

A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü
Prof. Dr. M. Şahin Akman

**ORGANİK FOSFORLU VE ORGANİK KLORLU
İNSEKTİSİDLERİN TOKSİKOLOJİK ANALİZLERDE
BİR ARADA İNCE-TABAKA KROMATOĞRAFİSİ
İLE ARANMASI**

Selahattin Ceylan*

Süleyman Şener**

**The simultaneous identification and separation of
organic phosphate and organic chlorinated insecticides
by thin-layer chromatography in toxicological analyses.**

Summary : A simple and sensitive thin-layer chromatography procedure was developed for the screening purposes of both organic phosphate and organic chlorinated insecticides simultaneously. The method is quick, convenient and does not need any expensive equipment. It can be operated in any simple laboratory, and results are available within a few hours. Many insecticides too can be handled at the same time. The method is sensitive for many insecticides at the level less than one microgram.

The procedure consists of the following steps :

1. The spots of both organic thiophosphate and organic chlorinated insecticides on the chromatoplates coated with Silicagel HF₂₅₄ (0.250 mm.) and developed with cyclohexan + acetone (90+10 and 95+5) solvent systems were detected under short-wave ultraviolet light and, it was observed that, all the organic thiophosphates and some of the organic chlorinated insecticides of 15 compounds commonly used in Turkey were visualized as deep bluish-purple spots on a green background.

2. After the chromatoplate was exposed to bromine vapor in a desiccator the thiophosphate insecticides appeared as bright yellow spots.

3. The chromatoplate was sprayed with the "silver nitrate-phenoxyethanol reagent" and, after drying, irradiated under the short-wave ultraviolet light for about 15-20 minutes. Both organic thiophosphate and organic chlorinated insecticides were seen as white spots on a brown background.

4. The plate was then homogeneously sprayed with 0.4% Congo Red in 50% aqueous ethanol. In this step all spots of the organochlorine insecticides which were visualized in the previous step were disappeared. The organic thiophosphates were observed as deep blue spots on a red background.

*A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü Doçenti.

**Aynı Kürsüde Dr.Asistan.

5. Although this procedure is enough in many cases for the identification of all the insecticide spots the following additional steps were found to be very useful as a confirmative test for unidentified spots:

(a) The organic thiophosphates were developed with hexan + acetone (80 + 20) system on the Silicagel HF₂₅₄ coated plate and, after visualization with the Congo Red reagent, identified from the Rf values.

(b) The organic chlorinated insecticides were developed with hexan or n-heptan on the Silicagel HF₂₅₄ or Aluminium Oxide-G coated plate and, after spraying with the silver nitrate-phenoxyethanol reagent and exposing to the short-wave U.V.light, identified from the Rf values.

Özet : Türkiye'de tarımsal savaşta en çok kullanılan organik fosforlu ve organik klorlu 15 çeşit inektisidin ince-tabaka kromatografisinde bir arada aranmasını sağlamak amacıyla yapılan bu araştırma sonucunda, pahalı aygıtları gerektirmeyen basit ve çabuk bir metod kombinasyonu ortaya konuldu. Metod, aşağıda kısaca özetlenen ve birbirini izleyen kademelerden oluşmaktadır:

1. İnektisidlerin Silikajel HF₂₅₄ ile kaplanmış plakalarda sikloheksan + aseton (90 + 10 ve 95 + 5) çözücü sistemleriyle developmanından sonra kısa dalga ultraviyole ışık altında gözlenmesi.

2. Plâkanın brom buharlarına tutulması ile organik tiyofosfat inektisidlerin ortaya çıkarılması.

3. "Gümüş nitrat - fenoksietanol ayırıcı" püskürtüldükten sonra kısa dalga ultraviyole ışığa tutularak her iki gruptaki inektisid lekelerinin görünür duruma getirilmesi.

4. Plâkaya "kongo kırmızısı ayırıcı" püskürtülerek organik klorlu inektisidlerin görünmez hale getirilmesi ve buna karşılık organik fosforuların ortaya çıkarılması.

5. Rf değerlerinden inektisidlerin hüviyetinin kesinlikle anlaşılamadığı hallerde, ek olarak uygulanan bir kromatografi ile organik tiyofosfatlar için heksan + aseton (80 + 20); organik klorlu inektisidler için heksan veya n-heptan ile developmandan sonra özel kro-mojenik ayırıcılarıyla belirtilerek Rf değerlerinden ayrımsal teşhis yapılması.

Giriş

Son zamanlarda analitik toksikoloji yönünden kromatografik yöntemler (kâğıt kromatografisi, ince-tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi) çok büyük olanaklar ve kolaylıklar getirmiştir. Daha önceleri her bir zehirin identifikasyonunun kimyasal analizlerde genellikle birer birer yapılması gerekirken bugün kromatografik yöntemler aracılığı ile çok çeşitli gruplara ait kimyasal bileşiklerin karışımları bir arada ve çok kısa bir zamanda analiz edilebilmektedir. İnsan ve hayvanların çevredeki toksik maddelerle zehirlenme insidensinin ve zehirli maddelerin çeşitliliğinin giderek arttığı göz önüne alınırsa zehirlenmelerde kullanılacak analiz yöntemlerinin de buna paralel bir gelişme göstermesi zorunlu olmaktadır.

Organik tiyofosfat inektisidlerin ince-tabaka kromatografisinde identifikasyonu için çeşitli yöntemler bildirilmiştir:

Bunyan (7) silikajel-H veya nötral alüminyum oksidle kaplanmış plâkalarda çözücü sistemleri olarak kloroform, benzol veya n-hekzanda % 10 aseton kullanmış; develope ettiği kromatogramları karbon tetraklorürde % 10 brom buharına tutarak oksitledikten sonra gümüş nitrat-bromfenol mavisi püskürtmek suretiyle tiyofosfatları mavi veya leylâk renkli lekeler biçiminde ortaya çıkarmıştır.

El-Refai ve Hopkins (12) tiyofosfatların develope edilmiş plâkalarda belirtimi için gümüş nitrat-bromfenol mavisi, amonyaklı gümüş nitrat ve alkolik potasyum hidroksid püskürtme ayıraçlarını önermiştir.

Beck ve Sherman (5) silikajel-G ile kaplanmış plâkaların developmanında kloroform + aseton (1 + 1) ve kloroform + karbon tetraklorür (1 + 1) çözücü sistemlerini kullandıktan sonra gümüş nitrat-R adını verdiği ayıraçla koyu menekşe renkli lekeler halinde belirtim yapmıştır.

Braithwaite (6) silikajel-Paris plasteri karışımı ile kaplanmış plâkaların developmanından sonra sikloheksanda % 0.5 oranında hazırlanmış 2, 6-dibromo p-benzokinon-4-klorimid (DBQC) püskürterek organik fosforlu insektisidleri keskin kırmızı lekeler biçiminde ortaya çıkarmıştır.

Winterlin ve Arkadaşları (31) alüminyum oksid-G ve silikajel-H ile kaplanmış plâkaların developmanında çözücü sistemleri olarak aseton + toluol + hekzan (1 + 1 + 5) ve aseton + toluol + hekzan + etil asetat (2 + 1 + 2 + 1) kullanmışlardır.

Vural (28) silikajel-G ve alüminyum oksid-G ile kaplanmış plâkalarda sırasıyla hekzan + aseton (8 + 2), hekzan + aseton (9 + 1) ve her iki tip plâkada hekzan veya benzol + aseton (8 + 2) ya da N, N-dimetilformamid + su (1 + 1) kullanarak developman yapmış ve brom buharıyla oksidasyondan sonra gümüş nitrat-bromfenol mavisi ile mavi zemin üzerinde sarı lekeler biçiminde belirtim sağlamıştır.

Ceylan (8), Irudayasamy ve Natarajan'ın (14) tiyofosfatların identifikasyonu amacıyla kâğıt kromatografisinde uyguladıkları ve brom buharıyla oksidasyondan sonra püskürtülen % 50 sulu etil alkolde hazırlanmış % 0.4 kongo kırmızısı ayıracını ince-tabaka kromatografisine uyarlamak suretiyle tiyofosfatları kırmızı zemin üzerinde koyu mavi renkte ve haftalarca solmadan kalabilen lekeler biçiminde identifiye etmiştir.

Organik tiyofosfatların ince-tabaka kromatografisinde identifikasyonu için bunlardan başka brom buharı, iyot buharı, palladyum klorür, sodyum azid-iyot, floresein ve ferri klorür-sülfosalisilik asid gibi ayıraçların kullanıldığı da bildirilmektedir (4, 10, 19, 21, 26, 29).

Klorlu hidrokarbon insektisidlerin ince-tabaka kromatografisi ile aranmasında kullanılan yöntemler de oldukça fazladır. Ancak bunlar içinde en duyarlı yöntem kanımızca Kovacs (16, 17, 18) tarafından geliştirilmiştir. Bu araştırmacı alüminyum oksid-G veya silikajel-G ile kaplanmış plâkalarda susuz çözücülerle developmandan sonra gümüş nitrat-2. fenoksietanol ayıracını püskürtmek ve kısa dalga ultraviyole ışıkla bir süre ışılandırmak suretiyle klorlu hidrokarbon insektisidlerin 0.01 mikrogram düzeye kadar identifikasyonunu sağlamıştır. Ceylan (9) ile Akman ve Arkadaşları (3) da Kovacs'ın bu yönteminden yararlanarak klorlu hidrokarbon insektisidlerin hayvansal besinlerdeki rezidü analizlerini yapmışlardır.

Klorlu hidrokarbon insektisidlerin ince-tabaka kromatografisi ile aranması bakımından yararlı olabilen yöntemleri içeren çok sayıda literatüre rastlama olanağı vardır (1, 2, 11, 13, 15, 23, 24, 27).

Literatürde bildirilen tüm yöntemler kimyasal toksikoloji açısından çok yararlı olmakla birlikte bugünkü koşullarda klorlu hidrokarbon ve organik fosforlu insektisidlerin aynı yöntemle bir arada aranması olanaklarının araştırılmasının hem analizin çabukluğu ve hem de ayrımsal teşhisin daha kesinlikle sağlanması yönünden değeri büyüktür. Tarımsal savaşta kullanılan insektisid preparatlarının çoğunun organik fosforlu ve klorlu hidrokarbon insektisidlerin kombinasyonu biçiminde uygulanması nedeniyle zehirlenmelerin büyük bir bölümü de bu iki tip insektisidlerle aynı zamanda meydana gelmektedir.

İncelediğimiz literatürler içinde çeşitli gruplardaki insektisidlerin bir arada ince-tabaka kromatografisiyle aranmasını içeren yöntemlerin (20, 25, 29, 30) az sayıda oluşu ve uygulanan çözücü sistemleri ve belirtme ayıraçları bakımından saptadığımız bazı sorunların çözümünü sağlamak ve kürsümüz toksikoloji laboratuvarında güvenle kullanabileceğimiz bir kombine ince-tabaka kromatografisi yönteminin ortaya konulması düşüncesiyle bu araştırma yapılmıştır.

Materyal ve Metod

İsektisid Standartları :

Çalışmamızda standart olarak kullanılan ve aşağıda listelenen 9 adet organik fosforlu ve 6 adet klorlu hidrokarbon insektisidin arı

nümunelerinden hekszanda % 1 oranında çözeltileri hazırlandı (0.001 ml = 10 mikrogram).

Organik fosforlu insektisidler

- 1- Folithion
- 2- Gusathion
- 3- Lebaysid
- 4- Malathion
- 5- Metasistoks

- 6- Metilparathion
- 7- Parathion
- 8- Rogor
- 9- Trithion

Organik klorlu insektisidler

- 1- Aldrin
- 2- BHC (alfa izomeri)
- 3- BHC (gamma izomeri, lindan)
- 4- DDT (p,p')
- 5- Dieldrin
- 6- Endrin

Aygutlar :

- İnce-tabaka kromatografisi aygıtı ve ekleri (Pleuger)
- Ultraviyole lambası, uzun ve kısa dalga, 16 watt (Chromatolux 2L, Pleuger)
- Saç kurutma aygıtı
- Etüv (Heraeus)
- Desikatör

Adsorbanlar :

1. Silikajel HF₂₅₄ (Merck)
2. Alüminyum oksid-G, Type E (Merck)

Çözücü Sistemleri :

1. Siklohekzan + Aseton (90 + 10)
2. Siklohekzan + Aseton (95 + 5)
3. Hekzan + Aseton (80 + 20)
4. Hekzan
5. n-Heptan

Belirtme Ayraçları :

1. Karbon tetraklorürde % 10 brom çözeltisi.
2. Gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcı:

0.1 g. gümüş nitrat 1 ml. damıtık suda çözdürüldü; 20 ml. 2-fenoksietanol ilâve edildi. Asetonla 200 ml. ye tamamlanırken 3 damla % 30'luk H₂O₂ katıldı (9, 16, 17).

3. Kongo kırmızısı ayırıcı:

% 50 sulu etil alkolde hazırlanmış % 0.4 kongo kırmızısı çözeltisi (8, 14).

Plâkaların Hazırlanması :

Temizlenip kurutulmuş 20 x 20 cm. boyutlarındaki beş adet cam plâkanın silikajel HF_{254} ile 0.250 mm. kaplanması için 30 g. adsorban tartıldı. Deneyler sonucu en iyi sulandırma oranı saptandıktan sonra 65 ml. damıtık su ile cam kapaklı bir erlenmeyerde bir-iki dakika kadar çalkalanıp homojen bir karışım sağlandı. Alüminyum oksid-G ile plâka hazırlamak için 45 g. adsorban 50 ml. su ile karıştırıldı. Karışım 0.250 mm. ye ayarlanmış yayıcıya döküldü ve plâkalar yayıcı küvetinin altından sürülerek kaplama işlemi tamamlandı. Adsorban tabakanın kuruması için iki saat kadar yayıcı tablası üzerinde bırakılan plâkalar, aygıtın rafı üzerine dizilerek etüve alındı ve 100°C 'de bir saat bırakılarak aktive edildi. Etüvden sıcakken alınan plâkalar, içinde susuz kalsiyum klorür bulunan bir desikatörde kulanılıncaya değin saklandı.

Standart İnektisidlerin Uygulanması ve Developman :

Plâka üzerindeki adsorban tabakası, iki kenarından developman yönüne paralel olarak 0.5 cm. kazındı. Böylece developman sırasında tank kenarlarından plâkaya olabilecek bulaşmalar önlendi. Adsorban tabakası, yine developman yönüne paralel olarak, 1 cm. den dar olmamak koşulu ile, sivri uçlu bir kurşun kalemle çizilerek uygulanacak nümune sayısına göre kolonlara ayrıldı. Plâkanın alt kenarından 2 cm. mesafede inektisidlerin uygulama noktaları bir toplu iğne başı ile hafifçe işaretlendi ve bu noktadan itibaren 10 cm. mesafede kurşun kalemle çizilerek çözücü sınırı belirlendi.

Standart inektisid çözeltilerinden plâkadaki uygulama noktalarına, 1-10 mikrolitrelik pipetlerle 1-10 mikrolitre arasında uygulamalar yapıldı ve lekelerin kompakt ve eşit büyüklükte olması için uygulama sırasında saç kurutma makinesinin hava akımında kurutuldu.

Organik fosforlu inektisidlerle organik klorlu inektisidlerin bir arada developmanında denediğimiz çeşitli çözücüler ve çözücü sistemleri arasında en uygun Rf değerlerini veren sistem olarak saptadığımız, Moats'ın (22) organik klorlu inektisidlerin analizinde (95 + 5) oranında kullandığı sikloheksan ile asetonun (90 + 10) veya (95 + 5) karışımları ile 10 cm. ye kadar developman yapıldı. Developman süresi, laboratuvar ısısına bağlı olarak 15-25 dakika arasında değişmektedir.

Tanktan çıkarılan developpe edilmiş plâka, beş dakika kadar çeker ocağın hava akımında bırakılarak kurutuldu.

İnsektisid Lekelerinin Belirtimi :

Her iki gruptaki insektisidlerin bir arada identifikasyonunu ve birbirinden ayırtedilmesini sağlamak üzere, belirtim birbirini izleyen birkaç kademede yapıldı:

1. Plâka kısa dalga (254 nm) ultraviyole lambası altında incelendi ve analizini yaptığımız organik fosforlu insektisidlerden folithion, gusathion, lebaysid, malathion, metasistoks, metilparathion, parathion, rogor, trithion'un ve organik klorlu insektisidlerden aldrin, endrin, p, p'-DDT ve lindan'ın yeşil zemin üzerinde koyu mavi-mor renkte lekeler biçiminde belirdiği saptandı.

2. Plâka, karbon tetraklorürde % 10 brom buharıyla havası satüre edilmiş bir desikatörde 30-60 saniye tutularak oksitlendi. Tiyofosfat insektisidlerin tümü sarı lekeler biçiminde ortaya çıktı. Organik klorlu insektisidlerin hiç biri bu kademede görülmemektedir.

3. Plâka üzerine bir atomizer ile homojen bir şekilde ve adsorban tabakasında bozulmaya yol açmayacak miktarda gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcı püskürtüldü. Beş dakika sıcak hava akımında veya 15 dakika 75°C'lik etüvde kurumaya bırakıldı. Kısa dalga ultraviyole ışık altında tutularak ışınlandı. 15-20 dakikalık bir süre sonunda gerek organik fosforlu ve gerekse organik klorlu insektisidlerin tümü, esmer-kahverengi zemin üzerinde beyaz renkte ve birkaç gün solmadan kalabilen lekeler biçiminde belirlendi (9, 16, 17).

4. Aynı plâkaya % 50 sulu etil alkolde hazırlanmış % 0.4 kongo kırmızısı ayırıcı homojen olarak püskürtüldü. Bu kademede organik klorlu insektisid lekelerinin tümü kongo kırmızısının rengi ile örtülüp ortadan kaybolmasına karşılık tiyofosfat insektisidlerin tümü kırmızı zemin üzerinde koyu mavi renkte ve en az bir ay solmadan kalabilen lekeler halinde ortaya çıkarıldı. (8, 14).

5. Bir tek çözücü veya çözücü sistemiyle elde edilen lekelerin Rf değerlerinin ölçümüyle her iki gruptaki tüm insektisidlerin hüviyetini kesinlikle saptama olanağı bazan olmamaktadır. Bu nedenle hangi insektisid olduğunu belirlemek amacıyla ek olarak aşağıdaki kademelerin uygulamasını yaptık:

(a) Organik fosforlu insektisidlerin ayrımsal teşhisi için, silikajel HF₂₅₄ ile 0.250 mm. kaplanmış ve 100 °C'de bir saat aktive edilmiş plâkalara uygulanan lekelerin developmanında hekzan + aseton (80 + 20) çözücü sistemini kullandık. Brom buharıyla oksidasyondan sonra kongo kırmızısı püskürtme ayıracını uyguladık.

(b) Organik klorlu insektisidlerin ayrımsal teşhisi için, silikajel HF_{254} veya alüminyum oksid-G ile 0.250 mm. kaplanmış ve 100°C 'de bir saat aktive edilmiş plâkalara uygulanan lekelerin developmanında yalnız başına hekzan veya n-heptan kullandık. Gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcının püskürtülmesinden sonra plâkaları kısa dalga ultraviyole ışığı ile ışınladık. Silikajel plâkalarda kahverengi zemin üzerinde beyaz, alüminyum oksid-G plâkalarda beyazımsı-esmer zemin üzerinde kahverenkli lekeler biçiminde organik klorlu insektisidler ortaya çıkarıldı.

Sonuçlar

Ülkemizde tarımsal savaşta en çok kullanılan ve bir kısmı da veteriner hekimlikte meskenlerdeki veya hayvanların üzerindeki ekto-parazitlere karşı uygulanan organik fosforlu ve organik klorlu 15 çeşit insektisidle silikajel HF_{254} ve alüminyum oksid-G üzerinde çeşitli çözücüler ve çözücü sistemleriyle yaptığımız ince-tabaka kromatografisi sonucunda Çizelge I ve II'de belirtilen Rf değerleri saptanmıştır. Çizelgelerde görüldüğü gibi, yalnızca sikloheksan + aseton'un (90 + 10) veya (95 + 5) oranındaki çözücü sistemleri bile, analizini yaptığımız 15 çeşit insektisidin teşhisinde genellikle yeterli olabilmektedir. Çünkü Rf değerleri, buna olanak sağlayabilecek ölçüde dağılım göstermiştir. Bu arada teşhisin şüpheli olduğu durumlarda yeniden uygulanabilecek bir kromatografi ile organik fosforular için hekzan + aseton (80 + 20) çözücü sistemi ve organik klorlular için hekzan veya n-heptan çözücülerinin uygulanmasıyla, her bir insektisidin kendi grubu içinde ayrımının Rf değerlerinden yapılması daha da kesinlik kazanmaktadır.

ÇİZELGE I.

Organik fosforlu insektisidlerin silikajel HF_{254} ile kaplanmış plakalarda değişik çözücü sistemleriyle developmandan sonra elde edilen Rf değerleri.

İNSEKTİSIDLER	Çeşitli sistemlerdeki Rf değerleri		
	Sikloheksan Aseton (90+10)	Sikloheksan Aseton (95+5)	Hekzan Aseton (80+20)
Folithion	0.30	0.21	0.37
Gusathion	0.12	0.06	0.20
Lebaysid	0.44	0.39	0.50
Malathion	0.26	0.15	0.35
Metasistoks	0.00	0.00	0.00
M.Parathion	0.28	0.20	0.33
Parathion	0.47	0.32	0.51
Rogor	0.06	0.02	0.06
Trithion	0.67	0.59	0.73

ÇİZELGE II.

Organik klorlu insektisidlerin aranması için ince-tabaka kromatografisinde uygulanan adsorbanlar, çözücü sistemleri ve elde edilen Rf değerleri.

İNSEKTİSIDLER	Silikajel HF ₂₅₄ plakada			Al ₂ O ₃ -G plakada	
	Sikloheksan Aseton (90+10)	Sikloheksan Aseton (95+5)	Hekzan	Hekzan	n-Heptan
Aldrin	0.90	0.89	0.69	0.72	0.64
BHC (alfa)	0.62	0.60	0.17	0.33	0.22
BHC (gamma)	0.58	0.46	0.10	0.25	0.17
DDT (p,p')	0.72	0.78	0.36	0.49	0.35
Dieldrin	0.70	0.60	0.04	0.10	0.06
Endrin	0.74	0.71	0.05	0.14	0.08

Organik fosforlu ve organik klorlu insektisidler için uyguladığımız belirtme ayıracıları, uzun süre solmadan kalabilen lekeler vermektedir. Şekil 1'de, üzerinde çalıştığımız 15 çeşit insektisidden 8 adet organik fosforlu ve 5 adet organik klorlu olmak üzere 13 insektisidle hazırlanmış; bromla oksidasyon ve gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcı püskürtüldükten sonra ultraviyole ışıkla belirtimi yapılmış bir kromatogramın fotoğrafı görülmektedir. Uyguladığımız her iki gruptaki insektisidler, kahverengi zemin üzerinde çok belirgin beyaz lekeler vermiştir. Şekil 2'de ise, Şekil 1'deki aynı kromatogramda kongo kırmızısı ayırıcı püskürtüldükten sonraki durum görülmektedir. Organik fosforlu insektisidler, kırmızı zeminde belirgin, koyu mavi renkli lekeler halinde ortaya çıkmış; buna karşılık organik klorlu insektisidlerin, daha önce belirgin durumdaki, beyaz lekeleri kaybolmuştur.

Tartışma

Geçtiğimiz birkaç yıl içinde kürsümüz toksikoloji laboratuvarına veteriner ve sağlık örgütlerinden, belediyelerden ve mahkemelerden analizleri yapılmak üzere gönderilen çeşitli şüpheli maddelerde ve biyolojik materyalde saptanan zehirlerden çok büyük bir oranının klorlu hidrokarbon ve organik fosforlu insektisid gruplarına giren bileşikler oluşu, insektisidlerle zehirlenmeler ve bu zehirlerin aranmasında kullanılan yöntemler konusuna daha çok eğilmemiz gerektiğini ortaya çıkarmıştır.

Insektisidlerin biyolojik materyalden ekstrakte edilmesi ve bu ekstraktın kirliliklerden arıtılmasından sonraki identifikasyon kademesinde ve yarı nicel (semi-kantitatif) miktar ölçümlerinde bugün kullanılan en yaygın kromatografik metod ince-tabaka kromatog-

rafisidir. Kâğıt kromatografisine göre daha duyarlı oluşu ve daha kısa sürede sonuca ulaşılabilmesinin yanında gaz kromatografisi gibi pahalı aygıtları gerektirmemesi, ince-tabaka kromatografisinin değerini ve geçerliliğini ispatlamaktadır.

Walker ve Beroza (29) organik fosforlu ve organik klorlu inektisidlerden 63 tanesinin aynı ince-tabaka kromatografisi işlemiyle bir arada aranması için bildirdikleri metodda, çözücü sistemleri olarak kloroform, n-hekzan veya benzolün etil eter, etil asetat, aseton, metil alkol ve asetik asit ile % 10 karışımlarını ve ayrıca n-hekzan ile asetonun % 20 karışımını önermiştir. Bu araştırmacılar, silikajel-G plâkaların developmanından sonra sırasıyla brom buharı, floresein ve sonra da gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcının püskürtülmesiyle organik fosforlu inektisidlerin pembe zeminde parlak yeşilimsi lekeler biçiminde ortaya çıktığını ve daha sonra ultraviyole ışığa tutulunca organik klorlu inektisidlerle bazı organik fosforuların kahverengimsi zeminde beyazımsı lekeler halinde belirdiğini bildirmişlerdir. Luckens (20) de Walker ve Beroza'nın metodunu uyarlayarak kullanmıştır. Wang ve Chou (30) ise organik fosforlu, organik klorlu ve karbamat grubu inektisidleri poliamid ile kaplanmış plâkalarda brom, floresein ve o-toluidin ayırıcılarının sıra ile kullanılması suretiyle aramışlardır.

Walker ve Beroza'nın (29) yönteminde kullandığı çözücü sistemlerini uyguladığımızda her bir sistemin organik fosforlu ve organik klorlu inektisidleri bir arada iyi bir biçimde separe edemediği sonucuna vardık. Bunlar içinde bulunan ve Vural (28) ile Ceylan'ın (8) da yararlandığı hekzan + aseton (80 + 20) sisteminin organik fosforlu inektisidlerin separasyonunda daha iyi sonuç verdiğini gördük. Çözücü sistemi olarak Moats'ın (22) organik klorlu inektisidlerin rezidü analizlerinde önerdiği siklohekzan + aseton (95 + 5) sisteminin hem (95 + 5) ve hem de (90 + 10) oranlarında uygulanmasının her iki gruptaki inektisidlerin separasyonunda teşhisi sağlayabilecek ölçüde Rf değerleri verdiğini saptadık. Öte yandan, klorlu hidrokarbonlar için uyguladığımız hekzan ve n-heptan çözücülerinin çok iyi sonuç verdiği daha önceki araştırmamızda da (3, 9) ortaya konulmuştur. Çalışmamızda plâka kaplamada, floresan madde içeren bir adsorban (silikajel HF₂₅₄) kullanmak suretiyle floresein ayırıcının sonradan plâkaya püskürtülmesi işlemi ortadan kaldırılmıştır.

Bizim bugüne değin toksikolojik analizlerde inektisidler konusunda karşılaştığımız önemli güçlüklerden birisi, organik fosforlu inektisidlerle organik klorlu inektisidlerin grup olarak kesinlikle birbirinden ayırtedilebilmesi ve diğeri de aynı ince-tabaka kromatog-

rafisi prosedürü içinde her bir insektisidin yanılmadan identifiye edilmesidir. Bu araştırma ile yukarıdaki sorunları büyük ölçüde çözümlendiğimiz kanısındayız. Çünkü uyguladığımız yöntemdeki birbirini izleyen birkaç kademede, metod bölümünde ayrıntılarıyla değinildiği üzere, insektisidlerin hem grup olarak ve hem de birer birer identifikasyonu sağlanmıştır.

Daha önce de tarafımızdan denenen belirtme ayıraçlarından kongo kırmızısının (8) organik fosforlular için, gümüş nitrat-fenoksi-etanolün de (9) organik klorlular için duyarlı olduğu ve uzun süre solmadan kalabilen keskin renkli lekeler verdiği saptanmıştır. Bu çalışmamızda her iki ayırıcının bir prosedür içinde birleştirilerek organik fosforlu ve organik klorlu insektisidler için kombine bir ince-tabaka kromatografisi yöntemi uyarlaması yapılması suretiyle çalışmamızdaki insektisid numuneleri dışında kalan tüm tiyofosfat ve organik klorlu insektisidler için de yararlı olabilecek bir ayırıcıl teşhis olanağı yaratılmıştır.

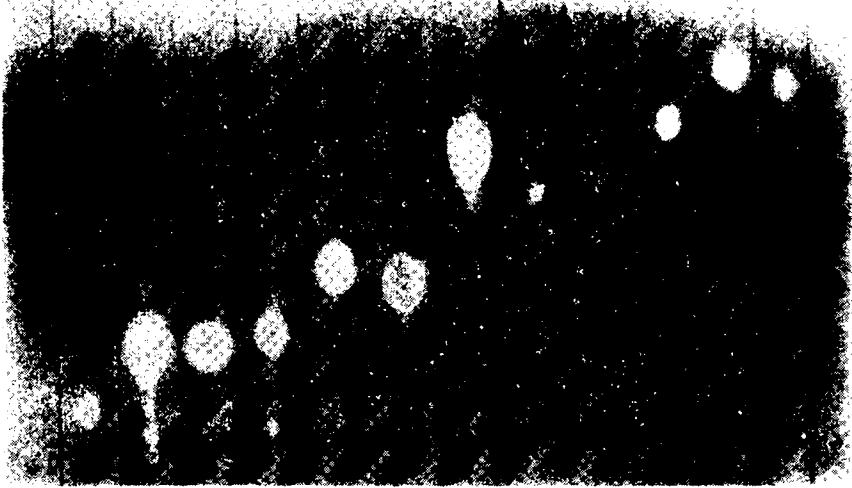
Literatür

- 1- **Abbott, D.C. and Thomson, J.** (1966) : *Pesticide residue analysis by thin-layer chromatography.*, Pest Articles and News Summaries, 12 (1-2), 21-34.
- 2- **Abbott, D.C., Tatton, J.O.G. and Wood, N.F.** (1969) : *A Screening method for organochlorine pesticide residues using thin-layer chromatography.*, J. Chromatogr., 42, 83-88.
- 3- **Akman, M.Ş., Ceylan, S., Şanlı, Y., Gürtunca, Ş. ve Akşiray, F.** (1975) : *Karadenizde avlanan balıklarda ve bu balıklardan elde edilen balık yağı ve balık unlarında klorlu hidrokarbon insektisid rezidülerinin araştırılması.*, T.Ü.B.İ.T.A.K. Vet. ve Hayv. Araşt. Grubu, Proje No, VHAG-191. (Basılmadı)
- 4- **Baumler, j. and Rippstein, S.** (1961) : *Dünnschicht chromatographischer nachweis von insektiziden.*, Hel. Chim. Acta, 44, 1162.
- 5- **Beck, j. and Sherman, M.** (1968) : *Detection by thin-layer chromatography of organophosphorus insecticides in acutely poisoned rats and chickens.*, Acta Pharmacol. Toxicol., 26, 35-40.
- 6- **Braithwaite, D.P.** (1963) : *Detection of phosphorothioate pesticides.*, Nature, 200, 1011.
- 7- **Bunyan, P.j.** (1964) : *The detection of organophosphorus pesticides on thin-layer chromatograms.*, Analyst, 89, 615-618.

- 8- **Ceylan, S.** (1971) : *Organik fosforlu insektisidlerle zehirlenmelerde bunlardan başlıcalarının materyalden kimyasal yol ile araştırılması.*, Dokt. Tezi, A.Ü. Vet. Fak. Yayınları: 274, Çalışmalar: 176, A.Ü. Basımevi, 1 72.
- 9- **Ceylan, S.** (1975) : *Klorlu hidrokarbon insektisidlerin rezidülerinin süt, tereyağı, peynir ve içyağlarında kromatografik yöntemlerle araştırılması.*, Doç. Tezi, A.Ü. Vet. Fak. (Yayınlanmadı).
- 10- **Coutselinis, A.C.** (1970) : *Separation and identification of some organophosphorus pesticides from liver by two-dimensional TLC.*, Med. Sci. Law, 10 (3), 178-179.
- 11- **Crabtree, A.N.** (1966) : *A rapid method for confirming identification of chlorinated insecticides by thin-layer chromatography.*, Lab. Pract., 15, 313.
- 12- **El-Refai, A. and Hopkins, T.L.** (1965) : *Thin-layer chromatography and cholinesterase detection of several phosphorothiono insecticides and their oxygen analogs.*, J. Agr. Food Chem., 13, 477-481.
- 13- **Faucheux, L.J.** (1965) : *Diphenylamine-zinc chloride as a chromogenic agent for the detection of a mixture of DDT, chlordane and toxaphene on thin-layer chromatograms.*, J. A. O. A. C., 48 (5), 955-958.
- 14- **Irudayasamy, A. and Natarajan, A.R.** (1965) : *The detection of thiophosphate insecticides on paper chromatograms with Congo Red.*, Analyst 90, 503-504.
- 15- **Kawatski, J.A. and Frasch, D.L.** (1969) : *Note on a two-dimensional thin-layer chromatographic technique for identification of pesticide residues in troublesome samples.*, J. A. O. A. C., 52 (5), 1108.
- 16- **Kovacs, M.F. Jr.** (1963) : *Thin-layer chromatography for chlorinated pesticide residue analysis.* J.A.O.A.C., 46 (5), 884-893.
- 17- **Kovacs, M.F. Jr.** (1965) : *Thin-layer chromatography for pesticide residue analysis.* J.A.O.A.C., 48 (5), 1018-1022.
- 18- **Kovacs, M.F. Jr.** (1966) : *Rapid detection of chlorinated pesticide residues by an improved TLC technique : 3 1/4 x 4" microslides.* J. Assoc. Offic. Anal. Chemists, 49 (2), 365-370.
- 19- **Laws, E.R. and Webley, D.J.** (1961) : *The determination of organophosphorus insecticides in vegetables.* Analyst, 86, 249.
- 20- **Luckens, M. M.** (1966) : *Screening tissues and urine for pesticides.* J. Forensic Sci., 11 (1), 64-74.

- 21- **MacRae, H.F. and McKinley, W.P.** (1961) : *Chromatographic identification of some organophosphate insecticides.* J.A.O.A.C., 44, 207-211.
- 22- **Moats, W.A.** (1966) : *Analysis of dairy products for chlorinated insecticide residues by thin-layer chromatography.* J.A.O.A.C., 49 (4), 795-800.
- 23- **Morley, H.V. and Chiba, M.** (1964) : *Thin-layer chromatography for chlorinated residue analysis without cleanup.* J.A.O.A.C., 47 (2), 306-310.
- 24- **Mukherjee, G., Mathew, T.V., Mukherjee, A.K. and Mitra, S. N.** (1971) : *Identification and separation of chlorinated pesticides by TLC on magnesium hydroxide.* J. Food Sci. Technol., 8 (3), 152-153.
- 25- **Ramasamy, A.** (1969) : *The identification and estimation by thin-layer chromatography of organo-phosphorus and carbamate insecticides.* W.H.O. Bull., WHO/VBC/69. 115, 1-11.
- 26- **Sa, F. and DaSilva, M.E.** (1967) : *Note on identification of Azinphos-methyl in human tissues and in figs.* J.A.O.A.C., 50, 1258-1260.
- 27- **Visweswariah, K. and Jayaram, M.** (1971) : *Detection and quantities of certain chlorinated pesticides by micro-thin layer chromatography.* J. Chromatogr., 62 (3), 479-484.
- 28- **Vural, N.** (1968) : *Memleketimizde kullanılan organik fosforlu insektisidlerin ince-tabaka kromatografisi ile incelenmesi.* Dokt. Tezi, A.Ü. Eczacılık Fakültesi.
- 29- **Walker, K.C. and Beroza, M.** (1963) : *Thin-layer chromatography for insecticide analysis.*, J.A.O.A.C., 46 (2), 250-261.
- 30- **Wang, R.T. and Chou, S.S.** (1969) : *A simple and rapid separation of pesticides by polyamide chromatography.* J. Chromatogr., 42 (3), 416-418.
- 31- **Winterlin, W., Walker, G. and Frank, H.** (1968) : *Detection of cholinesterase-inhibiting pesticides following separation on thin-layer chromatograms.* J. Agr. Food Chem., 16, 808-812.

Yazı "Dergi Yazı Kurulu"na 13.2.1976 günü gelmiştir.



Şekil 1. Organik fosforlu ve klorlu insektisidlerin silikajel HF₂₅₄ ile kaplanmış plakada sikloheksan + aseton (90+10) sistemiyle developmandan sonra sırasıyla bromla oksidasyon, gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcı püskürtülmesi ve U.V. ışığa tutulmasıyla elde edilen kromatogram.

1. Metasistoks, 2. Gusathion, 3. Malathion, 4. Metil parathion, 5. Folithion, 6. Parathion, 7. Lebaysid, 8. Trithion, 9. Lindan, 10. Alfa BHC, 11. Dieldrin, 12. Endrin, 13. p,p'-DDT.



Şekil 2. Şekil 1'deki aynı kromatogram üzerine kongo kırmızısı ayırıcının püskürtülmesinden sonra kırmızı zeminde koyu mavi lekeler halinde beliren organik fosforlu insektisidler.