

# DİYARBAKIR VE ELAZIĞ'DA YOL KENARI VE KIRSAL ALANDAN TOPLANAN HATMI BİTKİSİNİN ORGANOKLORLU PESTİSİT İÇERİĞİNİN GC-MS İLE TAYİNİ

Cemile ÖZCAN\*

\*Kırklareli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kırklareli, Türkiye.

**Özet:** Bu çalışmada, Diyarbakır ve Elazığ'da yol kenarı ve kırsal alandan toplanan beyaz çiçekli hatmi bitkisindeki olması muhtemel toksik ve biyoakümülyasyon özelliği olan organoklorlu pestisit içeriği GC-MS (gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi) cihazı kullanılarak tayin edilmiştir. Toplanan bitki örnekleri QuEChERS metodu kullanılarak analize hazır hale getirilmiştir. GC-MS'de 70 eV iyonlaşma enerjisi kullanılarak, akış hızı 1 ml/dk, enjeksiyon hacmi 1 µl olarak belirlenmiştir. Organoklorlu pestisitler için LOD, LOQ ve %RSD değeri sırasıyla; 0.02 ile 18.9 µg/L, 0.06 ile 63 µg/L, 2.4 ile 8.9 arasında bulunmuştur. Sonuçta, Diyarbakır ilinden toplanan yol kenarındaki hatmi bitkisi örneklerinin pestisit konsantrasyonu genel olarak Elazığ ilinden toplanan örneklerden daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Her iki ilde kırsal alandan toplanan bitki örneklerindeki alpha-Endosulfan konsantrasyonu tayin sınırının altında tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Hatmi, GC-MS, organoklorlu pestisitler, biyoakümülyasyon.

**Abstract:** In this study, in the white flowering alcea sp. collected in roadside and rural areas in Diyarbakir and Elazig were determined to content of Organochlorine pesticides having possible toxic and bioaccumulation feature by GC-MS (gas chromatography-mass spectroscopy). Collected plant samples were get ready for analysis using QuEChERS method. İonization energy, flow rate and injection volume were determined 70 eV, 1 ml/min and 1 ml, respectively. The LOD, LOQ and RSD% value of organochlorine pesticides were found among 0.02 to 18.9 µg/L, 0.06 to 63 µg/L and 2.4 to 8.9. As a result, the concentration of pesticides of alcea sp. in Diyarbakir were found higher concentration from collected alcea sp. in Elazig. Both provinces alpha-endosulfan concentration in plant samples collected from the rural areas were detected below detection limit.

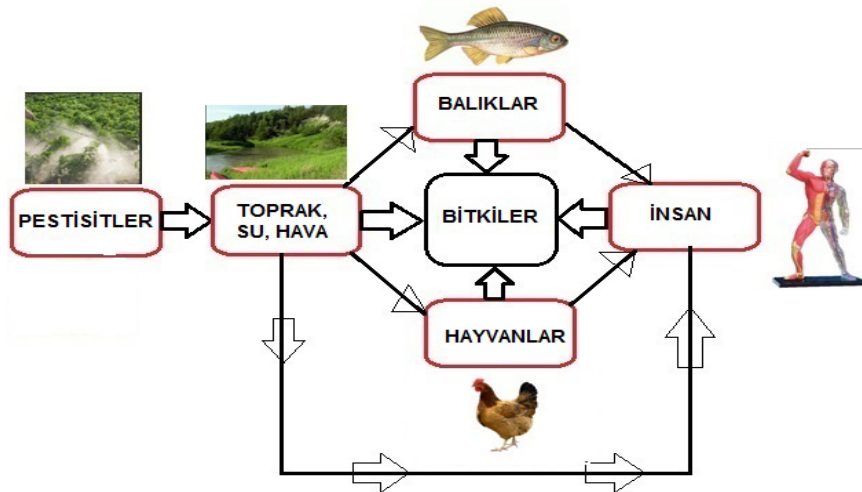
**Keywords:** Alcea sp., GC-MS, organochlorine pesticides, bioaccumulation .

\* **Adres:** Kırklareli Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kırklareli, Türkiye, Telefon: +90 288 2461734; Faks: +90 288 2461733 [cemilebal.ozcan@klu.edu.tr](mailto:cemilebal.ozcan@klu.edu.tr)

## GİRİŞ

Bitkiler veya bitkisel kaynaklı besinler tatlar, kokular, böcek ilaçları, ilaç ve antimikrobik olarak kullanılabilen yararlı ikincil metabolitlerin zengin kaynaklarıdır. Bitkilerin şifalı bitkiler olarak kullanımı MÖ 3000 yıllarına kadar uzanır. Şifalı bitki olarak kullanılan beyaz hatmi bitkisi ebem gümece familyasından olup, halk arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Temmuz-ağustos aylarında, pembemsi-beyaz renkli çiçekler açan, 50-150 cm yüksekliğinde, çok senelik, otsu ve tıbbi bir bitkidir. Sulak çayırlar ve dere kenarlarında bulunur. Gövdeleri dik ve tüylüdür. Yaprakları saplı ve çok tüylüdür. Çiçekler, dalların ucundaki yaprakların koltuğunda tek tek veya gruplar halinde bulunur.

Hatmi bitkisinde yararlı organik bileşikler olmasına rağmen bu çalışmada atmosferde taşındığı bilinen [1-3] muhtemel organoklorlu pestisitlerin analizi yapılacaktır. Organoklorlu pestisitler toksik özellikte olup kanser gibi ciddi rahatsızlıklara sebebiyet veren bileşikler grubudur [4]. Çevrede uzun süre aktif kalan, biyolojik birikme özelliği ile ekolojik çevre için büyük tehlike oluşturacak bileşiklerdir. Organoklorlu pestisitler, çevrede uzun süre bozulmadan kalan, lipitte çözünebilir, biyotransformasyonları ve biyolojik parçalanmaları çok yavaş bileşenlerdir. Bu nedenle, çeşitli canlıları da biyomagnifikasyona uğrayarak, besin zinciri ile insana kadar ulaştıkları yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [5]. Şekil 1’de pestisitlerin doğadaki döngüsü verilmiştir.



Şekil 1. Pestisitlerin doğadaki döngüsü.

1960'lı yıllara kadar pestisitlerin neden olduğu kirliliğin lokal bir problem olduğu düşünülmekte ve doğada uzun süre kalabilen insektisitlerin taşınımının çok az olduğuna inanılmaktaydı. DDT ve diğer organoklorlu bileşiklerin arktik ve antartik balık ve memelilerin vücudunda bulunması bu görüşü değiştirmiştir. İnsektisitlerin yağışlarla ve rüzgarla hiç ilaçlanmayan alanlara taşındığı ortaya çıkarılmıştır. Günümüzde özellikle atmosferin, insektisitlerin taşınmasında canlı rol oynadığı, ilaçlanan bölgelerden çok uzaklara taşınmasına ve oralarda birikmelere neden olduğu bilinmektedir. Atmosferde bulunan insektisitlerin başında en çok organoklorlu bileşiklerden DDT,  $\alpha$ -HCH,  $\gamma$ -HCH (lindan), heptaklor, dieldrin gelmektedir [6-8].

Bitki örneklerindeki düşük konsantrasyonlu pestisitlerin tayini ve miktar analizi için yüksek duyarlılıklı analitik teknikleri içinde barındıran GC-MS, HPLC-MS, HPLC, GC gibi cihazlar kullanılmaktadır [6-9]. bitkilerdeki pestisitler için mikrodalga, sokslet, süperkritik sıvı ekstraksiyon, vs. en yaygın kullanılan tekniklerin başında gelmektedir. Ayrıca bunların yanında kısa zamanda örneklerin hazırlanması için yararlı metodlar geliştirilmektedir. QuEChERS ("Hızlı (Quick), Kolay (Easy), Ucuz (Cheap), Etkili (Effective), Uygulaması basit (Rugged) ve Güvenilir (Safe)") metodu amaca göre kolayca modifiye edilebilen, hızlı pestisit analizinde kullanılan bir yöntemdir ve daha sonra katı-faz ekstraksiyonuyla (SPE) temizleme ve GC-MS ya da LC-MS/MS ile pestisitlerin tayinine dayanan bir metottur [13-15]. Bu metotla analizi yapılacak bileşenden 1 saat gibi kısa bir sürede veri sağlanabilmektedir.

Bu çalışmada, Diyarbakır ve Elazığ'da yol kenarı ve kırsal alandan toplanan beyaz çiçekli hatmi bitkisinin organoklorlu pestisit içeriğinin GC-MS cihazı kullanılarak tayini amaçlanmaktadır. Yol kenarı ve kırsal alanda toplanan hatmi bitkisinde organoklorlu pestisit kalıntısı olup olmadığı ve onların arasındaki muhtemel farkların belirlenmesi amaçlanmaktadır.

## MATERYAL VE METOD

Klorlu pestisitlerin kantitatif analizi GC-MS cihazı ile yapılmıştır. Bunun için HP—5 MS IU kapiler kolon (30 m X 250  $\mu$ m X 0.25  $\mu$ m) ve 5975C (Agilent) inert MSD mass dedektöre sahip 7890A (Agilent) model GC-MS cihazı kullanılmıştır. Örnek hazırlama aşamasında TAB 40-WEL marka azot altında uçurma sistemi kullanılmıştır.

Standart olarak kalıntı analizleri için referans materyal olan Dr. Ehrenstorfer organochlorine pesticide Mix 2 (HCH (hexachlorocyclohexane) ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), Heptachlor, Heptachlor-endo-epoxide, Aldrin (HHDN), Alpha-Endosulfan, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD, 4,4'-DDT, Dieldrin, Endrin, beta-Endosulfan, Endrin-aldehyde, Endosulfan-sulfate, Endrin-ketone, Methoxychlor) karışımı kullanılmıştır. Toluen:hekzan (1:1) karışımında 1 ml çözelti 2000 ng/ $\mu$ l olarak alınmıştır. Ana stoktan seyreltmeler yapılarak 5, 10, 25, 50, 100, 500 ve 1000  $\mu$ g/L'lik standart çözeltiler hekzan içinde hazırlanmıştır. GC-MS için optimizasyon çalışmalarında 100  $\mu$ g/L'lik organo klorlu pestisit standardı kullanılmıştır.

**Bitki Örneğinin Ekstraksiyonu:** Beyaz hatmi örnekleri homojenize haline getirildikten sonra 2 gramlık örnekler 50 ml'lik santrifüj tüpüne alınıp üzerine 10 ml diklormetan eklenmiştir. 1 dakika vortekslenildikten sonra 5 °C ve 5 dakika 7000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Organik faz ayrılarak AOAC 2007.01 Ekstraksiyon Kiti eklenmiş ve aynı şartlarda vortekslenmiştir. Süzüntü QuEChERS-dSPE temizleme kolonundan geçirilerek vakum pompası yardımıyla santrifüj tüpüne alınmıştır. Alınan karışım azot altında uçurma sistemi kullanılarak kuruluğa kadar buharlaştırılmıştır. Kuruluğa kadar buharlaştırılan örnek 1 ml hekzan ile çözülerek 0.45  $\mu$ l'lik filtreden geçirilmiş ve viallere alınarak GC-MS'te analiz edilmiştir. Aynı örnek cihaza 5 kez enjekte edilerek hesaplamalar yapılmıştır.

## SONUÇLAR

Organoklorlu pestisitlerin yaygın kullanımı, insanlar için biyolojik birikime ve toksisiteye sebep olmasından dolayı global bir sorun olmaktadır. Bu nedenle gıda güvenliği ve dünyanın güvenliği için bu toksik maddelerin analizi ve tayini, kirlilik kaynaklarının tespiti büyük önem taşımaktadır.

GC-MS'de 70 eV iyonizasyon enerjiye sahip elektron iyonizasyon sistemi ve taşıyıcı gaz olarak He kullanılmıştır. Akış hızı 1 ml/dk, enjeksiyon hacmi 1  $\mu$ l olarak belirlenmiştir. Kolon fırın sıcaklığı 110 °C'de 5 dk ve dakikada 5 °C yükseltilerek 320 °C'de 8 dk bekletme olarak uygulanmıştır. Uçucu bileşenlerin tespiti için toplam analiz süresi 22 dakika olarak ayarlanmıştır. Klorlu pestisitlerin karakterizasyonu için (SCAN taramada) NIST kütüphanesinden faydalanılmıştır.

18 adet klorlu pestisit standardını içeren mix karışım ile GC/MS'de SCAN tarama yapılmıştır. Daha sonra hazırlanmış olan standart çözeltilerin tümüne SIM taraması uygulanmış ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Pestisitlerin kolonda tutunma süreleri ve kütle kromatogramlarına göre veri girişi yapılmıştır.

Organoklorlu pestisit standartları kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiğinden ve elde edilen verilerden tayin limiti (LOD) ve miktar limiti (LOQ) değerleri hesaplanmıştır. Verilerin güvenilirliği için hesaplanan % göreceli standart sapma (RSD), LOD ve LOQ değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 1’de verilmiştir. LOD değeri 0.02 ile 18.9 µg/L, LOQ değeri 0.06 ile 63 µg/L, % RSD değeri 2.4 ile 8.9 arasında bulunmuştur.

**Tablo 1.** Analizi yapılan pestisitlerin %RSD, LOD (µg/L) ve LOQ (µg/L) değerleri.

Pestisit	LOD	LOQ	% RSD
alpha-HCH	0.02	0.06	7.2
beta-HCH	7.53	25.1	8.1
gama-HCH	10.0	33.3	6.6
delta-HCH	0.12	4.05	5.1
Heptachlor	1.24	4.13	5.5
Aldrin (HHDN)	0.71	2.34	4.4
Heptachlor-endo-epoxide	0.66	2.19	7.7
alpha-Endosulfan	1.10	3.66	3.0
4,4'-DDE	0.08	0.25	3.1
Dieldrin	0.09	0.31	3.8
Endrin	0.18	0.60	2.4
beta-Endosulfan	2.01	6.71	4.0
4,4'-DDD	18.9	63.0	8.9
Endrin-aldehide	2.72	9.07	3.8
Endosulfan-sulfate	0.64	2.14	4.9
4,4'-DDT	1.10	3.66	7.1
Endrin-ketone	0.86	2.84	5.7
Methoxychlor	0.15	0.49	4.1

SCAN modunda pestisitlerin tutunma zamanları ve parçalanma ürünleri belirlenerek SIM modunda kalibrasyon grafikleri çizilmiştir. Hatmi bitkisinin konsantrasyon değerleri bu grafiklere göre hesaplanmıştır. Hesaplanan konsantrasyon sonuçları Tablo 2’ de verilmiştir. Ayrıca, Şekil 2 ve 3’te sırasıyla, Diyarbakır ve Elazığ illerinin kırsal alan ve yol kenarından toplanan beyaz hatmi bitkisi örneklerinin pestisit konsantrasyon grafikleri verilmiştir.

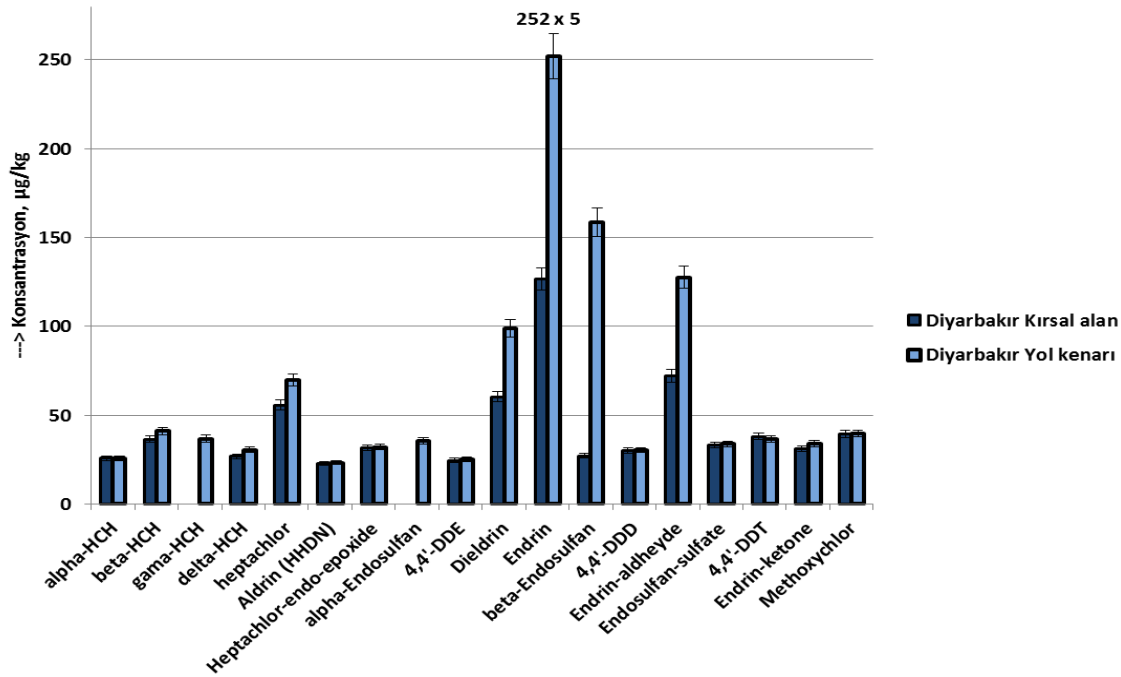
**Tablo 2.** Diyarbakır ve Elazığ'dan toplanan beyaz hatmi bitkisindeki organoklorlu pestisitlerin konsantrasyon değerleri.

Pestisit	Diyarbakır		Elazığ	
	Kırsal alan	Yol kenarı	Kırsal alan	Yol kenarı
alpha-HCH	25.8 ± 1.3	25.8 ± 1.1	25.7 ± 1.6	25.7 ± 1.8
beta-HCH	36.4 ± 2.5	41.2 ± 2.2	30.7 ± 2.5	31.7 ± 2.3
gama-HCH	ND	36.8 ± 2.8	26.2 ± 1.3	27.4 ± 1.9
delta-HCH	26.8 ± 1.9	30.4 ± 2.9	26.9 ± 2.2	27.6 ± 1.3
Heptachlor	55.6 ± 3.3	69.7 ± 4.9	48.2 ± 3.3	121 ± 6
Aldrin (HHDN)	22.7 ± 1.8	23.2 ± 2.2	22.6 ± 1.9	23.5 ± 1.1
Heptachlor-endo-epoxide	31.7 ± 2.2	32.0 ± 1.9	29.5 ± 1.6	58.1 ± 3.1
alpha-Endosulfan	ND	35.6 ± 2.5	ND	ND
4,4'-DDE	24.6 ± 1.8	25.1 ± 0.9	24.3 ± 1.3	24.5 ± 1.1
Dieldrin	60.4 ± 4.9	98.9 ± 6.1	29.4 ± 2.2	46.1 ± 3.6
Endrin	127 ± 5	1260 ± 23	68.6 ± 4.9	168 ± 10
beta-Endosulfan	27.1 ± 1.1	159 ± 7	28.3 ± 1.5	27.7 ± 1.1
4,4'-DDD	30.0 ± 2.3	30.3 ± 1.6	29.8 ± 1.3	29.8 ± 0.9
Endrin-aldheyde	71.9 ± 5.2	128 ± 10	ND	48.7 ± 3.1
Endosulfan-sulfate	33.3 ± 1.1	33.8 ± 1.5	32.6 ± 1.1	33.1 ± 1.8
4,4'-DDT	38.1 ± 1.1	36.6 ± 1.3	35.6 ± 1.8	35.7 ± 2.5
Endrin-ketone	31.0 ± 0.9	34.0 ± 0.8	28.8 ± 1.0	29.0 ± 1.2
Methoxychlor	39.5 ± 0.1	39.7 ± 0.1	39.5 ± 0.1	39.7 ± 0.1

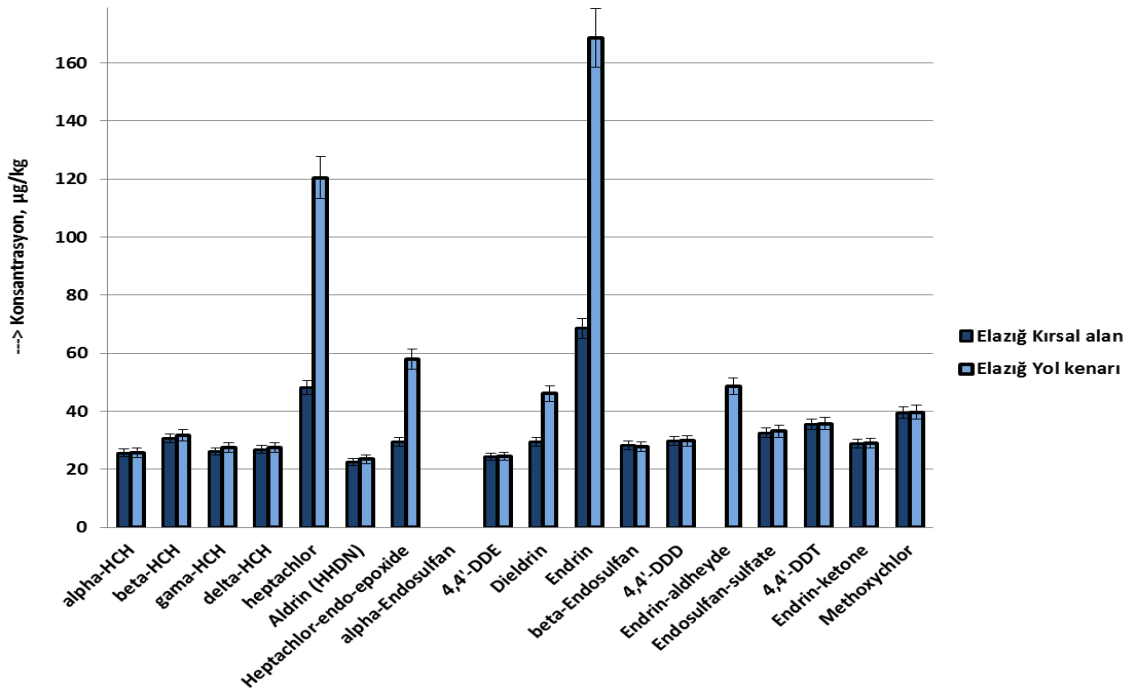
Tablo 2 incelendiğinde gama HCH ve alpha-endosulfan bileşiği Diyarbakır kırsal alanında toplanan hatmi bitkisinde tayin sınırının altında bulunmuştur. Diyarbakır kırsal alan ve yol kenarında toplanan hatmi örneğinde alpha-HCH, beta-HCH, delta-HCH, Aldrin (HHDN), Heptachlor-endo-epoxide, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD, Endosulfan-sulfate, 4,4'-DDT, Endrin-ketone ve Methoxychlor pestisidinin miktarı yaklaşık olarak aynı konsantrasyonda bulunmuştur. Diyarbakır yol kenarından ve kırsal alanda toplanan hatmi bitkisindeki diğer pestisitlerin konsantrasyon değerleri; Heptachlor için yaklaşık 1.3 kat, Dieldrin ve Endrin-

aldheyde için yaklaşık miktarı 1.6 kat, Endrin için yaklaşık miktarı 10 kat, beta-Endosulfan için yaklaşık miktarı 6 kat olarak belirlenmiştir. Bunların pestisit-konsantrasyon grafiği Şekil 2’de verilmiştir. Ayrıca endosulfan bileşiği pamuk üretiminde insektisit olarak kullanıldığından atmosfer yoluyla taşınma ihtimalini güçlendirmektedir.

Ayrıca Elazığ ili için Tablo 2 incelendiğinde alpha-endosulfan bileşiği tayin sınırının altında bulunmuştur. Elazığ kırsal alan ve yol kenarında toplanan hatmi örneğinde alpha-HCH, beta-HCH, gama-HCH, delta-HCH, Aldrin (HHDN), 4,4'-DDE, beta-Endosulfan, 4,4'-DDD, Endosulfan-sulfate, 4,4'-DDT, Endrin-ketone ve Methoxychlor pestisidinin miktarı yaklaşık olarak aynı konsantrasyonda bulunmuştur. Elazığ yol kenarından ve kırsal alanda toplanan hatmi bitkisindeki diğer pestisitlerin konsantrasyon değerleri; Heptachlor için yaklaşık 3 kat, Heptachlor-endo-epoxide için yaklaşık miktarı 2 kat, Dieldrin için yaklaşık miktarı 1.6 kat, Endrin için yaklaşık miktarı 2.5 kat olarak belirlenmiştir. Endrin-aldheyde miktarı kırsal alanda belirlenmezken yol kenarlarında 48.7 µg/kg olarak bulunmuştur. Bunların pestisit-konsantrasyon grafiği Şekil 3’te verilmiştir.



Şekil 2. Diyarbakır kırsal alan ve yol kenarından toplanan beyaz hatmi bitkisinin pestisit konsantrasyon grafiği.



**Şekil 3.** Elazığ kırsal alan ve yol kenarından toplanan beyaz hatmi bitkisinin pestisit konsantrasyon grafiği.

Sonuç olarak Diyarbakır ilinden toplanan yol kenarındaki hatmi bitkisi örneğindeki pestisit konsantrasyonu genel olarak Elazığ ilinden toplanan örnekten daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Elazığ ilinde heptaklor bileşenli pestisitler daha yoğun kullanılmaktadır. Endrin ve beta-endosulfan türü pestisitler ise Diyarbakır ilinde daha fazla kullanıldığı yorumuna götürebilmektedir. Diyarbakır ilinde daha fazla tarımın yapıldığı ve Endrin gibi organoklorlu pestisitlerin bozunmadan kalması, bir yerden diğer bir yere taşınması ve biyoakümülyasyon özelliği ile birlikte yüksek toksisiteye sebep teşkil edebilmektedir.

## TEŞEKKÜR

Kırklareli Üniversitesine sağladığı imkanlar için teşekkürlerimi sunarım.



## KAYNAKLAR

- [1] Arellano, L., Grimalt, J. O., Fernandez, P., Lopez, J. F., Nickus, U., Thies, H., Persistent organic pollutant accumulation in seasonal snow along an altitudinal gradient in the Tyrolean Alps. *Environ. Sci. Pollut. Research*, 21(22), S 12638–12650, 2014.
- [2] Bartrons, M., Grimalt, J. O., Catalan, J., Food web bioaccumulation of organohalogenated compounds in high mountain lakes. *Limnetica*, 31(1), S 155–163, 2012.
- [3] Carrera, G., Fernandez, P., Grimalt, J. O., Ventura, M., Camarero, L., Catalan, J., et al. Atmospheric deposition of organochlorine compounds to remote high mountain lakes of Europe. *Environmental Science & Technology*, 36(12), S 2581–2588, 2002.
- [4] Barriada-Pereira, M., Concha-Grana, E., Gonzalez-Castro, M.J., Muniategui-Lorenzo, S., Lopez-Mahia, P., Prada-Rodriguez, D., Fernandez-Fernandez, E., Microwave-assisted extraction versus Soxhlet extraction in the analysis of 21 organochlorine pesticides in plants. *J.Chromatograp. A*, 1008, S 115-122, 2003.
- [5] Favari, L., Lopez, E., Martinez-Tabche, L., Diaz-Pardo, E., Effect of Insecticides on Plankton and Fish of Ignacio Ramirez Reservoir (Mexico): A Biochemical and Biomagnification Study, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 51, S 177–186, 2002.
- [6] Vural, N., “Toksikoloji”, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73, Ankara, 342 -363, 2005.
- [7] Wong, C. K. C., Leung, K. M., Poon, B. H. T., Lan, C. Y., Wong, M. H., Organochlorine hydrocarbons in human breast milk collected in Hong Kong and Guangzhou. *Archives of Environ. Contamin. Toxicol.*, 43, S 364-372, 2002.
- [8] Rajendran, R. B., Venugopalan, V. K., Ramesh, R., Pesticide residues in air from coastal environment, South India. *Chemosphere*, 39, S 1699-1706, 1999.
- [9] Ozcan, C., Dilgin, Y., Yaman, M., Determination of Quercetin in Medicinal Plants Such as Rose Hip (*Rosa canina*), Bettle (*Urtica dioica*), Terebinth (*Terebinthina chica*) and Purslane (*Portulaca oleracea*) using HPLC-MS Method, *Asian J. Chem.* 24(8), S 3396-3400, 2012.
- [10] Ozcan, C., Yaman, M., Determination of Kaempferol in *Rosa canina*, *Urtica Dioica*, *Terebinthina Chica* and *Portulaca Oleracea* by HPLC-MS *Asian J. Chem.* 25(17), S 9758-

9762, 2013.

[11] Ozcan, C., Yaman, M., Determination of Myricetin in Medicinal Plants by High-Performance Liquid Chromatography, *Instrumen. Sci. Technol.* 43, S 44-52, 2015.

[12] Chowdhury, M. T. I., Razzaque, M. A., Khan, M. S. I., Chlorinated pesticide residue status in tomato, potato and carrot, *J. Experiment. Sci.*, 2(1), S 1-5, 2011.

[13] Lehotay, S.J., De Kok, A., Hiemstra, M., and Van Bodegraven, P., Validation of a Fast and Easy Method for the Determination of Residues from 229 Pesticides in Fruits and Vegetables Using Gas and Liquid Chromatography and Mass Spectrometric Detection, *J.AOAC Int.* Vol. 88(2), S 595-614, 2005.

[14] Lehotay, S.J., Son, K.A., Kwon, H., Koesukwiwat, U., FU, W., Mostowska, K., Hoh, E., Leepipatpiboon, N., Comprasion of Quechers Sample Preparation Methods for the Analysis of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables, *J. Chromotograp. A*, 1217, S 2548-2560, 2010.

[15] Türköz, G. VE Hışıl, Y., Pestisit Kalıntılarının Analizlerinde Son Gelişmeler, *Dünya Gıda*, 5, S 76-79, 2008.