

## MALATHİON İLE İLAÇLANMIŞ HUBUBATTA MALATHİON BAKİYESİNİN BİYOLOJİK METODLAR İLE TAYİNİ

Talip ÖDEN<sup>1</sup>

Emine ŞAHİN<sup>2</sup>

### GİRİŞ

Son zamanlara kadar depolanmış hububat üzerinde insektisidlerin kullanılmasına Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı tarafından müsaade edilmemekte idi. Tarım ve Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlıkları arasında yapılan müzakereler sonucunda, sıcak kanlılara toksisitesi az olan piretrum ve malathion gibi insektisidlerin dikkatle tatbiki ve gıda maddelerinde bakiye analizlerinin yapılması şartı ile depolanmış hububat üzerinde kullanılmasına müsaade edilmiştir.

Zirai istihsalimizin ve günlük gıdamızın başlıcasını hububat teşkil ettiğinden, önümüzdeki yıllarda malathion'un depolanmış hububata tatbiki geniş mikyasta artabilir. Bu artışa paralel olarak, ilacın hassasiyetle tatbik edilmesi ve bakiye tayinlerinin önemi de artacaktır.

Zirai Mücadele Enstitülerimiz henüz kendi ihtiyaçlarını karşılayabilecek kimya laboratuvarları ile teçhiz edilmediğinden, hububat ve bunlardan elde edilen gıda maddeleri üzerinde ki insektisid bakiyelerini kimyevi yol ile tayin edebilecek durumda değillerdir. Önümüzdeki yıllarda bakiye analizi istenecek hububat ve bunlardan elde edilen gıda maddeleri numuneleri çok miktarda olabileceğinden, Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü laboratuvarlarında bunların kısa zamanda tahlili belki de mümkün olamayacaktır.

Bu sebeplerden dolayı bu yazıda, hububatta malathion bakiyesinin tahlili için kolay ve çabuk bir metod izah edilmektedir. Biyolojik yollar ile yapılan bu metodu her müessesenin kolayca tabdik edebileceği kanaatindeyiz.

Bir çok araştırmacılar insektisid bakiyelerinin tayinin de biyolojik metodları tatbik etmektedir. Sun (1957), Nagasawa (1959) ve Needham (1960) ın gözden geçirmeleri bu mevzuudaki neşriyatların en kıymetlileridir.

Gunther et al. (1958) kimyevi metod ile yaptıkları çalışmada, buğday muhafazasında malathion bakiyesinin vasati yarı ömrünün 5-6 ay, bununla beraber 2,5-7,5 ppm doz ile toz veya mayi malathion ile ilaçlanmış buğday-

<sup>1</sup> Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü İnektisid Deneme Laboratuvarı Şefi

<sup>2</sup> Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü İnektisid Deneme Laboratuvarı Asistanı

lardan yapılan unda bakiyenin 0.0 ve 0.3 ppm den daha az olduğuna işaret etmektedir.

Schesser et al. (1958) malathion ile ilâçlanmış buğdaylarda bakiyenin kabuk, kepek ve rüseyim de daha fazla olduğunu, fakat ilâç tatbikinden bir kaç gün sonra un yapılırsa bile bakiyenin 3,4 ppm den fazla olmadığını tesbit etmişlerdir.

## MATERYAL VE METOD

**Hububatın ilâçlanması ve muhafazası:** Denemelerde kullanılan mısır, çavdar ve buğday Ankara Ziraî Mücadele Enstitüsünde\* ilâçlanmıştır. İlâçlama % 2 lik toz malathion'dan 5 gr'ı ağzı ince delikli bir tuzluk vasıtası ile 10 kg hububata dökmek sureti ile yapılmıştır. İlâcın tatbiki esnasında ve tatbikten sonra hububat iyice karıştırılarak emaye tep-siler içinde 25-27°C de ve % 60-70 nisbi rutubette muhafaza edilmiştir.

**Nümunelerin alınışı ve ekstraksiyon:** Sabit ısı ve nisbi rutubette muhafaza edilen hububatın, her tarafından olmak üzere ilâçlamadan 3, 5, 6, 9 ve 21 gün sonra nümuneler alınmış ve bunlarda bir araya getirilmiş, iyice karıştırılarak paçal nümuneye yapılmıştır. Ağzı cam kapaklı erlenler içine paçal nümunelerden 25 gr tartılmış ve 50 ml aseton ilâve ettikten sonra ağızları kapatılarak iyice karıştırılmış ve zaman zaman çalkalamak suretiyle 24 saat sonunda filtre kâğıdı vasıtası ile ağzı kapaklı cam şişelere süzölmüş ve kullanılmalarına kadar buz dolabında muhafaza edilmişlerdir. Kontrol, temiz hububata aynı nisbette aseton, standard ise temiz buğdaya (25 gr) 2 mg saf malathion ve aseton (50 ml) ilâve etmek ve bundan sonra aynen nümunedeki gibi muamelelere tabi tutmak sureti ile hazırlanmıştır. Nümuneye ve standard kontrol ile sulandırılarak petrilere tatbik edilmiş ve bu satırlar ile *Drosophila melanogaster* temas ettirilmiştir.

*Drosophila melanogaster* MG.nin yetiştirilmesi Çeşitli laboratuvarlar yetiştirme için değişik metodlar kullanmaktadır. Laboratuvarımızın imkânlarına göre aşağıdaki metod en uygundur ve bunu tatbik etmekteyiz.

Gıda Vasıtası	Miktar
Mısır unu .....	80 gr
Toş Şeker .....	40 gr
Bira Mayası .....	5 gr
Agar .....	4 gr
% 10 Nipagin (Etil Alkolde) .....	2 ml
Distile Su .....	650 ml

Agar 200 ml, toz şeker ile bira mayası 150 ml su içinde beherlerde ısıtılarak eritildikten sonra geniş bir kap içine dökülür ve geri kalan 300 ml su ve 2 ml nipagin mahlülü ilâve edilerek kaynayınca kadar ısıtılır. Kay-

\* Tarık Esin, Dr. Ayten Güvener, Talip Öden ve Cevdet Sevintuna 1963, neşredilmemiş rapor.

namaya devam edilirken mısır unu azar azar dökülür ve devamlı karıştırma ile takriben 15 dakika kaynatılarak biraz koyuca bir madde elde edilir. Bu, tabanında bir pamuk tabakası bulunan 10 cm çapındaki iki kavanoza taksim edilir. Soğuduktan sonra vasatın ortasına yukardan aşağı bir pamuk sokulur, bu suretle fermantasyon sonucu meydana gelen gazların çıkışı sağlanmış olur. Gıda vasatının yüzeyi bir bıçak veya kaşıkla parçalanır ve bir kahve kaşığı dolusu toz şeker ve bira mayası serpilir. Takriben 200 adet 3-4 yaşında ergin sinek her kavanoza ilâve edilerek kavanozların ağzı bir tülbent ile kapatılır ve 26°C de muhafaza edilir. Altı gün sonra erginler kavanozdan uzaklaştırılır ve gıda yüzeyine larfların pup olması için bir tülbent konur. Uzaklaştırmadan takriben 3-4 gün sonra ilk sinekler görülür. Çıkan sinekler dibinde % 10 luk şeker mahlûkü ile ıslatılmış pamuk bulunan kavanozlara her gün aynı saatta alınırsa, yaşları 0-1 günlük olan sinekler elde edilmiş olur. Kavanoz içindeki bu sinekler yaşları 2-3 günlük oluncaya yani, alındıklarından 2 gün sonrasına kadar 26°C de muhafaza edilmekte ve 2-3 günlük yaşta iken kullanılmaktadır.

İlâcın tatbiki ve bilinmeyen nümune bakiyenin tesbiti: Standard, kontrol ve nümunelerde hububat + aseton oranı 1 + 2  

$$\frac{1000 \times 2}{25} = 80$$
ve standardda malathion miktarı, hububata göre 80 ppm

dir. Bu konsentrasyon çok yüksek olduğundan, standard temiz hububat + aseton ekstraktı ile, hububatta malathion miktarı 0.25, 0.75, 1.5 ve 2.0 ppm olacak şekilde sulandırılmıştır. Nümuneler teorik olarak 10 ppm malathion ihtiva etmektedir, fakat gerek ilâcın tatbiki ve gerekse hububatın muhafazası esnasında bir miktar malathion'un kayıp olacağı nazarı itibare

alınarak  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{6}$  ve  $\frac{1}{8}$  nisbetinde kontrolden elde edilen ekstrakt ile sulandırılmıştır.

Standard ve nümunelerin her konsentrasyonundan 1 ml 9 cm çapındaki petrilerin alt kapağına damlatılmış ve düz bir masa üzerinde petriler çalkalanarak hem asetonun uçması ve hem de bakiyenin petri içinde yeknesak dağılması temin edilmiştir. Her konsentrasyon iki tekerrürlü yapılmış, her deneme 3-4 defa tekrar edilmiştir. Kontrollara yalnız temiz hububat + aseton ekstraktı tatbik edilmiştir. Petrilerin ilâçlanmamış geniş kapağına, biraz büyükçe daire şeklinde kesilmiş beyaz kâğıt ve bunun üzerine de % 10 luk şekerli su ile ıslatılmış pamuk konmuştur. Drosophila kültürlerinden 2-3 günlük yaştaki erginler bir tüp içine alınmış ve bu tüp bir buz banyosu içinde tutulmak sureti ile sinekler hareketsiz kılınmıştır. Bir parça buz üzerinde bulunan temiz kaba sinekler dökülmüş ve küçük tüplere 50 şer adet erkek sinek alınmıştır (erkek sinekler insektisitlere karşı daha hassastır). Tekrar soğutularak hareketsiz kılınan küçük tüplerdeki sinekler petrilerin üzerindeki beyaz kâğıtlara dökülmüş ve ilâçlı kapak kâğıda bastırılarak kapatılmıştır. Bu suretle beyaz kâğıt iki kapak arasında sandviç şeklini almış olur. Takriben 10 dakika sonra canlanmayan sinekler not edil-

miş, 25°C ısıdaki inkübatöre nakledilen petriyer üstten bir elektrik lâmbası ile aydınlatılarak sineklerin devamlı olarak ilâçlı üst kapak ile temasları sağlanmıştır. Müşahadeler 24 saat sonra yapılmış, standard ve nümunedeki hangi ppm ve sulandırmanın % 50 ölümü verdiği probit analiz ile tesbit edilmiş ve standard için bulunan ppm, nümune için bulunan sulandırma faktörü ile çarpılarak nümunedeki malathion miktarı tayin edilmiştir.

*Calandra granaria* l. ile yapılan denemeler: Malathion için depolanmış hububatta kabul edilen tolerans 8 ppm dir. Bu bakımdan kullanılacak canlı organizmanın da bu ppm den daha aşağı dozlara hassas olması lâzımdır. Ön denemelerde *Calandra granaria* 8 ve daha düşük dozlara hassas bulunduğundan, bakiye tayininde kullanılma imkânı araştırılmış, fakat bilinmeyen nümuneler için tatbik edilmemiştir. Bu zararlı laboratuvarımızda aşurelik buğday üzerinde yetiştirilmektedir. Bu buğdaylar büyük kavanozlar içinde otoklavda sterilize edilmekte ve içinde doymuş tuz mahlülünü bulanan akvaryumlara konarak rutubet muhtevasının % 15 civarına yükselmesi sağlanmaktadır. Buğday istenilen rutubeti bulunca 250 cc lik kavanozlara 150 gr konmakta ve her kavanoza 50 adet *Calandra granaria* ergini ilâve edilmektedir. Ağız tülbent ile kapatılan kavanozlar, içindeki doymuş tuz mahlülünü kavanozların yarı yüksekliğinden fazla olmayan akvaryumlar içinde 26°C de muhafaza edilmektedir. Bir buçuk ay sonra bu kavanozlar akvaryumdan çıkarılarak erginler uzaklaştırılmakta ve tekrar akvaryumda muhafaza edilerek her hafta aynı günde yeni çıkan erginler toplanmaktadır. Böcekler birer hafta ara ile toplanıldığından elde her zaman aralarında bir hafta fark ile istenilen yaşta böcek bulunmaktadır.

Denemelerde kullanılan standard % 1 malathion, malathion'un aseton mahlülünü talka emdirmek ve asetonu uçurmak sureti ile hazırlanmıştır. Ağız kapaklı 250 ml kavanozlara 50 gr steril buğday tartılmış ve muayyen miktar % 1 lik toz malathion ilâvesinden sonra çalkalama âletinde 15 dakika iyice karıştırılmıştır. Her kavanoza 50 adet 2-3 haftalık yaşta *Calandra granaria* ergini konduktan sonra ağızları tülbent ile kapatılarak 26°C de 3 gün muhafaza edilmişlerdir. Bu müddetin sonunda *Calandra granaria* lar buğdaydan alınmış ve beyaz bir kâğıt üzerine çizilmiş 4 cm çapındaki dairenin ortasına konarak kırmızı ışık altında 5 dakika tutulmuşlardır. Dairenden uzaklaşanlar canlı, diğerleri ölü olarak kabul edilmiştir. Kontrollarda talk kullanılmış, deneme birçok defa tekrar edilmiş, her doz üç tekerrürlü yapılmıştır.

## SONUÇLAR

*Drosophila melanogaster* ile buğday, çavdar ve mısır için bir çok denemeler yapılmış ve yalnız ilâçlamadan 5 gün sonra alınan buğday nümunesinin ve standardın verdiği % ölümler cetvel 1 de gösterilmiştir. Stan-

dard % 50 ölümü takriben 0.75 ppm de, nümune ise — sulandırmada ver-

mektedir. Nümune bu miktara sulandırıldığı zaman ihtiva ettiği malathion 0.75 ppm dir ve bu miktar ppm i % 50 ölümden sulandırma faktörü olan 6 ile çarptığımız zaman nümunedeki hakiki malathion tesbit edilmiş olur ki bu da 4.4 ppm dir.

CETVEL 1

İlaçlamadan 5 gün sonra buğday nümunesinin ve standardın verdiği ölümler

STANDARD		BUĞDAY NÜMUNESİ	
Konsentrasiyon	% ölüm	Sulandırma nisbeti	% ölüm
0.25	11	1/8	32
0.75	52	1/6	51
1.50	76	1/4	70
2.00	90	1/2	95

Bilinmeyen nümune bakiye miktarını tayin için, nümune ve standardın aynı ölümleri veren rastgele iki dozunu seçmek her zaman yanlış neticeler verebilir. Belli bir ölüm seviyesinde mukayese yapılmalıdır. Bunun için dozların logaritması, tekebül ettikleri % de ölümlerin probit değerine karşı çizilerek elde edilen hat vasıtası ile % 50 veya 95 ölüm veren dozlar tesbit edilmeli ve bunların mukayesesi yapılmalıdır.

Standardın ve nümunelerin % 50 ölüm veren ppm ve sulandırma katsayıları vasıtası ile nümunelerde bulunan malathion bakiyeleri cetvel 2 de gösterilmiştir. Boş bırakılan nümunelerin analizleri yapılmamıştır.

CETVEL 2

Hububat nümunelerinde malathion bakiyeleri (ppm olarak)

Nümune	İlaçlamadan sonra nümune alma günleri				
	3	5	6	9	21
Mısır	—	—	5,2	2,9	—
Çaydar	5,0	—	4,3	—	—
Buğday	—	4,4	—	—	2,3

İlaçlamadan hemen bir kaç gün sonra alınan nümunelerde bile bakiye 8 ppm nin altındadır. Memleketimiz için hububatta malathion bakiyesinin ne olacağı henüz tesbit edilmemekle beraber, tavsiye edilen dozda malathion'un hububata tatbiki çok az bir bakiye bırakmaktadır. Toz malathion hububata 10 ppm dozda tatbik edildiğine ve Gunther et al. (1958) göre de malathion bakiyelerinin buğdayda yarı ömrünün 5.6 ay ol-

masına mukabil, ilâçlamadan bir kaç gün sonra bakiyenin düşük olması şüphe ile karşılanabilir. İlâcın hububata ilâvesi ve karıştırılması esnasında ne miktar ilâç kaybolduğu belli değildir. Pratikte karıştırmanın açıkta yapıldığı veya yapılacağı hatırlanırsa, kaybın daha fazla olacağı da tabiidir. Bilhassa buğday bazı işlemlerden sonra istihlâke arz edildiğinden, bu işlemlerde bakiyeyi düşürecektir.

*Calandra granaria* ile yapılan denemelerde 2, 3, 5 ve 6 ppm dozlar sırası ile % 8-66-91 ve 98 ölüm vermiştir. Bu organizmanın malathion'a hassas olması bakımından bakiye tayininde kullanılması imkân dahilindedir. Bilinmeyen nümunelerde bu böceği kullanarak her hangi bir tayin yapılmamış ise de tahlili istenen buğday nümunesi ile de aynı deneme yapılarak bakiye miktarı tesbit edilebilir. Meselâ, A nümunesinin tahliline ihtiyaç duyulduğu zaman, bazı hallerde bunun yalnız toleransa nazaran az veya çok mu bakiye ihtiva ettiği araştırılır. Bu zaman A nümunesi doğrudan doğruya denenir ve elde edilen % ölümün, standard da toleransın verdiği ölümden fazla ve az mı olduğu tesbit edilir, fazla ise nümune toleranstan fazla, az ise az bakiye ihtiva ediyor demektir. Bazanda nümunenin miktarı olarak ihtiva ettiği bakiyenin bilinmesi istenebilir. O

zaman A nümunesi aynı kalitede ki temiz buğday ile meselâ  $\frac{A}{2}$ ,  $\frac{A}{4}$ ,  $\frac{A}{8}$

oranlarında karıştırılır ve standard gibi denenir. Elde edilen neticelerden aynen *Drosophila melanogaster*deki gibi istifade edilerek nümunedeki bakiye miktarı tesbit edilir.

## Ö Z E T

Bakiyenin tayini şartı ile, depolanmış hububata malathion'un tatbikine müsaade edilmesi, yalnız kimyevi metodlar ile tayin yapabilen müesseselerin bu işi zamanında yapmasını şüpheli kılmaktadır. *Drosophila melanogaster* gibi yetiştirilmesi kolay ve insektisidlere hassas bir böcek ile yapılan denemelerde müsbet netice alınmıştır. Temiz buğdaya belli miktarda malathion ilâve edilmiş, bunun ve nümunenin aseton ekstraktları petrilere içinde uçurularak *Drosophila melanogaster* bu satırlar ile temas ettirilmiş ve 24 saat sonraki % de ölümler yardımı ile standard ve nümunenin % 50 ölüm veren doz ve sulandırma katsayıları tesbit edilmiş, bunlardan istifade edilerek te nümunenin ihtiva ettiği bakiye miktarı bulunmuştur.

*Calandra granaria* yalnız standard ile denenmiştir. Bu böcek buğdayda 2 ppm malathiona reaksiyon gösterdiğinden, daha hassas olmıyan çalışmalar için kullanılabilir.

## SUMMARY

### DETERMINATION OF MALATHION RESIDUES ON STORED PRODUCTS by BIOASSAY

Samples were taken from malathion treated wheat, corn and rye and extracted with acetone. After necessary dilutions with extract of untreated sample, 1 ml evaporated on petri dishes. 2-3 days old *Drosophila melanogaster* males exposed to treated surfaces for 24 hours and percent mortality subjected to probit analysis. Results showed that even 3, 5 and 6 days after treatment residues are as low as 5.0, 4.4 and 5.2 ppm on corn, rye and wheat respectively.

### LITERATÜR

- GUNTHER, F. A., D. L. Lindgren, and R.C. Blinn, 1958. Biological effectiveness and persistence of malathion and lindane used for protection of stored wheat. *J. econ. Ent.* **51**, 843-844.
- NAGASAWA, S., 1959. «Biological assay of insecticide residues» *Annual Review of Entomology*, **4**, 319 - 342, Editör, E. A. Steinhilber and P.F. Smith, Annual Review, INC., Palo Alto, California.
- NEEDHAM, P.H., 1960. An investigation into the use of bioassay for pesticide residues in foodstuffs. *The Analyst*, **85**, 792 - 809.
- SCHLESSER, J. H., W.E. Pridale, and E.P. Farrel; 1958. Insecticidal residues in milling fractions from wheat treated with methoxychlor, malathion and lindane *J. econ. Ent.* **51**, 518-518.
- SUN, Y. P., 1957. «Bioassay of pesticide residues» *Advances in Pest Control Research*. **1**, 449 - 496, Editör, R.L. Metcalf, Interscience Publishers, INC, Newyork.