

**T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAL ÖRNEKLERİNDE INDOXACARB KALINTISININ
VE BOZUNMA ÜRÜNLERİNİN TAYİNİ İÇİN YÖNTEM
GELİŞTİRİLMESİ**

Soner ÇUBUK

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Adnan AYDIN**

İSTANBUL 2008

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAL ÖRNEKLERİNDE INDOXACARB KALINTISININ
VE BOZUNMA ÜRÜNLERİNİN TAYİNİ İÇİN YÖNTEM
GELİŞTİRİLMESİ

Soner ÇUBUK
(141200120020010)

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Adnan AYDIN

İSTANBUL 2008

ÖNSÖZ

Bu Yüksek Lisans tez çalışması, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Analitik Kimya programında gerçekleştirilmiştir.

Tüm eğitim, mesleki ve özel yaşantım boyunca bana maddi ve manevi büyük destek veren Sevgili Ailem'e,

Doktora çalışmam ve Araştırma Görevlisi olarak görev yaptığım süre içerisinde, aktarmış olduğu birikimler, ilgi, destek ve anlayışından dolayı tez danışmanım, Fen- Edebiyat Fakültesi Dekanı ve Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı sevgili hocam Prof. Dr. Adnan AYDIN' a,

Yardımları ve destekleriyle her zaman yanımda olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Hikmet SAVCI , Prof. Dr. Hüseyin AFŞAR, Prof. Dr. Süleyman AKMAN, Prof. Dr. Yurdun FIRAT, Yard. Doç. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU ve Yard. Doç. Dr. M. Vezir KAHRAMAN ve Dr. Metin ÖZER' e,

Yardımları ve destekleriyle her zaman yanımda olan arkadaşlarım Arş. Gör. Sabahattin DENİZ, Arş. Gör. İlhan PEKGÖZLÜ, Arş. Gör. Oya AYDIN URUCU, Arş. Gör. Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ, Arş. Gör. Ali Sadi BAŞAK, Arş. Gör. Hakan KARABULUT, Arş. Gör. Mete Kaan EKMEKÇİ, Arş. Gör. Özkan DANIŞ, Arş. Gör. Selçuk ALTUN, Arş. Gör. Gül ÖZPINAR ve Arş. Gör. Cihan GÜNDÜZ' e,

Bu çalışma kapsamında hazırladığım maddelerin kromatografik analizlerin yapılmasında değerli katkılarını gördüğüm Adli Bilimler Uzmanı Dr. Oya TANÇ YETER' e,

SEM Laboratuvar Cihazları Müşteri Destek Mühendisleri İsmail SEL, Kartal ÇETİNTÜRK ve Oğuz KABADAYI' ya,

İçtenlikle teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Temmuz 2008

Soner ÇUBUK

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
YENİLİK BEYANI	viii
SEMBOL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİL LİSTESİ	xii
TABLO LİSTESİ	xiv
BÖLÜM I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
BÖLÜM II. GENEL BİLGİLER.....	3
II.1.PESTİSİTLER.....	8
II. 1. 1.Türkiye’de Pestisit Kullanımı	8
II. 1. 2. Pestisit tüketimi.....	8
II. 1. 3.Tüketilen Pestisitlerin Nitelikleri.....	8
II.1.4.Pestisitlerin Zararları.....	9
II.1.4.1. Hedef Olmayan Organizmalar Üzerine Etkisi.....	10
II.1.4.2. İnsanlar Üzerine Etkileri	10
II.1.4.3. Çevre Üzerine Etkileri.....	11
II.1.4.4. Gıdaların Kontaminasyonu.....	12
II.2.PESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI.....	12
II. 3. INDOXACARB ve ÖZELLİKLERİ.....	14
II.3.1.Indoxacarb’ ın İnsektisid Aktivitesi.....	15
II.3.2. Indoxacarb’ ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	16
II.3.3.Indoxacarb’ ın Bozunma Ürünleri.....	19
II.3.4. Indoxacarb’ ın Kullanım Alanları ve Ekolojik Zehirliliği	20
II.4. BAL.....	22

II. 4. 1. Balın Tanımı.....	23
II. 4. 2. Balın Sınıflandırılması.....	23
II. 4. 3. Balın Fiziksel Özellikleri.....	24
II. 4. 3. 1. Renk.....	24
II. 4. 3. 2. Balın Lezzet ve Aroması.....	24
II. 4. 3. 3. Balın Kokusu.....	25
II. 4. 3. 4. Viskozite.....	25
II. 4. 3. 5. Balın Kıvamı.....	25
II. 4. 3. 6. Özgül Ağırlığı.....	25
II. 4. 3. 7. Kırılma İndisi.....	25
II.4. 3. 8. Higroskopik Özelliği.....	26
II.4.3.9. Balın Işığı Döndürmesi.....	26
II.4.3.10. Balın Kristalizasyonu.....	26
II. 4. 4. Balın Kimyasal Özellikleri.....	26
II. 4. 4. 1. Balda Rutubet Miktarı.....	27
II. 4. 4. 2. Bal İçerisindeki Karbonhidratlar.....	27
II. 4. 4. 3. Bal İçerisindeki Enzimler.....	28
II. 4. 4. 4. Bal İçerisindeki Asitler.....	29
II. 4. 4. 5. Bal İçerisindeki Proteinler.....	29
II. 4. 4. 6. Bal İçerisindeki Vitaminler.....	29
II. 4. 4. 7. Bal İçerisindeki Mineral Maddeler.....	30
BÖLÜM III. TEZ ÇALIŞMALARI.....	31
III.1. ARAŞTIRMA ARAÇLARI.....	31
III.1.1. Kullanılan Cihazlar.....	31
III.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	32
III.1.3. Kullanılan Çözeltiler.....	32
III.2. YAPILAN DENEYLER.....	32
III.2.1. GC- MS ile Yapılan Kromatografik Çalışma.....	32
III.2.2.Indoxacarb Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması.....	33
III.2.3. Bal İle Yapılan Çalışmalar.....	33
III.2.3.1. Sıvı- Sıvı Ekstraksiyon Yöntemi İçin Çözücü Seçimi.....	33
III.2.3.2. Zamana Bağlı Olarak Farklı Bal Örneklerinde	

Indoxacarb Belirlenmesi İçin Yapılan Çalışma..	34
III.2.3.3. Bal Ortamındaki Indoxacarb Bozunma	
Ürünün Belirlenmesi.....	34
II.2.4. Metod Validasyonu.....	35
II.2.4.1. Geri Kazanım.....	35
II.2.4.2. Tespit ve Tayin Sınırları.....	35
BÖLÜM IV. SONUÇLAR	36
IV.1. GC- MS İLE YAPILAN KROMATOĞRAFİK ÇALIŞMA	38
IV.2. BAL İLE YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	39
IV.2.1. Sıvı- Sıvı Ekstraksiyon Yöntemi İçin Çözücü Seçimi....	39
IV.2.2. Bal Ortamı Sonuçları.....	42
IV.3. BOZUNMA ÜRÜNÜ YAPI TAYİNİ.....	47
IV.3.1. Bozunma Ürünü İçin GC- MS ve FT-IR Sonucu.....	47
BÖLÜM V. TARTIŞMA VE DEĞERLENDİRMELER.....	50
KAYNAKLAR.....	54
EKLER	56
ÖZGEÇMİŞ.....	70

ÖZET

BAL ÖRNEKLERİNDE INDOXACARB KALINTISININ VE BOZUNMA ÜRÜNLERİNİN TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

Pestisit kalıntısının izlenmesi, yiyecekler içindeki pestisitlere insanların maruziyetinin doğru olarak değerlendirilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle gıda maddelerinde kalıntı düzeylerinin belirlenmesi ve kullanılan analitik yöntemlerin düşük düzeyde kalıntı ölçümü yapabilmesi önem kazanmaktadır. Balda kalıntı düzeyinde bulunan pestisitlerin izin verilen düzeyde olup olmadığının belirlenmesi gerekmektedir. Son yıllarda çeşitli çalışmalar yapılmış olmasına karşın ülkemizde ballarda pestisit kalıntı analizleriyle ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda bal örneklerinde Indoxacarb ((S)-metil-7-kloro-2,5-dihidro-2-[(metoksikarbonil) [4-trifluorometoksi] fenil] amino] karbonil] indeno [1,2-e] [1,3,4] oksadiazin- 4a (3H)- karboksilat) kalıntısının tayini için analitik metod geliştirilmiştir. Indoxacarb içeren bal örnekleri diklormetan ile ekstrakte edildikten sonra, Indoxacarb' ın ve ona ait bozunma ürününün tayini GC- MS ile yapılmıştır. Geliştirilen metodun tespit sınırı 0.03 mg. kg^{-1} ve tayin sınırı ise 0.11 mg. kg^{-1} 'dir. Ortalama geri kazanım $\% 78.7 \pm 5.5$ (1.00 mg. kg^{-1}) olarak hesaplanmıştır($\% 95$ güven aralığı, $n= 6$).

Indoxacarb ile kirlenmiş bal içinde beşinci ayda tespit edilen bozunma ürünü 4-(trifluorometoksi) fenilizosiyanat Indoxacarb' ın literatürde belirtilen bozunma ürünlerinden farklı bir bozunma ürünü olarak gözlenmiştir.

Temmuz 2008

Soner ÇUBUK

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF AN ANALYSIS METHOD FOR INDOXACARB RESIDUES AND ITS DEGRADATION PRODUCTS IN HONEY SAMPLES

Pesticide residue monitoring in foods is important from the viewpoint of evaluation of pesticide exposure of humans. Therefore, the determination of the residue levels in foods and, the analytical methods used for the trace level measurements of the pesticide residues have gained more importance. It is necessary to determine if the pesticide residues in honey are in acceptable limits or not. Despite overseas various studies were done in recent years, there is limited research on pesticide analysis in honey in Turkey.

An analytical method was developed to determine the residues of Indoxacarb ((S)-methyl 7-chloro-2,5- dihydro-2- [[(methoxycarbonyl) [4- (trifluoromethoxy) phenyl] amino]carbonyl] indeno [1,2-e] [1,3,4] oxadiazine- 4a (3H)-carboxylate) and degradation product 4- (Trifluoromethoxy) phenyl isocyanate in honey samples. Honey samples were extracted by dichlormetane. The determination of Indoxacarb and 4-(Trifluoromethoxy) phenyl isocyanate was performed by GC- MS. Limit of detection and quantification for the method were 0.03 mg. kg⁻¹, 0.11 mg.kg⁻¹ respectively. The average recovery of Indoxacarb was calculated as 78.7% ± 5.5 (1.00 mg. kg⁻¹) (95% confidence levels, n= 6).

4-(Trifluoromethoxy) phenyl isocyanate that has been determined in the Indoxacarb spiked honey at fifth month is a degradation product of Indoxacarb which is different from what was found in literature.

July 2008

Soner ÇUBUK

YENİLİK BEYANI

BAL ÖRNEKLERİNDE INDOXACARB KALINTISININ VE BOZUNMA ÜRÜNLERİNİN TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ

Bu çalışmada, balda Indoxacarb kalıntısı ve bozunma ürününün (4- (triflorometoksi) fenilzosiyanat)' ın tayini için doğru, güvenilir, hızlı ve yeni bir metod geliştirilmiştir. Farklı ortamlarda Indoxacarb analizi için yöntem olmasına rağmen; literatürde balda Indoxacarb kalıntısı tayini ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Balda meydana gelen bozunma ürünü 4- (triflorometoksi) fenilzosiyanat ilk defa tanımlanmış olup literatürde bu bozunma ürünü yer almamaktadır.

Indoxacarb' ın bal ortamındaki kararlılığı dört farklı bal örneğinde (Çiçek, Kestane, Çam ve Ayçiçeği balları) farklı sıcaklıklarda (20°C, 30 °C ve 40 °C) incelenmiş ve tüm sıcaklıklarda 8 ayın sonunda Indoxacarb miktarının yaklaşık % 60 oranında azaldığı görülmüş ve 5. ayın sonunda bal örneklerinde 4- (triflorometoksi) fenilzosiyanat bozunma ürünü olduğu tespit edilmiştir.

Temmuz 2008

Prof. Dr. Adnan AYDIN

Soner ÇUBUK

SEMBOLLER

% : Yüzde

°C : Derece Santigrat

KISALTMALAR

GC- MS	: Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi
GC- ECD	: Gaz Kromatografisi- Elektron Yakalama Detektörü.
GC- NPD	: Gaz Kromatografisi- Azot Fosfor Detektörü.
GC- FID	: Gaz Kromatografisi- Alev İyonizasyon Detektörü.
GC- AED	: Gaz Kromatografisi- Atomik Emisyon Detektörü.
LC- MS	: Sıvı Kromatografisi- Kütle Spektrometresi.
HPLC- DAD	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi- Diod Array Detektörü.
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi.
M.Ö.	: Milattan Önce.
M.S.	: Milattan Sonra.
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri.
DDT	: Dikloro Difenil Trikloroetamin.
EPA	: Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency).
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization).
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization).
IPM	: Bütünleşmiş Zararlı Yönetimi (Integral Pest Management).
µg	: Mikrogram.
g	: Gram.
mg	: Miligram.
kg	: Kilogram.
L	: Litre.
Pa	: Paskal.
m	: Metre.
ppm	: Milyonda Bir Kısım.
ADI	: Kabul Edilebilir Günlük Alım (Acceptable Daily Intake).
MRL	: Maksimum Kalıntı Limitleri (Maximum Residue Limits).
™	: Tescilli Marka (Trade Mark).
o-	: Orto.
n-	: Normal.

pH	: Ortamdaki Hidrojen İyonu Konsantrasyonunun Negatif Logaritması.
HMF	: Hidroksimetilfurfural.
LC	: Sıvı Kromatografisi.
SFC	: Süperkritik Akışkanlı Kromatografi.
cm.	: Santimetre
TS.	: Türk Standartları.

ŞEKİLLER

	<u>SAYFA NO</u>
Şekil II. 1.	Biyokonsantrasyon (biyomagnifikasyon), biyolojik birikim... 6
Şekil II. 2.	Pestisitlerin doğadaki hareketleri..... 7
Şekil II.3.	Pirazoline tipi insektisitler..... 15
Şekil II.4.	Indoxacarb Hidroliz Ürünleri..... 17
Şekil II.5.	Indoxacarb İçin Işıklı Bozunma Yolları..... 17
Şekil II.6.	Aerobik Topraklardaki Indoxacarb İçin Önerilmiş Bozunma Yolları..... 18
Şekil IV.1.	Indoxacarb Kalibrasyon Grafiğı..... 39
Şekil IV.2.	Kloroform İle Yapılan Ekstraksiyon Sonucu Elde Edilen Kromatogram ve Spektrum..... 40
Şekil IV.3	Etil Asetat İle Yapılan Ekstraksiyon Sonucu Elde Edilen Kromatogram ve Spektrum..... 41
Şekil IV.4.	Diklormetan İle Yapılan Ekstraksiyon Sonucu Elde Edilen Kromatogram ve Spektrum..... 41
Şekil IV.5.	Asetonitril İle Yapılan Ekstraksiyon Sonucu Elde Edilen Kromatogram ve Spektrum..... 41
Şekil IV.6.	Oda Sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de Bekletilen Çiçek Balına Ait Indoxacarb Değışimi..... 43
Şekil IV.7.	Oda Sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de Bekletilen Kestane Balına Ait Indoxacarb Değışimi..... 44
Şekil IV.8.	Oda Sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de Bekletilen Çam Balına Ait Indoxacarb Değışimi..... 45
Şekil IV.9	Oda Sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de Bekletilen Ayçiçeğı Balına Ait Indoxacarb Değışimi..... 46
Şekil IV.10.	Balda Gözlenen Bozunma Ürününe Ait Kromatogram ve Spektrum..... 47
Şekil IV.11.	Cihaza Ait Kütüphane Karşılaştırma Sonucunu Gösteren Spektrum..... 48
Şekil IV.12.	4- (triflorometoksi) fenil izosiyanat 48
Şekil IV.13.	Bozunma Ürününe Ait FT- IR Spektrumu..... 49
EK IV Şekil 1.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı

	örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	56
EK IV Şekil 2.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	56
EK IV Şekil 3.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	57
EK IV Şekil 4.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	57
EK IV Şekil 5.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	58
EK IV Şekil 6.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	58
EK IV Şekil 7.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	59
EK IV Şekil 8.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	59
EK IV Şekil 9.	Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	60
EK IV Şekil 10.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	60
EK IV Şekil 11.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	61
EK IV Şekil 12.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	61
EK IV Şekil 13.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	62
EK IV Şekil 14.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	62
EK IV Şekil 16.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	63
EK IV Şekil 17.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	63
EK IV Şekil 18.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	

	gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	64
EK IV Şekil 19.	30°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	64
EK IV Şekil 20.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	65
EK IV Şekil 21.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	65
EK IV Şekil 22.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	66
EK IV Şekil 23.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	66
EK IV Şekil 24.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	67
EK IV Şekil 25.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	67
EK IV Şekil 26.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	68
EK IV Şekil 27.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	68
EK IV Şekil 28.	40°C’ de bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu.....	69

TABLÖLAR

	<u>SAYFA NO</u>
Tablo II. 1. Türkiye’de Yıllara Göre Pestisit Tüketimi.....	8
Tablo II.2. Düşük Riskli Yada Çevre Dostu Pestisitlerden Ülkemizde Ruhsatlı Olanların 2002 Yılı Tüketimleri.....	9
Tablo II.3. Indoxacarb’ ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	16
Tablo II.4. Indoxacarb Bozunma Ürünleri.....	19
Tablo II.5. Indoxacarb Kullanım Alanları.....	20
Tablo II.6. Indoxacarb’ ın Zehirlilik Seviyeleri.....	21
Tablo. III.1. Kimyasal Madde ve Katalog Numaraları.....	32
Tablo IV.1. Geri Kazanım Yüzdeleri (%95 Güven Aralığı, n=6).....	40
Tablo IV.2. Farklı Sıcaklıklarda Bekletilen Çiçek Balı Örneklerindeki Indoxacarb’ ın Günlere Bağlı Olarak Değişimi.....	43
Tablo IV.3. Farklı Sıcaklıklarda Bekletilen Kestane Balı Örneklerindeki Indoxacarb’ ın Günlere Bağlı Olarak Değişimi.....	44
Tablo IV.4. Farklı Sıcaklıklarda Bekletilen Cam Balı Örneklerindeki	

BÖLÜM I

GİRİŞ VE AMAÇ

Pestisitler, canlıların çeşitli hayat formlarına karşı farklı toksik etkiler göstermektedir. Buna rağmen genel bir kural olarak bitki koruma ilaçlarının insanlar ve hayvanlar için zehirli olduğu kabul edilmelidir. Zira bu ekosistem içindeki bütün canlı organizmalar dikkate alınırsa, ekosisteme sokulan pestisitlerin bazı gruplara direkt olarak zehir etkileri olmasa bile sonradan bunlara indirekt şekilde toksik olması mümkündür. Bitki koruma ilaçlarının çevredeki sirkülasyonu, çok yönlü karmaşık bir yapıya sahiptir. Örneğin tarla, bahçe veya orman ağaçlarının hastalık veya zararlılara karşı ilaçlanması sırasında ilaç zerrelere havaya, toprağa topraktan yağmurlarla yeraltı sularına ve dolayısıyla su ekosistemine karışabilmektedir. Bitkiler üzerindeki kalan pestisit kalıntıları ise bazen besin yoluyla insan ve hayvanlara geçmekte ve ani zehirlenmeler, hatta genetik yapıyı etkileyecek ve kansere sebep olabilecek düzeyde tehlikeler oluşturabilmektedir. Günlük yiyeceklerdeki pestisit kalıntılarının sebep olduğu sağlık problemleri hakkında kamuoyunun endişesi bulunmaktadır. Kazalar ve yanlış ilaç kullanımı hariç tutulursa, pestisitler ile insanların teması; ilaç üretimi, taşıma, depolama, kullanma ve ilaç kalıntısı içeren ürünlerin tüketimi sonunda olmaktadır. Bu etkileşim sonunda pestisit insan vücuduna ağız, deri veya solunum yoluyla girmektedir. Bal arılarının pestisitlerle teması sonucunda arılar ölebileceği gibi bu pestisit kalıntılarına arı ürünlerinde de rastlanabilmektedir [1].

Baldaki pestisit kalıntı analizi için çeşitli metodlar önerilmiştir. Öncelikle matriksten analitin ekstrakte edilmesi gerekir. Bunun için hekzan/asetonitril veya çözücü karışımları [2,3] ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılabildiği gibi ODS-3 veya Florasil-5 kartuş kullanılarak katı faz ekstraksiyonu, süper kritik akışkan ekstraksiyonu [4] veya katı faz mikro ekstraksiyonu [5,3] da yapılabilir. Ekstraktlar genellikle GC-MS [6], GC-ECD [4,7], GC-NPD [7], GC-FID [8], kapiler GC-MS ve GC-AED [9], LC-MS [3], HPLC-DAD [10] ve HPLC [11,6] kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca farklı saklama koşullarında da bazı bozunma ürünleri

oluşabileceğinden metodlar belirleme ve miktar tayini için bütün bileşikleri içermelidir [1, 2, 6, 8, 12, 13].

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

II. 1. PESTİSİTLER

Pestisitler sorunlara sebep olan böcekler, hayvanlar, mikroorganizmalar, yabani otlar ve diğer zararlıların ölmesini ya da davranışlarını değiştirmesini sağlayan biyolojik olarak aktif kimyasallardır. Daha önceki yüzyıllarda insanlar böcekler, çevresel zararlılar ve değişik mikroorganizmaların etkisine bağlı olarak önemli boyutta ürün kaybına uğramakta, kronik açlığa mahkum olabilmekteydi. Ergo mantarının ürünleri etkilemesine bağlı olarak meydana gelen kitlesel zehirlenme "St. Anthony ateşi" olarak bilinen deliryum tablosunun yaygın kitleleri etkilemesine neden olabilmektedir. Bu sorun herbisidlerin yaygın olarak kullanıma sokulmasından sonra çözümlenebilmiştir.

Milattan Önce (M.Ö.) 1000 yıllarında Homer kükürt fumigasyonundan söz etmektedir. Democritus bitki küfünün (blight) önlenilebilmesi için yapraklarını zeytin ekstraktları ile yağlamıştır (M.Ö. 470). M.Ö. 200 yıllarında Cato üzüm bağlarında kükürt dumanını kullanmıştır. Romalılar sıçanların zararından kurtulmak için çöplere bitkisi (Helleborus) kullanmışlardır. Pliny Historia Naturalis kitabında (Milattan Sonra (M.S.) 23- 77) buğday pasının önlenilebilmesi için tahıl tohumlarına şarap uygulanmasını önermekteydi. Çinliler ağaçları böceklerden korunmak için kancalardan yararlanmaktaydı ve 900' lü yıllarda bahçe böcekleriyle savaşmakta arsenik kullanmaktaydılar.

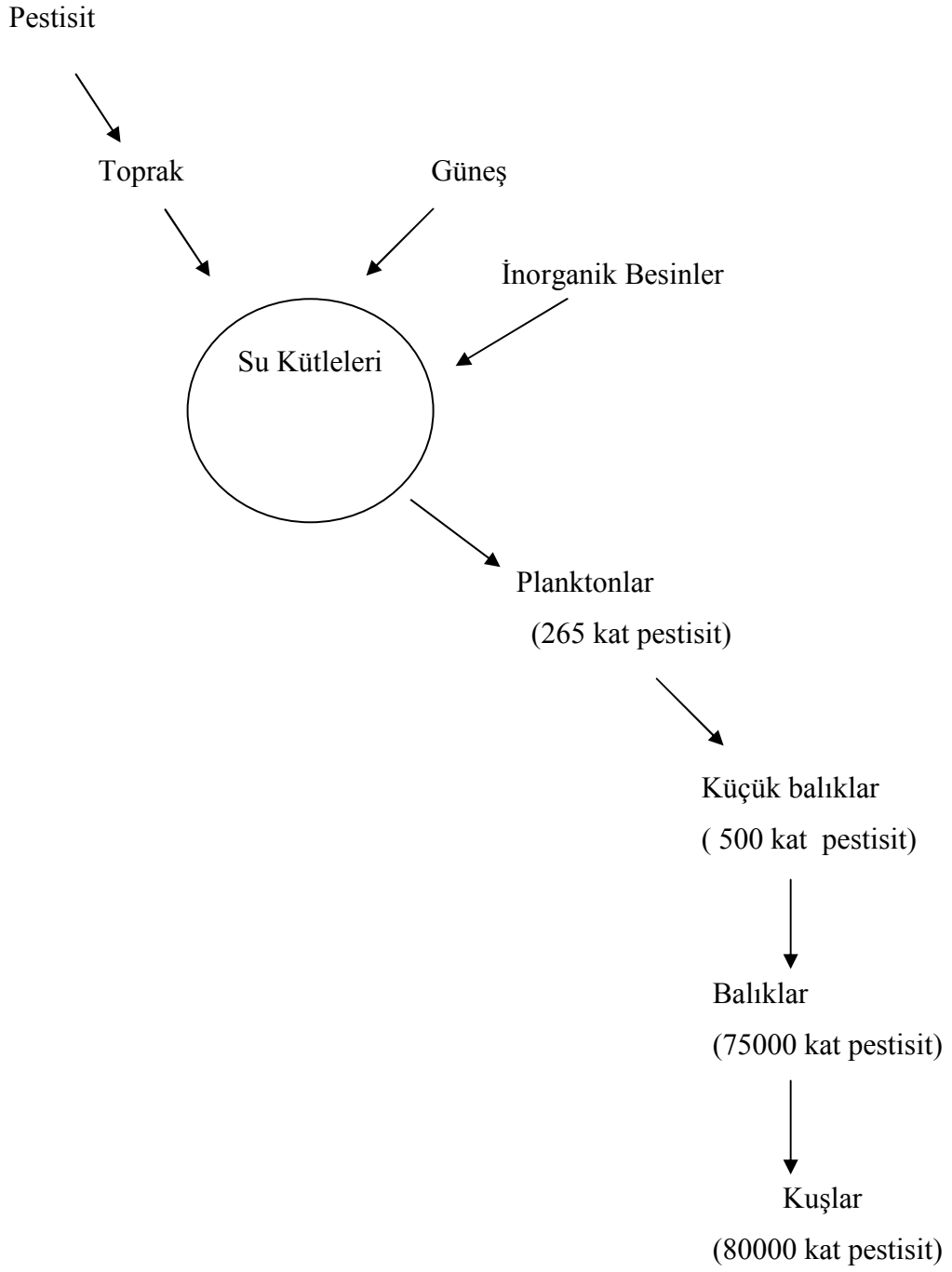
Pestisit olarak kullanılan ilk maddeler arsenik ve kükürttür. Daha sonra nikotin gibi botanik kökenli maddeler kullanılmaya başlanmıştır. Halen bazı bölgelerde çok yüksek riskli nikotin balık avlamak için de kullanılmaktadır. Nikotin 16. yüzyıl (yy)' da kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra krizantemden elde edilen pyrethrum 19. yy' dan başlanarak kullanılmaya başlanmıştır. Colorado patates böceğine karşı Amerika Birleşik Devletleri (ABD)' nde Paris yeşili gibi bakır arsenik bileşikleri kullanılmıştır. Bu kullanım 1860' lı yıllara kadar uzanmaktadır. Daha sonra civa ve

kurşun metal bileşikleri de kullanıma sokulmuştur. II. Dünya Savaşı' na kadar kimyasal kontrolde sınırlı bir kaç madde kullanılmaktaydı. Bunlar büyük oranda bakır ve civa tuzları ve kükürdün fungusit olarak kullanılması, böceklere karşı ise arsenik, siyanür gibi genel zehirlerden yararlanılması biçimindeydi. Böceklere karşı savaşta pestisitlerin yaygın kullanımı 1940' lı yılların ortalarında başladı. 1939 yılında İsviçreli kimyager Paul Mueller diklorodifenil trikloroetamin yani DDT' nin pestisit özelliklerini belirledi. 1942 yılında piyasaya çıkan DDT hızla yaygın kullanıma girdi. İkinci Dünya Savaşı' nda yeni bir sinir gazı üzerinde çalışan Alman bilim adamları organofosforlu bir insektisit olan parationu buldular. Paration 1943 yılında pazara sunuldu. Yine fenoksi herbisitleri 2, 4- D ve 2, 4, 5- T herbisitlerinin kullanımı 1940' lı yılların başlangıcında devreye girdi. II. Dünya Savaşı' nda botanik kökenli pestisitlerin ülkeye sağlanması güçleştğinde ABD' de ve diğer ülkelerde organik kimyasallara yönelme başlamıştır. DDT 1939 yılında İsviçre'de bulunmuştur. 1940 yılında benzen heksaklorür İngiltere'de ve Fransa'da insektisit olarak kabul edilmiştir. İlk pestisit yasası ABD' de 1947 yılında çıkartılmış ve 1970' de Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency EPA) kurulmuştur. 1942 yılında İtalya'da askeri birliklerdeki bir tifüs salgınında DDT kullanımı salgını kısa sürede ortadan kaldırdı. Bu nedenle II. Dünya Savaşı askerlerin çoğunun savaş yerine yaralanarak öldükleri ilk savaş özelliğini kazandı. Pestisitlerle ilgili ilk ciddi eleştiri biyolog Rachel Carson' un 1962 yılında yayımladığı "Silent Spring (Sessiz İlkbahar)" kitabıyla ortaya çıktı. DDT ve klorlu hidrokarbonların çevredeki dayanıklılığını, insan ve hayvanların yağ dokularında birikimini, hedef olmayan veya olmaması gereken türler üzerindeki toksik etkisiyle, ekolojik ve insan sağlığıyla ilgili yıkıcı etkilerini dile getirdi. 1989 yılında Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization (FAO)) raporunda bütün dünyada ürünün %20- 40' nın böceklere bağlı olarak yitirildiğini ve bunun gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek olduğunu belirtmekteydi. Kayıplar hasat, kurutma, depolama, öğütme, pişirme dahil hemen her evrede söz konusu olmaktaydı. Tahıl ve taneliler için ortalama kayıp %10; kök, bitki ve sebzeler için ise %20 olarak hesaplanmaktaydı. Carson tarafından yazılan "Sessiz ilkbahar" kitabı sınırsız pestisit kullanımına ilk kez tüm boyutlarıyla dikkatleri çekerken özellikle DDT, Dieldrin ve Aldrin' in etkilerini vurgulamaktaydı. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization (WHO))' nün başlattığı sıtma yok etme programı ise 1965 yılından başlayarak 15 milyon hayatı kurtarmıştır. 1960' lı yıllarda başlayan diğer bilimsel araştırmalarda DDT' nin farelerde karsinojenik

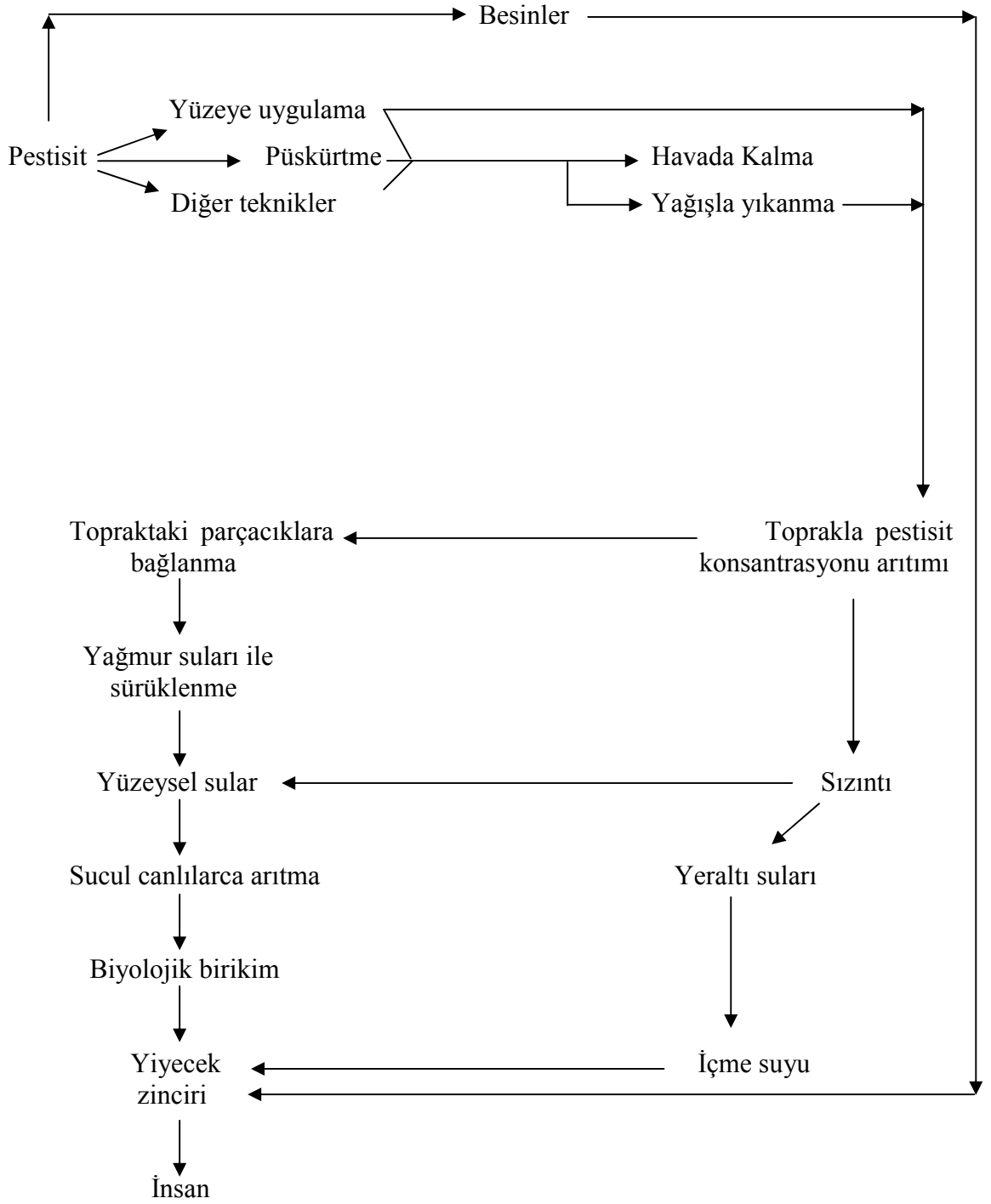
olduğu belirlenmiş, 1971 yılında ABD’ de yasaklanmıştır. 1984- 1974 yılları arasında İngiltere’de gönüllü olarak terk edilmesi yoluna gidilmiş, günümüzde tümüyle yasaklanmıştır. Bütün bunlar pestisitlerle ilgili ikilemleri çok güzel ortaya koymaktadır. Bir yandan pestisitlerin sağladığı yararları diğer yandan zararları savunanlar kuşkusuz haklı birçok gerekçeye sahiptirler. DDT’ ye karşı gruplar sıtma yok etme programının uygulandığı bölgelerde DDT’ nin zamanla etkili olmadığını, buna karşı hızla direnç geliştiğini belirlediler. Üstelik DDT’ nin sivrisineklerle beslenen birçok hayvan türünün de ölümüne neden olduğu gösterildi. Sözgelimi ölü ve ölmekte olan sivrisinekleri yiyen kertenkeleler zehirlenmekte, daha önce kertenkeleleri yakalamaları çok güç olan kedilerin bunları yemeleri sonucu ise kediler de zehirlenmekteydi. Kedilerin azalmasına bağlı olarak sıçan sayısında artım meydana gelmişti ve bu kez rodentisitlerin yaygın kullanımı gerekli olmuştu. Zehirlenen fareleri yiyen baykuşlar etkilenmemekle birlikte sorunun boyutu giderek büyümektedir. Kuşkusuz üçüncü dünya ülkelerinin besin bakımından desteklenmesi açısından pestisitlerin yararı bulunmaktadır. Ancak bu yararlar çevreye verilen zararın maliyeti konusunda kuşklar ve tartışmalar giderek büyümektedir.

Pestisitler enerjinin istenilmeyen türlere (yabani ot, böcek vb) kaymamasını sağlarken, diğer taraftan yiyecek ağlarına girmekte ve doğal dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Bütün bunların ışığında pestisit sorununun ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Çevre sağlığı personelinin eğitiminde pestisitler özellikle önem taşımaktadır. Halk sağlığı laboratuvarlarının rutin işlevleri arasına pestisit izlemeleri de alınmalıdır. Gıdalarda pestisit analizlerinin rutin uygulamalar arasına alınması gerekmektedir.

Pestisitler biyolojik birikimle canlıların vücutlarında yoğunlaşabilir (biyoyoğunlaşma, biyolojik birikim). Bu zincirde hareket ederken her aşamada daha büyük bir orana ulaşmaktadır (Şekil II.1). Bunların en güzel örneklerinden birisini parçalanmayan, organoklorlu insektisitler DDT, Dieldrin ve Aldrin oluşturmaktadır. Bunlar yağda çözünmeleri nedeniyle kolayca dokulara nüfuz edebilmektedir(36). Şekil II.1’ de görüldüğü gibi son halkada normalin 80000 katına kadar artım olabilmektedir. Bu durum İngiltere’ de yılanbalığı ve balıkçılarda görülmektedir. Dieldrin bu canlılarda birikmekte normalin üzerinde yılan balığı yeme eğiliminde olan kişilerde Dieldrin çok yüksek konsantrasyonda etkili olmaktadır.(39). Permetrin’ in de silikalı bir tek hücrelide giderek yoğunlaştığı, bunun ise besin zincirindeki yüksek beslenme seviyelerinde çok tehlikeli olabileceği görülmektedir.[14]



şekil II. 1. Biyoyoğunlaşma, Biyolojik Birikim.



Şekil II. 2. Pestisitlerin Doğadaki Hareketleri.

II. 1. 1. Türkiye’de Pestisit Kullanımı

Türkiye’de pestisit kullanımını gerçek biçimiyle ortaya koyabilmek için, ülkedeki pestisit tüketim miktarlarının ve tüketilen pestisitlerin niteliklerinin üzerinde durulması gerekmektedir. Ancak bu konu beraberce incelenirse, ülkenin pestisit kullanımı değerlendirilmiş olur.

II. 1. 2. Pestisit tüketimi

1979’dan 2002’ye kadar etki ettikleri canlı gruplarına göre pestisitlerin tüketimleri Tablo II. 1’de özetlenmiştir.

Tablo II. 1. Türkiye’de Yıllara Göre Pestisit Tüketimi. [15]

Pestisit Grupları	1979	1987	1994	1996	2002
İnsektisitler	2.287. 658	3. 303. 446	2. 064. 991	3. 027. 380	2. 250. 898
Akarisitler	203. 107	240. 360	192. 279	223. 857	296. 809
Yağlar	1.594. 526	2. 147. 106	2. 147. 106	2. 871. 160	2. 428. 238
Fumigant ve Nematisitler	315. 665	322. 227	530. 738	1. 076. 661	1. 559. 489
Rodentisit ve Mollusisitler	5. 600	2. 124	2. 509	3. 268	1. 794
Fungusitler	1.537. 315	2. 611. 960	2. 201. 406	2. 951. 191	1. 964. 292
Herbisitler	2.451. 977	3. 495. 044	3. 902. 588	3. 643. 971	3. 697. 397
TOPLAM	8.395. 848	12.112. 267	10.871. 792	13. 797. 488	12.198. 917

II. 1. 3. Tüketilen Pestisitlerin Nitelikleri

Bir ülkede tüketilen pestisitlerin sağlık, çevre gibi kriterler açısından nitelikleri, toplam pestisit tüketimine oranla daha ciddi bir konudur. Ülkemiz pestisit tüketimi bu açıdan değerlendirildiğinde, oldukça çarpıcı sonuçlar ortaya çıkmaktadır.

EPA tarafından bazı pestisitler düşük riskli ya da çevre dostu olarak nitelendirilmektedir. Böyle etkili maddelerin ruhsatlandırılması daha hızlı yapılmakta ve kullanımları desteklenmektedir (EPA, 1999 a, b). EPA’ ya göre düşük riskli yada çevre dostu pestisitlerde bulunması gerekli kriterler şöyle özetlenebilir; insan

sağlığına düşük etki, hedef dışı organizmalara düşük zehirlilik, yeraltı sularını kirlenme potansiyelinin düşüklüğü, uygulama dozunun daha düşük olması, zararlı organizmalarda dayanıklılık potansiyelinin düşüklüğü, bütünleşmiş zararlı yönetimi (Integral Pest Management (IPM))'ne uygun olması. Bu kriterlere göre düşük riskli pestisitlerden ülkemizde ruhsatlı olanların 2002 yılı tüketimleri Tablo II.2' de verilmiştir [15].

Tablo II. 2. Düşük Riskli ya da Çevre Dostu Pestisitlerden Ülkemizde Ruhsatlı Olanların 2002 Yılı Tüketimleri.

Pestisit	Türkiye'de tüketimi (kg veya L)
Indoxacarb	1. 139
Acetamiprid	14. 012
Azoxystrobin	856
Cyprodinil	2. 998
Fenhexamid	3. 390
Glyphosate*	491. 663
Hymexazole	2. 518
Imazamox	289
Lambda cyhalothrin	2. 264
Mefenoxam (Metalaxyl M)	1. 542
Pymethrozine	5. 711
Spinosad	927
Thiamethoxam	13. 479
Trifloxystrobin	2. 861
TOPLAM	543. 649
Pestisit tüketimindeki payı	% 4,45
*Glifosat amonyum, glifosat isopropilamin tuzu ve glifosat trimesyum toplamı	

II.1.4. Pestisitlerin Zararları

Modern tarımsal mücadelede pestisitlerin çevreye zarar vermeyecek düzeyde ve gerçekten gerekli olduğunda kullanılması benimsenmiştir. Bunun bir sonucu olarak, başta ABD olmak üzere, gelişmiş ülkelerde “düşük risk” yada “doğa dostu” pestisitler adı altında toplanmışlardır. Örneğin ABD Çevre Koruma Örgütü (EPA), böyle pestisitlerin hem ruhsatlandırılmasını kolaylaştırmış ve hem de kullanılmalarını teşvik etmeye başlamıştır[15]. Bununla beraber, yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımının sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir. Hedef olmayan diğer organizmalar ve insanlar üzerinde olumsuz etkileri görülmektedir. Pestisit kalıntılarının önemi ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisitlerin

kalıntılarının bulunmasıyla anlaşılmıştır. Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturuıcı etkiler saptanmıştır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu nedenle 1960 yılında FAO ve WHO “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi”ni kurmuşlar ve bu komitenin çalışmaları sonucu konu ile ilgili tanımlamalar yapılmış, bilimsel araştırma verilerine dayanılarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır. Ülkemizde de tarımsal ürünlerde kullanılan pestisitlerin gıdalarda bulunması müsaade edilebilir maksimum miktarları ürün ve ilaç bazında belirlenmiştir [16].

II.1.4.1 Hedef Olmayan Organizmalar Üzerine Etkisi

Hemen bütün insektisitler spesifik olmadıkları için sadece hedef organizmaları öldürmez, omurgalı ve omurgasız diğer organizmaları da etkilerler. Zararlı etkilerin şiddeti, insektisit ve formülasyonun tipine, uygulama şekline ve tarımsal arazinin tipine bağlı olarak değişmektedir. En genel yan etkiler şunlardır:

- Arılar, kuşlar ve balıklar, mikroorganizmalar ve omurgasızlar gibi hedef olmayan organizmalarda ölümler,
- Kuş, balık ve diğer organizmalarda üreme potansiyelinin azalması,
- Hedef olmayan organizmalarda dayanıklılık oluşması sonucu insanlara hastalık taşıyan böcek ve parazitlerin kontrolden çıkması,
- Ekosistemin yapısının ve türlerinin sayılarının değişmesi gibi uzun dönemli etkiler.

II.1.4.2. İnsanlar Üzerine Etkileri

İnsanların pestisitlere maruz kalması mesleki zehirlenmeler veya kaza ile meydana gelebilmektedir.[17] Mesleki zehirlenmeler, üretim, formülasyon hazırlama, taşıma, yükleme ve uygulama sırasında deri ve solunum yoluyla maruz kalma (akut zehirlenme) olarak tanımlanabilir. Bunlar vücutta kolin esterase enzimini inhibe ederek asetilkolin birikimine yol açarlar. Kaza ile meydana gelen zehirlenmelerde pestisitlerin yaprak ve topraktaki kalıntıları veya onların toksik dönüşüm ürünleriyle temas sonucu hastalıklar meydana gelebilmektedir. Son yıllarda ilaçların besin maddelerindeki kalıntılarının insanlar için kronik toksisitesi iki şekilde ele alınmaktadır:

- Kabul Edilebilir Günlük Alım (Acceptable Daily Intake- ADI): Bir kişinin bir günde alabileceği kabul edilebilir günlük ilaç miktarını mg. kg⁻¹ olarak ifade eden değerdir.
- Maksimum Kalıntı Limitleri (Maksimum Residue Limits- MRL): Gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen en fazla ilaç miktarını (milyonda bir kısım, ppm) ifade eden değerdir.

Gıda ve Tarım Örgütü ([FAO](#)) ve Dünya Sağlık Örgütü ([WHO](#)) tarafından ortak oluşturulmuş olan Codex Alimentarius’ da ve EPA’ nın bu değerleri içeren listeleri mevcuttur. Bu miktarlar tarımsal ürünlerin dış pazarlaması bakımından da önemlidir. Tolerans miktarını aşan değerlerde pestisit kalıntısı tespit edilen tarımsal ürünler alıcı ülkeler tarafından geri çevrililmektedir. Pestisitlerin kalıntı yoluyla kronik toksisiteyi yanında bazılarının insanlarda mutajenik, teratojenik ve kanserojen etkilerinin de olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla saptanmıştır.

II.1.4.3. Çevre Üzerine Etkileri

Tarımsal alanlara, orman veya bahçelere uygulanan pestisitler havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşüme uğramaktadır. Bir pestisitın çevredeki hareketlerini onun kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon tipi, uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir. Pestisitlerin püskürtülerek uygulanması sırasında bir kısmı buharlaşma ve dağılma nedeniyle kaybolurken, diğer kısmı bitki üzerinde ve toprak yüzeyinde kalmaktadır. Havaya karışan pestisit rüzgarlarla taşınabilir; yağmur, sis veya kar yağışıyla tekrar yeryüzüne dönebilir. Bu yolla hedef olmayan diğer organizma ve bitkilere ulaşan pestisit, bunlarda kalıntı ve toksisiteye neden olabilir. Toprak ve bitki uygulamalarından sonra toprak yüzeyinde kalan pestisitler, yağmur suları ile yüzey akışı şeklinde veya toprak içerisinde aşağıya doğru yıkanmak suretiyle taban suyu ve diğer su kaynaklarına ulaşabilirler. Eğim, bitki örtüsü, formülasyon, toprak tipi ve yağış miktarına bağlı olarak taşınan pestisitler, bu sularda balık ve diğer omurgasız su organizmalarının ölmesine; bu organizmalardaki pestisit kalıntısının insanların gıda zincirine girmesi ve pestisitle kirlenmiş suların içilmesiyle kronik toksisitenin oluşmasına neden olurlar. Toprağa geçen pestisitler güneş ışınlarının etkisiyle fotokimyasal parçalanmaya, bitki, toprak mikroorganizmaları ve diğer organizmaların etkisiyle biyolojik parçalanmaya uğramakta; toprak katı maddeleri (kil ve organik madde) tarafından adsorlanıp

desorplanmakta veya kimyasal parçalanmaya uğramaktadırlar. Toprak içine geçmiş pestisitler kapiler su vasıtasıyla toprak yüzeyine taşınmakta ve buradan havaya karışabilmektedir. Toprağın yapısı, kil tipi ve miktarı, organik madde içeriği, demir ve alüminyum oksit içeriği, pH'sı ve toprakta var olan baskın mikroorganizma türleri tüm bu olayları etkileyen faktörlerdir. Toprakta pestisit tutulmasıyla hareketi ve biyolojik alımı engellenmekte ve çeşitli şekillerde parçalanması ile ya toksik özelliğini kaybetmekte ya da daha toksik metabolitlerine dönüşebilmektedir. Pestisit kendisinin ya da toksik dönüşüm ürünlerinin hedef olmayan yerleri veya organizmalara bulaşması istenmediğinden tüm bu olayların bilinmesi ve incelenmesi önem taşımaktadır.

II.1.4.4. Gıdaların Kontaminasyonu

Bitkinin direkt yolla veya toprakta kalan pestisiti kendi bünyesine alması ve bu bitkilerin insan gıdası veya hayvan yemi olarak kullanılması sonucunda pestisitler insanların gıda zincirine girmektedirler[15].

II.2.PESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI

Pestisitlerin kullanım alanlarına göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılırlar: [18,19, 20]

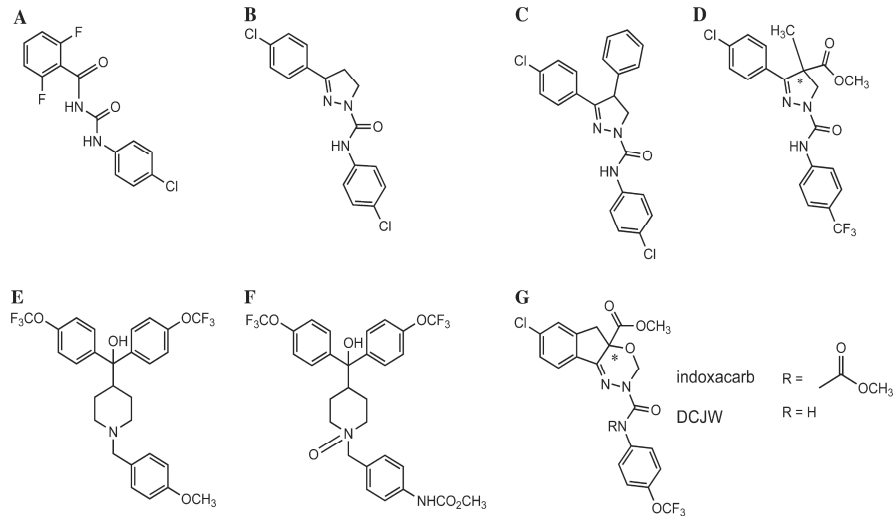
- Algisitler: Yüzme havuzu, göl, kanal, su tankları ve diğer alanlardaki alglerin kontrolü için kullanılan pestisitlerdir.
- Çürüme Önleyiciler: Bot, sandal dipleri gibi su altındaki yüzeylerdeki organizmaları kontrol etmek için kullanılan pestisitlerdir.
- Antimikrobiyaller: Bakteri ve virüs gibi mikroorganizmaların kontrolü için kullanılan pestisitlerdir.
- Tuzaklar: Böcek, fare gibi zararlıların bir tuzak ile kontrolü için kullanılırlar. Yiyecekler dikkat çekmek için kullanılırsalar da pestisit olarak değerlendirilmezler.
- Biyopestisitler: Hayvan, bitki, bakteri ve bazı minerallerden türetilmiş pestisitlerdir.
- Biyositler: Mikroorganizmaları öldürmek için kullanılan pestisitlerdir.
- Dezenfektanlar ve Koruyucular: Nesneler üzerindeki hastalık üreten mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek veya öldürmek için kullanılan pestisitlerdir.

- Fungusitler: Küf, pas ve mantarları öldürmek için kullanılan pestisitlerdir.
 - Fumigantlar: Toprak veya binalardaki zararlıları gaz ya da buharla kontrol altına almak için kullanılan pestisitlerdir.
 - Herbisitler: Yabani otları ve diğer istenmeyen yerlerde gelişen bitkileri öldürmek için kullanılan pestisitlerdir.
 - Akarisitler: Bitki ve hayvanlar üzerinde beslenen kene, uyuz gibi akarları öldürmek amacıyla kullanılan pestisitlerdir.
 - Mikrobiyal Pestisitler: Böcekleri ve diğer mikroorganizmaları kontrol altına almak için kullanılan pestisitlerdir.
 - Mollusisitler: Salyangoz gibi yumuşakçaların kontrolünde kullanılan pestisitlerdir.
 - Nematisitler: Mikroskobik veya solucan gibi bitki kökleri üzerinde beslenen organizmaları öldürür.
 - Ovisitler: Akarların ya da böceklerin yumurtalarını öldürmek amacıyla kullanılan pestisitlerdir.
 - İticiler: Sivrisinek gibi böcekleri ve bazı kuşları geri püskürtmek için kullanılırlar.
 - Rodentisitler: Fare gibi kemirgenlerin kontrolünde kullanılan pestisitlerdir.
 - İnsektisitler: Böcekleri öldürmek için kullanılan pestisitlerdir.
- İnsektisitler farklı kimyasal grup içinde sınıflandırılabilirler [21]:
- Antibiyotik İnsektisitleri
 - Arsenik İnsektisitleri
 - Botanik İnsektisitleri
 - Karbamat İnsektisitleri
 - Diamid İnsektisitleri
 - Desikant İnsektisitleri
 - Dinitrofenol İnsektisitleri
 - Fluorin İnsektisitleri
 - Formamidin İnsektisitleri
 - Fumigant İnsektisitleri
 - Anorganik İnsektisitler
 - Nereistoksin Analogu Olan İnsektisitler

- Nikotinoid İnsektisitleri
- Organoklor İnsektisitleri
- Organofosfor İnsektisitleri
- Oksadiazin İnsektisitleri
- Oksadiazolon İnsektisitleri
- Ftalimid İnsektisitleri
- Pirazol İnsektisitleri
- Pretroid İnsektisitleri
- Pirimidinamin İnsektisitleri
- Pirrol İnsektisitleri
- Tetramik Asid İnsektisitleri
- Tetronik Asid İnsektisitleri
- Tiyazol İnsektisitleri
- Tiyazolidin İnsektisitleri
- Üre İnsektisitleri

II.3. INDOXACARB ve ÖZELLİKLERİ

Indoxacarb, oksadiazin sınıfı pestisitlerdendir. Oksadiazinler pirazolin tipindeki insektisitlerin 4.koluna ait bir türdür. Görünüşte bazı değişiklikler olmakla birlikte oksadiazinler, dihidropirazollere şekil olarak çok benzemektedir. İkisi arasındaki en anlamlı fark molekülün yapısal iskeletindedir. Pirazolin halkasını kullanan dihidropirazoller yapıya sıkıca bağlıdır, oksadiazinler merkezdeki oksadiazin halkası ile kaynaşmış 3 halkalı sistemi kullanırlar. Temel olarak pirazolin (dihidropirazol) halkasına bir oksijen atomu yerleşerek oksadiazin oluşturmuş ve 3 pozisyonundaki fenil halkası 4 pozisyonundaki oksadiazin halkasıyla tekrar birleşmiştir. Amid azotundaki karbometoksilasyon tarafından bileşik böcekler için daha seçici hale gelmiştir. Pirazolinlerin pretreoidlerden farklı olarak nöronlardaki sodyum kanallarını blokladığı bulunmuştur [22].



Şekil II.3 Pirazolin tipi insektisitler[23]. (A) Diflubenzuron.(B) PH 60–41. (C) PH 60–42. (D) RH 3421. (E) BZP (piperidin). (F) BZP (piperidin N-oksit).

(G) Indoxacarb ve DCJW. *Kiral merkezler yıldızla işaretlenmiştir.*

Bu insektisitler memeliler için nörotoksiktir. RH 3421 almış sıçanlarda koordinasyonsuzluk, titreme, uyuşukluk görülmüştür. BZP hayvanların yürüyüşlerinde daireler çizmesine, anormal duruşa sebep olur. Indoxacarb da anormal duruş, titreme, hareketlerde düzensizlik, tükürük salgılamaya ve ölüme neden olmuştur.

II.3.1. Indoxacarb' ın İnsektisit Aktivitesi

Indoxacarb' ın insektisit aktivitesi oldukça stereospesifik olsa da R enantiyomeri insektisit olarak aktif değildir. Böceklerde proinsektisit olarak rol oynayan Indoxacarb, Şekil II.3 ' te DCJW ile gösterilen ve çok daha kuvvetli N - dekarbometoksillenmiş metabolitine dönüşümü için esteraz ya da amidaz' a ihtiyaç duyar.

Lepideptora böcekleri Indoxacarb' ı DCJW' ye dönüştürmekte oldukça başarılıdır. Indoxacarb' ın DCJW' ye bu metabolik dönüşümü HPLC ve kütle spektrometrisi yardımıyla larvalar üzerindeki nörotoksik belirtilerle eş zamanlı olarak belirlenmiştir.

Lepideptora larvalarının çeşitli türleri Indoxacarb' ı insektisit etkiye sebep olan aktif bileşik dekarbometoksillenmiş türevi DCJW' ye metabolize eder. Memelilerde DCJW' nin etkisi için literatürde kullanılabılır bir bilgi yoktur. Çeşitli çalışmalar

DCJW' nin sodyum kanallarını bloklamada Indoxacarb' dan daha etkili olduğunu göstermiştir [23].

Indoxacarb, DuPont TM ' un geliştirdiği ve StewardTM adıyla satışa sunduğu insektisit etken maddesi olup organofosfatlar, karbamatlar ve pretreoidler karşı direnç kazanmış böcekler için ilk ticari pirazolin tip insektisittir. Çevre için güvenli, hedefte olmayan organizmalar için düşük zehirlilik, yüksek böcek öldürücü aktivite gibi özellikleri olduğu iddia edilmekte olup Indoxacarb' ın keşfi büyük çabalar sonunda olmuştur.[24]

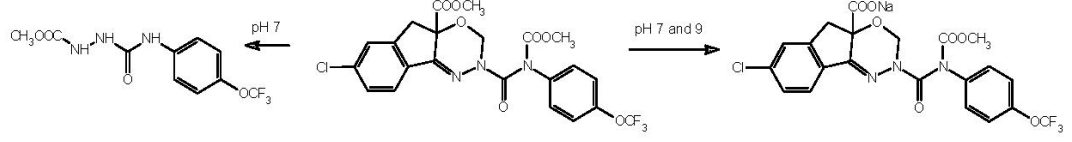
II.3.2. Indoxacarb' ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kimyasal yapısı ve fiziksel özellikleri aşağıda gösterilmiştir.

Tablo II.3. Indoxacarb' ın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.[24]

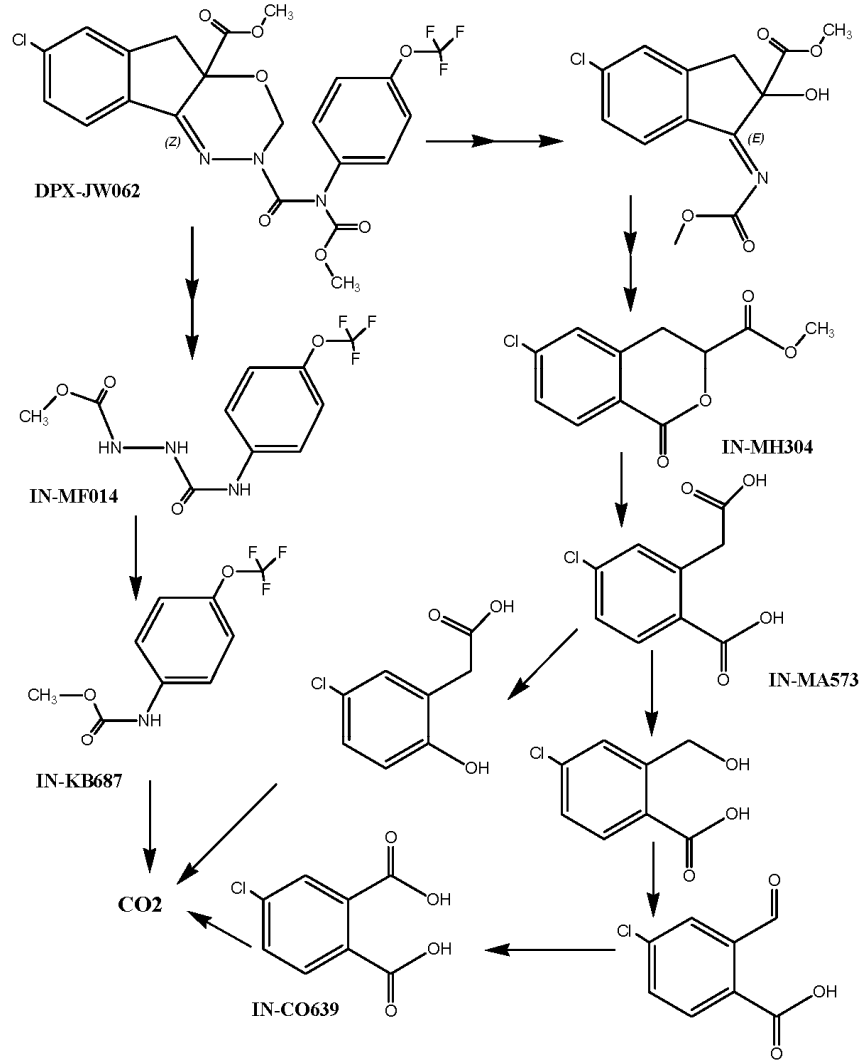
IUPAC Adı	(S)-metil-7-kloro-2,5-dihidro-2- [(metoksikarbonil)[4-triflorometoksi) fenil] amino] karbonil] indeno [1,2-e][1,3,4] oksadiazin - 4a(3H)-karboksilat.
Molekül Formülü	C ₂₂ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₇
Molekül Ağırlığı	527,8 g/ mol
Genel Adı	Indoxacarb
CAS Numarası	173584- 44- 6
Pestisid Tipi	İnsektisit
Kimyasal Sınıf	Pirazolin Tip Okzadiazin Sınıfı
Erime Noktası	88,1 ± 0,4 °C
Yoğunluk	1,14 ± 0,065 mg/ L
Buhar Basıncı	9,8. 10 ⁻⁹ Pa 20°C 2,5. 10 ⁻⁸ Pa 25 °C
Henry Kanunu Sabiti	6. 10 ⁻⁵ Pa.m ³ mol ⁻¹ 25 °C 20± 2 µg/ L 25 °C
Sudaki Çözünürlük	20± 2 µg/ L 25°C
Organik Çözücülerdeki Çözünürlük	n- heptan 1720 ppm
	1- oktanol 14500 ppm
	Metanol 103000 ppm
	o- ksilen 117000
	Asetonitril 138000 ppm
	Etil asetat 159000 ppm
	Aseton > 250000 ppm
	Diklormetan > 250000 ppm

25 °C' de pH:5' te DT₅₀: 500 gün olup pH:7' de DT₅₀: 22 gün; pH:9' da DT₅₀: 0,3 gündür. Şekil II.4' te görülen 2 tane hidroliz ürünü tanımlanmıştır.

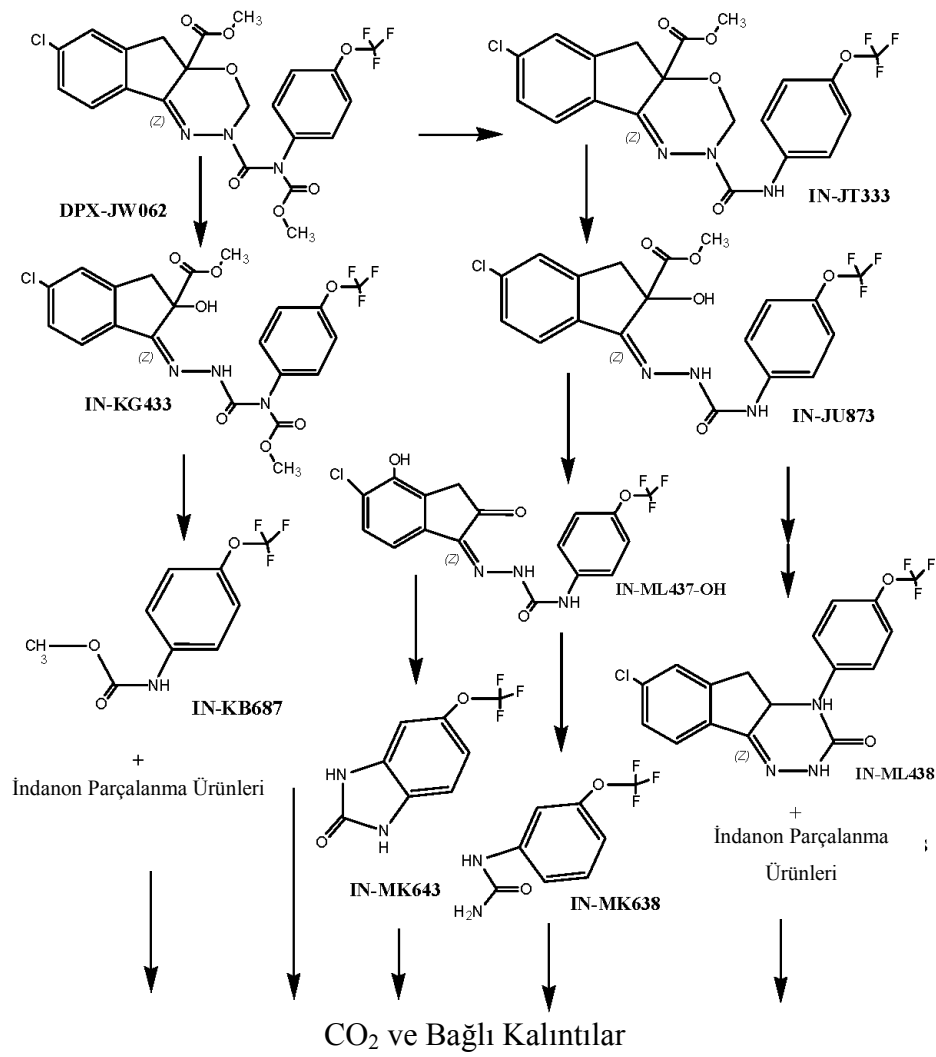


Şekil II.4. Indoxacarb Hidroliz Ürünleri

Sulu çözeltide hızlıca ışıkla bozunmaya uğrar. pH 5' te ve 25°C' de fotolitik yarılanma ömrü 4,5- 117 gündür. Toprak yüzeylerinde ise güneş ışığı altındaki yarılanma ömrü yaklaşık 50 gündür.[25].



Şekil II.5.Indoxacarb İçin Işıkla Bozunma Yolları.[25]

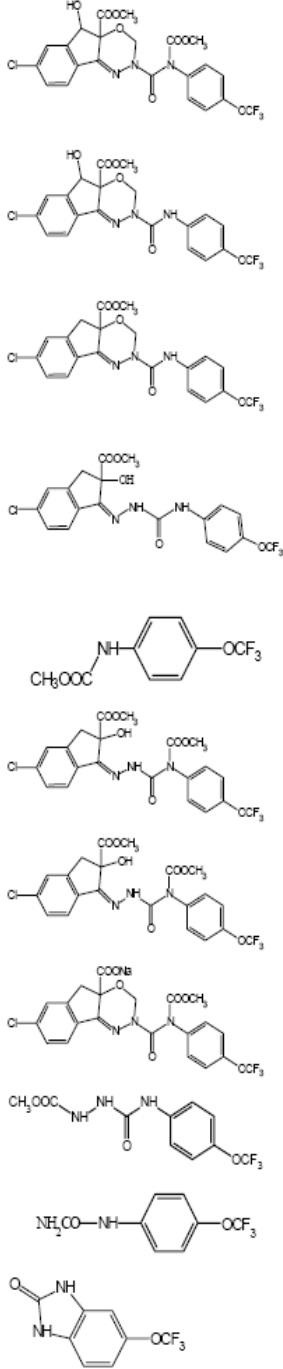


Şekil II.6. Aerobik Topraklardaki Indoxacarb İçin Önerilmiş Bozunma Yolları.[25].

II.3.3. Indoxacarb' ın Bozunma Ürünleri

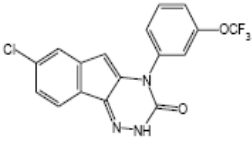
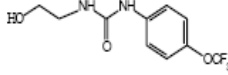
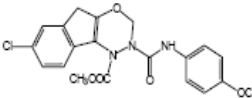
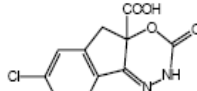
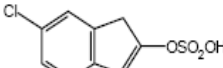
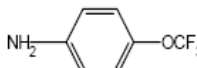
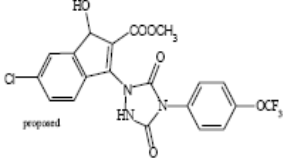
Indoxacarb' a ait bozunma ürünleri 1-indenon karbonunun veya triflorometoksi fenil halkasındaki karbonların ^{14}C ile işaretlenmesiyle çalışılmış olup ilgili bozunma ürünleri Tablo II.4' te verilmiştir.

Tablo II.4. Indoxacarb Bozunma Ürünleri[25]



5-OH-DPX-JW062 Metil-7-kloro-2,5-dihidro-5-hidroksi-2-[[4-(metoksikarbonil) [4(triflorometoksi)fenil]karbonil]indenol[1,2-e] [1,3,4]oksadiazin-4a(3H)-karboksilat
5-OH-IN-JT333: Metil-7-kloro-2,5-dihidro-5-hidroksi-2-[[4-(triflorometoksi)fenil]amino]karbonil]indenol[1,2-e] [1,3,4]oksadiazin-4a(3H)-karboksilat
IN-JT333 [CAS No.144171-39-1] Metil-7-kloro-2,5-dihidro-2-[[4-(triflorometoksi)fenil]amino]karbonil]indenol[1,2-e][1,3,4]oksadiazin-4a(3H)-karboksilat
IN-JU873[CAS No.144172-25-8] : Metil-5-kloro-2,3-dihidro-2-hidroksi-1-[[4-(triflorometoksi)fenil]amino]karbonil]hidrazon]-1H-inden-2-karboksilat
IN-KB687[CAS No.177905-10-1] Metil[4triflorometoksi]fenil]karbamat
IN-KG433[S-enantiyomeri CAS No.526224-31-7] (E)-Metil-5-kloro-2,3-dihidro-2-hidroksi-1-[[4-(metoksikarbonil) [4-triflorometoksi]fenil]amino]karbonil]hidrazono]-1H-inden-2-karboksilat
IN-KT419: (Z)-metil-5-kloro-2,3-dihidro-2-hidroksi-1-[[4-(metoksikarbonil) [4-(triflorometoksi)fenil]amino]karbonil]hidrazono]-1H-inden-2-karboksilat
IN-KT413: İndeno [1,2-e][1,3,4]oksadiazin-4a(3H)-karboksilik asit,7-kloro-2,5-dihidro-2-[[4-(metoksikarbonil)[4-(triflorometoksi)fenil]amino]karbonil]-,sodyum tuzu
IN-MF014: Metil-2-[[4-(triflorometoksi)fenil]amino]karbonil]hidrazin karboksilat
IN-MK638[CAS No.82971-90-2] N-[4-(triflorometoksi)fenil]üre
IN-MK643 1,2-dihidro-5-(triflorometoksi)-2H-benzimidazol-2-one

Tablo II.4.Devam

	IN-ML438: 7-kloro-2,4-dihidro-4-[4-(triflorometoksi)fenil]-3H-indeno[2,1-e]-1,2,4-triazin-3one
	IN-MN470 N-(2-hidroksi3til)-N-[4-triflorometoksi)fenil]üre
	IN-MP819: İndeno[1,2-e][1,3,4]oksadiazin-1(2H)-karboksilik asit 7-kloro-3,5-dihidro-2-[[[4-(triflorometoksi)-fenil] amino]karbonil]-,metil ester
	IN-MU716: 7-kloro-2,5-dihidro-3-oksoindeno[1,2-e][1,3,4]oksadiazin-4a(3H)-karboksilik asit
	IN-MX829 [CAS No.7444-81-8](sülfat olarak)5-kloro-1,3-dihidro-2H-inden-2one
	IN-P0036 [CAS No. 461-82-5] 4-(triflorometoksi)anilin
	Metabolit F, tavuk metabolizması, önerilmiş yapı [kesin olmayan isim] 1-(3-(6-kloro-1-hidroksi-2-metoksikarbonilinden)-4-(4-triflorometoksi fenil)-1,2,4-triazol-2,3,4,5-tetrahidro-3,5-dion

II.3.4. Indoxacarb' ın Kullanım Alanları ve Ekolojik Zehirliliği

Indoxacarb' ın kullanıldığı meyve, sebze ve zararlılar Tablo II.5' te, zehirlilik seviyeleri Tablo II.6' da verilmiştir.

Tablo II.5.Indoxacarb Kullanım Alanları

Bağ	Salkım güvesi (<i>Lobesia botrana</i>)
Pamuk	Yeşil kurt (<i>Heliothis armigera</i>)
	Yaprak kurdu (<i>Spodoptera littoralis</i>)
Mısır	Mısır koçan kurdu (<i>Sesamia nonagrioides</i>)
	Mısır kurdu (<i>Ostrinia nubilalis</i>)
Domates	Yeşil kurt (<i>Heliothis armigera</i>)
	Pamuk yaprak kurdu (<i>Spodoptera littoralis</i>)
Elma	Elma iç kurdu (<i>Cydia pomonella</i>)
Fındık	Fındık kurdu (<i>Curculio nucum</i>)
Pancar	Pancar Tırtılı (<i>Beet armyworm</i>)

Tablo II. 5 Devam

Lahana	Yaprak Güvesi (<i>Diamondback moth</i>)
Pamuk, Tütün, Mısır, Ayçiçeği, Pancar, Hububat, Yem Bitkileri, Meyva fidanları	Bozkurt (<i>Agrotis ipsilon</i>)
Lahana	Lahana kelebeği (<i>Imported cabbageworm</i>)
Mısır	Güz tırtılı (<i>Spodoptera frugiperda</i>)
Domates	Güz Tırtılı (<i>Spodoptera frugiperda</i>)
	Kılkurdu (<i>Keiferia lycopersicella</i>)

Son ilaçlama ile hasat arasındaki süre, sofralık üzümlerde 3 gün, şaraplık üzümlerde ise 10 gündür. Mısır ve domatestede 3 gün, pamuk, elma ve fındıkta 14 gündür.

Tablo II.6.Indoxacarb' ın Zehirlilik Seviyeleri.

Ay balığı	LC ₅₀ 900 ppb
Su Piresi 21-day	NOEC 75 ppb
Su Piresi 48-hr	EC ₅₀ 600 ppb
Bar Arısı 48-hr Contact	LD ₅₀ 0.18 µg/ arı
Yeşil Ördek	LC ₅₀ >5620 ppm
Tuzlusu Omurgasızları	LC ₅₀ 54.2 ppb
(Maruz Kalma Süresi 96 saat).	
İstiridye	LD ₅₀ 218 ppb
Bıldırcın (Oral)	LD ₅₀ 98 ppm
Amerika Bıldırcını	LC ₅₀ 808 ppm
Gökkuşağı Alabalığı	LC ₅₀ 650 ppb
Golyan Balığı (Maruz Kalma Süresi 96 saat).	LC ₅₀ 374 ppb
Erkek Sıçanlarda Akut Oral Doz	LD ₅₀ 1730 mg/kg
Dişi Sıçanlarda Akut Oral	LD ₅₀ 268 mg/kg
Sıçanlarda Akut Dermal Doz	LD ₅₀ >5000 mg/kg
Sıçanlarda Akut Soluma ile Yoluyla Alınabilecek Doz (Maruz Kalma Süresi 4 saat).	LC ₅₀ >5.5 mg/L

Tavşanlarda yapılan deneylerde göz ile teması sonucunda ortalama bir tahriş edici özelliği olduğu bulunmuştur. Gine Domuzları üzerinde yapılan deneylerde derilerinin Indoxacarb' a hassasiyet gösterdiği görülmüştür.

LD₅₀: Solunum yolu dışında diğ er bir yol ile organizmaya girerek etki gösteren katı veya sıvı haldeki kimyasal maddenin belli koşullarda bir defada verildiğ inde, verildiğ i gruptaki hayvanların %50'sini öldüren dozdur

LC₅₀: Solunum yolu ile organizmaya girerek etki gösteren gaz halindeki kimyasal bileşiklerin akut toksisite ölçüsüdür. Belirli koşullarda solunum yolu ile bir gruptaki hayvanların % 50'sini öldüren kimyasal maddenin solunan havadaki konsantrasyonudur.

II. 4. BAL

Arılardan elde edilen ürünler, ülke ekonomisi açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Arı  r nleri adı altında bal, polen, arı sütü, bal mumu, arı zehri, propolis gibi arı ürünleri sağlanmaktadır. Bu arı ürünlerinin ülke ekonomisine katkısı büyük olup maliyeti ise en ucuz iş sahalarından biridir. Arı  r nlerinin muhafaza yöntemleri çok önemlidir. Hatalı ve elverişsiz koşullarda toplanan, saklanan ve pazara sunulan ürünlerin çeşitli biçimlerde bozulması dolayısıyla değerlendirilememesi söz konusudur, özellikle ihracat söz konusu olduğunda bu standartlara uyulması daha fazla önem kazanmaktadır. Söz konusu önem dış alım gerçekleştiren ülkelerin bu standartlara uygun ürünleri titizlikle seçmesinden kaynaklanmaktadır. Üretilen  r n bal, bal mumu, arı sütü gibi kolaylıkla yapay katkı veya hileli üretimi gerçekleştirilebilen maddeler olunca standartın önemi daha da artmaktadır. Dünya  retiminde beşinci,  am balı üretiminde birinci ve bal ihraç eden ülkeler arasında üçüncü sırada bulunan ülkemizde üretilen balların standartizasyona uygunluğu büyük önem taşımaktadır. Gerek iç gerekse dış pazarlarda söz konusu kaygıları standartizasyon ve buna bağlı olarak yapılan kalite kontrol gidermektedir. Çünkü standartlar bu ürünlerin özelliklerini, sınıflarını ve tiplerini kalite faktörü sayılan yapısal özelliklerini açıkça belirtmektedir. Tüketiciler istekleri de göz önüne alınarak yapılan bazı yasal düzenlemeler farklı ülkelerde değişik şekilde arı ürünü işlemeye ve pazarlamaya neden olmaktadır.

II. 4. 1. Balın Tanımı

Bal bitkilerde meydana gelen nektarın arılar tarafından toplanıp değişikliğe uğratılarak petek gözlerine depo ettikleri tabii bir besindir. Nektarın bala çevrilmesi

esnasında arılar, sağladıkları invertaz enzimi sayesinde nektar içesin deki sakkarozu inversiyona uğratarak fruktoz ve glukoz şeklinde basit şekerlere dönüştürür ve fermantasyonun meydana gelmesini önleyecek miktarda suyunu uçururlar.

II. 4. 2. Balın Sınıflandırılması

Arıların yararlandığı kaynaklara göre ballar üç sınıfta incelenmektedir:

- Çiçek balı (saf nektar balı): Bal arısının bitkilerin çiçeklerinden topladığı nektar veya bal özü denen tatlı suları vücutlarındaki özel bezlerden salgılanan maddelerle karıştırarak zenginleştirmesi ve peteklerde olgunlaştırması sonucu doğal bal veya çiçek balı (nektar balı) elde edilir. Nektarın toplandığı çiçeğin tadı balın aromasında hissedilir. (Portakal çiçeği balı, ıhlamur çiçeği balı, yonca balı, vb. gibi)
- Salgı balı: Ihlamur, meşe, erik, çam ağacı gibi bitkilerin yapraklarının sızdırdıkları şekerli sıvı ile yaprak bitleri, gibi bazen ufak böceklerin yapraklar üzerine salgıladıkları tatlı sıvıdan meydana gelen “salgı balı” olarak adlandırılmaktadır. Bir başka tanıma göre salgı balı, genellikle orman ağaçları üzerinde yaşayan böceklerin tatlı salgılarının arılar tarafından toplanmasıyla oluşan baldır.
- Besleme Bal: Bazı balcılar fazla çiçek bulunmayan yerlerde kovanların çevresine kaplar içinde şerbet gibi tatlı çözeltileri dizerek arıları bunlarla beslerler, bu şekilde beslenmiş arıların yaptıkları doğal olmayan ballara “besleme bal” denilmektedir. Böyle balların tadı yavan, renkleri açıktır (beyaz veya uçuk sarı) Sakkaroz miktarı yüksek (%10 ‘dan fazla) olur. Yüksek sakkaroz miktarı, şekerle beslenmeye işaret olabilir. Tüketime sunuş şekillerine göre ballar iki grupta incelenir:
- Süzme Ballar: Süzme veya süzölmüş ballar petekli balların santrifüj cihazında merkezkaç kuvvetiyle veya diğer usullerle kendi haline sızdırılarak peteğinden ayrılmış olan ballardır.
- Petekli Ballar: Petekli ballar piyasaya aşağıdaki şekilde sürülür:
 - Çerçevesiz Petekli Ballar: Fenni kovandan çıkarıldığı gibi çerçevesiyle piyasaya çıkarılan ballardır.
 - Bölünmüş Petekli Ballar: Çerçeveler içerisine yerleştirilmiş özel bölüm içerisinde elde edilen ve bu şekilde satılan ballardır.

- Kesilmiş Parça Petekli Ballar: Çerçeveeden kesilerek çıkarılmış çeşitli büyüklüklerde plastik veya teneke kutularla veya jelatinli kağıtlara sarılı durumda satılan ballardır.
- Karışık Ballar: Çeşitli bal kaplarında cam kavanoz, teneke veya sert plastik kaplarda süzme ve parça petek balların karışık vaziyette satılması halidir.

II. 4. 3. Balın Fiziksel Özellikleri

II. 4. 3. 1. Renk

Balın bir optik özelliği olan renk çok değişiklik gösterir. Bal renksiz durumdan koyu kırmızıya kadar sarı, kehribar, kahverengi, yeşilimsi ve kırmızımsı renklerde olmaktadır. Altın sarısı renginde olan ballar göze daha güzel görünürler. Balın rengi özel aletlerle hassas olarak tayin edilmekte ve bu iş için Pfund Renk Tayin Cihazı kullanılmaktadır. Bu aletle balın rengi su beyazı, ekstra beyaz, beyaz, ekstra açık kehribar, kehribar ve koyu renkli olarak sınıflandırılır.

II. 4. 3. 2. Balın Lezzet ve Aroması

Her balın kendine özgün bir tadı vardır, dikkatle tadılırsa birçok lezzetler hissedilir. Bin bir çiçekten yapılan bir kovanda bile birkaç çeşitte bal olabilir. Nelson narenciye balının kendine özel belirgin lezzetinin metil antranilat' tan ileri gelebileceğini vurgulamıştır. Maeda ve arkadaşları yaptıkları çalışmada balın lezzetinin fruktoz, glukoz, glukonik asit ve prolin kombinasyonundan ileri geldiğini öne sürmüşler ve bu bileşiklerin baldaki şekerlerin, organik asitlerin ve amino asit fraksiyonlarının ana maddeleri olduğunu bildirmişlerdir. Balın aroması değişik çiçeklerin nektarında bulunan karakteristik esterlere göre değişebilmektedir. Baldaki aromanın asıl maddeleri esterler, aldehytler, ketonlar, alkoller ve serbest asitlerdir. Bu maddeler arasında en geniş yeri alkoller almaktadır. Aroma maddeleri daha çok hammadde olan nektardan gelirken, nektar hangi bitkilerden toplanmış ise o bitkinin aromasını bu balda hissetmek mümkündür.

II.4.3.3. Balın Kokusu

Bal, içindeki polene bağılı olarak özel bir kokuya sahiptir. Bala doğal kokusunu veren maddenin siyah birada bulunan diasetol gibi diketon maddeleri olabileceği ileri sürülmüştür. Balın kokusu ağıza alınıp yenilirken hissedilir. Çok ısıtılan ballar aroma maddelerinin büyük bir kısmını kaybederler. Bal, şiddetli kokan bir maddenin yanında saklanırsa o maddenin yabancı kokusunu da çekebilme özelliğine sahiptir. Genellikle koyu renkli ballar açık renkli ballardan daha keskin kokulu ve daha asitlidirler.

II. 4. 3. 4. Viskozite

Viskozite akıcılığa karşı koyma özelliğini ifade eder. Arıcılar buna balın bünyesi derler. Ağır bünyeli bir balın akıcılığı yavaş yani viskozitesi yüksek olur. Balın akıcılığının yavaş veya hızlı olması içerisindeki su miktarıyla yakından ilgili olup bu husus bal üreticileri ve bal satıcıları için pratikte büyük önem taşımaktadır.

II.4.3.5. Balın Kıvamı

Balın kıvamını nektarın alındığı bitki çeşidi etkilemektedir. Balın duru veya bulanık olması; içindeki hava kabarcıkları, su oranı ve kolloid maddelerin fazla veya az olmasına bağlıdır. Bala uygulanan işlemler sırasında hava kabarcıkları fazla olursa bal daha berrak olur. Sıcak bölgelerde ve hafif kumlu topraklarda yetişen bitkiler koyu kıvamında bal meydana getirirken, yayla ve dağlık bölgedeki çiçeklerden yapılan ballar daha akıcı olup lezzet ve aroma bakımından da üstündürler.

II. 4. 3. 6. Özgül Ağırlığı

Balın özgül ağırlığı içerisindeki su miktarı ve sıcaklığı göre değişmektedir. 20 °C sıcaklıkta balın özgül ağırlığı 1,4225 mg/ L bulunmuştur.

II. 4. 3. 7. Kırılma İndisi

Kırılma indisi refraktometre ile ölçülür. Ölçüm esnasında sıcaklık önemli rol oynadığından bu analiz 20°C de yapılır. Balın bu özelliğinden faydalanılarak pratikte el refraktometreleri kullanmak suretiyle içerisindeki su miktarı tayin edilmektedir.

II. 4. 3. 8. Higroskopik Özelliği

Bal higroskopik bir madde olup havadan nem alma özelliğine sahiptir. Balın havadan rutubet alması onun özel yapısına, şeker muhteviyatına ve içerisindeki rutubet yani su miktarına bağlıdır. Havada % 58 rutubet olduğu zaman balda su miktarı % 17,4 civarında olmaktadır. Havanın rutubeti % 58’ in altında olursa bal su miktarından biraz kaybeder, fazla olursa havadan rutubeti çeker ve böylece içerisindeki su miktarı yükselmiş olur.

II. 4. 3. 9. Balın Işığı Döndürmesi

Balın polarize ışığı çevirme yönü ve miktarı bal çeşitlerine göre değişmektedir. Çiçek balları polarize ışığı sola, salgı balları ise sağa çevirdiğinden bu özellikten faydalanarak balın salgı balı olup olmadığı anlaşılabilmektedir. Normal ve olgunlaşmış baldan hazırlanan taze solüsyonlar polarize ışığı sola çevirirken, sakkarozu fazla yani olgunlaşmamış veya tağşiş edilmiş ballar ile dekstrince zengin olan bal özü ise polarize ışığı sağa çevirirler.

II.4.3.10. Balın Kristalizasyonu

Türk Standartları 3036 (TS. 3036) ’ ya göre kristalizasyon “içindeki dekstrozun tanecikler haline gelmesi sonucu balın akıcılığını az veya çok kaybetmesi olayı” olarak tanımlanmakta ve balın bir özelliği olarak belirtilmektedir. Balların büyük bir kısmı kristallenmeye eğilimlidir. Bu eğilim, balın içerdiği su, dekstroz ve levüloz şekerleri oranlarına ve sıcaklığa bağlı olarak değişebilmektedir. Kristalizasyon üzerinde balın elde edildiği bitki kaynakları da etkili olmaktadır. Özellikle “hindiba” gibi bal çeşitlerinde 68°C’ de 1 dakika veya 54 °C’ de 3 saat süresince işleme tabi tutulduklarında içerisindeki mayalar tahrip olmakta ve ekşime önlenmektedir. Isıtma çoğu zaman 60-65 °C’ de yapılmaktadır. Isıtma işleminin sonunda bal kısa süre içerisinde soğutulmalıdır.

II. 4. 4. Balın Kimyasal Özellikleri

Genel olarak balların toplandığı değişik bitki kaynaklarına göre farklı aroma, tat, renk, yoğunluk ve kristalizeye sahip oldukları tespit edilmiştir. Aynı şekilde ballarda akıcılık, kimyasal bileşim, şekerler, rutubet, enzimler, vitaminler, asitler, kolloidal maddeler ve bileşimi bilinmeyen maddeler bakımından değişik olduklarını bildirmişlerdir. Aynı bitki kaynağından toplanmış olsa dahi bir birinin tamamen aynı iki bal numunesi göstermek güçtür.

II. 4. 4. 1. Balda Rutubet Miktarı

Bal esas itibarı ile şekerli bir sıvı olup özgül ağırlığı ve diğer birçok özellikleri içerisindeki su miktarına bağlıdır. Bal içerisindeki su miktarını bitki kaynağı, ısı rutubet ve arıcının balı süzme ve pazarlama esnasında kullandığı metod tayin eder. Eğer bal tam olgunlaşmadan alınırsa içerisindeki su miktarı yükselir fakat birim hacmindeki ağırlığı azalır.

II. 4. 4. 2. Bal İçerisindeki Karbonhidratlar

Bal karbonhidratlı bir madde olup katı maddesinin % 95- 99,9' unu şekerler teşkil etmektedir. Balda en fazla fruktoz ve glukoz bulunmakta ve bala tadını veren bu iki monosakkaritin (basit şekerin) bitki özsularında fazla miktarda bulunan sakkarozun invertaz enzimi ile inversiyona uğraması sonucu meydana geldiği bilinmektedir. Balın tatlılık, nem kapma, enerji değeri ve diğer fiziksel özellikleri bu iki şekerden ileri gelmektedir. Genelde bütün ballarda fruktoz miktarı fazla iken Kolza (*Brassic napus*) ve Karahindiba çiçeği (*Taraxacum officinale*) gibi bazı bitkilerden elde edilen ballarda glukoz oranı daha yüksek olmaktadır. Geri kalan karbonhidratların büyük kısmını iki veya daha fazla fruktoz ve glukoz molekülünden oluşan oligosakkaritler ve az miktarda polisakkaritler oluşturmaktadır. Yapılan pek çok analizlerin ortalaması olarak çiçek balında % 70- 80 invert şeker, eser miktardan % 5' e kadar varan oranlarda sakkaroz, % 7,3 indirgen disakkaritler (maltoz, izomaltoz ve diğerleri) ve % 1,5 oranında dekstrin bulunmaktadır. Salgı balı ise çiçek balına göre daha düşük invert şeker (% 60- 70) ve daha yüksek oranda sakkaroz (% 5- 10) ihtiva ederken, indirgen disakkarit ve dekstrin miktarları ise çiçek balı ile yaklaşık aynı orandadır. Çeşitli araştırmalara göre balda sakkaroz, maltoz, izomaltoz, nigeroz, turanoz, kojibiyoz, melibiyoz, laktoz, galaktobiyoz, gibi disakkaritler; rafinoz, melezitoz gibi oligosakkaritler bulunmaktadır. Yüksek sakkaroz miktarı (% 8 ve üzerinde) arıların fazla şekerle beslenmesi ile ilgilidir. Bunun sonucunda, mat renkli tanımlanamayan bir tatta ve kokuda bal oluşur. Sakkaroz miktarının belli bir limitte tutulmasının ana amacı, arıların şekerle beslenmesi ile bal üretiminden vazgeçirmek veya sonradan balın direkt olarak sakkaroz ile karıştırılmasını önlemektir. Sakkarozun baldaki miktarı, balın olgunlaşma derecesine ve nektarın bileşimine göre değişirken, çok erken hasat edilen olgunlaşmamış ballar fazla miktarda sakkaroz ihtiva ederler.

II. 4. 4. 3. Bal İçerisindeki Enzimler

Bal enzimler bakımından oldukça zengindir. Başlıca bilinen bal enzimleri amilaz (diastaz), invertaz(sakkaraz), katalaz, fosfataz ve ayrıca askorbik asit ile glukozu yükseltgeyen glukosazidaz enzimleridir. Enzimlerin bir kısmı nektardan ve yaprak bitlerinin yaprak üstünde bıraktıkları salgıdan, büyük bir kısmı ise arıların tükürük bezi salgılarından meydana gelmektedir. Baldaki amilazlar, alfa amilaz ve beta amilaz olmak üzere iki gruba ayrılır. α -amilaz nişastaya etki ederek α -1,4 glukozit bağlarını parçalar, dekstrin ve çok az miktarda maltoz oluşur. Uzun süreli etkiye sonunda dekstrin maltoza ve izomaltoza parçalanır. β -amilaz ise polisakkaritlerin indirgen olmayan ucundan her defasında bir maltoz birimini oluşturmak üzere α -1,4 glukozit bağlarını hidrolizler. α -amilazın en uygun pH' ı 22-30 °C' de pH: 5 ve 45-50 °C' de pH: 5.3 olarak belirlenmiştir. β -amilazın en uygun pH' ı ise söz konusu sıcaklıklarda pH: 5,3 bulunmuştur. Buna göre bal diastazının en uygun pH' ın 5,3 olarak kabul edilmiştir. Yapılan araştırmalarda bal amilazının kaynağının arı olduğu tespit edilmiştir. İvertaz (Sakkaraz) enzimi, nektarın bala dönüşmesindeki kimyasal değişikliklerin çoğundan sorumlu olup, nektardaki sakkarozun fruktoz ve glukozu çevrilmesini sağlamaktadır. İvertazın, fruktoinvertaz ve glukoinvertaz olmak üzere iki genel tipi vardır. Bunlar değişik aktiviteye sahiptirler. Önemli bal enzimlerinden olan glukozoksidaz, glukoz üzerine etki ederek hidrojen peroksit ve glukonolaktan oluşturmaktadır. Balın antibakteriyel etkisi de oluşan hidrojen peroksitten kaynaklanmaktadır. Burada meydana gelen asit bal için koruyucu görev yaparken yine balda bulunan katalaz enzimi de hidrojen peroksidi oksijenli suya dönüştürmektedir. Isı, invertaz ve amilazın aktivitelerini olumsuz yönde etkilemektedir. Isı ile bu enzimlerin etkinlikleri azalırken, hidroksimetil furfural (HMF) içeriği artmaktadır. Enzim etkinliği taze, saf ballarda bile oldukça geniş sınırlar içinde değişiklikler göstermektedir. Gıda maddeleri tüzüğüne göre amilaz sayısı (diastaz sayısı) 8'den az olmakla birlikte 40 °C' de 1 saatte 1 gram baldaki enzim tarafından hidrolize edilebilen % 1' lik nişasta çözeltisinin mililitresi olarak tanımlanmaktadır

II. 4. 4. 4. Bal İçerisindeki Asitler

Balda en fazla bulunan asit bileşeni glukozoksidaz enziminin faaliyeti sonucu meydana gelen glukonik asittir. Diğer asitlerin kaynağı pek bilinmemektedir. Balın

asitliği mikroorganizmalara karşı kararlılığını arttırırken, arılar bala formik asit ilave ederek balın olgunlaşmasına yardım ederler. Balın dūřuk pH değerinden sorumlu olan asit miktarının, bal gōzleri sırlanmadan ōnce arıların iğnesinden bu gōzlere enjekte ettikleri formik asitten ileri geldiği bildirilmiştir. Ballar genelde asidik reaksiyon gōsterip, pH: 3,5-5,5 arasındadır. Balda yōksek asit değerinin tespit edilmesi, zamanla fermentasyona uğradığını, sonuğa alkolōn bakteriyel etkilerle asetik aside dōnūřtōđōnō gōstermektedir. Bal iğerisinde asetik, bōtirik, sitrik, formik, laktik, malik, sōksinik, glukonik, oksalik, kaprik, tannik, tartarik ve valerik asitler bulunmaktadır. glukonik asit harič balda bulunan diğer asitlerin kaynağı kesin olarak bilinmemektedir. Balın asitlik derecesi, malik asit cinsinden hesaplanmış, genellikle %0,1-0,4 arasında değiştiği gōrōlmūřtur. Asitliđi % 0,4'ten fazla olan ballar řūpheli ve sakıncalı olarak belirtilmiştir.

II. 4. 4. 5. Bal İçerisindeki Proteinler

Azotlu maddeler, çiçek ballarında yaklaşık olarak % 0,3, salgı ballarında ise % 1 civarındadır. Çiçek ballarında azotlu maddelerin yōksek ıkması, salgı balı ile karıştırıldığını gōstermektedir. Balda proteinlerin belirlenmesi, doğal veya yapay olup olmadığı açısından ve beslenme yōnunden ōnem taşımaktadır. Balda yaklaşık olarak 15 aminoasit saptanmıştır. Tirosin ve triptofan koyu renkli ballarda bulunurken, açık renkli ballarda tespit edilmemiştir. Ballarda miktar yōnunden sırası ile en fazla prolin, lizin ve glutamik asit olduğu bildirilmiştir. Bunları histidin, arjinin, treonin, serin, glisin, valin, metionin, lōsin, alanin, fenilalanin izlemektedir

II. 4. 4. 6. Bal İçerisindeki Vitaminler

Eskiden bal iđerisinde vitamin olmadıđı veya çok az bulunduđu dūřūncesi hakim iken son yıllarda yapılan kimyasal ve biyolojik arařtırmalar sonucunda balda çeřitli vitaminlerin bulunduđu tespit edilmiřtir. Balda A vitamini bulunmazken, B grubu vitaminler (B1, B4) ile C, E ve K vitaminleri bulunmaktadır. Ballarda çeřitli miktarlarda olmak ūzere tiamin, riboflavin, askorbik asit, niasin, biyotin ve folik asit belirlenmiřtir. Yapılan arařtırmalarda balda B1 vitaminini eser miktarda, B2 vitaminini 0,4 mg. kg⁻¹ , C vitamini ise 10 mg. kg⁻¹ dōzeyinde bulunmuřtur.

II. 4. 4. 7. Bal İçerisindeki Mineral Maddeler

Bal içerisindeki mineral maddelerin miktarı % 0,17 civarında olmakla beraber % 0,02 ile % 1,0 kadar değişiklik göstermektedir. Bal içerisinde potasyum, klor, kükürt, kalsiyum, sodyum, fosfor, magnezyum, silisyum, demir, mangan ve bakır mineralleri bulunur. [26,27]

BÖLÜM III

TEZ ÇALIŞMALARI

III.1.ARAŞTIRMA ARAÇLARI

III.1.1. Kullanılan Cihazlar

GC- MS: Bu tezde bulunan GC-MS Agilent GC 6890 ve Agilent MS 5973 ile alınmıştır.

Preparatif HPLC: Agilent 1100/ UV-Visible detektörü bulunan ve kolon olarak Zorbax-Rx-SIL (4.6 mm × 150 mm, 5 µm) takılmış Preparatif HPLC kullanılmıştır.

Girdaplı karıştırıcı: Yapılan çalışmalardaki homojenizasyon işlemi girdaplı karıştırıcı ile yapılmıştır.

Santrifüj Cihazı: Yapılan çalışmalardaki santrifüj çalışmaları Elektromag M 615 M santrifüj cihazı ile yapılmıştır.

Etüv: Yapılan çalışmalardaki sabit sıcaklık çalışmaları için Binder ED115 model ve Elektromag M6040P model etüvler kullanılmıştır.

Mikropipet: Yapılan çalışmalardaki ekstarksiyon işlemlerinde Brand marka 1000 µL hassasiyetli mikropipet kullanılmıştır.

Buzdolabı: Yapılan çalışmalardaki hazırlanmış olan ekstraktların ve stok çözeltilerin saklanması için Ariston marka buzdolabı kullanılmıştır.

Terazi: Yapılan çalışmalardaki alınan tartımlar için Mettler Toledo (en fazla 410 gram, hassasiyet 0,0001 gram) marka terazi kullanılmıştır.

III.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmalarımızda kullanılan kimyasal maddeler Tablo III.1' de verilmiştir.

Tablo. III.1. Kimyasal Madde ve Katalog Numaraları

Kimyasal Madde	Katalog Numarası
Indoxacarb	Sigma- Aldrich 33969
Diklormetan	Merck 106054
Etil asetat	Merck 110972
Kloroform	Merck 102432
Asetonitril	Merck 100017
Aseton	Merck 100012
Metanol	Merck 106011

III.1.3. Kullanılan Çözeltiler

Indoxacarb Çözeltisi (5000 ppm (mg/L)): 0.050 gram Indoxacarb bir miktar asetonda çözüldükten sonra 10 mL' lik balonjojede son hacme aseton ile tamamlanmıştır.

Indoxacarb Çözeltisi (2000 ppm (mg/L)): 0.020 gram Indoxacarb bir miktar asetonda çözüldükten sonra 10 mL' lik balonjojede son hacme aseton ile tamamlanmıştır.

Indoxacarb çözeltisi (100 ppm (mg/L)): 0.0050 gram Indoxacarb bir miktar asetonda çözüldükten sonra 50 mL' lik bir balonjojede son hacme aseton ile tamamlanmıştır.

Indoxacarb çözeltisi (20 ppm (mg/L)): 5000 ppm' lik Indoxacarb çözeltisinden 0.1 mL alındı. 25 mL' lik bir balonjoje içinde son hacme aseton ile tamamlanmıştır.

III.2. YAPILAN DENEYLER

III.2.1. GC- MS ile Yapılan Kromatografik Çalışma

Asetonitril içinde hazırlanmış 100 ppm konsantrasyonundaki Indoxacarb çözeltisinden uygun hacimde alınmış ve son konsantrasyonu 20 ppm olacak şekilde yaklaşık 50 gram bal örneğine ilave edilmiştir. Kromatogramdaki piklerin simetrik olması, kuyruklanma yapmamış olması gibi kromatografik olarak kabul edilebilir pik karakteristiklerine ulaşılması esas alınmış olan bu çalışmada farklı enjeksiyon sıcaklıkları, farklı enjeksiyon hacimleri gibi değişkenler incelenmiştir. Geliştirilen yöntem için en uygun analiz koşulları aşağıda maddeler halinde verilmiştir

- Kolon: HP-5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
- Hareketli faz: 1mL/ dakika akış hızında Helyum gazı
- Enjeksiyon sıcaklığı 300°C
- Kolon başlangıç sıcaklığı 70°C
- Kolon son sıcaklığı: 300 °C
- İyonizasyon enerjisi 70 eV
- Enjeksiyon hacmi: 2 µL

Bu şartlar altında elde edilen kromatogram ve spektrum Şekil IV.6' da verilmiştir.

III.2.2. Indoxacarb Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması

Asetonitrilde çözümlenerek hazırlanmış olan 100 ppm' lik Indoxacarb çözeltisinden alınan uygun hacimlerle sırasıyla 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 ppm olacak şekilde yine asetonitril kullanarak son hacme tamamlanacak şekilde hazırlanan standart çözeltiler ile 9 farklı konsantrasyon düzeyinde 3 tekrar ölçüm yapılarak elde edilen kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. İlgili grafik Şekil IV.1' de verilmiştir.

III.2.3. Bal İle Yapılan Çalışmalar

III.2.3.1. Sıvı- Sıvı Ekstraksiyon Yöntemi İçin Çözücü Seçimi

Baldan Indoxacarb ekstraksiyonu amacıyla diklormetan, etil asetat: kloroform (80:20) (h/h), kloroform ve asetonitril çözücüleri kullanılarak en yüksek geri kazanım oranını ve en az karışık kromatogramı sağlayan çözücü veya çözücü karışımı belirlenmiştir.

Ekstraksiyon işleminden önce 10 mL' lik konik tipli santrifüj tüplerine 1 ppm düzeyinde kirletilmiş bal örneğinden yaklaşık 1' er gramlık ayrı ayrı tartımlar alınmıştır. Bu bal örnekleri 1 mL saf su ilavesinden sonra girdaplı karıştırıcı yardımıyla homojenize edilmiştir. İşlem tamamlandıktan sonra her bir organik çözücü için 3 ayrı tüpte olacak şekilde ayrı ayrı 2' şer mL diklormetan, kloroform, etil asetat: kloroform (80:20) (h/h) ve asetonitril içeren setler hazırlanmıştır. Bu tüpler santrifüj cihazında dakikada 2000 devir hızında 10 dakika süreyle tutulduktan sonra organik fazlar mikropipet yardımıyla ayrı kaplara aktarılmıştır. Aynı işlem bir defa daha tekrarlanmış ve organik fazlar birleştirilip buharlaştırıldıktan sonra 1 mL

asetonitrilde çözülerek GC- MS analizi için hazır hale getirilmiştir. Bu çözücüler ile elde edilen sonuçlar Şekil IV.2, Şekil IV.3, Şekil IV.4, Şekil IV.5' te, geri kazanım yüzdeleri Tablo IV.1' de verilmiştir. En iyi geri kazanım yüzdesini $\% 78.7 \pm 5.5$ ile diklormetan çözücüsü vermiş olup çalışmanın devam eden aşamalarında bu çözücü kullanılmıştır.

III.2.3.2. Zamana Bağlı Olarak Farklı Bal Örneklerinde Indoxacarb Miktarının Belirlenmesi İçin Yapılan Çalışma

İstanbul Arı Yetiştiricileri Birliği' nden temin edilen kestane, çam ve ayçiçeği balları ile marketten temin edilen çiçek balı kullanılarak yapılan bu çalışmada 3 farklı sıcaklıkta, oda sıcaklığı, 30°C , 40°C ' de tutulmak üzere 100' er gram bal örnekleri alınmış ve üzerine aseton içinde hazırlanmış 2000 ppm' lik Indoxacarb çözeltisinden 1'er mL katılmıştır. Homojenizasyon sağlanması için mekanik olarak uygun bir hızda karıştırılan bal örneklerinde son Indoxacarb konsantrasyonunun 20 ppm (mg/ kg) olması sağlanmıştır. Bu ballardan belirli zamanlarda yaklaşık 1' er gramlık tartımlar alınarak 1 mL saf su ile girdaplı karıştırıcı yardımıyla homojenizasyon işlemi yapılmıştır. Bunu takiben 2 defa 2'şer mL diklormetan ile dakikada 2000 devir hızıyla dönen santrifuj cihazında santrifüjlenmiş ve ele geçen organik fazlar birleştirilmiştir. Organik faz uzaklaştırıldıktan sonra 1 mL asetonitril ile çözülerek GC- MS cihazında analiz yapılmıştır. Benzer şekilde Indoxacarb içermeyen bal örneği şahit olarak kullanılmış ve her sıcaklık değeri için aynı şekilde ekstraksiyon yapılmıştır.

Analiz sonucunda bulunan Indoxacarb miktarları ile örnekleme yapılma zamanları Tablo IV.2, Tablo IV.3, Tablo IV.4, Tablo IV.5' te verilmiştir. Bu değerlerin grafik halinde gösterilmiş hali Şekil IV.4, Şekil IV.5, Şekil IV.6, Şekil IV.7, Şekil IV.8, Şekil IV.9' da verilmiştir.

III.2.3.3. Bal Ortamındaki Indoxacarb Bozunma Ürününün Belirlenmesi

5. ayda GC- MS kromatogramında farklı bir pik gözlenmiştir. Şekil IV.10' da verilen bu pik için cihaza ait yazılım programındaki kütüphaneler aracılığı ile tarama yapılmıştır. Tarama sonucu elde edilen sonuçta bu madde için 4-(triflorometoksi) fenil izosiyanat bulunmuştur. İlgili sonuç Tablo IV.6' da verilmiştir.

FT- IR spektrumu alınarak yapının doğrulanması amacıyla UV–Visible detektöre sahip, Zorbax-Rx-SIL (4.6 mm × 150 mm, 5 µm) kolonlu Agilent 1100 serisi preparatif HPLC cihazıyla Metanol: Saf Su (95:5) (h/h)), hareketli fazının 0.5 mL/ dakika akış hızında preparatif olarak maddenin ayrılması için çalışılmış ve elde edilen FT- IR spektrumu Şekil IV.11’ de verilmiştir.

III.2.4. Metod Validasyonu

Metodun validasyonu doğrusal aralık, geri kazanım, tespit, tayin sınırları çalışmaları ile yapıldı. Hesaplamalar Eurachem’in analitik metodların validasyonu rehberinden alınmıştır.

III.2.4.1. Geri Kazanım

Geri kazanım çalışması için bal örnekleri Indoxacarb ile 1,0 mg. kg⁻¹ düzeyinde kirletildi. Her konsantrasyonda 6 kez çalışıldı. %95 güven aralığı esas alınarak Student- t testi uygulanması sonucunda elde edilen değerler Tablo IV.2’ e gösterilmiştir.

$$\text{Geri Kazanım (\%)} = \frac{\text{Bulunan miktar}}{\text{Eklenen miktar}} \times 100$$

III.2.4.2. Tespit ve Tayin Sınırları

Tespit ve tayin sınırlarının hesaplanması için 0.1 ppm Indoxacarb içeren bal örnekleri ile çalışılmıştır (n= 6). 1 g bal örneği ekstrakte edildikten sonra 1 mL hareketli faz içinde çözülmüştür.

$$\text{Tespit sınırı (LOD)} = 3 \times \text{sd}$$

$$\text{Tayin sınırı (LOQ)} = 10 \times \text{sd}$$

sd: 0.1 ppm Indoxacarb içeren bal örneklerinin standart sapması.

Tespit Sınırı: 0.03 mg. kg⁻¹ ve Tayin Sınırı: 0.11 mg. kg⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

BÖLÜM IV

SONUÇLAR

Yapılan çalışmalar için uygulanan işlemler ve elde edilen sonuçlar maddeler halinde özetlenmiştir:

- Öncelikle organik çözücü içerisinde hazırlanmış olan Indoxacarb örneklerinin GC-MS ile en uygun analiz şartlarının ne şekilde olacağı araştırılmıştır.
- HP-5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) kolonu ve hareketli faz olarak 1mL/ dakika akış hızında Helyum gazı kullanılmıştır. Enjeksiyon sıcaklığı 300°C, kolon başlangıç sıcaklığı ve son sıcaklığı sırasıyla 70 °C ve 300 °C, iyonizasyon enerjisi 70 eV ve enjeksiyon hacmi 2 μ L en uygun GC-MS şartları olarak tespit edilmiştir. Buna karar verirken simetrik pik elde edilmesi, piklerin kuyruklanma yapmaması gibi kromatografik olarak kabul edilebilir pik karakteristiklerine ulaşılması esas alınmıştır.
- GC-MS şartları oluşturulduktan sonra bal örneklerinden Indoxacarb ekstraksiyonu için organik çözücünün seçilmesi işlemi yapılmıştır.
- En iyi geri kazanım yüzdesini, %78.7 $\pm$ 5.5, veren diklormetan çalışmamızın ilerleyen aşamalarında ekstraksiyon için kullanılmıştır. (%95 güven aralığı, n=6)
- Indoxacarb analizi için kalibrasyon grafiği oluşturulması için 9 farklı konsantrasyonda hazırlanmış olan Indoxacarb çözeltilerinden (0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0 ve 20,0 ppm) 3 ayrı tekrar yapılmak suretiyle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur.
- Geliştirdiğimiz yöntemin tespit ve tayin sınırları belirlenmiştir. Bu amaçla 0.1 ppm Indoxacarb içeren 6 tane bal örneği için ekstraksiyon yöntemi aynı şekilde uygulanmış, sonuçların ortalama değerleri ve standart sapma değerleri hesap edilmiştir. Bu değerler kullanılarak yöntemin tespit sınırı ve tayin sınırı sırasıyla 0.03 mg. kg⁻¹ ve 0.11 mg. kg⁻¹ olarak belirlenmiştir.

- Bal ortamı çalışmaları için marketten alınmış çiçek balı ve İstanbul Arı Yetiştiricileri Birliği' den temin edilmiş olan kestane, çam ve ayçiçeği balları kullanılmıştır.
- Bu bal örnekleri Indoxacarb ile 20 mg. kg⁻¹ düzeyinde kirletildikten sonra her bir bal örneği oda sıcaklığı, 30°C ve 40 °C' de bekletilmiştir.
- Indoxacarb ile kirletilmiş olan bal örneklerinden belirli zaman aralıklarıyla diklormetan ile ekstraksiyonlar yapılmış ve Indoxacarb miktarındaki değişimler incelenmiştir.
- 8. ay sonunda çiçek balı örneğinde oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C sıcaklıklarında Indoxacarb miktarının sırasıyla 18,54 mg. kg⁻¹ değerinden 7,23mg. kg⁻¹ değerine; 17,55 mg. kg⁻¹ değerinden 7,44 mg. kg⁻¹ değerine; 19,88 mg. kg⁻¹ değerinden 7,71 mg. kg⁻¹ değerine her bir sıcaklık değerinde yaklaşık % 60 oranında azaldığı görülmüştür.
- 8. ay sonunda kestane balı örneğinde oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C sıcaklıklarında Indoxacarb miktarının sırasıyla 18,56 mg. kg⁻¹ değerinden 7,01 mg. kg⁻¹ değerine; 19,43 mg. kg⁻¹ değerinden 6,89 mg. kg⁻¹ değerine; 18,54 mg. kg⁻¹ değerinden 7,88 mg. kg⁻¹ değerine her bir sıcaklık değerinde yaklaşık % 60 oranında azaldığı görülmüştür.
- 8. ay sonunda çam balı örneğinde oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C sıcaklıklarında Indoxacarb miktarının sırasıyla 18,16 mg. kg⁻¹ değerinden 7,23 mg. kg⁻¹ değerine; 21,62 mg. kg⁻¹ değerinden 7,77 mg. kg⁻¹ değerine; 20,76 mg. kg⁻¹ değerinden 6,79 mg. kg⁻¹ değerine her bir sıcaklık değerinde yaklaşık % 60 oranında azaldığı görülmüştür.
- 8. ay sonunda ayçiçeği balı örneğinde oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C sıcaklıklarında Indoxacarb miktarının sırasıyla 18,73 mg. kg⁻¹ değerinden 7,22 mg. kg⁻¹ değerine; 20,92 mg. kg⁻¹ değerinden 6,92 mg. kg⁻¹ değerine; 19,08 mg. kg⁻¹ değerinden 6,76 mg. kg⁻¹ değerine her bir sıcaklık değerinde yaklaşık % 60 oranında azaldığı görülmüştür.

- 5.ayda GC kromatogramında görülen pik Indoxacarb' ın bal ortamında bozulduğuna işaret etmiştir. Kütle spektrumu Wiley ve NIST kütüphane taramaları bu madde için 4- (triflorometoksi) fenil izosiyanat adlı maddeyi tanımlamıştır.
- UV– Visible detektöre sahip, Zorbax-Rx-SIL (4.6 mm× 150 mm, 5 µm) kolonlu Agilent 1100 serisi preparatif HPLC cihazıyla Metanol: Saf Su (95:5) (h/ h), hareketli fazının 0.5 mL/ dakika akış hızında ayrılan ekstraktan ele geçen maddenin FT-IR spektrumu alınmıştır.
- FT-IR spektrumunda; N=C=O grubunun asimetrik gerilmesini gösteren 2267cm⁻¹' deki ve 1454 cm⁻¹' de simetrik gerilmesini gösteren pik; 1,4- disubstitue benzen halkasını gösteren 813 cm⁻¹ ve 848 cm⁻¹' de görülen bandlar; 1527 cm⁻¹ benzen halkasındaki C=C gerilmesini, 1164 cm⁻¹'deki C–F bağıını gösteren pik; aromatik halkaya bağlı eterik grubu (C–O–C) gösteren 1211 cm⁻¹ ve 1261 cm⁻¹' de görülen pikler ile O–CF₃ bağıının varlığını gösteren 1100 cm⁻¹ pik bu maddenin 4-(triflorometoksi)fenil izosiyanat' a ait olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalara ait olan detaylı sonuçlar aşağıda anlatılmıştır.

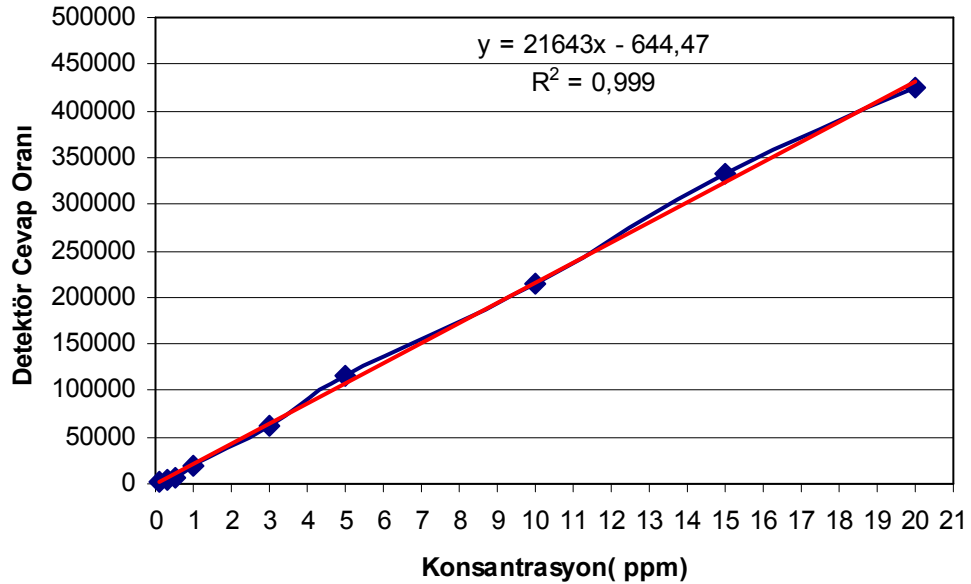
IV.1. GC- MS İLE YAPILAN KROMATOĞRAFİK ÇALIŞMALAR

Organik çözücü içerisinde hazırlanmış olan Indoxacarb örneklerinin GC-MS ile en uygun analiz şartlarının ne şekilde olacağı araştırılmıştır. Buna karar verirken kromatografik olarak kabul edilebilir pik karakteristiklerine ulaşılması esas alınmıştır. HP-5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) kolonu ve hareketli faz olarak 1 mL/ dakika akış hızında Helyum gazı kullanılmıştır. Enjeksiyon sıcaklığı 300 °C, kolon başlangıç sıcaklığı 70 °C, kolon son sıcaklığı 300 °C, iyonizasyon enerjisi 70 eV ve enjeksiyon hacmi 2 µL en uygun GC-MS şartları olarak tespit edilmiştir.

En uygun GC- MS şartları belirlendikten sonra kalibrasyon grafiği hazırlanması aşamasına geçilmiştir. Asetonitrilde çözülerek hazırlanmış olan Indoxacarb çözeltisinden (100 ppm) uygun hacimler alınarak sırasıyla 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 ppm olacak şekilde standart çözeltiler hazırlanmıştır. Standart çözeltiler son hacime tamamlanırken asetonitril kullanılmıştır. 9 farklı

konsantrasyon düzeyinde 3 tekrar ölçüm yapılarak elde edilen kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur ve bu grafiğe ait r^2 regresyon katsayısı: 0,9958 olarak bulunmuştur.

Tespit ve tayin sınırlarının hesaplanması için 0.1 ppm Indoxacarb içeren 6 farklı bal örneği ile çalışılmıştır. Balan Indoxacarb ekstraksiyonu için yapılan işlemler aynı şekilde bu bal örneklerine de uygulanmıştır. Alınan 1 gram bal örneği 1 mL saf su ile girdaplı karıştırıcıda homojenize edilmiş ve ele geçen çözelti üzerine 2 mL diklormetan ilave edilmiş, tüp içeriği dakikada 2000 defa dönen santifrüz cihazında 10 dakika süreyle tutulduktan sonra organik faz mikropipet yardımıyla alınmıştır. Aynı işlem bir defa daha yapıldıktan sonra organik fazlar birleştirilmiştir. Buharlaştırılan organik faz daha önce belirlenmiş GC-MS şartlarında analizlenmiştir.



Ele geçen sonuçların ortalama değerinin sonuçlara ait standart sapma değerinin 3 katıyla toplanmasıyla tespit sınırı (LOD), sonuçlara ait standart sapma değerinin 6 katıyla toplanmasıyla tayin sınırı (LOQ) belirlenmiştir. Buna göre kullanılan yöntemin Tespit Sınırı: 0.03 mg. kg⁻¹ ve Tayin Sınırı: 0.11 mg. kg⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

Şekil IV.1. Indoxacarb Kalibrasyon Grafiği.

IV.2. BAL İLE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bal ile yapılan çalışmalarda öncelikle ekstraksiyon işleminde kullanılacak en uygun çözücünün seçimi yapılmıştır. Daha sonra bal örnekleri Indoxacarb ile

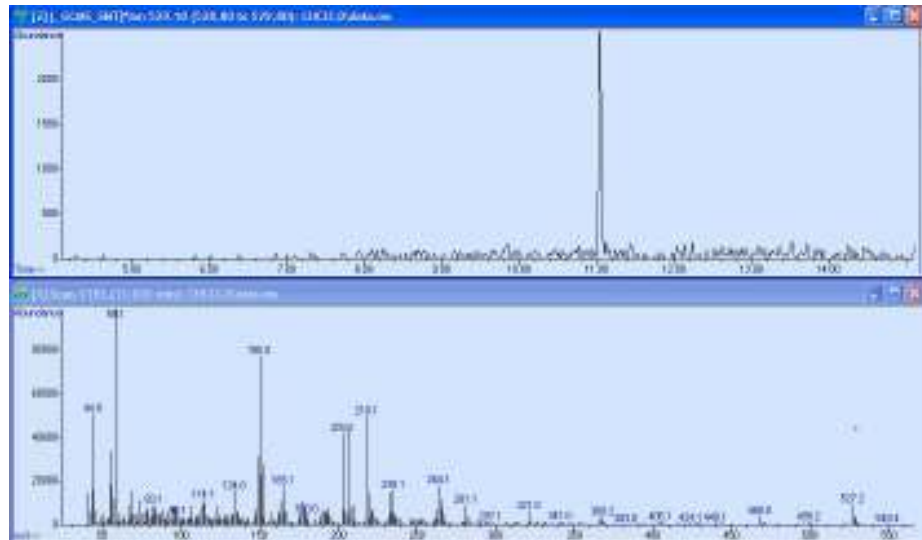
kirletilmiş ve bu ballar oda sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de bekletilmek suretiyle farklı zamanlarda bu çözücü kullanılarak ekstraksiyon işlemi yapılmıştır.

VI.2.1. Sıvı- Sıvı Ekstraksiyon Yöntemi İçin Çözücü Seçimi

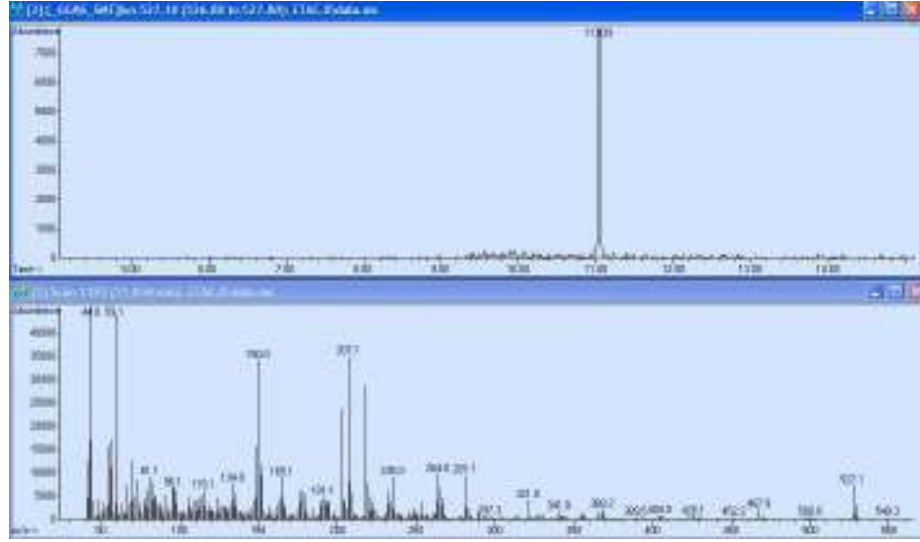
Bu çalışmada 1 ppm düzeyinde Indoxacarb ile kirletilmiş bal örnekleri için farklı çözücülerle sıvı-sıvı ekstraksiyonu çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada ayrı ayrı Indoxacarb ile kirletilmiş bal örnekleriyle çalışılmıştır. Ele geçen ekstraktlar buharlaştırıldıktan sonra HP-5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) kolonu ve hareketli faz olarak 1mL/ dakika akış hızında Helyum gazı kullanılarak; enjeksiyon sıcaklığı 300°C, kolon başlangıç ve son sıcaklığı sırasıyla 70°C ve 300 °C; iyonizasyon enerjisi 70 eV, enjeksiyon hacmi 2 µL olacak şekilde GC- MS cihazında analiz edilmiştir. Sonuçlar geri kazanım değerleri ile kıyaslandığında (Tablo IV.1) Indoxacarb’ ın diklormetan ile ekstraksiyonu yeterli geri kazanımı oranı ve karmaşık olmayan bir kromatogram sağladığından uygun bulunmuştur. Tablo IV.I’ den de görüldüğü gibi en yüksek geri kazanım oranını veren çözücü (%78.7± 5.5) diklormetan olmuştur. Çalışmanın ilerleyen aşamalarındaki bal ortamından Indoxacarb’ ın ekstarksiyonunda diklormetan kullanılmıştır.

Tablo IV.1. Geri Kazanım Yüzdeleri (%95 Güven Aralığı, n=6)

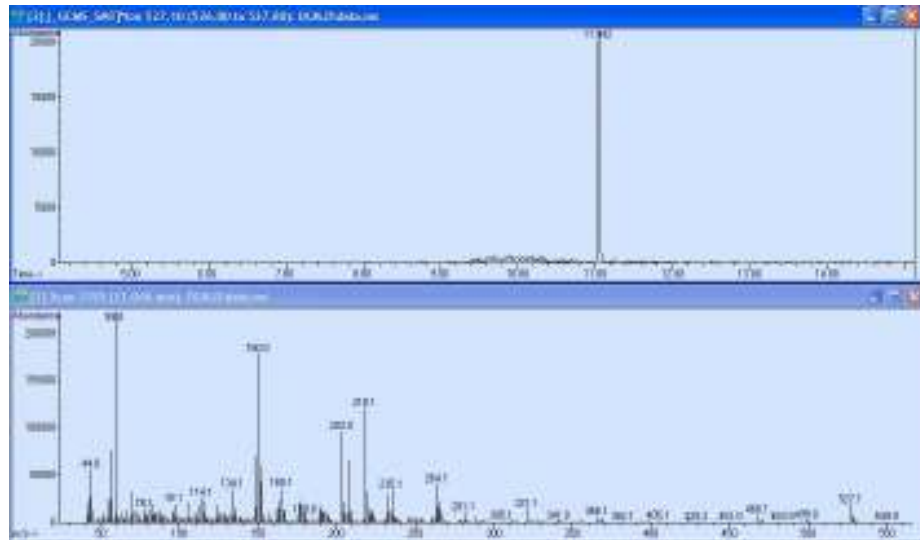
Çözücü	% Geri Kazanım
Etil Asetat: Kloroform (80:20) (h/h)	56,7± 9,2
Kloroform	67,2± 9.4
Asetonitril	-
Diklormetan	78.7± 5.5



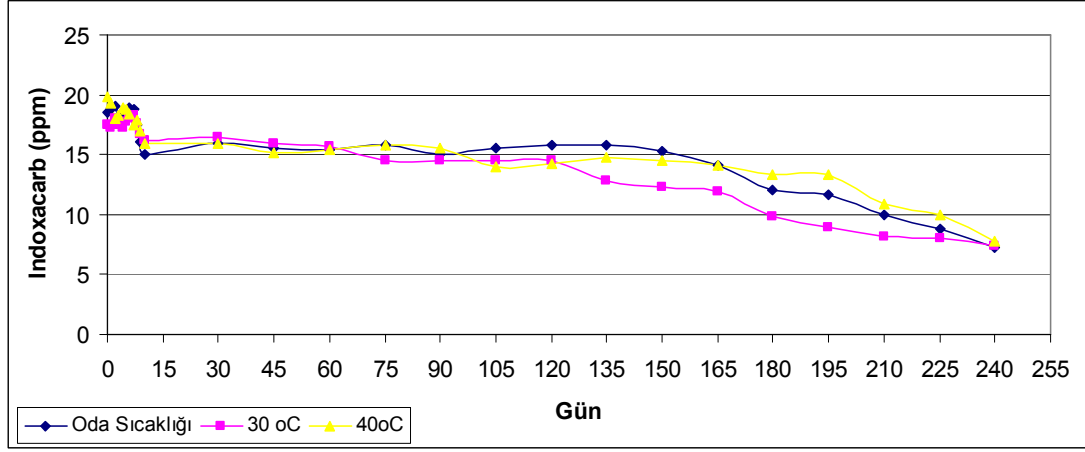
Şekil IV.2. Kloroform İle Yapılan Ekstraksiyon Sonucu Elde Edilen Kromatogram ve Spektrum.



Şekil IV.3. Etil Asetat: Kloroform (80:20) (h/h) İle Yapılan Ekstraksiyon Sonucu Elde Edilen Kromatogram Ve Spektrum.



Şekil IV.4. Diklormetan İle Yapılan Ekstraksiyon Sonucu Elde Edilen Kromatogram Ve Spektrum.

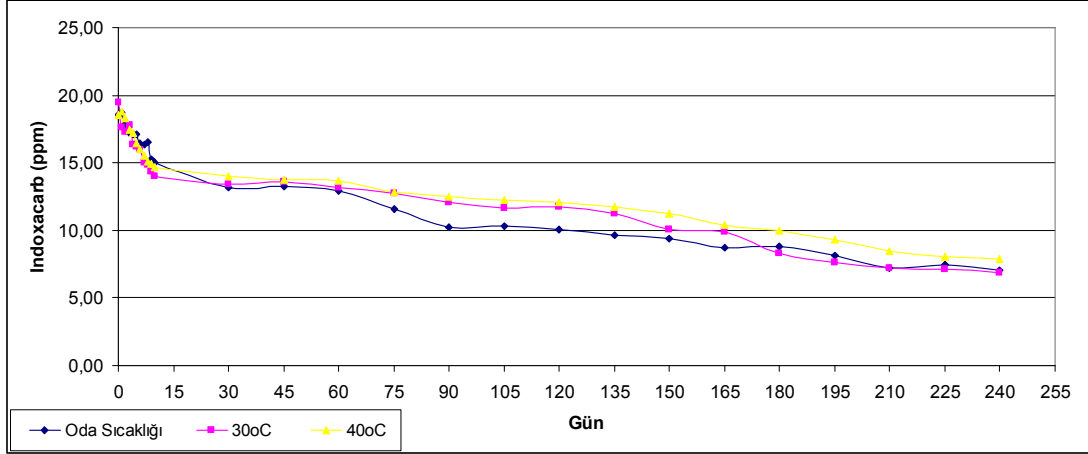


Şekil IV.6. Oda Sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de Bekletilen Çiçek Balına Ait Indoxacarb Değişimi.

Tablo IV.2. Farklı Sıcaklıklarda Bekletilen Çiçek Balı Örneklerindeki Indoxacarb’ın Günlere Bağlı Olarak Değişimi.

	Oda Sıcaklığı	30°C	40°C
	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)
0.gün	18,5	17,6	19,9
1.gün	18,8	17,2	19,3
2.gün	19,0	18,0	18,0
3.gün	18,0	17,5	18,2
4.gün	18,6	17,2	18,9
5.gün	18,2	17,8	18,7
6.gün	18,9	18,0	18,4
7.gün	18,8	18,2	17,5
8.gün	17,4	17,6	17,8
9.gün	16,1	16,7	17,0
10.gün	15,0	16,2	15,9
30.gün	16,0	16,5	15,9
45.gün	15,6	16,0	15,2
60.gün	15,5	15,6	15,4
75.gün	15,8	14,6	15,8
90.gün	15,0	14,6	15,5
105.gün	15,5	14,6	14,0
120.gün	15,8	14,6	14,2
135.gün	15,8	12,9	14,8
150.gün	15,3	10,4	14,6
165.gün			
	14,1	12,0	14,2

180.gün	12,1	9,9	13,3
195.gün	11,7	8,9	13,3
210.gün	10,0	8,2	10,9
225.gün	8,8	8,0	9,9
240.gün	7,2	7,4	7,7

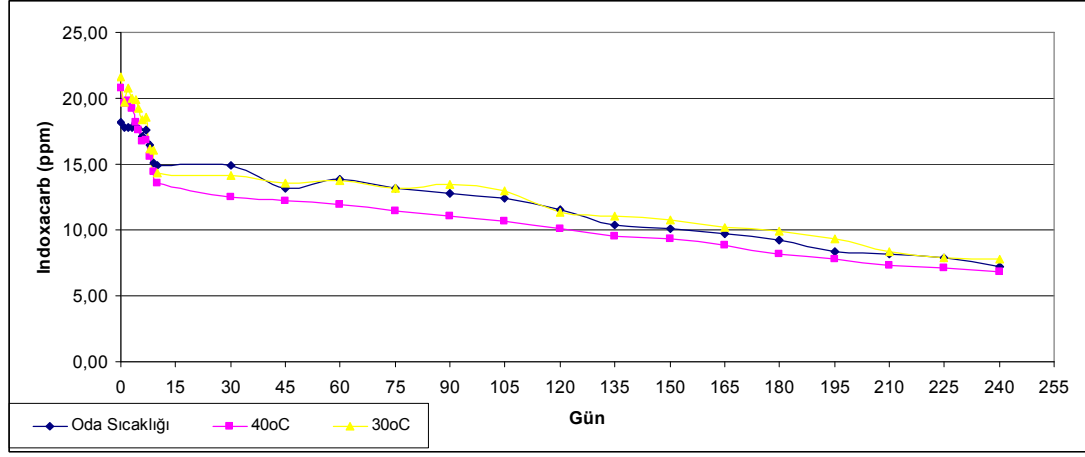


Şekil IV.7. Oda Sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de Bekletilen Kestane Balına Ait Indoxacarb Değişimi.

Tablo IV.3. Farklı Sıcaklıklarda Bekletilen Kestane Balı Örneklerindeki Indoxacarb’ın Günlere Bağlı Olarak Değişimi.

	Oda Sıcaklığı	30°C	40°C
	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)
0.gün	18,6	19,4	18,5
1.gün	18,7	17,7	18,8
2.gün	17,9	17,3	18,3
3.gün	17,2	17,8	17,4
4.gün	17,1	16,3	17,2
5.gün	17,1	16,2	16,4
6.gün	16,5	16,0	16,0
7.gün	16,3	15,0	15,5
8.gün	16,5	14,9	15,1
9.gün	15,3	14,3	14,9
10.gün	15,0	14,0	14,7
30.gün	13,2	13,5	14,0
45.gün	13,2	13,6	13,8
60.gün	13,0	13,2	13,6
75.gün	11,5	12,8	12,9
90.gün	10,2	12,0	12,5
105.gün	10,3	11,7	12,2
120.gün	10,1	11,8	12,1
135.gün	9,7	11,2	11,7
150.gün	9,4	10,1	11,2

165.gün	8,7	9,9	10,4
180.gün	8,8	8,3	10,0
195.gün	8,1	7,7	9,3
210.gün	7,2	7,2	8,5
225.gün	7,4	7,1	8,0
240.gün			

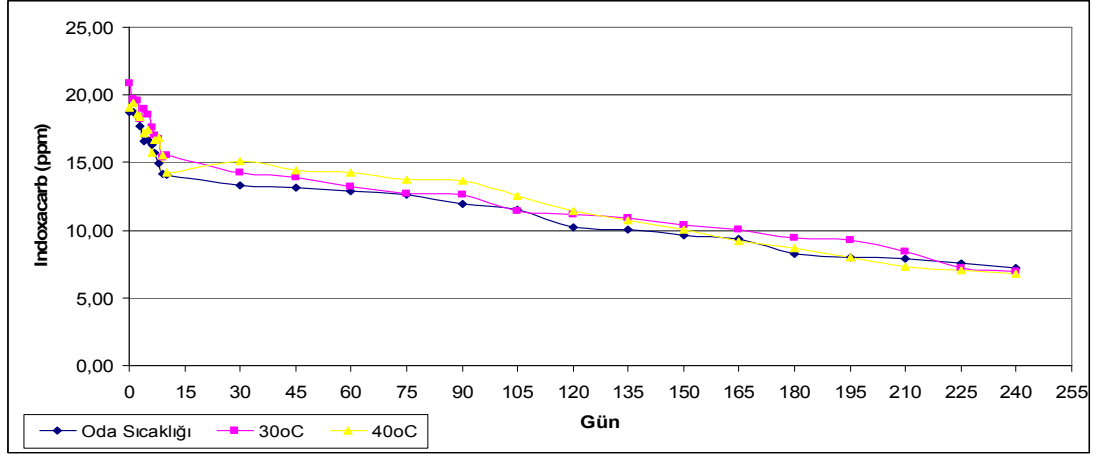


Şekil IV.8. Oda Sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de Bekletilen Çam Balına Ait Indoxacarb Değişimi.

Tablo IV.4. Farklı Sıcaklıklarda Bekletilen Çam Balı Örneklerindeki Indoxacarb’ ın Günlere Bağlı Olarak Değişimi.

	Oda Sıcaklığı	30°C	40°C
	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)
0.gün	18,2	21,6	20,8
1.gün	17,8	19,7	19,6
2.gün	17,8	20,7	19,8
3.gün	17,8	20,0	19,2
4.gün	18,1	19,9	18,2
5.gün	17,7	19,2	17,6
6.gün	17,1	18,3	16,7
7.gün	17,6	18,6	16,8
8.gün	16,5	16,1	15,6
9.gün	15,1	16,1	14,4
10.gün	14,9	14,3	13,5
30.gün	14,9	14,1	12,5
45.gün	13,2	13,5	12,2
60.gün	13,9	13,8	12,0
75.gün	13,2	13,2	11,4
90.gün	12,8	13,4	11,0
105.gün	12,5	13,0	10,7
120.gün	11,6	11,3	10,1
135.gün	10,3	11,0	9,6
150.gün	10,1	10,8	9,3
165.gün			
	9,7	10,2	8,9

180.gün	9,2	9,9	8,2
195.gün	8,3	9,3	7,8
210.gün	8,2	8,4	7,3
225.gün	7,9	7,9	7,1
240.gün	7,2	7,8	6,8



Şekil IV.9. Oda Sıcaklığı, 30°C ve 40°C’ de Bekletilen Ayçiçeği Balına Ait Indoxacarb Değişimi.

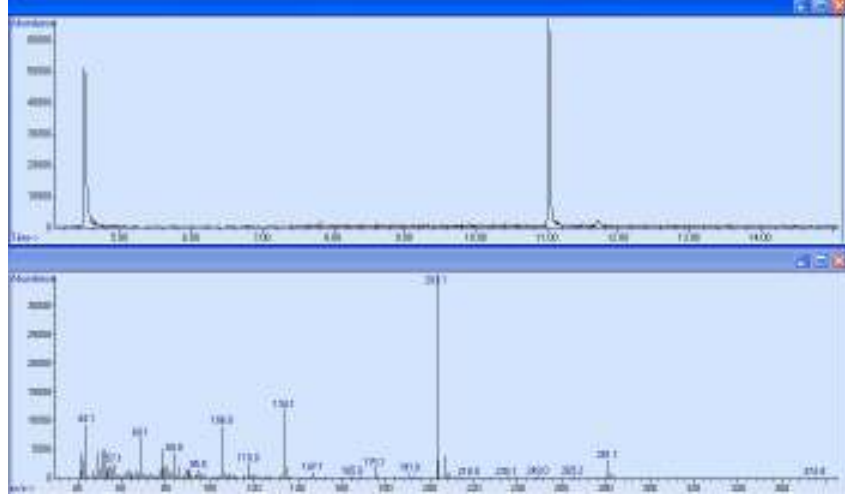
Tablo IV.5. Farklı Sıcaklıklarda Bekletilen Ayçiçeği Balı Örneklerindeki Indoxacarb’ ın Günlere Bağlı Olarak Değişimi.

	Oda Sıcaklığı	30°C	40°C
	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)	Indoxacarb (mg. kg ⁻¹)
0.gün	18,7	20,9	19,1
1.gün	18,8	19,7	19,5
2.gün	18,5	19,6	18,5
3.gün	17,7	18,2	18,4
4.gün	16,6	19,0	17,2
5.gün	16,7	18,6	17,4
6.gün	16,4	17,6	15,7
7.gün	15,7	17,1	16,6
8.gün	14,9	16,7	16,9
9.gün	14,2	15,4	15,5
10.gün	14,1	15,5	14,3
30.gün	13,3	14,3	15,1
45.gün	13,1	13,9	14,5
60.gün	12,9	13,2	14,2
75.gün	12,7	12,7	13,7
90.gün	11,9	12,7	13,7
105.gün	11,6	11,5	12,5
120.gün	10,2	11,2	11,5
135.gün	10,0	10,9	10,7
150.gün	9,6	10,4	10,1

165.gün	9,4	10,0	9,2
180.gün	8,2	9,5	8,7
195.gün	8,0	9,3	8,0
210.gün	7,9	8,4	7,3
225.gün	7,6	7,2	7,0
240.gün	7,2	6,9	6,8

IV.3. BOZUNMA ÜRÜNÜ YAPI TAYİNİ

IV.3.1.Bozunma Ürünü İçin GC- MS ve FT- IR Sonucu



Şekil IV.10. Balda gözlenen bozunma ürününe ait kromatogram ve spektrum.

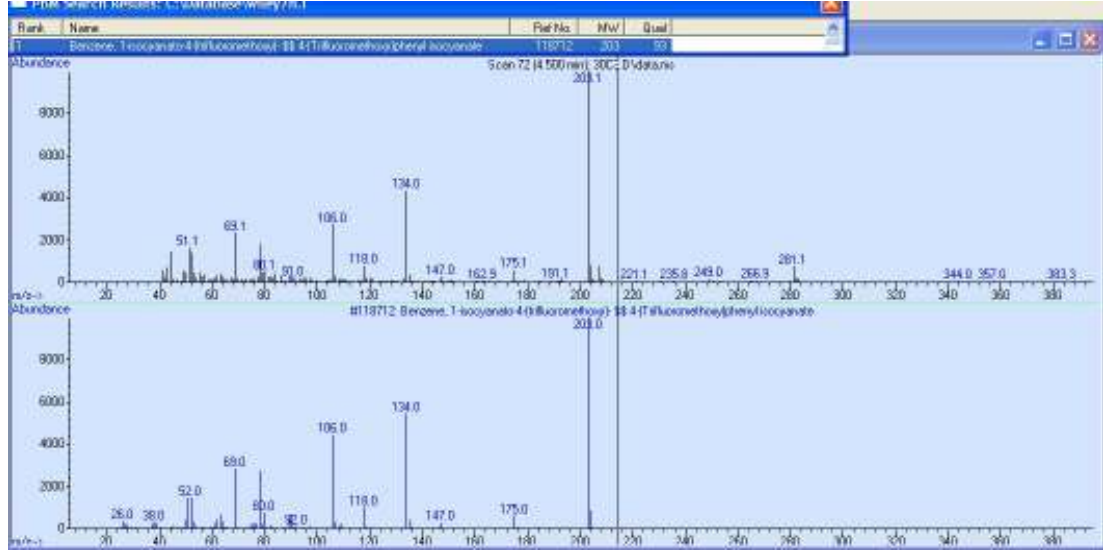
Agilent firmasının kullandığı yazılım programında mevcut Pestisid ve Wiley kütüphanelerinde yapılan tarama sonucunda ilgili bozunma ürünü için 4- (trifloro metoksi) fenil izosiyanat adlı maddeyi bulunmuştur. İlgili sonuç Tablo IV.6’ da verilmiştir.

Tablo IV.6. Pestisid ve Wiley Kütüphanesi Tarama Sonucu

Name	:Benzene, 1-isocyanato-4-(trifluoromethoxy)-; 4-(Trifluoromethoxy)phenyl isocyanate
CAS Number	: 035037-73-1
Entry Number	: 118712
Molecular Formula	: C ₈ H ₄ F ₃ NO ₂
Misc Information	
QI=899	Source=NS-3-5588-0
Match Quality	: 93
Company ID	: 0
Retention Index	: 0
Molecular Weight	: 203.02

UV– Visible detektöre sahip, Zorbax-Rx-SIL (4.6 mm × 150 mm, 5 µm) kolonlu Agilent 1100 serisi preparatif HPLC cihazıyla metanol: saf su (95:5) (h/ h), hareketli fazının 0.5 mL/ dakika akış hızında ayrılan ekstraktan ele geçen maddenin FT-IR

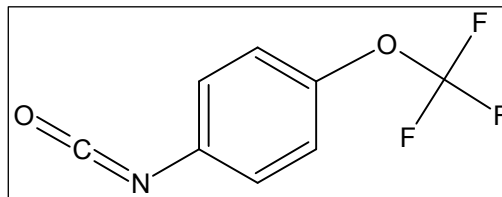
spektrumu alınmıştır. Elde edilen maddeye ait olan FT- IR spektrumu Şekil IV.12’de ve pikleri gösteren tablo Tablo IV.7’ de verilmiştir. Ayrıca bu FT-IR spektrumu Sigma-Aldrich firmasına ait spektrum atlasındaki 4- (triflorometoksi)fenil izosiyanat spektrumuyla karşılaştırıldığında spektrumların birbiriyle örtüştüğü görülmüştür.



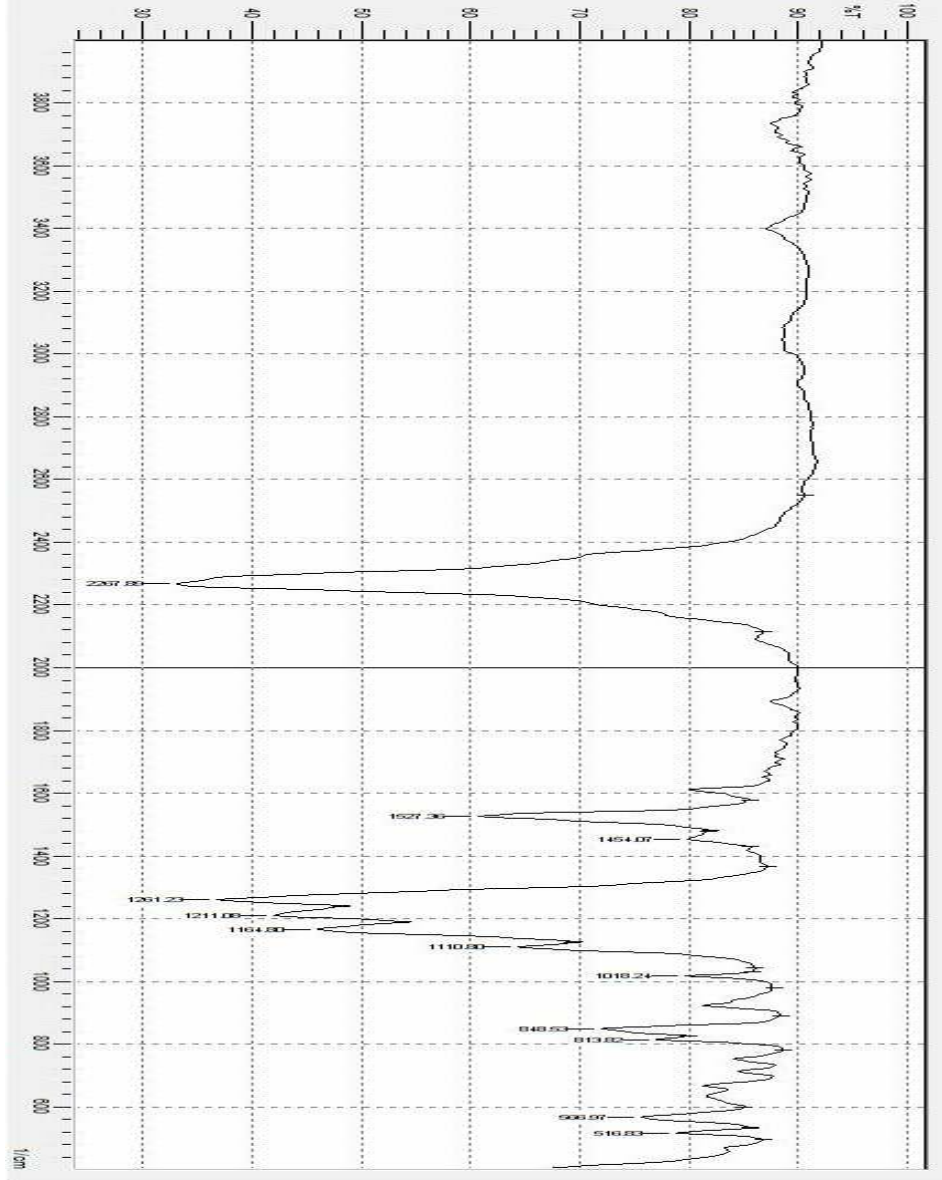
Şekil IV.11. Cihaza Ait Kütüphane Karşılaştırma Sonucunu Gösteren Spektrum.

Tablo IV.7. Indoxacarb Bozunma Ürününe ait FT-IR Spektrum Değerleri.

No.	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	516.83	78.831	7.168	532.26	497.55	2.825	0.574
2	566.97	75.572	9.712	597.83	536.12	5.714	1.454
3	813.82	77.045	5.119	825.39	782.96	3.304	0.321
4	848.53	71.952	9.907	890.96	829.25	5.971	1.170
5	1018.24	79.653	6.559	1029.81	979.67	3.530	0.455
6	1110.80	64.289	7.502	1122.37	1045.24	8.629	0.828
7	1164.80	45.959	13.469	1187.94	1126.23	16.203	3.142
8	1211.08	42.036	9.311	1238.08	1191.80	15.632	2.114
9	1261.23	36.844	17.323	1365.36	1241.94	25.714	4.427
10	1454.07	79.771	3.823	1477.22	1430.93	4.017	0.448
11	1527.36	60.649	22.913	1577.50	1481.07	12.227	4.697
12	2267.89	33.111	54.928	2549.45	2113.61	65.397	42.392



Şekil IV.12. 4- (triflorometoksi) fenil izosiyanat.



Şekil IV.13. Bozunma Ürünü FT- IR Spektrumu.

FT- IR spektrumu incelendiğinde 2267cm⁻¹, de görülen pik N=C=O grubuna ait asimetrik gerilmesini 1454 cm⁻¹, de görülen pik N=C=O grubuna ait simetrik gerilmeyi; 813cm⁻¹ ve 848 cm⁻¹, de görülen bandlar 1 ve 4 numaralı karbonlarında fonksiyonel grup bağlı olan benzen halkasını; 1527 cm⁻¹ benzen halkasındaki C=C gerilmesini; 1100 cm⁻¹, deki pik O-CF₃ bağını; 1211 cm⁻¹ ve 1261 cm⁻¹, de görülen

pikler aromatik halkaya bağılı eterik grubun (C-O-C) simetrik gerilmesini, 1164 cm⁻¹ pik C-F bağıının varlığını göstermektedir.

BÖLÜM V

TARTIŞMA VE DEĞERLENDİRME

Yaptığımız çalışmalar ışığında görülmüştür ki;

- Geliştirilen yöntem balda Indoxacarb analizini mümkün kılan kolay, basit ve hızlı bir yöntem olup ilk defa çalışılmıştır.
- Geliştirilen yöntemin Tespit Sınırı 0,03 mg. kg⁻¹ ve Tayin Sınırı 0,11 mg. kg⁻¹ 'dır.
- Farklı çözücülerle yapılan ekstraksiyon çalışmalarında en iyi geri kazanım yüzdesini diklormetan vermiştir. Indoxacarb geri kazanım yüzdesi %78.7±5.5 olarak hesaplanmıştır (%95 güven aralığı, n=6). Yöntemin uygulanması sırasında 1 gram bal örneğinden Indoxacarb' ın ekstarksiyonu için 2 defa 2' şer mL diklormetan kullanılmalı ve her defasında ayrılan organik fazlar birleştirildikten sonra buharlaştırılmalı GC- MS analizi için hazır hale getirilmelidir.
- Geliştirilen yöntemde Indoxacarb' ın GC- MS analizi için aşağıdaki şartlar sağlanmalıdır:
 - Kolon: HP-5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
 - Hareketli faz: 1mL/ dakika akış hızında Helyum gazı
 - Enjeksiyon sıcaklığı: 300°C
 - Kolon başlangıç sıcaklığı: 70°C (3,5 dakika), 50 °C/ dakika hızla 300 °C (7 dakika)

- İyonizasyon enerjisi: 70 eV
- Enjeksiyon hacmi: 2 µL
- Indoxacarb'ın bal ortamında bozunma ürünü olarak 4-(triflorometoksi)fenil izosiyanat vermek üzere bozunduğu görülmüştür.
- Indoxacarb'ın bal ortamındaki bu bozunma ürününe literatürde ilk defa rastlanılmıştır.
- Bozunma ürününe ait FT- IR spektrumu Sigma-Aldrich firmasına ait spektrum atlasındaki FT-IR spektrumuyla karşılaştırıldığında spektrumların birbiriyle örtüştüğü görülmüştür. Ayrıca FT- IR spektrumu incelendiğinde görülen karakteristik pikler 4-(triflorometoksi) fenil izosiyanat'ın varlığını göstermiştir.

Chemical Index'lerden yapılan taramalarda, Elsevier anahtar sözcük taramalarında, John-Wiley anahtar sözcük taramalarında balda Indoxacarb analizi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bizim çalışmamızda öncelikle sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi için çözücü seçimi yapılmıştır. Bunun için kloroform, etil asetat: kloroform (80: 20) (h/ h), asetonitril ve diklormetan organik çözücülerini denemiş olup en iyi geri kazanım yüzdesini, %95 güven aralığında (n=6), % 78.7± 5.5 ile diklormetan vermiştir. Tespit ve tayin sınırları ise 1 g bal örneği kullanıldığında sırasıyla 0,03 mg. kg⁻¹ ve 0,11 mg. kg⁻¹ 'dır. Uygulanan analitik işlem, uygulanması kolay, hızlı ve balda Indoxacarb kalıntısının izlenmesi amacıyla kullanılabilir bir yöntemdir.

Diklormetan ile ekstrakte edilerek hazırlanan bal örnekleri, GC- MS ile analiz edilmiştir. Oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C' de bekletilmiş olan market balı, kestane, çam ve çiçek balı örnekleri Indoxacarb ile kirletildikten sonra belirli aralıklarla ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. İlgili tablolarda Indoxacarb miktarlarındaki değişim sonuçları incelendiğinde aşağıdaki azalma miktarları bulunmuştur:

- Çiçek balı örnekleri için oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C ' de sırasıyla %61,00; % 57,60 ve % 61,22,
- Kestane balı örneklerinde oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C ' de sırasıyla % 62,23; % 64,54; %57,50,

- Çam balı örneklerinde oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C ‘ de sırasıyla 60,19; % 64,06; %67, 29,
- Ayçiçeği balı örneklerinde oda sıcaklığı, 30 °C ve 40 °C ‘ de sırasıyla % 61,45; % 66,92; % 64,57.

Önerilen Analiz Yöntemi:

Geliştirilen yöntemde bal örneklerinde Indoxacarb analizi için alınacak olan 1 gram bal örneği, 1 mL saf su ile homojenize edildikten sonra 2 mL diklormetan ile iki defa ayrı ayrı 2000 devir hızında çalışan sanrifüj cihazında tutulmalı ve organik fazlar birleştirildikten sonra buharlaştırılan organik faz, sonrasında asetonitril ile çözülerek GC- MS analizi için hazır hale getirilmelidir.

GC- MS analizi için, HP-5-MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) kolonu ve hareketli faz olarak 1mL/ dakika akış hızında Helyum gazı kullanılmalıdır. Enjeksiyon sıcaklığı 300°C, kolon başlangıç sıcaklığı 70°C, kolon son sıcaklığı 300 °C; iyonizasyon enerjisi 70 eV ve enjeksiyon hacmi 2 µL olmalıdır.

Yapılan analiz süresince Indoxacarb miktarında meydana gelen azalma oldukça anlamlı olup pH’ sı 4- 4,50 arasında olan bal örnekleri için beklenen bir sonuç olsa da; 5. ayda GC kromatogramında farklı bir pik gözlenmiştir. Cihaza ait yazılımda bulunan Wiley ve NIST kütüphaneleri yardımıyla yapılan taramalarda bu pikin 4- (triflorometoksi)fenil izosiyanat adlı maddeye ait olduğu görülmüştür. Karşılaştığımız bu farklı pikin hangi maddeye ait olduğunu bulunması amacıyla yapılan preparatif HPLC çalışması sonunda elde edilmiş olan FT-IR spektrumu ile maddenin yapısı aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu spektrumda görülen pikler ve bantlar ile karşılık geldikleri titreşimsel geçişler aşağıda verilmiştir:

- 2267cm⁻¹ : İzosiyanat grubunun asimetric gerilmesi,
- 1454 cm⁻¹ : İzosiyanat grubunun simetric gerilmesi,
- 1211 cm⁻¹ ve 1261 cm⁻¹: Benzen halkasındaki C=C gerilmesi,
- 1100 cm⁻¹ : O-CF₃ bağına ait,
- 1164 cm⁻¹ : C-F bağına ait,
- 813 cm⁻¹ ve 848 cm⁻¹ : 1,4- disubstitüe benzen halkasına ait bantlar.

Görülen pikler ve bantlar yapının aydınlatılmasında yol gösterici olmuştur. Bu madde daha önce literatürde belirtilmiş olan Indoxacarb bozunma ürünlerinden olmayıp farklı bir bozunma ürünüdür. Sağlık açısından Bu bozunma ürününün ileri reaksiyonlar vermeden kalabilmesine balda fazla miktarda bulunan polihidroksi bileşiklerinin neden olduğu düşünülmektedir.

İnsan nüfusu her geçen gün artmakta ve buna paralel olarak da yiyecek üretimindeki baskılar aynı oranda artmaktadır. Bu talepleri karşılamak, ürün rekoltesini artırmak ve ürünleri yetiştirilme veya depolanma sırasında ortaya çıkan zararlılardan korumak için tarımsal yiyecek üretimi modern teknolojiyi ve bu teknolojinin bir parçası olan pestisitleri kullanmak durumundadır. Yaptığımız çalışma arılara olan zehirliliğinin yüksek olduğu bilinen Indocaxarb adlı pestisidin ve tespit edilen bozunma ürünün bal ve bal ürünlerine geçmesi sonucu bu ürünleri tüketen insanlardaki durumunun değerlendirilmesi açısından önemli bir bilgi sağlayacaktır.

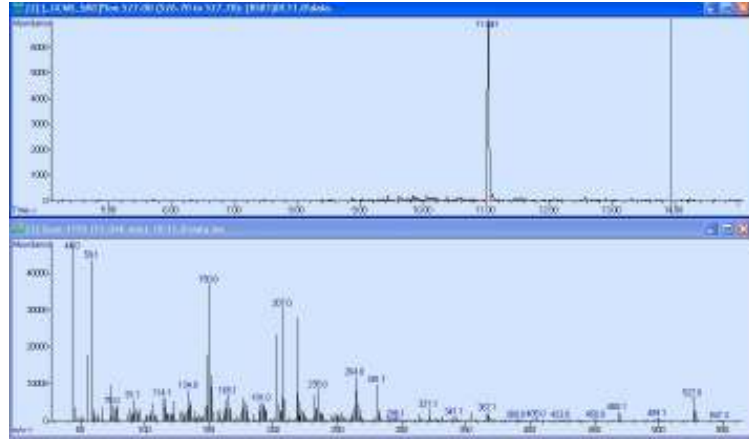
KAYNAKLAR

- [1] T.C.Çevre ve Orman Bakanlığı, Türkiye Çevre Atlası,164-166.
- [2] Formica, G.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 67 (5) (1984) 896.
- [3] Picó, Y.: *Journal of Choromatography A*, 1030 (2004) 77.
- [4] Rissato, S. R. : *Journal of Choromatography A*, 1048 (2004) 153.
- [5] Jimenéz, J. J.: *Journal of Choromatography A*, 829 (1998) 269.
- [6] Gallo, B.: *Talanta*, 48 (1999) 189.
- [7] Jimenéz, J. J.: *Journal of Choromatography A*, 823 (1998) 381.
- [8] Bernal, J.L.: *Journal of Choromatography A*, 882 (2000) 239.
- [9] Gallo, B.: *J. Agric. Food Chem.*, 49 (12) (2001) 5835.
- [10] Gallo, B. : *Journal of Choromatography A*, 930 (2001) 21.
- [11] Jimenéz, J. J.: *Journal of Choromatography A*, 871 (2000) 67.
- [12] Gallo, B.: *Talanta*, 52 (2) (2000) 169.
- [13] Jimenéz, J. J.: *Journal of Choromatography A*, 946 (1-2) (2002) 247.
- [14] Güleri, Çağatay; Çobanoğlu, Zakir: “*Pestisidler*” Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No:52, Ankara, (1997).
- [15] Delen, N: “Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı Ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları”, *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi*, Ankara, Ocak (2005).
- [16] T.C. Tarım ve Köyisleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği.Yayımlandığı Resmi Gazete:28.04.2002-24739 Tebliğ No: 2002/30.
- [17] www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc (Erişim Tarihi: Haziran 2007).
- [18] C.Tomlin; “*The Pesticide Manual*”, The British Crop Protection Council,

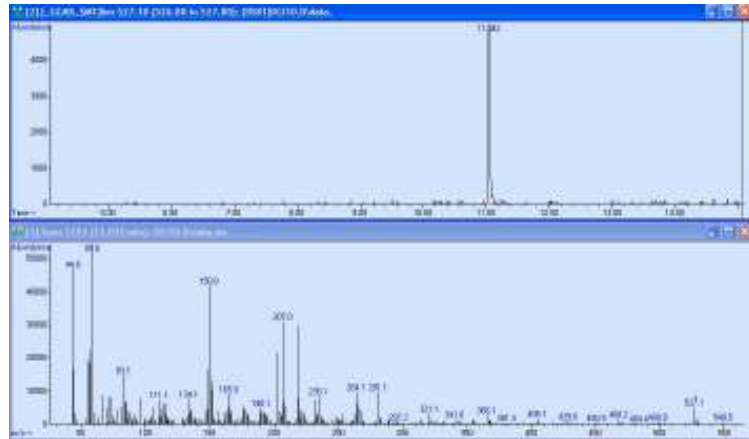
Surrey, UK, 12th edition (2000).

- [19] Isolation and Identification of the Drugs, 202-225.
- [20] <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm> (Erişim Tarihi: Mayıs 2007).
- [21] http://www.alanwood.net/pesticides/class_insecticides.html
(Erişim Tarihi: Haziran 2007).
- [22] Xilong Zhao, Tomoko Ikeda, Jay Z. Yeh, Toshio Narahashi; “Voltage-Dependent Block of Sodium Channels in Mammalian Neurons by the Oxadiazine Insecticide Indoxacarb and its Metabolite DCJW”, *NeuroToxicology*, 24 (2003) 83–96.
- [23] Kristopher S. Silver, David M. Soderlund; Action of pyrazoline-type insecticides at neuronal target sites, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 81 (2005) 136–143.
- [24] DuPont™ Steward® Insectisid Teknik Bülteni, K-04265.
- [25] www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/Indoxupdate.pdf (Erişim Tarihi: Mayıs 2003)
- [26] Erdoğan, A.T.: “Bal ve Balda Kalite Kavramları”, Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü, Ekim- 2007.
- [27] T.C. Tarım ve Köyisleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Türk Gıda Kodeksi Bal Tebliğı (Tebliğ No: 2005/49)

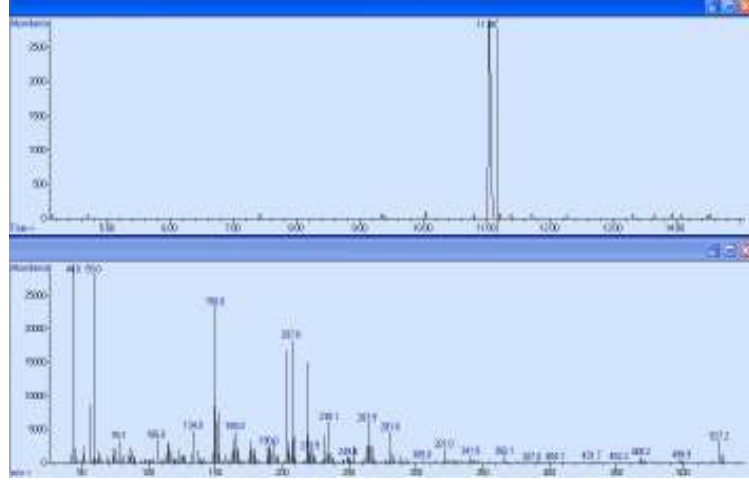
EKLER



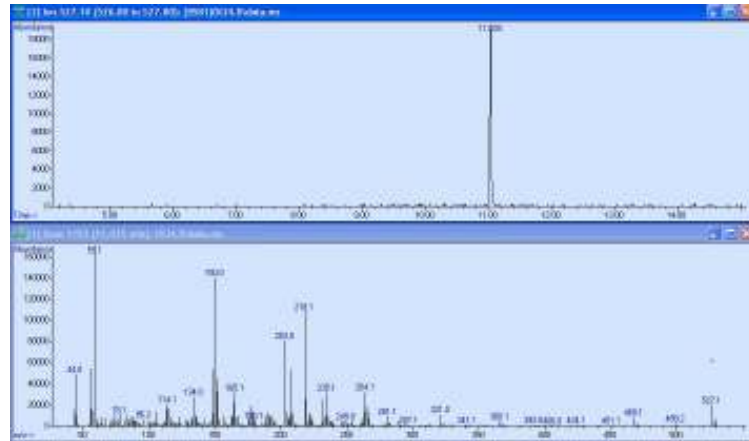
EK- IV- Şekil 1. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



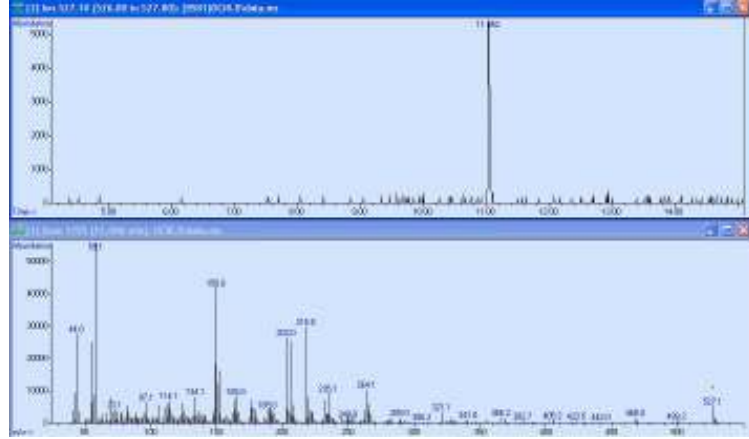
EK- IV- Şekil 2. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



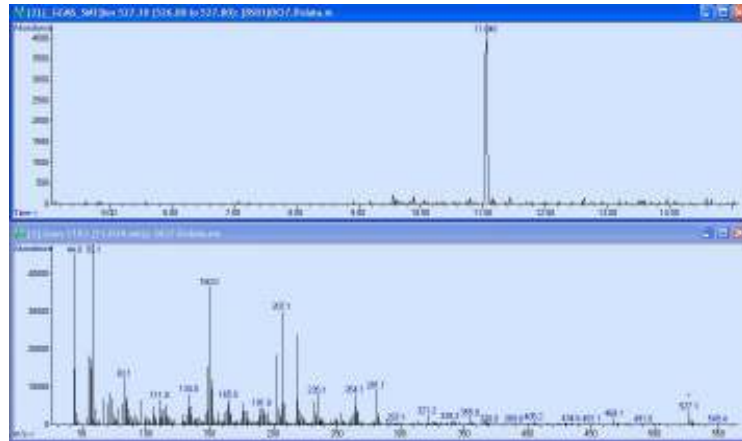
EK- IV- Şekil 3. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam bal örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



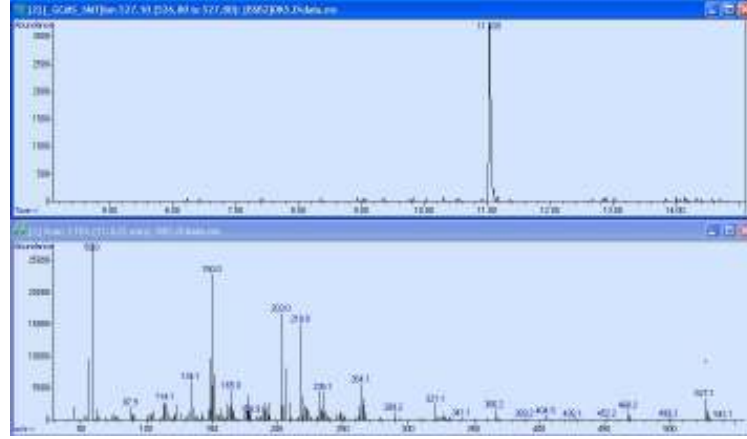
EK- IV- Şekil 4. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



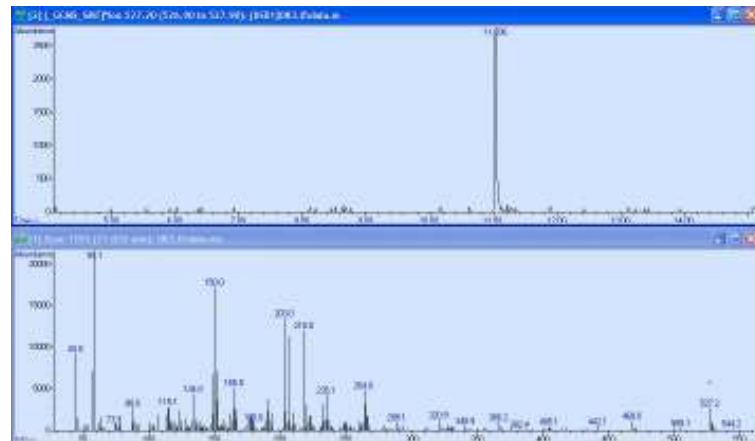
EK- IV- Şekil 5. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



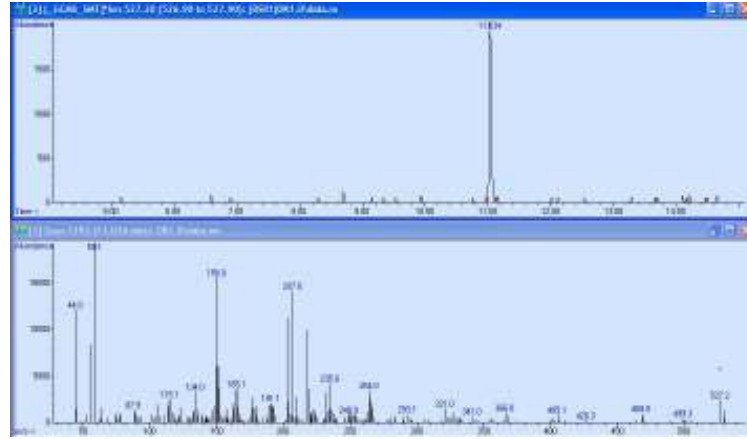
EK- IV- Şekil 6. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



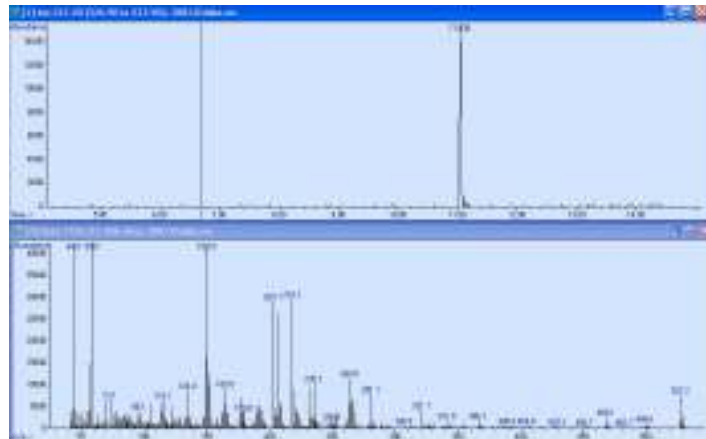
EK- IV- Şekil 7. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



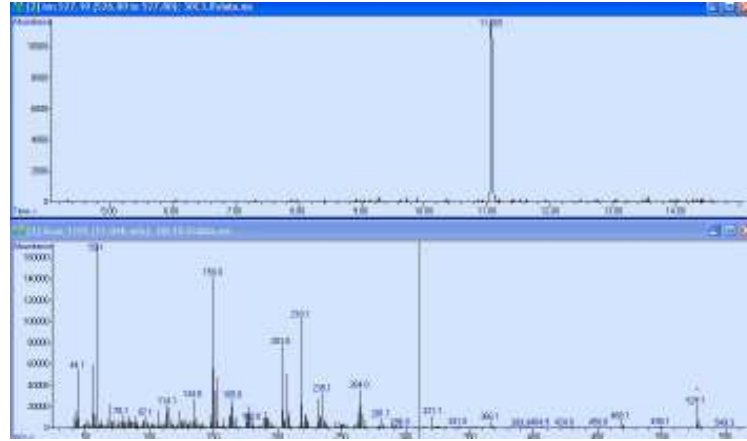
EK- IV- Şekil 8. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu

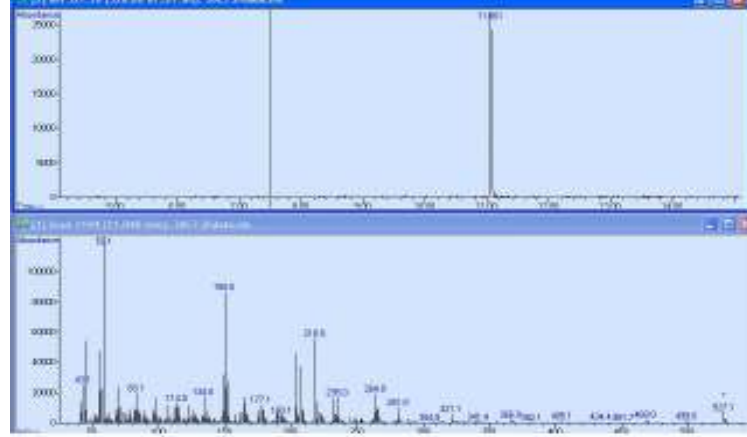


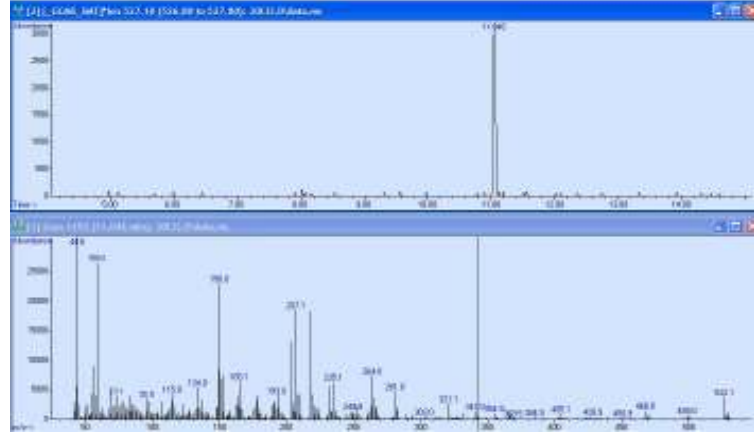
EK- IV- Şekil 9. Oda sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



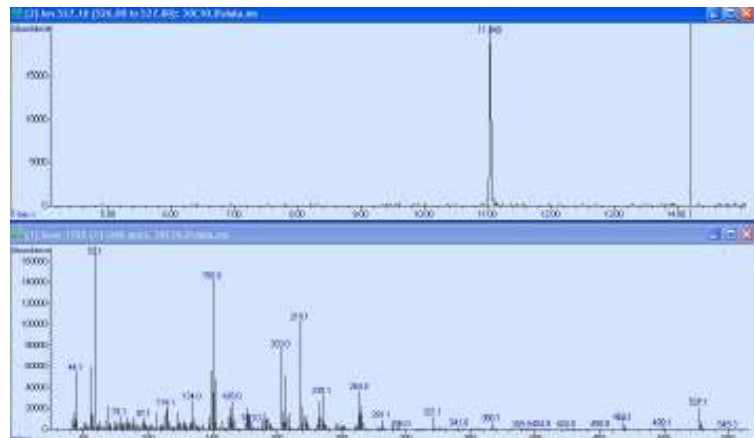
EK- IV- Şekil 10. 30°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



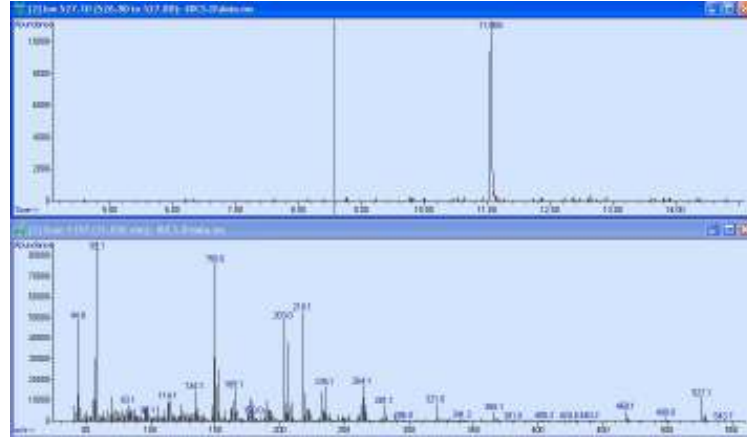




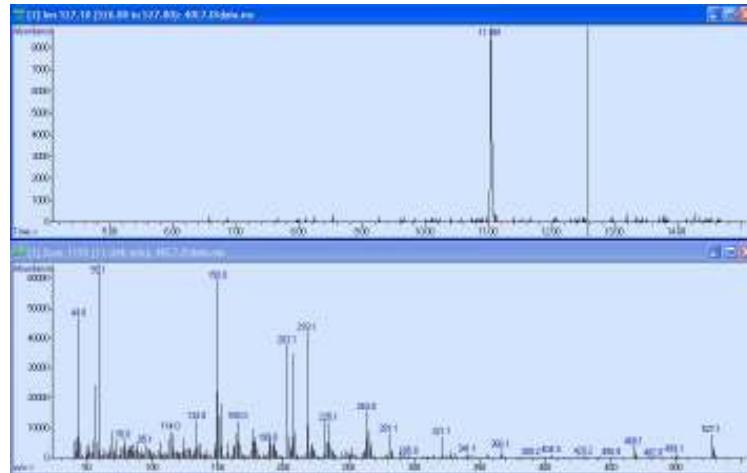
EK- IV- Şekil 16. 30°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



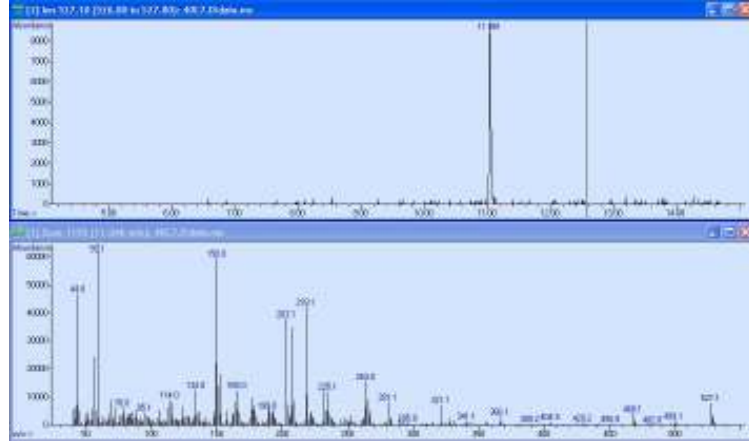
EK- IV- Şekil 17. 30°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



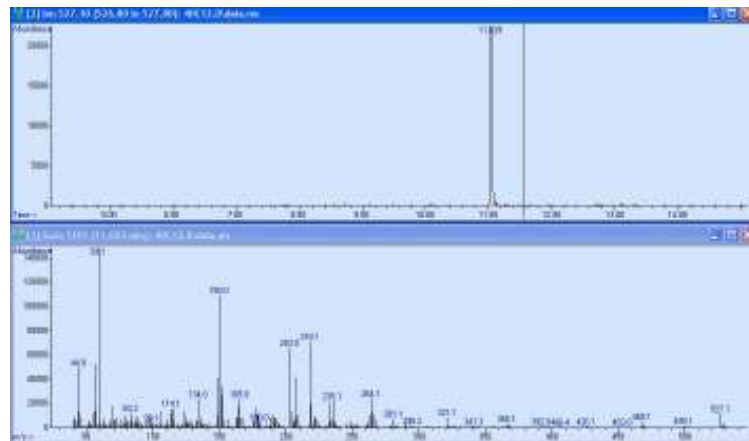
EK- IV- Şekil 20. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



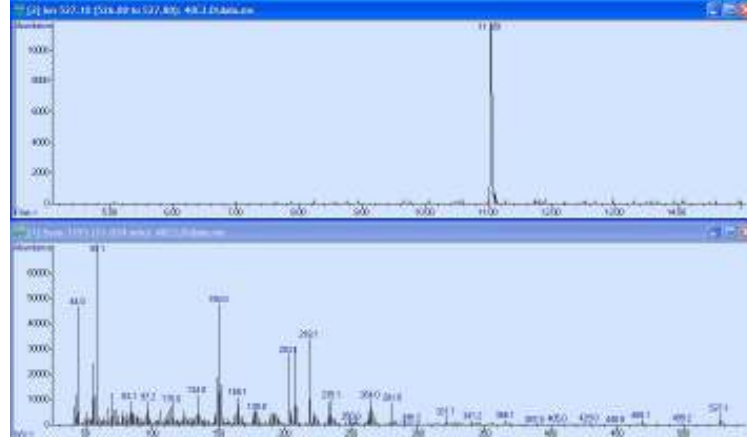
EK- IV- Şekil 21. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



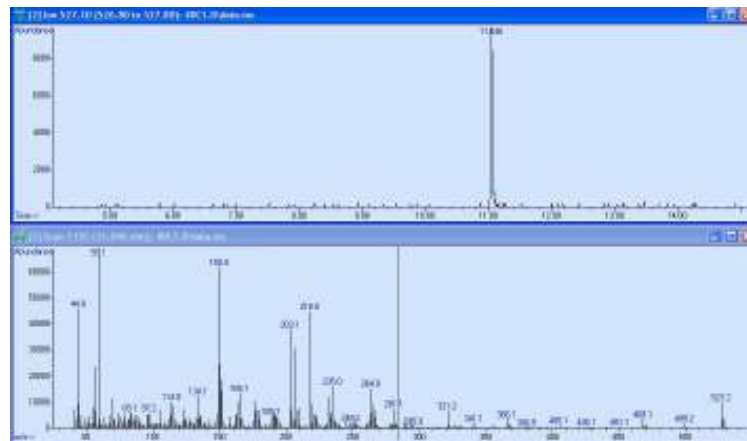
EK- IV- Şekil 22. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren kestane balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



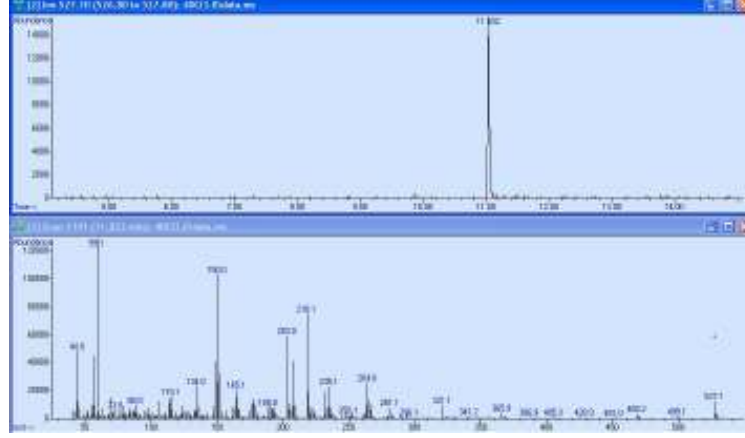
EK- IV- Şekil 23. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



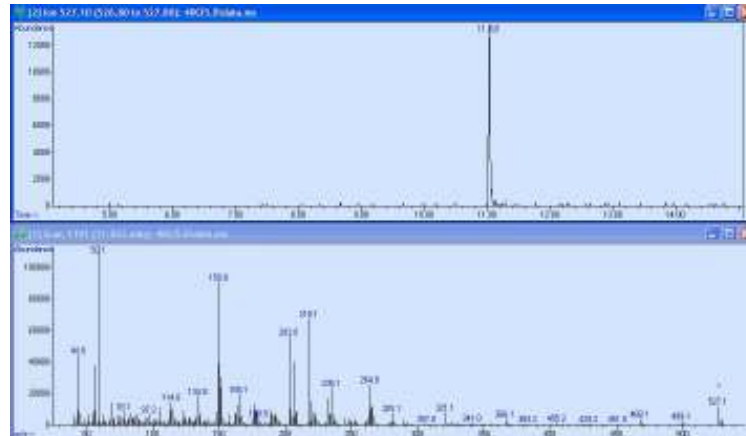
EK- IV- Şekil 24. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



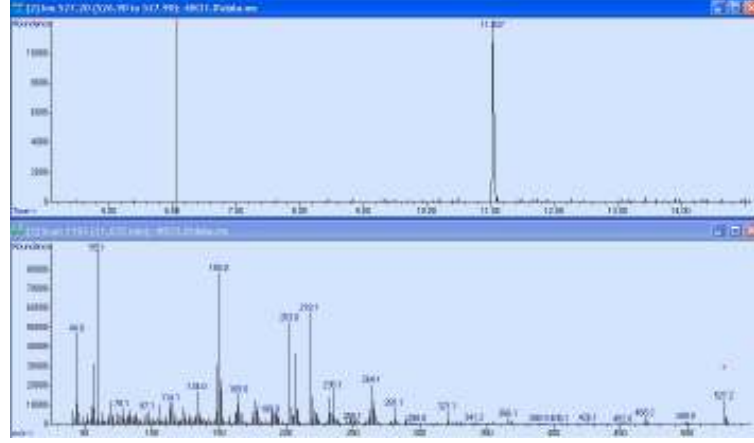
EK- IV- Şekil 25. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren çam balı örneğinin 240 gün kromatogramı ve kütle spektrumu



EK- IV- Şekil 26. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 1. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



EK- IV- Şekil 27. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 120. gün kromatogramı ve kütle spektrumu



EK- IV- Şekil 28. 40°C’ de sıcaklığında bekletilen Indoxacarb içeren ayçiçeği balı örneğinin 240. gün kromatogramı ve kütle spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Soner ÇUBUK, 1977 yılında İstanbul'da doğmuş, ilk, orta ve lise eğitimini İstanbul'da tamamlamıştır. Haziran 1999'da Marmara Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nden bölüm 3.'sü olarak mezun olmuştur. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı'nda 1999 yılında başladığı "Halkalı Poliollerle Yeni Bir Bor Analiz Yöntemi Geliştirilmesi" adlı yüksek lisans tezini 2002 yılında tamamlamış ve program 1.'si olarak mezun olduktan sonra aynı yıl içinde Analitik Kimya Programı'na Doktora öğrencisi olarak kabul edilmiştir. 8 yıldır Marmara Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevisi olarak görev yapmaktadır.