

KARBAMAT GRUBU PESTİSİTLERLE  
DENEYSEL ZEHİRLENMELERDE ZEHİRİN İÇ ORGANLARDAN  
EKSTRAKSİYONU, İDENTİFİKASYONU VE TAYİNİ ÜZERİNDE  
KİMYASAL ARAŞTIRMALAR

*Chemical investigations for extraction, identification and  
determination of the poisons from animals' viscera that poisoned  
experimentally with carbamate groups pesticides*

H. Ahmet ACET (\*)

*Summary*: It is fact that agricultural drugs, especially pesticides, have been used unconsciously in the regions where intensive agriculture is made in this country. Carbamate pesticides of these were studied to determine under our laboratory conditions.

The identifications of carbaryl, baygon, mesurol, methomyl, matacil, primicarbe and promecarbe of carbamate pesticides were made with thin-layer chromatograms.

The spotted layers were developed with ten different solvent systems. Dibromoquinonchlorimide, ninhydrin, rhodamin B, rhodamin B - AgNO<sub>3</sub>, bromin - fluorescein reagents and UV light with short wave (254 nm) were used to determine the spots on the developed layers. The sensitivity limits and the color reactions of seven various carbamate pesticides were also determined with the aid of this reagents.

Carbaryl, baygon and carbaryl+baygon mixture were given orally to ten rabbits and three dogs in LD<sub>50</sub> doses. After administering of the drugs was seen that all animals were died. Stomach intestine, liver, kidney and spleen of these animals were removed. After the results of our research was determined the above stated chemical compounds in this organs. Carbamate pesticides were determined at the levels of 0,5 µg or more with the aid of dibromoquinonchlorimid in this tissues samples on this laboratory conditions.

---

(\*) Yrd. Doç. Dr., S. Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Bilim Dalı.  
Konya - TURKEY

**Özet :** Ülkemizde, entansif tarım yapıldığı bölgelerde, tarımsal ilaçların özellikle pestisidlerin bilinçsiz bir şekilde kullanıldığı bir gerçektir. Bunlardan karbamat pestisidlerinin laboratuvarımız koşullarında tesbitine çalışıldı.

İnce - tabaka kromatografi ile karbamat pestisidlerin karbaril, baygon, mesurol, metomil, matasil, primikarb ve promikarb'ın teşhisi yapıldı.

Uygulama yapılmış plakalar on değişik solvan sistemi ile develope edildi. Dibromokinonklorimid, ninhidrin, rodamin B, rodamin B-AgNO<sub>3</sub>, bromin - fluoresscin ayıraçları ve kısa dalga (254) UV ışığı, develope edilmiş plakalardaki lekeleri tayin etmek için kullanıldı. Bu ayıraçlarla ayrıca yedi çeşit karbamat pestisidin duyarlık sınırları ve renk reaksiyonları saptandı.

On tavşan ve üç köpeğe ağız yoluyla karbaril, baygon ve karbaril+ baygon karışımı LD<sub>50</sub> dozda verildi. Hayvanların tümünün ilaç verildikten sonra öldüğü görüldü. Bu hayvanların mide - barsak, karaciğer, böbrek ve dalakları alındı. Araştırmada bu organlarda yukarıda belirtilen maddeler saptandı. Bu, laboratuvar koşullarında doku örneklerinde dibromokinonklorimid ayıracağı ile karbamat pestisidleri 0,5 µg veya daha fazla düzeylerde tesbit edildi.

### Giriş

Bugün dünyanın ve yurdumuzun hemen her bölgesinde, tarımsal üretimin ve besinlerin kalitesinin artırılması veya yiyeceklerin saklanması ile ilgili olarak tarım zararlılarına karşı, geniş anlamda pestisid adı verilen kimyasal maddeler yaygın ve aşırı bir biçimde kullanılmaktadır.

Modern tarım tekniklerinin uygulandığı tüm ülkelerde, tarımsal üretimdeki önemli artışların büyük ölçüde pestisid ve yapay gübre kullanımı ile bağlantılı olduğu bir gerçektir (2). Her geçen gün bu amaçla yeni bileşikler sentezlenerek pratiğe sokulmaktadır. Türkiye'de entansif tarım yapıldığı bölgelerde, pestisidler özellikle karbamat grubu pestisidler, geniş tarımsal alanlara uçak ve pulverizatörlerle uygulanmaktadır. Bunun kötü bir sonucu olarak insan ve hayvanlarda akut zehirlenme ve ölüm olayları meydana gelmektedir (13). Aynı zamanda bunlar doğaya dağılıp bitkisel ve hayvansal besinlere de girmektedir.

Ülkemizde; tarımsal savaşında ve veteriner hekimliğinde bu grubu ilaçlardan karbaril (1 - naftil N - metilkarbamat), baygon (2 - izopropoksifenil N - metilkarbamat) ve mesurol (4 - metiltiyo - 3, 5 - ksilil N - metilkarbamat) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Evcil hayvanlarımızda, karbamat grubu pestisidlerle oluşan zehirlenme olaylarında, kliniksel belirtilere göre zehirlenmenin tanı ve sağıtımı hemen hemen imkansızdır. Ancak laboratuvarlarda yapılacak toksikolojik analiz sonucu zehirin kimliği saptanabilir. Bu araştırmada, karbamat grubu pestisidlerden ileri gelen zehirlenmelerin tanı ve sağıtıma yardımcı olabilmek için, deney hayvanlarına öldürücü dozlarda verilen karbaril ve baygonun iç organlardan ekstraksiyonu, identifikasyonu ve tayini üzerinde çalışıldı.

Bu çalışma karbamat pestisidlerle zehirlenmelerde, zehirin tanısı için çabuk, basit ve duyarlı bir yöntemin uyarlanması amacı ile yapılmıştır.

#### *Materyal ve Metod*

Bu araştırmada deney hayvanı olarak 10 adet tavşan ve 3 adet köpek ile, ilaç olarak da karbamat grubundan olan hektavin 85 W. P. (karbaril) ve baygon 50 W. P (baygon) kullanıldı.

#### **Pestisid Standartları**

Karbaril: 1 - Naftil N - metilkarbamat  
Baygon: 2 - İzopropoksifenil N - metilkarbamat  
Mesuroil: 4 - (metiltiyo) 3,5 - ksilil N - metilkarbamat  
Matasil: 4 - Dimetilamino - 3 - tolil N - metilkarbamat  
Metomil: Metil tiyoasetamidoksim N - metilkarbamat  
Primikarb: (Dimetilamino - 2 - dimetil - 5,6 - primidil - 4)

N,N - dimetilkarbamat

Promikarb: 3 - Metil - 5 - izopropoksifenil N - metilkarbamat

#### **Ayıraç ve Çözücüler**

##### **a - Developman çözücüler**

Benzol: Etil metil keton (90+10) (13)  
Benzol: Etil metil keton (80+20)  
Benzol: Aseton (4+1) (5)  
H<sub>2</sub>O : MeOH (5+5) (11)  
H<sub>2</sub>O: Aseton (6+4) (11)  
Hekzan: Aseton (70+30) (1,7)  
Kloroform: Aseton (90+10) (7)  
Kloroform: Metanol (90+10) (1)  
Kloroform: Asetonotril (80+20) (7)  
Eter: Hekzan (80+20) (7)

### b - Kromojenik ayıraçlar

Ninhidrin ayıracağı: %1'lik çözeltisi piridin içinde hazırlandı (7,10)  
Dibromokinonklorimid ayıracağı: %0.5'lik çözeltisi bidistile suda hazırlandı (12).

Rodamin B ayıracağı: %0.5'lik çözeltisi bidistile suda hazırlandı (8).  
Rodamin B - AgNO<sub>3</sub> ayıracağı: IN HCl (50 ml) ve 0,02N AgNO<sub>3</sub> (50ml) karışımında rodamin B (0,2 g) çözdürüldü ve süzgeç kağıdından süzülerek hazırlandı (11).

Bromin - Fluoressein ayıracağı: Fluoressein'in %2'lik çözeltisi etanolde hazırlandı (11).

Deneyssel olarak zehirlenmiş hayvanların dokularında elde edilen ekstraktlardaki karbamat rezidülerin tayininde gerekli plakaların hazırlanması, tank havasının saturasyonu, numunelerin uygulanması, developman işlemi ve zehirin dokudan ekstraksiyonu aşamalarında Tewari (13), Ramasamey (12) ve Hoof'un (9) yöntemleri esas olarak alındı.

### Plakaların hazırlanması

Temizlenip kurutulmuş, 20X20 cm boyutlarındaki beş adet plaka yayma tablası üzerine yerleştirildi. Adsorban/su karışım oranı olarak 30 g. silikajel G/60 ml su şeklinde beş plakayı 0,300 mm kalınlıkta kaplamak üzere, hazırlanan karışımla yayma işlemi yapıldı. Oda sıcaklığında 45 dakika kurumaya terk edildi ve etüvde 110°C de bir saat tutularak aktive edildi.

### Pestisidlerin uygulanması ve developman

Adsorbanlı plakalara, developman yönüne paralel olarak 1,5 cm aralıklarla kolonlar çizildi. Plakaların alt kenarından 2 cm uzaklıkta başlangıç noktalarına, mikrolitrelik pipetler ile gerek standart çözeltiler, gerekse deney hayvanlarından elde edilen doku ekstraktları bir biriyle eşit çaplardaki lekeler halinde uygulandı. Uygulama noktasından başlamak üzere 10 cm yukarisından, adsorbanlı plakalar uygulama noktalarına paralel bir şekilde çizilerek developman sınırı tesbit edildi ve karbamat standartları veya deney hayvanlarından elde edilen doku ekstraktları uygulanmış plakalar -1 saat önceden developman çözücüsü konmuş- tanka yerleştirilir. Adsorban katmanda yükselen çözücünün üst sınırı işaretlenen çizgiye ulaştığında, plaka tanktan çıkartılarak açık havada kurutuldu.

### Leke yerlerinin saptanması

1 - Uygulama yapılmış plakaya, metanolde hazırlanmış 1,5 N sodyum

hidroksit püskürtüldükten sonra, 2,6 -dibromokinonklorimid ayırıcı ile karbaril mavi, mesurol gri - yeşil, matasil gri - yeşil, promikarb açık-mavi renkler verdiği saptandı (9, 12, 13).

2 - Uygulama yapılmış plakaya rodamin B çözeltisi püskürtüldü. Plaka saç kurutma makinasının sıcak hava akımıyla kurutulduktan sonra, kısa dalga (254 nm) UV ışığı altında incelenerek floresans veren lekeler saptandı (7, 8, 11).

3 - Hazırlanan plakalara rodamin B - AgNO<sub>3</sub> çözeltisi püskürtülüp 30 dakika kısa dalga (254 nm) UV ışığı altında tutularak karbaril (koyu mavi), baygon (koyu mavi), mesurol (mor), matasil (kırmızı), metomil (mor), promikarb (açık mor) ve primikarb (açık mor) lekeleri belirlendi (11).

4 - Ninhidrin ayırıcı püskürtüldükten sonra plaka etüvde 100°C ısıda 30 dakika bekletilerek karbaril (kırmızı), baygon (kırmızı), mesurol (kırmızı), matasil (kırmızı), metomil (kırmızı) ve promikarb (kırmızı) lekeleri saptandı (7).

5 - Plaka kısa dalga (254 nm) UV ışığı altında incelendi ve floresans veren lekeler gösterildi (11, 13).

6 - Onbeş dakika brom buharına tutulan plakaya fluoressen çözeltisi püskürtüldükten sonra, karbamat lekelerinin tümüyle sarı renk verdikleri görüldü ve kısa dalga UV ışığı altında mor lekeler verdiği saptandı (11).

#### Ayıraç duyarlık sınırlarının saptanması

Karbamat pestisid standartlarının metanolde %0,1'lik çözeltileri hazırlandıktan sonra 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 2,5 - 3 - 3,5 - 4 - 4,5 - 5 mikrogram miktarlarında, silikajel G adsorbanlı plakalara uygulandı. Her bir ayırıcının sonuç verdiği en düşük pestisid miktarı bulundu. Ayıraçlar plaka üzerine püskürtüldükten hemen sonra meydana gelen lekelerin büyüklüğü ve renk reaksiyonları belirlendi.

Karbamatlarla deneysel hayvan zehirlenmeleri ve organlardan zehirlerin ekstraksiyonu

Tablo 1'de gösterilen miktarlarda, karbaril, baygon ve karbaril+baygon karışımı, cinsiyet farkı gözetmeksizin 10 tavşan ve 3 köpeğe ağız yoluyla verildi. Zehirlenme olaylarında, numunelerin toksikoloji - laboratuvarlarına en azından 5-6 saatlik bir süre geçtikten sonra analizinin yapılabileceği göz önünde bulundurularak, hayvanların ölümünden yaklaşık 5-6 saat sonra organları ve ekstraksiyon işlemleri yapıldı.

Karbaril, baygon ve karbaril+baygon karışımı verilerek öldürülen deney hayvanlarının organlarından zehirlerin ekstraksiyonunda, bir kaç değişiklik ile Tewari (11)'nin yöntemi aynen uygulandı; bu değişiklik 20 g. doku yerine 5 g. doku alınmasını ve kloroform tabakasının uçurulması işleminde hem madde kaybını önlemek hem de zamandan tasarruf etmek gayesi ile sıcak su banyosu yerine, rotari vakum evaporatör cihazının kullanılmasını içermektedir.

Zehirlenerek öldürülmüş hayvanların iç organları otopsi ile çıkarıldıktan sonra, her birinin zehir içeriği ayrı ayrı ekstrakta edildi. Organların tümüne uygulanan ekstraksiyon işleminde; 5 g. organ (mide - barsak, karaciğer, böbrek, dalak) önce bir makasla ufak parçalar halinde kesilerek homojenizatöre kondu ve üzerine 25 ml asetonitril katılıp 10 dakika iyice komojenize edildi. 250 ml'lik ayırma hunisine süzgeç kağıdı yardımı ile süzüldü. Aynı işlem iki kez 25 ml asetonitril ile tekrarlandı. 100 ml distile su ve 30 ml doymuş sodyum sülfat solusyonu ilave edildi ve 10 ml kloroform konarak 5 dakika çalkalandı. Kloroform tabakası, üzerine susuz sodyum sülfat konmuş süzgeç kağıdından bir huni yardımı ile süzüldü. Aynı işlem 10 ml kloroform ile tekrarlandı ve birleştirilen kloroform ekstraktları 50°C de rotari vakum evaporatör de kuruyuncaya kadar uçuruldu. Bu kalıntıyı 10 ml asetonda çözdürerek 60° de su banyosunda, mililitre bölümlü konik cam tüpte 1 ml'ye kadar yoğunlaştırılıp incetabaka kromatografisine uygulamaya hazır duruma getirildi.

Tablo 1 : Deneysel olarak zehirlenen hayvanlar ve verilen karbamat çeşitleri

Verilen ilaç	Hayvanın türü	Verilen miktar (mg/kg)
Baygon	Köpek	200
Karbaril	Köpek	800
Karbaril+baygon	Köpek	800+200
Baygon	Tavşan	150
	Tavşan	150
	Tavşan	150
Karbaril	Tavşan	710
	Tavşan	710
	Tavşan	710
Karbaril	Tavşan	710+150
	Tavşan	710+150
	Tavşan	710+150
	Tavşan	710+150

### Bulgular

1 - Tablo 2'de görüldüğü gibi, karbamat pestisidlerin ince tabaka kromatografisinde silikajel G adsorban kullanılarak çeşitli developman solventleri ile verdikleri Rf X 100 değerleri saptandı.

2 - Developman solventi olarak benzol : etil metil keton (90+10) kullanıldığında karbamatların Rf X 100 değerleri bakımından birbirlerinden kolaylıkla ayırt edilebilen değerler elde edildi (Tablo 2).

3 - Uygulama yapılmış plakalara, çeşitli ayraçlar püskürtüldükten sonra verdikleri renkler ve duyarlık sınırları tablo 3 ve 4 de gösterilmiştir.

#### a) Dibromokinonklorimid ayırıcı :

Develope edilmiş plakalara, 1,5 N NaOH uygulandıktan sonra anılan ayraç püskürtüldü. Tablo 3, 4 ve resim 1'de görüldüğü gibi karbamatlardan karbaril, baygon mavi, mesurol gri-yeşil ve promekarbın ise açık mavi bir renk verdiği saptandı. Karbaril ve baygon 0,5 µg, mesurol ve matasil 4 µg, promikarb ise 3 µg düzeylerinde belirlendi. Bu ayraç püskürtüldükten hemen sonra incelenerek renk değerlendirilmesi yapıldı.

#### b) Rodamin B ayırıcı :

Rodamin B ayırıcı püskürtülmüş plakalar sıcak hava akımında kurutulduktan sonra kısa dalga (254 nm) UV ışığı altında incelendi. Plakalara uygulanmış karbamatların floresans verdikleri saptandı. Karbamatlardan primikarb ve metomil, diğerlerine göre daha tatminkar bir duyarlık düzeyi verdiği görüldü.

#### c) Rodamin B - AgNO<sub>3</sub> ayırıcı :

Bu ayraç karbamatlar uygulanmış plakaya püskürtüldükten sonra, kısa dalga (254 nm) UV ışığı altında 30 dakika bekletildi. Tablo 3 ve 4'de görüldüğü gibi karbaril ve baygon koyu mor, mesurol ve metomil mor, primikarb ve promikarb açık mor, matasil ise kırmızı renk verdiği belirlendi. Karbamat leleri 1 - 2 µg düzeylerinde saptandı.

#### d) Ninhidrin ayırıcı :

Anılan ayraç, uygulama yapılmış plakaya püskürtüldükten sonra, etüvde 100°C de 30 dakika bekletildi. Uygulanan karbamatlardan metomil'in duyarlık sınırı 0,5µg, diğerlerinin ise 1 µg olduğu saptandı. Kullanılan 7 çeşit karbamatdan bu ayırıcı en duyarlı olanının metomil olduğu belirlendi (Tablo 3, 4 ve resim 2). Yapılan tüm uygulamalarda da primikarbın bu ayıraca karşı cevap vermediği görüldü. Ayraç etkinliğinin

(F. : 4)

korunabilmesi için, hazırlandıktan sonra karanlık bir yerde tutulması gerektiği anlaşıldı. Keza ayırıcın plakaya fazla püskürtülmesiyle karbamat lekelerini maskeleyen kırmızı bir katman oluşturduğu belirlendi.

e) Bromin - fluoressenin ayırıcı :

Karbamat uygulanmış plakalar, brom buharında 15 dakika bekletildikten sonra fluoressenin çözeltisi püskürtüldü. Karbamat lekeleri sarı zemin üzerinde pembe renkte, kısa dalga (254 nm) UV ışığı altında ise mor lekeler halinde görüldü. Tablo 3 ve 4'de görüldüğü gibi karbaril, baygon, mesurool, promikarb 1 µg, matasil 3 µg ve primikarb 1,5 µg düzeylerinde saptandı. Yoğun brom buharında tutulmuş plakalara fluoressenin çözeltisi püskürtüldüğünde koyu bir zemin tabakasının oluştuğu görüldü. Bundan dolayı, düşük konsantrasyonda brom buharına tutulduktan sonra fluoressenin püskürtülmesinin uygun olduğu görüldü.

f) Kısa dalga (254 nm) UV ışığı altında inceleme :

Karbamatlar uygulanmış silikajel G'li plakalar develop edildikten sonra karanlıkta kısa dalga UV ışığı altında incelendi. Uygulanmış karbamatlardan yalnız primikarbin 0,1 µg düzeyinde net ve parlak mavi renkte floresans verdiği saptandı.

4 - Deneysel olarak ağızdan karbaril, baygon ve karbaril+baygon karışımı verilerek öldürülmüş deney hayvanlarının iç organlarından elde edilen ekstraktlardaki karbamat varlığı silikajel G'li plakalarda 2,6 - dipromokinonklorimid ayırıcı kullanılarak incelendi. Resim 3, 4, 5, 6, 7 ve 8'de görüldüğü gibi mide - barsak, böbrek, karaciğer ve dalak'dan elde edilen tüm doku ekstraktlarında zehirin kimliği saptandı. Deney hayvanlarına verilen karbamatların mide - barsakta en yüksek karaciğer, böbrek ve dalakta ise daha az düzeylerde olduğu belirlendi.

Tablo 2. Karbamat pestisidlerin silikajel G adsorban üzerinde değişik çözücülerde hazırlanan kromatogramlarda verdiği Rf X 100 değerleri

Çözücüler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Adsorban	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Karbil	42	66	72	90	96	51	80	93	86	66
Baygon	37	65	72	88	98	53	79	94	84	70
Mesurool	52	73	80	89	95	56	82	96	93	72
Matasil	35	52	65	83	92	55	61	92	76	61
Metomil	15	26	32	73	94	27	55	98	70	10
Primikarb	35	55	72	82	89	59	62	98	77	50
Promikarb	56	75	80	90	98	57	86	97	93	77



## ÇÖZÜCÜLER :

- I. 1 - Benzol: Etil metil keton (90+10)      6 - Hekzan: Aseton (70+30)  
 2 - Benzol: Etil metil keton (80+20)      7 - Kloroform: Aseton (90+10)  
 3 - Benzol: Aseton (4+1)                      8 - Kloroform: Metanol (90+10)  
 4 - H<sub>2</sub>O: MeOH (5+5)                        9 - Kloroform: Asetonitril (80+20)  
 5 - H<sub>2</sub>O: Aseton (6+4)                        10 - Eter: Hekzan (80+20)

ADORBON : S=Silikajel G (0,300 mm)

Tablo 3. Karbamat Pestisidlerinin silikajel G adsorban üzerinde çeşitli ayıraçlarla vermiş oldukları renkler.

Ayıraç	1	2	3	4	5	6
Karbaril	Mavi	Floresans	Koyu - mavi	Kırmızı	Mor	—
Baygon	Mavi	Floresans	Koyu - mavi	Kırmızı	Mor	—
Mesuroil	Gri - yeşil	Floresans	Mor	Kırmızı	Mor	—
Matasil	Gri - yeşil	Floresans	Kırmızı	Kırmızı	Mor	—
Metomil	—	Floresans	Mor	Kırmızı	Mor	—
Promikarb	Açık mavi	Floresans	Açık mor	Kırmızı	Mor	—
Primikarb	—	Floresans	Açık mor	—	Mor	Floresans

## AYIRIĞ

- 1 — Dibromokinonklorimid                      4 — Ninhidrin  
 2 — Rodamin B                                      5 — Bromin - fluoressen  
 3 — Rodamin B - AgNO<sub>3</sub>                        6 — UV ışığı (254 nm)

Tablo 4. Karbamat pestisidlerinin silikajel G adsorban üzerinde çeşitli ayıraçlarla vermiş oldukları duyarlık sınırları (µg olarak)

Ayıraç	1	2	3	4	5	6
Karbaril	0,5	5	1	1	1	—
Baygon	0,5	4	2	1	1	—
Mesural	4	5	2	1	1	—
Matasil	4	2,5	1	1	0,5	—
Metosil	—	1	1,5	0,5	3	—
Promikarb	3	5	1	1,5	1	—
Primikarb	—	0,5	1	—	1,5	0,5

## AYIRIĞ

- 1 — Dibromokinonklorimid                      4 — Ninhidrin  
 2 — Rodamin B                                      5 — Bromin - fluoressen  
 3 — Rodamin B - AgNO<sub>3</sub>                        6 — UV ışığı (254 nm)

## TARTIŞMA

Karbamat pestisidlerin analizi ile ilgili çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Gaz kromatografi, spektrofotometrik, fluorometrik ve ince tabaka kromatografisi yöntemleri en sık başvurulanlar arasında bulunur. İnce tabaka kromatografisi yalnız başına olduğu kadar gaz kromatografisiyle yapılan analiz sonuçlarının doğrulanmasında da değer kazanmıştır. İnce tabaka kromatografisinde çok iyi bir seperasyon yapılabilir. Analiz edilen madde plakadan kazandıktan sonra spektrofotometri, gaz kromatografi ve diğer tekniklerle nicel ölçümleri yapılabileceği gibi (1, 3, 4), doğrudan da ince tabaka üzerinde leke alanlarının ve renk yoğunluklarının standartla karşılaştırılması suretiyle yarı-nicel analiz yapılabilir. Gaz kromatografisi, ince tabaka kromatografisine göre daha duyarlı olmakla beraber, hazırlanan ekstraktın kirlilikten çok iyi arındırılmış olması gerekmektedir (1). Gaz kromatografi, infraruj mass spektroskopi, seçici ve duyarlı oldukları halde pahalı aletlere ihtiyaç göstermekte, kağıt kromatografisi ise fazla seçkin olmadığından bu amaçla seyrek kullanılmaktadır. İnce tabaka kromatografisine gelince, nisbeten basit uygulamaları gerektirmesi, ucuz aygıtlarla yapılması ve yeterli derecede seçkin olması nedenleriyle, bugün pek çok laboratuvarında fazlaca kullanılır (4). Biyolojik maddede ekstrakte edilen karbamat pestisidlerin toksikolojik analizleri için ince tabaka kromatografisi yöntemi ekonomik ve çabuk olduğu kadar, saf olmayan maddelerin daha ileri derecede temizlenmesine gerek kalmadan analizine olanak vermesi ve duyarlık sınırının elverişli olması nedeniyle analizlerimizde tercih edildi.

İnce tabaka kromatografisinde; karbaril, baygon, mesurol, matasil, metomil, primikarb, promikarb için uyguladığımız yöntem bu pestisidlerin kalitatif analizleri için yeterli bulunmaktadır. Ayrıca yöntemin silikajel G adsorban üzerinde on değişik developman solvanına dayandırılması karbamatların toksikolojik analizinde solvan sistemini seçme olanağını vermektedir. Lekelerin belirlenmesi için, beş ayrı reaktif ve UV ışığının (254 nm) kullanılması, analiz sonuçlarının doğrulanması yönünden yeterli güvence sağlamaktadır.

Karbamat pestisidlerin ince tabaka kromatografisinde belirtilmesi için çeşitli ayıraçlar denenmiştir. Bunlardan p-nitrobenzen diazonium fluoborat (8, 9, 11), dibromokinonklorimid (9, 12, 13), bromin-fluoressein (11), rodamin B (8), rodamin B - AgNO<sub>3</sub> (4), ninnidrin (7, 10), fast blue B (13) en fazla başvurulanlar arasındadır. p-Nitrobenzen diazonium fluoborat diğer ayıraçlara göre yeterli derecede seçkin ve duyarlıdır. Fakat matasil, zektran, C 13963 2 (1,3-dithiolan-2-yl)-fenil N-metilkarbamat ile reaksiyon vermemekte ve aynı zamanda kimyasal olarak sen-

tezlenmesi (6) ve taze hazırlanıp uygulanması gibi işlemleri gerektirmektedir. N, n - dimetilkarbamatlar için rodamin B ayırıcı uygun bulunmuştur (8). Deneysel olarak karbaril ve baygon vererek zehirlemiş olduğumuz deney hayvanlarından elde edilen doku ekstraktlarından, zehirin teşhisi için, istenilen ölçüde duyarlık sınırına sahip olması ve karbamat lekelerinin seçkin bir şekilde belirlenmesi bakımından 2,6 - dibromokinonklorimid ayırıcı kullanıldı (Resim 4, 5, 6, , 8, 9).

Karbamat pestisidlerin ince tabaka kromatografisinde tayini işlemlerinde uygulanan yöntemler genellikle bir hidroliz işleminden sonra şekillenen fenol'ün p - nitrobenzen diazonium fluoboratla bağlanması, diazotiazit sülfanilik asitle bağlanması veya dibromokinonklorimid ayırıcı ile tepkimeye girmesi esasına dayanır (7, 9). Çalışma alkali püskürtme çözeltisi olarak Hoof'ın (9) kullanmış olduğu metanoldeki IN KOH yerine metanoldeki 1,5 N NaOH çözeltisi kullanıldı. Söz konusu ayırıcının püskürtmeyle uygulanmasından sonra karbamatlar kolayca fenollere hidrolize olabilmektedir. Dibromokinonklorimid ayırıcı kullanıldığında 0,3 - 0,5 µg düzeyleri arasındaki karbaril ve baygon mavi lekeler şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Ramasamy (12), silikajel G'nin alüminyum oksid G'ye göre yüksek duyarlık gösterdiğini ve alüminyum oksid G'ye nazaran daha iyi sonuçlar verdiğini ve alüminyum oksid G'li plakanın alkaliliği developman işlemi müddetince bazı karbamatların, örneğin mobam'ın (4 - benzol thienil metilkarbamat) kısmi dekompozisyonuna sebep olduğunu ve karbamatlar için daha az duyarlık gösterdiğini bildirmektedir. Bu açıklamaların ışığı altında araştırmamızda adsorban olarak silikajel G kullanıldı. Kullanılan yedi çeşit (karbaril, baygon, mesurol, matasil, metomil, primikarb, promikarb) karbamat insektisidin silikajel G adsorbanlı plaka üzerinde rodamin B, rodamin B - AgNO<sub>3</sub>, bromin - fluoressein ve ninhidrin ayırıcı ile (primikarb dışında) tümünün tanı ve tayini yapılabilmektedir. Böylece silikajel G ve belirtilen ayıraçlarla karbamat grubu pestisidlerin yeterli düzeylerde tanı ve tayinlerinin yapılabileceği anlaşılmıştır (Tablo 6, 7). Hoof (9), çalışmasında adsorban olarak Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>G (tip E) plaka üzerinde metanolde 1 n KOH'le alkali hidrolizi yapıldıktan sonra etanolde %1'lik dibromokinonklorimid ayırıcı püskürterek yaptığı çalışmada en düşük duyarlık düzeyi olarak 0,1 µg karbaril, 1 µg baygon, 5 µg promikarb, 5 µg mesurol, 5 µg matasil lekelerini ortaya çıkartabilmiştir. Araştırmamızda silikajel G adsorbanlı plakalar üzerinde aynı ayıraç kullanılarak 0,5 µg karbaril, 0,5 µg baygon, 4 µg mesurol 4 µg matasil ve 3 µg promikarb varlığı saptandı.

Nagasawa (11), çalışmasında polyamidli tabakada developman sol-

venti olarak su : MeOH (5+5) ve su : aseton (6+4) kullanarak bilhassa karbaril ve baygon'un çok iyi bir ayrımını sağlamıştır. Araştırmamızda ekonomik olabileceği düşüncesiyle silikajel G adsorban plakalar üzerinde aynı oranda yapılan developmandan sonra karbamanların RfX100 değerlerinin hemen hemen eşit, çok yüksek ve aynı zamanda kompakt olmayan lekeler halinde görülmesi üzerine, uygun bir ayırım sağlayamayacağı kanısına varılmıştır. Developman solventi olarak 10 ayrı sistem denendi ve bunlardan silikajel G adsorbanı üzerine uygulanan yedi karbamatın en uygun ayrımını sağlayan solvent sistemi olarak benzol : etil metil keton (90+10) karışımı bulundu. Araştırmamızda uygulanan developman solvent sistemi developman tankında 1 saat bekletildikten sonra silikajel G'li plaka üzerinde yedi karbamat çeşidinin çok kolay ve yeterli ölçülerde birbirinden ayrıldığı görüldü.

Karbamat pestisidleri ile meydana gelecek zehirlenme olaylarında organ ve içeriklerdeki karbamatların toksikolojik analizi için biyolojik maddelerden ayrılmasını öngören etkin bir ekstraksiyon tekniği gerekmektedir. Bu grup pestisidlerin biyolojik maddelerden ekstraksiyonu için araştırmamızda Tewari (13)'nin uyguladığı ekstraksiyon tekniği, bir kaç ufak değişiklik yapılarak kullanıldı; söz konusu ekstraksiyon tekniğinde kloroformlu ekstraktı 80°C de benmari üzerinde uçurarak yoğunlaştırmıştır. Araştırmamızda bu uçurma işleminin kısa sürede olması ve rezidü kaybını önleme yönünden rotari vakum evaporatör cihazıyla yapıldı. Kloroform ekstraktı kuruyana kadar uçurulduktan sonra, kloroforma nisbeten düşük ısıda çok daha kolay uçabilen asetonunda kalıntı çözdürülerek, mililitre bölümlü konik cam tüpe aseton ekstraktı aktarılarak düşük sıcaklıkta 1 ml'ye kadar su banyosu üzerinde uçuruldu. Bu değişiklikte bir ölçüde rezidü kaybı önlenmiş ve zamandan tasarruf edilmiş oldu.

Tablo 1'de görüldüğü gibi deney hayvanlarına karbaril, baygon barbaril+baygon LD<sub>50</sub> dozlarında ağız yoluyla verildi. Gerek tek, gerekse karışım şeklinde verilen tüm dozlarda hayvanlar yaklaşık 15 - 30 dakikalık süre içinde şiddetli semptomlar göstererek öldüğü görüldü. Ölümlerinden 4 - 6 saat sonra hayvanların mide - barsak karaciğer, böbrek ve dalakları çıkarılıp 5 g. tartılarak her bir doku için yukarıda anlattığımız şekilde ekstraksiyon işlemi uygulandı. Tewari (13), bu ekstraksiyon işleminden 20 g doku kullanmasına karşın, çalışmamızda 5 g alınması yeterli bulundu. Elde edilen doku ekstraktları resim 3, 4, 5, 6, 7, 8'de görüldüğü gibi silikajel G adsorbanlı plakalar üzerinde herhangi bir kirlilik söz konusu olmadan, lekelerin net olarak belirdiği ve ekstraksiyon işleminin yeterli verimliliğe sahip olduğu belirlendi.

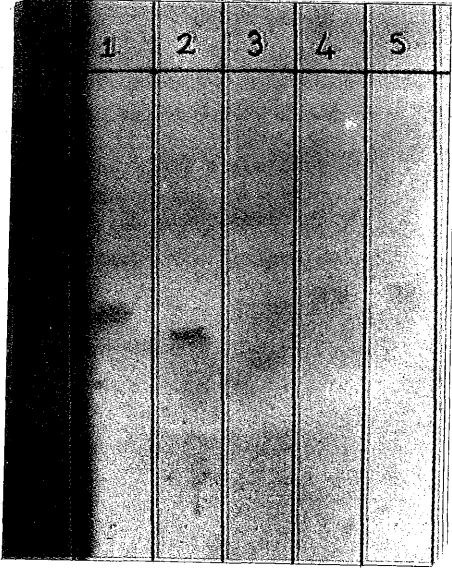
Deneysel olarak zehirlenen hayvanlardan elde edilen doku ekstraktları (mide - barsak, karaciğer, böbrek, dalak) silikajel G adsorbanlı plaka üzerine uygulanarak dibromokinonklorimid ayırıcı püskürtüldükten sonra karbamatlar mavi lekeler halinde görüldü. Zehirlenme şekline göre, elde edilen doku ekstraktlarında saptanan karbamat insektisid yoğunlukları dikkate alındığında, sırasıyla en çok mide - barsak, karaciğer, böbrek ve dalak'da bulunduğu belirlendi. Dolayısıyla aksidental zehirlenmelerde analiz numunesi alınırken bu hususun göz önünde tutulmasında yarar görülmektedir.

Sonuç olarak karbamat pestisidlerin analizi yönünden uygun olan bir ince tabaka kromatografisi yöntemi denendi. Ayrıca yöntemin silikajel G adsorban üzerinde on değişik developman solvanına dayandırılması karbamatların toksikolojik analizinde solvan sistemini seçme olanağını vermektedir. Karbamat lekelerinin teşhisi için ayıraç olarak da dipromokinonklorimid, rodamin B, bromin - fluoresssein rodamin B - AgNO<sub>3</sub> çesitleri uygun görüldü. Belirtilen seçenekler uygulandığında 5 g'a kadar olan çeşitli biyolojik numunelerde karbamat türevine göre değişmek üzere 0,5 µg'a kadar olan pestisid varlığının duyarlı bir şekilde saptanabileceği kanısına varıldı.

#### Kaynaklar

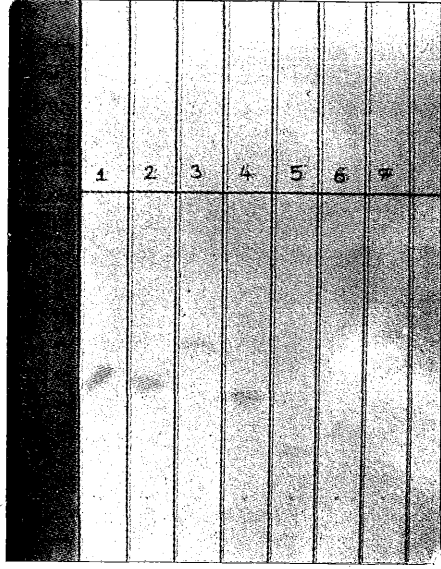
- 1 - Ceylan, S. (1980). Organik fosforlu, karbamat ve organik klorlu pestisidlerin ince - tabaka kromatografisinde kromojenik ayıraçlarla sistemik analizi. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 27 (3 - 4) : 440 - 466.
- 2 - Ceylan, S. ve Şanlı, Y. (1980). Çevre ve besin kirlenmesi. Gıda Bil. Teknol. Derg., 3 (1 - 2) : 76 - 94.
- 3 - Eberle, D. O. and Gunther, F. A. (1965). Chromatographic, spectrometric, and irradiation behavior of five carbamate insecticides. J. A. O. A. C., 48 (5) : 927 - 937.
- 4 - El - Dıb, 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.
- 5 - 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.
- 6 - Freeman, J. H. (1952). Separation and identification of polymethylol phenols by paper chromatography. Anal. Chem., 24 : 955 - 959.

- 7 - Güley, M. ve Karakaya, A. E. (1976). Türkiye'de kullanılan karbamat insektisidlerinin analitik toksikoloji yönünden incelenmesi. A. Ü. Ecz. Fak. Mec., 6 (1) : 102 - 125.
- 8 - Henkel, H. (1966). Dünnschichromatoraphische trennung und nachweis insektizidwirksamer carbamate. J. Chromatog., 21 : 346 - 348.
- 9 - Hoof, F. V. and Heyndrickx, A. (1971). Thin - layer chromatography of N - substituted monomethyl carbamate pesticides. Mededeligen Fakulteit Landbouw - Wetenschappen, Gent, 36 (3 - 4) : 1137 - 1145.
- 10 - Leeling, N. C. and Casida, J. E. (1966). Metabolites of carbaryl (1-naphthyl methylcarbamate) mammals and enzymatic system for their formation. J. Agr. Food Chem., 14 (3) : 281.
- 11 - Nagasawa, K., Yoshidome, H. and Kamata, F. (1970). Separation and detection of carbamates and related compounds on polyamide layers. J. Chromatog., 52 : 453 - 459.
- 12 - Ramasamy, M. (1969). The identification and determination of organophosphorus and carbamate insecticides by thin - layer chromatography. Analyst, 94 : 1075 - 1080.
- 13 - Tewari, S. N. and Sigh, R. (1979). Thin - layer chromatographic technique for separation and identification of carbamate pesticides in post mortem material. J. Chromatog., 172 : 528 - 530.



Resim : 1

5 : 10000



Resim : 2

5 : 10000

Resim 1. Dibromokinonklorimid ayırıcı ile karbamat insektisidlerinin verdiği renkler ve duyarlık sınırlarının belirlenmesi ( $\mu\text{g}$  olarak).

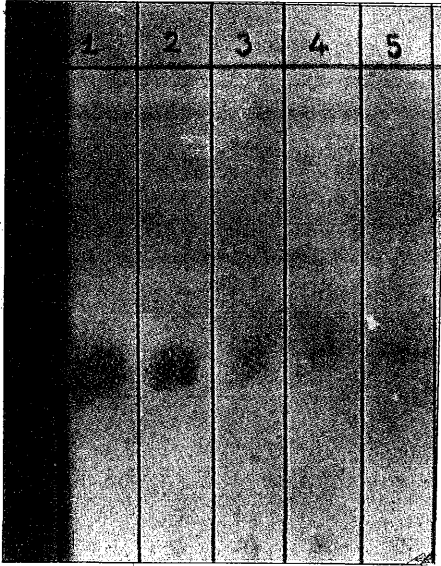
1 - Karbaril (0,5  $\mu\text{g}$ ), 2 - Baygon (0,5  $\mu\text{g}$ ), 3 - Matasil (4  $\mu\text{g}$ ), 4 - Mesurol (4  $\mu\text{g}$ ), 5 - Promikarb (3  $\mu\text{g}$ ).

Adsorban : Silikajel G

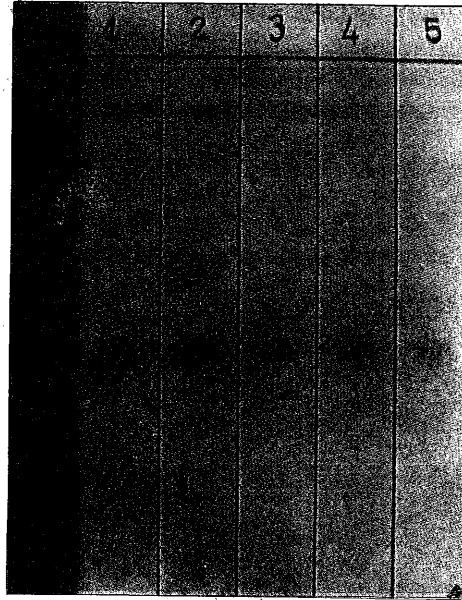
Developman solventi : Benzol : Etil metil keton (90+10)

Resim 2. Ninhidrin ayırıcı ile karbamat insektisidlerden elde edilen renkli lekeler ve duyarlık sınırlarının saptanması ( $\mu\text{g}$  olarak).

1 - Karbaril (1  $\mu\text{g}$ ), 2 - Baygon (1  $\mu\text{g}$ ) 3 - Mesurol (1  $\mu\text{g}$ ) 4 - Matasil (1  $\mu\text{g}$ ), 5 - Metomil (0,5  $\mu\text{g}$ ), 6 - Primikarb (1  $\mu\text{g}$ ), 7 - Promekarb (1,5  $\mu\text{g}$ ).



Resim : 3



Resim : 4

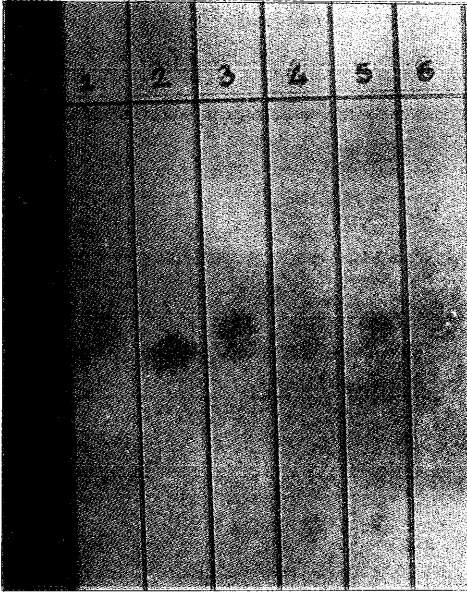
Resim 3. Baygon ile zehirlenmiş köpeklerin dokularında elde edilen ekstraktlarla hazırlanan kromatogram. 1 - Baygon ( $\mu\text{g}$ ), 2 - Mide-barsak ekstraktı ( $5 \mu\text{l}$ ), 3 - Karaciğer ekstraktı ( $5 \mu\text{l}$ ), 4 - Böbrek ekstraktı ( $5 \mu\text{l}$ ), 5 - Dalak ekstraktı ( $5 \mu\text{l}$ ),

Adsorban : Silikajel G

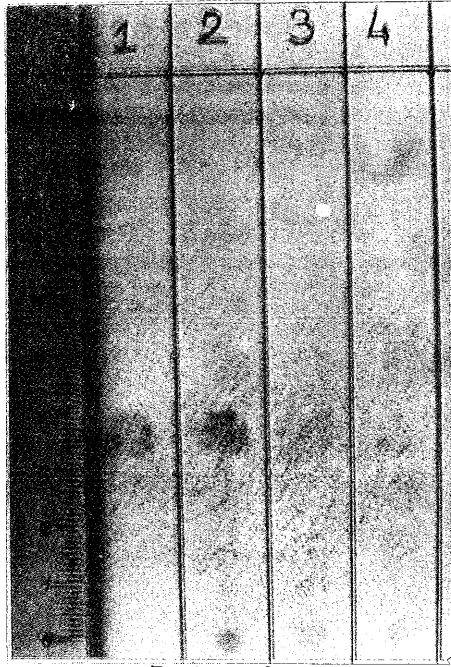
Developman solventi : Benzol : Etil metil keton (90+10)

Resim 4. Karbaril ile zehirlenmiş köpeklerin dokularında elde edilen ekstraktlarla hazırlanan kromatogram. 1 - Karbaril ( $5 \mu\text{g}$ ), 2 - Mide-barsak ekstraktı ( $5 \mu\text{l}$ ), 3 - Karaciğer ekstraktı ( $5 \mu\text{l}$ ), 4 - Böbrek ekstraktı ( $5 \mu\text{l}$ ), 5 - Dalak ekstraktı ( $\mu\text{l}$ ).





Resim : 5



Resim : 6

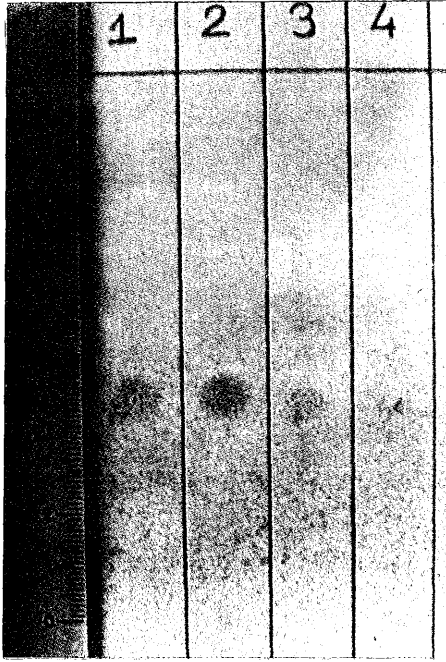
Resim 5. Karbaril+Baygon karışımı ile zehirlenmiş köpeklerin dokularından elde edilen ekstraktlarla hazırlanan kromatogram. - Karbaril (5 µg), 2 - Baygon (5 µg), 3 - Mide - Barsak ekstraktı (5µl) 4 - Karaciğer ekstraktı (5 µl), 5 - Börek ekstraktı (5 µl), 6 - Dalak ekstraktı (5 µl).

Adsorban : Silikajel G

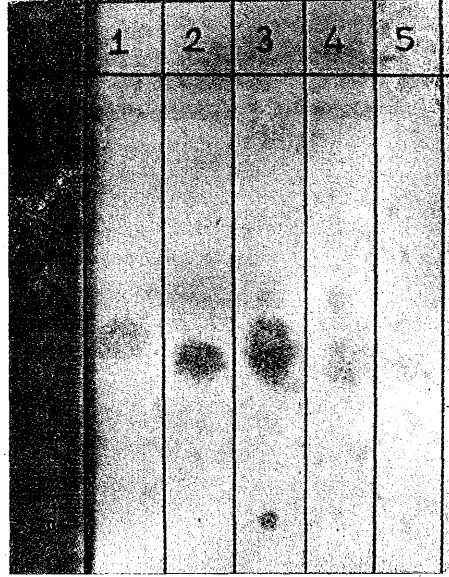
Developman solventi : Benzol : Etil metil keton (90+10)

Ayıraç : Dibromokinonklorimid

Resim 6. Baygon ile zehirlenmiş tavşanların dokularından elde edilen ekstraktların kromatogramı. 1 - Baygon (5 µg), 2 - Mide - barsak ekstraktı (5 µl), 3 - Karaciğer ekstraktı (5 µl), 4 - Böbrek ekstraktı (5 µl).



Resim : 7



Resim : 8

Resim 7. Karbaril ile zehirlenmiş tavşanların dokularından elde edilen ekstraktlarla hazırlanan kromatogram. 1 - Karbaril (5 µg), 2 - Mide - barsak ekstraktı (5 µl), 3 - Karaciğer ekstraktı (5 µl), 4 - Böbrek ekstraktı (5 µl).

Absorban : Silikajel G

Developman solventi : Benzol : Etil metil keton (90+10)

Ayıraç : Dibromokinonklorimid.

Resim 8. Karbaril+Baygon karışımı ile zehirlenmiş tavşanların dokularından elde edilen ekstraktların kromatogramı. 1 - Karbaril (5 µg), 2 - Baygon (5 µg), 3 - Mide - barsak ekstraktı (5 µl), 4 - Karaciğer ekstraktı (5 µl) 5 - Böbrek ekstraktı (5 µl),

Adsorban : Silikajel G

Developman solventi : Benzol : Etil metil keton (90+10)

Ayıraç : Dibromokinonklorimid.