

## İKTİSADİ ÖNEMİ HAİZ MEYVA ÇEŞİTLERİNDEN ELMADA İLÂÇ BAKİYELERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Ayten GÜVENER<sup>1</sup>,

Yücel GÜNAY<sup>2</sup>,

Cevdet SEVİNTUNA<sup>3</sup>

### GİRİŞ

Elmalara tatbik edilen bazı zirai mücadele ilâçlarının bakiye miktarlarını tayin etmeye yarayan uygun metotlar tespit etmek, zamana bağlı olarak dekompozisyon miktarını incelemek, hasat zamanlarında toleransın altında ilâç ihtiva edip etmediklerini kontrol etmek maksadıyla Gazi Orman Çiftliğindeki bir kısım elma ağaçları, Toksikoloji ve Bakiye analiz laboratuvarı tarafından tatbikatçıların tavsiyelerine göre ilâçlanmıştır. Bakiye analiz laboratuvarınca metotlar tespit edilmiş ve analizler yapılmıştır.

1963 ve 1964 yıllarında DDT, Gusathion, Keithanla ilâçlamalar ve analizler yapılmıştır. 1963 yılında daha ziyade metotlar üzerinde çalışılmış ve laboratuvarımız imkânlarına uygun olanlar seçilmiştir. Çoğu zaman her ilâcın, her meyva ve sebzedeki tayini, bilhassa temizleme (Clean up) ameliyesi, yani ilâcın reaksiyonu bozan bitki pigmentleri ve mumlarından izole edilmesi bakımından farklılıklar göstermektedir. Bunun için ayrı ön çalışmalara, bazan metotları tadil etmeğe ihtiyaç duyulmuştur. Bu hususta yapılan çalışmalar kendi bahislerinde gösterilmiştir.

Nitekim literatürde de muhtelif materyalde DDT bakiyelerini tayin için Stiff Castillo (1945) tarafından xandhydrol-pyridine kolorimetrik metodu, Seargent (1958) tarafından total chlorin tayin metodu, Coulson et al. (1960) tarafından Gas-liquid chromatography metodu ve Schechter Haller (1945) tarafından kolorimetrik metot verilmiş bu metot DDT Panel'i (1960) tarafından modifiye edilmiştir.

Wollenberg ve Schrader (1960) Gusathion'un asidik vasatta phenyl 1-naphtylaminle bağlanmasından meydana gelen renkli çözeltilinin kolorimetrik ölçüsüne dayanan bir metot vermişlerdir. Giang ve Schechter (1958), pamuk çiğitlerinde gusathionu, asitle hidrolize ettikten sonra açığa çıkan formaldehid'i destilleyip cromotropic acid'le renkli bileşiğini meydana getirerek tayin etmişlerdir. Meagher et al. (1960) meyvalarda gusathionu tayin edecek bir metot bildirmişlerdir.

1 Zirai Mücadele İlâç ve Aletleri Enstitüsü Bakiye (Residue) Analiz Laboratuvarı Şefi, Ankara

2 Zirai Mücadele İlâç ve Aletleri Enstitüsü Bakiye (Residue) Analiz Laboratuvarı Asistanı

3 Zirai Mücadele İlâç ve Aletleri Ens. Böcek Toksikolojisi Laboratuvarı Şefi, Ankara

Kelthan tayinleri için literatürde verilen metotlar üç grupta toplanabilir. Gunther and Blin (1957) kelthandan 4,4,4'-dichloro benzophenon meydana getirerek, bunun ultraviyolede absorpsiyon miktarını ölçmüşlerdir. Rosenthal a t a l. (1957) hidroliz neticesi ağığa çıkan chloroformu tayin etmişlerdir. Bu metot George a t a l. (1961) tarafından geliştirilmiştir.

DDT ye tatbik edilen Schechter-Haller (1945) metodu da bu bileşiğe tatbik edilebilir fakat spesifik değildir.

## MATERYAL VE METOTLAR

1963 ve 1964 Yıllarında Gazi Orman Çiftliğindeki bir kısım ağaçlar DDT % 50 W.P. dan % 0,3 luk dozda, Gusathion % 25 W.P. dan % 0,2 lik dozda, % 19,5 Kelthan Em.dan % 0,2 lik dozda hazırlanan çözeltilerle cetvel 6 ve 7 de gösterilen tarihlerde tatbikatçıların tavsiyelerine göre ilaçlanmıştır.

İlaçlı ve ilaçsız sahadaki her ağacın üst ve alt dallarından olmak üzere 3-5 elma koparılıp bunlar önce bıçakla kıyıldıktan sonra karıştırılmış sonra Kenwood Chief kıyıcısında safihalar halinde kıyılarak iyice karıştırıldıktan sonra metotlarda bildirildiği kadar tartımlar alınıp çalışılmıştır.

### A — EMALARDA DDT BAKİYELERİNİ TAYİN METODU :

Literatürde mevcut bütün DDT tayin metodlarında DDT'yi reaksiyonu bozacak diğer maddelerden uygun şekilde izole etmek gayesiyle bazı işlemler yapmak icabeder. Bizim laboratuvar imkânlarımıza en uygun metot Schechter Haller (1945) in DDT paneli (1960) tarafından modifiye ve tavsiye edilen metodu idi. Bu metodun aynen tatbikine imkân olmamış, DDT yi elmadan ekstrakte ve izole etmekte bazı güçlükler çıkmıştır. Çalışmalardan sonra uygun bir tarz tespit edilmiştir.

#### 1 — DDT nin elmadan ekstraksiyonu için yapılan çalışmalar :

a) Yukarda bahsedilen metotta bitkisel materyalden DDT, hexan-aceton karışımıyla ekstrakte edilmiştir. Elmalarda bu usul iyi netice vermemiş, acetonu hexandan ayırmak için suyla yıkama yapılırken fazla hexan kaybı olmuştur, onun için bu şekilden vazgeçilmiştir.

b) Elma lapasını blendorda hexanla karıştırıp bir gece beklettikten sonra büyük bir huniden ve süzgeç kâğıdından süzmek iyi netice vermiştir.

#### 2 — DDT'nin elmadan izolasyonu için yapılan çalışmalar :

a) Yine DDT Panel (1960) tarafından verilen metoda göre, ekstrakt Celite-Sulfuric asid kolonundan geçirilmiş, renksiz bir çözelti elde edildiği halde renk reaksiyonu yapıldığı zaman mavi renk yerine sarı - kahverengi bir renk elde edildiği için netice alınamamıştır.

b) Celite - Sulfuric acid kolonundan geçirildikten sonra Silicagel kolonundan geçirilmiş metottaki gibi çalışılmıştır. En sonda yine mavi renk yerine kirli mavi bir renk elde edilmiştir.

c) Bilinen miktar DDT ihtiva eden elma ekstraktı, 10 gr. aluminium oxide dessicant ve üzerinde 20 cc fuming sulfuric acidle karıştırılmış aluminium oxide bulunan kolon hexanla nemlendirildikten sonra geçirilmiş ve kolondan hexanla yıkayarak alınmıştır. Diethylen glycool koyarak vakumda uçurulmuş, metottaki gibi çalışılmıştır. Renk reaksiyonundan sonra şahit renksiz, DDT ilâve edilmiş olan hafif mavi renk göstermiştir. Yani temizleme muvaffak olmuş fakat DDT'nin bir kısmı kolonda kalmıştır.

d) Aşağıda bildirilen şekilde çalışıldığında iyi netice alınmıştır.

### 3 — Analiz gidişi :

#### a) Cihazlar :

Kewood kıyma makinası  
Blendor  
Litrelük balon veya erlenler  
Dereceli kab (500 cc. lik ve 10 cc. lik)  
Büyük huniler, 100 cc. lik beherler pipetler  
Kromotografi kolonları (30 cm boy ve 2 cm kadar çapta)  
Ağız cam kapaklı tüpler  
Su banyosu  
Vakum motoru  
Spektrofotometre (1 cm. lik hücreler)

#### b) Reaktifler

Hexan  
sodium sulphate anhydrous  
sulfuric acid fuming  
sulfuric acid concantre  
celite 545 (kurutulmuş), nitric acid fuming  
sodium hydroxide % 5 lik  
potassium hydroxide % 5 lik (susuz ethanolde hazırlanmış)

#### c) Elmadan DDT nin ekstraksiyonu

Elma nümunesi bıçakla doğranmış, Kenwood'un jips kıyıcısında kıyılmış iyice karıştırıldıktan sonra 200 gr. tartım alınmıştır. 300 cc. hexanla blendorda bir kaç dakika karıştırılmıştır. Alev alma ihtimali üzerinde dikkatle durulmuştur. İyice lapa haline gelen elma hexanla bir gece bekletilmiş sonra büyük bir huni ve süzgeç kâğıdından süzümüştür. Süzgeç kâğıdı ve kab iki defa 100 er cc. hexanla yıkanmış ekstraktlar birleştirilmiştir. Sonra sodium sulphate üzerinde kurutulup muayyen hacme (500 cc.) ye tamamlanmıştır. Bundan 50 gr. elmaya muadil miktarlar iki tane 100 cc. lük erlene konarak 10-15 cc. kalana kadar su banyosunda destile edilmiştir.

#### d) Ekstraktan temizlenmesi :

Celite 545 120° de 4-5 saat kurutulmuş bundan 2,5 gr. tartılmıştır. Tartım için 100 lük bir beher kullanılmıştır (beheri çizeceğinden her zaman aynı beher kullanılmıştır). Üzerine yarı yarıya dumanlı sulphuric acid ve

concentre sulfuric acid karışımından 1,8 cc. ocak içinde ve karıştırarak ilâve edilmiştir. Üzeri saat camıyla örtülerek soğuması beklenmiş, soğuduktan sonra 10-15 cc. ye teksif edilmiş olan ekstrakta ilâve edilmiştir. İyice karıştırılıp 10 dakika kadar üzeri kapatılarak bekletilmiş ve sonra içine kurutulmuş celitten 3-4 cm. yükseklik verecek şekilde konarak hazırlanmış kolondan (kolon önce hexanla nemlendirildikten sonra) geçirilmiştir. Celitle karıştırılmış numuneyi ihtiva eden kab dört defa 10 ar cc. hexan konup kolona aktarılmıştır. Böylece DDT kolondan alınmıştır. 100 cc.lik erlene toplanan çözelti su banyosunda birkaç cc. kalıncaya kadar destile edilmiştir. Sonra 40 C yi geçmeyen su içine daldırarak hexan'ın hepsi vakumda uçurulmuştur. DDT nin nitrolanması için bakiyeye 4 cc. yarı yarıya dumanlı nitric acid ve konsantre sulfuric acid karışımı ilâve edilmiştir. 10 dakika kaynayan su banyosunda tutulduktan sonra banyodan alıp buz içinde soğutulmuş, buz içindeyken 10 cc. su yavaş yavaş ilâve edilmiştir. İyice soğutulmuş olan numuneye 10 cc. benzen pipetle ilâve edilip 5 dakika iyice çalkalanmıştır. Böylece nitrolanmış DDT, benzen içine alınmıştır. Bundan sonra ağzı cam kapaklı tüplere aktarılmış, alt taraftaki su fazı pipetle çekilerek, iyice bertaraf edilerek atılmıştır. İki defa 5 er cc. % 5 lik NaOH la yıkamış ve NaOH fazı aynı şekilde pipetle çekerek atılmıştır. (NaOH fazındaki sarı renk gitmezse yıkama tekrarlanmıştır). En son susuz sodium sulphate konularak benzen kurutulmuştur. Bundan 5 er cc. alınarak ağzı cam kapaklı tüplere konmuş ve vakumla çekerek benzen uçurulmuştur.

e) Renk reaksiyonunun yapılması :

Renk reaksiyonu için 1 ml. benzen 5 ml. % 5 lik alkolik potassium hydroxide (kuru etanolde hazırlanmış) çözeltisi konmuş ve dört dakika rengin devolope olması için beklenmiştir. Hemen 1 cm. lik hücrelere konarak (icabında asetonla ekstrakte edilerek temizlenmiş pamuktan süzül müştür). Optik dansite 600 m $\mu$  da spektrofotometrede okumuştur.

f) Standart eğrinin çizilmesi

Standart eğri çizmek için p/p' DDT den 250 mg. tartılmış 100 cc. benzende çözülmüştür. Bundan 1 cc. alınıp 4 cc. Nitrolama asidi konarak nitrolama ameliyesindeki gibi nitrolanmıştır. Nitrolanmış DDT 10 ml benzenle çekilerek numunede olduğu gibi sulu faz dipten pipetle çekilerek atılmış ve iki defa sodium hydroxide'le yıkanarak aynı şekilde sodium hydroxide fazları pipetle alınmış ve atılmıştır. Nihayet benzen fazından 5 cc. alıp benzenle 25 cc. ye tamamlanmış ve 10,23,30. 100  $\gamma$  lık miktarlar alınarak renk reaksiyonundaki gibi çalışılmıştır. (Cetvel: 1). Teşekkül eden mavi renk 600 m $\mu$  da spektrofotometrede ve 1 cm. lik hücrelere konarak okumuştur. Bu değerlerle çizilen eğri şekil: 1 de görülür.

p, p' DDT ile Standart eğrinin çizilmesi

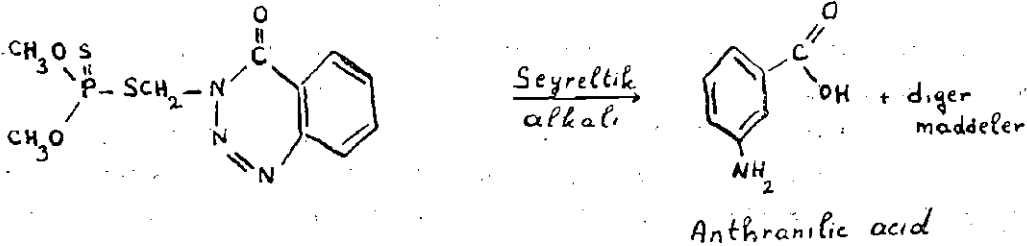
Alınan p,p' DDT miktarı	600 m $\mu$ da spektrofotometrede okunan optik dansiteler
10 Gamma	0,120
20 »	0,241
30 »	0,360
40 »	0,490
50 »	0,606
60 »	0,744
70 »	0,808 ve 860
80 »	0,937
90 »	1,035
100 »	1,228

Bulunan bu değerlerle standart eğri çizilmiştir. Yapılan çalışmanın doğruluğunu kontrol etmek için içine 50  $\gamma$  DDT ilâve edilen nümuneden yukarıda anlatılan bütün ameliyeler tekrar edildikten sonra en sonda benzen çözeltisinden 4,5 cc. = 22,5  $\gamma$  DDT alınmıştır. Spektrofotometrede okunan = 0,255 tir. Buna tekabül eden değer grafikten 21  $\gamma$  olmaktadır. Böylece metodun iyi netice verdiği kontrol edilmiştir.

#### B — ELMALARDA GUSATHİON BAKİYELERİ TAYİN METODU :

Çalışmalarımızda Meagher at all (1960) tarafından meyvalarda gusathion tayini için verilmiş olan metot denenmiş ve iyi netice alınmıştır.

1 — Tatbik Edilen Metodun Esası : Gusathion oda sıcaklığında seyreltik alkali ile hidrolize edilerek anthranilic asid'e dönüştürülür. Anthranilic acid diazolanır ve N-(1-Naphthyl) ethylene diamine dihydrochlorid'le birleştirerek menekşe renkte bir bileşik elde edilir. Bunun renk şiddeti spektrofotometrede 555 m $\mu$  da ölçülür.



#### 2 — Analiz gidişi :

##### a) Cihazlar

Kenwood Chief kıyma cihazı  
Blendor

Dereceli kab  
Cam pamuđu  
2 lt. lik ayırma hunileri  
Su banyosu  
Vakum motoru  
50 ml. lik cam kapaklı ve taksimatlı silindirler  
Spektrofotometre

b) Reaktifler

Aceton  
Chloroform  
Benzen  
0,5 N KOH (Absolut isopropyl alkolde hazırlanmış)  
3 N HCl  
Sodium sulphate anhydrous  
% 0,25 lik sodium nitrite  
% 2,5 luk Sodium sulphamate çözeltisi  
% 1 lik N - I naphthyl ethylene diamine

c) Gusathion'un elmalardan ekstrakte edilmesi:  
Elma dilimlenip Kenwood Cheef cihazında safihalar halinde kıyılmış iyice karıştırılmıştır. Bundan 200 Gr. nümune alınıp blendora konmuştur. 200 ml. aseton ilâve edilip yüksek dönüşle 5 dakika karıştırılmıştır. 200 ml. daha aseton ilâve edilip alçak dönüşle karıştırılmıştır. Sonra büyük bir erlene aktarılmış 200 ml. destile su konmuş, 30 dakika çalkalayarak karıştırılmıştır. Karışım cam pamuğu üzerinden ve geniş bir huniden süzül- müştür. (Filtrat berrak olmalıdır, değilse süzgeç kâğıdından süzülür). Ekseriya 400 ml. filtrat elde edilir. Bu 1 lt. lik ayırma hunisine alınmış, 3,3 ml. konsantre HCl ilâve edilmiştir. Sonra 300 ml. destile su ilâve edilmiştir. Evvelâ 100 sonraları 50 şer ml. chloroformla yedi defa ekstrakte edilmiştir. İlk ekstraksiyonda kuvvetle çalkalamamak lâzımdır. Aksi halde stabil bir emülsiyon teşekkül edebilir. Birleştirilen chloroform ekstraktları 200 ml. suyla ekstrakte edilmiştir. Su ayrılmış ve üç defa chloroformla yıkanmıştır. Chloroform ekstraktları birleştirilip susuz sodium sulphat üzerinde kurutulmuştur. Chloroform bir buhar banyosunda hava akımı sevk edilerek uçurulmuştur. Bakiye 10 ml. benzende çözülmüş absolut isopropyl alkol içinde hazırlanan 0,5 N KOH tan 10 ml. ilâve edilmiştir. 20 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. 8 ml. 3N-HCl ilâve edilerek asitlendirilmiş, 15 ml. su ve 50 ml. benzen ilâve edilmiştir. 250 ml. lik ayırma hunisine alınıp kuvvetle çalkalanmıştır.

Sulu faz. 50 ml. cam kapaklı taksimatlı silindire aktarılmıştır. Benzen 15 ml. destile suyla yıkayıp, yıkamalar silindire ilâve edilmiştir. Sonra benzen fazı atılmıştır. Sulu çözelti destile suyla 50 ml. ye seyreltilmiş ve karıştırılmıştır. Bu esnada çözelti bulanıklaşırsa super cell ilâve edilip süzülür, fakat super cell olmadığı için yalnız süzgeç kâğıdından süzmek te bulanıklığın gitmesine yetmiştir. Bu çözeltiden 20 şer ml. alınıp 25 ml. lik cam kapaklı iki dereceli silindire konmuştur.

d) Renk reaksiyonun yapılması: % 0,25 lik sulu sodyum nitrite çözeltisinden her iki silindire 1 ml. ilâve edilip karıştırılmış ve 10 dakika bekletilmiştir. Her iki silindire 1 ml. % 2,5 luk sodyum sulphamate çözeltisi ilâve edilmiş silindir alt üst edilerek kapağı açılıp kapanarak karıştırılmıştır. Sonra 10 dakika bekletilmiştir. Silindirlenden yalnız birine 2 ml. % 1 lik N(1-naphthyl) ethylene diamine dihydrochlorid'in sulu çözeltisinden ilâve edilmiştir. (N.1-naphthyl ethylen diamine dihydrochlorid'in konmadığı silindir ekstrakta kalabilen rengi düzeltmeyi mümkün kılar).

Her iki silindir destile suyla 25 ml. ye seyreltilip karıştırılmıştır. 90 dakika oda sıcaklığında bekletilip renk şiddeti 555 m $\mu$  de Spektrofotometrede ve ayrıca (560) lk filtreyi kullanarak Klette de solvent şahidine karşı okunmuştur.

e) Standart Gusathion çözeltisiyle eğri çizmek: 50 mg. Gusathion tartılıp 50 ml. benzende çözülmüş bundan 1 cc. alıp, benzenle 50 ml. ye tamamlanmıştır. Bu çözeltinin 1 ml. si 20  $\gamma$  gusathion ihtiva etmiş olur.

2ml	4ml	6ml	8ml	alınarak
40 $\gamma$	80 $\gamma$	120 $\gamma$	160 $\gamma$	ile çalışıldı

Çalışma esnasında çözeltilerin yarısına reaktif şahidi, yani «0» ra ayar için kullandığımızdan aldığımız miktarların yarısı kadarını tayin etmiş oluyoruz. Öyleyse spektrofotometre veya klette okunan miktarlar 20 $\gamma$ , 40 $\gamma$ , 60 $\gamma$ , 80 $\gamma$  ya tekabül ediyor.

#### ŞEKİL 2

Gusathion Standart eğrisini çizmek için alınan gusathion miktarları ve Spektrofotometre ve Klette okunan değerler

Alınan Gusathion Miktarları	555 m $\mu$ da Spektrofotometrede okunan optik dansiteler	560 filtre ile Klette okunanlar
20 Gamma	0,123	21
40 »	0,241	39
60 »	0,398	62
80 »	0,523	80

Bu değerlerle başlangıç noktasından geçen bir doğru elde edilmiştir. (Şekil: 2).

#### C — ELMALARDA KELTHAN BAKİYELERİ TAYİN METODU :

En uygun metod olarak George ve arkadaşlarının (1961) vendikleri seçilmiştir. Temizleme ameliyesinde bazı değişiklikler yapılarak nümunelerimize tatbik edilmiştir.

### 1 — Kelthan'ın elmadan ekstraksiyonu için yapılan çalışmalar :

a) Metotta verildiği gibi isoprophyl alcohol ve n-hexan karışımıyla elma lapasının ekstraksiyonu yapılmış sonra ekstrakt isoprophyl alcohol'u uzaklaştırmak için suyla yıkanırken emülsiyon meydana geldiğinden hexan fazından ayrılması esnasında fazla kayıp olmuştur. Bu sebepten bu ekstraksiyon usulünden vaz geçilmiştir.

b) Elma lapasının hexanla karıştırarak bekletilmesi ve büyük huniden süzülerek hexan fazının ayrılması, süzgeç üstünün hexanla yıkanarak alınması iyi netice vermiştir.

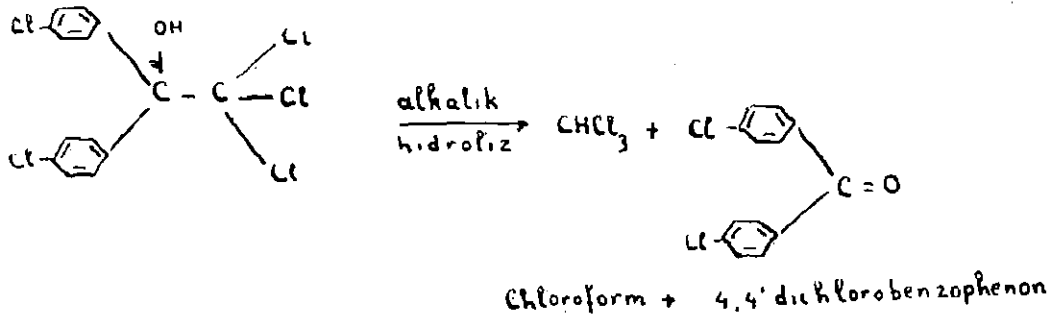
### 2 — Kelthanın elmadan izolasyonu ve temizlenmesi için yapılan çalışmalar :

Metotta elmadan elde edilen ekstraktta Hyflo-Super-cel veya Attaclay ilâve edilmesi ve süzülmesi suretiyle temizleme yapılması bildirilmiştir. Bunlar bizde mevcut olmadığı için aşağıdaki adsorbanlar denenmiştir.

a) İçine bilinen miktar Kelthan ilâve edilmiş elma ekstraktı Aliminium oxydatum standart (mercek) le hazırlanan kolondan geçirilmiş, kolondan sarı renkli bir ekstrakt elde edilmiştir. En son renk reaksiyonu yaparken sarı renk pyridin fazına geçmiş ve pembe renk görülmemiştir. Böylece bu tarz temizlemenin muvaffak olmadığı anlaşılmıştır.

b) Diatome toprağıyla hazırlanan kolondan geçirilen ve 70  $\gamma$  Kelthan ilâve edilmiş 50 gr. elmaya madil ekstrakt reksiz geçmiş, tayin sonunda 70  $\gamma$  yerine 65  $\gamma$  kelthan tespit edilmiştir. Bu suretle diatome toprağın hem reaksiyonu bozmayacak şekilde temizleme yaptığı hem de Kelthanı kendi üzerinden geçen solvente verebildiği tahkik edilmiştir.

3 — Tatbik edilen Metodun esası : Kelthan yani 4,4-dichloro -(tri chloro-methyl) benzhydryol'den alkalik hidroliz neticesi chloroform ve 4,4'-dichloro-benzophenon husule gelir. Chloroform pyridin - alkali ile (Fujiwara testi) pembe renk verir. Renk şiddeti Spektrofotometrik olarak ölçülür.



### 4 — Analiz gidişi:

#### a) Cihazlar

Kenwood kıyma makinası  
1 lt. lik erlen veya balonlar  
Büyük huniler



1 lt. lik ayırma hunileri  
Vakum motoru  
100 cc. lik ve 500 cc. lik rodajlı erlenler  
Soğutucular  
Tüpler  
Kromatografi kolonu  
Küçük huniler  
Spektrofotometre  
1 cm. lik Spektrofotometre hücreleri

b) Reaktifler

Kelthan standart çözeltisi: Saf kelthandan 1 ml. de 10 γ Kelthan ihtiva eden hexanlı çözelti hazırlanmıştır.

Pamuk: Asetonla ekstrakte edilmiş ve etüvde kurutulmuştur.

n — Hexan: Şahit değeri yüksek olursa denstillenmelidir. Düşük şahit değeri verenler destillenmeden kullanılabilir. Bu çalışmalarda BDH'nin Hexan'ını kullanılmıştır.

Pyridin Çözeltisi: Pyridin kati potassium hydroxide ile geri soğutucu altında bir saat kaynatılmış, soğutulmuş kuru bir kaba aktarılaraq destile edilmiş ve bunun 100 cc. sine 4 cc. ilâve edilerek % 96 lik pyridin elde edilmiştir.

Potassium Hydroxide: 33 gr. Potassium hydroxide 67 cc. Suda çözümlenerek hazırlanmıştır.

Diatome toprağı.

c) Elmadan Kelthanın ekstraksiyonu

Elma dilimlendikten sonra Kenwood kıyıcısında jips şeklinde kırılmış, bunlar karıştırılarak 100 gr. nümune alınmıştır. Sonra blendorda çevrilerek lapa haline getirilmiştir. Buna 300 cc. hexan ilâve edilerek 1 dk. kadar blendorda çevrilmiştir. Hexan alev alabileceğinden, çok dikkatli olmalıdır. Sonra bir kaç saat veya bir gece bekletmek üzere litrelik balonlara az miktar hexanla yıkıyarak aktarılmıştır. Bekleme müddeti bitince büyük bir huniden ve adi süzgeç kâğıdından litrelik ayırma hunisine süzölmüştür. Ekstraktın rengi yeşilimsi sarı idi. Bu renk iyice açılıncaya kadar 10 ar ml. % 85 lik sulfuric acidle çalkalanmış, 4 çalkama kâfi gelmiştir.

Sulfuric acid fazları atılmıştır. Hexan fazı acid uzaklaşmıncaya kadar yani methyl oranja karşı nötr oluncaya kadar 50 şer ml. suyla çalkalanıp yıkanmıştır. 5 yıkama kafi gelmiştir. Kurutmak için sodium sulfat anhydrous üzerinden süzölmüştür. Süzgeç üstü 50 cc. hexanla yıkanarak ekstrakta ilâve edilmiştir. Hexan su banyosunda takriben 10 cc. kalıncaya kadar destile edilerek uzaklaştırılmıştır.

d) Kelthanın elma ekstraktından izolasyonu ve temizleme ameliyesi: 2 cm. kadar çapta bir kolona 10 cm. yükseklik verecek kadar diatome toprağı doldurulmuş, kolon hexanla nemlendirilerek diatome toprağının sıkışması ve yıkanması temin edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan kolondan teksif edilmiş olan ekstrakt geçirilmiş kap ve kolon az miktarda hexanla yıkanarak kolona aktarılmış elue etmeye 200 cc. hexan'ın hepsi sarfedilene kadar devam edilmiştir. Kolondan geçen hexan

ekstraktı tamamen renksiz olarak elde edilmiştir. Hexan'ın fazlası 100 cc. lik erlende önce su banyosunda destile edilmiş sonra 40-60°C de vakumla çekerek uzaklaştırılmıştır.

Bakiyeye 5 cc. Pyridin konup çalkalanmış sonra 2 ml. potassium hydroxide çözeltisi ilâve edilmiş 2 dakika kaynar su banyosunda çalkalıyarak tutulmuştur. Bu anda pembe renk teşekkül etmiştir. Su banyosundan alınan nümune 1-2 dakika buz banyosuna daldırılarak soğutulmuştur. Pembe renkli olan pyridinli fazdan sulu fazı ayırmak için nümune 100 cc. lik erlendenden tüpe alınmış alt faz pipetle çekilerek uzaklaştırılmıştır. Renkli faz küçük bir huniden ve temizlemeye tabi tutulmuş ufak bir pamuk üzerinden 1 cm. lik spektrofotometre hücrelerine süzümüştür. (Pamuk veya süzgeç kâğıdı çok temiz olmazsa renk solup sarıya dönebilir.) Renk şiddeti spektrofotometrede 530 m $\mu$  da destile suya karşı okunmuştur. Bulunan değerlere takabül eden miktarlar standart eğriden okunmuştur.

e) Standart eğrinin çizilmesi

1 cc. hexan içinde 20  $\gamma$  Kelthan ihtiva eden çözelti hazırlanmış bundan 0-150  $\gamma$  arası miktarlar pipetle alınıp 100 cc. lik erlenlere konmuştur. 40-60°C lik su banyosunda vakumla çekerek hexan uzaklaştırılmıştır. Bakiyeye 5 ml. pyridin 2 ml. potassium hydroxid çözeltisi konup kaynar su banyosunda 2 dakika bilek hareketiyle karıştırılarak tutulmuştur. Sonra buz banyosuna daldırılarak soğutulup, temizlenmiş pamuktan 1 cm. lik hücrelere süzülerek destile suya karşı spektrofotometrede ve 530 m $\mu$  da optik dansite okunmuştur (Cetvel: 3). Eğri Beer kanununa uyar (Şekil: 3).

CETVEL 3

Kelthan standart eğrisi çizmek için alınan Kelthan miktarları ve Spektrofotometrede okunan değerler

Kelthan miktarı	Optik dansite	Optik dansite
Blank	0,003	
10 Gamma	0,040	
20 »	0,082	0,070
30 »	0,124	
40 »		
60 »	0,239	0,180
80 »	0,320	0,238
90 »	0,262	
100 »	0,410	

Literatürde bildirildiğine göre Chlordan ve heptachlor reaksiyonu bozucu tesir yaparlar. Yani bunlar da az çok renk vererek yanlış netice alınmasına sebep olurlar.

Chlorbenzilate, DDT, Dieldrin, Dimite, Endrin, Gusathion, Heptachlor, Lindan reaksiyonu bozmazlar.

## SONUÇ

a) Elmalarda DDT bakiyeleri tayinlerinden alınan neticeler: 1963 yılında son ilaçlamadan hemen sonra alınan numunelerdeki tayinlerden, metodun son şeklini bulmaması ve reaksiyonun bozulmasından dolayı netice alınmamıştır. Son ilaçlamadan 24 gün sonra alınan numunelerde 2,4 ppm. ve 2,14 ppm. DDT tespit edilmiştir. (Cetvel: 4).

1964 Yılında ise 2,5,12,20 gün sonra alınan numunelerde bulunan DDT bakiye miktarları cetvel: 5 de gösterilmiştir.

b) Elmalarda Gusathion bakiyeleri tayinlerinden alınan neticeler: Gusathionla ilaçlanmış ve ilaçlanmamış ağaçlardan alınan numuneler metotta anlatıldığı şekilde muameleye tabi tutularak analizlenmiş gusathionun verdiği renk dansitesi Spektrofotometrede 555 m $\mu$  da ve Klett Sommerson fotoelectric kolorimetrede 56 No. lu flitreyi kullanarak ayrı ayrı okunmuş ve her iki cihazla okunulardan alınan neticelerin birbirine uyduğu görülmüştür. 1963 yılında ilaçsız ve Gusathionla ilaçlı numunelerden alınan neticeler Cetvel: 6 ve 7 de gösterilmiştir.

CETVEL 6

İlaçlanmış ve ilaçlanmamış sahadan alınan elma numunelerinden elde edilen neticeler

Elmalar	Spektrofotometrede 555 m $\mu$ da okunan	Miktar (gamma)	Filtre No. 56 kullanarak Klett Sommerson fotoelectric colorimetre de okunan	Miktar gamma
Nümune No: 1	0,515	79,5	81	81
Nümune No: 2	0,492	76		
Nümune No: 3	0,692	107	101	101
Şahit (İlaçsız)	0,141	21,5	23	25

CETVEL 7

Şahit değerleri çıkarılınca numunelerde bulunan Gusathion miktarları

Nümune 1	79,5 — 21,5 = 58 81,0 — 23,0 = 58	0,58 ppm (Spektrophotometre) 0,58 ppm (Klette)
Nümune 2	76,0 — 21,5 = 54,5 80,0 — 23 = 57,0	0,55 ppm (Spektrophotometre) 0,57 ppm (Klette)
Nümune 3	107 — 21,5 = 85,5 101 — 23,0 = 78,0	0,58 ppm (Spektrophotometre) 0,78 ppm (Klette)

1963 ve 1964 te alınan neticeler Cetvel: 4 ve 5 de toplu olarak verilmiştir. Görüldüğü üzere 1963 te son ilâçlamadan 8 gün sonra her üç nümune de 0,58; 0,55; 0,85 ppm. gusathion tespit edilmiş yani 2 ppm. olan toleransın altında bir bakiye bulunmuştur. 1964 yılında ise 2 gün sonra alınan nümunelerdeki bakiye miktarları da tolerans sınırında bulunmuş, 5, 12 ve 20 gün sonra muntazam bir düşme ile 0,65 ppm. e kadar inmiştir.

c) Elmalarda Kelthan bakiyeleri tayinlerinden alınan neticeler: 1963 te yapılan iki ilâçlamadan 11 gün sonra alınan elma nümunelerinde 1,42 ppm. ve 1,32 ppm. kelthan bakiyesi tespit edilmiştir. (Cetvel: 4). 1964 te 2,5,12,20 gün ara ile yapılan analiz neticeleri Cetvel: 7 de verilmiştir. Görüldüğü gibi bütün neticeler 5 ppm. olan toleransının altındadır.

Netice olarak tatbikatçıların tavsiyelerine uygun zamanlarda ve dozlarda (Cetvel: 4 ve 5) elmalara tatbik edilen DDT, Gusathion, Kelthan bakiyeleri, son ilâçlamadan iki gün sonra alınan nümunelerde bile toleranslarının altında veya tolerans sınırında bulunmuştur. Son ilâçlamadan 20 gün sonra ise çok daha emniyetli miktarlara düşmüştür. Bu anda elmaların henüz hasat edilecek kadar olgun olmadığı nazarı itibara alınır, ilâç tatbik zamanları ve ilâç dozları memleketimiz şartlarında da emniyetlidir.

## Ö Z E T

1963 ve 1964 Yılındaki çalışmalar sonunda iktisadi önemi haiz bir ürünümüz olan ve % 0,3 DDT, % 50 W.P., % 0,2 Gusathion, % 25 W.P., % 0,2 Kelthan, % 19,5 Em. çözeltileriyle normal tatbikat zamanlarında ilâçlanmış bulunan elma nümunelerinde önce ilâç bakiyelerini tayine yarayan metotlar incelenmiş DDT bakiyeleri tayini için elmalar heksanla ekstrakte edilmiş, ekstrakt 10-15 cm<sup>3</sup> e kadar destile edildikten sonra buna 1,8 cm<sup>3</sup> konsantre sulfuric acid ve dumanlı sulfuric acid karışımı ilâve edilen 2,5 gr. kurutulmuş Celite 545 karıştırılmış sonra 3-4 cm. yükseklikteki Celite 545 kolonundan geçirilmiş kap dört defa 10 ar cc. Hexanla yıkanarak kolona aktarılmış ve DDT kolondan alınmıştır. Sonra DDT nitrolanmış tetra nitro DDT benzen fazına alınmış ve alkolik potasyum hidroksitle muamelede meydana gelen mavi renk dansitesi spektrofotometrede 600 m $\mu$  da 1 cm. lik hücreler kullanarak ölçülmüştür. Gusathion tayini için Gusathionun elmadan ekstraksiyonu aseton su karışımıyla yapılmış asitlenen çözeltiden Chloroformla çekilmiş, chloroform uçurulduktan sonra bakiye benzende çözülmüş 0,5 N alkolik potasyum hidroksitle hidrolize edilerek antranilik aside çevrilmiş asitlenip suyla seyreltilen çözeltiden sulu faza alınmış bu diazolandıktan sonra N (1-naphthyl) ethylen diamine dihydrooklorid ilâve edilerek pembe renkli bileşiği teşekkül ettirilmiştir. Renk şiddeti 555 m $\mu$  da spektrofotometrede 4 cm. lik hücrelerde ölçülmüştür.

Kelthan tayini için elmalar hexanla ekstrakte edilmiştir. Temizleme, ekstraktı, diatome toprağından geçirerek yapılmıştır. Heksan vakumda uçurulduktan sonra bakiyeye 5 ml. Pyridin ve 2 ml. potasyum hydroxide çözeltisi ilâve edilerek kaynar su banyosunda tutulmuş, kelthandan alkalik vasatta açığa çıkan chloroform pyridin alkali ile pembe renk vermiştir.

Renk şiddeti spektrofotometrede 530 m $\mu$  da 1 cm. lik hücrelerde ölçülmüştür.

İlaçsız elma nümunelerine bilinen miktar ilaç ilâve edilerek metotlar kontrol edilmiş, yukarıda izah edildiği şekilde çalışıldığında iyi neticeler alınmıştır. Sonra bu metotlarla 1963 ve 1964 yıllarında ilaçlı elma nümunelerinde ilaç bakiyeleri tayin edilmiştir.

İlaçlama zamanları, ilaç dozları ve analiz için nümune alma tarihleri ve analiz neticesi bulunan bakiye miktarları cetvel: 4 ve 5 de verilmiştir.

1963 yılında daha ziyade metotları tespit etmek için çalışıldığından muntazam aralıklarla nümune alınamamış ancak gusathion için son ilaçlamadan 8 gün sonra, DDT için son ilaçlamadan 24 gün sonra, Kelthan için son ilaçlamadan 11 gün sonra alınan analiz neticeleri toleranslarının altında bulunmuştur.

1964 yılında ise 2,5,12,20 gün sonra alınan nümuneler muntazaman tahlil edilmiş 2 gün sonra alınan nümunelerde bile ilaç bakiyeleri gusathion için tolerans sınırında, DDT ve Kelthan için toleranslarının altında bulunmuştur. 20 gün sonra ise bunlar daha da düşmüşlerdir. Son ilaçlamadan 20 gün sonra elmalar tam olgunluğa erişmediği ve bulunan bakiye miktarları toleransların altında olduğundan tatbik dozları ve zamanları memleketimiz şartlarına da uygun olduğu kanaatine varılmıştır.

## SUMMARY

### SOMA INVESTIGATIONS FOR DETERMINING RESIDUE AMOUNTS ON APPLES WHICH HAVE COMMERCIAL VALUE

The apple trees were sprayed with the chemicals of DDT 50 % W.P. (% 0.3), Gusathion 25 % W.P. (% 0.2), Kelthan 19,5 % Em. (% 0.2). The chemicals were applied 4 times.

In the year 1963 are worked on the methods. To determine DDT, the samples of the apples are extracted with hexan and the hexan solutions are cleaned up with celite 545 + konz. Sulfuric acid + fuming sulfuric acid mixture. DDT is nitrated with the fuming nitric acid. Nitrated DDT is taken in benzen from the acidic solution. Benzen layer is washed with sodium hydroxide until it was colourless. After evaporation of benzen is added to the residue alcoholic potassium hydroxide solution. The dancity of the colour is mesuared in 600 m $\mu$  using Hilger and Watts spectrophotometer.

To determine gusathion the samples are extracted with acetone and water. To the extract is added konz. Hydrochloric acid and than gusathion extracted by the chloroform. Chloroform are evaporated on a steam bath. The residue is dissolved in benzen and added 0,5 N potassium hydroxide solution. Gusathion is hidrolized to anthranilic acid and anthranilic acid is diazotized, than coupled with N(1-naphthyl) ethylene diamine dihydrochloric. The dancity of the colour is mesuared in 555 m $\mu$  by using spectrophotometer and Klett Summerson photoelectric colorimeter.

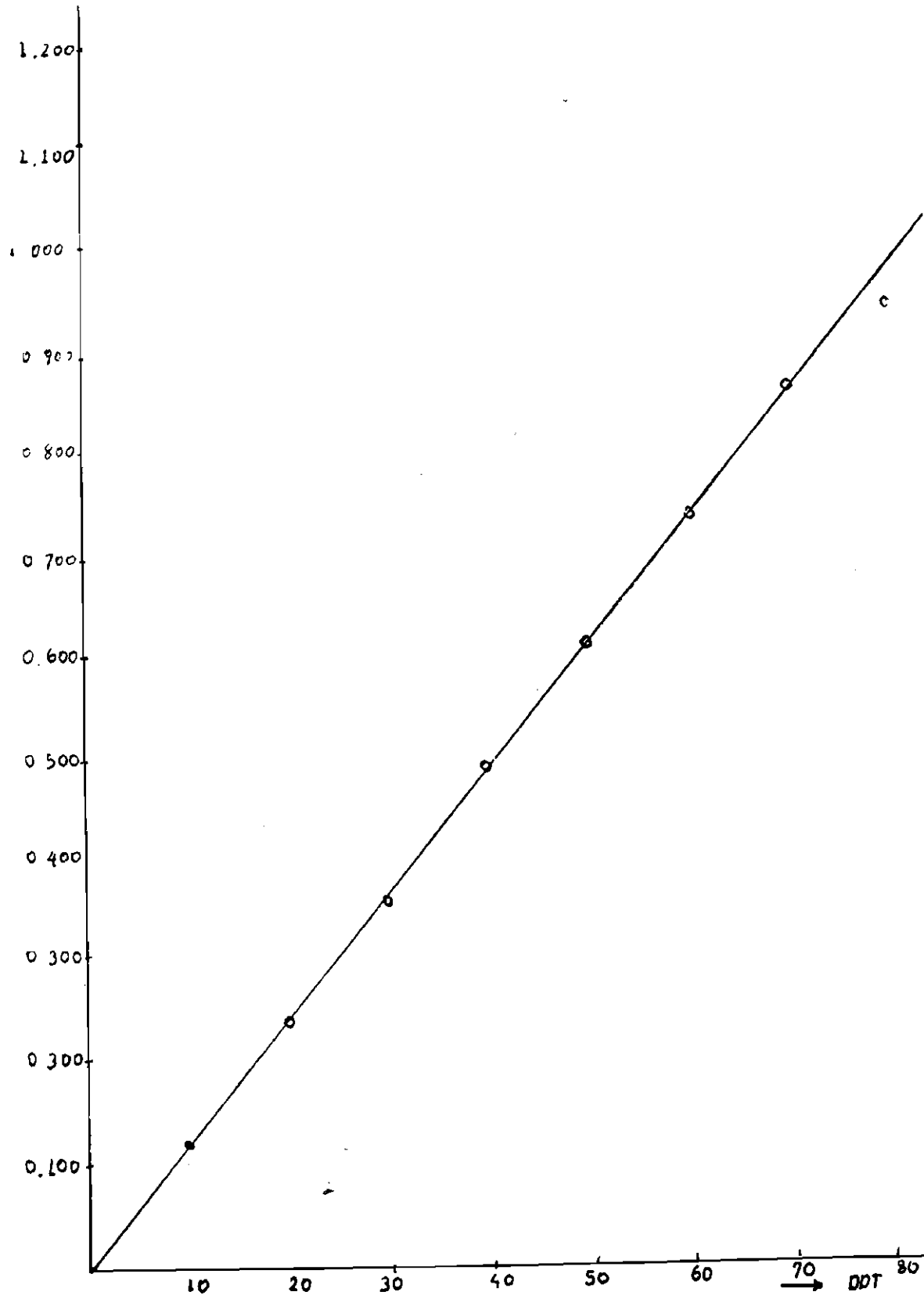
To determine Kelthan, the apples are extracted with hexan. The hexan extract cleaned up by using sulfuric acid and than diatome earth. The

hexan eluate is evaporated in vacuum. To the residue is added piridin and potassium hydroxide solution and than heated in water bath for 2 minutes. The dancity of the colour is measured in 530 m $\mu$  in a spectrophotometer.

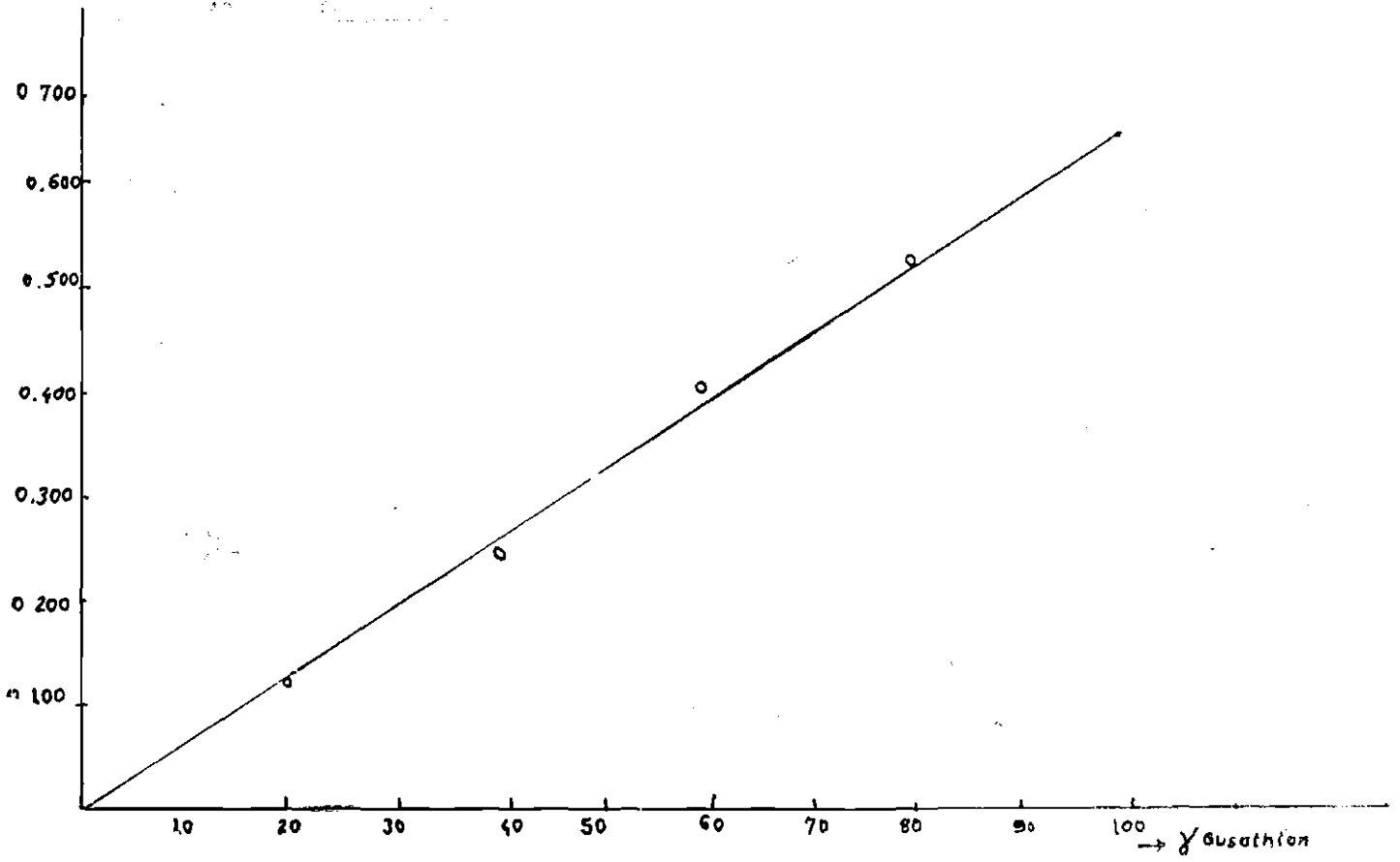
The results of the analysis are show in the table 6 and 7. The residues were determined after 2,5,12,20 days after last aplication in the year 1964 and found that the residue amounts even after 2 days are below the tolerances of this chemicals.

#### LITERATÜR

- COULSON, D. M, L. A. CAVANAGH, J. E. DEVRIÉS and B. WALTHER (1960) J. Agr. Food Chem **8** 399 - 402.
- DDT PANEL (1960), Analyst **85**, 1013, 600 - 606.
- GEORGE, D. A., J. F. FAHEY, K. WALHER (1961). J. Agr. Food Chem **9**, 264.
- GIANG, P. A. and M. S. SCHECHTER (1958). J. Agr. Food Chem **6**, 845 - 848.
- GUNTHER, F. A. and R. C. BLINN (1957) J. Agr. Food Chem **5**, 517 - 519.
- MEAGHER, W. R., J. M. ADAMS, C. A. ANDERSON and D. MAC DOUGAL (1960) J. Agr. Food Chem **8**, 282 - 286.
- MARTIN J. T. and R. F. BATT (1958) Analyst **83**, 987, pp 340 - 344.
- ROSENTHAL, I., G. J. FRISONE and F. A. GUNTHER (1957) J. Agr. Food Chem **5**, 514 - 517.
- SERGEANT G. A. (1958), Analyst, **83**, 987, 335 - 339.
- STIFF. H.S., JR and J. E. CASTILLO (1945) Science **101**, 440 - 443.
- SCHECHTER, M.S., S. B. SOLOWAY, R. A. HAYES and H.L. HOLLER (1945). Ind. Eng. Chem Anal Ed. **17**, 11, 704.
- WOLLENBERG. O and G. SCHRADER (1956) Angew, Chem **68**, 41.

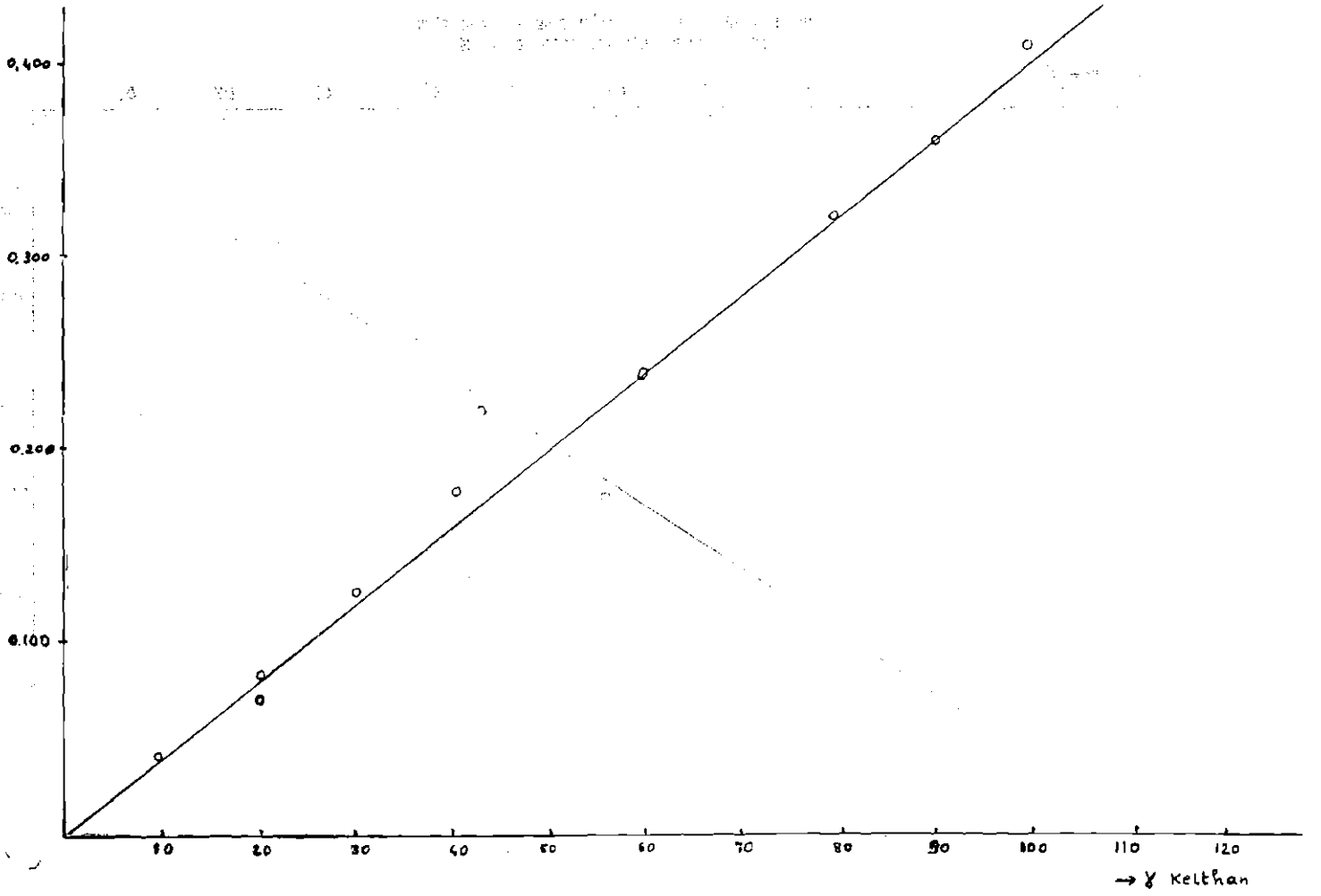


ŞEKİL 1 DDT için Standart eğri  
Dalga boyu = 600 m $\mu$ , hücre kalınlığı : 1cm



ŞEKİL 2 Gusathion için Standart eğri  
Dalga boyu = 555 m $\mu$ , Hücre kalınlığı : 4 cm





## CETVEL 5

1964 yılında elmalarda tespit edilen ilâç bakiyeleri

İlâcın İsmi	Formülasyon şekli ve firması	Kullanılan doz	Ağaç adedi	İlâçlama tarihleri	Nümuneye alma tarihleri	Son ilâçlamadan nümune almaya kadar geçen zaman	Analiz neticeleri ppm. olarak	Ortalama ppm	Tolerans
DDT : 2,2-Bis (p-chlorophenyl)-1,1,1 trichloroethane	% 50 W.P. Koruma	% 0,3	27	1. ci) 25/5/1964 Yağmurla yıkandığı için ertesi günü ilâçlama tekrarlandı. 2. ci) 18/6/1964 3. cü) 29/6/1964 4. cü) 13/7/1964	15/7/1964 18/7/1964 25/7/1964 3/8/1964	2 gün 5 gün 12 gün 20 gün	3,64; 3,68; 3,56 2,6; 2,9 2,56; 2,00 1,38; 1,34	3,63 2,75 2,28 1,36	7 ppm,
Gusathion : 0,0 Dimethyl S-(4-Oxobenzotriazino-3-methyl) phosphorodithiate	% 25 W.P. Bayer	% 0,2	47	1. ci) 25/5/1964 Yağmurla yıkandığı için ertesi gün ilâçlama tekrarlandı. 2. cü) 18/6/1964 3. cü) 29/6/1964 4. cü) 13/7/1964	15/7/1964 18/7/1964 25/7/1964 3/8/1964	2 gün 5 gün 15 gün 20 gün	1,9; 1,8 1,32; 1,56 0,96; 0,90 0,72; 0,58	1,85 1,44 0,93 0,65	2 ppm
Kelthan : 4,4'-Dichloro- $\alpha$ -trichloromethylbenzhydrol	% 18,5 Em. Koruma	% 0,2	5	1. ci) 29/6/1964 2. ci) 13/7/1964	15/7/1964 18/7/1964 25/7/1964 3/8/1964	2 gün 5 gün 12 gün 20 gün	2,25; 2,35 1,94; 1,88 1,34; 1,54 1,12; 1,10	2,30 1,91 1,44 1,11	5 ppm

CETVEL 4

1963 yılında elmalarda tespit edilen ilaç bakiyeleri

İlacın İsmi	Formülasyon şekli ve Firması	Kullanılan doz	Ağaç adedi	İlaçlama tarihleri
DDT: 2,2-Bis (P-Chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane	% 50 W.P. Koruma	% 0,3	33	1. ci) 28/5/1963 2. ci) 11/6/1963 Şiddetli yağmur olduğu için ilaçlama ertesi günü tekrarlandı. 3. cü) 8/7/1963 İlaçlamadan 4 gün sonra yağmur yağdı 4. cü) 25/7/1963
Gusathion : 0,0-Dimethyl S-(4-Oxobenzotriazino-3-methyl) phosphorodithioate	% 25 W.P. Bayer	% 0,2	44	Aynı günler
Kelthan : 4,4'-Dichloro- $\alpha$ -trichloro-methylbenzhydrol	% 19,5 Em. Koruma	% 0,2	19	1. ci) 24/7/1963 2. ci) 7/8/1963

Nümuneye alma tarihi	Son ilaçlamadan nümuneye almaya kadar geçen zaman	Analiz neticeleri ppm olarak	Ortalama ppm
19/8/1963	24 gün	2,4; 2,14	2,27
3/8/1963	8 gün	0,58; 0,55; 0,85	0,66
18/8/1963	11 gün	1,42; 1,32	1,37