

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

KLORLU HİDROKARBON İNSEKTİSİDLERİN REZİDÜLERİNİN SÜT, TEREYAĞI, PEYNİR VE İÇYAĞLARINDA KROMATOĞRAFİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI*

Selahattin Ceylan**

Determination of chlorinated hydrocarbon insecticide residues in milk, butter, cheese and fat samples by chromatographic methods

Summary: This research was attempted for the detection and determination of organic chlorinated insecticide residues in milk, butter, cheese, and renal fat samples of cattle obtained from the Ankara market. A total of 80 samples were analysed by simultaneous column chromatography, gas - liquid and thin - layer chromatography. In the column chromatographic clean - up of extracts Florisil columns were used. An experimental column utilizing the Eskişehir Sepiolite as adsorbent was also tested on fat samples in recovery experiments. As summary, the following results were obtained:

1. The column chromatographic separation of residues on the powdered Eskişehir Sepiolite by the procedure similar to the Florisil column resulted in 95 - 100 per cent recovery of the insecticides added to the fat samples. It was concluded that Florisil can be replaced with the sepiolite powder if working conditions are standardized.

2. The most common residues found in the samples were p, p' - DDT, p, p' - DDE, o, p' - DDT, alfa - BHC and lindane. They were observed to be at high levels. Few samples showed dieldrin and endrin residues. Aldrin and methoxychlor could not be found in any of the 80 samples. Total amounts of the residues found in the samples are as follow:

Samples	Mean Total Residues (p.p.m)
Renal fat	3.714 ± 2.112
Butter	3.575 ± 1.510
Cheese	1.037 ± 0.047
Liquid milk	0.132 ± 0.047

* Bu çalışma aynı adlı doçentlik tezinden özetlenmiştir.

** A. Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü Doçenti, Ankara, Türkiye.

Özet: Organik klorlu insektisid rezidülerinin Ankara piyasasından sağlanan süt, tereyağı, peynir ve içyağlarındaki miktarlarının saptanması amacıyla yapılan bu çalışmada, toplam 80 numune üzerinde kolon kromatografisi, gaz-likid ve ince tabaka kromatografisi yöntemleriyle analizler yapıldı. Ekstrelerin temizlenmesinde Florisil ile hazırlanmış kolonlar kullanıldı. Ayrıca, Eskişehir Lületaş tozundan hazırlanan kolonlar ile insektisid katılmış çeşitli yağ numuneleri üzerinde deneysel çalışmalar yapıldı. Özet olarak aşağıdaki sonuçlar elde edildi:

1. Eskişehir lületaş tozu ile, Florisille ilgili aynı işlemler uygulanarak, yapılan deneysel kolon kromatografisi çalışmalarında, yağ numunelerine katılmış olan insektisidlerin % 95 - 100 arasında geriye alınması başarıldı. Çalışma koşullarının standardize edilmesi halinde, Eskişehir Lületaş tozunun Florisil yerine aynı amaçla kolon kromatografisinde kullanılabilceği kanısına varıldı.

2. Piyasadan sağlanan numunelerde en yaygın rezidüler olarak p, p' - DDT, p, p' - DDE, o, p'-DDT, alfa - BHC ve lindan yüksek düzeylerde bulundu. Az sayıda numunede dieldrin ve endrin rezidüleri saptandı. Aldrin ve metoksiklor rezidüleri hiç bir numunede bulunamadı. Toplam insektisid rezidü düzeylerinin numune çeşitlerine göre ortalamaları şöyledir:

Numune Türü	Toplam Rezidü Ortalaması (p.p.m.)
İçyağı	3.714 ± 2.112
Tereyağı	3.575 ± 1.510
Peynir	1.057 ± 0.047
Sıvı süt	0.132 ± 0.047

Giriş

Türkiyede pestisidlerin ruhsat, tescil ve satış işlemleri devlet kontrolü altındadır. Ancak, kullanma yönünden etkin bir denetim ve yeterli bir eğitim düzeni sağlanamadığından her yıl pestisidler yüzünden insan ve hayvanlarda geniş ölçüde akut zehirlenmeler meydana geldiği bilinmektedir. Öte yandan, ülkemizde üretilen besinlerde pestisidlerin hangi düzeyde bir kontaminasyon doğurduğu ve doğal çevredeki etkilerinin ne dereceye ulaştığı belirsizdir. Bu konularda yapılan araştırmalar, insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından doğabilecek tehlikelere karşı alınabilecek önlemler için çok değerli veriler sağlamaktadır.

Bu çalışmanın amacı, bir yönüyle hayvansal besinlerde ve hayvanların içyağlarındaki organik klorlu insektisid rezidülerinin nitelik ve niceliklerinin saptanması, olanaklar ölçüsünde kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi; öteki yönüyle modern rezidü analiz metodlarının bizim için en uygun işlemlerinin seçilmesi ve bazı metod uyarlamaları yapılmasıdır.

Canlıların ve çevrenin insektisidlerle kontaminasyonu :

Kalıcı insektisidlerin yaygın olarak kullanılması sonucunda çeşitli fiziksel ve biyolojik yollarla ekosistemler içinde taşındığı uzun zamandır bilinmektedir. İnsektisidler, toz şeklinde ve özellikle uçakla yüksekten uygulanmışsa çok küçük partiküller halinde dünyanın her yanına sürüklenme olanağını bulur. Kutuplarda yaşayan canlılarda bile rezidülerin bulunmasının nedeni, buzların ve deniz suyunun havadan presipitasyonla bulaşmasıdır (53, 67), 1965'de A.B.D.'nde Cincinnati'de fırtına ve yağmurdan sonra çatılardan alınan toz-toprak numunelerinde (69), Londra havasında (1) ve yağmur suyunda (72) başta DDT olmak üzere, çeşitli organik klorlu insektisidler bulunmuştur.

Su sistemlerinin kontaminasyonu, doğrudan veya aksidental insektisid uygulamalarından, çeşitli yollarla rezidü taşınmalarından ve bulaşık üretim artıklarının suya dökülmesinden ileri gelmektedir (5, 53).

Yabanî hayvanlar, çevre ile sıkı ilişkileri dolayısıyla temas, ya da beslenme zinciri aracılığıyla rezidüleri alır (21).

Organik klorlu insektisidlerle en çok bulaşma olasılığı süt ve süt ürünleri, et, balık ve kümes hayvanları için söz konusudur. Evcil hayvanların ve hayvansal besinlerin kontaminasyonu başlıca aşağıdaki nedenlerden ileri gelir (22, 26, 27, 60):

1. İnsektisidlerle yem ve otlakların bulaşması,
2. İnsektisidlerin evlerde, hayvan barınaklarında ve hayvanların vücudu üzerinde kullanılması,
3. Süthanelerde ve yakın çevresinde insektisid uygulanması.

Metabolizma ve birikme :

Bu gruptaki insektisidler, insan ve hayvan vücudunda çeşitli metabolik değişimlere uğrar. DDT, dehidroklorine türevi olan 1, 1-dikloro - 2, 2- bis (p-klorofenil) etilen (DDE) ve asetik asit türevi olan bis-p-klorofenil asetik asit (DDA) metabolitlerine dönüşür (25,41). DDA, DDT'nin idrarla çıkarılan son metabolizma ürünü olarak nitelenir (64). Siklodien grubu organik klorlu insektisidlerden aldrin dieldrin'e, heptaklor ise heptaklor epoksid'e metabolize olur (4, 26).

Organik klorlu insektisidler, yağda çözünme özellikleri yüzünden vücut yağlarında birikmeğe eğilim gösterir. Vücutta depolanan DDT miktarı rasyondaki rezidünün 6-28 katına ulaşabilir ve bunun % 50 kadarı üç aydan fazla vücutta kalabilir (42). Kuşlar da yağ dokula-

rında ve yumurtalarında çok miktarda insektisid depolayabilmektedir (53). Benzen heksaklorür (BHC) izomerleri içinde vücutta en çok birikme eğilimi olan beta-BHC'dir; bundan sonra alfa-BHC ve gamma-BHC (lindan) gelir (64).

Bütün organik klorlu insektisidler, diğer atılma yollarından başka sütle de çıkarılır (58). Sütle çıkarılan miktar, insektisidin türüne ve dozuna göre değişir. Özellikle heptaklor epoksid, beta-BHC ve dieldrin süte yüksek oranda geçmektedir (23). İneklerin 0,023 p. p. m. DDT bulunan yemle beslenmesi sonucunda laktasyonun ilk haftalarında süt yağında 0,68 p. p. m. (yemdeki 30 katı) DDT rezidüsü bulunduğu gösterilmiştir (10). İsektisidli sütlerden yapılan tereyağlarında rezidüler konsantre edilir (61).

Kronik toksisite :

Organik klorlu insektisidlere maruz kalmış insanlarda motor polinöyropati oluşabildiği (28), lindan buharlarının inhalasyonu ile aplastik anemi şekillendiği (70) ve evlerde insektisidlerin kullanılması sonucunda sinüs hastalıkları, astma ve bronşit meydana gelebildiği (34) belirtilmiştir. Kronik zehirlenmelerde genellikle karaciğer ve kanda bazı bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Kanserojen veya teratojen etkileri olup olmadığı kesinlikle kanıtlanmış olmamakla (60, 73) birlikte kanserli, portal siroz ya da hipertansiyonlu hastalarda vücuttaki rezidü yoğunluğunun arttığı ileri sürülmektedir. Ensefalomalasi ve serebral hemoraji olaylarında da vücuttaki p, p'-DDE miktarının ortalamanın üzerinde olduğu saptanmıştır (59). İsektisidleri oldukça yüksek düzeylerde almış kişilerde enzimlerde ve amino asitlerde değişiklikler olmaktadır; ancak bunların hücresel bir hasarın yankısı mı, yoksa zararlı bir hücresel adaptasyon durumu mu olduğu saptanabilmiş değildir (66).

Çeşitli türden hayvanlarda organik klorlu insektisidler, karaciğerde ilaçların mikrozomal oksidasyonunu ve steroidlerin mikrozomal hidroksilasyonunu uyarmaktadır (39). Karaciğer hücrelerinde sodyum birikmesi ve kalsiyum azalması yaptıkları için hücrelerde uyarma şekillenmektedir (68), 100 p. p. m. p, p'-DDE'nin dört hafta yedirilmesi güvercinlerde femurun medüller formasyonunda % 52 azalmaya yol açmaktadır (55). Tibia ve femurdaki kalsiyum azalmasının kanda östradiol düzeyinin düşmesiyle ilgili olduğu düşünülmüştür. (57). 10 p. p. m. DDT yedirilen dişi güvercinlerde ve tavuklarda yumurta üretiminde düşme ve yumurta kabuğunda incelleme olmaktadır. Bunun nedeni olarak DDT'nin karbonik anhidrazı inhibe etmesi gösterilmiştir (57, 62). Köpeklere 14 gün süreyle günde

50 mg/kg o, p'-DDD verilmesi selektif bir glukokortikoid eksikliği oluşturmuştur (14). Farelere iki yıl süreyle 10 p. p. m. aldrin ve dieldrin yedirilmesinin, iyi huylu karaciğer tümörlerinin insidensinde artışlara neden olduğu anlaşılmıştır (15). Ayrıca DDT'nin antikor yapan hücrelerdeki inhibe edici etkisi yüzünden antikor şekillenmesini azaltabileceği de ileri sürülmektedir (21).

Yabanî hayvanlarda meydana gelen çeşitli ölümlerin nedenleri arasında organik klorlu insektisidler önemli bir yer tutmaktadır (7). Nitekim çulluk, güvercin ve sülün gibi hayvanların etlerinde 10 p. p. m. dieldrin ve 20 p.p.m. heptaklor epoksid bulunmasının, tilkilerde ise aynı şekildeki 3 p. p. m. dieldrinin ölüme neden olabileceği anlaşılmıştır (41). Balıklarda ve balıkla beslenen kuşlardaki üreme yetersizlikleri insektisidlerin kronik toksik etkilerine bağlanmaktadır (21).

İnsektisidlerin olumsuz etkilerinin yanında pestisidlerin etkileşmelerinin ekolojik yönden yarattığı sorunlar konusunda bugünkü bilgilerimiz oldukça azdır. Pestisidlerin kullanılması sonucunda ilk önce doğada rezistansı az olan canlı türleri yok olmakta, bunlarla beslenen canlıların popülasyonunda azalmalar meydana gelmekte ve doğal düşmanlarının azalması sonucunda başka canlı türleri çoğalmaya başlamaktadır. Bu durum doğal dengenin alt üst olmasına neden olmaktadır (50, 67), Milyarda on kısım DDT denizlerde fitoplanktonlardaki fotosentezi büyük ölçüde engelleyebilmektedir (63).

Materyal ve Metod

Analizi yapılan numuneler: Organik klorlu insektisid rezidüleri - her birinden 20'şer adet olmak üzere- E. B. K. Ankara Et Kombinasında kesilen sığırların böbrek yağlarında; A. Ü. Veteriner Fakültesinde beslenen ineklerin, Lalahan Veteriner Zootečni Araştırma Enstitüsünün ve Atatürk Orman Çiftliğinin sütlerinde; Ankaranın çeşitli yerlerinden, geldiği iller soruşturularak alınan tereyağı ve beyaz peynir numunelerinde araştırıldı.

İnsektisid standartları: Arı organik klorlu insektisidlerden p, p'-DDT, o, p' - DDT, p, p' - DDE, metoksiklor, alfa - BHC, gamma-BHC, aldrin, dieldrin ve endrin ile aşağıdaki standart çözeltiler hazırlandı:

A. Her insektisidden 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ tutan ayrı ayrı çözeltiler.

B. Tüm insektisidleri bir arada tutan 0.01 - 1.00 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$ arasındaki dilüsyonlar.

C. Her insektisidden 100 pg / μ l tutan ayrı ayrı dilüsyonlar.

D. Metoksiklor dışında tüm insektisidleri bir arada tutan 25 pg-1 ng / μ l arasındaki dilüsyonlar.

Metoksiklor, önemli bir rezidü sorunu yaratmadığı için yalnız ince-tabaka kromatografisi ile araştırılması yeterli görülerek, gaz kromatografide kullanılacak olan bu son çözeltiye alınmadı.

Aygıtlar ve ayraçlar :

1. *Gaz - likid kromatograf:* Pye-Unicam 104 Model, Ni⁶³ detektörlü electron capture kromatograf; Philips PM 8000 Model 1 mV kaydedici ve arı nitrojen doldurulmuş gaz tüpü ile birlikte kullanıldı. Aygıtta 100 - 120 mesh Gas Chrom-Q destek maddesi üzerine % 3 OV - 17 ile hazırlanmış 1.5 m x 4 mm iç çaplı cam paket kolon takıldı.

2. *İnce-tabaka kromatografisi aygıtı ve ekleri* (Desaga)

3. *Ultraviyole lambası*, 16 Watt, uzun ve kısa dalga (Pleuger).

4. *Kolon kromatografisi için musluklu cam kolonlar :*

20 x 400 mm ve 25 x 500 mm iç çaplı

5. Etüv, elektrikli ben-mari, sokslet aygıtları, Kuderna-Danish evaporatif konsantratörler, ayırma hunileri, yuvarlak dipli balonlar, 15 ml. lik konik santrifüj tüpleri.

6. *Florisil*, 60-100 mesh: MgO (% 15.5), SiO₂ (% 84), Na₂SO₄ (% 0.5) (Schuchardt ve B. D. H.)

7. *Lületaşı tozu:* Eskişehirden getirilen parçalardan hazırlandı.

8. *Aluminyum oksit-G* (Type E, Merck)

9. *Gümüş nitrat-fenoksietanol ayracı:* 0.1 g. gümüş nitrat, 1 ml damıtık suda çözdürüldü; üzerine 20 ml 2- fenoksietanol konulup karıştırıldı ve asetonla 200 ml'ye tamamlarken 3 damla % 30 hidrojen peroksit katıldı.

10. Diğer ayraçlar olarak hekzan, n-heptan, petrol eteri (k. n. 40-60°C), etil eter, etil alkol, doymuş sodyum okzalot çözeltisi ve susuz sodyum sülfat kullanıldı. Tüm çözücüler kullanılmadan önce damıtıldı.

Nümunelerin hazırlanması ve ekstraksiyon: Sığır böbrek yağı nümuneleri beherglaslar içinde 100°C'lik etüvde eritilip Whatman no. 1 süzgeç kağıdından süzüldü. Tereyağı nümuneleri 50°C'lik etüvde eritilip aynı şekilde süzüldü (12, 19). Sütten yağın ekstraksiyonu için, çok basit ve etkin oluşu dolayısıyla, Moats'ın (49) yöntemi kullanıldı.

di: 10 ml süt nümunesine 1 ml doymuş sodyum okzalate çözeltisi ve 10 ml. etil alkol katıldıktan sonra bir ayırma hunisinde sırasıyla 25 ml. etil eter ve 25 ml. petrol eteriyle çalkanarak yağ elde edildi. Süt nümunelerinin yüzde yağ oranları hesaplandı. Peynir nümunelerinden 5'er gram alınıp susuz sodyum sülfatla karıştırıldı. Sokslet aygıtlarında 100 ml. heksanla yağ ekstraksiyonu yapıldı. Çözücü uçurulup yağ tartılarak yağ oranları hesaplandı.

Rezidülerin yağdan temizlenip ayırılması: Florisil, 130°C'de 5-8 saat ısıtılarak aktive edildi (31,33) ve % 0.5 oranında çift damıtık su katılıp karıştırılarak aktivitesi kısmen azaltıldıktan sonra kolon kromatografisinde kullanıldı. Deaktivasyon yapmadan kullanılan Florisil yağı tümüyle tutmakta, fakat bu arada endrin ve dieldrinin elüsyonuna da izin vermemektedir (52). Bu nedenle yapılan ön deneyler sonucunda % 0.5 su katılarak deaktive edilen Florisilin optimal koşulları sağladığı anlaşıldı.

Yağ nümunelerinden rezidülerin ayırılması için kolon kromatografisi- numunede bulunduğu tahmin edilen rezidülerin az veya çok oluşuna göre - iki yöntemle yapıldı:

(a) 0.4 gram yağdan separasyon için 20 x 400 mm cam kolona 10 cm yüksekliğe kadar Florisil doldurulup üzerine 1-1.5 cm. susuz sodyum sülfat paketlenildi (19, 47, 49, 65). Petrol eteri (50 ml) - metilen klorür (50 ml) karışımı ile ön yıkama yapıldı. 0.4 g. yağ 2 ml. petrol eteri porsiyonları ile bir kaç kez eritilip kolon üzerine aktarıldı. Kolonun alt ucuna bir Kuderna-Danish konsantratör ya da 500 ml. yuvarlak dipli bir toplama balonu yerleştirildi. Petrol eterde % 15 metilen klorür karışımından 250 ml. kullanılarak, musluk dakikada 5 ml. akıtacak biçimde ayarlanmak suretiyle, elüsyon yapıldı (35, 49). Bu yöntemde 0.4 gramdan fazla yağ kullanılırsa elüsyon çözeltisine geçen yağ artmaktadır.

(b) 1 gram yağdan separasyon için aynı tipteki cam kolona 10 cm'ye kadar (25 g. dolayında) Florisil dolduruldu. Aynı biçimde ön yıkaması yapıldı. İlk durumdaki, eritilmiş 1 g. yağ, 20 g. Florisil ile bir cam havanda iyice karıştırıldı ve hazırlanmış kolonun üzerine paketlenildi (40, 52). Petrol eterde % 20 metilen klorür karışımından, rezidü miktarına göre, 250-500 ml. çözücü kullanılarak elüsyon tamamlandı (40).

Yoğunlaştırma: Yağdan ayırılmış olarak insektisid rezidülerini tutan çözücü karışımı, üç bul'lu bir Snyder kolonu takılmış konsantratörde, ben-mari üzerinde 2-3 ml'ye kadar yoğunlaştırıldı; petrol eteriyle yıkamalar yapılarak 15 ml'lik konik santrifüj tüpüne alındı

ve ben-mari üzerinde, yalnız dip kısımdan ısıtılarak, içine atılan çok küçük bir cam boncuk yardımıyla 0.5 ml. dolayına kadar uçuruldu. Kalan kısmın laboratuvar ısısında kendi kendine uçması sağlandı. Böylece, yoğunlaştırma sırasında insektisid rezidülerinde meydana gelebilecek kayıpların önüne geçildi. Elusyon çözeltisinin yoğunlaştırılmasında uzun boyunlu, yuvarlak dipli 500 ml'lik balonlarında konsantratörün görevini, rezidü kaybı yaratmaksızın, yaptığı deneylerimizle görüldüğü için pratik açıdan daha basit ve kolay bir işlem olduğu kanısına varıldı.

Konik santrifüj tüpündeki son yoğunlaştırmadan sonra dipte kalan rezidü, gaz kromatografisi ve ince-tabaka kromatografisinde yapılacak analizler için, 10 ml n-hekzanda çözdürüldü.

Gaz-likid kromatografi ile nitel ve nicel analiz : Aygıtın çalışma koşulları, standart insektisid çözeltileriyle yapılan ön deneyler sonucunda aşağıdaki biçimde belirlendi:

Enjeksiyon bölümünün ısısı	: 200°C
Kolon fırınının ısısı	: 190°C
Detektör fırınının ısısı	: 300°C
Taşıyıcı gaz ve akış hızı	: Nitrojen, 75 ml/dk.
Pulse space	: 150 μ S
Attenuation	: 5 x 10 ²
Backing off range	: x 100

Aygıt, en az 48 saat çalıştırılarak kolonun şartlanması ve stabilizasyon sağlandıktan sonra (C) standart çözeltilerinden birçok kez 1 μ l enjekte edilerek, her insektiside ait "alıkoyma zamanı" (retention time) ortalamaları belirlendi (Çizelge 1).

Çizelge 1. Organik klorlu insektisidlerin gaz kromatografide çalışma koşullarımızda saptanan ortalama alıkoyma zamanları

İnektisid	Alıkoyma Zamanı	
	Dakika	Saniye
Alfa -- BHC	4	19
Gamma -- BHC	5	48
Aldrin	9	19
p, p' -- DDE	23	03
Dieldrin	23	03
Endrin	28	46
o, p' -- DDT	34	45
p, p' -- DDT	45	50

Gaz kromatografi ile rezidülerin nicel analizine esas olmak üzere, (D) standart çözeltilerinden şırınga edilerek 25 pikogramla 1

nanogram arasında (25 - 50 pg. lık ayrımlarla) bir seri standart kromatogram hazırlandı. Bunlardan mikrolitrede 100 pg. düzeyinde insektisidlerle elde edilen bir örnek kromatogram Şekil 1'de görülmektedir.

Numunelerdeki rezidülerin saptanması: Santrifüj tüpünde 10 ml'ye dilüe edilmiş ekstrakt çözeltisinden 1 μ l enjekte edilerek çizdirilen kromatogramda şekillenen tepeciklerin alkoyma zamanlarından rezidülerin kimlikleri; tepeciklerin standart kromatogramlardaki tepecik alanlarıyla karşılaştırılmasından da 1 μ l'deki rezidü konsantrasyonları pikogram olarak bulundu (43). Nümunedeki rezidülerin milyonda kısım (p.p.m.) miktarlarını hesaplamak üzere aşağıdaki formülden yararlanıldı. :

$$T = \frac{W}{S}$$

T = p. p. m. olarak besin nümunesindeki insektisid yoğunluğu

W = Enjekte edilen 1 μ l nümunc ekstraktındaki insektisidin mikrogram olarak ağırlığı.

S — Enjekte edilen 1 μ l ekstraktta bulunan besin nümunesinin gram olarak ağırlığı.

Böylece içyağı ve tereyağı nümunelerindeki rezidü miktarları p. p. m. veya mg/kg. cinsinden ortaya çıkarıldı. Peynir ve sütteki p. p. m. rezidü yoğunluğu, yağ oranları dikkate alınarak hesaplandı.

Çalışma koşullarımızda dieldrin ile p, p'-DDE'nin alkoyma zamanları aynı olduğundan, bunların miktar ölçümleri daha sonra uygulanan ince-tabaka kromatografisi ile yapıldı.

İnce-tabaka kromatografisi ile nitel ve nicel analiz: Rezidü analizi için uyguladığımız yöntem, gencl çizgileriyle, Kovacs'ın (36, 37, 38) yaptığı gibidir. Ancak, kullandığımız alüminyum oksid-G (Type E-Merck) ile 20 x 20 cm'lik beş plakayı 0.250 mm kalınlıkta kaplamak için, 30 g. adsorban ve 60 ml. su yerine 45 g. adsorban ile 50 ml. suyun karıştırılmasının gerekli olduğu saptandı. Kaplanan plakalar 30-60 dakika kendi halinde kurutulup 100°C'lik etüvde bir saat aktive edildikten sonra kullanıldı.

(A) standart dilüsyonlarıyla önce insektisidlerin Rf değerlerinin saptanması, sonra da (B) dilüsyonlarıyla nicel ölçüm yapıp yapılamıyacağını ortaya konulması için kromatogramlar hazırlandı. Daha sonra da nümunelerdeki rezidülerin nitel ve nicel analizlerine geçildi.

Plakanın developmanı 100 ml. n-heptan (20, 36) veya hekzan (3, 14, 51) ile 10 cm. yüksekliğe kadar yapıldı. Tanktan çıkarılan plaka 5 dk. hava akımında kurutuldu ve üzerine homojen bir şekilde "gümüş nitrat-fenoksietanol ayıracı" püskürtüldü (29, 37, 38). Plaka 5 dk. daha hava akımında bırakıldıktan sonra 75°C'lik etüvde 15 dk. kurutuldu. Kısa dalga ultraviyole lambasının altına yerleştirildi; uygulanmış olan en düşük miktardaki insektisid lekeleri belirgin oluncaya kadar ışınlandı. İsektisidler, beyaz veya hafifçe sararmış zemin üzerinde yuvarlak, kahverenkli lekeler şeklinde ortaya çıkarıldı (Şekil 2).

Çalışma koşullarımızda, ince-tabaka kromatografisinde organik klorlu insektisidlerle elde edilen Rf değerleri Çizelge 2'de görülmektedir.

Çizelge 2. Alüminyum oksid — G ile 0.250 mm. kaplanmış plakalarda 10 cm. yüksekliğe kadar uygulanan developman sonucunda elde edilen insektisid lekelerinin ortalama Rf değerleri

İNSEKTİSİDLER	Rf DEĞERLERİ	
	Hekzanda	n—Heptanda
Aldrin	0.72	0.64
p, p' — DDE	0.66	0.53
o, p' — DDT	0.61	0.48
p, p' — DDT	0.49	0.35
Alfa — BHC	0.33	0.22
Gamma — BHC	0.25	0.17
Endrin	0.14	0.08
Dieldrin	0.10	0.06
Metoksiklor	0.03	0.02

Plakada görünür hale getirilen lekelerin alanları ve renk şiddetleri, insektisidlerin yoğunluğu ile orantılı olduğu için ince-tabaka kromatografisinde yarı-nicel (semi-kantitatif) ölçüm yapılabilmektedir (2, 3, 32). Bu özellik Şekil 2'de de görülmektedir. Bundan yararlanılarak, numunelerde bulunan rezidülerin konsantrasyonları aşağıdaki biçimde belirlendi:

Gaz kromatografa enjeksiyondan sonra kalan 10 ml. hekzan ekstaktı, plakaya uygulanabilecek hacme kadar, yoğunlaştırıldı. Tümü, tek leke halinde uygulandı. Aynı plakaya uygulanan 0.01 — 10 µg arasındaki dilüsyonlarla birlikte developman ve belirtim yapıldı. Nüme ekstrektından elde edilen lekelerle standart insektisid lekeleri karşılaştırılarak nitel ve nicel analiz sonuçlandırıldı. Uygulanan nüme lekесinin temsil ettiği nüme miktarı dikkate alınarak p. p. m. rezidü yoğunlukları bulundu.

Bu yöntemle saptanabilen en az insektisid miktarı 0.01 μg .’dır. Aynı plaka üzerinde, kolonlara ayırmak suretiyle, 18 lekenin developmanı yapılabilmektedir. Lekeler uzun süre solmadan kalmaktadır. Numune ekstraktında bulunabilen iz miktardaki yağ ve diğer kirlilikler insektisid lekelerinde engelleme yapmamaktadır.

Lületaşı tozu ile kolon kromatografisi çalışmaları

Insektisid rezidü analizlerinin pahalı işlemler oluşu ve Florisil gibi yurt dışından getirilen bir maddenin bu amaçla çok miktarda harcanması, bizi bu maddenin yerine kullanılabilir ve ucuza sağlanabilecek bir adsorbanın araştırılmasına yöneltti. Bu amaçla, Florisil gibi bir mağnezyum trisilikat olması dolayısıyla, Eskişehir Lületaşının yararlı olup olmayacağını belirlemek için bir seri deney yapıldı.

Eskişehir Lületaşı (Sepiolith, Meerschaum) kriptokristalin yapıdadır; Diluvyum Çağında şekillendiği sanılmaktadır. Kimyasal bileşimi $2 \text{ MgO} \cdot 3 \text{ SiO}_2 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ ’dur. Çok gözeneklidir, fazla su emer (6)

Lületaşı, irili ufaklı parçalar halinde Eskişehirden getirildi. Kirli kısımları ayıklandı. Bir cam havanda fazla inceltmeden toz edildi ve 0.5 mm. elekten geçirildi. Petrol eteriyle yıkanarak çeşitli organik kirliliklerden arındı. Toz kurutulup 500°C ısıda iki saat bırakılarak temizlik ve aktivasyonu sağlandı. Bu şekilde hazırlanan ve saklanan toz, kolon kromatografisinde kullanılacağı zaman Florisilde olduğu gibi aynı ısı derecesinde aktivasyon ve su ile aynı oranda deaktivasyon işlemleri yapıldı. Yine Florisil için uygulanan aynı koşullar altında 0.4 g. ve 1 g. yağdan insektisidlerin separasyonu amacıyla, 1 μg . düzeylerde standart insektisidlerden katılmış balık yağı, içyağı, tereyağı ile peynir ve süttten ekstrakte edilen yağlarla, lületaşıyla paketlenmiş kolonlarda deneysel analizler yapıldı. Elusyondan sonra gaz kromatografisi ve ince-tabaka kromatografisi ile ölçümler yapılarak, katılan insektisidlerin geriye alınabilen miktarları belirlendi. Elde edilen ortalama sonuçlara göre, aktivasyondan sonra deaktive edilmeden lületaşı tozuyla yapılan kolon kromatografisinde, p, p’-DDT’den yağa katılanın % 51’i, diğerlerinin ise % 75 - 100’ü geriye alınabildi (Çizelge 3, Şekil 3). Bu durumdaki kolondan ancak iz miktarda yağ elusyon çözeltisine geçmiştir. Aktivasyondan sonra % 0.5 oranında su ile karıştırılarak kısmen deaktive edilen lületaşı tozu kullanılmasından elde edilen sonuçlara göre, yağ numunelerine katılan standart insektisidler % 95-100 arasında geriye alınabilmiş (Çizelge 3) ve analizleri engellemeyecek kadar iz miktarlarda yağ geçtiği anlaşılmıştır.

Çizelge 3. Lületaş tozunun 130°C'de 5-8 saat aktivasyonundan sonra deaktivasyon yapılmadan ve % 0.5 su katılarak kısmen deaktivasyonundan sonra kolon kromatografisi ile yağdan insektisidlerin geriye alınabilen miktarları (yüzde olarak)

İNSEKTİSIDLER	Katılan insektisid (p.p.m.)	Analizlerde bulunan ortalama insektisid miktarı	
		Katılan su miktarları % 0.0	% 0.5
p, p' — DDT	1.0	51	99
o, p' — DDT	1.0	100	100
p, p' — DDE	1.0	96	98
Alfa — BHC	1.0	80	97
Gamma — BHC	1.0	94	100
Aldrin	1.0	95	97
Dieldrin	1.0	90	95
Endrin	1.0	95	98
Metoksiklor	1.0	75	100

Sonuçlar

Ankara, Türkiyenin hemen her ilinden getirilen besin maddelerinin pazarlandığı yer olması ve nüfus yoğunluğu dolayısıyla, nümunelerin sağlanması bakımından bu ilimiz seçildi. Böylece, Ankara'da tüketilen başlıca hayvansal besin maddelerindeki genel rezidü düzeylerini ortaya koymak ve aynı zamanda bunların getirildiği iller hakkında rezidüler yönünden fikir verme olanağı yaratıldı.

İçyağı analizleri : Temmuz - 1973 ile Nisan - 1974 arasında belli aralıklarla sağlanan sığır böbrek yağı nümuneleri Amasya, Ankara, Çankırı, Diyarbakır, Erzurum, Kars, Kastamonu, Sivas, Tokat ve Van illerinden gelen sığırlardan alındı. Analizler sonucunda en yaygın rezidülerin DDT ve BHC izomerleri olduğu saptandı. Erzurum'a ait bir nümunede DDT ve Kars'a ait bir nümunede BHC'ye rastlanmadı. Diğerlerinin tümünde DDT ve BHC bulundu. Dieldrin, yalnız Amasya'dan gelen bir sığırın ve Diyarbakır'dan gelen üç sığırın içyağında ortaya çıkarıldı. Bulunan dieldrin düzeyleri 0.120, 0.500, 0.450 ve 0.250 p. p. m. olarak belirlendi. Aldrin, endrin ve metoksiklor hiç bir nümunede bulunamadı. Böbrek yağlarında en yaygın bulunan rezidülerin ortalamalarının sıralanışı şöyledir:

Alfa-BHC	1.241	±	0.801
Gamma-BHC	0.853	±	0.649
p, p'-DDE	0.780	±	0.550
p, p'-DDT	0.398	±	0.296
o, p'-DDT	0.394	±	0.279

DDT izomerlerinin iç yağlarındaki rezidülerinin toplam ortalaması 1.558 ∓ 1.137 ; BHC izomerlerinininki 2.095 ∓ 1.357 'dir. Toplam DDT içinde % 49.5'i p, p' - DDE 'den oluşmaktadır.

Süt analizleri: Ocak - 1974 ile Eylül - 1974 arasında analizi yapılan sütlerin tümünde DDT rezidülerine rastlandı. BHC izomerleri Lalahan ve A. O. Ç.'ne ait iki nümune dışında hepsinde saptandı. Aldrin, endrin ve metoksiklor nümunelerin hiç birinde bulunamadı. Dieldrin 0.022, 0.012 ve 0.009 p. p. m. düzeylerinde yalnız üç nümune de rastlandı. En çok bulunan rezidülerin ortalama p. p. m. düzeyleri aşağıdaki biçimde sıralanmaktadır:

p, p'-DDE	0.043	\mp	0.018
Gamma-BHC	0.032	\mp	0.019
Alfa-BHC	0.027	\mp	0.018
p, p'-DDT	0.018	\mp	0.008
o, p'-DDT	0.009	\mp	0.006

Sütteki toplam DDT ortalaması $0,071 + 0.026$; toplam BHC ortalaması ise $0,059 \mp 0,033$ 'tür. Toplam DDT içinde % 57.3 bölümü p, p'-DDE'dir.

Terayağı analizleri: Haziran - 1973 ile Ağustos - 1974 arasında sağlanan numuneler Adana, Ankara, Aydın, Balıkesir, Erzurum, Eskişehir, İzmir, Kastamonu ve Sakarya illerinde üretilmiş yağlardan alındı. Numunelerin tümünde DDT bulundu; BHC bir nümune dışında hepsinde saptandı. Dieldrin dokuz nümune de $0.520 - 0.030$ p. p. m. arasında; endrin Adana, İzmir ve Sakarya'ya ait üç nümune de sırasıyla $0.410, 0.090$ ve 0.305 p. p. m. düzeylerinde bulundu. Aldrin ve metoksiklora hiç bir nümune de rastlanamadı. Tereyağlarındaki DDT ve BHC rezidülerinin ortalamaları şöyle sıralanmaktadır:

Alfa-BHC	1.531	\mp	0.932
Gamma-BHC	0.697	\mp	0.332
p, p'-DDE	0.647	\mp	0.298
p, p'-DDT	0.350	\mp	0.161
o, p'-DDT	0.177	+	0.110

Tereyağlarında ortalama toplam DDT 1.176 ∓ 0.490 ; toplam BHC 2.233 ∓ 1.193 'tür. Toplam DDT içinde % 55 bölümü p, p'-DDE'dir.

Peynir analizleri: Ocak - 1974 ile Eylül - 1974 arasında Adana, Afyon, Ankara, Balıkesir, Diyarbakır, Edirne, Eskişehir, İzmir, Kayseri, Kütahya ve Tekirdağ'da üretilen beyaz peynirlerden sağlanan

nümunelerin tümünde DDT ve BHC rezidülerinin bulunduğu anlaşıldı. Dieldrin yedi nümunede 0.010 - 0.170 p, p. m. arasında, endrin ise Adana ve Balıkesir'e ait iki nümunede sırasıyla 0,050 ve 0.110 p. p. m. düzeylerinde saptandı. Aldrin ve metoksikloro nümunelerde rastlanmadı. DDT ve BHC rezidülerinin ortalama düzeylerinin sıralanışı şöyledir:

p, p'-DDE	0.377	±	0.185
Gamma-BHC	0.286	±	0.079
Alfa - BHC	0.194	±	0.082
p, p'-DDT	0.122	±	0.085
o, p'-DDT	0.044	±	0.030

Peynirlerdeki toplam ortalama DDT miktarı 0.543 ± 0.241; toplam BHC 0.481 ± 0.151'dir. p, p'-DDE'nin DDT rezidüleri içindeki payı % 69'dur.

Analizlerde bulunan insektisid rezidülerinin tümünün besin türüne göre toplam miktarlarının ortalama dağılışı Çizelge 4'de görülmektedir. Buna göre en çok insektisid rezidü yoğunluğu içyağlarında saptanmıştır. Bunu, tereyağı, peynir ve süt izlemektedir.

Çizelge 4. Çeşitli hayvansal besinlerde bulunan organik klorlu insektisidlerin toplam rezidülerinin besinlere göre ortalama düzeyleri

Besin Türü	Toplam İsektisid (p. p. m.)
Sığır böbrek yağı	3.714 ± 2.112
Tereyağı	3.575 ± 1.510
Peynir	1.057 ± 0.347
Süt	0.132 ± 0.047

Tartışma

Organik klorlu insektisidlerin hayvansal besinlerdeki rezidü analizleri önce bir ekstraksiyon, sonra rezidülerin ekstrakttaki kirliliklerden, özellikle yağdan, temizlenerek ayırılması ve son olarak nitel ve nicel ölçüm kademelerinden oluşmaktadır. Ekstraksiyon için uyguladığımız yöntemlerde (12, 19, 49, 52) etkinlik ve çabukluk özelliği dikkate alınmış; Mills'in çok kullanılan metodu (47) ve modifikasyonları zaman alıcı bulunmuştur. Peynirden yağın hekzan ile Sokslet aygıtında ekstraksiyonu McGill ve Robinson'un (46) tanımladığı işlem modifiye edilerek yapılmıştır.

Insektisid rezidülerinin “sıvı-sıvı partiyon” işlemiyle yağ ve diğer kirliliklerden ayırılması çok kullanılan bir işlem (3, 16, 30, 44, 45) olmakla beraber, bu şekilde elde edilen rezidülerle bir arada, ince-tabaka kromatografisini engelleyecek derecede kirlilikler geçmekte ve tekrar bir temizleme zorunluğu doğmaktadır. Buna karşılık kolon kromatografisiyle – bizim de uyguladığımız – Florisil kullanmak suretiyle yapılan tek kademeli temizleme işlemleri (31, 35, 40, 48, 56) analiz süresini kısalttığı gibi rezidü kaybına da yol açmaz. Bu yöntemle bir grama kadar yağdan rezidülerin etkin olarak ayırılması yapılabilmektedir. Bu alandaki nicel analiz tekniklerinin aşırı duyarlılığı dolayısıyla daha çok yağ numunesi kullanmaya zaten gerek yoktur. Bu arada, Eskişehir Lületaşından hazırladığımız toz ile, Florisil kolonlarının koşullarında, yapılan deneysel çalışmalar sonucunda bir grama kadar yağdan rezidülerin etkin ve temiz bir separasyon olanağı bulunduğu ortaya konulmuştur.

Rezidü analizlerinde en çok kullanılan modern yöntemler olarak gaz-likid ve ince-tabaka kromatografisi olağanüstü separasyon gücü gösterir. Ancak, özellikle rezidülerin kimliği konusunda, yanılığa düşmemek üzere, çeşitli araştırmacıların önerdiği gibi (13, 24, 46) çalışmamızda her nümuncye her iki analiz yöntemi birlikte uygulandı.

Çeşitli ülkelerde hayvansal besinlerde rastlanan organik klorlu insektisid rezidülerinin durumuna ilişkin literatüre bakılacak olursa şöyle bir tablo görülmektedir:

Fransa’da kasaplık hayvanların içyağlarında sığırlarda 0.14 p. p. m. domuzlarda 0.02 p. p. m., kanatlılarda 0,28 p. p. m. alfa-BHC ve daha düşük düzeylerde gamma-BHC bulunduğu; sığırlarda 0.07 p. p. m. ve kanatlılarda 0,03 p. p. m. dieldrine rastlandığı bildirilmektedir (60).

A. B. D.’nde et, balık ve kümes hayvanlarını kapsayan karışık besin maddelerinde 1.39 p. p. m. DDT, 1.00 p. p. m. DDE, 0.78 p. p. m. TDE, 0.20 p. p. m. dieldrin, 0.20 p. p. m. BHC ve 0.29 p. p. m. heptaklor epoksid saptanmıştır (17). A. B.D.’nde hayvansal ve bitkisel besin maddelerinde en çok rastlanan rezidülerin DDT izomerleri ve gamma-BHC olduğu ve analizi yapılan 53194 nümuncenin yarısında pestisid rezidülerine rastlandığı belirtilmiştir (18).

Kanada’da 1963’de 2600 yiyecek maddesinin % 99.3’ünde tolerans düzeylerini aşmayacak miktarlarda, % 0.7’sinde ise farmakolojik açıdan önemli yoğunlukta rezidüler saptanmıştır (11).

Batı Almanya’da süt, tereyağı ve peynir analizlerinde (8) Dünya Sağlık Örgütü’nün belirlediği sınırları aşmayacak düzeylerde organik klorlu insektisid rezidüleri bulunduğu belirtilmektedir.

İsveç'te tereyağlarında yapılan bir araştırmada (54) 0.03 - 0.08 p. p. m. alfa-BHC, 0,01 - 0.06 p. p. m. gamma-BHC, 0,002-0.06 p. p. m. dieldrin ve 0.01-0.2 p. p. m. DDT izomerleri saptandı; rezidü yoğunluğunun mevsimsel ve özellikle bölgesel ayrımlar gösterdiğine işaret edilmektedir. Diğer bir araştırmaya (71) göre İsveç'de bitkisel yağların ve hayvansal besinlerin % 90'ında DDT izomerleri, lindan ve alfa-BHC bulunmuştur.

Danimarka'da tereyağlarında ortalama 0.05 p. p. m. alfa-BHC, 0.02 p. p. m.'den az lindan, 0.05 p. p. m.'den az DDT, 0.02 p. p. m. DDE ve 0.05 p. p. m. dieldrine rastlanmıştır (9).

İçyağı, süt, tereyağı ve peynir nünunelerinde saptadığımız organik klorlu insektisid rezidülerinin türleri diğer ülkelerdeki araştırma sonuçlarına uygunluk göstermekte ise de, bulduğumuz düzeyler konusunda aynı şeyi söylemek zordur. Çünkü saptanan miktarlar oldukça yüksek yoğunluktadır. Denilebilir ki, yurdumuzda bugün organik klorlu insektisidlerle -özellikle DDT ve BHC ile- hayvansal besinlerin yaygın bir kirlenme durumu ve ileride önemli bir rezidü sorununa yol açabilme olasılığı vardır. Ancak, kesin bir yargıya varmadan önce Türkiye'de üretilen besinlerin genel kirlenme düzeyinin belirlenmesi bakımından yaygın ve yoğun araştırmaların yapılmasının zorunluluğu da göz önünde bulundurulmalıdır. İsektisid rezidülerinin besinlerdeki rastlantısını ve düzeylerini etkileyen en önemli faktörler hayvan besleme pratikleri, yem kaynakları, tarımın türleri ve en önemlisi insektisid kullanılması bakımından sürdürülen devlet politikasıdır. Konuyu öncelikle bu yönlerden inceleyerek önlemler getirmek gerekmektedir. Pestisidlerin tarımda kullanma zorunluluğu karşısında bitkisel ve hayvansal besin maddelerinin bu maddelerle kontaminasyonunu tümüyle önleme olanağı yoktur. Ulaşılabilecek en ileri nokta, pestisidlerle insan ve hayvan sağlığına ve doğal çevreye zarar vermeyecek oranlarda kirlenme doğuracak tarımsal uygulama pratiklerinin ve yasal önlemlerin getirilmesidir.

Literatür

- 1- **Abbott, D. C., Harrison, R. B., Tatton, J. O. G. and Thomson, J.** (1966): *Organochlorine pesticides in the atmosphere*. Nature, 211, 259-261.
- 2- **Abbott, D. C. and Thomson, J.** (1966): *Pesticide residue analysis by thin-layer chromatography*. Pest. Art. and News Sum., 12, 21-34.
- 3- **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., 32, 83-88.

- 4- **Alexander, F.** (1969): *An Introduction to veterinary Pharmacology*. E. and S. Livingstone Ltd. Edinburgh and London, 294-307.
- 5- *A. M. A. Committee on Occupational Toxicology of the Council on occupational health* (1970): Evaluation of the present status of DDT with respect to man. *J. A. M. A.*, 212, 1055 - 1056.
- 6- **Birand, Ş. A.** (1957): *Mineraloji Dersleri*. A. Ü. Fen Fak. Yay. 77, Şirketi Mürettebiye Basımevi, İstanbul, 351-352.
- 7- **Blackmore, D. K.** (1963): *The toxicity of some chlorinated hydrocarbon insecticides to British wild foxes (*Vulpes vulpes*)*. *J. Comp. Path.*, 73, 391 - 409.
- 8- **Blüthgen, A.** (1971): *Verkommen und bedeutung chlorierter insektizide in milch und milchprodukten*. *Molkerezeitung*, 25, 476-480.
- 9- **Bro-Rasmussen, F., Dalgaard-Mikelsen, Sv., Jakobsen, Th., Koch, Sv. O., Rodin, F., Uhl, E. and Voldum-Clausen, K.** (1968): *Examinations of Danish milk and butter for contaminating organochlorine insecticides*. *Res. Rev.*, 23, 55-69.
- 10- **Brown, W. H., Witt, J. M., Whitting, F. M. and Stull, J. W.** (1966): *Secretion of DDT in milk by fresh cows*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1, 21-28.
- 11- **Chapman, R. A.** (1964): *Pesticide residues in foods*. *Canad. J. Publ. Hlth.*, 55, 207-210.
- 12- **Coulson, D. M.** (1962): *Gas chromatography of pesticides*. *Adv. Pest Cont. Res.*, 5, 153-190.
- 13- **Crabtree, A. N.** (1966): *A rapid method for confirming identification of chlorinated insecticides by thin-layer chromatography*. *Lab. Pract.*, 15, 313.
- 14- **Cueto, C. jr.** (1970): *Cardiovascular effects of o, p'-DDD*. *Ind. Med. Surg.*, 39, 55-56.
- 15- **Davis, K. J. and Fitzhugh, O. G.** (1962): *Tumorigenic potential of aldrin and dieldrin for mice*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 4, 187-189.
- 16- **De Faubert Maunder, M.J., Egan, H., Godly, E. W., Hammond, E.W. Roburn, J. and Thomson, J.** (1964): *Clean-up of animal fats and dairy products for the analysis of chlorinated pesticide residues*. *Analyst*, 89, 169-174.
- 17- **Duggan, R. E., Barry, H. C. and Johnson, L. Y.** (1967): *Residues in food and feed*. Pesticide residues in total diet samples (II). *Pesticides Monit. J.*, 1, 2-12.

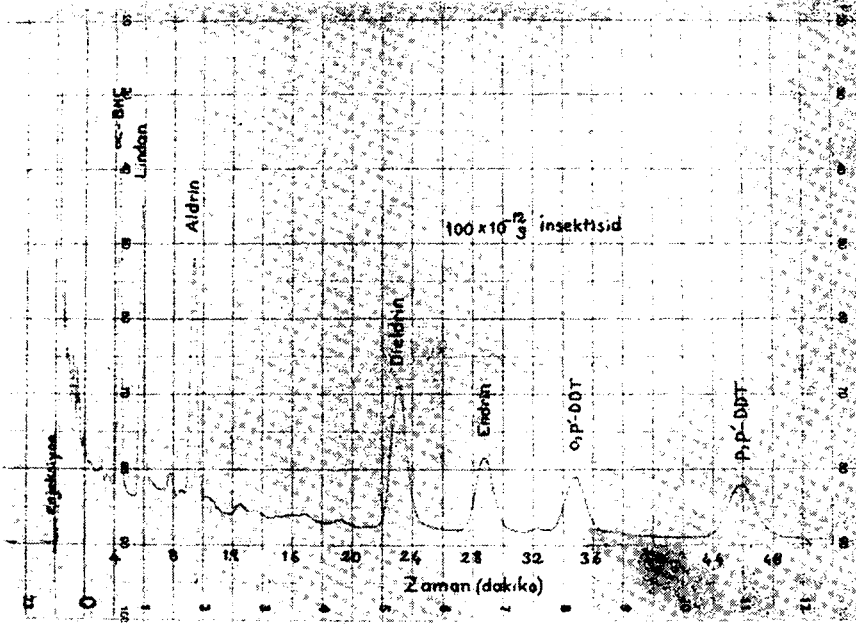
- 18- **Duggan, R. E.** (1969): *Pesticide residues in foods*. Annals of the New York Academy of Sciences, 160, 173-182.
- 19- **Eidelman, M.** (1962): *Determination of micro-quantities of chlorinated organic pesticide residues in butter*. J. A. O. A. C., 45, 672-679.
- 20- **Faucheux, L. J.** (1965): *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, 955-958.
- 21- **Friend, M. and Trainer, D. O.** (1970): *Some effects of sublethal levels of insecticides on vertebrates*. J. Wildl. Dis., 6, 335-342.
- 22- **Fries, G. F.** (1970): *Organochlorine pesticides and the dairy industry*. J. Dairy Sci., 53, 36-371.
- 23- **Froc. J. and Hascoet, M.** (1973): *Etude experimentale de la contamination du lait par les pesticides organochlores presents dans la nourriture des petits ruminants (Brebis, Chevres)*. Academie d'Agriculture de France, Proces-verbal de la Seance du 6 Juin 1973 817-824.
- 24- **Gunther, F. A.** (1970): *Pesticide residues in the total environment: Reliable detection and determination, mitigation, and legislative control and surveillance programmes*. Pure Appl. Chem., 21, 355-376.
- 25- **Hayes, W. J. Jr.** (1955): *Present status of our knowledge of DDT intoxication*. Am. J. Publ. Hlth., 45, 478-485.
- 26- **Henderson, J. L.** (1965): *Insecticide residues in milk and dairy products*. Res. Rev., 8, 74-115.
- 27- **Henderson, J. L.** (1965): *Chlorinated organic insecticide residues in milk*. J. Milk and Food Technol., 28, 15-18.
- 28- **Jenkins, R. B. and Toole, J. F.** (1964): *Polyneuropathy following exposure to insecticides*. Two cases of polyneuropathy with albuminocytologic dissociation in the spinal fluid following exposure to DDD and aldrin and DDT and endrin. Arch. Intern. Med., 113, 691-695.
- 29- **Johnson, L. Y.** (1965): *Collaborative study of a method for multiple chlorinated pesticide residues in fatty foods*. J. A. O. A. C., 48, 568-675.
- 30- **Jones, L. R. and Riddick, J. A.** (1952): *Separation of organic insecticides from plant and animal tissues*. Anal. Chem., 24, 569-571.
- 31- **Kadis, V. W., Jonasson, O. J. and Breitkreitz, W. E.** (1968): *Determination of organochlorine pesticide residues in human tissues*. Canad. J. Publ. Hlth., 59, 357-361.

- 32- **Kirchner, J. G.** (1967): *Thin-layer chromatography*. Interscience Publishers. John Wiley and Sons, New York, London, Sydney, 215-218.
- 33- **Klein, A. K., Watts, J. O. and Damico, J. N.** (1963): *Electron-capture gas chromatography for determination of DDT in butter and some vegetable oils*. J. A. O. A. C. 46, 165-171.
- 34- **Klemmer, H. W.** (1972): *Human health and pesticides*. Community pesticide studies. Res. Rev., 41, 55-63.
- 35- **Kotula, A. W. and Moats, W. A.** (1966): *Rapid semimicro one-step chromatographic clean-up of chlorinated hydrocarbon pesticides in residues in poultry and eggs*. Poultry Sci., 45, 496-501.
- 36- **Kovacs, M. F. jr.** (1963): *Thin-layer chromatography for chlorinated pesticide residue analysis*. J. A. O. A. C., 46, 884-893.
- 37- **Kovacs, M. F. jr.** (1965): *Thin-layer chromatography for pesticide residue analysis*. J. A. O. A. C., 48, 1018-1022.
- 38- **Kovacs, M. F. jr.** (1966): *Rapid detection of chlorinated pesticide residues by an improved TLC technique*. J. Assoc. Offic. Anal. Chemists, 49, 365-370.
- 39- **Kupfer, D.** (1967): *Effects of some pesticides and related compounds on steroid function and metabolism*. Res. Rev., 19, 11-30.
- 40- **Langlois, B. E., Stemp, A. R. and Liska, B. J.** (1964): *Rapid clean-up of dairy products for analysis of chlorinated insecticide residue by electron capture gas chromatography*. J. Agr. Food Chem., 12, 243-245.
- 41- **Lewis, D. T.** (1964): *Pesticide residues in food*. Roy. Soc. Hlth., 84, 191-194.
- 42- **Link, R. P.** (1965): *Insecticides*. In Jones, L. M. Veterinary Pharmacology and Therapeutics, Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa, U. S. A., 702-739.
- 43- **Littlewood, A. B.** (1970): *Gas chromatography*. Acad. Press, New York and London, 1-15.
- 44- **Luckens, M. M.** (1966): *Screening tissue and urine for pesticides*. J. Forensic. Sci., 11, 64-74.
- 45- **Maes, R. and Heyndrickx, A.** (1966): *Distribution of organic chlorinated insecticides in human tissues*. Mededelingen Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen Gent, 31, 1021 - 1025.

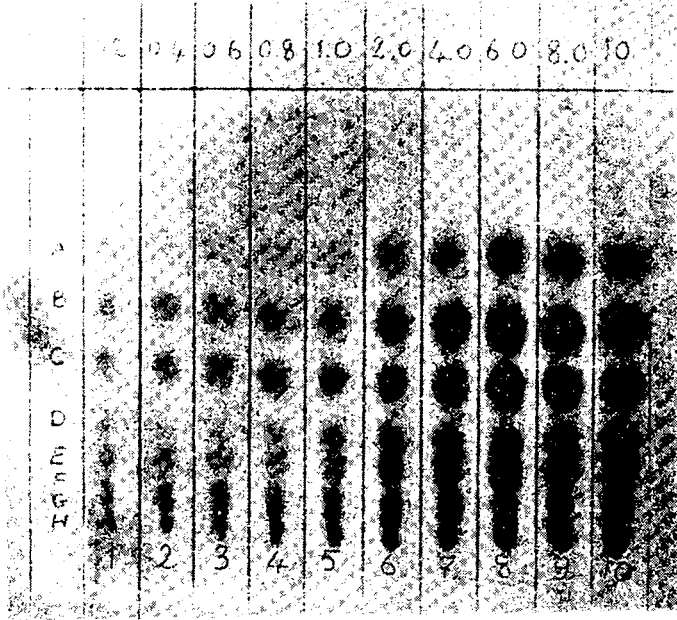
- 46- **McGill, A. E. J. and Robinson, J.** (1968): *Organochlorine insecticide residues in complete prepared meals: A 12-month survey in S. E. England.* *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 6, 45-57.
- 47- **Mills, P. A.** (1959): *Detection and semiquantitative estimation of chlorinated organic pesticide residues in foods by paper chromatography.* *J. A. O. A. C.*, 42, 734-740.
- 48- **Moats, W. A.** (1963): *One-step chromatographic cleanup of chlorinated hydrocarbon pesticide residues in butterfat. II. Chromatography on Florisil.* *J. A. O. A. C.* 46, 172-176.
- 49- **Moats, W. A.** (1966): *Analysis of dairy products for chlorinated insecticide residues by thin-layer chromatography.* *J. A. O. A. C.*, 49, 795-800.
- 50- **Moore, N. W.** (1967): *A synopsis of the pesticide problem.* *Advanc. Ecol. Res.*, 4, 75-129.
- 51- **Morley, H. V. and Chiba, M.** (1964): *Thin-layer chromatography for chlorinated pesticide residue analysis without cleanup.* *J. A. O. A. C.*, 47, 306-310.
- 52- **Moubry, R. P., Myrdal, G. R. and Jensen, H. P.** (1967): *Screening method for the detection of chlorinated hydrocarbon pesticide residues in the fat of milk, cheese, and butter.* *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists*, 50, 885-888.
- 53- **Newson, L. D.** (1967): *Consequences of insecticide use on nontarget organisms.* *Ann. Rev. Entomol.*, 12, 257-286.
- 54- **Nilsson, R. and Andersson, A. M.** (1970): *Pesticidhalten i svensk smör Geografiska och arstidsmassiga variationer i mangden klorerade kolvaten.* *Svenska Mejeritidningen*, 62, 113-114, 116, 118-119.
- 55- **Oestreicher, M. I., Shuman, D. H. and Wurster, C. F.** (1971): *DDE reduces medullary bone formation of birds.* *Nature*, 229, 571.
- 56- **Onley, J. H.** (1964): *Rapid method for chlorinated pesticide residues in fluid milk.* *J. A. O. A. C.*, 47, 317-321.
- 57- **Peakall, D. B.** (1970): *p, p' - DDT: Effect on calcium metabolism and concentration of estradiol in the blood.* *Science*, 168, 592-594.
- 58- **Radeleff, R. D.** (1964): *Veterinary Toxicology*, Lea and Febiger, Philadelphia, 174-240.
- 59- **Radomski, J. L., Deichmann, W. B. and Clizer, E. E.** (1968): *Pesticide concentrations in the liver, brain and adipose tissue of terminal hospital patients.* *Food Cosmet. Toxicol.*, 6, 253-260.

- 60- **Richou-Bac, L. and Cumont, G.** (1970): *Les residus de pesticides dans les viandes, les graisses animales et vegetales.* Bull. Tech. Inform., 252, 535-546.
- 61- **Sen, P.** (1956): *Toxic hazards of DDT.* Sci. and Cult., 21, 505-507.
- 62- **Smith, S. I., Weber, C. W. and Reid, B. L.** (1970): *Dietary pesticides and contamination of yolks and abdominal fat of laying hens.* Poultry Sci., 49, 233-237.
- 63- **Spencer, D. A.** (1971): *Movement of chemicals through the environment.* J. Dairy Sci., 54, 706-712.
- 64- **St. Omer, V. V.** (1970): *Chronic and acute toxicity of the chlorinated hydrocarbon insecticides in mammals and birds.* Can. Vet. J., 11, 215-226.
- 65- **Storrherr, R. W. and Mills, P. A.** (1960): *Extraction of milk for DDT determination. One-day complete method.* J. A. O. A. C., 43, 81-82.
- 66- **Tocci, P. M., Mann, J. B., Davies, J. E. and Edmundson W. F.** (1969): *Biochemical differences found in persons chronically exposed to high level of pesticides.* Industr. Med. Surg., 38, 188-195.
- 67- **Ueda, K.** (1971): *Environmental pollution due to pesticides.* Asian Med. J., 14, 603-615.
- 68- **Wang, C. M. and Matsumura, F.** (1969): *Dieldrin, effect on the ion transport activities in liver tissues.* Bull. Environ. Contamin. Toxicol., 4, 144-151.
- 69- **Weibel, S. R., Weidner, R. B., Cohen, J. M. and Christianson, A. G.** (1966): *Pesticides and other contaminants in rainfall and runoff.* J. Am. Water Works Assoc., 58, 1075-1084.
- 70- **West, I.** (1967): *Lindane and hematologic reactions.* Arch. Environ. Hlth., 15, 97-101.
- 71- **Westöö, G., Noren, K. and Anderson, M.** (1970): *Klorpesticid-och polyklorbifenylhalter i margarin, vegetabla matoljor och vissa animala livsmedel i svensk handel aren 1967-1969.* Var Föda, 2-3, 9-31.
- 72- **Wheatley, G. A. and Hardman, J. A.** (1965): *Indications of the presence of organochlorine insecticides in rainwater in Central England.* Nature, 207, 486-487.
- 73- **Wilson, J.** (1974): *Verdict on DDT.* Nature, 250, 691-692.

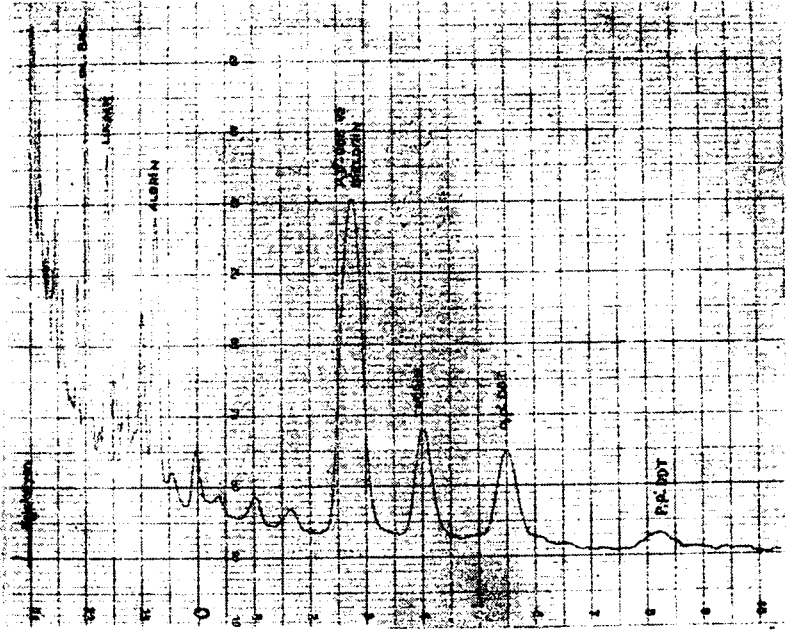
Yazı "Dergi Yazı Kurulu"na 28. 3. 1977 günü gelmiştir.



Şekil : 1. Organik klorlu insektisid standartlarının 100 pikogram miktarlarıyla elde edilen kromatogram. (Kartın dönüş hızı 5 mm/dk)



Şekil 2. Organik klorlu insektisid standartlarının alüminyum oksid-G'de n-heptan ile developman sonucu 0.2 - 10 μg arasında miktarlarıyla elde edilen kromatogram
A- Aldrin, B-o, p' - DDT, C-p, p' - DDT, D-Alfa-BHC, E-Gamma-BHC,
F- Endrin, G- Dieldrin, H- Metoksiklor



Şkil : 3. Bir gram tereyağına bir mikrogram (1 p. p. m.) düzeyinde katılan 8 organik klorlu insektisidin lületaşı tozuyla kolon kromatografisinde tek kademeli temizleme işleninden sonra elde edilen gaz kromatogram. Kromatogramda 100 pikogram miktar 1 p. p. m. insektisidi karşılamaktadır. Lületaşı tozu deaktive edilmeden kullanıldığı için p, p' - DDT yağa katılan miktarından çok az bulunmuştur.