştırmalar gün geçtikçe hız kazanmaktadır. Örneğin, Tosun ve Tamer tarafından 2004 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada, Köprübaşı (Diyarbakır-Türkiye)'nden



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

toplanan *Heliotropium europaeum* L. (akrep otu) bitkisinin tohumlarından elde edilen alkaloid ekstresi gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz edilmiştir. Tohumlarda toplam pirolizidin alkaloidi miktarı %0,28, tersiyer bazların miktarı ise %0,02 olarak tespit edilmiştir. Toplam alkaloid miktarının %93'ünü N-oksitleri oluşturmaktadır. Toplam alkaloid ve tersiyer baz fraksiyonlarındaki alkaloidler europine, heliotrine, supinine, heleurine, lasiocarpine ve 7-angelylheliotrine olarak belirlenmiştir (Tosun ve Tamer, 2004).

Bir başka çalışmada, Adana ve İzmir-Bornova bölgelerinden toplanan *Cuscuta campestris* bitkisinin (ana vatanı Amerika olan ve dünyada birçok bölgede geniş yayılış gösteren istilacı bir bitki) tohumlarının PA analizi "BfR 2.0/2014" metoduna göre QSI – Bremen laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Adana'dan toplanan bitki tohumlarında toplam miktarı 513.712 µg/kg olan 6 farklı PA (heliotrine, heliotrine N-oxide, europine, europine N-oxide, lasiocarpine, lasiocarpine N-oxide) tespit edilmiştir. Diğer taraftan, İzmir Bornova bölgesinden toplanan *Cuscuta campestris* bitki tohumlarında ise toplam miktarı 491 µg/kg olan 3 farklı PA (heliotrine-N-oxide, europine-N-oxide ve lasiocarpine-N-oxide) tespit edilmiştir (Nemli vd., 2015).

Denizli'de kekik üretimi yapan farklı işletmelerden alınan işlenmiş, paketlenmiş 3 kekik örneği ile Denizli ilinin farklı bölgelerine ait işlenmemiş 8 kekik örneği olmak üzere toplam 11 örneğin analiz edildiği bir çalışmada, numunelerde PA ve PANO bileşiklerinin analizi sıvı kromatografisi/kütle spektrometresi (LC-MS Q-TOF) cihazı ile yapılmıştır. Analize alınan numunelerden işlenmiş bir numunede, europine ve europine N-oksit toplamı 280±22 µg/kg olarak tayin edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre; kekik numunelerindeki PA değeri, AB'nin 1881/2006 sayılı Tüzüğünde belirtilen PA limit değerinin (1000 µg/kg) altında saptanmıştır (Korkmaz ve Küplülü, 2022).

Valese ve arkadaşları (2016), ballarda PA tayinine yönelik hızlı ve kolay uygulanabilir LC-MS/MS metodu geliştirmişlerdir. Araştırmacılar, çalışmalarında geliştirdikleri metodu, Brezilya'da ticari olarak satılan 82 bal numunesinde 8 farklı PA'nın (senecionine, senecionine-N-oxide, echimidine, intermedine, lycopsamine, retrorsine, monocrotaline ve retrorsine-N-oxide) analizi için uygulamışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre, numunelerin %99,1'inde en az 3 farklı PA tespit edilmiştir. Tespit sınırı (LOD) ve ölçüm sınırı (LOQ) değerleri sırayla 0,1-1,0 mg/kg ve 0,2-1,5 mg/kg olarak bulunmuştur.

Onduso ve arkadaşları (2017) tarafından literatüre rapor edilen bir çalışmada, *Symphytum asperum* (kaba karakafes) bitkisinde PA miktarı araştırılmıştır. Çalışmada Kenya'da 6 farklı bölgede Nisan ve Eylül aylarında toplanan 24 adet numunenin kök ve yapraklarının PA içeriği GC-MS ile analiz edilmiştir. Bütün numunelerin köklerinde en toksik PA'lardan biri olan echimidine tespit edilmiştir. Numunelerin köklerinde tespit edilen diğer 4 PA ise 7-acetyllycopsamine, 3-acetyllycopsamine, triangularine ve heliosupinedir. PA miktarları yaklaşık 3,5-7,0 mg/kg aralığında belirlenmiştir. Analiz edilen numunelerin yapraklarında ise tayin edilebilir düzeyde PA'ya rastlanmamıştır.



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

Başka bir çalışmada, Kuzey Amerika'da yetişen bitkilerde ve üretilen ballarda PA analizi gerçekleştirilmiştir. British Columbia bölgesinden toplanan *Symphytum officinale* (karakafes otu) bitkisinin köklerinde, tansy (*Tanacetum vulgare*) (solucan otu) bitkisinin çiçeklerinde, blueweed (*Echium vulgare*) (engerek otu) bitkisinin çiçeklerinde, Hound's tongue (*Cynoglossum officinale*) (köpek dili) bitkisinin çiçeklerinde ve yapraklarında 5 farklı PA (senecionine, senecionine-N-oxide, echimidine, lycopsamine ve heliosupine) LC-MS ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, numunelerdeki PA içeriğinin 1,0- 307,8 µg/g aralığında değiştiğini göstermiştir. Diğer taraftan, analiz edilen 2 bal numunesinde senecionine ve heliosupine tespit edilmiştir. Bal numunelerinde toplam PA miktarı ise 2,4 µg/kg ve 2,7 µg/kg olarak belirlenmiştir (Mudge vd., 2015).

PA'ların gıda yoluyla akut ve kronik maruz kalmadan kaynaklanan olası sağlık riskleri, otoriteler tarafından değerlendirilmiş ve özellikle düşük seviyeli kronik maruz kalmaların risklerinin değerlendirilmesinde farklı yaklaşımlar tartışılmıştır. PA'lara maruz kalmayla ilgili özellikle çay, bitki çayı ve bal infüzyonlarını yüksek oranda tüketiminde kronik toksisite açısından ve ayrıca PA üreten bitkileri içeren gıda takviyelerinin tüketiminde akut/kısa süreli toksisite açısından insan sağlığına yönelik olası endişeler görülmüştür.

Şimdiye kadar yayımlanan tüm risk değerlendirme raporları, 1988'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından sonuçlandırıldığı gibi PA'ların toksik etkilerinin kümülatif olduğunu dikkate almıştır (WHO-IPCS, 1988). Avustralya Yeni Zelanda Gıda Otoritesi (ANZFA; yeni adıyla FSANZ) 2001 yılında, insanlardaki hepatik veno-okluzif hastalık vakalarına ilişkin mevcut verilerden, geçici *Etki Gözlenmeyen Düzey* (NOEL) değerini 10 µg/kg vücut ağırlığı (v.a.)/gün olarak belirlemiştir. *Belirsizlik faktörü* (UF) olarak 10 kullanılarak, *Geçici Tolere Edilebilir Günlük Alım* (PTDI) Düzeyi 1 µg/kg v.a./gün olarak belirlenmiştir (ANZFA, 2001). İnsanlar için güvenli kabul edilen bu değer, diğer otoriteler tarafından belirlenen değerlerden daha yüksektir (BfR, 2016, 2013a, 2013b, 2007; COT, 2008; EFSA, 2017b, 2011; EMA, 2021; JECFA, 2015; RIVM, 2014). ANZFA insanlar için kanser risklerini dikkate almazken, diğer otoriteler lasiocarpine (NCI, 1978) veya riddelliine (NTP, 2003) ile sıçan karsinogenezite çalışmalarında insanlarda kronik risklerin değerlendirilmesiyle ilgili olarak kabul edilen pozitif sonuçlara atıfta bulunmuştur. Daha önceki yaklaşımlarda; İngiliz Gıda, Tüketici Ürünleri ve Çevrede Kimyasalların Toksisitesi Komitesi (COT), BfR ve EFSA, erkek sıçanlarda lasiocarpine ile karaciğer hemanjiyosarkomlarının indüklenmesi için yaklaşık 70 µg/kg v.a./gün değerlerinde kanser riskinin artması için BMDL₁₀ (*the lower confidence limit on the benchmark dose associated with a 10% response; %10'luk kıyaslama dozu düşük güven sınırı*) değerini (NCI, 1978), konservatif bir yaklaşım olarak, PA'ların toplamı için lasiocarpine eşit potans varsayarak *maruz kalma sınırı* (MOE) yaklaşımını uygulayarak, kronik risklerin değerlendirilmesinde referans nokta olarak belirlemiştir (EFSA, 2005). Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi (JECFA), riddelliine ile yapılan karsinogenezite çalışmasına atıfta bulunmuş ve MOE yaklaşımında bir referans noktası olarak dişi sıçanlarda karaciğer hemanjiyosarkomu için günde 182 µg/kg v.a.'lık bir BMDL₁₀ değeri elde etmiştir



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

(JECFA, 2015). EFSA, 2017 yılında risk değerlendirmesinde BMD kullanımına ilişkin yeni EFSA kılavuzuna ve yeni bir maruz kalma değerlendirmesine dayalı olarak 2011'deki risk karakterizasyonunu güncellemiştir (EFSA, 2011; EFSA, 2016; EFSA, 2017a; EFSA, 2017b).

EFSA tarafından 2017 yılında yayımlanan bu bilimsel görüşte, bal, çay, bitkisel infüzyonlar ve gıda takviyeleri dikkate alınmıştır. EFSA Bulaşanlar Paneli tarafından 2017 yılı bahar aylarında yayımlanan BMD modellemesine ilişkin EFSA kılavuzunun güncellenmesi nedeniyle doz-yanıt verilerinin güncel verilere göre yeniden şekillendirilmesi gerekli görülmüştür. Bu doğrultuda, kronik risk değerlendirme için referans nokta olarak riddelliine'e maruz kalan dişi sıçanlardaki karaciğer hemanjiyosarkom vakalarındaki artış için 237 µg/kg vücut ağırlığı (v.a.)/gün BMDL₁₀ değerini tanımlamış ve özellikle sık ve fazla miktarda çay ve bitkisel infüzyon tüketicileri için PA'lerden kaynaklanan muhtemel sağlık risklerinin var olduğu sonucunu çıkarmışlardır. Panel ayrıca, PA üreten bitkisel kaynaklı gıda takviyelerinin tüketilmesinin de ciddi akut ve kısa süreli toksisiteye yol açacak dozlara oldukça yakın maruz kalma miktarlarında gerçekleşebileceğine dikkat çekmiştir. O dönemdeki veriler ışığında, gıdalarda ve yemlerde varlığı ve seviyesi izlenecek 17 adet PA'nın listesi de Panel tarafından tanımlanmıştır. Belirlenen PA'lar şunlardır: intermedine/lycopsamine, intermedine-N-oxide/lycopsamine-N-oxide, senecionine/senecivernine, senecionine-N-oxide/senecivernine-N-oxide, seneciphylline, seneciphylline-N-oxide, retrorsine, retrorsine-N-oxide, echimidine, echimidine-N-oxide, lasiocarpine, lasiocarpine-N-oxide ve senkirkine (EFSA, 2017b).

Avrupa İlaç Ajansı (European Medicines Agency, EMA) Bitkisel Tıbbi Ürünler Komitesi (The Committee on Herbal Medicinal Products; HMPC) Temmuz 2020'de toksik doymamış PA'ları içeren bitkisel tıbbi ürünlerin kullanımına ilişkin bir kamuoyu açıklaması taslağı oluşturmuştur. Taslak, 2021 yılının Temmuz ayında HMPC tarafından kabul edilmiş ve son hali yayımlanmıştır (EMA, HMPC, 2021). Bu açıklamada; dünya çapındaki yetiştirme/toplama ve mevsime bağlı tedarik süreçleri nedeniyle, tüm kaynak tesislerinde PA kontaminasyonunun tamamen ortadan kaldırılmasının imkansız görüldüğü ve PA kontaminasyonu ile ilgili durumun ciddi olduğu vurgulanmıştır. FAO ve WHO tarafından geliştirilen Uygulama Kodunda (CoP) da PA içeren bitkilerin yönetimi için kontrol önlemlerinin yanı sıra bitki salınımı ve yayılmasının kontrolü için de önlemlerin alınması gerektiği ve böylece PA kontaminasyonunu önlemek ve azaltmak için iyi yönetim uygulamaları hakkında bilgi verilmektedir. Sonuç olarak, PA kontaminasyonunun azaltılması ve tarımsal önlemlerin alınması gerektiği belirtilmiştir (EMA, 2021).

PA'larla İlgili Yasal Düzenlemeler

Ülkemizde, bazı gıdalarda bulunabilecek bulaşanların maksimum limitleri Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği ile düzenlenmiştir. Söz konusu mevzuatla PA'lar için belirlenmiş bir limit bulunmamaktadır.

Avrupa Birliğinde ise, bazı gıdalarda bulunabilecek maksimum PA limitleri, 1881/2006 sayılı "Gıdalardaki Belirli Bulaşanların Maksimum Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

Avrupa Birliği Komisyon Tüzüğü” ile belirlenmiş ve 1 Temmuz 2022 tarihinde yürürlüğe girmiştir (Commission Regulation, 2006). Tüzük ile belirlenen maksimum PA limitleri Tablo 1’de verilmiştir. Belirlenen maksimum limitler, aşağıdaki 21 PA’nın alt sınır toplamını ifade etmektedir:

- intermedine/lycopsamine, intermedine-N-oxide/lycopsamine-N-oxide,
- senecionine/senecivernine, senecionine-N-oxide/senecivernine-N-oxide,
- seneciphylline, seneciphylline-N-oxide,
- retrorsine, retrorsine-N-oxide,
- echimidine, echimidine-N-oxide,
- lasiocarpine, lasiocarpine-N-oxide,
- senkirkine,
- europine, europine-N-oxide,
- heliotrine ve heliotrine-N-oxide

ve şu anda kullanılan belirli analitik yöntemlerden yararlanarak yukarıda tanımlanan 21 PA’nın bir veya daha fazlası ile birlikte elüe olduğu bilinen aşağıdaki ek 14 PA:

- indicine, echinatine, rinderine (lycopsamine/intermedine ile olası birlikte elüsyon)
- indicine-N-oxide, echinatine-N-oxide, rinderine-N-oxide (lycopsamine-N-oxide/intermedine-N-oxide ile olası birlikte elüsyon)
- integerrimine (senecivernine/senecionine ile olası birlikte elüsyon)
- integerrimine-N-oxide (senecivernine-N-oxide/senecionine-N-oxide ile olası birlikte elüsyon)
- heliosupine (echimidine ile olası birlikte elüsyon)
- heliosupine-N-oxide (echimidine-N-oxide ile olası birlikte elüsyon)
- spartioidine (seneciphylline ile olası birlikte elüsyon)
- spartioidine-N-oxide (seneciphylline-N-oxide ile olası birlikte elüsyon)
- usaramine (retrorsine ile olası birlikte elüsyon)
- usaramine N-oxide (retrorsine N-oxide ile olası birlikte elüsyon)

Kullanılan analiz yöntemiyle tek tek ve ayrı olarak tanımlanabilen PA’ların miktarı belirlenmeli ve toplama dahil edilmelidir.



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

Tablo 1. 1881/2006 sayılı Gıdalardaki Belirli Bulaşanların Maksimum Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Avrupa Birliği Komisyon Tüzüğü'nde yer alan maksimum PA limitleri

Gıda Maddesi		Maksimum Limit (µg/kg)
8.4.	Pirolizidin alkaloidleri	
8.4.1.	Bitki infüzyonları (kurutulmuş) (sadır 8.4.2 ve 8.4.4'te belirtilen bitki infüzyonları hariç)	200
8.4.2.	Roybos (rooibos), anason (<i>Pimpinella anisum</i>), melisa/oğul otu, papatya, kekik, bahçe nanesi, limon mine çiçeği/limon otunun bitki infüzyonları ve özellikle bu kuru bitkilerden oluşan karışımlar (sadır 8.4.4'te belirtilen bitki infüzyonları hariç): Kurutulmuş ürünlerde	400
8.4.3.	Çay (<i>Camellia sinensis</i>) ve aromalandırılmış çay (<i>Camellia sinensis</i>) (sadır 8.4.4'te belirtilen çay ve aromalandırılmış çay hariç): Kurutulmuş ürünlerde	150
8.4.4.	Bebek ve küçük çocuklara yönelik çay (<i>Camellia sinensis</i>), aromalandırılmış çay (<i>Camellia sinensis</i>) ve bitki infüzyonları: Kurutulmuş ürünlerde	75
8.4.5.	Bebek ve küçük çocuklara yönelik çay (<i>Camellia sinensis</i>), aromalandırılmış çay (<i>Camellia sinensis</i>) ve bitki infüzyonları: Sıvı ürünlerde	1,0
8.4.6.	Takviye edici gıdalar (sadır 8.4.7'de belirtilen takviye edici gıdalar hariç): Ekstraktlar dahil olmak üzere bitkisel bileşen içerenlerde	400
8.4.7.	- Polen bazlı takviye edici gıdalar - Polen ve polen ürünleri	500
8.4.8.	Hodan yaprakları: Taze veya dondurulmuş olarak son tüketici için piyasaya arz edilenlerde	750
8.4.9.	Kurutulmuş otlar (sadır 8.4.10'da belirtilen kurutulmuş otlar hariç)	400
8.4.10.	Hodan, selam otu, mercanköşk ve oregano kekikleri ve özellikle bu kurutulmuş otlardan oluşan karışımlar: Kurutulmuş ürünlerde	1000
8.4.11.	Kimyon tohumları (tohum baharat)	400

Sağlık Bazlı Kılavuz Değer

PA'lar için *sağlık bazlı kılavuz değer* belirlenmemiş olup PA'ların maruz kalma değerlendirmelerinde genotoksik karsinojen kimyasallar için kullanılan MOE yaklaşımı kullanılmaktadır. EFSA Bulaşanlar Paneli tarafından 2011 yılında oluşturulan Bilimsel Görüşte de 1,2 doymamış PA'ların toplamı için (eşit etki varsayılarak) MOE yaklaşımı kullanılmıştır.



Kekikte Prolizidin Alkaloidleri

Panel, 'lasiocarpine'nin erkek sıçanlarda karaciğerde hemanjiyosarkomu indüklediği 70 µg/kg v.a./gün BMDL₁₀ değerini kronik riskler için referans noktası olarak belirlemiştir. Buna ek olarak, insanlarda akut/kısa dönem toksisite ile ilgili bilinen en düşük PA dozu olan 2 mg/kg v.a./gün değerini akut risklerin değerlendirilmesi için seçmiştir (EFSA, 2011; EFSA, 2016).

EFSA Bulaşanlar Panelinin 2017 yılında hazırladığı bilimsel görüşte, yapılan çalışmalar sonrasında referans değer olarak riddelliine'e maruz kalan dişi sıçanlarda görülen karaciğer hemanjiyosarkomu vakaları için belirlenen 237 µg/kg v.a./gün BMDL₁₀ değeri dikkate alınmıştır (EFSA, 2017b).



GÖREV TANIMI

Bu çalışmanın amacı; ülkemizde yetiştirilen ve piyasada bulunan kekiklerdeki PA'lardan kaynaklanan maruz kalma miktarının belirlenmesi amacıyla izleme programının oluşturulması, izleme programı sonuçlarının tartışılması ve maruz kalma düzeyinin değerlendirilmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

1. Numune Alımı

“Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri İzleme Programı” kapsamında alınan numunelerin tüm ülkeyi temsil etmesi amacıyla hem paketli hem de dökme olarak satılan kuru kekikler programa dahil edilmiştir. Bu doğrultuda, ülkemizin kekik üretim miktarında önemli payı olan illerdeki üretim/paketleme yapan büyük firmalar belirlenmiş ve dökme numuneler bu işletmelerden alınmıştır. Paketli satılan ürünlerde ise markaların pazar payları dikkate alınarak ülkemiz pazarının büyük bir kısmını temsil edecek markalar izleme programına dahil edilmiştir. İzleme programı kapsamında numune alınan iller ve marka/işletmeye göre numune sayıları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Marka ve işletmelere göre numune alınan iller ve numune sayıları

Numune Alınan İller	Markalar (Paketli)*														İşletmeler (Dökme)	Toplam				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N						
Adana	2	1																3		
Ankara	4	2		1			1	1	1									10		
Antalya	2	1																4		
Aydın																		1		
Bursa	2	1																3		
Denizli																		3		
Hatay										1								1		
İstanbul	10	2	3	1	1	1	1	2	3									26		
İzmir	3	1						2	1	1		1	1	1	1			29		
Konya	2	1																3		
Manisa																		7		
Şanlıurfa	1	1																2		
Toplam	26	10	3	2	1	1	4	4	5	1	1	1	1	1				31	92	
																			61	

*Farklı sütunlarda yer alan harfler farklı kekik markalarını göstermektedir.



2. Tüketim Verisi ve Yaş Grupları

Ülkemizde yapılmış en yakın tarihli tüketim verisi çalışması olan T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Sağlıklı Beslenme ve Hareketli Hayat Dairesi Başkanlığı tarafından hazırlanan Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması-2017’de kekik tüketim verisine ilişkin bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle, sektör raporlarında yer alan bilgiler değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda, ulaşılan raporlar içinde en detaylı bilgilerin yer aldığı Tarım ve Orman Bakanlığı, Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü tarafından hazırlanmış olan Kekik Fizibilite Raporu ve Yatırımcı Rehberi’ndeki veri dikkate alınmıştır (TOB, 2020). Raporla, 2019 yılında, 1.835 ton kekiğin doğadan toplandığı, 17.965 ton üretim yapıldığı, 17.000 ton ihracat yapıldığı, 2.200 ton ithalat yapıldığı, 1.667 ton kekik kullanılarak uçucu yağ üretimi yapıldığı bilgisi verilmiştir. Bu bilgilere göre, 2019 yılında 3.333 ton kekik yurt içinde gıda olarak tüketilmiştir. Söz konusu yıla ait kişi başı kekik tüketim miktarı, bu değer o yılın Türkiye nüfusuna (TÜİK verisi; 83.154.997) bölünerek yaklaşık 0,1 g/gün olarak hesaplanmıştır.

Bununla birlikte, ilgili ürünü farklı oranda tüketen bireylerin de PA’lara maruz kalma miktarlarını belirlemek amacıyla farklı tüketim senaryoları kullanılmıştır. Bu amaçla, 2019 yılı kişi başı tüketim verisi ve günlük 1 çay kaşığı kuru kekik (yaklaşık 0,9 g/gün) tüketimi temel alınarak günde 0,2 g, 0,5 g, 1 g, 2 g ve 4 g tüketim düzeyi senaryoları göz önüne alınmıştır. Hesaplamalarda kullanılan tüm kişi başı tüketim miktarları Tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan kişi başı tüketim miktarları

	Kişi Başı Tüketim Miktarı (g/gün)
TOB Raporuna göre	0,1
Senaryo 1	0,2
Senaryo 2	0,5
Senaryo 3	0,9
Senaryo 4	1,0
Senaryo 5	2,0
Senaryo 6	4,0

Farklı ülkelerdeki kekik tüketim miktarları araştırıldığında çok fazla ülkeye ait veriye ulaşılamamıştır. Avrupa Birliği üyesi ülkelerde ise, EFSA Kapsamlı Avrupa Gıda Tüketimi Veritabanına (The EFSA Comprehensive European Food Consumption Database) göre en yüksek tüketim miktarının ergenler için 0,09 g/gün, yetişkinler için ise 0,07 g/gün (Güney Kıbrıs Rum Kesimi 2014 yılı verisi) olduğu görülmüştür.



Bu çalışmada, maruz kalma hesaplamaları yapılırken farklı yaş grupları dikkate alınmıştır. Hesaplama yapılan yaş grupları ve bu yaş grupları için dikkate alınan vücut ağırlıkları Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 4. Maruz kalma değerlendirmesinde kullanılan yaş grupları ve vücut ağırlıkları

Yaş Grubu	Vücut Ağırlığı (kg)	Kaynak
Çocuklar (4-5 yaş)	16,2	Sağlık Bakanlığı, 2014
Çocuklar (6-14 yaş)	35,3	Sağlık Bakanlığı, 2014
Ergenler (15-18 yaş)	62,3	Sağlık Bakanlığı, 2019
Yetişkinler (19-64 yaş)	77,2	Sağlık Bakanlığı, 2019
Yaşlılar (65-74 yaş)	79,0	Sağlık Bakanlığı, 2019

3. Analiz Yöntemi ve Verilerin Değerlendirilmesi

“Kekikte Prolizidin Alkaloidleri İzleme Programı” kapsamında alınan numunelerin analizleri, kekikte PA analizi için Türk Akreditasyon Kurumu (TÜRKAK) tarafından onaylı akreditasyon belgesine sahip İstanbul Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde yapılmıştır.

Kekiklerde PA analizlerinde “Quantitation of Pyrrolizidine Alkaloids in Honey and Herbal Teas by UHPLC/MS/MS Application Note (5991-7301 EN)” uygulama notunda belirtilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemde, homojenize edilmiş 2 g numune, ekstraksiyon çözücüsüyle muamelenin ardından katı faz ekstraksiyon (SPE) kartuşundan geçirildikten sonra UHPLC/MS/MS cihazı ile analiz edilmiştir.

Çalışmada toksik etkilere sahip olan toplam 28 adet doymamış PA’nın analizi gerçekleştirilmiş olup söz konusu etken maddeler şunlardır: echimidine, echimidine-N-oxide, erucifoline, erucifoline-N-oxide, europine, europine-N-oxide, heliotrine, heliotrine-N-oxide, intermedine, intermedine-N-oxide, jacobine, jacobine-N-oxide, lasiocarpine, lasiocarpine-N-oxide, lycopsamine, lycopsamine-N-oxide, monocrotaline, monocrotaline-N-oxide, retrorsine, retrorsine-N-oxide, senecionine, senecionine-N-oxide, seneciphylline, seneciphylline-N-oxide, senecivernine, senecivernine-N-oxide, senkirkine, tricodesmine.

Analiz edilen bu PA’lardan, erucifoline, erucifoline-N-oxide, jacobine, jacobine-N-oxide, monocrotaline, monocrotaline-N-oxide ve tricodesmine dışındaki 21 tanesi AB 1881/2006 sayılı “Gıdalardaki Belirli Bulaşanların Maksimum Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Avrupa Birliği Komisyon Tüzüğü” kapsamında analizi yapılmak üzere listelenen PA’lardır.

Yapılan çalışmada elde edilen analiz sonuç değeri LOQ’nun altında kalan numunelerde, beslenme yoluyla maruz kalınan PA ortalamasını hesaplamak üzere FAO/WHO ortak yayını olan “Gıdalardaki Kimyasalların Risk Değerlendirmesi için Prensipler ve Metotlar - Bölüm 6. Gıdalardaki Kimyasallara Beslenme Yoluyla Maruz Kalmanın Değerlendirilmesi” başlıklı



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

kılavuzdaki yaklaşım dikkate alınmıştır. Bu yaklaşıma göre, analiz sonucu LOQ'nun altındaki sonuçlara "0" verilerek alt sınır ve "ölçüm sınır değeri/LOQ" verilerek üst sınır değerleri hesaplanmıştır (FAO/WHO, 2009).

Tüm numunelerden elde edilen PA analiz sonuçlarının ortalama ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

4. Maruz Kalınan Miktar Hesaplaması

Maruz kalma hesaplamalarında aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır:

$$\text{Maruz Kalınan Miktar} = \frac{\text{PA konsantrasyonu} \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{kg}} \right) \times \text{Tüketim Miktarı} \left(\frac{\text{kg}}{\text{gün}} \right)}{\text{Vücut Ağırlığı} \text{ (kg)}}$$

EFSA Bulaşanlar Panelinin 2011 yılında yayımlanmış olduğu bilimsel görüşte, 1,2-doyunmuş PA'ların bilinen metabolizma, aktivasyon, DNA addukt oluşumu, genotoksisite ve karsinogenezite etkileri nedeniyle insanlar için genotoksik karsinojen olarak etki edebileceği belirtilmiş ve bu nedenle MOE yaklaşımının kullanılmasına karar verildiği eklenmiştir (EFSA, 2011). 2017 yılında hazırlanan bilimsel görüşte ise, yapılan çalışmalar sonrasında referans değer olarak riddelliine'e maruz kalan dişi sıçanlarda görülen karaciğer hemanjiyosarkomu vakaları için belirlenen 237 $\mu\text{g}/\text{kg}$ v.a./gün BMDL₁₀ değeri referans noktası olarak belirlenmiştir (EFSA, 2017b). Mevcut çalışmada da, MOE değerleri, BMDL₁₀ referans değerinin tahmini günlük maruz kalma düzeylerine bölünmesiyle hesaplanmıştır. MOE değerinin 10.000 ve üzerinde olduğu durumlar "sağlık endişesinin düşük olduğu durumlar" olarak nitelendirilirken, 10.000'nin altında olduğu durumlar "olası sağlık endişesine" işaret etmektedir.



DEĞERLENDİRME

1. Analiz Sonuçları

2021 yılı Temmuz-Eylül aylarında yürütülen “Kekikte Prolizidin Alkaloidleri İzleme Programı” kapsamında alınan kuru kekik numunelerinde yapılan PA analizi sonuçları Tablo 5’te verilmiştir.



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

Tablo 5. Kekik numunelerinde PA analiz sonuçları (µg/kg)

	LOQ	T.E.N. ¹ Sayısı (%)	Tespit Edilen Miktar (Ort±S.S.)	Min.- Maks. Değer	A.S.O. ²	Ü.S.O. ³
1 Echimidine	2,0	2 (2,2)	5,7±5,0	2,2-9,2	0,1	2,1
2 Echimidine-N-oxide	2,0	4 (4,3)	11,7±16,0	2,9-35,4	0,5	2,4
3 Erucifoline*	2,5	0	<LOQ	<LOQ	0	2,5
4 Erucifoline-N-oxide*	2,0	0	<LOQ	<LOQ	0	2,0
5 Europine	2,0	63 (68,5)	187,6±322,7	2,6-1590,6	128,4	129,1
6 Europine-N-oxide	2,5	77 (83,7)	690,9±1025,8	2,9-4157,7	578,3	578,7
7 Heliotrine	2,5	9 (9,8)	11,9±0	3,1-50,7	1,2	3,4
8 Heliotrine-N-oxide	2,5	20 (21,7)	34,9±0	3,2-214,8	8,7	10,7
9 Intermedine	3,0	1 (1,1)	16,9±0	16,9	0,2	3,2
10 Intermedine-N-oxide	3,0	19 (20,7)	91,1±0	3,0-525,4	18,8	21,2
11 Jacobine*	2,5	0	<LOQ	<LOQ	0	2,5
12 Jacobine-N-oxide*	2,0	0	<LOQ	<LOQ	0	2,0
13 Lasiocarpine	2,5	38 (41,3)	57,9±85,6	2,8-372,9	23,9	25,4
14 Lasiocarpine-N-oxide	2,5	50 (54,3)	272,5±496,0	2,5-1934,7	148,1	149,2
15 Lycopsamine	2,5	45 (48,9)	120,5±301,1	3,0-1880,6	58,9	60,2
16 Lycopsamine-N-oxide	2,5	45 (48,9)	589,2±1020,9	4,0-5083,4	288,2	289,5
17 Monocrotaline*	2,0	0	<LOQ	<LOQ	0	2
18 Monocrotaline-N-oxide*	3,0	0	<LOQ	<LOQ	0	3
19 Retrorsine	2,5	8 (8,7)	10,5±10,2	4,2-27,0	0,9	3,2
20 Retrorsine-N-oxide	2,5	34 (37,0)	20,0±32,6	2,7-158,4	7,4	9,0
21 Senecionine	2,5	25 (27,2)	9,4±8,5	3,3-40,9	2,6	4,4
22 Senecionine-N-oxide	2,5	35 (38,0)	20,0±17,5	3,2-69,6	7,6	9,2
23 Seneciphylline	2,5	13 (14,1)	6,6±3,1	2,6-15,1	0,9	3,1
24 Seneciphylline-N-oxide	2,5	16 (17,4)	14,8±8,9	3,2-29,9	2,6	4,6
25 Senecivernine	2,0	14 (15,2)	6,6±5,3	2,7-21,8	1,0	2,7
26 Senecivernine-N-oxide	2,5	33 (35,9)	19,6±20,2	2,6-95,9	7,4	8,6
27 Senkirkine	2,0	39 (42,4)	28,3±41,6	3,3-195,5	12,0	13,1
28 Tricodesmine*	2,0	0	<LOQ	<LOQ	0	2,0
Toplam PA	-	-	-	-	1.298	1.349

¹ T.E.N: Tespit edilen numune

² A.S.O.: Alt Sınır Ortalaması, LOQ altındaki değerlere "0" verilerek hesaplanmıştır.

³ Ü.S.O.: Üst Sınır Ortalaması, LOQ altındaki değerlere "LOQ değeri" verilerek hesaplanmıştır.

⁴ Standart Sapma; Üst sınıra göre hesaplanmıştır.

*AB 1881/2006 sayılı "Gıdalardaki Belirli Bulaşanların Maksimum Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Avrupa Birliği Komisyon Tüzüğü" kapsamında analizi yapılmak üzere listelenen zorunlu PA'lar dışında, analizlerin yapıldığı laboratuvar tarafından analiz edilen diğer PA'lardır.



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

Tespit edilen numune (T.E.N.) sayısı (görülme sıklığı) dikkate alındığında numunelerin %20'den fazlasında europine-N-oxide (%83,7), europine (%68,5), lasiocarpine-N-oxide (%54,3), lycopsamine-N-oxide (%48,9), lycopsamine (%48,9), senkirkine (%42,4), lasiocarpine (%41,3), senecionine-N-oxide (%38,0), retrorsine-N-oxide (%37,0), senecivernine-N-oxide (%35,9), senecionine (%27,2), heliotrine-N-oxide (%21,7) ve intermedine-N-oxide (%20,7) PA'larının olduğu görülmektedir (Tablo 5). Bu PA'lar ayrıca, T.E.N. ortalamaları ve karşılaşılan maksimum değerlerinin yüksekliği ile de dikkat çekmektedir. Analizi yapılan 28 PA arasında tespit edilen 21'inin AB'nin 1881/2006 sayılı Tüzüğünde yer aldığı ve diğer PA'lara ait sonuçların LOQ'nun altında olduğu görülmektedir.

Kekik numunelerinin 36'sında, analizi yapılan PA'ların (alt sınırdaki) toplamı AB 1881/2006 sayılı "Gıdalardaki Belirli Bulaşanların Maksimum Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Avrupa Birliği Komisyon Tüzüğü" ile belirlenmiş olan 1.000 µg/kg maksimum limit değerinin üzerinde bulunmuştur. Bu sonuçların tespit edildiği numunelerin 30'u paketlenmiş (markalara göre alınmış) olarak alınmış iken 6'sı dökme (işletmelerden alınan) numunelerdir. Numunelerde tespit edilen PA'ların toplam miktarları Ek 1'de verilmiştir. Numunelerde saptanan toplam PA miktarları alt sınırdaki 4,5-7.386,5 µg/kg, üst sınırdaki ise 67-7.444 µg/kg aralığındadır.

Tespit edilen maksimum değerlere bakıldığında, bazı kekik numunelerinde tespit edilen 5.083,4 µg/kg'lık lycopsamine-N-oxide, 4.157,7 µg/kg'lık europine-N-oxide, 1.934,7 µg/kg'lık lasiocarpine-N-oxide, 1880,6 µg/kg'lık lycopsamine, 1.590,6 µg/kg'lık europine değerlerinin (Tablo 5) tek başlarına 1.000 µg/kg'lık maksimum limit değerinin üzerinde olduğu görülmüştür.

Kekik numunelerinde en yüksek konsantrasyonlar europine-N-oxide, europine, lycopsamine-N-oxide, lycopsamine ve lasiocarpine-N-oxide için tespit edilmiştir. Bu PA'ların standart sapma değerleri yüksek (301,1-1.025,8 µg/kg) bulunmuştur. Bu durum, PA'ların kekiklerde çok geniş bir konsantrasyon aralığında bulunabildiğini göstermektedir. Bunun da, numunelerin alındığı bölgelerdeki birbirinden farklı coğrafik ve iklimsel koşullardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Ülkemizin en önemli kekik üretim bölgesi olan Denizli'de daha önce gerçekleştirilen çalışmalar, bu ildeki kekik üretim alanlarında Asteraceae, Boraginaceae ve Fabaceae familyasına ait yabancı ot türlerine sıklıkla rastlandığı (Sokat, 2020) ve bunların çok yüksek seviyede europine-N-oxide (753-306.998 µg/kg), europine (133-68.748), lasiocarpine-N-oxide (415-170.833 µg/kg) ve lasiocarpine (73-138.948 µg/kg) ürettiği bildirilmiştir (Einig, 2020). Ayrıca, toplam 305 örneğin incelendiği bir çalışmada, Türkiye'den alınan kekik numunelerinde europine-N-oxide (6.800-24.600 µg/kg), europine (1.820 µg/kg) ve lycopsamine-N-oxide (861 µg/kg) PA türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir (Kaltner vd., 2020). Söz konusu PA türleri bu çalışmada tespit edilen PA türleri ile büyük oranda benzerlik göstermektedir. Bu PA türlerinin farklı ürünlerde de görülebildiği bildirilmiştir. Kaltner vd. (2020) Türkiye'den alınan kimyon numunelerinde europine-N-oxide (4.310 µg/kg), heliotrine (493 µg/kg) ve heliotrine-N-oxide



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

(410 µg/kg) PA türlerine sıklıkla rastlandığını bildirmişlerdir. Analiz sonuçlarına göre PA'ların toksisiteleri daha düşük olan N-oxide formlarının N-oxide olmayanlarına göre daha yüksek konsantrasyonda ve daha fazla numunede tespit edildiği görülmüştür.

2. Maruz Kalma Düzeyleri

Ülkemizde sadece kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma düzeyleri farklı yaş gruplarında farklı tüketim senaryolarına göre hesaplanmıştır. Maruz kalma hesaplamaları, maksimum, alt sınır ortalama ve üst sınır ortalama değerleri dikkate alınarak yapılmıştır (Tablo 6).

TOB raporuna göre hesaplanan ortalama kişi başı tüketim miktarına (0,1 g/gün) göre farklı yaş grupları için kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma miktarları 0,002-0,031 µg/kg v.a./gün arasında değişiklik göstermiştir. Altı farklı tüketim senaryosuna göre ise farklı yaş grupları için kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma miktarları 0,003-1,255 µg/kg v.a./gün arasında tespit edilmiştir.

3. MOE'nin Değerlendirilmesi

Farklı yaş gruplarında kekik tüketimi yoluyla hesaplanan MOE değerleri Tablo 7'de verilmiştir.

TOB raporunda verilen ortalama kişi başı tüketim miktarına göre farklı yaş grupları için hesaplanan MOE değerleri (144.259-7.553) 10.000'in oldukça üzerindedir.

Günde 0,2 g kekik tüketimi yoluyla tüm yaş grupları için (4-5 yaş ve 6-14 yaş gruplarında maksimum değerler hariç) hesaplanan MOE değerleri (72.129-14.232) 10.000'in üzerindedir.

Günde 0,5 g, 0,9 g ve 1 g kekik tüketimi yoluyla 4-5 yaş grubu için hesaplanan MOE değerleri (5.919-755) 10.000'in altındadır. Günde 0,5 g kekik tüketimi yoluyla 6-14 yaş grubu için (maksimum değer hariç) hesaplanan MOE değerleri (12.913-12.420) 10.000'in üzerindeyken günde 0,9 g ve 1 g kekik tüketimi yoluyla hesaplanan MOE değerleri (7.174-1.648) 10.000'in altındadır. 15-18, 19-64, 65-74 yaş grupları için hesaplanan MOE değerleri (28.852-10.949) maksimum değerler hariç 10.000'in üzerindedir.

Günde 2 g ve 4 g kekik tüketimi yoluyla tüm yaş grupları için hesaplanan MOE değerleri (7.213-189) 10.000'in altındadır.



T.C.
TARIM ve ORMAN BAKANLIĞI
Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü

Ek-1

Tablo 6. Farklı yaş gruplarında kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma miktarı

	Maruz Kalma Miktarı (µg/kg v.a./gün)														
	4-5 yaş			6-14 yaş			15-18 yaş			19-64 yaş			65-74 yaş		
	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.
TOB Raporuna göre (0,1 g/gün)	0,031	0,008	0,008	0,014	0,004	0,004	0,008	0,002	0,002	0,007	0,002	0,002	0,006	0,002	0,002
Senaryo 1 (0,2 g/gün)	0,063	0,016	0,017	0,029	0,007	0,008	0,016	0,004	0,004	0,013	0,003	0,003	0,013	0,003	0,003
Senaryo 2 (0,5 g/gün)	0,157	0,040	0,042	0,072	0,018	0,019	0,041	0,010	0,011	0,033	0,008	0,009	0,032	0,008	0,009
Senaryo 3 (0,9 g/gün)	0,282	0,072	0,075	0,129	0,033	0,034	0,073	0,019	0,019	0,059	0,015	0,016	0,058	0,015	0,015
Senaryo 4 (1 g/gün)	0,314	0,080	0,083	0,144	0,037	0,038	0,082	0,021	0,022	0,066	0,017	0,017	0,064	0,016	0,017
Senaryo 5 (2 g/gün)	0,628	0,160	0,167	0,288	0,073	0,076	0,163	0,042	0,043	0,132	0,034	0,035	0,129	0,033	0,034
Senaryo 6 (4 g/gün)	1,255	0,320	0,333	0,575	0,147	0,153	0,326	0,083	0,087	0,264	0,067	0,070	0,257	0,066	0,068

A.S.O.: Alt Sınır Ortalaması

Ü.S.O.: Üst Sınır Ortalaması

Maks: Maksimum



Kekikte Prolizidin Alkaloidleri

Tablo 7. Farklı yaş gruplarında kekik tüketimi yoluyla hesaplanan MOE değeri

	MOE														
	4-5 yaş			6-14 yaş			15-18 yaş			19-64 yaş			65-74 yaş		
	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.	Maks.	A.S.O.	Ü.S.O.
TOB Raporuna göre (0,1 g/gün)	7.553	29.594	28.464	16.477	64.564	62.098	29.054	113.841	109.493	35.971	140.947	135.563	36.816	144.259	138.749
Senaryo 1 (0,2 g/gün)	3.776	14.797	14.232	8.239	32.282	31.049	14.527	56.921	54.747	17.986	70.473	67.782	18.408	72.129	69.374
Senaryo 2 (0,5 g/gün)	1.511	5.919	5.693	3.295	12.913	12.420	5.811	22.768	21.899	7.194	28.189	27.113	7.363	28.852	27.750
Senaryo 3 (0,9 g/gün)	839	3.288	3.163	1.831	7.174	6.900	3.228	12.649	12.166	3.997	15.661	15.063	4.091	16.029	15.417
Senaryo 4 (1 g/gün)	755	2.959	2.846	1.648	6.456	6.210	2.905	11.384	10.949	3.597	14.095	13.556	3.682	14.426	13.875
Senaryo 5 (2 g/gün)	378	1.480	1.423	824	3.228	3.105	1.453	5.692	5.475	1.799	7.047	6.778	1.841	7.213	6.937
Senaryo 6 (4 g/gün)	189	740	712	412	1.614	1.552	726	2.846	2.737	899	3.524	3.389	920	3.606	3.469

A.S.O.: Alt Sınır Ortalaması

Ü.S.O.: Üst Sınır Ortalaması

Maks: Maksimum



SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İzleme programı kapsamında alınan kekik numunelerinde tespit edilen PA düzeyleri ve bu düzeyler kullanılarak yapılan risk değerlendirme çalışmasına göre;

- Analiz edilen 92 kekik numunesinin 84'ünde (%91,3) en az bir adet PA'ya rastlanmıştır.
- Numunelerde toplam PA miktarları alt sınırdaki 4,5-7.386,5 µg/kg, üst sınırdaki ise 67-7.444 µg/kg değerleri arasında saptanmıştır.
- Kekik numunelerinde en sık tespit edilen PA'lar europine-N-oxide (%83,7), europine (%68,5) ve lasiocarpine-N-oxide (%54,3)'dir.
- Paketli kekik numunelerinin %49,2'sinde, dökme kekik numunelerinin ise %19,4'ünde, AB 1881/2006 sayılı Tüzük ile belirlenmiş olan 1.000 µg/kg maksimum limit değerinin üzerinde PA tespit edilmiştir. Maksimum PA limitini aşan numune sayısı oranının paketli kekik numunelerinde dökme numunelere göre daha fazla olması dikkat çekmektedir.
- Ortalama kişi başı tüketim miktarına (0,1 g/gün) göre farklı yaş grupları için kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma miktarları 0,002-0,031 µg/kg v.a./gün arasında değişiklik göstermiştir. Altı farklı tüketim senaryosuna göre ise farklı yaş grupları için kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma miktarları 0,003-1,255 µg/kg v.a./gün arasında tespit edilmiştir.
- Ortalama kişi başı tüketim miktarına (0,1 g/gün) göre, kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma miktarlarının tüm yaş gruplarında (4-5 yaş grubunda maksimum değeri hariç) düşük sağlık endişesine neden olabileceği değerlendirilmektedir.
- Günde 0,2 g kekik tüketimi yoluyla PA'lara maruz kalma miktarlarının tüm yaş gruplarında (4-5 yaş ve 6-14 yaş gruplarında maksimum değeri hariç) düşük sağlık endişesine neden olabileceği değerlendirilmektedir.
- Günde 0,5 g, 0,9 g ve 1 g kekik tüketim senaryolarına göre PA'lara maruz kalma miktarlarının 4-5 yaş ve 6-14 yaş grubu için olası sağlık endişesine neden olabileceği; diğer yaş gruplarında ise maksimum değerler hariç düşük sağlık endişesine neden olabileceği değerlendirilmektedir.
- Günde 2 g ve 4 g kekik tüketim senaryolarına göre PA'lara maruz kalma miktarlarının tüm yaş gruplarında olası sağlık endişesine neden olabileceği değerlendirilmektedir.
- Günlük diyetinde yer alan ve PA açısından risk oluşturabilecek çay, bitki çayları, diğer baharatlar, bitkisel kaynaklı takviye edici gıdalar, bal gibi diğer gıda ürünleri kaynaklı maruz kalma değerlerinin artışına bağlı olarak MOE değerlerinin düşebileceği ve dolayısıyla sağlık endişesi risk durumunun yaş gruplarında artabileceği değerlendirilmektedir.



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

PA bulaşısı açısından potansiyel risk taşıyan çay, bitki çayları, baharatlar, bitkisel kaynaklı takviye edici gıdalar ve bal gibi diğer gıda ürünlerinde PA izleme çalışmalarının yürütülmesi ve benzer risk değerlendirme çalışmalarının yapılmasının halk sağlığı açısından önem arz ettiği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- ANZFA (Australia New Zealand Food Authority), 2001. Pyrrolizidine Alkaloids in Food – A Toxicological Review and Risk Assessment; Technical Report Series No.2. Canberra and Wellington.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung), 2007. Salad mix contaminated with groundsel containing pyrrolizidine alkaloids. BfR Opinion No 028/2007, 10 January 2007
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung), 2013a. Pyrrolizidine alkaloids in herbal teas and teas., BfR Opinion No. 018/2013 of 5 July 2013.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) 2013b. Analytik und Toxizität von pyrrolizidinalkaloiden sowie eine Einschätzung des gesundheitlichen Risikos durch deren Vorkommen in Honig. *Stellungnahme Nr. 038/2011 des BfR vom 11. August 2011*, ergänzt am 21. Januar 2013.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) 2016. Pyrrolizidine alkaloids: Levels in foods should continue to be kept as low as possible. *Stellungnahme Nr. 030/2016 des BfR vom 28. September 2016*.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung), 2020. Updated risk assessment on levels of 1,2-unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs) in foods. Opinion No. 026/2020 of 17 June 2020.
- Chen T., Mei N. and Fu P.P., 2010. Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Applied Toxicology*; 30: 183-196.
- Commission Regulation, 2006. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, *Official Journal of the European Union*, L 364, 20.12.2006. Consolidated version: 26.03.2023.
- COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment), 2008. COT Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food. COT Statement 2008/06 (October 2008).
- Dreger M., Stanisławska M., Krajewska-Patan A., Mielcarek S., Mikołajczak P.Ł., Buchwald W., 2009. Pyrrolizidine alkaloids - chemistry, biosynthesis, pathway, toxicity, safety and perspectives of medicinal usage. *Journal Herba Polonica*; 55(4): 127-147.
- Edgar J.A., Colegate S.M., Boppré M., Molyneux R.J., 2011. Pyrrolizidine alkaloids in food: a spectrum of potential health consequences. *Food Additives and Contaminants*; 28(3): 308-324.
- Edgar J.A., Molyneux R.J., Colegate S.M., 2015. Pyrrolizidine Alkaloids: Potential Role in the Etiology of Cancers, Pulmonary Hypertension, Congenital Anomalies, and Liver Disease. *Chemical Research in Toxicology*; 28 (1) : 4–20.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2007. Scientific opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from European Commission related to pyrrolizidine alkaloids as undesirable substances in animal feed. *EFSA Journal*, 447: 1-51.



-
- EFSA (European Food Safety Authority), 2011. Scientific opinion on pyrrolizidine alkaloids in food and feed. EFSA Journal, 9(11): 2406.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2016. Dietary exposure assessment to pyrrolizidine alkaloids in the European population. Scientific Report, EFSA Journal 14(8):4572.
- EFSA (European Food Safety Authority: Scientific Committee), 2017a. Update: use of the benchmark dose approach in risk assessment. EFSA Journal 15(1): 4658: 1-41.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2017b. Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements. Statement, EFSA Journal 15(7):4908.
- Einig, M., 2020. Pyrrolizidine Alkaloids: How to Best Ensure the Lowest Level During Food Production, European Spice Association activities in support of risk reduction. SME connect Contaminants in Food Products, Eylül 17, 2020, <https://www.youtube.com/watch?v=K2cp6wztwmU>.
- EMA, 2021. Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs) including recommendations regarding contamination of herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids. European Medicines Agency, The Committee on Herbal Medicinal Products, EMA/HMPC/893108/2011 Rev. 1, 7 July, 2021.
- FAO/WHO (Food and Agriculture organisation/World Health Organization), 2009. Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food Chapter 6 Dietary Exposure Assessment of Chemicals in Food, Environmental Health Criteria 240.
- Fu P.P., Xia Q., Lin G., Chou M.W., 2004. Pyrrolizidine alkaloids – genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. Drug Metabolism Reviews 36(1): 1-55
- Fu P.P., Xia Q.S., Chou M.W., and Lin G., 2007. Detection, hepatotoxicity, and tumorigenicity of pyrrolizidine alkaloids in Chinese herbal plants and herbal dietary supplements. Journal of Food and Drug Analysis; 15(4): 400-415.
- FEHD (Food and Environmental Hygiene Department), 2017. Risk Assessment Studies Report No:56: Pyrrolizidine Alkaloids in Food. Chemical Hazard Evaluation, Centre for Food Safety, Food and Environmental Hygiene Department, The Government of the Hong Kong Special Administrative Region.
- Gao H, Ruan JQ, Chen J, Li N, Ke CQ, Ye Y, Lin G., Wang J.Y., 2015. Blood pyrrole-protein adducts as a diagnostic and prognostic index in pyrrolizidine alkaloid-hepatic sinusoidal obstruction syndrome. Drug Design, Development and Therapy. 9: 4861-4868.
- Hartmann, T., Witte, L., 1995. Chemistry, biology and chemocology of the pyrrolizidine alkaloids. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives. 9: 155-233.
- IARC (World Health Organization: International Agency for Research on Cancer), 1987. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Suppl. 7: Overall evaluations of carcinogenicity – An updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42.
- IARC (World Health Organization: International Agency for Research on Cancer), 2002. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 82: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene.
-



- IARC (International Agency for Research on Cancer), 2022. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–132. Last updated: 2022-09-07 10.34am (CEST). Erişim tarihi: 31.01.2023.
- JECFA (World Health Organization: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) 2015. Eightieth meeting Rome, 16–25 June 2015. Summary and Conclusions. Issued 6 July 2015. JECFA/80/SC.
- Kaltner, F., Rychlik, M., Gareis, M., Gottschalk, C., 2020. Occurrence and Risk Assessment of Pyrrolizidine Alkaloids in Spices and Culinary Herbs from Various Geographical Origins. *Toxins*, 12, 155: doi:10.3390/toxins12030155.
- Korkmaz S. D., Küplülü Ö., 2022. Denizli ilinde üretilen kekiklerde (*Origanum onites*) pirolizidin alkaloidlerinin LC-MS Q-TOF yöntemi ile belirlenmesi. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*. 93(2): 115-123 DOI: 10.33188/vetheder.1037994.
- Kraus C., Abel G., Schimmer O. 1985. Studies on the chromosome damaging effect of some pyrrolizidine alkaloids in human lymphocytes *in vitro*. *Planta Medica* 51(2): 89-91.
- Mei N., Guo L., Fu P.P., Fuscoe J.C., Luan Y., Chen T., 2010. Metabolism, genotoxicity, and carcinogenicity of comfrey. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews* 13(7-8): 509-526.
- Moreira, R., Pereira, D.M., Valentão, P., Andrade P.B., 2018. Pyrrolizidine Alkaloids: Chemistry, Pharmacology, Toxicology and Food Safety. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6) pii: E1668. doi: 10.3390/ijms19061668
- Mudge E. M., Jones A.M.P, Brown P.N., 2015. Quantification of pyrrolizidine alkaloids in North American plants and honey by LC-MS: single laboratory validation, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32 (12), 2068-2074.
- Mulder P. P. J., Sánchez P. L., These A., Preiss-Weigert A., Castellari M., 2015., Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in food. External Scientific Report, EFSA supporting publication 2015:EN-859.
- NCI (National Cancer Institute), 1978. Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity. Carcinogenesis Technical Report Series 39. NCI (National Cancer Institute) (1978). Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity. Carcinogenesis Technical Report Series 39 (NCI-CG-TR-39; DHEW Publication No. (NIH) 78-839).
- Nemli Y., Kaynar A., Kayadan A., Er T., Kaya İ., 2015. *Cuscuta campestris*'in Pyrrolizidine Alkaloid İçerdiğine İlişkin İlk Kayıt, *Turkish Journal of Weed Science*, 18(2), 23-25.
- Ning, J., Shaodong, Z., Wuhai, C., Hongbin, G., Jianzhi, Y., Ling, L., Chunliang Y., 2021. Application of liquid chromatography-mass spectrometry technology in the detection of pyrrolizidine alkaloids in agricultural products. *Journal of Physics: Conference Series*, 012102.
- NTP (US National Toxicology Program), 2003. NTP Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of Riddelliine (CAS No. 23246-96-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage studies). *NTP Technical Report Series 508* (NIH Publication No. 03-4442).



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

- Onduso S.O., Nganga M.M., Wanjohi W., Hassanali A., 2017. Determination of pyrrolizidine alkaloids levels in *Symphytum asperum*, Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry, 15(2) 65-78.
- Rizk, A. F., 1991. Naturally occurring pyrrolizidine alkaloids. CRC Press, 240 p.
- Rasenack R., Muller C., Kleinschmidt M., Rasenack J., and Wiedenfeld H., 2003. Venooclusive disease in a foetus caused by pyrrolizidine alkaloidsof food origin. Fetal Diagnosis Therapy; 18: 223-25.
- RIVM (National Institute for Public Health and the Environment), 2014. Pyrrolizidine alkaloids in herbal preparations. RIVM Briefrapport 090437001.
- Roeder, E., Wiedenfeld, H., 2011. Pyrrolizidine alkaloids in plants used in the traditional medicine of Madagascar and the Mascarene islands. Pharmazie, 66(9):637-47.
- Sağlık Bakanlığı, Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara Örnek Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2014. Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması 2010: Beslenme Durumu ve Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi Sonuç Raporu. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 931.
- Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2019. Türkiye Beslenme ve Sağlık Araştırması (TBSA). T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 1132, Ankara.
- Schramm, S., Köhler, N., Rozhon, W., 2019. Pyrrolizidine Alkaloids: Biosynthesis, Biological Activities and Occurrence in Crop Plants. Molecules 24(3):498.
- Sokat, Y., 2020. Kekik Üretim Alanlarında Görülen Bazı Zararlı Yabancı Ot Türleri. Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi, 9(1): 29-42.
- Soylu Ş., 2016. Ratlarda Deneysel Monocrotalin Toksikasyonu: Histopatolojik Ve İmmunohistokimyasal İncelemeler. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji Anabilim Dalı.
- TOB- Tarım ve Orman Bakanlığı, Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü, 2020. Kekik Fizibilite Raporu Ve Yatırımcı Rehberi. <https://www.tarimorman.gov.tr/SGB/TARYAT/Belgeler/Projeler/Kekik+Fizibilite+Raporu+ve+Yatirimci+Rehberi.pdf>. Erişim tarihi: 10.01.2022.
- Tiring, G., Satar, S. ve Özkaya, O. 2021. Sekonder Metabolitler. Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 35(1): 203-215.
- Tosun F., Tamer U., 2004. Determination of pyrrolizidine alkaloids in the seeds of *Heliotropium europaeum* by GC-MS, Ankara Üniverstesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 33 (1) 7-9.
- Valese A.C., Molognoni L., de Sa Ploencio L.A., de Lima F.G., Gonzaga L. V., Gorniak S. L., Daguer H., Barreto F., Costa A.C.O., 2016. A fast and simple LC-ESI-MS/MS method for detecting pyrrolizidine alkaloids in honey with full validation and measurement uncertainty, Food Control, 67, 183-191.
- WHO-IPCS (World Health Organisation-International Programme on Chemical Safety), 1988. Pyrrolizidine alkaloids. Environmental Health Criteria 80. WHO, Geneva, pp.1-345.



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

WHO-IPCS (World Health Organisation- International Programme on Chemical Safety), 1989. Pyrrolizidine Alkaloids, Health and Safety Guide. No. 26, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva.

Wiedenfeld H., 2011. Toxicity of pyrrolizidine alkaloids - a serious health problem. Journal of Marmara University Institute of Health Sciences, 1(2): 79-87.

**KISALTMALAR**

A.S.O.	: Alt sınır ortalaması
BfR	: Bundesinstitut für Risikobewertung (Almanya Federal Risk Değerlendirme Enstitüsü)
BMDL ₁₀	: Benchmark dose lower confidence limit (%10'luk kıyaslama dozu düşük güven sınırı)
CONTAM	: The Panel on Contaminants in the Food Chain (EFSA Gıda Zincirindeki Bulaşanlar Paneli -EFSA Bulaşanlar Paneli)
DHP	: 6,7-dihidropirolizin
EFSA	: European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenilirliği Otoritesi)
EMA	: European Medicines Agency (Avrupa İlaç Ajansı)
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
FEHD	: Food and Environmental Hygiene Department (Gıda ve Çevre Hijyeni Dairesi)
GC-MS	: Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi
IARC	: The International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı)
WHO-IPCS	: World Health Organisation-International Programme on Chemical Safety (Dünya Sağlık Örgütü-Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı)
JECFA	: The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi)
LC-MS	: Sıvı kromatografisi/kütle spektrometresi
LOD	: Limit of Detection (Tespit Sınırı)



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

LOQ	: Limit of Quantification (Ölçüm Sınırı)
MOE	: Margin of Exposure (<i>Maruz kalma sınırı</i>)
PA	: Pirolizidin alkaloidi
PANO	: Pyrrolizidine alkaloids N-oxides (Pirolizidin alkaloidlerinin N-Oxideleri)
PTDI	: Provisional Tolerable Daily Intake (<i>Geçici Tolere Edilebilir Günlük Alım Düzeyi</i>)
S.S.	: Standard sapma
TDI	: Tolerable Daily Intake (Tolere edilebilir günlük alım miktarı)
T.E.N.	: Tespit edilen numune
TOB	: Tarım ve Orman Bakanlığı
Ü.S.O.	: Üst sınır ortalaması
v.a.	: Vücut ağırlığı



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

EKLER

Ek 1. Program kapsamında alınan numunelerde tespit edilen toplam PA miktarı ($\mu\text{g}/\text{kg}$) (Analiz edilen PA'lar Bölüm 3. Analiz Yöntemi başlığı altında verilmiştir.)

Sıra No	Dökme/Paketli	İl	Toplam PA Miktarı		AB Listesindeki Toplam PA Miktarı
			Alt Sınırdaki	Üst Sınırdaki	
1	Paketli	Adana	2684,1	2727,1	2684,1
2	Paketli	Adana	1028,7	1073,2	1028,7
3	Paketli	Adana	27,3	84,3	27,3
4	Paketli	Ankara	3303,7	3351,7	3303,7
5	Paketli	Ankara	1736,0	1774,0	1736,0
6	Paketli	Ankara	1523,4	1573,4	1523,4
7	Paketli	Ankara	1512,4	1562,4	1512,4
8	Paketli	Ankara	1435,4	1478,4	1435,4
9	Paketli	Ankara	1310,5	1367	1310,5
10	Paketli	Ankara	1248,7	1304,2	1248,7
11	Paketli	Ankara	1172,7	1215,7	1172,7
12	Paketli	Ankara	584,4	624,9	584,4
13	Paketli	Ankara	6,5	71,0	6,5
14	Paketli	Antalya	3769,1	3807,1	3769,1
15	Paketli	Antalya	897,1	937,6	897,1
16	Paketli	Antalya	236,2	286,7	236,2
17	Paketli	Bursa	955,2	992,7	955,2
18	Paketli	Bursa	190,9	245,4	190,9
19	Paketli	Bursa	21,8	84,3	21,8
20	Paketli	Hatay	329,4	389,4	329,4
21	Paketli	İstanbul	6354,3	6383,8	6354,3
22	Paketli	İstanbul	5357,0	5412,0	5357,0
23	Paketli	İstanbul	5305,3	5335,8	5305,3
24	Paketli	İstanbul	4537,9	4580,9	4537,9
25	Paketli	İstanbul	3320,1	3351,1	3320,1
26	Paketli	İstanbul	2203,1	2239,1	2203,1
27	Paketli	İstanbul	1945,6	1995,6	1945,6
28	Paketli	İstanbul	1109,8	1151,8	1109,8
29	Paketli	İstanbul	806,4	854,4	806,4
30	Paketli	İstanbul	681,9	723,4	681,9
31	Paketli	İstanbul	579,3	627,3	579,3
32	Paketli	İstanbul	208,7	263,7	208,7
33	Paketli	İstanbul	182,9	245,4	182,9



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

Sıra No	Dökme/Paketli	İl	Toplam PA Miktarı		AB Listesindeki Toplam PA Miktarı
			Alt Sınırdaki	Üst Sınırdaki	
34	Paketli	İstanbul	148,6	208,1	148,6
35	Paketli	İstanbul	143,7	203,2	143,7
36	Paketli	İstanbul	132,5	190	132,5
37	Paketli	İstanbul	122,3	179,8	122,3
38	Paketli	İstanbul	71,3	131,3	71,3
39	Paketli	İstanbul	34,2	96,7	34,2
40	Paketli	İstanbul	17,6	79,6	17,6
41	Paketli	İstanbul	0,0	67,0	<LOQ
42	Paketli	İstanbul	0,0	67,0	<LOQ
43	Paketli	İstanbul	0,0	67,0	<LOQ
44	Paketli	İstanbul	0,0	67,0	<LOQ
45	Paketli	İzmir	4522,7	4575,2	4522,7
46	Paketli	İzmir	3120,4	3169,9	3120,4
47	Paketli	İzmir	2837,3	2886,8	2837,3
48	Paketli	İzmir	2536,6	2583,6	2536,6
49	Paketli	İzmir	2370,9	2413,4	2370,9
50	Paketli	İzmir	2353,3	2408,3	2353,3
51	Paketli	İzmir	1362,7	1410,7	1362,7
52	Paketli	İzmir	883,8	933,8	883,8
53	Paketli	İzmir	771,8	804,8	771,8
54	Paketli	İzmir	473,4	521,4	473,4
55	Paketli	İzmir	185,2	230,7	185,2
56	Paketli	İzmir	32,2	94,2	32,2
57	Paketli	Konya	5358,3	5403,3	5358,3
58	Paketli	Konya	4785,5	4833	4785,5
59	Paketli	Konya	3362,6	3409,6	3362,6
60	Paketli	Şanlıurfa	4196,5	4236	4196,5
61	Paketli	Şanlıurfa	162,2	214,7	162,2
62	Dökme	Antalya	0,0	67,0	<LOQ
63	Dökme	Aydın	35,4	97,9	35,4
64	Dökme	Denizli	846,4	906,4	846,4
65	Dökme	Denizli	370,7	426,2	370,7
66	Dökme	Denizli	6,4	70,9	6,4
67	Dökme	İstanbul	1873,8	1928,8	1873,8
68	Dökme	İstanbul	504,3	551,3	504,3
69	Dökme	İzmir	7386,5	7444	7386,5



Kekikte Pirolizidin Alkaloidleri

Sıra No	Dökme/Paketli	İl	Toplam PA Miktarı		AB Listesindeki Toplam PA Miktarı
			Alt Sınırdaki	Üst Sınırdaki	
70	Dökme	İzmir	3028,6	3064,6	3028,6
71	Dökme	İzmir	1956,3	2008,8	1956,3
72	Dökme	İzmir	1894,3	1949,3	1894,3
73	Dökme	İzmir	1476,7	1516,7	1476,7
74	Dökme	İzmir	917,4	957,9	917,4
75	Dökme	İzmir	534,7	575,2	534,7
76	Dökme	İzmir	510,8	556,8	510,8
77	Dökme	İzmir	157,5	198	157,5
78	Dökme	İzmir	145,2	185,7	145,2
79	Dökme	İzmir	132,6	183,1	132,6
80	Dökme	İzmir	72,0	128	72,0
81	Dökme	İzmir	59,0	119,0	59,0
82	Dökme	İzmir	49,1	109,6	49,1
83	Dökme	İzmir	0,0	67,0	<LOQ
84	Dökme	İzmir	0,0	67,0	<LOQ
85	Dökme	İzmir	0,0	67,0	<LOQ
86	Dökme	Manisa	373,0	411,0	373,0
87	Dökme	Manisa	210,4	272,9	210,4
88	Dökme	Manisa	130,3	187,8	130,3
89	Dökme	Manisa	52,2	111,7	52,2
90	Dökme	Manisa	51,0	108,5	51,0
91	Dökme	Manisa	24,9	87,4	24,9
92	Dökme	Manisa	4,5	69,0	4,5