

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

**ORGANİK FOSFORLU, KARBAMAT ve ORGANİK KLORLU
PESTİSİDLERİN İNCE-TABAKA KROMATOĞRAFİSİNDE
KROMOJENİK AYIRAÇLARLA SİSTEMATİK
ANALİZİ**

Selahattin Ceylan*

**The systematic analysis of organophosphorus, carbamate
and organochlorine pesticides with the chromogenic reagents
on thin-layer chromatograms**

Summary: *Rapid and sensitive thin-layer chromatographic procedures were developed for the simultaneous detection of pesticides. Various suitable combinations of adsorbent, developing solvent and chromogenic spray were tested for the systematic analysis of seven organophosphorus, seven carbamate and five organochlorine compounds. The results indicated that the procedures are valuable for screening of the pesticides in routine toxicological analyses.*

Özet: *İnce-tabaka kromatografisiyle analizde pestisidlerin bir arada aranmasını sağlamak amacıyla çabuk ve duyarlı sonuçlar veren işlemler geliştirildi. Yedi organik fosforlu, yedi karbamat ve beş organik klorlu pestisidin sistematik analizi için uygun adsorban, çözücü ve kromojenik ayıraç kombinasyonları denenerek oluşturulan bu işlemlerin, rutin toksikolojik analizlerde pestisidlerin kromatografik belirtileri yönünden değerli olacağı sonucuna varıldı.*

* Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsü, Ankara-Türkiye.

Giriş

Pestisid sanayii, DDT'nin 1940'larda insanlığın yararına sunulmasıyla birlikte başlamış; geçen kırk yıllık dönemde çok hızlı bir biçimde gelişimini sürdürmüştür. İkinci Dünya Savaşı yıllarında Alman ve A.B.D. ordularında sıtma ve tifüsün öldürücü etkinliği, DDT ile yapılan vektör insekt savaşımı sonucunda kırılabilmiştir. Bunu izleyen yıllarda Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, özellikle tropikal ülkelerde sıtma eradikasyon programına alınan DDT, geniş alanlara yüksek düzeylerde uygulanmış; böylece dünya nüfusunun % 10 kadarı bu ilacın etkisinde kalmıştır. 1945'den başlayarak, çöl çekirgesi gibi bazı tarım zararlıları ve karasineklerde DDT'ye karşı direnç oluşumu gözlemlenince, dikkatler buna seçenek olabilecek pestisidler üzerinde yoğunlaşmıştır. O yıllarda, DDT gibi klorlandırılmış hidrokarbon bileşiklerinden benzen heksaklorür (BHC), aldrin ve dieldrin, araştırmanın ilk ürünleri arasında kullanıma sunulmuş; daha sonra organik fosforlu ve karbamat grubu pestisidlerin üretimi ve uygulanması başlatılmıştır. Türkiye'de de tarım zararlılarıyla savaşımında ilk kullanılan ilaç DDT olmuş; sulu tarım alanlarının artışına koşut olarak tarım ilacı uygulaması da olabildiğince yaygınlaşmıştır. Özellikle 1960'lı yıllardan başlayarak her gruptan pestisidler, ilaçlama programlarında yer almıştır. Bugün, Türkiye'de ruhsatlandırılmış, tarımsal amaçlı pestisid formülasyon sayısı 600 dolayındadır. Veteriner hekimliğinde kullanılmak üzere ruhsat alınmış pestisidlerin, özellikle organik fosforlu, karbamat ve organik klorlu bileşiklerin preparat sayısı da az değildir (10,33).

Modern tarım tekniklerinin kullanıldığı tüm ülkelerde tarımsal üretimdeki önemli artışların, büyük ölçüde pestisid ve yapay gübre kullanımına bağlı olduğu bir gerçektir. Yılda %3 dolayında artan nüfusumuzun beslenmesi ve ekonomik büyüme zorunluluğu nedeniyle gereksinme duyulan tarım ürünlerinin kazanılması için, önümüzdeki yıllarda, bugünküne oranla iki katı yapay gübre ve altı katı pestisid kullanımı olası görünmektedir. Pestisid kullanımının tartışılmaz yararına karşın, etkin denetimden yoksun ve aşırı ölçülerde pestisid uygulamaları, insanlarda ve hayvanlarda kitle halinde zehirlenme ve ölümlere neden olmakta; ekosistemlerin ve besinlerin kümülatif etkili tarım ilaçlarıyla kirlenmesine yol açmaktadır. Özellikle organik klorlu insektisidler gibi, uzun sürede doğal koşullarda yıkılanma-

yan ve biyosferde birikim yapan bileşiklerin kullanılması, çevre kirlenmesinin başta gelen nedeni olmaktadır (15, 16). Bu konuda yaptığımız ve katıldığımız çeşitli araştırmalar (3, 4, 14) göstermiştir ki, hayvansal besinlerimizden süt, tereyağı, peynir ve iç yağlarında; Karadeniz ve Akdeniz'den avlanan önemli balık türlerinin vücudunda DDT, BHC, aldrin, dieldrin ve endrin kalıntılarının yoğunluğu sakıncalı düzeylere ulaşmaktadır. Refik Saydam Merkez Hıfızsihha Enstitüsünde yapılan incelemelerin sonuçlarına (29) göre, yurdumuzda insanlarda meydana gelen zehirlenme ve ölümlerin % 73 kadarı insektisidlerden kaynaklanmaktadır. Yalnızca 1965-1970 yılları arasında pestisidlerden 1034 kişi zehirlenmiş, bunlardan 229'u ölümle sonlanmış (49). Kürsümüzdeki toksikolojik analizlerin sonuçlarına bakılırsa (13), 1966-1975 yılları içinde yoklaması yapılan, zehirlenmiş evcil hayvanlara ait maddelerin %71 kadarında, özellikle organik fosforlu ve organik klorlu insektisidler gibi, pestisidler sınıfına giren bileşikler saptanmıştır. Bir diğer araştırmamız (5) dolayısıyla yürütülen alan çalışmalarında, iki aylık bir dönem içinde Adana Merkez, Karataş, Tarsus ve Ceyhan'da insektisidlerden ileri gelen 1000 zehirlenme olayı veteriner kliniklerine yansıtılmış ve ivedi sağtım gerekmiştir.

Bu ölçüde yaygın zehirlenme olaylarının önlenmesine yönelik çaba gösterilmesinin kaçınılmazlığı yanında, adli olaylarda zehirlenmelerin nedeni olan kimyasal maddeyi belirleyerek soruşturmaya yardımcı olmak, zehirin kimliğini saptayarak zehirlenmelerde sağtım için en uygun antidotun seçimini kolaylaştırmak ve önemli bir sağlık sorunu olan besin ve çevre kirlenmesine yol açan pestisidlerin çeşit ve düzeylerini ortaya çıkarmak; bu amaçla duyarlı toksikolojik analiz yöntemleri geliştirmek güncel bir zorunluluk durumundadır.

Zehirlenme olaylarında, genellikle, buna neden olan kimyasal maddenin kimliği ve hatta grubu konusunda bir ön bilgi verilmeksizin toksikoloji laboratuvarına başvurulmakta; bu nedenle yüzlerce veya binlerce kimyasal madde bulunma olasılığı göz önüne alınarak analizin yürütülmesi gerekmektedir. Dolayısıyla uygulanan analiz yöntemlerinin duyarlı, çabuk ve kombine olması zorunludur. Birçok zehirin bir arada ve kısa sürede aranmasını olanaklı kılan modern analiz teknikleri içerisinde kromatografik yöntemler (kâğıt kromatografisi, incc-tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi) gelişimini

hızla sürdürmektedir. Bunlardan ince tabaka kromatografisi, pahalı araç-gerece gereksinme duyurmaksızın, organik bileşiklerin karışımlarının nitel analizinde çok kısa sürede sonuç sağlaması, duyarlılığı, basitliği ve aynı zamanda yarı-nicel analize olanak vermesi gibi üstünlükleriyle toksikoloji laboratuvarlarının demirbaşı durumuna gelmiştir.

Bu çalışmada, organik fosforlu, karbamat ve organik klorlu pestisidlerin ayrı ayrı veya bir arada, ince-tabaka kromatografisinde analizlerini sağlayan adsorban, çözücü ve kromojenik ayıraç sistemleri denenmiş; en uygun ayıraçlardan özgün kombinasyonlar yapılarak, üç grup pestisidden Türkiye'de geniş ölçüde kullanılan ve zehirlenmelere neden olan bileşiklerin kromatografik analizlerinin gerçekleştirilmesi için yöntem geliştirilmesine katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Pestisid standartları: Aşağıda kısa adları ve kimyasal yapıları belirtilen pestisidler kullanıldı:

I. Organik fosforlu pestisidler :

Etil parathion : 0,0-dietil 0,p-nitrofenil tiyonofosfat

Folithion : 0,0-dimetil-0-(3-metil-4-nitrofenil) tiyonofosfat

Gusathion : 0,0-dimetil-S-(3,4)dihidro-4-okso-1,2,3-benzotriazin-3-yl-metil ditiyofosfat

Lebaysid : 0,0-dimetil- 0-(4-metil merkapt0-3-metilfenil) tiyonofosfat

Malathion : 0,0-dimetil S-(1,2-dikarbetoksietil) ditiyofosfat

Metasistoks : 0,0-dimetil-S-2(etilsulfinil)etil tiyolfosfat

Metil parathion : 0,0-dimetil 0,p-nitrofenil tiyonofosfat

II. Karbamat pestisidler :

Baygon : 2-İzopropoksifenil N-metilkarbamat

Karbaril : 1-Naftil N-metilkarbamat

Matasil : 4-Dimetilamino 3-tolil N-metilkarbamat

Mesurool : 4-(Metiltiyo) 3,5-ksilil N-metilkarbamat

Methomil : Metil tiyoasetamidoksim N-metilkarbamat

Primikarb : (Dimetilamino-2-dimetil-5,6-primidil-4) *N,N*-dimetil-karbamat

Promikarb : 3-Metil-5-izopropil fenil-*N*-metilkarbamat

III. Organik klorlu pestisidler :

Aldrin : 1,2,3,4,10,10-hekzakloro-1,4,4a,5,8,8a-hekzahidro-1,4-endo, ekzo-5,8-dimetanonaftalen

BHC, gamma(Lindane): Gamma benzen heksaklorür

DDT(p,p') : 1,1,1-Trikloro-2,2-bis (p-klorofenil)etan

Dieldrin : 1,2,3,4,10,10-Hekzakloro-6,7-epoksi-1,4,4a,5,6,7,8,8a-oktahidro-1,4-endo,ekzo-5,8-dimetanonaftalen

Endrin : 1,2,3,4,10,10-hekzakloro-6,7-epoksi-1,4,4a,5,6,7,8,8a-oktahidro-ekzo-1,4-ekzo-5,8-dimetanonaftalen

Arı haldeki bu pestisid standartlarından, ince-tabaka kromatografisine uygulanmak üzere, organik tiyofosfat ve organik klorlu bileşiklerin heksanda %0.1; karbamat bileşiklerinin metil alkolde % 0.1 çözeltileri hazırlandı (1 mikrogram / 1 mikrolitre).

Aygıtlar :

İnce-tabaka kromatografisi (İTK) aygıtı ve ekleri (Desega).

Ultraviyole (UV) lambaları : 16 watt, uzun ve kısa dalga (Chromatolux 2 L, Pleuger)

Saç kurutma aygıtı, etüv ve desikatör.

Adsorbanlar :

Aluminyum oksid G (Type E, Merck) : Bağlayıcı olarak % 9 alçı içerir. % 10 sulu suspansiyonunda pH: 7.5'tir.

Silikajel G (Merck) : Bağlayıcı maddesi % 13 alçıdır. % 10 sulu suspansiyonunda pH: 7'dir.

Silikajel GF₂₅₄ (Merck) : Silikajel G'nin bazı özelliklerini taşır. Ayrıca 254 nm UV ışığa yanıt veren bir floresan indikatör içerir.

Silikajel H (Merck) : Alçı veya organik bir bağlayıcı içermez. Sudaki % 10 suspansiyonunda pH: 7'dir.

Silikajel HF₂₅₄ (Merck) *Silikajel H*'nin bazı özelliklerini taşır. Ayrıca 254 nm UV ışıkta yanıt veren bir floresan madde içerir.

Kromojenik ayıraçlar:

Brom çözeltisi: Karbon tetraklorürde % 5 brom çözdürüldü (9,21,38,52,53).

Kongo kırmızısı ayırıcı: % 50 oranında sulandırılmış etil alkolde % 0.4 kongo kırmızısı (Congo red) çözeltisi kullanıldı (11,31).

Gümüş nitrat -fenoksietanol ayırıcı: 0.1 g. gümüş nitrat, 1 ml.damıtık suda çözdürüldü; üzerine 20 ml. 2-fenoksietanol ilave edilerek karıştırıldı ve asetonla 200 ml. ye tamamlanırken birkaç damla % 30 hidrojen peroksit katıldı (14,32,36,37).

o-Toluidin ayırıcı: Asetonda % 1 o-toluidin çözeltisi (50).

Fluoresein ayırıcı: N,N-dimetilformamid'de.% 0.25 fluoresein çözdürüldü. Bu stok çözeltiden 1 ml. alınıp etil alkolle 50 ml.ye seyreltilerek kullanıldı (41,52).

DBQC ayırıcı: Sikloheksanda % 0.5 2,6- dibromokinon klorimid (DBQC) çözeltisi (8,39,45).

p-Nitrobenzen diazonyum fluoborat ayırıcı: Freeman'a (26) göre sentezlenen bu bileşiğin asetondaki % 1 çözeltisi kullanıldı (28). Ayıraç çabuk bozulduğu için aynı gün içinde hazırlanıp kullanılmalıdır.

Developman çözücüleri:

1. Hekzan
2. n-heptan
3. Hekzan: Aseton (90+10)
4. Hekzan:Aseton(80+20)
5. Hekzan: Aseton (70+30)
6. Hekzan:Etil eter (90+10)
7. Sikloheksan:Aseton (95+5)
8. Sikloheksan:Aseton (90-10)
9. Kloroform:Metanol (90+10)
10. Kloroform:Aseton (90+10)
11. Etil asetat:Kloroform (60+40)
12. Benzol: Aseton (85+15)
13. Benzol:Tetrahidrofuran (80+20)

Plakaların hazırlanması:

Yayma tablası üzerine, temizlenip kurutulmuş, 20×20 cm. boyutlarındaki beş adet plaka yerleştirildi. Alkol ve hekzanla yüzeyleri silinerek, yağ ve diğer kirliliklerden tümüyle arındı. Beş plakayı 0.250 mm. kalınlıkta kaplamak üzere, adsorban/su karışım oranları olarak 30 g. silikajel G/ 60 ml. su; 30 g. silikajel GF₂₅₄/ 60 ml. su; 30 g. silikajel H/ 60 ml. su; 30 g. silikajel HF₂₅₄/ 65 ml. su ve 45 g. alüminyum oksit G/ 50 ml. su şeklinde en uygun olduğu saptandıktan sonra, hazırlanan karışımlarla yayma işlemi yapıldı. Bir süre laboratuvar ısısında kurutuldu ve etüvde 100°C ısıda bir saat tutularak aktive edildi; sıcakken desikatöre alınarak kullanılıncaya kadar saklandı.

Pestisidlerin uygulanması ve developman:

Plakadaki adsorban tabakası, developman yönüne paralel olarak, 1 cm. aralıklarla çizilerek kolonlara ayrıldı. Böylece, 20×20 cm. lik bir plakaya 18 uygulama yapılması ve her lekenin bağımsız develope olması sağlandı. Çözücünün plakanın her yanında aynı hızla tırmanmasına yardımcı olmak ve tank kenarlarından herhangi bir bulaşmayı önlemek için, plakanın iki yanındaki adsorban tabakası, 0.5 cm. kadar kazındı.

Pestisid çözeltilerinden mikrolitrelik pipetlerle alınan ölçülü örnekler, saç kurutma aygıtının sıcak hava akımı yardımıyla kurutulularak, birbiriyle eşit çaplarda kompakt lekeler halinde, plakanın alt kenarından 2 cm. uzaklıkta başlangıç noktalarına uygulandı.

Aynı plaka üzerinde, ayıraçlara ve diğer işlemlere verecekleri yanıtların karşılaştırılabilmesi bakımından, her defasında üç grup pestisidin üyeleri birlikte analiz edildi.

Hazırlanan plaka, en az bir saat önceden 100 ml. çözücü karışımı konulmuş tanka yerleştirildi; 10 cm. yüksekliğe kadar developman yapıldı. Tanktan çıkarılan plaka, bir süre laboratuvar ısısında çözücünün uçması için beklletildi veya saç kurutma aygıtının hava akımında kurutuldu.

Pestisid lekelerinin belirtimi:

Organik tiyofosfat, karbamat ve organik klorlu pestisidler içinde, Türkiye'de yaygın olarak kullanılanlardan seçtiğimiz 19 çeşit

—bilesiğin, ayrı ayrı veya bir arada analizi ve ayırmsal tanımlarını sağ-
—tabaka karıştırıcıların öngördüğü ayı-
—bu ayraçlardan ha-
—XVIII) incelendi:

yanıtlar,

borat ayıracı,

ayıracı,

borat — DBQC ayı-

kırmızısı ayıraç dizisi,

rmızısı ayıraç dizisi,

BQC ayıraç dizisi,

kırmızısı ayıraç dizisi,

nitrat ayıraç dizisi,

lin ayıraç dizisi,

nitrat—Kongo kırmızısı

ngo kırmızısı—DBQC ayı-

gerektirdiği diğer işlemler,
ilerek uygulanmak suretiyle
n) sağlandı:

la yapılan developmandan
ilemek için plakalar UV

Düzeltilme: 440-466. sayfalar arasında yer alan "Organik fosforlu, karbamat ve organik klorlu pestisidlerin ince-tabaka kromatografinde kromojenik ayraçlarla sistematik analizi" başlıklı araştırmanın 447. sayfasında bulunan ayraçlar listesinde XIII. maddenin satırı basılmamıştır. Bu kısım aşağıdaki şekilde olacaktır:
XIII. Brom + Fluoresein + DBQC ayıraç dizisi.

Gümüş nitrat-tenoksitlenmiş fluidin ayraçları, adsorban tabakada bozulmaya yol açmayacak derecede, fakat duyarlılığı arttırmak için olanak ölçüsünde fazla miktarda uygulandı. Plaka etüvde 75°C ısıda 15 dakika tutularak ayıraç çözücüleri giderildi. Sonra UV

ışık altında, plakada en düşük düzeydeki pestisid lekесinin belirmesine kadar, genellikle adsorban türüne bağlı olarak, 5-15 dakika arasında ışınlama yapıldı.

Kongo kırmızısı veya fluorescein ayıraçları, organik fosforlu ve karbamat pestisidlerin brominasyonundan sonra plakaya püskürtüldü. Bromla oksitleme için, karbon tetraklorürde hazırlanmış % 5 brom çözeltisinden yayılan brom buharlarıyla havası doymuş bir desikatör kullanıldı. Plaka desikatörde ortalama 30 saniye brom buharlarının etkisine bırakılarak pestisid lekelerinin belirtimi sağlandı.

DBQC veya p-nitrobenzen diazonyum fluoborat ayıraçlarının uygulanmasından önce plakaya 1.5 N NaOH püskürtülerek organik tiyofosfat ve karbamat pestisidler hidrolize edildi. Birkaç dakika sonra adı geçen ayıraçlar püskürtüldü.

Birbiri ardısına iki ve daha fazla sayıda ayıraç uygulanması sırasında, plakadaki adsorban tabakasının soyulması veya zedelenmesini önlemek için; püskürtülen ayıraç miktarları-lekelerin vizualizasyonunu engellemeyecek dereceye kadar-sınırlı tutuldu.

Her ayıraçın uygulanmasından sonra beliren pestisid lekelerinin renkleri ve çözücülere göre $R_f \times 100$ değerleri belirlendi. Her ayıraçın ve ayıraç dizisinin, değişik adsorbanlara göre tepkime özellikleri izlendi. Öteden beri başka araştırmacıların kullandığı ayıraçlar ile kendi düzenlediğimiz ayıraç dizileri aynı koşullarda incelenmek suretiyle hem uygulanabilirliği denetlendi; hem de karşılaştırma olanağı sağlandı. Ayrıca, değişik çözücü karışımlarının, incelediğimiz pestisidlerin tümünü veya grup olarak ne ölçüde ayırabildiğini belirlemek için, çeşitli çözücüler çeşitli adsorbanlar üzerinde denendi ve $R_f \times 100$ değerleri hesaplandı.

Bulgular

I. UV ışık altında inceleme:

Developmandan sonra plakaya karanlıkta UV ışık altında bakıldığında, adsorban ve pestisid türüne göre değişen yanıtlar gözlemlendi.

Aluminyum oksit G ile hazırlanan kromatogramlarda UV ışıkta, organik tiyofosfatlardan etil parathion ve folithion mor, gusathion mavi; karbamatlardan primikarb mavi floresan leke gösterdi. Öteki pestisidler herhangi bir floresan leke vermedi.

Floresan madde içeren silikajel GF_{254} ve HF_{254} ile hazırlanan kromatogramlarda, UV ışıkta organik tiyofosfatların tümü mor; karbamatlardan promikarb dışında kalanlar yine mor renkli floresan lekeler şeklinde belirdi. Organik klorlu pestisidlerden aldrin, endrin, p,p'-DDT ve gamma-BHC, 5 mikrogram ve daha yüksek miktarlarda, mor floresan lekeler gösterdi.

II. Brom buharıyla tepkime :

Tüm adsorbanlarla hazırlanmış kromatogramların, karbon tetraklorürde %5 brom çözeltisinden yayılan brom buharına 30 saniye tutulmasından sonra, organik tiyofosfat ve karbamat pestisidlerin tümü beyaz zemin üzerinde sarı lekeler biçiminde görünür hale geldi. Ancak, karbamatlar 5 mikrogram ve daha yüksek düzeylerde olduğunda gözle görünür bir tepkime sağlanabildi ve organik tiyofosfatların tersine karbamat lekeleri bir dakikalık kısa bir sürede soldu. Organik klorlu pestisidlerin hiç biri bu tepkimeye yanıt vermedi.

III. Dibromokinon klorimid (DBQC) ayıracağı :

Kullanılan tüm adsorbanlarla hazırlanan plakaların developmanından sonra, önce 1.5 N NaOH ve ardından sikloheksanda % 0.5 DBQC püskürtülmesiyle organik tiyofosfatlar sarı-kırmızı-kahverengi tonlar arasındaki renklerde belirdi; karbamatların tümü mavimor lekeler verdi. Aluminyum oksid G ile hazırlanmış kromatogramlarda daha duyarlı sonuçlar alındı. Organik tiyofosfatlar 1 mikrograma kadar, karbamatların bir bölümü (baygon, karbaril) 0.5 mikrograma kadar düzeylerde saptanabildi. Organik klorlu pestisidler bu ayıracağı görülebilir bir yanıt vermedi.

NaOH kullanılmaksızın DBQC ayıracağının kromatograma püskürtülmesi ve plakanın $100^{\circ}C$ 'de 10 dakika ısıtılmasıyla da aynı özellikte lekeler elde edilmekle birlikte, zeminin çabuk karardığı ve lekeleri maskeleyiği gözlemlendi.

IV. p-Nitrobenzen diazoniyum fluoborat ayıracağı :

Tüm adsorbanlarla hazırlanan kromatogramlara, önce 1.5 N NaOH ve birkaç dakika sonra asetonda % 1 p-nitrobenzen diazoniyum fluoborat püskürtülmesiyle, primikarb dışındaki bütün karbamatlar değişik renkli lekeler halinde belirdi. Baygon pembe-kırmızı,

karbaril mavi-mor, matasil (5 mikrogramdan fazla miktarlarda) soluk sarı-kırmızı, metomil sarı-kırmızı, mesuroil kırmızı,-kahverengi, promikarb ise koyu kahverengi-bordo renklerde göründü. Lekelerin rengi kısa sürede soldu. Organik tiyofosfat ve organik klorlu pestisidler, bu ayıraçla görünür bir leke oluşturmadı.

V. Kongo kırmızısı ayırıcı :

Bütün adsorbanlarla hazırlanan plakaların developmanından sonra, kromatogramlar önce 30 saniye brom buharına tutuldu ve ardından kongo kırmızısı ayırıcı püskürtülünce organik tiyofosfat pestisidler, kırmızı zemin üzerinde parlak mavi lekeler şeklinde belirdi. Lekeler günlerce bu görünümü sürdürdü. Bu ayıraçla 1 mikrograma kadar pestisidle belirgin lekeler oluştuğu gözlemlendi. Karbamat ve organik klorlu pestisidlerle görünür bir leke elde edilemediği saptandı.

VI. Gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcı :

Kullanılan adsorbanların tümüyle denenen bu ayıraç, özellikle alüminyum oksit G ve silikajel HF₂₅₄'de daha verimli sonuçlar sağladı. Developpe edilen kromatogram, önce laboratuvar ısısında, sonra da etüvde 75°C'de 15 dakika kurutulup homojen bir biçimde ayıraç püskürtmesi yapıldı. UV ışık altında, en düşük pestisid düzeyinin belirmesine kadar ışınlama yapıldı. Organik klorlu bileşikler, sararmış zeminde esmer-gri renkli lekeler halinde göründü. Organik tiyofosfatlar ve karbamatlar, tek başına uygulandığında bu ayıraca olumsuz yanıt vermekle birlikte, diğer ayıraçların birlikte kullanıldığı kombine analizlerde bu pestisidlerle de görünür lekeler oluşturmaktadır. Gümüş nitrat ayırıcıyla 0.01 mikrogram miktarlara kadar organik klorlu pestisidin saptanabileceği görülmüştür.

VII. o-Toluidin ayırıcı

Asetonda % 1 o-toluidin çözeltisi tüm adsorbanlarla hazırlanan kromatogramlarda denendi. Gümüş nitrat ayırıcında belirtildiği gibi, önce o-toluidin püskürtülüp plaka kurutulduktan sonra UV ışınlama yapılırca organik klorlu pestisidler, beyaz zeminde esmer-siyah lekeler meydana getirdi. Bununla beraber, organik tiyofosfat ve karbamat pestisidlerin de o-toluidinle tepkimeye girerek benzeri lekeler verebildiği saptandı.

VIII. *Brom—Fluoresein ayıraç dizisi :*

Kullanılan adsorbanlarla hazırlanan kromatogramlar, brom buharına tutularak organik tiyofosfat ve karbamatların sarı lekeleri izlendi. Ardından fluorescein püskürtüldü. Silikajel G ve silikajel HF₂₅₄'de organik fosforlu bileşikler pembe renkle çevrelenmiş kanyaya sarısı lekeler; karbamatlar ise sarı zeminde pembe lekeler halinde görüldü. Silikajel H, silikajel GF₂₅₄ ve alüminyum oksid G ile hazırlanan kromatogramlarda, organik tiyofosfat ve karbamatlar sarı zeminde pembe lekeler verdi. Organik klorlu pestisidler, bu ayıraçlarla görünür bir leke oluşturmadı.

IX. *p-Nitrobenzen diazonyum fluoborat—DBQC ayıraç dizisi :*

Silikajel GF₂₅₄ ile hazırlanıp develope edilen kromatograma 1.5 N NaOH'dan sonra p-nitrobenzen diazonyum fluoborat püskürtülünce yalnızca karbamatlar, IV No.lu ayıraç uygulamasında belirtilen renklerde görünür hale geldi. Kurutulan plakaya DBQC uygulanınca karbamat lekeleri mavi renk aldı; organik tiyofosfatlar, III No.lu ayıraç uygulamasında sözü edilen renklerde lekeler meydana getirdi. Organik klorlu pestisidler bu ayıraçlara saptanabilir bir yanıt vermedi.

X. *Brom—Gümüş nitrat—Kongo kırmızısı ayıraç dizisi :*

Bu ayıraçlarla en uygun sonuçlar silikajel HF₂₅₄ ile hazırlanan kromatogramlarda alındı. Plaka önce brom buharına tutularak beliren lekeler izlendi. Gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcı püskürtülüp kurutulduktan sonra UV ışınlama yapıldı. Organik klorlu, organik fosforlu ve karbamat pestisidlerin tümünün esmer zeminde beyaz lekeler verdiği gözlemlendi. Daha sonra püskürtülen kongo kırmızısı ayırıcı, organik tiyofosfatları kırmızı zeminde mavi lekeler haline dönüştürürken, diğer pestisidlerin lekelerinin örtüldüğü saptandı.

XI. *Brom—o-Toluidin—Kongo kırmızısı ayıraç dizisi :*

Silikajel GF₂₅₄ ile hazırlanıp develope edilen kromatogram brom buharına tutularak organik tiyofosfat ve karbamatların belirtimi yapıldı. Ardından uygulanan o-toluidin ve UV ışınlama sonucunda organik klorlu ve karbamatların esmer lekeler, organik fosforuların ise beyaz lekeler oluşturduğu gözlemlendi. Kongo kırmızısı ayırıcı püskürtülünce organik tiyofosfatlar kırmızı zeminde mavi lekeler halinde belirdi; diğer pestisidlerin önceki lekeleri örtüldü.

XII. Brom—Kongo kırmızısı—DBQC ayıraç dizisi :

Silikajel HF₂₅₄ ile hazırlanıp develope edilen kromatograma bromun uygulanmasıyla organik fosforlu ve karbamatlar sarı lekeler şeklinde belirtildi. Kongo kırmızısı ayırıcı püskürtülünce yalnız organik fosforular, kırmızı zeminde mavi lekeler dönüştü. Ardından 1.5 N NaOH ve DBQC uygulanmasıyla, organik tiyofosfat ve karbamatlar bu ayıraçla verdikleri değişik renkli lekeler şeklinde gözlemlendi. Organik klorlu pestisidler bu ayıraç dizisine herhangi bir yanıt vermedi. DBQC uygulamasından sonra zeminin çabuk karardığı görüldü.

XIII. Brom—Fluoresein—DBQC ayıraç dizisi :

Silikajel HF₂₅₄ ile hazırlanan kromatogramlarda brom ve fluoresein uygulamasıyla VIII No'lu ayıraç dizisindeki gibi tanı yapıldıktan sonra 1.5 N NaOH ve ardından DBQC ayırıcının püskürtülmesiyle organik tiyofosfatlar ve karbamatlar, III No.lu uygulamada belirtilen özel renkleriyle görünür hale geldi. Organik klorlu pestisidlerle herhangi bir tepkime gözlenemedi. DBQC den sonra zeminin çabucak karardığı dikkati çekti.

XIV. Brom—Fluoresein—Kongo kırmızısı ayıraç dizisi :

Kullanılan tüm adsorbanlarla hazırlanan kromatogramlarda bu ayıraç sisteminden çok iyi sonuçlar alındı. Brom ve fluoresein uygulamasıyla VIII No.lu dizide belirtilen bulgular elde edildi. Kurutulan kromatograma kongo kırmızısı ayırıcı püskürtülünce yalnızca organik tiyofosfatlar kırmızı zeminde parlak mavi lekeler meydana getirdi. Organik klorlu pestisidlerle bu ayıraç sistemi herhangi bir görünür leke oluşturmadı.

XV. Brom—Fluoresein—Gümüş nitrat ayıraç dizisi :

Silikajel H ile yapılan kromatogramlarda brom buharı ve fluoresein ile organik fosforlu ve karbamat pestisidlerin tanısı yapıldıktan sonra kurutulan kromatograma gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcının püskürtülmesi ve ardından UV ışınlama yapılmasıyla organik klorlu, organik tiyofosfat ve karbamat pestisidlerin turuncu zemin üzerinde beyaz lekeler halinde belirdiği gözlemlendi.

XVI. *Brom—Fluoresein—o-Toluidin ayıraç dizisi :*

Aluminyum oksid G ve Silikajel G ile hazırlanan kromatogramlarda bir önceki deneyde belirtilen işlemler uygulandı. o-Toluidin püskürtülmesinden ve UV ışınlamadan sonra soluk pembe zeminde organik klorlu, organik fosforlu ve karbamatların tümü esmer-siyah lekeler meydana getirdi.

XVII. *Brom—Fluoresein—Gümüş nitrat—Kongo kırmızısı ayıraç dizisi :*

Brom, fluoresein ve gümüş nitrat ayıraçları XV No.lu dizideki şekilde uygulandı ve UV ışınlamadan sonra silikajel HF₂₅₄ ve GF₂₅₄ ile hazırlanmış kromatogramlarda tüm pestisidlerin esmer zeminde beyaz lekeler oluşturduğu gözlemlendi. Daha sonra püskürtülen kongo kırmızısı, organik tiyofosfat pestisidleri kırmızı zeminde mavi lekeler şeklinde ortaya çıkardı.

XVIII. *Brom—Gümüş nitrat—Kongo kırmızısı—DBQC ayıraç dizisi :*

Aluminyum oksid G ve silikajel G ile yapılan kromatogramlara ilk üç ayırıcın sırayla uygulanması sonucunda X No.lu dizideki bulgular elde edildi. Daha sonra 1.5 N NaOH ve DBQC ayırıcının püskürtülmesiyle organik tiyofosfat ve karbamat pestisidler, bu ayıraçla oluşturdukları özel renkli lekeleriyle belirdi. Ancak, fazla sayıda ayıraç uygulamasını gerektirdiği için, çok dikkatli olunmadığı zaman, adsorban tabakasında soyulmalara neden olduğu gözlemlendi.

Organik tiyofosfat, karbamat ve organik klorlu pestisidler grubundan 19 bileşiğin değişik adsorbanlarla hazırlanan ve çeşitli çözücülerle developmanı yapılan kromatogramlarda elde edilen ortalama $R_f \times 100$ değerleri Çizelge I,II,III ve IV'de görülmektedir.

Çizelge 1. Organik tiyofofat pestisidlerin değişik adsorban ve çözücülerle hazırlanan kromatogramlarda verdiği $R_f \times 100$ değerleri

Çözücüler	1		2		3		4		5		6		7		8		9			
	SHF	SGF	SHF	SGF	SHF	SH	SHF	S	SH	SHF	S	SH	SHF	S	SH	SHF	S	SH	SHF	
Etil parathion	42	29	51	54	32	42	47	95	88	79	96									
Folithion	32	20	37	48	21	30	30	94	88	77	95									
Gusathion	12	6	20	37	6	15	12	95	85	73	85									
Lebaysid	44	30	50	53	39	20	44	93	88	80	96									
Malathion	24	17	35	48	15	29	26	94	88	78	92									
Metil parathion	26	14	33	47	20	31	28	-	88	68	91									
Metasistoks	00	00	00	00	00	00	00	-	00	-	-									

ÇÖZÜCÜLER:

- 1- Hekzan: Aseton (90+10)
- 2- Hekzan: Aseton (80 : 20)
- 3- Hekzan: Aseton (70+30)
- 4- Sikloheksan: Aseton (95+5)
- 5- Sikloheksan: Aseton (90+10)
- 6- Kloroform: Metanol (90+10)
- 7- Kloroform + Aseton (90+10)
- 9- Benzol: Aseton (85+15)

ADSORBANLAR:

- S: Silikajel G
 SH: Silikajel H
 SHF: Silikajel HF254
 SGF: Silikajel GF254

Çizelge II. Karbamat pestisidlerin değişik adsorban ve çözücülerle hazırlanan kromatogramlarda verdiği $R_f \times 100$ değerleri

Çözücüler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Adsorbanlar	SGF	SGF	S	SHF	SH	S	SH	SHF	SHF	A
Baygon	4	37	2	00	-	87	75	66	64	55
Karbaril	5	34	3	00	9	86	76	69	64	52
Matasil	6	36	2	00	11	85	77	63	58	59
Mesurool	8	40	4	00	15	88	82	70	72	67
Matomil	00	17	00	00	2	90	69	47	32	21
Primikarb	9	39	00	00	16	90	80	60	61	-
Promikarb	11	43	00	00	19	89	84	73	-	70

ÇÖZÜCÜLER:

- 1- Hekzan: Aseton (90+10)
- 2- Hekzan: Aseton (70+30)
- 3- Hekzan: Etil eter (90+10)
- 4- Sikloheksan: Aseton (95+5)
- 6- Kloroform: Metanol (90+10)
- 7- Kloroform:Aseton (90+10)
- 8- Etil asetat: Kloroform (60+40)
- 9- Benzol:Aseton (85+15)
- 10- Benzol:Tetrahidrofuran (80+20)

ADSORBANLAR:

- S: Silikajel G
SH: Silikajel H
SHF: Silikajel HF254
SGF: Silikajel GF254
A : Alüminyum oksid G

Çizelge III. Organik klorlu pestisidlerin değişik adsorban ve çözücülerle hazırlanan kromatogramlarda verdiği $R_f \times 100$ değerleri

Çözücüler	1		2	3	4	5	6	7	8
	A	SHF	A	SGF	SGF	SHF	SHF	S	SH
Aldrin	70	69	64	81	79	89	90	80	85
BHC (gamma)	25	10	17	56	65	46	58	60	79
DDT (p,p')	49	36	35	71	74	78	72	78	86
Dieldrin	10	4	6	57	70	60	70	67	80
Endrin	14	5	8	51	70	71	74	48	83

ÇÖZÜCÜLER:

- 1- Hekzan
- 2- n-Heptan
- 3- Hekzan: Aseton (90+10)
- 4- Hekzan:Aseton (70+30)
- 5- Sikloheksan:Aseton (95+5)
- 6- Sikloheksan:Aseton (90+10)
- 7- Hekzan:Etil eter (90+10)
- 8- Benzol:Aseton (85+15)

ADSORBANLAR:

- S: Silikajel G
 SH: Silikajel H
 SHF: Silikajel HF254
 SGF: Silikajel GF254
 A : Alüminyum oksid G

Çizelge IV. Organik tiyofosfat, karbamat ve organik klorlu pestisidlerin bir arada tanısını sağlayabilen adsorban ve çözücülerle elde edilen $R_f \times 100$ değerleri

Pestisidler	Hekzan:Aseton (90+10)		Hekzan:Aseton (70+30)	Sikloh.:Aseton (90+10)
	Silikajel GF ₂₅₄	Silikajel HF ₂₅₄	Silikajel GF ₂₅₄	Silikajel H
Etil parathion	29	42	54	42
Folthion	20	32	48	30
Gusathion	6	12	37	15
Lebaysid	30	44	53	20
Malathion	17	24	48	29
Metil parathion	14	26	47	31
Metasistoks	00	00	00	00
Baygon	4	8	37	10
Karbaril	5	7	34	9
Matasil	6	9	36	11
Mesuroil	8	13	40	15
Metomil	00	00	17	2
Primikarb	9	14	39	16
Promikarb	11	17	43	19
Aldrin	81	90	79	92
BHC (gamma)	56	60	65	62
DDT (p, p')	71	80	74	83
Dieldrin	57	74	70	71
Endrin	51	72	70	76

Tartışma

Pestisidlerin analizinde son yıllarda önemli ilerlemeler olmuştur. 1950'lerde bu alanda kâğıt kromatografisiyle çalışmalar başlamış; 1960'da mikrokulometrik gaz kromatografisi tekniği uygulamaya girmiş; 1963'de elektron tutucu detektörlü gaz kromatografi yöntemi halojenli organik bileşiklerin analizi için başarıyla kullanılmıştır.

Bu arada, ince-tabaka kromatografisi, yalnız başına veya gaz kromatografik analizlerin sonuçlarının doğrulanması için, değer kazanmış ve kâğıt kromatografisinin yerini almıştır (17,20,47). Çeşitli sistemler kullanılarak ve gerekli parametreler denetlenerek ince-tabaka kromatografisinde çok iyi bir separasyon yapılabilir; analiz edilen maddeler plakadan kazandıktan sonra spektrofotometri, gaz kromatografisi ve diğer tekniklerle nicel ölçüme geçilebileceği gibi, doğrudan İTK üzerinde de leke alanlarının ve renk yoğunluklarının standartlarla karşılaştırılması suretiyle yarı-nicel analiz uygulanabilir (34, 47). Gaz kromatografisi, İTK'ne göre daha duyarlı olmakla beraber, pratikte benzeri bir duyarlık gösterdikleri söylenebilir. Çünkü 0.5-5 g. biyolojik madde ekstraktı İTK'ne tek leke halinde uygulanabildiği halde, bu miktarlar bir gaz kromatografi kolununun taşıyabileceği düzeyler değildir; gaz kromatografa enjekte edilecek ekstraktın kirliliklerden çok iyi arındırılmış olması zorunludur (1). Bu nedenlerle biz, pestisid kalıntı analizlerinde gaz-likid kromatografisiyle İTK'ni birlikte kullanmaktayız; toksikolojik analizler için de -ekonomik ve çabuk olması nedeniyle- İTK'nden yararlanmaktayız.

Organik tiyofosfat pestisidlerin kâğıt kromatografisi ve İTK'nde belirtimi için çeşitli kromojenik ayıraçlar bildirilmiştir: Brom buharlarıyla oksitleme ve ardından gümüş nitrat-bromfenol mavisi uygulanması (9,23,51); palladium klorür (6,46); 2,6-dibromo-N-kloro-p-kinonimin (8,39); N-bromosüksinimid ve ardından fluoresein (18); brom ve fluorescein (41); brom buharıyla oksitlemeden sonra metanil yellow, yellow RFS veya methyl orange (21) ya da kongo kırmızısı (31) boyaları püskürtülmek suretiyle pestisid lekelerinin değişik renklerde görünür hale getirilmesi, yahut kolinesteraz enzim-inhibisyon tekniği (23,27) gibi yöntemler yararlı sonuçlar vermiştir. Bunlardan Irudayasamy ve Natarajan'ın (31) kâğıt kromatografisinde kullandığı brom—kongo kırmızısı ayıraç dizisini İTK'ne uyarlayarak yaptığımız bir çalışmada (11) daha duyarlı ve oldukça spesifik sonuçlar elde ettik. Bu ayıraç, organ ve mide-barsak içeriği ekstraktlarındaki organik tiyofosfat pestisidlerin İTK'nde saptanması için rutin toksikolojik analizlerde kullanmaktayız. Tiyofosfat pestisidlerin belirtimi için öngörülen duyarlı ayıraçlardan DBQC ile fosfor-sülfür bağı bulunan pestisidler kırmızısı, karbon-sülfür-karbon bağı tutanlar sarı renkli lekeler oluşturur; fosfor-sülfür-karbon bağı taşıyanlar renk vermez (8,39). Bu ayıraç, karbamatların fenolleriy-le mavi lekeler meydana getirmesi bakımından da İTK için yararlı

bulunmuştur (30,45). Bu özellikleri dolayısıyla DBQC ayıracını, organik tiyofosfat ve karbamat pestisidlerin belirtiminde yalnız başına ve ayıraç dizileri içinde araştırmamızda denedik.

Karbamat pestisidlerin İTK'da belirtimi için genellikle uygulanan yöntemler, bir hidroliz işleminden sonra şekillenen fenolün p-nitrobenzen diazonyum fluoboratla tepkimeye sokulması, diazotize sulfanilik asitle birleştirilmesi veya DBQC ayıracı püskürtülmesi şeklinde özetlenebilir (30). Karbamatlar için ayrıca, Fast Blue B (48), p-dimetilaminobenzaldehid(22), rodamin B veya ninhidrin püskürtme ayıraçları ile kolinesteraz enzim-inhibisyon yöntemi (28) kullanılmaktadır. p-Nitrobenzen diazonyum fluoborat, karbamatların belirtimi için duyarlı ve spesifik bir kromojenik ayıraç olarak nitelenmektedir (25,30,45). Bu ayıraçla yaptığımız deneylerde, gerek yalnız başına ve gerekse DBQC ile birlikte kullanıldığında iyi sonuçlar verdiğini; organik tiyofosfatların ana molekülleri ve organik klorlu pestisidlerle görünür bir leke oluşturmadığını saptadık.

Organik klorlu pestisidlerin İTK'nde analizinde kullanılan ayıraçlar olarak difenilamin-çinko klorür (24); $KMnO_4$; iyot-difenilamin; o-toluidin; o-dianisidin; sülfirik asit; p-dimetilamino anilin hidroklorür (7,44,50) dikkati çekmekle beraber; gümüş nitrat-fenoksieta-nol püskürtülmesi ve ardından UV ışınlama yöntemi daha çok tutunmuştur (2, 19,32,36,37,40,43). Daha önceki çalışmalarımızda (12,14) biz de gümüş nitrat-fenoksieta-nol ayıracını, hem zehirlenmelerle ilgili, hem de kalıntı analizlerinde kullandık. Bu araştırmada da 0.01 mikrogram pestisid lekesinin kromatogramda bu ayıraçla belirlenebildiğini; diğer kromojenik ayıraçlarla bir araya getirilmesinin organik klorlu bileşiklerin öteki pestisidlerle birlikte aranmasına olanak sağladığını saptadık.

Organik fosforlu, karbamat ve organik-klorlu pestisidlerin İTK'nde kombine belirtim yöntemleri de bulunmakla beraber az sayıdadır (12,38,45,52,53) ve her gruptaki pestisidlerin kesin tanılarının yapılabilmesi için aşılması gerekli bazı güçlükler vardır. Ayıraçların bazılarının spesifik olmaması, biyolojik madde ekstraktlarındaki kirliliklere tolerans göstermemesi veya onlarla da tepkimeler vermesi ve çok sayıda pestisidin kromatogram üzerinde separasyonu bakımından uygun adsorban, çözücü ve diğer parametrelerin ayarlanması önemli sorunlar yaratır.

Daha önceki araştırmalarımızdan (11,12) ve bu çalışmada denediğimiz ayıraçlardan aldığımız sonuçlara göre, organik tiyofos-

fatların ayırtsanması için kongo kırmızısı; organik klorlular için gümüş nitrat-fenoksietanol; karbamat pestisidler için de p-nitrobenzen diazonyum fluoborat veya DBQC ayıraçları uygun görünmektedir. İTK'nde kombine belirtiler için ayıraç dizileri düzenlenmesinde de bunların kullanılmasının yararlı olduğu gözlemlenmiştir. Denediğimiz adsorbanlardan Silikajel HF₂₅₄ ve GF₂₅₄, değişik gruplardan pestisidlerin bir arada analizinde, diğer adsorbanlara göre daha uyumlu kromatogramlar oluşturmuş; UV ışık altında floresan lekeler vermeleriyle de ilk aşamada pestisidlerin yerlerinin ve Rf değerlerinin belirlenmesi için yararlı olmuştur.

Çeşitli kromojenik ayıraçlardan oluşturduğumuz özgün diziler yardımıyla üç grup pestisidin önemli üyelerinin İTK'nde analizinden elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, konuya sağlanan bilimsel katkıların yanında, aşağıdaki pratik sonuçlara ulaşıldığı söylenebilir:

“p-Nitrobenzen diazonyum fluoborat—DBQC”; “brom—kongo kırmızısı—DBQC” ve “brom—fluoresein—DBQC” ayıraç sistemleri, organik tiyofosfat ve karbamat pestisidlerin İTK'nde aranması için, yerine göre kullanılmak üzere, uygun seçenekler oluşturmuştur. “Brom—fluoresein—kongo kırmızısı”, organik tiyofosfat ve karbamatlar için, özellikle uyumlu ve duyarlı bir ayıraç dizisi olarak dikkati çekmiş; bunlara gümüş nitrat-fenoksietanol ayırıcının eklenmesiyle düzenlenen ve “brom—fluoresein—gümüş nitrat—kongo kırmızısı” sırasına göre uygulanan sistem ise, üç gruptaki tüm pestisidlerin İTK'nde belirtimi ve ayrımı bakımından çok uygun pratik koşullar sağlamıştır. “Brom—o-toluidin—kongo kırmızısı” dizisi, çeşitli pestisidlerin varlığından kuşku edilen durumlarda, özellikle organik fosforlu bileşiklerin kesin tanısıyla birlikte, karbamatların ve organik klorluların da belirlenimine olanak vermiştir. “Brom—gümüş nitrat—kongo kırmızısı—DBQC” ayıraç dizisi ise, çok dikkatli uygulama yapılması koşuluyla, organik tiyofosfat, karbamat ve organik klorlu pestisidlerin bir arada aranması yönünden kullanılabilir.

Walker ve Beroza (52) tarafından, “brom—fluoresein—gümüş nitrat” ayıraç sistemi, değişik gruplardaki pestisidlerin İTK'nde analizleri için öngörülmüş olmakla birlikte; yaptığımız deneyler, bu ayıraç dizisinin kongo kırmızısı ile desteklenmesinin daha verimli bir analiz pratiği sağladığını ortaya çıkarmıştır.

Wang ve Chou'nun (53) poliamid üzerinde uyguladığı “brom—fluoresein—o-toluidin” ayıraçlarının alüminyum oksid G ve silikajel

G ile hazırlanan kromatogramlarda da iyi tepkimeler verdiği saptanmış ama özellikle organik fosforlu ve karbamat pestisidlerin bu ayıraçlara benzer yanıtlar vermesi, kuşkulu değerlendirmelere neden olabilmektedir.

Pestisidlerin İTK'nde developmanı için birçok çözücü ve çözücü sisteminden yararlanılmaktadır (1,6,8,9,22,25,28,30,32,35,37,44, 48, 51). Fakat, değişik gruplardaki pestisidlerin bir arada developmanı yapıldığında, bir çözücü sistemiyle tümünü ayırma olanağı çok sınırlıdır. Bu çalışmada denediğimiz çözücülerden hekzan (1,2,14,19, 43,54); n-heptan (14,24,36); 95+5 ve 90+10 oranlarında siklohekzan:aseton karışımları (12,42), organik klorlu pestisidlerin ayırımı için alüminyum oksit G ve silikajel HF₂₅₄ ile hazırlanan kromatogramlarda iyi sonuç vermiştir. Sözü edilen siklohekzan:aseton karışımları ile 80+20 oranındaki hekzan:aseton sistemi (51,52), organik tiyofosfatların analizinde uygun Rf değerleri sağlamıştır. Hekzan:aseton (90+10); hekzan:aseton (70+30) ve siklohekzan:aseton (90+10) sistemleri, üç gruptan pestisidlerin bir arada developmanında denemiş ve oldukça ayırıcı Rf değerleri verdikleri gözlemlenmiştir. Bununla beraber, çok sayıda pestisidin bir çözücü sistemiyle ayırtılmasının zorluğu dolayısıyla, gerekli hallerde ya iki boyutlu kromatografi yapılmalı ya da ilk developmanda grubu belirlenen pestisidleri en iyi ayıran başka bir çözücü sistemiyle kromatogram hazırlanarak tanı kesinleştirilmelidir.

Zehirlenmelerde toksikolojik analizler, başta organlar ve içerikler olmak üzere, çok değişik özellikteki maddeler üzerinde uygulanır. Bu nedenle İTK ile analize geçmeden, etkin bir ekstraksiyon ve ekstraktların kirliliklerden arıtılması gerekir. Bu bakımdan ayrı ayrı pestisid grupları için geliştirilmiş yöntemler vardır. Fakat değişik kimyasal özellikleri olan pestisid gruplarını, aynı işlemlerle ekstrakte etmek gerektiğinde başvurulabilecek uygun bir yöntem bulma olanağı sınırlıdır. Toksikolojik analizlerde süreyi kısaltmak ve işlemleri basitleştirmek üzere, pestisidlerin bir arada tanısı için yaptığımız bu çalışmanın bütünleyicisi olarak, kombine bir ekstraksiyon ve kirliliklerden arıtma yöntemi üzerinde de araştırma yapılmalıdır.

Özet olarak, bu araştırma ile İTK'nde pahalı işlemleri gerektirmeyen, oldukça basit ve iki-üç saatlik bir sürede kesin sonuçları alınabilen özgün ayıraç dizilerinin uygulaması yapılmış; çeşitli pestisidlerin sistematik bir şekilde bir arada analizlerinin yapılabilirliği

anlaşılmiştir. Analizlerde iyi sonuç alabilmek için, bu yöntemleri uygularken, aşağıda belirtilen öngörülere uyulması yararlı olur kanısındayız:

1. Pestisid gruplarından hangisinin bulunduğu bilinmeyen veya bunların karışımlarını içeren materyal üzerinde analiz uygulanırken, önce bunları en iyi ayırabilen adsorban, çözücü ve ayıraç sistemlerinden birisi kullanılmalıdır.

2. Grubu belirlendikten sonra, uygulanan kromatografide aranan bileşik veya bileşiklerin kimlikleri konusunda kuşku bir durum varsa, bunları daha iyi ayırabilen çözücü ve ayıraç sistemleriyle ikinci bir kromatogram hazırlanarak kesin sonuçlar elde edilmelidir.

Literatür

1. **Abbott,D.C. and Thomson,J.** (1966): *Pesticide residue analysis by thin-layer chromatography*. Pest Articles and News Summaries, 12 (1-2), 21-24.
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.**(1977): *Karadenizde avlanan balıklarda ve bu balıklardan elde edilen balık yağı ve ununda klorlu hidrokarbon insektisid rezidülerinin araştırılması*. A.Ü.Vet.Fak.Derg.,XXIII (3-4), 211-236.
4. **Akman,M.Ş.,Ceylan,S.,Şanlı,Y.,Şener,S. ve Akşiray,F.**(1978): *Türkiyenin Akdeniz sahillerinde avlanan, kıyılarımıza bağımlı bazı balık türleri ve karideslerde organik klorlu insektisidlerden ileri gelen kontaminasyonun araştırılması*. A.Ü.Vet.Fak.Derg., XXV(1),121-134.
5. **Aytuğ,C.N.,Bayşu,N., Ceylan,S.,Kalaycıoğlu,L. ve Tan,H.** (1976): *Organik fosforlu ve karışık insektisid zehirlenmelerinde ganglion bloke eden ilaçlarla kombine tedavi denemeleri ve bu insektisidlerin böbrek üstü bezi ve karaciğer üzerine etkisine ilişkin biyosimik ve hematolojik araştırmalar*. T.B.T.A.K. Yayınları, No.306, VHAG Seri No.7.
6. **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.

7. **Beynon, K.I. and Elgar, K.E.** (1966): *The analysis for residues of chlorinated insecticides and acaricides.* Analyst 91,143-175.
8. **Braithwaite, D.P.** (1963): *Detection of phosphorothioate pesticides.* Nature 200,1011.
9. **Bunyan, P.J.** (1964): *The detection of organophosphorus pesticides on thin-layer chromatograms.* Analyst 89,615-618.
10. **Ceylan, S.** (1970): *Insektisidlerin farmakoloji ve toksikolojisi.* Türk Vet.Hek.Dern.Derg., 40(1), 30-35.
11. **Ceylan, S.** (1971): *Organik fosforlu insektisidlerle zehirlenmelerde bunlardan başlıcalarının materyalden kimyasal yol ile araştırılması.* A.Ü. Vet.Fak.Yayınları: 274, Çalışmalar: 176.A.Ü.Basımevi, Ankara, 1-72.
12. **Ceylan, S. ve Şener, S.** (1976): *Organik fosforlu ve organik klorlu insektisidlerin toksikolojik analizlerde bir arada ince-tabaka kromatografisiyle aranması.* A.Ü.Vet.Fak.Derg., XXIII (1-2), 128-141.
13. **Ceylan, S. ve Şener, S.** (1977): *1966-1975 yılları arasında Farmakoloji ve Toksikoloji Kürsüsünde yapılan toksikolojik analizlerin sonuçları üzerinde bir inceleme.* A.Ü.Vet.Fak.Derg., XXIV (2), 191-200
14. **Ceylan, S.** (1977): *Klorlu hidrokarbon insektisidlerin rezidülerinin süt, tereyağı, peynir ve içyağlarında kromatografik yöntemlerle araştırılması.* A.Ü.Vet.Fak.Derg., XXIV(2), 296-318.
15. **Ceylan, S., Şanlı, Y. ve Şener, S.** (1977): *Pestisidlerin getirdiği ekolojik sorunlar.* Vet.Hek.Dern.Derg., 47(2), 41-52.
16. **Ceylan, S. ve Şanlı, Y.** (1980): *Çevre ve besin kirlenmesi.* Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi, 3 (1-2), 76-93.
17. **Coffin, D.E.** (1966): *Paper chromatography in pesticide residue analysis.* J.A.O.A.C., 49(3), 638-643.
18. **Cook, J.W.** (1954): *Paper chromatography of some organic phosphate insecticides. II. Separation and identification.* J.A.O.A.C., 37, 987-989.
19. **Crabtree, A.N.** (1966): *A rapid method for confirming identification of chlorinated insecticides by thin-layer chromatography.* Lab.Pract., 15, 313.
20. **Durham, W.F.** (1961): *Analytical methods for pesticides and antibiotics in food.* Publ.Hlth.Lab., 19(3), 47-54.

21. **Dutt, M.C. and Seow, P.H.** (1963): *New spray reagents for the detection of thiophosphate insecticides on paper chromatograms.* J. Agr. Food Chem., 11, 467.
22. **El-Dib, M.A.** (1970): *Thin-layer chromatographic detection of carbamate and phenylurea pesticide residues in natural waters.* J.A.O.A.C., 53(4), 756-760.
23. **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.
24. **Faucheux, L.Y.** (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.
25. **Finocchiaro, J.M. and Benson, W.R.** (1965): *Thin-layer chromatographic determination of carbaryl (sevin) in some foods.* J.A.O.A.C., 48(4), 736-738.
26. **Freeman, J.H.** (1952): *Separation and identification of polymethylol phenols by paper chromatography.* Anal. Chem., 24, 955.
27. **Getz, M.E.** (1963): *The determination of organophosphate pesticides and their residues by paper chromatography.* Res. Rev., 2, 9-25.
28. **Güley, M. ve Karakaya, A.E.** (1976): *Türkiyede kullanılan karbamat insektisidlerin analitik toksikoloji yönünden incelenmesi.* A.Ü. Fcz. Fak. Mec., 6 (1), 102-125.
29. **Heper, S.** (1976): *İnsektisid zehirlenmeleri ve pestisidlerin yol açtığı besin ve çevre kirlenmesi sorunları semineri.* İzmir, 16-18 Kasım 1976, Seminer Notları, 18-19.
30. **Hoof, F.V. and Heyndrickx, A.** (1971): *Thin-layer chromatography of N-substituted monomethyl carbamate pesticides.* Mededelingen Fakulteit Landbouw-Wetenschappen, Gent, 36 (3-4), 1137-1145.
31. **Irudayasamy, A. and Natarajan, A.R.** (1965): *The detection of thiophosphate insecticides on paper chromatograms with congo red.* Analyst 90, 503-504.
32. **Johnson, L.Y.** (1965): *Collaborative study of a method for multiple chlorinated pesticide residues in fatty foods.* J.A.O.A.C., 48 (3), 668-675.

33. **Kaygısız,H.** (1976): *Bölgemizde pestisid kullanımı ve getirdiği sorunlar.* Tarım ilaçlarının kullanılması semineri, O.D.T.Ü.Gaziantep Kampusu, Yayın No.1,18-26.
34. **Kirchner,J.G.** (1967): *Thin-layer chromatography.* Interscience Publishers, John Wiley and Sons, New York, London, Sydney, 215-218.
35. **Kotula,A.W.and Moats,W.A.**(1966): *Rapid semi-micro one-step chromatographic clean-up of chlorinated hydrocarbon pesticide 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 (5), 884-893.
37. **Kovacs,M.F.jr.**(1966): *Rapid detection of chlorinated pesticide residues by an improved TLC technique: 3 1/4 × 4" microslides.* J.A. O.A.C., 49 (2), 365-370.
38. **Luckens,M.M.** (1966): *Screening tissues and urine for pesticides.* J.Forensic Sci., 11(1), 64-74.
39. **Menn,J.J,Erwin,W.R.and Gordon,H.T.**(1957) : *Color reaction of 2,6-dibromo-N-chloro p-quinoneimine with thiophosphate insecticides on paper chromatograms.* J.Agr.Food Chem., 5, 601-602.
40. **Mills,P.A.**(1959): *Detection and semiquantitative estimation of chlorinated organic pesticide residues in foods by paper chromatography.* J.A. O.A.C., 42 (4), 734-740.
41. **Mitchell,L.C.**(1960): *Separation and identification of eleven organophosphate pesticides by paper chromatography.* J.A.O.A.C., 43, 810-824.
42. **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.
43. **Morley,H.V.and Chiba,M.** (1964): *Thin-layer chromatography for chlorinated pesticide residue analysis without clean-up.* J.A.O.A.C., 47 (2), 306-310.
44. **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.and Technol., 8(3), 152-153.
45. **Ramasamy,M.**(1969): *The identification and determination of organophosphorus and carbamate insecticides by thin-layer chromatography.* Analyst 94, 1075-1080.

46. **Sa,F.and Da Silva,M.E.**(1967): *Note on identification of azinphos methyl in human tissues and in figs.* J.A.O.A.C., 50, 1258-1260.
47. **Samuel,B.L. and Hodges,H.K.** (1967): *Screening methods for organochlorine and organophosphate insecticides in food and feeds.* Res. Rev., 17, 35-72.
48. **Tewary, S.N.and Singh, R.** (1979): *Thin-layer chromatographic technique for the separation and identification of carbamate pesticides in post mortem material.* J.Chromatogr., 172-528-530.
49. **Uygun,N.**(1976): *Tarımsal savaş ilaçlarının olumsuz etkileri. Tarım ilaçlarının kullanılması semineri.* O.D.T.Ü. Gaziantep Kampusu Yayın No.1, 63-80.
50. **Visweswariah,K. and Jayaram,M.** (1971): *Detection and quantities of certain chlorinated pesticides by micro-thin layer chromatography.* J.Chromatogr., 62 (3), 479-484.
51. **Vural,N.** (1968): *Memleketimizde kullanılan organik fosforlu insektisidlerin ince-tabaka kromatografisi ile incelenmesi.* Dokt. Tezi. A.Ü.Ecz.Fak., Ankara.
52. **Walker,K.C.and Beroza,M.** (1963): *Thin-layer chromatography for insecticide analysis.* J.A.O.A.C., 46 (2), 250-261.
53. **Wang,R.T.and Chou,S.S.**(1969): *A simple and rapid separation of pesticides by polyamid chromatography.* J.Chromatogr., 42, 416-418.
54. **Wood,N.F.**(1969): *Extraction and clean-up of organochlorine pesticide residues by column chromatography.* Analyst 94 (1118), 399-405.

Yazı 6.1.1981 günü alınmıştır.