



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI PESTİSİTLERİN GENOTOKSİK ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

FAZİLET ESRA İNCEDERE  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Türkan YURDUN

İSTANBUL-2009

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans

Anabilim Dalı : Farmasötik Toksikoloji

Tez Sahibi : Fazilet Esra İncedere

Tez Başlığı : Bazı Pestisitlerin Comet Tekniği Kullanılarak Genotoksik Etkilerinin Araştırılması

Sınav Yeri : Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Sınav Tarihi : 30.07.2009

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)**

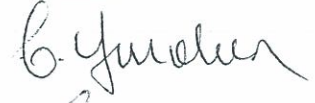
**Kurumu**

**İmza**

Prof. Dr. Türkan Yurdun

M.Ü. Eczacılık Fakültesi

F. Toksikoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Semra Şardaş

M.Ü. Eczacılık Fakültesi

F. Toksikoloji Anabilim Dalı



Doç. Dr. Levent Kabasakal

M.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 07./08/2009 tarih ve 18. sayılı kararı ile

onaylanmıştır.



Prof. Dr. Nimet GENÇOĞLU 4.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

30 Temmuz 2009

Fazilet Esra İNCEDERE

*Canım ailem için...*

## **I. TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans eğitimin boyunca hep yanımda olan, bilgi ve önerilerini benden esirgemeyen ve beni hep yüreklendiren değerli hocam Sn. Prof. Dr. Türkan YURDUN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım süresince her zaman yardımına koőan, beni hiçbir zaman yarı yolda bırakmayan Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'ndan Arő. Gör. Seher KARSLI ÇEPPİOĞLU'na çok teşekkür ederim.

## **II. İÇİNDEKİLER**

I. TEŞEKKÜR	iii
II. İÇİNDEKİLER	iv
III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	vii
IV. ŞEKİL VE TABLOLARIN LİSTESİ	ix

<b>1. ÖZET</b>	1
<b>2. SUMMARY</b>	2
<b>3. GİRİŞ ve AMAÇ</b>	3
<b>4. GENEL BİLGİLER</b>	5
4.1. Pestisitler	5
4.2. Organofosforlu Pestisitler	6
4.2.1. Genel bilgiler	6
4.2.1.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri	7
4.2.1.2. Çevresel taşınma ve dağılım	8
4.2.1.3. Kinetik ve metabolizma	8
4.2.1.4. Toksik etki mekanizması	9
4.2.1.5. Toksikite belirtileri	10
4.2.1.6. Tanı	12
4.2.1.7. Tedavi	12
4.2.2. Azinphos ethyl	13
4.2.2.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri	13
4.2.2.2. Metabolik yolları	13
4.2.2.3. Toksik etkileri	15
4.2.3. Chlorpyrifos methyl	16
4.2.3.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri	16
4.2.3.2. Metabolik yolları	16
4.2.3.3. Toksik etkileri	17
4.2.4. EPN	18
4.2.4.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri	18
4.2.4.2. Metabolik yolları	19

4.2.4.3. Toksik etkileri	20
4.3. Karbamat Grubu Pestisitler	22
4.3.1. Genel bilgiler	22
4.3.1.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri	22
4.3.1.2. Çevresel taşınma ve dağılım	23
4.3.1.3. Kinetik ve metabolizma	23
4.3.1.4. Toksik etki mekanizması	24
4.3.1.5. Toksikite belirtileri	25
4.3.1.6. Tedavi	26
4.3.2. Aldicarb sulfon	27
4.3.2.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri	27
4.3.2.2. Metabolik yolları	27
4.3.2.3. Toksik etkileri	29
4.3.3. Ethiofencarb	30
4.3.3.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri	30
4.3.3.2. Metabolik yolları	30
4.3.3.3. Toksik etkileri	32
4.4. Pestisitlerin Genotoksik Etkileri	33
4.4.1. Genotoksisitenin belirlenmesinde kullanılan mutajenesite testlerine örnekler	34
4.4.1.1. Comet tekniği ile yapılan bazı pestisit çalışmaları	35
4.4.2.1. Diğer genotoksisite testleri ile yapılan bazı pestisit çalışmaları	39
4.5. Pestisit Kalıntılarının Meyva Sularında Analizleri	41
<b>5. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	42
5.1. Gereç	42
5.1.1. Kimyasal maddeler ve sarf malzemeleri	42
5.1.2. Cihazlar	43
5.1.3. Çözeltiler	43
5.2. Yöntem	44
5.2.1. Lenfositlerde DNA hasarının Comet tekniği ile <i>in vitro</i> tayini	44
5.2.1.1. Kan örneklerinin alınması	44
5.2.1.2. Lenfosit örneklerinin hazırlanması	44

5.2.1.3. Pestisit standartlarının hazırlanması ve lenfositler ile muamele	45
5.2.1.4. Hücre sayımı	45
5.2.1.5. Comet tekniği	45
5.2.1.6. Boyama	46
5.2.1.7. Değerlendirme	46
5.2.2. DAD/YBSK ile pestisitlerin analizi	47
5.2.2.1. Örneklerin alınması	47
5.2.2.2. Pestisit standartlarının hazırlanması	47
5.2.2.3. Örneklerin ekstraksiyonu	47
5.2.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi	49
5.2.2.5. Geri kazanım çalışmaları	49
<b>6. BULGULAR</b>	51
6.1. DNA Hasarının Comet Tekniği ile Araştırılması	51
6.1.1. Aldicarb sulfon	51
6.1.2. Ethiofencarb	55
6.1.3. Azinphos ethyl	59
6.1.4. Chlorpyriphos methyl	63
6.1.5. EPN	67
6.2. Pestisitlerin DAD/YBSK ile Analizleri	71
6.2.1. Geri kazanım çalışmaları	75
<b>7. TARTIŞMA ve SONUÇ</b>	76
<b>8. KAYNAKLAR</b>	82
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	90



### III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

<b>2-PAM</b>	Pralidoksim=2-piridin aldoksim metil iyodür
<b>8-OH-dG</b>	8-hidroksi 2-deoksiguanozin
<b>AChE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>Ach</b>	Asetilkolin
<b>BHC</b>	Benzene hexa chloride
<b>CA</b>	Kromozomal aberasyon
<b>CHO</b>	Chinese hamster ovary
<b>CK</b>	Hücre döngüsü kinetiği
<b>DAD</b>	Diode Array detektör
<b>DEDA</b>	Düşük erime dereceli agaroz
<b>DMSO</b>	Dimetilsülfoksit
<b>DT<sub>50</sub></b>	Toprakta yarılanma ömrü
<b>EDTA</b>	Etilendiamin tetra asetik asit
<b>EPN</b>	O-Ethyl O-(4-nitrophenyl) phenylphosphonothioate
<b>FD</b>	Floresan detektör
<b>HPLC</b>	High performance liquid chromatography
<b>i.p.</b>	intraperitoneal
<b>i.m.</b>	intramüsküler
<b>i.v.</b>	intravenöz
<b>LC<sub>50</sub></b>	Letal konsantrasyon, deney hayvanlarının %50'sini öldüren havadaki madde konsantrasyonu
<b>LD<sub>50</sub></b>	Letal doz, deney hayvanlarının % 50'sini öldüren doz
<b>LOD</b>	Teşhis (deteksiyon) sınırı
<b>LOQ</b>	Tayin limiti
<b>MI</b>	Mitotik indeks
<b>MN</b>	Mikronükleus
<b>MRL</b>	Maksimum kalıntı limiti
<b>MS</b>	Kütle spektrometresi
<b>MTT</b>	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

<b>NEDA</b>	Normal erime dereceli agaroz
<b>NPD</b>	Azot-Fosfor detektör
<b>NTE</b>	Nöropatik target (hedef) esteraz
<b>r</b>	Korelasyon katsayısı
<b>RSD</b>	Bağıl standart sapma
<b>s.c.</b>	subkütan
<b>SCE</b>	Sister chromatid exchange
<b>SCGE</b>	Single cell gel electrophoresis
<b>SPE</b>	Solid phase extraction
<b>TEPP</b>	Tetraethylpyrophosphate
<b>TCS</b>	Total Comet skoru
<b>t<sub>r</sub></b>	Alıkonma zamanı
<b>YBSK</b>	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

## IV. ŞEKİL VE TABLOLARIN LİSTESİ

### İ) ŐEKİLLERİN LİSTESİ

**Şekil 1.** Organofosforlu pestisitlerin ana gruplarının genel formülleri ( $R_1=R_2$ =etil veya metil grubu)

**Şekil 2.** Azinphos ethyl'in moleköl yapısı

**Şekil 3.** Azinphos ethyl'in ph=ışık ile bozunması ve s=topraktaki, p=bitkilerdeki ve a=hayvanlarda tespit edilen metabolitleri

**Şekil 4.** Chlorpyriphos methyl'in moleköl yapısı

**Şekil 5.** Chlorpyriphos methyl'in h=hidrolizi ve s=toprakta, p=bitkilerde, i=böceklerde ve a=hayvanlarda tespit edilen metabolitleri

**Şekil 6.** EPN'nin moleköl yapısı

**Şekil 7.** EPN'nin h=hidrolizi, termal  $\Delta$ =izomerizasyonu ve s=toprakta, mi=mikroorganizmalarda, p=bitkilerde, r=sıçanlarda, c=tavuklarda ve a=hayvanlarda tespit edilen metabolitleri

**Şekil 8.** Karbamatların genel formölü

**Şekil 9.** N-metil karbamat grubu insektisitlerin genel formölü

**Şekil 10.** Karbamatların hidroliz reaksiyonu

**Şekil 11.** Aldicarb sulfon'un moleköl yapısı

**Şekil 12.** Aldicarb sulfonun c=hidrolitik parçalanması ve s=toprakta, p=bitkilerde ve a=hayvanlarda tespit edilen metabolitleri

**Şekil 13.** Ethiofencarb'ın moleköl yapısı

**Şekil 14.** Ethiofencarb'ın ph=fotodegradasyon ürünleri s=toprakta, p=bitkilerde a=hayvanlarda tespit edilen metabolitleri

**Şekil 15.** Comet tekniği ile DNA hasar derecelerinin değerlendirilmesi

**Şekil 16.** Portakal suyu örneklerinin SPE kolondan ekstraksiyonu

**Şekil 17.** Aldicarb sulfon ile lenfositlerde (A) 30 dak.; (B) 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı

**Şekil 18.** Aldicarb sulfon ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

**Şekil 19.** Ethiofencarb ile lenfositlerde (A) 30 dak.; (B) 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı

**Şekil 20.** Ethiofencarb ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

**Şekil 21.** Azinphos ethyl ile lenfositlerde (A) 30 dak.; (B) 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı

**Şekil 22.** Azinphos ethyl ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

**Şekil 23.** Chlorpyriphos methyl ile lenfositlerde A (30 dak.); B (2 saat) inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı

**Şekil 24.** Chlorpyriphos methyl ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

**Şekil 25.** EPN ile lenfositlerde A (30 dak.); B (2 saat) inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı

**Şekil 26.** EPN ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

**Şekil 27.** Pestisit içermeyen portakal suyu örneğine ait kromatogram

**Şekil 28.** Aldicarb sulfon (300 ng), ethiofencarb (150 ng), chlorpyriphos methyl (150 ng), EPN (100 ng) ve azinphos ethyl (100 ng) standart karışımlarına ait kromatogram

**Şekil 29.** Pestisitlerin ölçü eğrileri (a) aldicarb sulfon (150, 300 ve 450 ng), (b) ethiofencarb (75, 150 ve 225 ng), (c) chlorpyriphos methyl (75, 150 ve 225 ng), (d) azinphos ethyl (50, 100 ve 150 ng), (e) EPN (50, 100 ve 150 ng)

**Şekil 30.** Aldicarb sulfon (A), ethiofencarb (B), azinphos ethyl (C), chlorpyriphos methyl (D) ve EPN (E)'nin DAD/YBSK'den elde edilen kromatogramdaki piklerin (Şekil 27.) spektrumları

**Şekil 31.** Aldicarb sulfon, chlorpyriphos methyl ve azinphos ethyl (500 ng) ilave edilmiş portakal suyu örneğine ait kromatogram

## ii) TABLOLARIN LİSTESİ

**Tablo 1.** Toksikite derecelerine göre sınıflandırılması

**Tablo 2.** Çalışmamız ile kaynaklarda bulunan bazı çalışmaların karşılaştırılması

**Tablo 3.** Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Bulunmasına İzin Verilen Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri

**Tablo 4.** Aldicarb sulfon ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 5.** Aldicarb sulfon ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 6.** Ethiofencarb ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 7.** Ethiofencarb ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 8.** Azinphos ethyl ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 9.** Azinphos ethyl ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 10.** Chlorpyriphos methyl ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 11.** Chlorpyriphos methyl ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 12.** EPN ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam comet skorları (TCS)

**Tablo 13.** EPN ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve toplam Comet skorları (TCS)

**Tablo 14.** Pestisit standartlarının ölçü eğrisi doğru denklemi, korelasyon katsayısı (r), teşhis (deteksiyon) sınırı (LOD), tayin limiti (LOQ)

**Tablo 15.** Çalışılan pestisitlerin alıkonma zamanları ( $t_R$ ), portakal suyundan % geri kazanım oranları ve bağıl standart sapma değerleri (% RSD)

## 1. ÖZET

Pestisitler tarımda yaygın olarak kullanılan kimyasallardır. Halk sağlığı ve zirai programlarda pestisitlerin yaygın kullanımları çevre kirliliğine, ciddi akut ve kronik zehirlenmeler sonucu sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Bu bileşiklerden bazıları biyolojik olarak parçalanamaz, çevrede birikir ve yüksek konsantrasyonlarda toksik etkiler gösterirler. Pestisitlere düşük dozlarda uzun dönem maruziyet sonucunda da kanser ve diğer genotoksik etkiler meydana gelebilir.

Comet tekniği (tek hücre jel elektroforez= single cell gel electrophoresis=SCGE) hücrelerde DNA'da zincir kırıkları ve alkali labil bölgelerdeki hasarı belirlemek için kullanılan hızlı ve hassas bir yöntemdir. Bu çalışmada, sağlıklı insanlardan alınan periferik kan örneklerinden lenfositler kullanılarak *in vitro* olarak bazı pestisitlerin, karbamat sınıfından aldicarb sulfon, ethiofencarb ve organofosfat grubundan azinphos ethyl, chlorpyrifos methyl ve EPN'nin olası genotoksik etkileri araştırıldı. Hücreler 10, 50 ve 100 µg/mL standart pestisitler ile 30 dak. ve 2 saat 37 °C'de inkübe edildi. Negatif kontrol olarak 10 µL dimetil sülfoksit ile pozitif kontrol olarak 400 mmol hidrojen peroksit kullanıldı. Hücreler düşük erime dereceli agaroz ile süspanse edilip normal erime dereceli agaroz ile kaplanmış lamlara yayıldı. Lamlar lizis tamponunda +4 °C'de 2 saat bekletildi. Elektroforez işlemi, taze ve soğuk hazırlanmış, elektroforez tampon çözeltisinde 30 dak. 300 mA'de gerçekleştirildi. Örnekler etidyum bromür ile boyandı ve floresans mikroskopunda analiz edildi. Çalışmada, aldicarb sulfon, ethiofencarb, azinphos ethyl, chlorpyrifos methyl ve EPN'nin inkübasyon süresine ve doza bağlı olarak DNA hasarını artırdığı gözlemlendi.

Portakal sularında pestisitlerin kalıntı analizleri, ekstraksiyon ve temizleme işlemlerinden sonra diode array detektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile gerçekleştirildi. İncelenen 16 portakal suyu örneğinde pestisitlere rastlanmadı.

**Anahtar Kelimeler: Comet tekniği; karbamat pestisitleri; organofosforlu pestisitler; portakal suyu; yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK)**

## 2. SUMMARY

### ANALYSIS OF THE GENOTOXIC EFFECTS OF SOME PESTICIDES WITH USING COMET ASSAY

Pesticides are extensively used chemicals in agriculture. The widespread use of pesticides in public health and agricultural programs has led to environmental pollution and health hazards, including cases of severe acute and chronic human poisoning. Some of these compounds are not biodegradable and thus accumulate in the environment and tend to be toxic at higher concentrations. Low level long term exposure to pesticides can lead to cancer and other genotoxic disorders.

The Comet assay (single cell gel electrophoresis=SCGE) is a rapid and sensitive method for detection of strand breaks and alkali-labile sites in DNA. In the study, the genotoxic potential of some pesticides, aldicarb sulfon, ethiofencarb from carbamate class and azinphos ethyl, chlorpyriphos methyl and EPN from organophosphate class, have been evaluated *in vitro* using lymphocytes from peripheral blood samples of healthy human donors. The cells were incubated with 10, 50 and 100 µg/mL of the test substances for 30 min. and 2 hours at 37 °C. 10 µL dimethylsulphoxide used as negative control and 400 mmol hydrogen peroxide as positive control. Cells were suspended in low melting point agarose and deposited on a fully frosted microscope slide coated with normal melting point agarose. The slides were sunk into the lysis buffer for 2 h at +4 °C temperature. Electrophoresis was carried out in fresh, chilled electrophoresis buffer for 30 min. at 300 mA. The samples were stained with ethidium bromide and analyzed with a fluorescence microscope. In the present study, aldicarb sulfone, ethiofencarb, azinphos ethyl, chlorpyriphos methyl and EPN increased DNA damage in relation to their dose and incubation time.

Pesticides analyses in orange juices were performed using high performance liquid chromatography with diode array detector, after extraction and sample clean-up procedure. Pesticides were not detected in 16 samples of orange juice.

**Keywords:** Carbamate pesticides; Comet assay, organophosphorus pesticide; orange juice; high performance liquid chromatography (HPLC)

### 3. GİRİŞ ve AMAÇ

Pestisitler, istenmeyen böcek, mikroorganizma, yabancı ot ve zararlıları öldürmek, ortadan kaldırmak, çoğalmalarını önlemek, ortamdaki uzaklaştırmak ve azaltmak için kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik aktif maddelerdir. Pestisitler, pestlerin kontrolünde yüzyıllardan beri kullanılmaktadır.

II. Dünya savaşından sonra dünya yiyecek tüketiminin artışı sonucunda tarımda pestisitlerin kullanımı artış göstermiştir. Pestisitlerin kullanımı ve endüstriyel ürünlerin yaygınlaşmasından dolayı artan çevre kirliliği, besinlerin, suyun ve toprağın bu kimyasalların ve metabolitlerinin kalıntıları ile kirlenmesine neden olmuştur (1).

Günümüzde organoklorlu pestisitlerin yerine önemli bir sınıf olan N-metilkarbamatlar ve organofosforlu pestisitler tarımda yaygın olarak kullanılır. Pestisitlerin faydalı olmalarının yanında bu kimyasallardan bazıları insanlara ve çevreye zarar verebilir. Pestisitlere düşük dozlarda uzun süre maruziyet sonucu kanser ve genotoksik etkiler meydana gelebilir ve genotoksik hasarın, karsinojenik risk için uygun bir biyogösterge olabileceği düşünülebilir. Bu yüzden pestisitlerin yaygın kullanımları sonucu halk sağlığı üzerine verecekleri zararlar endişe yaratmaktadır. Genotoksik hasarın izlenmesi, mesleki toksikoloji açısından pestisit uygulayıcılarının karşılaşabilecekleri muhtemel maruziyeti, pestisit imalatı sırasında pestisitlerin inhalasyonu nedeniyle ve oluşabilecek deri kontaminasyonu sonucu gelişebilecek risk açısından işçilerin güvenliği hakkında bilgi edinme önem kazanmaktadır. Pestisitlerin insan ve çevre üzerine olumsuz etkileri nedeniyle pestisitlerle yapılan çalışmaların sayısı günümüzde artmaktadır (60).

Halk sağlığı yönünden problem olan pestisitlerin gıdalarda özellikle meyva ve meyva sularında (29, 50, 57, 61, 63, 82) ve sularda (4, 55) analizleri konusunda ve günümüzde tarımda kullanılan pestisitlerin sayısının fazlalığı göz önüne alınırsa DNA hasarının belirlenmesi ve pestisitlerin kalıntı analizleri konularında daha fazla çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.



Comet tekniği birçok hücre tipinde *in vitro* ve *in vivo* olarak genetik hasarı belirlemede kullanılan hızlı, kolay uygulanabilen ve hassas bir tekniktir. Bu alışmada:

✓ Tarımda yaygın olarak kullanılan organofosfat grubundan azinphos ethyl, chlorpyriphos methyl ve EPN, karbamat grubundan aldicarb sulfon ve ethiofencarb'ın insan kan lenfositlerinde olası genotoksik etkileri *in vitro* koşullarda alkali Comet testi ile araştırılması

✓ Piyasadaki farklı marka portakal sularında pestisit kalıntılarının diode array detektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (DAD/YBSK) ile analizlerinin yapılması amaçlanmıştır.

## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. Pestisitler

Pestisitler, istenmeyen böcek, mikroorganizma, yabancı ot ve zararlıları öldürmek, ortadan kaldırmak, çoğalmalarını önlemek, ortamdaki uzaklaştırmak ve azaltmak için kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik aktif maddelerdir. Böcek, fare ve diğer hayvanlar ile istenmeyen bitki ve yabancı otlar, mantar ve küfler, bakteri ve virüs gibi mikroorganizmalara pest denir. Pestisitler, pestlerin kontrolünde yüzyıllardan beri kullanılmaktadır. Pestlerin kontrolünde ilk defa kükürt, M.Ö. 1000 yıllarında Çinliler tarafından fumigant olarak kullanılmıştır. 17. yy'da tütün yapraklarının sulu ekstresi sprey şeklinde insektisit olarak ve *Nux vomica* (*Strychnos nuxvomica*) tohumları kemiricilere karşı kullanılmıştır. 19. yy'da *Derris elliptica* köklerinden elde edilen rotenon ve *Chrysanthemum* çiçeklerinden ekstre edilen piretroidler bitkisel kaynaklı insektisitler olarak kullanılmaktadır (98).

Pestisitlerin hedef organizmalar üzerinde spesifik toksisite göstermeleri istenirken aynı zamanda hedef olmayan, zararsız organizmalar üzerinde de toksisitelerinin minimum olması istenmektedir. Bu amaçla ilk sentez edilen maddelerin ikinci ve üçüncü jenerasyonları olarak isimlendirilen daha güvenilir maddelerin sentezi yapılmıştır. Ancak, her pestisit belli bir toksisitesi vardır ve sağlık açısından tam güvenceli bir pestisit yoktur (89).

Pestisitler, kullanım amaçlarına, kimyasal yapılarına ve toksisite derecelerine (Tablo 1.) göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir (89, 95).

a) Kullanım amaçlarına göre; insektisitler (böceklere karşı), fungusitler (mantar ve küflere karşı), herbisitler (istenmeyen bitki ve yabancı otlara karşı), rodentisitler (sıçan, fare ve diğer kemirgenlere karşı), akarisitler (uyuz böceklerine ve parazitlere karşı), mollusisitler (yumuşakçalara karşı), larvasitler (larvalara karşı), nematisitler (kurtlara karşı) olarak sınıflandırılırlar.

b) Pestisitlerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması

- 1) Organoklorlu pestisitler: DDT, aldrin, dieldrin, endosulfan vb.
- 2) Organofosforlu pestisitler: Chlorpyrifos methyl, azinphos ethyl vb.
- 3) Karbamat grubu pestisitler: Aldicarb, ethiofencarb, carbaryl vb.
- 4) Piretroid pestisitleri: Deltamethrin, cypermethrin, permethrin vb.

c) Pestisitlerin toksisite derecelerine göre sınıflandırılması

**Tablo 1.** Toksikite derecelerine göre sınıflandırılması

Sınıf		Sıçanlar için LD <sub>50</sub> değerleri (mg/kg vücut ağırlığı)			
		Oral		Dermal	
		Katı	Sıvı	Katı	Sıvı
<b>Ia</b>	Aşırı derecede zararlı	≤5	≤20	≤10	≤40
<b>Ib</b>	Yüksek derecede zararlı	5-50	20-200	10-100	40-400
<b>II</b>	Orta derecede zararlı	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
<b>III</b>	Az derecede zararlı	>500	>2000	>1000	>4000

## 4.2. Organofosforlu Pestisitler

### 4.2.1. Genel bilgiler

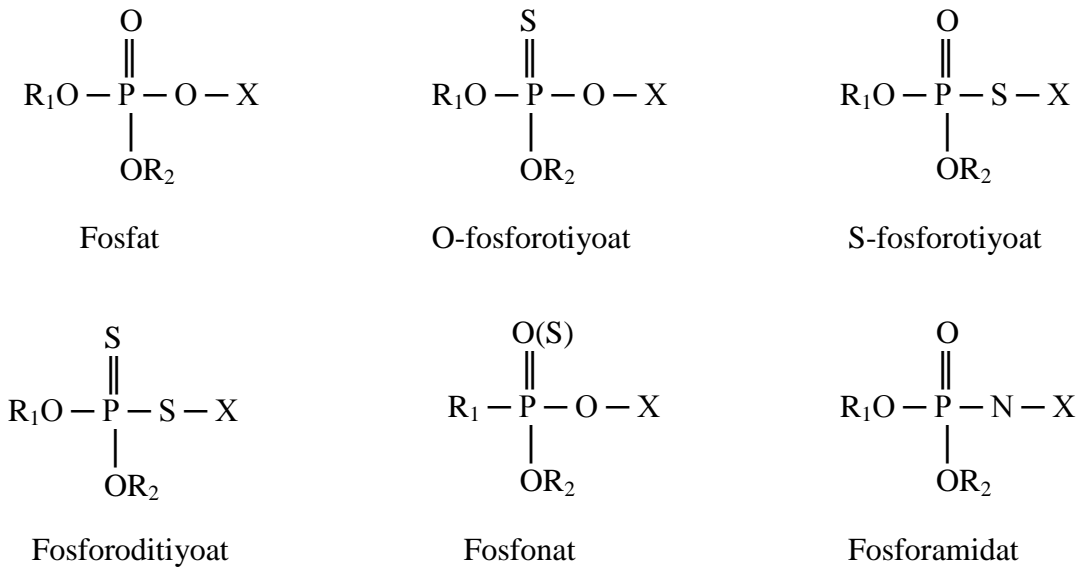
Organofosforlu pestisitler en önemli pestisit grubudur. Tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. Genel olarak insektisit özellikte olmalarına rağmen herbisit olarak da kullanılmaktadır. Endüstriyel kimyasallar olarak geniş dağılımları genel nüfusu etkilemelerine neden olmaktadır (6).

Organofosfat grubu insektisitler ilk defa Gerhard Schrader'in başkanlığında bir grup Alman kimyacı tarafından 1937 yılında sentez edilmiştir. Üretilen birçok test bileşiğinin son derece toksik olduğu ispatlanmış ve Nazilerin denetimi altına alınmıştır. II. Dünya savaşında bazıları kimyasal savaş ajanı olarak geliştirilmiştir. Soman, sarin, tabun gibi organofosforlu bileşikler çok toksiktir. Soman, şu ana kadar sentez edilen en toksik bileşiktir (6, 96). Yaygın olarak kullanılan ilk organofosforlu insektisit tetraethylpyrophosphate (TEPP), son derece toksik bir madde olmakla birlikte yüksek nemde kolayca hidroliz olduğundan kimyasal stabilitesi oldukça sorunludur. Sonrasında daha stabil kimyasallar sentez etmek amacıyla çalışmalar yapılmış ve 1944 yılında parathion (O,O-diethyl-O-p-nitrophenyl phosphorothioate)

ve oksijen analogu paraoxon (O,O-diethyl-O-p-nitrophenyl-phosphate) sentez edilmiştir. İlerleyen zamanda çeşitli formülasyonlarda yüzlerce organofosforlu bileşik üretilmiş ve dünya ticaretine sunulmuştur (21).

#### 4.2.1.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri

Organofosforlu pestisitlerin büyük bir kısmı fosforik ve tiyofosforik asit türevleridir. Oksijen veya kükürt atomunun konfigürasyonuna göre 6 ana grupta toplanmaktadır ( Şekil 1.) (45).



**Şekil 1.** Organofosforlu pestisitlerin ana gruplarının genel formülleri (R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=etil veya metil grubu)

Bu bileşiklerin çoğu viskoz veya katı halde bulunur. Suda az çözünür veya hiç çözünmemektedir. Düşük buhar basıncına sahip olan maddelerdir. Bu bileşiklerin etkili olabilmeleri için nötral pH'da oldukça stabil olmaları gerekir.

Organofosforlu insektisitlerin formülasyonunda kullanılan çözücüler insektisit ile hedef organizma arasındaki teması ve stabiliteyi artırır. Fosfatlar çok uçucudur ve direkt etkili toksik ajanlardır (6, 83).

#### 4.2.1.2. Çevresel taşınma ve dağılım

Hava ve Suya Dağılım: Organofosforlu pestisitlerin (dichlorvos hariç) uçuculukları azdır. Sprey şeklinde kullanıldıklarında küçük miktarlarda rüzgar ile dağılırlar. Endüstriyel atıkların veya atık suların direkt suya boşaltılması ile toksik atıklardaki sızıntıların suya karışması ve akan suyun direkt kirlenme veya spreyleme işlemleri sırasında yüzey ve yeraltı sularına girişim yaparlar (83).

Besinlere Dağılım: Besin maddelerinin organofosforlu pestisitlerle maruziyeti başlıca ekinin büyüme aşamasında olmaktadır. Pestisit uygulamasının ölçeği ve sıklığı bölgelere göre değişebilmektedir. Ilıman bölgelerde pest kontrolü için bir veya iki uygulama yeterliyken, sıcak ve nemli bölgeler için 50 kadar uygulama yapılabilmektedir. Hasatta, ekinin üzerinde kalan miktar, uygulamaya, iki hasat arasındaki zamana ve yağışın etkilerine bağlıdır. Hasattan sonraki aşamalarda besinlerde görülen organofosforlu pestisitlerin miktarlarının giderek azaldığı görülmektedir. Bu azalmanın özellikle hidrolizden kaynaklandığı düşünülmektedir (83).

Çevrede Biyobirikim ve Parçalanma: Çevredeki parçalanmaları esas olarak hidroliz ile gerçekleşmektedir. Işık şiddeti ve pH, pestisitlerin toprak ve suda kalma zamanını, suda yayılmalarını etkileyebilir. Çoğu organofosforlu insektisit pH 3-6 arasında stabildir. Bu insektisitlerin toprakta ve suda parçalanmalarında mikrobiyal faktörler etkili olabilir. Farklı iklim şartları, özellikle sıcaklık ve nem, pestisitlerin çevredeki kalış zamanını etkileyebilir (83).

#### 4.2.1.3. Kinetik ve metabolizma

**Absorpsiyon:** Organofosforlu pestisitler deri, solunum ve gastrointestinal yollardan absorbe olabilir (83).

**Dağılım:** Organofosforlu pestisitler vücuda alındıktan sonra anında metabolize olmaya eğilim gösterdiklerinden, radyoaktif işaretlenmiş maddelerle yapılan çalışmalarda da ana bileşikle ilgili herhangi bir ipucu elde edilememektedir. Dayanıksız bileşikler olduklarından dolayı insan dokularında çok uzun süre

kalmaları mümkün değildir. Çoğu organofosforlu bileşiğin ve metabolitlerinin yarılanma ömürleri genellikle kısadır (83).

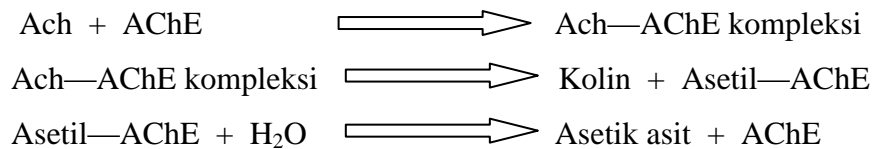
**Metabolizma:** Organofosforlu pestisitlerin metabolizmaları karma fonksiyonlu oksidazlar, hidrolazlar ve transferazlar aracılığıyla gerçekleşmektedir. Oksidasyon reaksiyonları sonucu daha toksik veya daha az toksik ürünler meydana gelebilir. Oksidasyon reaksiyonu, karma fonksiyonlu oksidazlar aracılığıyla gerçekleşmektedir. Başlıca oksidatif desülfürasyon, oksidatif N-dealkilasyon, oksidatif O-dealkilasyon, oksidatif dearilasyon, tiyoeter oksidasyonu ve yan zincir oksidasyonları ile gerçekleşmektedir. Hidroksilasyon reaksiyonları da hidrolazlar aracılığıyla gerçekleşmektedir. Transferazlar aracılığıyla görülen metabolizma reaksiyonları ise genellikle glukuronik asit veya glutatyonla konjugasyondur (83).

**Atılım:** Organofosforlu pestisitlerin çoğu metabolik reaksiyonlar vasıtasıyla çabuk parçalanır. Parçalanma ürünlerinin eliminasyonu genellikle idrar ile olmaktadır ancak feçes ve solunum ile de eliminasyon görülebilmektedir (83).

#### 4.2.1.4. Toksik etki mekanizması

Asetilkolinin eliminasyonu sinaps ve kavşak aralığında bol miktarda bulunan asetilkolinesteraz enzimi (AChE) tarafından hidroliz edilerek kolin ve asetik asite dönüştürmek suretiyle olur (40). AChE, çoğunlukla eritrosit, plazma, kemik iliği, karaciğer, dalak ve akciğerde bulunmaktadır. Psödokolinesteraz (plazma kolinesterazı) plazmada, karaciğer, pankreas ve kalp dokularında bulunmaktadır (45).

AChE enziminin anyonik bölgeleriyle ester bağı yapan asetilkolin (Ach), inaktif bileşiklerine hidroliz olur. Enzim daha sonra reaktive olmaktadır.



Organofosforlu pestisitler sinir sisteminde AChE enzimini irreversibl olarak inhibe eder. Asetilkolinin hidrolizi gerçekleşemediğinden otonomik ve

somatik sinir sisteminde asetilkolin birikir ve reseptörleri uzun süre uyarır. Önce toksik madde ve enzim reversibl bir kompleks yapar. Oluşan kompleks enzimin aktif bölgesiyle ikinci kez kovalan bağlı irreversibl bir kompleks yapar. Bu kompleks çok dayanıklı olup, enzim çok yavaş rejenere olur. Toksik madde-enzim kompleksinden nonenzimatik olarak bir alkil grubunun kopması sonucu enzim yaşlanması (aging) gerçekleşir. Bu durum enzim inhibisyonunu daha kalıcı hale getirir. Toksikite enzimin toksik maddeye olan ilgisine ve fosforillenmiş enzimin hidroliz olma oranına bağlıdır (6, 45, 83, 89).

#### **4.2.1.5. Toksikite belirtileri**

Organofosforlu pestisitler şiddetli akut toksisiteye sahiptir. Birçoğunun (azinphos methyl ve parathion dışında) akut dermal toksisiteleri yüksektir (6). Organofosforlu pestisitlerin ana hedefi AChE enzimidir. AChE enziminin organofosforlu pestisitler tarafından inhibisyonu sonucu asetilkolin birikir. Nikotinik ve muskarinik belirtiler ortaya çıkar; ayrıca nörotoksik etkiler de meydana gelebilmektedir (6, 83, 89).

Organofosforlu pestisitlerle zehirlenme akut veya subakut tipte olabilir. Zehirlenmenin şiddeti AChE enziminin inhibisyon derecesine ve mevcut AChE enziminin aktivitesinin kalan yüzdesine göre değişmektedir (83, 89).

**Muskarinik etkiler:** Artmış bronşiyal sekresyon, tükürük salgılanmasında ve terlemede artış, lakrimasyon, miyozis, bronkokonstrüksiyon, abdominal kramplar, diyare, istek dışı defekasyon, kusma, bradikardi.

**Nikotinik etkiler:** Göz kapakları, dil yüz, ekstremitte kasları ve diğer kaslarda seyirme (fasikülasyon), istem dışı hareketler, güçsüzlük, daha ciddi olgularda diyafram ve solunum kaslarının paralizi.

**Santral sinir sistemi belirtileri:** Ataksi, konfüzyon, konuşma güçlüğü, reflekslerin bozulması, konvülsiyonlar ve koma.

Primer ölüm sebebi genellikle solunum felcidir. Ölüm 5 dak. 24 saate kadar değişen bir sürede gerçekleşir (89).

**Gecikmiş nöropati:** Florlu alkil tipi bileşiklerin (mipafoks, leptofos, trichlorfon, trichloronat, methamidophos gibi), EPN (O-etil-O-p-nitrophenyl benzen thiophosfonat), ve triarilfosfat tipi bileşiklerin (triortokrezilfosfat gibi) deney hayvanlarına uygulanması ve sinir sistemlerinde yapılan histolojik incelemeler sonrasında geniş çaplı aksonlarda, periferik sinirlerin distal kısımlarındaki miyelin kılıflarında ve omurilik yollarında dejenerasyon saptandığı belirtilmektedir. Biyokimyasal incelemelerde, bu maddelerin AChE enziminden farklı nöronal, nonspesifik bir karboksilesteraz olan nöropatik hedef (hedef) esterazı (NTE) inhibe ettiğini göstermiştir. NTE sinir dokusu membranına bağlı ve fonksiyonu belli olmayan bir enzimdir. Nöropati yapan organofosforlu esterlere akut maruziyette NTE önemli oranda (%70'ten fazla) inhibe olur. Bu etkiler zehirlenmeden 2-4 hafta sonra başlamaktadır (40, 89).

Deney hayvanlarında organofosforlu bileşiklerden bazılarının yüksek dozda çizgili kas hücrelerinde nekroz yaptıkları belirtilmiştir (40). Organofosforlu pestisitlerle zehirlenmede 'ara sendrom' denilen bir dönem vardır. Bu dönem akut kolinerjik krizden 24-96 saat sonra fakat gecikmiş nöropatiden önce ortaya çıkar. Başlıca belirtileri kranial sinirlerinin bulunduğu boyun fleksorları (bükücü kaslar) ve solunum sistemi kasları başta olmak üzere adale zayıflığı ve ekstremitelerde zayıflıktır. Bu dönemde solunum depresyonu nedeni ile ölüm riski yüksektir. Bu tip etkiler, fenthion, dimethoat, metamidophos gibi insektisitlere akut maruziyet sonucu görülür (89).

Bazı organofosforlu pestisitlerin hayvan çalışmalarında karsinojenik potansiyeli olmadığı gösterilmiştir. Ancak bazı kimyasallar dichlorvos, tetrachlorvinphos gibi sıçanlarda ve farelerde tümörlere neden olduğu, dichlorofon'un ise domuzlarda teratojenik etkilere sahip olduğu belirtilmiştir. Birçok organofosforlu pestisit mutajenik aktivitelerinin ölçülmesi için test edilmiştir ancak mutajenik aktivitelerine ait herhangi bir genelleme yapılamamaktadır (83).



#### 4.2.1.6. Tanı

Kükürt içeren bileşiklere maruz kalındığında nefes, dışkı, kusmuk ve kıyafetlerde sarımsağa benzer bir koku bulunmaktadır. Atropine olumlu yanıt çok kullanılan diyagnostik bir destektir. Ayrıca, tam kan hücre sayımı, serum-elektrolit seviyesi tespiti, arteriyal pH ve kan gazları analizi, kan glukoz seviyesi tespiti, karaciğer fonksiyon testleri ve idrar analizleri yapılabilir. Ayrıca bu bileşiklerin AChE enziminin inhibisyonuna neden olmaları sebebiyle, eritrosit ve plazmada kolinesteraz aktivitesinin tayini organofosforlu insektisitlere maruziyetin tespit edilmesinde güvenilir olan ve yaygın olarak kullanılan biyolojik endikatördür (45).

#### 4.2.1.7. Tedavi

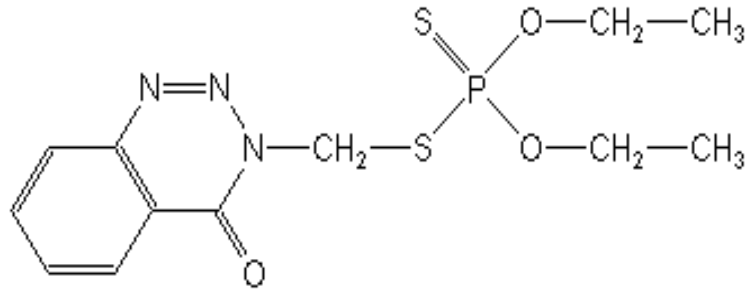
Absorpsiyonun engellenmesi için pestisit bulaşmış kıyafetler ve kontakt lensler mümkün olduğu kadar çabuk çıkarılmalıdır. Cilde temas sağlanmışsa vücut sabun veya sodyum bikarbonat çözeltisiyle iyice yıkanmalıdır. Göze temasta gözler 15-20 dak. su ile yıkanmalıdır. Oral yolla maruziyette kusturma sağlanır ve/veya mide yıkanır. Kusturma işlemi yapılırken kusmukların hava yoluna kaçmasını önlemek için hava yolu açık tutulmalıdır. Gerekirse oksijen takviyesi yapılır. Akut solunum problemleri oluşabileceğinden gerekirse solunum desteği başlatılmalıdır. Hastalar tedavinin başlangıcından itibaren dikkatlice izlenmelidir. Çünkü en önemli konu ciddi solunum depresyonudur. Hasta sıcak ve sakin tutulmalıdır. Zehirlenme sebebi anlaşılır anlaşılmaz hemen atropin verilmelidir. Her 5-10 dak. atropinizasyon belirtileri görülene kadar (ağız kuruluğu, midriyazis, vücutta kızarma, nabız artması, bronşiyal hipersekresyon, dilate olmuş pupiller, salguların azalması gibi) 1-2 mg intravenöz (i.v.) olarak atropin verilmelidir. i.v. terapi mümkün değilse intramüsküler (i.m.) yoldan atropin verilebilir. Çok ciddi olgularda 10 mg/kg ve daha yüksek miktarlarda bolus enjeksiyonlar gerekli olabilir. Organofosforlu pestisitlerle zehirlenmelerde kurtulma şansı AChE enzim inhibisyon derecesine bağlıdır. Atropinle beraber kolinesteraz aktivatörü de mümkün olduğu kadar çabuk verilmelidir. Bu amaçla en çok kullanılan pralidoksim (2-piridin aldoksim metil iyodür=2-PAM) 'dir. 2-PAM, her 4-6 saatte bir 30 mg/kg veya yavaş i.v. infüzyon 8-10 mg/kg/saat olarak iyileşme sağlanana kadar tekrarlanır. Ayrıca obidoksim de kullanılabilir. Obidoksimin yetişkin dozu genellikle 3 mg/kg'dır. Konvülziyonları

gidermek amacıyla diazepam uygulaması yapılır. Diazepam 10-15 dak. 5-10 mg (0.2-0.3 mg/kg) yavaş i.v. olarak semptomlar kaybolana kadar tekrarlanmalıdır (89).

#### 4.2.2. Azinphos ethyl

Azinphos ethyl, geniş spektrumlu, birikim yapmayan ve sistemik etkili olmayan bir organofosforlu insektisit ve akarisit (94).

##### 4.2.2.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri



**Şekil 2.** Azinphos ethyl'in molekül yapısı

Kimyasal adı ve formülü: S-(3,4-dihidro-4-oksobenzo (d)- (1,2,3)- triazin- 3 yl methyl) O,O-diethyl phosphorothioate, C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>PS<sub>2</sub> (Şekil 2.)

Molekül ağırlığı: 345.4 g/mol

Erime derecesi: 50 °C

Kaynama derecesi: 147 °C

Yoğunluğu: 1.284

Çözünürlük: Renksiz kristaller olup suda hemen hemen hiç çözünmez (20°C'de 4-5 mg/L). Çoğu organik çözücüde iyi çözünür.

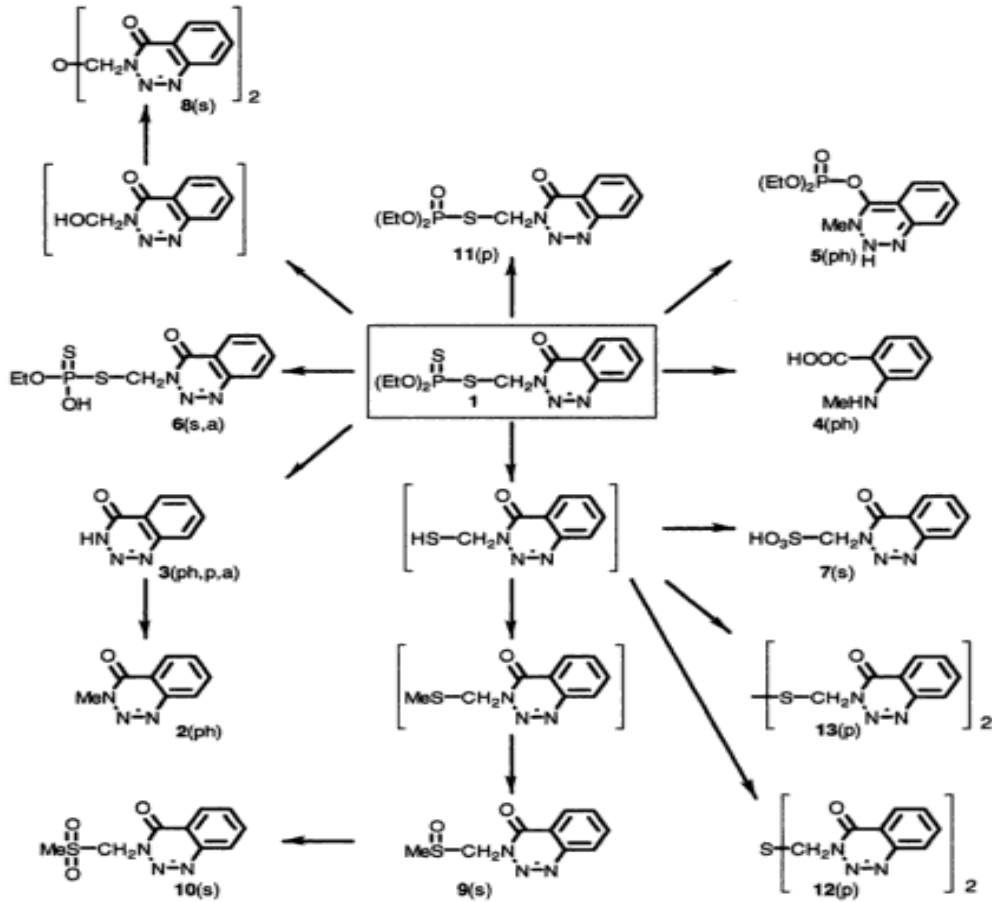
##### 4.2.2.2. Metabolik yolları

**Kimyasal parçalanma:** Azinphos ethyl alkali ve asit ortamda kolayca hidroliz olurken nötral ortamda oldukça stabildir. DT<sub>50</sub> (topraktaki yarılanma ömrü) değerleri pH 4, 7 ve 9'da sırasıyla 3 saat, 270 ve 11 gündür. Işık ile bozunma sonucu dört farklı metabolit meydana gelir. Bunlar; 3-methylbenzazimide=2 (ph), benzazimide=3

(ph,p,a), N-methylantranilic acid=4 (ph) ve O,O-diethyl O-(3-methylbenzo(d-1,2,3)-triazine-4-yl) phosphate=5 (ph) dir (Şekil 3.) (67).

**Toprakta parçalanma:** Azinphos ethyl'in topraktaki yarılanma ömrü birkaç haftadır. Aerobik ve anaerobik şartlar altında azinphos ethyl desethylazinphos ethyl=6 (s,a), benzazimide-3-methanesulfonic acid=7 (s), bis-3-methylbenzazimide ether=8 (s), 3-(methylsulfinylmethyl) benzazimide=9 (s) ve 3-(methylsulfonylmethyl) benzazimide=10 (s) metabolitlerine dönüşmektedir (Şekil 3.) (67).

**Hayvanlarda metabolizma:** Oral uygulamayı takiben memelilerde azinphos ethyl 48 saat içinde %90 dan fazla oranda idrarda ve dışkıda elimine olur. Ana metabolitleri desethylazinphos ethyl=6 (s,a) ve benzazimide=3 (ph,p,a) dir (Şekil 3.) (67).



**Şekil 3.** Azinphos ethyl'in ph=ışık ile bozunması ve s=topraktaki, p=bitkilerdeki ve a=hayvanlarda tespit edilen metabolitleri (67).

#### 4.2.2.3. Toksik etkileri

Memeliler üzerinde çok toksik olduğundan WHO sınıflandırmasında Ib sınıfına (yüksek derecede zararlı) girmektedir (95). Oral LD<sub>50</sub> değerleri sıçanda 12 mg/kg, dişi sıçanda 7.2 mg/kg, erkek sıçanda 15.2 mg/kg ve dermal LD<sub>50</sub> değerleri sıçanda 72-280 mg/kg, dişi sıçanda 402 mg/kg (24 saat maruziyet), erkek sıçanda 545 mg/kg (24 saat maruziyet)'dir (94).

Erkek sıçanlara 28 gün boyunca oral yoldan 1.0 mg/kg azinphos ethyl verilmiş, ancak toksisitesi ile ilgili herhangi bir klinik belirti gözlemlenmediği ve vücut ağırlığında ise bir değişim olmadığı bildirilmiştir. 2 gün sonra eritrosit kolinesteraz aktivitesi %50 azalmış, 3 gün sonra %82 ve 28 günün sonunda %90 azaldığı belirlenmiştir. Kolinesteraz aktivitesi, uygulamadan 35 gün sonra normal seviyelere çıkmıştır. Azinphos ethyl, erkek ve dişi tavşanlara 3 hafta boyunca 7 saatte bir 15 kez 0.1-0.05 mg/kg dozda dermal olarak uygulanmış ve hiçbir etkinin görülmediği doz 0.05 mg/kg olarak bildirilmiştir. Erkek ve dişi sıçanlar 3 hafta boyunca 6 saatte bir 15 kere 0, 0.3, 1.8 veya 12.7 mg/m<sup>3</sup> azinphos ethyl ile hazırlanmış hava ile muamele edilmiş, hiçbir etkinin görülmediği doz 0.3 mg/m<sup>3</sup> olarak bildirilmiştir. Bir grup dişi sıçana 0.5, 1, 2 ve 3 mg/kg azinphos ethyl 60 gün boyunca intraperitoneal (i.p.) yoldan verilmiştir. Sadece en yüksek iki dozun, vücut ağırlığında değişimlere neden olduğu ve ölüm oranını artırdığı gözlenmiştir. Azinphos ethyl'in vücut dokularında düşük dozlarda birikim yapmadığı, fakat yüksek dozlarda birikim yaptığı bildirilmiştir (94).

**Karsinojenite:** Uzun dönem çalışmada fare ve sıçanlarda sırasıyla 11.3 ve 32 mg/kg dozlarda karsinojenik etkilere rastlanmadığı bildirilmiştir (94).

**Teratojenite:** Sıçan ve tavşanlarda yapılan çalışmalarda embriyonik ve teratojenik bir etkiye rastlanmadığı bildirilmiştir (94).

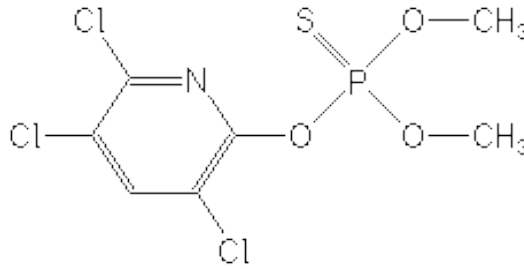
**Mutajenite:** Azinphos ethyl'in Ames testi (Salmonella/Microsome Test), mikronükleus ile yapılan çalışmalarda mutajenik olmadığı bildirilmiştir (94).

**Nörotoksisite:** Tavuklara 30 gün boyunca 75, 150, 300 ve 600 mg/kg azinphos ethyl uygulandığı ve uygulama esnasında veya uygulamadan 4 hafta sonra klinik ve histolojik bir bulguya rastlanmadığı bildirilmiştir (94).

#### 4.2.3. Chlorpyriphos methyl

Chlorpyriphos methyl, yaprak bitleri, kırkayak, bitki ve yaprak pireleri, çekirge ve özellikle depolanmış hububat pestlerinin kontrolü gibi çok çeşitli alanlarda insektisit olarak kullanılan geniş spektrumlu organofosfat grubu bir pestisittir (67, 93).

##### 4.2.3.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri



**Şekil 4.** Chlorpyriphos methyl'in molekül yapısı

Sinonimleri: Croneton, HOX 1901

Kimyasal adı ve formülü: O,O-dimethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate, C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>PS (Şekil 4.)

Molekül ağırlığı: 322.5 g/mol

Yoğunluğu: 20 °C'de 1.147

Erime derecesi: 45.5- 46.5 °C

Çözünürlüğü: Beyaz kristaller, suda 20 °C 'de 2.6 mg/L, hekzan ve alkolde orta derecede, aseton, benzen ve kloroform gibi organik çözücülerde iyi çözünür.

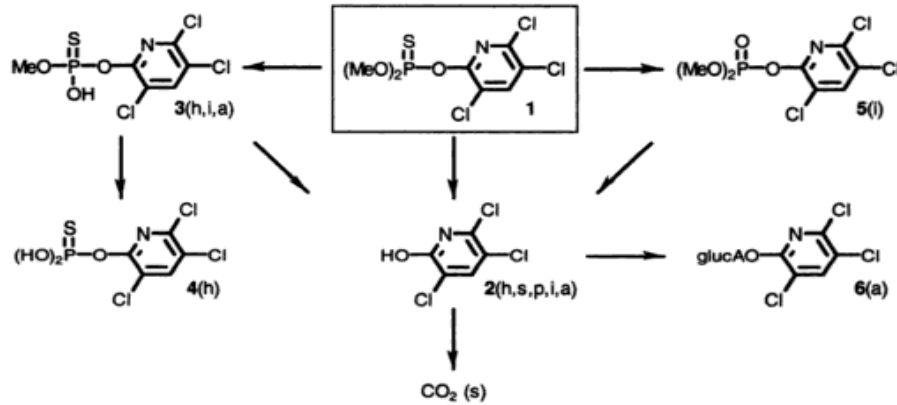
##### 4.2.3.2. Metabolik yolları

**Kimyasal parçalanma:** Sudaki yarılanma ömrü pH 8'de 25 °C'de 9 günden az iken 35 °C'de 3 gündür (93). Yüksek pH larda daha hızlı metabolize olur ve UV ışıktaki hızlı parçalanır (35). Chlorpyriphos methyl'in hidroliz ürünleri 3,5,6-trichloro-

2-pyridinol=2 (h,s,p,i,a), desmethylchlorpyriphos-methyl=3 (h,i,a) ve di-desmethylchlorpyriphos methyl=4 (h)'dir (Şekil 5.) (67).

**Toprakta parçalanma:** Chlorpyriphos methyl, toprakta mikrobiyal olarak parçalanır ve DT<sub>50</sub> değeri 1.5-33 gün arasındadır. Toprakta, 3,5,6- trichloro-2-pyridinol=2 (h,s,p,i,a) oluşur ve sonunda CO<sub>2</sub>'e parçalanır (Şekil 5. ) (67).

**Hayvanlarda metabolizma:** Koyun ve sığanlara oral olarak radyoaktif chlorpyriphos methyl uygulanmış ve idrarda 3,5,6-trichloro-2-pyridinol=2 (h,s,p,i,a) ve desmethylchlorpyriphos methyl=3 (h, i, a), dışkıda ise değişmemiş chlorpyriphos methyl=1, desmethylchlorpyriphos methyl=3 (h,i,a) ve 3,5,6-trichloro-2-pyridinol=2 (h,s,p,i,a) metabolitlerine rastlanmıştır (Şekil 5.) (67).



**Şekil 5.** Chlorpyriphos methyl'in h=hidrolizi ve s=toprakta, p=bitkilerde, i=böceklerde ve a=hayvanlarda tespit edilen metabolitleri (67).

#### 4.2.3.3. Toksik etkileri

Oral LD<sub>50</sub> değeri erkek sıçanlarda 2000 mg/kg, dişi sıçanlarda 3000 mg/kg ve erkek farelerde 1000 mg/kg'dan fazladır. Dermal LD<sub>50</sub> değeri tavşanlarda 2000 mg/kg'dan fazla, erkek ve dişi sıçanlarda 3700 mg/kg'dan fazladır. Hızlı metabolize olduğundan kümülatif değildir. Ancak tekrarlayan maruziyetlerde kolinesteraz enzimi üzerinde kümülatif inhibitör etkiler oluşturabilir (93).

Sıçanlara günlük 100 ve 500 mg/kg chlorpyriphos methyl 14 gün boyunca gavaj yoluyla uygulandığında karaciğerde hipertrofi ve kardiyak hipertrofi eğilimi

gösterdiği bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada sıçanlara günlük 0.2, 1.0 ve 5.0 mg/kg 6 hafta boyunca uygulanmış, 1.0 mg/kg/gün dozunda plazma ve eritrosit kolinesteraz aktivitesinde herhangi bir değişim görülmediği ancak yüksek dozda eritrosit kolinesteraz aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir (93).

Chlorpyriphos methyl'in olgunlaşmamış dişi sıçanlarda östrojenik ve anti-östrojenik aktivite göstermediği bununla birlikte yardımcı seks organlarının ağırlıklarındaki artışa neden olduğu bildirilmiştir (39).

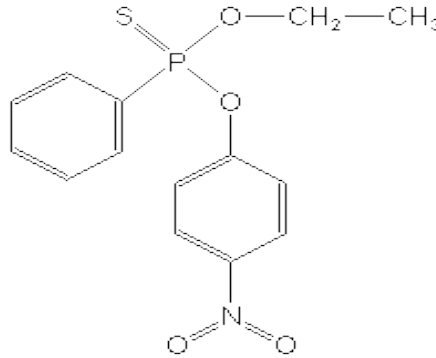
**Karsinojenite:** Sıçanlara 2 yıl boyunca 0.1 ve 1.0 mg/kg/gün chlorpyriphos methyl uygulanmış, karsinojenik herhangi bir etki görülmediği bildirilmiştir (93).

**Teratojenite:** Gebeliğin 6 ile 15. günleri arasında sıçanlara 50, 100 ve 200 mg/kg/gün chlorpyriphos methyl uygulanmış, teratojenik bir etki gözlenmemiştir (93).

#### 4.2.4. EPN

EPN, organofosforlu bir kolinesteraz inhibitörüdür. İnsektisit ve akarisit olarak kullanılmaktadır.

##### 4.2.4.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri



**Şekil 6.** EPN'nin molekül yapısı

Kimyasal adı ve formülü: O-Ethyl O-(4-nitrophenyl) phenylphosphonothioate,  $C_{14}H_{14}NO_4PS$ , (Şekil 6.)

Molekül ağırlığı: 323.3

Çözünürlük: Açık sarı kristal toz, sudaki çözünürlüğü 20 °C'de 6.6 mg/L dir. Aseton, alkol, eter ve toluende çözünür.

#### 4.2.4.2. Metabolik yolları

EPN toprakta bitkilerde ve hayvanlarda hidrolitik dealkilasyon ve oksidatif desülfürasyon reaksiyonları aracılığıyla inaktive olur (67).

**Kimyasal parçalanma:** EPN alkali ortamda hidroliz olur ve 4-nitrofenol=2 (h,s,mi) metaboliti meydana gelir. pH 4 ve 7 deki yarı ömürleri sırasıyla 70 ve 22 gündür. Isıtıldığında ana bileşiğin izomerik formu olan S-ethyl O-4-nitrophenyl phenylphosphonothioate=3 ( $\Delta$ ) metabolitine dönüşür (Şekil 7.) (67).

**Toprakta parçalanma:** Serada yapılan bir çalışmaya göre EPN'nin serada yarılanma ömrünün 5-6 hafta olduğu, esas olarak phenylphosphonic acid=4 (s,mi,p) ve daha az miktarda O-ethyl phenylphosphonothioate=5 (s,mi,r,c) ve O-ethyl phenylphosphonate=6 (s,mi,p,r,c) metabolitlerine dönüştüğü bildirilmiştir. Aynı çalışma tarlada yapılmış ve iki farklı toprak tipinde EPN'nin yarılanma ömrünün 9 ve 15 hafta olduğu bildirilmiştir. Her iki çalışmada da EPN-oxon=7 (s,c) ve amino-EPN=8 (s,mi,c,a) tespit edilememiştir. Başka bir çalışmada laboratuvar koşulları altında çalışılmış ve buna göre, aerobik ortamda farklı toprak tiplerine göre EPN'nin yarılanma ömrünün 3 ile 13 hafta arasında değiştiği belirtilmiştir. Ayrıca bir önceki çalışmaya göre daha fazla metabolit bulunmuştur. Bunlar, EPN-oxon=7 (s,c), desethyl EPN-oxon=9 (s,mi), 4-nitrophenol=2 (h,s,mi), O-ethyl S-methyl phenylphosphonothioate=10 (s,mi), O-ethyl O-methyl phenylphosphonothioate=11 (s,mi), O-ethyl phenylphosphonothioate=6 (s,mi,p,r,c) ve phenylphosphonic acid=4 (s,mi,p)'tir (Şekil 7.) (67).

**Hayvanlarda metabolizma:** Radyoaktif işaretlenmiş EPN sıçanlara ve tavuklara tek doz olarak verildiğinde EPN'nin büyük bir kısmının 72 saat sonra elimine edildiği bildirilmiştir. Tavukların dışkısında bir miktar metabolize olmamış EPN tespit edilirken, sıçanların dışkısında bulunamamıştır. İki türde de çok miktarda O-ethyl phenylphosphonothioate=5 (s,mi,r,c) ve daha düşük miktarlarda ise O-ethyl phenylphosphonate=6 (s,mi,p,r,c) ve phenylphosphonothioic acid=12 (r,c) bulunmuştur. Ayrıca aromatik hidroksilasyona uğramış iki metabolit bulunmuştur. Bunlarda birincisi O-ethyl 4-hydroxyphenylphosphonate=13 (r,c) diğeri ise O-ethyl 3-hydroxyphenylphosphonate=14 (r,c)'tir (Şekil 7.) (67).





maruziyetten 4-24 saat sonra gerçekleştiği, 2 hafta sonra enzimin normal seviyelere geldiği, plazma kolinesteraz inhibisyonunun maruziyetten 4 saat sonra gerçekleştiği ve 72 saat sonra enzimin normal seviyelere geldiği, maksimum eritrosit kolinesteraz inhibisyonunun 24 saat sonra gerçekleştiği ve 4 hafta sonra enzimin normal seviyelere geldiği bildirilmiştir (80).

**Üreme sistemi üzerine etkileri:** Gebe farelere hamileliğin 6-16. gün arası 1, 3, 6 ve 12 mg/kg EPN gavaj yoluyla verilmiştir. Uygulanan dozlarda fetüs üzerine toksisite göstermediği ve teratojenik bir etkiye rastlanmadığı bildirilmiştir (80).

**Karsinojenite:** Erkek sıçanlara 50, 150 ve 450 ppm ve dişi sıçanlara 0, 25, 75 ve 255 ppm EPN uygulanması sonucu karsinojenik bir etkiye rastlanmamıştır. Artan EPN dozlarında mortalite artışı gözlenmemiş, deney 2 yıl sürdürölmüş ve mortalite oranının yüksek olduğu (%86-98) bildirilmiştir (80).

**Gecikmiş nörotoksisite:** Yetişkin tavuklara 90 gün boyunca 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, ve 5.0 mg/kg EPN uygulanmış 2.5 ve 5.0 mg/kg dozlarda organofosfat tipi gecikmiş toksisite (ataksi) görölmüş ancak düşük dozlarda görölmemiştir (80).

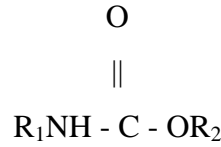
Tavukların boyunlarına 90 gün boyunca dermal olarak 0.01 mg/kg'dan 10 mg/kg'a kadar EPN uygulanmış, 2.5 ile 10 mg/kg doz aralığında atropin tedavisi yapılmış olmasına rağmen kolinerjik zehirlenme belirtilerinin gözlendiği bildirilmiştir. 0.01 mg/kg dışında tüm dozlarda gecikmiş nörotoksisite belirtilerine (ataksi, paraliz ve ölüm) ve omuriliğindeki akson ve miyelinlerde dejenerasyona rastlanmıştır (80).

Köpeklere 1 yıl boyunca 2.8 ve 5.0 mg/kg EPN oral olarak uygulandığında ilk semptomlar kusma ve diyare, daha sonra kilo kaybı ve sinir sisteminde histopatolojik değişiklikler gözlenmiştir (80).

### 4.3. Karbamat Grubu Pestisitler

#### 4.3.1. Genel bilgiler

N-metil karbamatlar, ekinlerin korunmasında insektisit, akarisit, nematosit ve mollusisit olarak organoklorlu pestisitlerin yerine tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca endüstride ve evlerde biyosit olarak kullanılmaktadır. Karbamat grubu pestisitler 1950'lerde üretilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. Sentetik pestisitlerin büyük bir kısmını oluşturan bu bileşikler son 50 yılda oldukça geniş bir ölçekte geliştirilmiş, üretilmiş ve kullanılmıştır. 50'den fazla karbamatın varlığı bilinmektedir (46, 92).



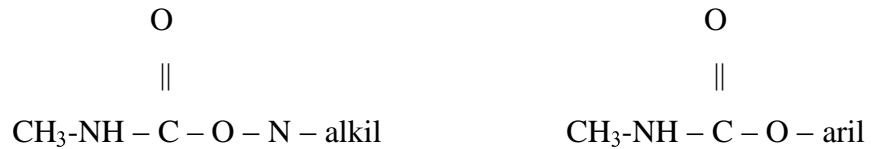
#### Şekil 8. Karbamatların genel formülü

Karbamatlar, karbamik asidin N süstitüe esterleridir. R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> alkil veya aril grup taşır. Karbamat herbisitlerinde R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> aromatik veya alifatik grup taşır (Şekil 8.).

Karbamatlar 3 sınıfa ayrılır.

- Karbamat insektisitleri: R<sub>1</sub> metil grubudur. (Aldicarb sulfon, aminocarb, metihocarb, propoxur, promecarb, ethiofencarb)
- Karbamat herbisitleri: R<sub>1</sub> aromatik gruptur. (Carbetamid, asulam)
- Karbamat fungusitleri: R<sub>1</sub> benzimidazol grubudur. (Benomyl, carbendazime)

#### 4.3.1.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri



#### Şekil 9. N-metil karbamat grubu insektisitlerin genel formülü

Karbamik asidin N-sübstitüe türevleri veya esterleri alkali ortamda genellikle stabil olmayan bileşiklerdir (Şekil 9.). Sübstitüe karbamik asidin ester ve tuzları karbamik asitten daha stabildir. Herbisit aktivitesi olan karbamat türevleri, insektisit aktivitesi olan metil karbamat türevlerine göre alkali koşullarda daha stabildir.

Karbamik asit esterleri düşük buhar basıncına sahiptir ve sudaki çözünürlükleri azdır. Nonpolar organik çözücülerde az, polar organik çözücülerde yüksek çözünürlüğe sahiptir. Isıya dayanıksız olmaları ve polaritelerinden dolayı gaz kromatografisi ile analizleri zordur bu yüzden karbamat pestisitlerinin analizleri genellikle floresan, UV-Vis, diode-array ve kütle spektrofotometre detektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografi cihazları ile yapılır (46, 49).

#### **4.3.1.2. Çevresel taşınma ve dağılım**

Karbamat grubu insektisitlerin buhar basınçları genellikle düşüktür ancak normal sıcaklıklarda yavaşça buharlaşıp süblimleşirler. Bu özellikleri karbamatların topraktan ve sudan buharlaşmasına neden olur, ancak havaya dağılım oldukça azdır. Yüksek çözünürlükteki karbamatlar için akuatik çevre önemli bir ulaşım yoludur (92).

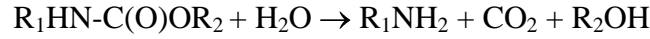
**Çevrede biyobirikim ve parçalanma:** Karbamatların toprakta biyoparçalanmalarını etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar: uçuculuk, toprak tipi, suda çözünürlük, toprak nemi, adsorpsiyonları, pH, sıcaklık ve ışık. Bunların içerisinde en önemlileri toprak tipi ve suda çözünürlüktür. Karbamatların toprakta metabolik ayrışmalarının ilk basamağı hidrolizdir. Bitkiler karbamatları arilhidroksilasyon, konjugasyon veya hidrolitik parçalamayla detoksifiye ederler. Toprakta ve suda, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar tarafından metabolize edilir (92).

#### **4.3.1.3. Kinetik ve metabolizma**

**Absorbsiyon:** Karbamatların metabolik yolları, bitkilerde, böceklerde ve memelilerde temelde benzerdir. Karbamatlar genellikle deri, mukoza, solunum ve gastrointestinal yollardan kolayca absorbe olurlar. Gastrointestinal yoldan absorpsiyonları yaklaşık % 100'dür (92).

**Dağılım:** Karbamatların absorpsiyonu ve dağılımı üzerine çalışmalar yapılmıştır. Farede, karbamatların organ ve dokulara hızlı dağıldığı, yarı ömürlerinin 8 ile 17 dak. arasında olduğunu bildirilmiştir. Karbamat kalıntısına rastlanan organlar karaciğer, böbrekler, beyin, yağ dokusu ve kas olarak bildirilmiştir (92).

**Metabolizma:** Karbamatların metabolizmasındaki ilk adım karbamik aside hidrolizdir, karbamik asit daha sonra karbon dioksit, alkol veya fenol ve ilgili amine parçalanır (Şekil 10.). Karbamatların hidrolizi A-esterazlar ve arilesterazlar olarak bilinen bir grup enzim tarafından katalizlenmektedir.



**Şekil 10.** Karbamatların hidroliz reaksiyonu

Hidroliz mekanizması N–metil ve N–dimetil grubu karbamatlarda farklıdır. N–metil karbamatların ara ürünü isosiyanat iken, N–dimetilkarbamatların hidrolizi sonucunda ilave hidroksil iyonu ve N–dimetil substitüe asit oluşur. Esterazlarla hidrolizi bitki ve böceklere oranla memelilerde daha hızlı gerçekleşir (92).

Hidroliz ile birlikte oksidasyon reaksiyonları da gerçekleşebilmektedir. Oksidasyonda, birçok dokuda varolan karma fonksiyonlu oksidaz enzimleri katalizör görevini alır. Molekülün taşıdığı fonksiyonel gruplara bağlı olarak çeşitli metabolik gruplar katalizlenebilir. Oksidasyon mekanizmaları başlıca; aromatik halkaların hidroksilasyonu veya epoksidasyonu, O-dealkilasyon, N-metil hidroksilasyon, N-dealkilasyon, alifatik yan zincir oksidasyonu ve hidroksilasyonu ve tiyoeter oksidasyonudur. Karbamatların konjugasyon reaksiyonları sonucunda O-glukuronid, N-glukuronid, sülfat konjugatları ve merkaptirik asit oluşmaktadır (92).

**Atılım:** Karbamatlar suda çözünür metabolitleri şeklinde başlıca idrar, safra ve dışkı ile atılırlar. Karbamatların insanda idrar yoluyla eliminasyonu hızlıdır ve insandaki metabolik yollar, sıçanlar ile benzerlik göstermektedir (92).

#### 4.3.1.4. Toksik etki mekanizması

Karbamatlar sinir sisteminde AChE enzimini reversibl olarak inhibe ederler. AChE enziminin esteratik bölgesinin karbamilasyonu sonucu inhibisyon görülür.

Karbamat-enzim kompleksi kısa sürede kendiliğinden ayrılmaktadır. AChE rejenerasyonu fosforlanmış enzime kıyasla hızlıdır. Bu da karbamat pestisitlerini, organofosforlu pestisitlere oranla insanlar için daha az toksik hale getirir. Karbamat grubu pestisitlerin ölüme sebep olan dozları ile minimum zehirlenme belirtileri oluşturan dozları arasındaki oran, organofosforlu bileşiklere göre çok geniştir. Ayrıca kimyasal yapılarından dolayı karbamatlar gecikmiş nöropatiye neden olmazlar (6, 92).

#### **4.3.1.5. Toksikite belirtileri**

Substrat-enzim kompleksinin reversibl olmasından dolayı karbamatların toksisitesi organofosfatlara göre daha kısa sürede ve daha düşük şiddette görülmektedir. Karbamatlar hızlı metabolize edildiği ve metabolitleri de çabuk elimine edildiğinden saatler içerisinde belirtiler kaybolur, eritrositlerdeki ve plazmadaki kolinesteraz aktivitesi normale döner. Bu yüzden nikotinik ve muskarinik bölgelerin aktivasyonuna etkileri sınırlıdır. Bu metabolitlerin idrarda ortaya çıkması, biyolojik izleme açısından önemlidir. Karbamatların kan-beyin bariyerine penetrasyonları zayıf olduğundan dolayı santral sinir sistemi toksisiteleri azdır (6, 92).

Muskarinik etkiler; bronşiyal salgılarda artma, terleme, salivasyon, lakrimasyon, miyozis, bronkokonstrüksiyon, abdominal kramplar ve bradikardi. Nikotinik etkiler; kaslarda seyirme ve taşikardi. Santral sinir sistemine etkileri; baş ağrısı, baş dönmesi, anksiyete, mental konfüzyon, konvülziyon, solunum depresyonu ve koma. Kolinesteraz zehirlenmesi ile ortaya çıkan belirtilerin dışında, bazı karbamatlar deri ve göz iritasyonu, hiperpigmentasyon ve sperm anomalisinde artış gibi farklı etkiler gösterebilir (6, 92, 98).

**Mutajenite:** Genel olarak, N-metil karbamatlar memeli testlerinde negatifken, carbendazim, benomyl ve 2-thiofanat türevi bileşikler, yüksek dozlarda bazı test sistemlerinde pozitif mutajenik etki gösterirler. Benzimidazol grubu, DNA baz analogu ve iğ ipliğine toksik etkili olabilir. Bunlar antimitotik ajanlardır ve mitozu durdurma, mitotik gecikme ve düşük oranda kromozomal hasara neden olabilir. Bazı sonuçlar çelişkilidir ve tekrar edilememiştir, fakat nokta mutasyonu ve kromozom

aberasyonu ile elde edilen pozitif sonuçlar iyi açıklanmıştır. Sonuç olarak, benzimidazol türevleri zayıf mutajenik bileşikler olarak kabul edilebilir (92).

**Karsinojenite:** Etil karbamat (üretan) kimyasal yapısı nedeniyle, iyi bilinen bir karsinojendir. Molekülde görülen herhangi bir değişiklik, özellikle etil gruplarının daha büyük yan zincirlerle yer değiştirmesi sonucu karsinojenik potansiyeli azalır. Ayrıca nitrojene bağlı alkil grupları da bu etkiye neden olur. Bununla birlikte, farklı karbamatlarla uzun dönem karsinojenik etki çalışmalarında kesin bir sonuca varılamamıştır (92).

Karbamat pestisitleri N–nitrozo bileşiklerine dönüşebilirler. N-nitrozo bileşikleri mutajenik ve karsinojenik olarak kabul edilirler. Bununla birlikte, karbamat pestisit kalıntılarının besinlerle alınması ile ortaya çıkan nitrozo bileşiklerinin miktarı, doğal olarak besinlerle ve içme suyu ile alınan nitrozo-prekürsörlerinin yanında ihmal edilebilir düzeydedir (92).

#### **4.3.1.6. Tedavi**

Karbamatların tedavisi semptomatiktir. Dekontaminasyon, havayolu stimülasyonu ve aktif kömür ilk destekleyici tedavidir. Dermal maruziyet olduğunda pestisit bulaşmış kıyafetler çıkarılır ve deri yumuşak bir sabunla yıkanır. Göze maruziyet olduğunda gözler bol suyla ve %3'lük sodyum bikarbonat çözeltisi ile yıkanır. Ağız yoluyla maruziyet olduğunda kusturma sağlanır. Eğer hasta bilinçliyse 10-30 mL ipeka şurubu ve bunu takiben 200 mL su uygulanır. Bileşiği uzaklaştırmak için gastrik lavaj veya müshil uygulaması yapılabilir. Solunum bozukluğu görüldüğü takdirde trakeal tüp ile yapay solunum uygulanmalı ve solunum düzelineye kadar devam edilmelidir. Gerekirse sıvı takviyesi yapılmalıdır (6).

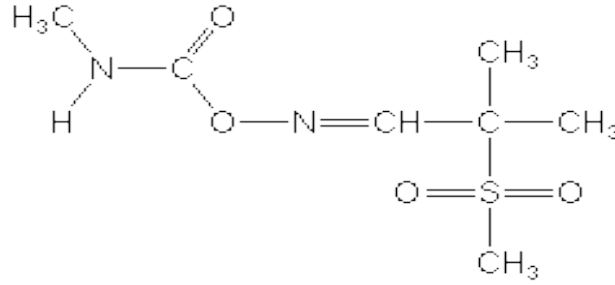
Antidot olarak atropin kullanılmaktadır. Atropin, asetilkolini kompetitif olarak bloke eder ve zehirlenme belirtilerini ortadan kaldırır. Atropin ağız ve bronşiyal salgılama kuruyuncaya kadar verilmektedir. Çocuklarda; 0.02 mg/kg i.v. 5-10 dak. bir, erişkinlerde; 1-5 mg/kg i.v. 5-10 dak. bir tekrarlanabilir. Karbamoillenmiş komplekste 'enzim eskimesi' görülmediğinden 2-PAM kullanılmamaktadır. Aksine kullanıldığı takdirde toksisiteyi artırma riski vardır. Ancak, eğer karbamat ve

organofosfat zehirlenmeleri birbirinden ayırt edilemiyorsa 2-PAM uygulaması kesilmemelidir. Anksiyete ve atropinin etki göstermediği merkezi sinir sistemi kaynaklı belirtilere karşı diazepam kullanılmaktadır. 10 mg subkütan (s.c). veya i.v. dozu yeterlidir ve gerekirse uygulama tekrar edilebilir (6).

#### 4.3.2. Aldicarb sulfon

Aldicarb sulfon, toprağa uygulanan sistemik etkili bir oksim karbamat insektisiti, ayrıca nematosit ve akarisit özelliğindedir. Özellikle pamuk, mısır ve sebze yetiştirmede böcek, nematod ve bitlerin kontrolünde kullanılır. Aldicarb sulfon, aldicarb'ın kimyasal ve okside olmuş metabolitidir (14, 67).

##### 4.3.2.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri



Şekil 11. Aldicarb sulfon'un molekül yapısı

Sinonimleri: Standak<sup>®</sup>, Aldoxycarb

Kimyasal adı ve formülü: 2-Methyl-2-(methylsulfonyl)propanal O-methyl carbamoyloxime; C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S (Şekil 11.)

Molekül ağırlığı: 222.3 g/mol

Erime derecesi: 140-142 °C

Sudaki çözünürlüğü: Hafif sülfür kokusu olan beyaz kristal tozdur, 25°C suda 10 g/L çözünür.

##### 4.3.2.2. Metabolik yolları

**Kimyasal parçalanma:** Aldicarb sulfon, alkali hidrolize duyarlıdır. Asidik koşullarda (pH 5) dayanıklı, nötral koşullarda (pH 7) yavaş parçalanırken alkali koşullarda (pH 9) hızlı şekilde parçalanmaktadır (67).



Aldoxycarb oxime, aldoxycarb nitrile ve methanesulfonic asit ana hidroliz ürünleridir. Aldicarb sulfon suda, fotolitik şartlar altında (Xenon lambası) yavaş parçalanır (Şekil 12.) (67).

**Toprakta parçalanması:** Aldicarb sulfon'un topraktaki metabolizması kumda, kumlu kilde ve çamurlu kilde araştırılmıştır. DT<sub>50</sub> değeri toprak tipine göre 7 günden 28 güne kadar değişebilmektedir. Primer yolak hidroliz ve eliminasyon reaksiyonları sonucunda aldicarb sulfon'un ilgili oksim=2 (c,s,p,a) ve nitril=3 (c,s,p,a) ve sonrasında alkol=5 (s,p,a), amid=7 (s,p,a) ve asit=8 (s,p,a) ve en sonunda karbondioksit parçalanmasıdır. Methanesulfonic asit=4 (c,s,p,a) minör parçalanma ürünlerindedir (Şekil 12.) (67).

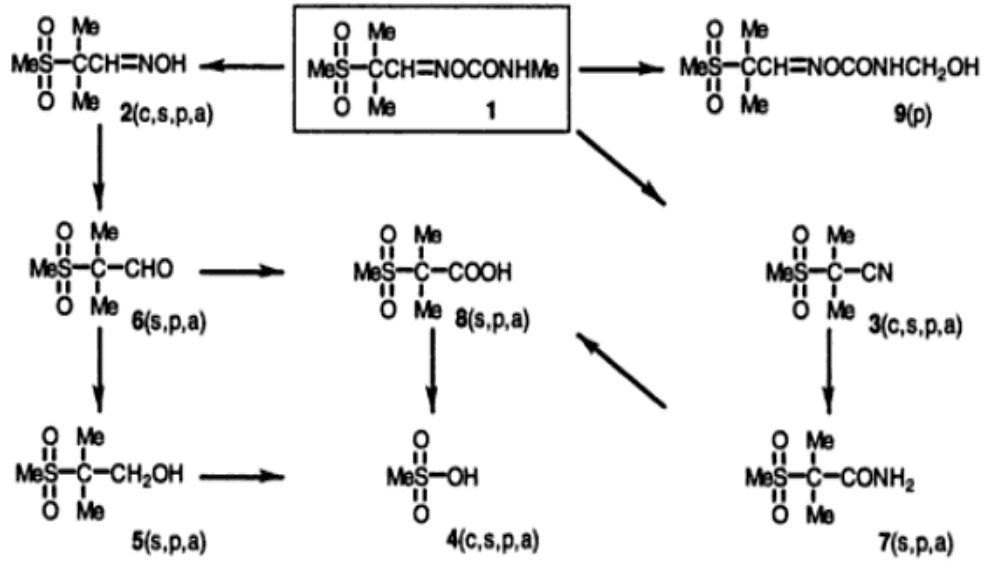
Yüksek kum ve organik madde içeren toprak tiplerinin, anamaddede ve kendisinden daha az toksik olan parçalanma ürünlerini daha iyi filtreleme özelliğine sahip olduğu bildirilmiştir

([http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/abamectin-](http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/abamectin-bufencarb/aldoxycarb/insect-prof-aldoxycarb.html)

[bufencarb/aldoxycarb/insect-prof-aldoxycarb.html](http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/abamectin-bufencarb/aldoxycarb/insect-prof-aldoxycarb.html), Erişim tarihi: 9 Temmuz 2009).

**Hayvanlardaki metabolizması:** Radyoaktif olarak işaretlenmiş aldicarb sulfon, sıçan, köpek, inek ve tavuklarda bir gün içerisinde hızlı metabolize olup elimine olur. Uygulanmış dozun büyük bir kısmı sıçan, köpek ve ineklerin idrarında, tavukların ise dışkılarında elimine olduğu bildirilmiştir. İki ana reaksiyonun gerçekleştiği tespit edilmiştir. Birinci metabolik yolak hidroliz/oksidasyon reaksiyonu sonucu ilgili oksim=2 (c,s,p,a), alkol=5 (s,p,a), aldehit=6 (s,p,a) ve asite=8 (s,p,a) parçalanması, ikinci metabolik yolak ise nitril=3 (c,s,p,a) ve daha sonra amid=7 (s,p,a) ve asit=8 (s,p,a) parçalanmasıdır (Şekil 12.) (67).

Arıların yumurta ve larvaları aldicarb ve major metabolitleri olan sülfoksit ve sulfon analoglarına oldukça toleranslıdır. Yonca çiçeklerine hektar başına 3.4 kg aldicarb uygulanmış ve kontaminasyonun 3 ile 4 hafta arasında zararsız seviyelere ulaştığı gözlenmiştir. Uygulamadan bir veya daha fazla yıl sonra aldicarb ve metabolitlerinin kalıntılarının toprakta minimal olduğu, sadece düşük toksik etkili aldicarb sulfon'un bulunduğu ve arılarda herhangi bir advers etki görülmediği bildirilmiştir (36).



**Şekil 12.** Aldicarb sulfonun c= hidrolitik parçalanması ve s= toprakta, p= bitkilerde ve a= hayvanlarda tespit edilen metabolitleri (67).

#### 4.3.2.3. Toksik etkileri

WHO'ya göre aldicarb sulfon'un ana bileşiği olan aldicarb, Ia sınıfına alınmış, aşırı derecede zararlı olarak gruplandırılmıştır. Aldicarb sulfon'un sıçanlarda LD<sub>50</sub> değeri 26.8 mg/kg (oral), tavşanlarda 1000 mg/kg (dermal)'dır (30, 95).

İnsanların aldicarb ve metabolitlerine (sulfon ve sülfoksit) maruz kalması inhalasyon, dermal yol ile veya yiyecek ve içme sularının tüketilmesi sonucu görülebilir (43).

Aldicarb sulfon'un 250 mg/kg dozuna kadar akut gecikmiş nörotoksisite göstermediği bildirilmiştir. 9.6 mg/kg/gün dozunda karsinojenik ve teratojenik etkinin de görülmediği bildirilmiştir. Aldicarb sulfon'un mutajenik olmadığına dair yeterli çalışma mevcut olduğu bildirilmiştir

(<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/abamectin->

[bufencarb/aldoxycarb/insect-prof-aldoxycarb.html](http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/bufencarb/aldoxycarb/insect-prof-aldoxycarb.html), Erişim tarihi: 9 Temmuz 2009.).

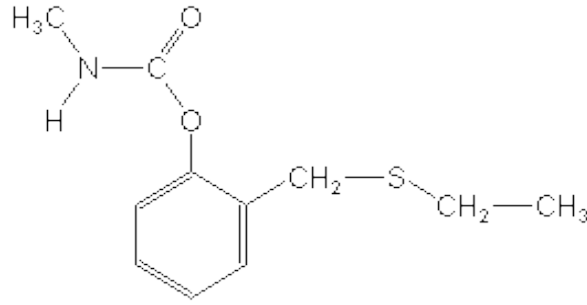
Toksikite belirtileri: Kısa süreli maruziyette; göz bebeklerinin küçülmesi, bulanık görme, göz sulanması, burun akması, nefes darlığı, tükürük artışı, öksürük, ishal ve kusma, kan basıncının yükselmesi, mide krampı, halusinasyon, ajitasyon, ciltte karıncalanma, kalp atışında düşme, konvulsiyon, bilinç kaybı, solunum

durması, ölüm görülebilmektedir. Uzun süreli maruziyette; kümülatif etkisi mümkündür. Tekrarlayan maruziyette konvülsiyon ve solunum problemleri gelişebilir. Karaciğer hasarına neden olabilmektedir (33).

#### 4.3.3. Ethiofencarb

Ethiofencarb, meyveler, sebzeler, süs bitkileri ve şeker pancarı üzerindeki böceklere karşı kullanılan sistemik etkili bir karbamat insektisitidir. %10 granüler, %10-50 emülsiyon şeklinde formülasyonları mevcuttur (37, 67).

##### 4.3.3.1. Fiziksel ve kimyasal özellikleri



**Şekil 13.** Ethiofencarb'ın molekül yapısı

Sinonimleri: Croneton, HOX 1901

Kimyasal adı ve formülü: 2-(Ethyl thiomethyl) phenyl methylcarbamate;  $C_{11}H_{15}NO_2S$   
(Şekil 13.)

Molekül ağırlığı: 225.3 g/mol

Yoğunluğu: 20 °C'de 1.147

Erime derecesi: 33.4 °C

Sudaki çözünürlüğü: Renksiz kristallerdir. 20 °C 'de suda 1800 mg /L çözünür.

##### 4.3.3.2. Metabolik yolları

Ethiofencarb, oral yoldan kolayca absorbe olur ve hızlı bir şekilde elimine olur (37).

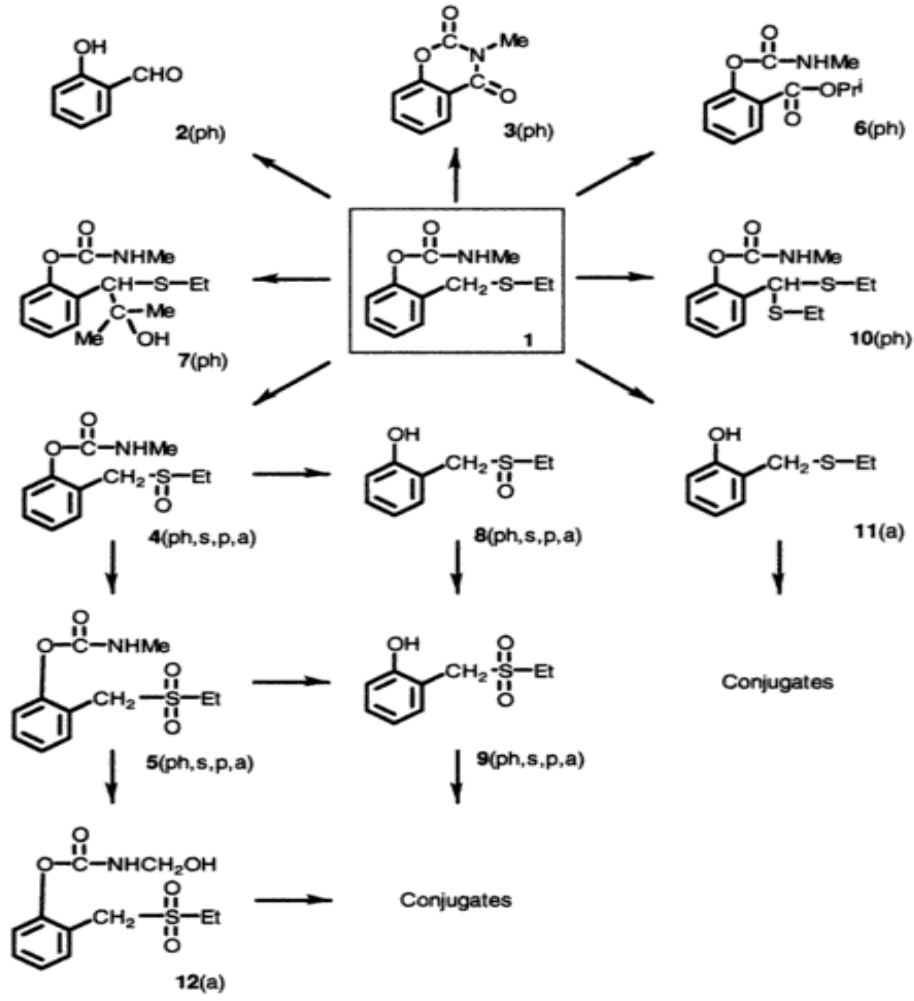
**Metabolizması:** Ethiofencarb, nötral ve asidik ortamda stabil, alkali ortamda ise hidroliz olmaktadır. pH 7'de 450 saat sonra hidroliz olurken pH 11.4'te 5 dak. sonra

hidroliz olur. Saf su ve sıvı çözeltilerdeki hidrolizinin kinetiği pH 2, 6, 9 ve 12’de 4 ile 50 °C sıcaklık aralığında çalışılmış, asit hidrolizinin gözlenmediği ve pH 9 ve 12’de ise hızlı bir şekilde metabolize olduğu bildirilmiştir. Saf suda, oda sıcaklığında % 80 oranında parçalanmamış ethiofencarb ile metabolitlerinin dengeye ulaştığı bildirilmiştir (3).

Ethiofencarbın toprakta ve bitkilerde oksidasyonu sonucu sülfoksit=4 (ph,s,p,a) ve sulfon=5 (ph,s,p,a) metabolitleri oluşur ve sonrasında fenolik metabolitlerine=8 (ph,s,p,a), 9 (ph,s,p,a) hidroliz olur (Şekil 14.) (67).

Hayvanlarda ise sülfoksit=4 (ph,s,p,a) ve sulfon=5 (ph,s,p,a) metabolitleriyle birlikte fenolik metabolitlerine=8 (ph,s,p,a), 9 (ph,s,p,a) dönüşmektedir. Ethiofencarb ayrıca N-hidroksi metil=12 (a) metabolitine de okside olmaktadır. Ana ürünlerin sülfat ve glukuronidlerle konjuge olduğu bildirilmiştir (Şekil 14.) (67).

Atılımı: Ethiofencarbın karbon atomu (<sup>14</sup>C) işaretlenerek tek doz ve 7 günlük doz şeklinde sıçanlara uygulanmış, tek dozluk uygulamadan 72 saat sonrasında işaretli bileşiğin % 95’ten fazlasının idrarda ve %2-7 oranında dışkıda tespit edildiği, bununla birlikte 7 gün aynı dozların verilmesi ile benzer bir atılım örneğinin gerçekleştiği bildirilmiş, ana üriner metabolitler %23-28 oranında ethiofencarb sülfoksit, % 20-23 oranında fenol sülfoksit, %9-25 oranında fenol sulfon ve %3-11 oranında ethiofencarb sulfon olarak bulunmuştur (51).



**Şekil 14.** Ethiofencarb'ın ph=fotodegradasyon ürünleri s=toprakta, p=bitkilerde a=hayvanlarda tespit edilen metabolitleri (67).

#### 4.3.3.3. Toksik etkileri

Ethiofencarb, WHO tarafından çok toksik olarak değerlendirilmiş ve Ib grubuna alınmıştır (95). Ethiofencarb'ın memelilerde LD<sub>50</sub> değeri 200 mg/kg (oral) ve 1000 mg/kg (dermal) olarak bildirilmiştir. Toksik etki göstermediği değer, sıçanlarda 10 mg/kg/gün, köpeklerde 1000 mg/kg diyete eşdeğer, 25 mg/kg vücut ağırlığıdır (37). İnsanlar için kabul edilebilir günlük alımı 0-0.1 mg/kg vücut ağırlığıdır (34).

Ethiofencarb'ın plazma, eritrosit ve beyin asetilkolinesteraz inhibisyonu sıçanlarda araştırılmıştır. Buna göre dişi sıçanlara 0, 2.5, 10 ve 50 mg/kg, erkek sıçanlara 0, 2.5, 10, 40, 125, 210, 330 mg/kg ethiofencarb tek doz olarak oral yolla

uygulanmıştır. Uygulama sonrasında 30 dak. ile 5 saat arasında ölçümler yapılmış ve 50 mg/kg uygulanmış dişilerde maksimum asetilkolinesteraz inhibisyonu %60 olarak bulunurken, 330 mg/kg uygulanmış erkek sıçanlarda %80-100 oranında asetilkolinesteraz inhibisyonunun görüldüğü ve 3 saat sonrasında enzim aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Uygulamadan 1 saat sonra ise 330 mg/kg uygulanmış erkek sıçanlardan iki tanesinin öldüğü bildirilmiştir. Maksimum enzim inhibisyon seviyesinin eritrositlerde uygulamadan 2 saat, beyinde 1 saat sonra ortaya çıktığı ve kolinesteraz aktivitesinin plazmadan daha düşük olduğu bildirilmiştir (37).

**Teratojenik Etkiler:** Dişi sıçanlara gebeliğin 6-15. günlerinde 0, 5, 15, 40 mg/kg/gün arası çeşitli dozlarda oral olarak uygulanan ethiofencarb'ın üreme ve sağlık durumu üzerinde herhangi bir advers etki göstermediği bildirilmiştir. 40 mg/kg uygulanmış sıçanların yavrularının ise normal ağırlığın altında olduğu bildirilmiştir. İki fetüste kendiliğinden oluşan malformasyonların olduğu tespit edilmiş ancak çalışma tekrarlandığında bu malformasyonların görülmediği, dolayısıyla ethiofencarb'ın embriyotoksik ve teratojenik olmadığı bildirilmiştir (37).

Dişi tavşanlara gebeliğin 6-18. günlerinde 0, 5, 15, 40 mg/kg/gün arası çeşitli dozlarda oral olarak uygulanmış ethiofencarb'ın herhangi bir advers etki göstermediği, kontrol grup ile ethiofencarb ile muamele edilmiş grup arasında embriyonik ve fetüs gelişimi açısından belirgin bir fark bulunmamıştır. Sadece 40 mg/kg uygulanmış hayvanın yavrusunda kendiliğinden gelişen malformasyonlar olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte ethiofencarb'ın 40 mg/kg'a kadar teratojenik etki göstermediği bildirilmiştir (37).

#### **4.4. Pestisitlerin Genotoksik Etkileri**

Pestisitler, pest, yabancı ot ve bitki hastalıklarının kontrolü amacıyla tasarlanmış kimyasallardır. Pestisitlerin, bitkileri pestlerden korumak amacıyla uygulanması tarım ve mahsul verimliliği açısından çok önemlidir. Tüm insanlar çevresel kirlenme ve mesleki kullanımlarından dolayı pestisitlere maruz kalabilirler. Pestisitlerin hava, su ve besin maddelerindeki fiziksel ve biyolojik parçalanma ürünlerinin kalıntılara maruz kalınması bir halk sağlığı sorunudur. Ayrıca, pestisitlerin formülasyonu, üretimi ve bitkilere uygulanması sonucu farklı tipteki kimyasal karışımlara ve etken

maddelere mesleki maruziyet görülebilmektedir. İnsanlarda genotoksisitenin biyoizlenmesi, pestisitlere maruziyet sonucu oluşabilecek genetik riskin belirlenmesi açısından önemli bir araçtır (9).

Genotoksisite genel olarak hücrelerin genetik materyalleri üzerinde oluşabilecek zararlı etkiler olarak tanımlanabilir. Hücrelerde DNA ile etkileşime girerek olumsuz etki gösteren maddeler genotoksik maddeler olarak adlandırılırlar. Genotoksisitenin belirlenmesinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Genotoksisite testleri *in vitro* ve *in vivo* olmak üzere kimyasalların farklı mekanizmalarla genetik hasara neden olup olmadığının belirlenmesinde kullanılan testlerdir. Genotoksisite testleri; moleküler, gen ve kromozom düzeyinde olabilir.

#### **4.4.1. Genotoksisitenin belirlenmesinde kullanılan mutajenesite testlerine örnekler**

Comet tekniği (Tek hücre jel elektroforezi=Single cell gel electrophoresis=SCGE): DNA hasarını ve onarımını ölçmek amacıyla kullanılan hızlı, kolay uygulanabilen, hassas bir tekniktir ve az sayıda hücreye ihtiyaç olması, maliyetinin az ve düşük seviyedeki DNA hasarının göstergesi olması avantajlarıdır. Bu teknik birçok hücre tipinde *in vitro* ve *in vivo* olarak genetik hasarı belirlemede kullanılmaktadır (7, 9, 11, 15, 16, 17, 26, 27, 79). Örneğin, DNA hasarı/onarımı çalışmalarında (38), antioksidan etkinin araştırılmasında (75) genetik toksikolojide (73), biyoizleme araştırmalarında (74) ve radyasyon ile sterilize edilen etlerin kontrolünde (24, 44, 47) Comet tekniği kullanılmaktadır.

Tek hücre düzeyinde DNA hasarını belirlemek amacıyla 1984'te ilk defa mikrojel elektroforez tekniği geliştirilmiştir (52). Nötral pH'da gerçekleştirilen bu teknik DNA'nın çift zincirindeki hasarı belirlemek amacıyla kullanılmıştır (81). Daha sonra 1988'de daha hassas bir mikrojel elektroforez tekniği geliştirilmiştir (78). Bu teknikte elektroforez işlemi alkali pH'da (pH>13) gerçekleştirilmiştir ve DNA'nın tek zincirindeki ve alkali-labil bölgelerdeki hasarı belirlemek mümkün hale gelmiştir (48, 85). Çalışmamızda pestisitlerin genotoksik etkilerini belirlemek amacıyla alkali Comet tekniği kullanılmıştır.

Kromozomal aberasyon (CA) testi: Kromozom sayısında değişiklikler, gen ya da kromozom parçalarında delesyonlar, duplikasyonlar ve aynı kromozom içinde ya da kromozomlar arasında genetik materyalin düzenlenmesi şeklinde modifikasyonlar görülebilir. Gen mutasyonlarından ayırmak için bunlara kromozomal mutasyonlar ya da kromozomal bozukluklar denir. Anöploidi, diploidi, delesyon, duplikasyon, inversiyon ve translokasyon şeklinde görülebilir (42).

Mikronükleus (MN) Testi: MN hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkarlar. Esas çekirdeğe dahil olmayan tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından oluşurlar. MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin dolaylı göstergesi olarak değerlendirilir. Organizmayı etkileyen çeşitli fiziksel ve kimyasal ajanların sitogenetik etkilerini belirlemek amacı ile kullanılan bir yöntemdir (23).

Kardeş Kromatid Değişimi (Sister chromatid exchange=SCE): DNA replikasyonu sırasında kromozomun her iki kromatidinin homolog bölgelerinde bromodeoksi üridin varlığında DNA'da kırık oluşması ve kırılan bölgelerin yer değiştirip yeniden birleşmesi sonucunda oluşmaktadır. SCE analizi kastrojenik ve mutajenik belirteç olarak kabul edilmekle birlikte kardeş kromatidlerin segmentlerindeki değişimin artışına neden olan esas mekanizma halen tam bilinmemektedir (9, 90).

#### **4.4.1.1. Comet Tekniği ile yapılan bazı pestisit çalışmaları**

Kronik olarak pestisitlere maruz kalmış çiçek yetiştiricilerinde olası DNA hasarını belirlemek amacıyla Comet tekniği kullanılmış ve 52 çiçek yetiştiricisinin, 46 çevresel maruz kalmış çiçek yetiştiricilerinin ve 38 kontrol grubunun lenfositlerinde yapılan analiz sonucu, pestisitlere maruz kalmış işçilerin DNA hasarının diğer iki gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu bildirilmiştir ( $p<0.001$ ). Çevresel maruz kalan kişilerle kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığı bildirilmiştir (13).

Oregon Eyaleti'nde yapılan bir çalışmada meyve bahçesinde çalışan işçilerin organofosforlu pestisitlere maruz kalmaları sonucu oksidatif stres ve DNA hasarı



araştırılmış, idrar örneklerinde organofosforlu pestisit metabolitleri ve 8-hidroksi 2-deoksiguanozin (8-OH-dG) analizi yapılmıştır. Üriner organofosforlu pestisit metabolitleri işçilerde ve pestisit uygulayanlarda yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ). 8-OH-dG seviyeleri işçilerde ve pestisit uygulayanlarda kontrol grubuna göre sırasıyla 8.5 ve 2.3 kat fazla bulunmuştur. DNA hasarı ve oksidatif DNA onarımlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunduğu bildirilmiştir (41).

Tayvan'da pestisitlere maruz kalan 135 meyve yetiştiricisinin periferik lenfositlerinde DNA hasarını belirlemek amacıyla Comet tekniği uygulanmış ve Comet parametrelerinin kontrol grubuna göre yüksek bulunduğu bildirilmiştir (91).

Brezilya'da çiftlikte çalışan ve pestisit karışımları kullanan 37 erkek işçideki DNA hasarını tespit etmek amacıyla periferik kan lenfositlerinde Comet tekniği ve oral mukoza hücrelerinde mikronükleus (MN) tekniği çalışılmıştır. Bu çalışmada Comet parametrelerinin kontrol grubuna göre yüksek bulunduğu ancak MN sıklığında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (64).

Carbofuran üretiminde çalışan 30 Hırvat asıllı işçide genotoksik etkileri araştırmak amacıyla Comet tekniği ve MN tekniği kullanılmıştır. Bu çalışmada Comet parametrelerinin kontrol grubuna göre çok fazla farklı olmadığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olduğu bununla beraber MN parametrelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bulunduğu bildirilmiştir (99).

Ekvator'da 45 pestisit püskürten işçinin periferik kan örneklerinde alkali Comet tekniği ve CA testi ile DNA hasarı ölçülmüştür. Sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DNA hasarının anlamlı olarak arttığı ayrıca CA sıklığının kontrol grubuna göre anlamlı olarak farklı olduğu bildirilmiştir (56).

Yapılan bir çalışmada bir organofosfat insektisiti ve akarisit olan profenofos'un genotoksik etkilerini araştırmak amacıyla *in vitro* olarak Comet testi kullanılmıştır. Comet kuyruk uzunlukları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.001$ , ANOVA) (59).

Bir diğerk çalışmada, Ankara belediyesinde açık alan ilaçlama işinde çalışan ve en az bir yıl içinde pestisitlere maruz kalan 33 belediye işçisinde Comet tekniğı ile genotoksik etki araştırılmış ve kontrol grubuna göre DNA hasarı anlamlı olarak yüksek bulunmuş ayrıca sigara içmenin DNA hasarını artırmadığı bildirilmiştir (84).

Mesleki olarak pestisitlerle maruz kalan 84 işçi ve aynı bölgede çalışan 65 kontrol grubunda pestisitlerin etkileri Comet tekniğı ile araştırılmıştır. Pestisitlere maruz kalan işçiler ile kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan fark görülmediğı bildirilmiştir (58).

Pestisitlerin üretiminde çalışan ve organofosfat, karbamat ve piretroitlerin farklı karışımlarına maruz kalan 29 Pakistanlı işçinin lenfositlerinde DNA hasarının belirlenmesi amacıyla Comet tekniğı kullanılmıştır. İşçilerle aynı yaş ve sigara içme öyküsüne sahip 35 kişi kontrol grubu olarak alınmıştır. Lenfosit DNA kuyruk uzunlukları ölçüldüğünde, işçilerin DNA kuyruk uzunluklarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir ( $p < 0.001$ ). Sigara içen işçilerin lenfosit DNA kuyruk uzunluklarının ise eskiden sigara içen veya içmeyen kişilere ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ( $p < 0.001$ ), DNA hasarı üzerinde yaşın etkisinin ise çok az olduğu bildirilmiştir (8).

Cypermethrin (Tip II piretroit), dichlorvos (organofosfat) ve pendimethalin'in (dinitroanilin herbisiti) sitotoksik ve genotoksik etkileri CHO (Chinese hamster ovary) hücrelerinde araştırılmıştır. CHO hücreleri 1, 10, 100, 1000 ve 10000  $\mu\text{M}$  cypermetrin, dichlorvos ve pendimethalin ile 3 saat muamele edilmiş ve MTT tekniğı ile analiz edilmiştir. Genotoksik etkileri ise ayrıca Comet tekniğı ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak dichlorvos ve pendimethalin'in cypermethrin'e göre daha yüksek sitotoksisite gösterdiği, dichlorvos için 0.01  $\mu\text{M}$  ve daha yüksek konsantrasyonlarda, pendimethalin'in ise 0.1  $\mu\text{M}$  ve daha yüksek konsantrasyonlarda Comet parametrelerini artırdığı bildirilmiştir. Bununla beraber cypermethrin'in ancak yüksek konsantrasyonlarda (1000 ve 5000  $\mu\text{M}$ ) DNA hasarı oluşturduğu bildirilmiştir (54).

Swiss albino farelere oral olarak 0.28 ve 8.96 mg/kg chlorpyriphos ethyl, 12.25 ve 392.00 mg/kg acephate uygulanmıştır. Uygulamadan 24, 48, 72 ve 96 saat sonra

Comet tekniği ile DNA hasarı incelenmiştir. Uygulamadan 24 ve 48 saat sonra kontrol grubuna göre Comet kuyruk uzunluğunda anlamlı bir artışın gözlendiği ve DNA hasarının doza bağlı olduğu bildirilmiştir. Uygulamadan 48 saat sonra DNA hasarının kademeli olarak azaldığı ve 96 saat sonra Comet kuyruk uzunluğunun kontrol grubunun seviyelerine indiği bildirilmiştir (62).

Bir çalışmada isoproturon (herbisit), carbendazime ve chlorothalonil'in (fungisit) sitotoksik ve genotoksik etkileri CHO hücreleri Comet ve CA testi kullanılarak araştırılmıştır. 0.2-1  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığındaki chlorothalonil'in DNA hasarını artırdığı, ayrıca CA testinde de kromozom kırıklarını artırdığı bildirilmiştir. Buna karşın carbendazim ve isoproturonun DNA hasarına yol açmadığı gözlenmiştir. CA testinde ise 25-100  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığındaki carbendazim'in sayısal kromozom aberasyonuna neden olduğu ve isoproturonun ise CA artışına neden olmadığı bildirilmiştir (87).

Yapılan bir çalışmada atrazin herbisitinin farklı konsantrasyonlarının bir balık türü olan *Oreochromis niloticus* türlerinden alınan eritrositlerde genotoksik etkiler Comet tekniği ve MN testi ile araştırılmıştır. Akvaryumlarda 5 balık bulunmaktadır ve 6.25, 12.5, 25  $\mu\text{g/L}$  konsantrasyonlarda atrazin ilave edilip ve 72 saat sonra balıkların kanları alınmıştır. MN, ekirdek anomallikleri ve DNA hasarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunduğu bildirilmiştir (86).

Diğer bir çalışmada ise organofosforlu pestisitlerin üretiminde ortalama 97 ay çalışan 21 işçi ve 21 kontrol grubunda genotoksik etkiler, oksidatif stres parametreleri ve AChE aktiviteleri araştırılmıştır. Eritrositlerde oksidatif stres biyogstergesi olarak lipid peroksidasyon seviyeleri, katalaz, süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz aktiviteleri, toksisite biyogstergesi olarak ise AChE aktivitesi llmştir. DNA hasarını belirlemek için ise lökositlerde Comet kuyruk uzunluğu llmştir. Organofosforlu pestisitlere kronik maruziyet sonucunda katalaz, süperoksit dismutaz ve glutasyon seviyelerinde artış gözlenirken, lipid peroksidasyon seviyeleri ve AChE aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmediği, buna karşılık DNA hasarının ise istatistiksel olarak arttığı bildirilmiştir (76).

Piretroit pestisitlerinden deltamethrin'in periferal kan lenfositlerinde 0-400 µg/mL konsantrasyon aralığında metabolik biyoaktivasyon kaynağı S9 karışımı varlığında ve yokluğunda genotoksik etkilerinin araştırılması amacıyla *in vitro* olarak Comet tekniği, MN ve SCE analizleri yapılmıştır. Deltamethrin'in S9 karışımı varlığında artan dozlarla orantılı olarak Comet kuyruk uzunluğunu artırdığı, SCE ve MN sıklığında ise S9 varlığında veya yokluğunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak fark görülmediği bildirilmiştir (88).

#### **4.4.1.2. Diğer genotoksisite testleri ile yapılan bazı pestisit çalışmaları**

Mesleki olarak pestisitlere maruz kalmış Portekiz halkında yapılan bir çalışmada DNA hasarı MN yöntemiyle araştırılmış ve kontrol grubuna göre pestisitlere maruz kalmış işçilerin MN sıklığında istatistiksel olarak bir artış tespit edildiği bildirilmiştir ( $p<0,001$ ) (19).

Portekiz'de 33 çiftçinin lenfositlerindeki sitogenetik hasarı belirlemek amacıyla MN, SCE ve CA testleri kullanılmıştır. Aynı bölgede yaşayan ancak pestisitlere maruz kalmayan kişiler ise kontrol grubu olarak alınmıştır. Buna göre bölgede çalışan çiftçilerin MN ve SCE sıklığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek çıktığı ( $p<0.005$ ), CA sonuçlarında, anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (20).

Pestisit üretiminde çalışan, pestisitlere maruz kalan 54 işçi ve 54 kontrol grubunda genotoksik etkileri araştırmak amacıyla CA ve MN analizleri yapılmış ve işçilerde CA ve MN sıklığında istatistiksel açıdan artış gözlemlendiği bildirilmiştir ( $p<0.005$ ) (71).

Göksu deltasında pestisitler ile kirlenmiş bölgede yaşayan 16 sigara içen ve 16 sigara içmeyen kişilerde olası DNA hasarını belirlemek amacıyla CA, periferal lenfositlerde SCE ve bukkal epitel hücrelerinde MN analizi yapılmıştır. Sigaranın MN, SCE ve CA sıklığını artırdığı, ayrıca kontrol grubuna göre MN sıklığında anlamlı bir artış gözlemlendiği bildirilmiştir (25). Tarım ilaçlarının yüksek oranda kullanıldığı Çukurova bölgesinde yaşayan ve insektisitlere (organofosfatlı, karbamat grubu ve piretroit grubu pestisitler) maruz kalan 45 ve kaza ile zehirlenen 21 hastada

SCE analizi yapılmış ve SCE ortalaması kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (2).

Polonya’da pestisitlere maruz kalan 49 erkek işçinin periferal kan lenfositlerinde ve bukkal hücrelerinde MN testi kullanılmıştır. İki hücre tipinde de kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (53).

Herbisit olarak kullanılan dicamba’nın sitogenetik etkileri insan lenfosit kültürlerinde SCE testi ile *in vitro* analiz edilmiştir. 100-500 µg/mL doz aralığında çalışılmış, kontrol grubuna göre sadece 200 µg/mL konsantrasyonunda dicamba’nın anlamlı olarak SCE sıklığını artırdığı bildirilmiştir (31).

Trifluralin’in insan periferal kan lenfositlerinde genotoksitesinin araştırılması için SCE, MN ve CA testleri kullanılmıştır. Trifluralin’in zayıf sitogenetik özelliklere sahip olduğu, SCE sıklığının istatistiksel açıdan anlamlı olarak arttığı, CA ve MN testleriyle herhangi bir genotoksik etkinin saptanmadığı bildirilmiştir (66).

Pamuk tarlasında çalışan ve düzenli olarak DDT, BHC (benzene hexa chloride), endosulfan, malathion, methyl parathion, phosphamidon, dimetoat, monocrotophos, quinalphos, fenvelrate ve cypermethrin’e maruz kalan 61 işçinin periferal lenfositlerinde SCE, mitotik indeks (MI) ve hücre döngüsü kinetiği (CK) analizleri yapılmıştır. İstatistiksel olarak SCE sıklığının kontrol grubuna göre yüksek olduğu, ayrıca mitotik indekste azalma ve gecikmiş hücre döngüsü gözlemlendiği bildirilmiştir (70).

Vietnam savaşında savaşmış olan ve defolyantlara maruz kalmış 24 Yeni Zellandalı gazinin lenfositlerinde SCE sıklığı araştırılmış ve kontrol grubuna göre SCE sıklıklarının istatistiksel açıdan yüksek bulunduğu bildirilmiştir ( $p<0.001$ ) (68).

Pestisitlere maruz kalan ve sigara kullanan 50 kişiden alınan kanda SCE, CK ve MI analizleri yapılmıştır. Kontrol grubunu ise pestisitlere maruz kalmayan 20 sigara içmeyen ve 27 sigara içen kişiler oluşturmuştur. MI sigara içen kontrol grubunda ve pestisitlere maruz kalan kişilerde artarken pestisitlere 11-25 yıllık maruziyet sonucu MI’te azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (69).

#### 4.5. Pestisit Kalıntılarının Meyva Sularında Analizleri

Tarım ilaçlarının fazla kullanılması nedeniyle genellikle organoklorlu ve organofosforlu pestisitlerin analizleri gaz kromatografisi (4, 10, 18) ile, karbamat pestisitlerinin analizleri ise UV-Vis. veya floresan detektörlü YBSK (29, 32, 55, 61, 72, 82) ile yapılmaktadır. Çalışmamıza benzer çalışmalar elma, şeftali, portakal, frambuaz, üzüm ve vişne sularında kalıntı analizleri farklı araştırmacılar tarafından yapılmıştır (Tablo 2.) (29, 61, 82).

**Tablo 2.** Çalışmalarımız ile kaynaklarda bulunan bazı çalışmaların karşılaştırılması

Pestisit	Materyal	SPE Prosedürü	Analiz metodu	% Geri kazanım	Kaynak
Aldicarb sulfon	Portakal suyu	SPE (C <sub>18</sub> )	HPLC-DAD	13.17-14.62	Çalışmamız
Azinphos ethyl				77.91-84.25	
Chlorpyriphos methyl				76.12-83.72	
Chlorpyriphos methyl	Elma suyu	SPE (MWCNTs)	GC-NPD	77-101	(63)
	Üzüm suyu			75-103	
	Portakal suyu			73-103	
	Ananas suyu			73-91	
Aldicarb sulfon	Üzüm suyu	SPE (C <sub>18</sub> )	HPLC-MS/MS	80-84	(57)
Aldicarb sulfon	Su	SPE (PRP-1)	HPLC-DAD	0-6	(55)
Azinphos ethyl				95-105	
Chlorpyriphos methyl				90-97	
Aldicarb sulfon			HPLC-FD	4-5	
Aldicarb sulfon	Patates	SPE (CN)	HPLC-FD	85	(50)
	Portakal			91	
	Domates			92	

## 5. GEREÇ ve YÖNTEM

### 5.1. Gereç

#### 5.1.1. Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeleri

Sodyum hidroksit (NaOH)	Riedel-de H�en 06203
Etilendiamintetraasetik asit (EDTA)	Sigma Aldrich E5134
Hidroklorik asit (HCl)	Carlo Erba Reagenti 7647-01-0
Etidyum bromür	Sigma Aldrich E7637
Sodyum klorür (NaCl)	Fluka Biochemica 71376
Trizma base	Sigma Aldrich T1503
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Merck 802912.2500
Triton-X 100	Sigma Aldrich T8787
Agaroz	Sigma Aldrich A5093
Düşük erime dereceli agaroz	Sigma Aldrich A9414
Hidrojen peroksit (%30)	Riedel-de H�en 18312
Heparinli tüp	Insepack
Thoma lamı	Marienfeld 0610110
Fosfat tampon tabletleri	Sigma Aldrich P4417
Histopaque-1077	Sigma Aldrich 1077-1
Asetonitril	Riedel-de H�en 34888
Diklormetan	Riedel-de H�en 24233
Metanol	Merck 1.06007.2500
Fosforik asit	Merck 159382
Aldicarb sulfon	Riedel-de H�en 36670
Azinphos ethyl	Riedel-de H�en 35820
Chlorpyriphos methyl	Riedel-de H�en 35519
Ethiofencarb	Riedel-de H�en 35647
EPN	Riedel-de H�en 36503
Mikroskop lamı (26x76mm)	Citoglas, 10217105P
Mikroskop lameli (24x60mm)	Citoglas, 10212460C
Katı faz ekstraksiyon (SPE) kolonu	Discovery DSC-18 3 mL tubes Lot No: SP3382E, Supelco

### 5.1.2. Cihazlar

Elektroforez	ThermoEC MidiCell Primo, ABD
Elektroforez güç kaynağı	BioRad Power Pac, İngiltere
Floresan mikroskop	Olympus BX50, Japonya
Işık mikroskobu	Olympus CK2, Japonya
Magnetik karıştırıcı, ısıtıcı	Heidolph MR3001, Almanya
Otomatik pipetler	Thermo Finnpiquette, ABD
Santrifüj (soğutmalı)	Sigma 3K30, Almanya
pH metre	Mettler Toledo Seven Easy, ABD
Analitik terazi	Shimadzu AEX-200G, Japonya
Terazi	Shimadzu ELB300, Japonya
Etüv	Heto Holten CellHouse 170, Danimarka
Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (YBSK) cihazı	Agilent 1100 series, Agilent Technologies, Waldbronn, Almanya
Vakum pompası	KF LAB, Laboport, Almanya

### 5.1.3. Çözeltiler

5 M NaOH çözeltisi: 100 g NaOH, distile su ile 500 mL'ye tamamlanır.

0.2 M EDTA çözeltisi: 37.2 g EDTA, distile su ile 500 mL'ye tamamlanır.

5 N HCl çözeltisi: 91.25 mL HCl (%37'lik) distile su ile 500 mL'ye tamamlanır.

PBS (Phosphate Buffer Saline) çözeltisi: 1 tablet 200 mL distile suda çözülür (pH=7.4, 25 °C).

Etidyum bromür çözeltisi: 5 mg etidyum bromür 50 mL distile su ile çözülür, 100 µg/mL'lik stok çözelti 25 mL'lik kısımlar halinde + 4°C'de saklanır. Çalışma çözeltisi olarak stok etidyum bromür çözeltisi, distile su ile 1/5 oranında seyreltilir ve 20 µg/mL konsantrasyonda kullanılır.

Lizis çözeltisi: 146.1 g NaCl (2.5 M), 37.2 g EDTA (100 mM), 1.2 g Tris (10 mM) 800 mL distile suda çözülür. 5 M NaOH çözeltisi ile çözeltinin pH'sı 10'a getirilir ve



stok çözeltinin hacmi distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır. Çalışma çözeltisi olarak her şale için 62.3 mL stok lizis çözeltisi, 7 mL DMSO, 0.7 mL Triton-X ilave edilir ve +4<sup>0</sup> C'de muhafaza edilir.

% 7'lik Normal Erime Dereceli Agaroz (NEDA) çözeltisi: 0.7 g NEDA, 100 mL distile suda kaynatılarak çözülür.

% 0.7'lik Düşük Erime Dereceli Agaroz (DEDA) çözeltisi: 0.7 g DEDA, 100 mL PBS'de kaynatılarak çözülür.

Elektroforez Tampon Çözeltisi: 90 mL 5 M NaOH çözeltisi, 7.5 mL 0.2 M EDTA çözeltisi distile suyla 1500 mL'ye tamamlanır. Çözelti taze hazırlanır.

Nötralizasyon Tampon Çözeltisi: 0.8 M tris (97 g tris distile suyla 1000 mL'ye tamamlanır) hazırlanır. Çözelti 5 N HCl ile pH 7.5'a getirilir. Nötralizasyon çözeltisi olarak 1:1 oranında distile su ile seyreltilerek kullanılır (0.4 M Tris). Kullanılma sırasında +4<sup>0</sup>C'de muhafaza edilir.

Hidrojen peroksit çözeltisi (1mmol): %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden 11.5 µL alınarak distile su ile 1 mL'ye tamamlanır. Bu çözelti 1/100 oranında distile su ile seyreltilir.

## **5.2. Yöntem**

### **5.2.1. Lenfositlerde DNA hasarının Comet tekniği ile *in vitro* tayini**

#### **5.2.1.1. Kan örneklerinin alınması**

Kan örnekleri çalışma grubundaki sağlıklı ve sigara içmeyen kişilerden heparinli tüplere yaklaşık 10 mL olacak şekilde alındı.

#### **5.2.1.2. Lenfosit örneklerinin hazırlanması**

Alınan kan örnekleri PBS ile 1:1 oranında seyreltildi, 1'er mL endorflara bölündü ve üzerine 400 µL Hystopaque-1077 çözeltisi eklenerek +4<sup>0</sup>C'de 400 g'de 10 dak. santrifüj edildi. Lenfosit tabakasının 400 µl si endorf tüplere otomatik pipetle alındı ve PBS ile 1 mL'ye tamamlanarak +4<sup>0</sup>C'de 200 g'de 10 dak. tekrar santrifüj edildi ve üst kısım atıldı. Aynı ayrı endorf tüplerde çöktürülen hücrelere 990, 950, 900 µL PBS ile süspanse edildi ve sırasıyla 10, 50 ve 100 µL pestisit

standartları (kons. 1 mg/ mL) ilave edildi. 990 µL PBS'teki hücre süspansiyonuna 10 µL DMSO ve 600 µL PBS'teki hücre süspansiyonuna ise 400 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edildi.

#### **5.2.1.3. Pestisit standartlarının hazırlanması ve lenfositler ile muamele**

Pestisit standartlarının hazırlanması: Aldicarb sulfon, azinphos ethyl, chlorpyriphos methyl, ethiofencarb ve EPN 10 mg tartıldı ve 1 mL DMSO'da çözüldü. Hazırlanan stok pestisit standart çözeltilerinden çalışma standart çözeltisi olarak 1mg/mL olacak şekilde distile su ile seyreltildi ve lenfosit süspansiyonuna ilave edildi.

Lenfositler ile muamele: 10, 50 ve 100 µg/mL pestisit ilave edilen lenfositler 37 °C'de 30 dak. ve 2 saat süre ile inkübe edildi. Negatif kontrol olarak DMSO ilave edilerek aynı işlem yapıldı. Pozitif kontrol için ise uygun lenfosit süspansiyonuna 1 mmol'lük 400 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi ilave edilerek 37 °C'de 5 dak. inkübe edildi.

#### **5.2.1.4. Hücre sayımı**

Lenfosit canlılık oranları tripan blue yöntemi ile belirlendi. Hücreler 1:1 oranında tripan blue ile boyandı ve Thoma lamına yayılarak ışık mikroskopunda sayıldı. Hücre canlılığı %90'ın üzerinde olan lenfositlerle Comet testi çalışıldı.

#### **5.2.1.5. Comet tekniği**

Lamlar % 0.7'lik NEDA ile kaplandı ve oda sıcaklığında kurutuldu. 50 µL hücre süspansiyonu (yaklaşık 5x10<sup>4</sup> hücre), 37 °C'deki 50 µL % 0.7'lik DEDA ile karıştırıldı ve kaplanmış lamlara yayıldı. Lamel kapatılarak buzdolabında agaroz katılaşmaya kadar 15 dak. beklendi. Lameller, agaroz zedelenmeden alındı. Lamlara üçüncü tabaka olarak 100 µL DEDA yayıldı ve lamel ile kapatılarak buzdolabında agaroz katılaşmaya kadar 20 dak. beklendi. Lameller agaroz zedelenmeden alındı. Lamlar, lizis çözeltisi (62.3 mL stok lizis çözeltisi, 7 mL DMSO, 0.7 mL Triton X) içinde 2 saat buzdolabında bekletildi. Daha sonra taze hazırlanmış soğuk elektroforez çözeltisinde (90 mL 5 M NaOH, 7.5 mL 0.2 M EDTA) 20 dak. bekletildi. Elektroforez tankı elektroforez çözeltisi ile dolduruldu. Elektroforez tankı buz ile soğutularak sıcaklık +4 °C'de tutuldu. Lamlar, agaroz yayılan kısımları üste gelecek şekilde tanka yerleştirildi ve sabit 15 V ve 300 mA akımda 30 dak. elektroforez

işlemi gerçekleştirildi. Oluşturulan elektrik akımı sayesinde negatif yüklü DNA sarmal kırıklarının anoda doğru göç etmesi sağlandı. Lamlar cam şaleye yerleştirilip nötralizasyon tamponu (0.4 M Tris) ile 3 kere + 4<sup>0</sup>C’de 5 dak. nötralize edildi.

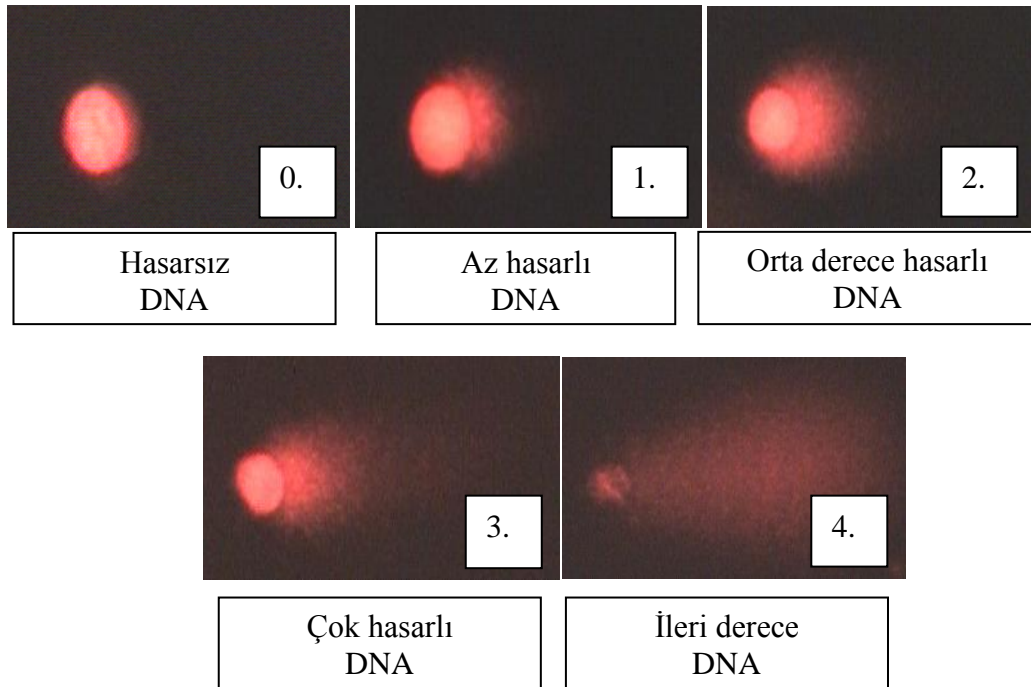
#### 5.2.1.6. Boyama

Her lam, floresan renk vermesi için 50 µL etidium bromür (20 µL/mL) ile boyandı. Lamel ile kapatıldı ve 15 dak. bekletildi.

#### 5.2.1.7. Değerlendirme

Lamlar bekletilmeden floresan mikroskopunda x200, x400 büyütme ile gözle değerlendirildi. Değerlendirme DNA kuyruk uzunlukları göz önüne alınarak, 0. derece; hasarsız DNA, 1. derece; az hasarlı DNA, 2. derece; orta derecede hasarlı DNA, 3. derece; çok hasarlı DNA ve 4. derece; ileri derecede hasarlı DNA olarak 5 kategoride yapıldı (Şekil 15.) (16). Toplam 100 hücre (n=3) sayılarak total comet skoru (TCS) hesaplandı. İstatistiksel değerlendirme SPSS 10 ver. ile Man Whitney U test kullanılarak yapıldı.

$TCS = (0. \text{ derece hasarlı DNA sayısı} \times 0) + (1. \text{ derece hasarlı DNA sayısı} \times 1) + (2. \text{ derece hasarlı DNA sayısı} \times 2) + (3. \text{ derece hasarlı DNA sayısı} \times 3) + (4. \text{ derece hasarlı DNA sayısı} \times 4)$



Şekil 15. Comet tekniği ile DNA hasar derecelerinin değerlendirilmesi

## **5.2.2. DAD/YBSK ile pestisitlerin analizi**

### **5.2.2.1. Örneklerin alınması**

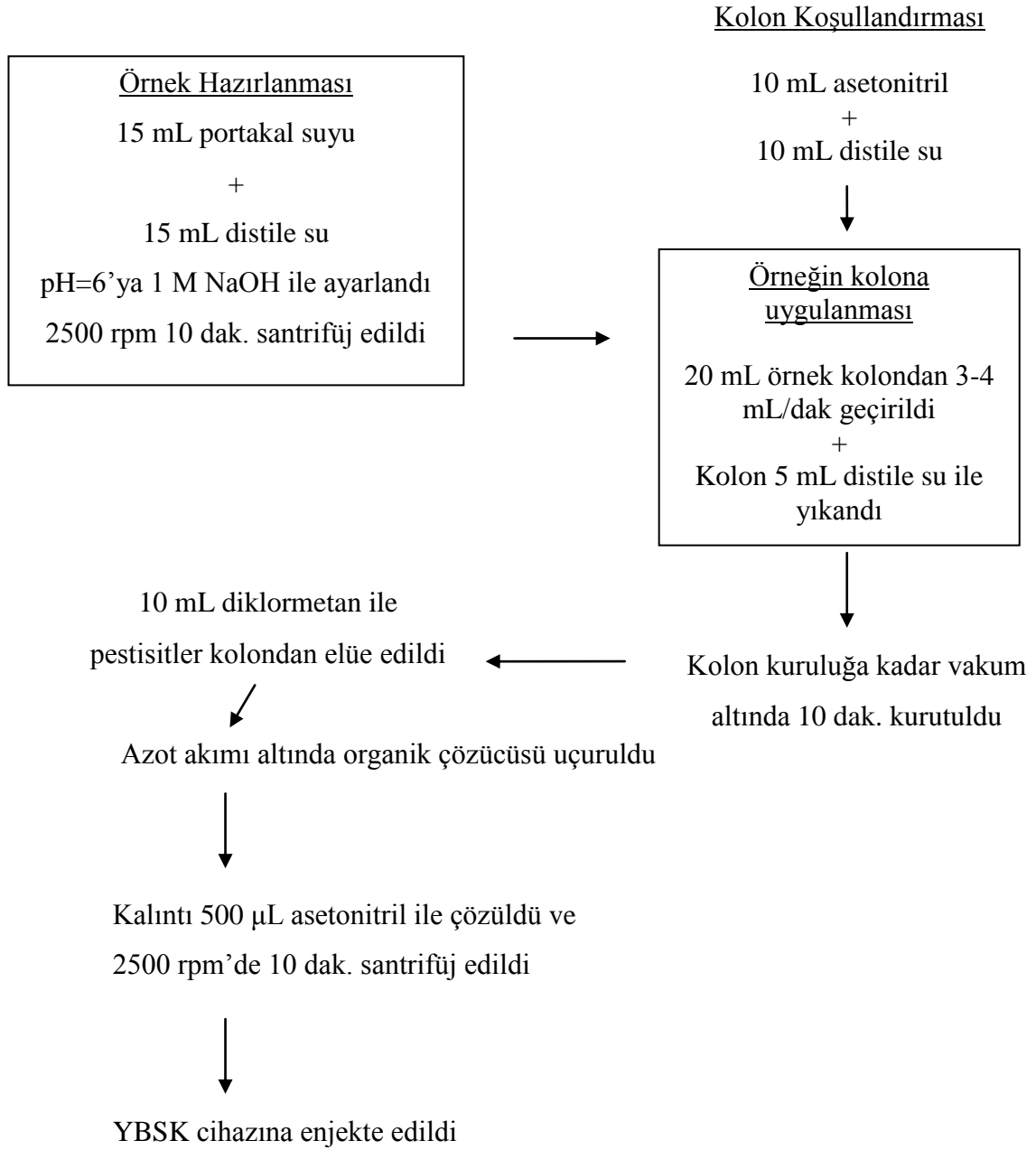
Çalışma kapsamında pestisitlerin analizleri için İstanbul'un değişik semtlerindeki marketlerden farklı markalarda 12 adet portakal suyu nektarı (meyve suyu oranı %50) ve 4 adet %100 portakal suyu, toplam 16 örnek çalışma materyalini oluşturdu.

### **5.2.2.2. Pestisit standartlarının hazırlanması**

Aldicarb sulfon, azinphos ethyl, chlorpyriphos methyl, ethiofencarb ve EPN standartları 10 mg/mL olacak şekilde metanolde çözülerek hazırlandı. Çalışma standart çözeltileri, 1 ng/ $\mu$ L ve 10 ng/ $\mu$ L olacak şekilde metanol ile seyreltildi ve tüm çözeltiler +4 <sup>0</sup>C'de muhafaza edildi.

### **5.2.2.3. Örneklerin ekstraksiyonu**

Portakal suyu örneklerinin ekstraksiyonları için SPE kolonu (Solid phase extraction=katı faz ekstraksiyon) kullanıldı. SPE kolonun koşullandırılması amacıyla kolondan 10 mL asetonitril ve 10 mL distile su geçirildi. 15 mL portakal suyu distile su ile 1:1 oranında seyreltildi. 1M NaOH ile pH sı 6'ya ayarlandı. 2500 rpm de 10 dak. santrifüj edildi. 20 mL seyreltilmiş örnek, kolondan 3-4 mL/dak. geçirildi. Kolon 5 mL su ile yıkandı ve kuruluğa kadar vakum altında 10 dak. kurutuldu. 10 mL diklormetan ile pestisitler kolondan elüe edilerek organik çözücü azot akımı altında kuruluğa kadar uçuruldu. Artık, 500  $\mu$ L asetonitril ile çözülerek 2500 rpm de 10 dak. santrifüj edildi ve YBSK cihazına 20 ve 50  $\mu$ L enjekte edildi (Şekil 16.).



**Şekil 16.** Portakal suyu örneklerinin SPE kolondan ekstraksiyonu

#### 5.2.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

Pestisit analizleri için Agilent 1100 series sistem kullanıldı.

Pompa: Gradient, G1211A

Detektör: Diode-Array detektör G1315A

Enjektör: Rheodyne 7725 i, 100 µL looplu

Data station: Agilent Chem Station

Analitik kolon: Kromasil C<sub>18</sub> 150A<sup>0</sup> 15 cm x 4,6 mm ID (Part no: OKR100-C<sub>18</sub>-150A), Hichrom, İngiltere

Koruyucu kolon: Kromasil C<sub>18</sub> 5 µm (Katalog no: KR100-5C<sub>18</sub>-150A), Hichrom, İngiltere

Gaz giderici sistem: G1322A

Isıtıcı: G1316A

#### Çalışma koşulları

Çözücü sistemi: Çözücü A=0.01 M fosforik asit (pH 3)

Çözücü B= Asetonitril/distile su (90:10)

Gradient:

Zaman (dak.)	Çözücü A %	Çözücü B %
0.00	95	5
30.00	0	100
35.00	95	5

Çözücü akış hızı: 1.0 mL/dak.

Kolon ısısı: 30°C

Detektör dalga boyu: 220 nm (4nm)

Çözücü sisteminde kullanılan saf su Milli-Q RG su sisteminden sağlandı.

#### 5.2.2.5. Geri kazanım çalışmaları

Portakal suyu örneklerine ilave edilen pestisit miktarları 2008/41 numaralı 29.07.2008 tarihli 26951 sayılı Türk Gıda Kodeksi gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri (MRL) esas alınmıştır (Tablo 3.) (65). Pestisit konsantrasyonları 40 ve 500 ng/mL olacak şekilde aldicarb sulfon, azinphos ethyl ve chlorpyrifos methyl standart çözeltileri ilave edildi ve 5.2.2.3.'de

örneklerin ekstraksiyonu bölümünde olduğu gibi çalışıldı (Şekil 16.). Her konsantrasyon için 4 paralel çalışma yapıldı.

**Tablo 3.** Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Bulunmasına İzin Verilen Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri (65).

<b>Pestisit kalıntıları</b>	<b>MRL'nin uygulanacağı ürün ve ürün grupları</b>	<b>Maksimum kalıntı limitleri (mg/kg)</b>
Aldicarb (Aldicarb, aldicarb sulfoxide, aldicarb sulfon; aldicarb cinsinden)	Taze veya Dondurulmuş Meyveler	0.02
Azinphos ethyl	Taze veya Dondurulmuş Meyveler	0.02
Chlorpyriphos methyl	Portakal	0.5

## 6. BULGULAR

### 6.1. DNA Hasarının Comet Tekniği Araştırılması

#### 6.1.1. Aldicarb sulfon

**Tablo 4.** Aldicarb sulfon ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

<b>Aldicarb sulfon (10 µg/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	59	31	4	4	2	59
2. grup	74	21	1	4	0	35
3. grup	72	25	0	2	1	35
ORTALAMA	68.32	25.66	1.66	3.32	1	43*
<b>Aldicarb sulfon (50 µg/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	66	22	9	2	1	50
2. grup	81	14	2	2	1	28
3. grup	86	8	3	2	1	24
ORTALAMA	77.66	14.66	4.66	2	1	34**
<b>Aldicarb sulfon (100µg/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	53	32	9	5	1	69
2. grup	77	13	6	1	3	40
3. grup	71	18	7	4	0	44
ORTALAMA	67	21	7.32	3.16	1.32	51*
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	86	12	2	0	0	16
2. grup	77	19	2	1	1	30
3. grup	83	13	2	2	0	23
ORTALAMA	82	14.66	2	1	0.32	23
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	90	9	0	1	0	12
2. grup	81	14	1	2	2	30
ORTALAMA	85.5	11.5	0.5	1.5	1	21
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400 µL/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

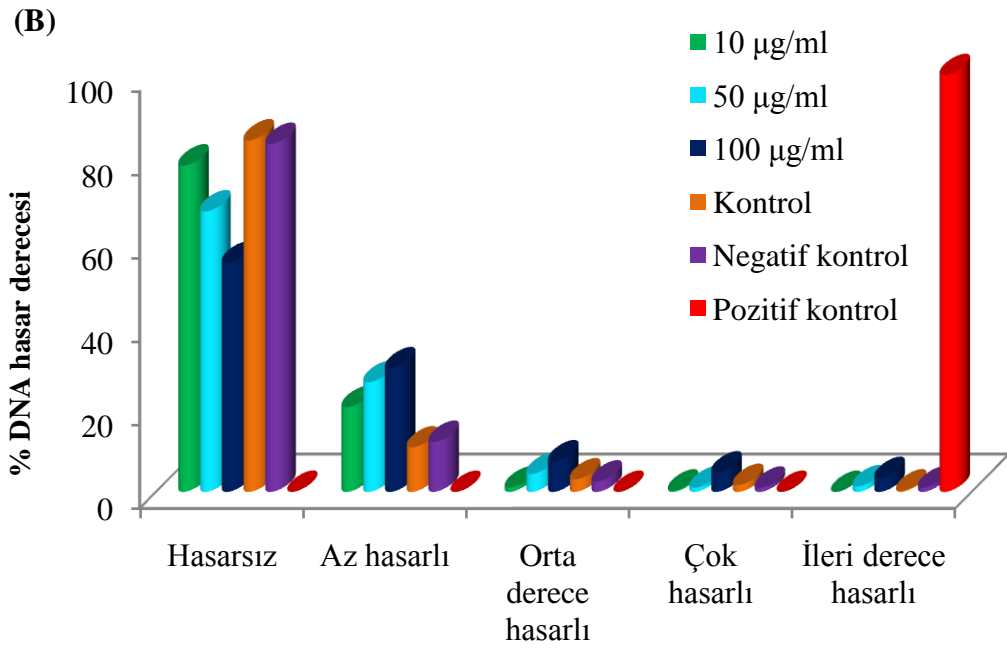
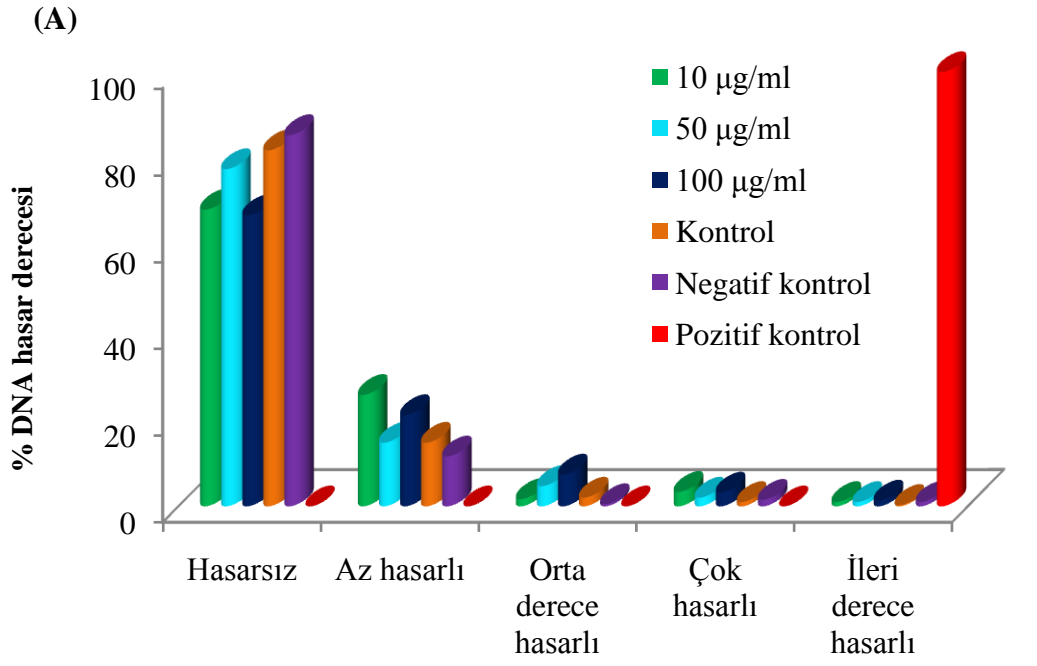
\*p=0.023; \*\*p>0.05, DNA hasarının istatistiksel anlamı



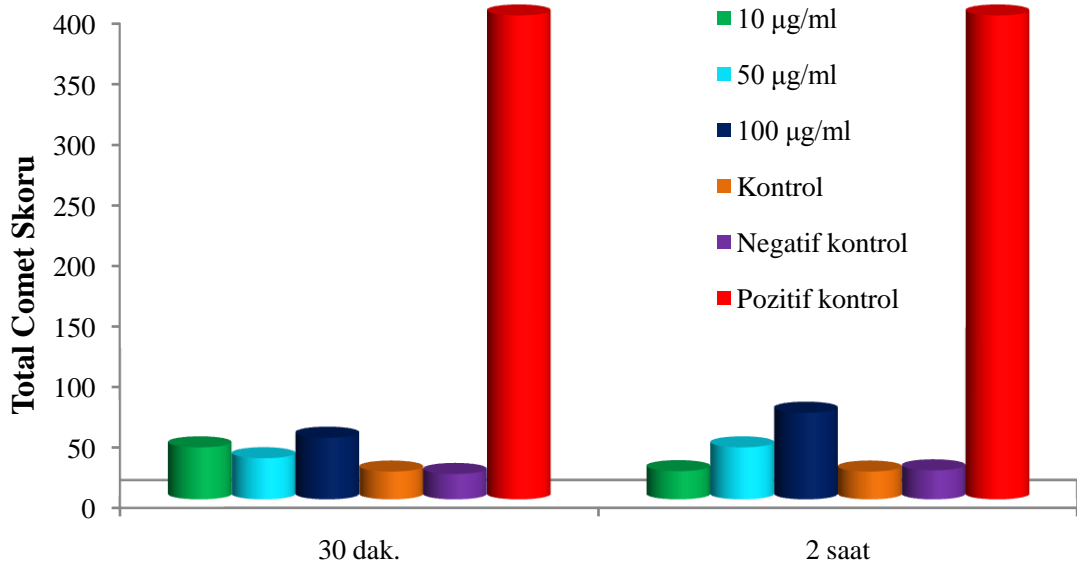
**Tablo 5.** Aldicarb sulfon ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

<b>Aldicarb sulfon (10 µg/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	73	26	1	0	0	28
2. grup	83	16	0	1	0	19
3. grup	79	19	2	0	0	23
ORTALAMA	78.32	20.32	1	0.32	0	23.32*
<b>Aldicarb sulfon (50 µg/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	57	36	4	1	2	55
2. grup	69	24	5	1	1	41
3. grup	76	18	4	1	1	33
ORTALAMA	67.32	26.32	4.32	1	1.32	43**
<b>Aldicarb sulfon (100 µg/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	38	38	14	6	4	100
2. grup	64	27	5	4	0	49
3. grup	63	24	3	4	6	66
ORTALAMA	55	29.66	7.32	4.66	3.32	71.66**
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	86	10	2	2	0	20
2. grup	84	12	3	1	0	21
3. grup	83	10	4	2	1	28
ORTALAMA	84.33	10.67	3	1.67	0.33	23
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	84	10	3	2	1	26
2. grup	83	14	2	0	1	22
ORTALAMA	83.5	12	2.5	1	1	24
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400 µL/mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

\*p>0.05 \*\*p=0.05, DNA hasarının istatistiksel anlamı



Şekil 17. Aldicarb sulfon ile lenfositlerde (A) 30 dak.; (B) 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı



**Şekil 18.** Aldicarb sulfon ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

### 6.1.2. Ethiofencarb

**Tablo 6.** Ethiofencarb ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

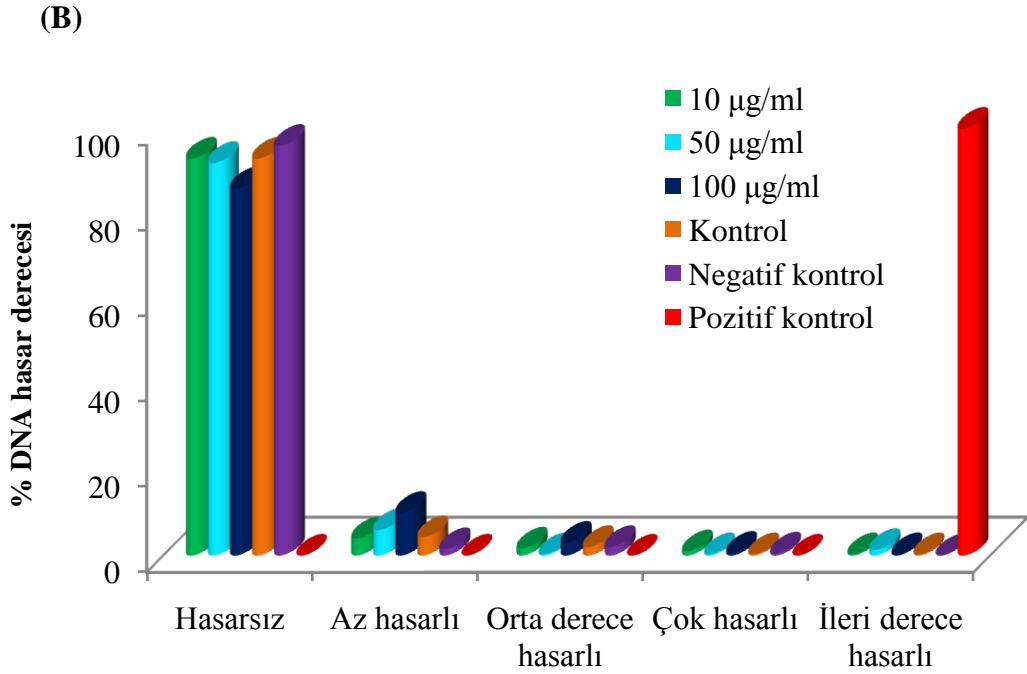
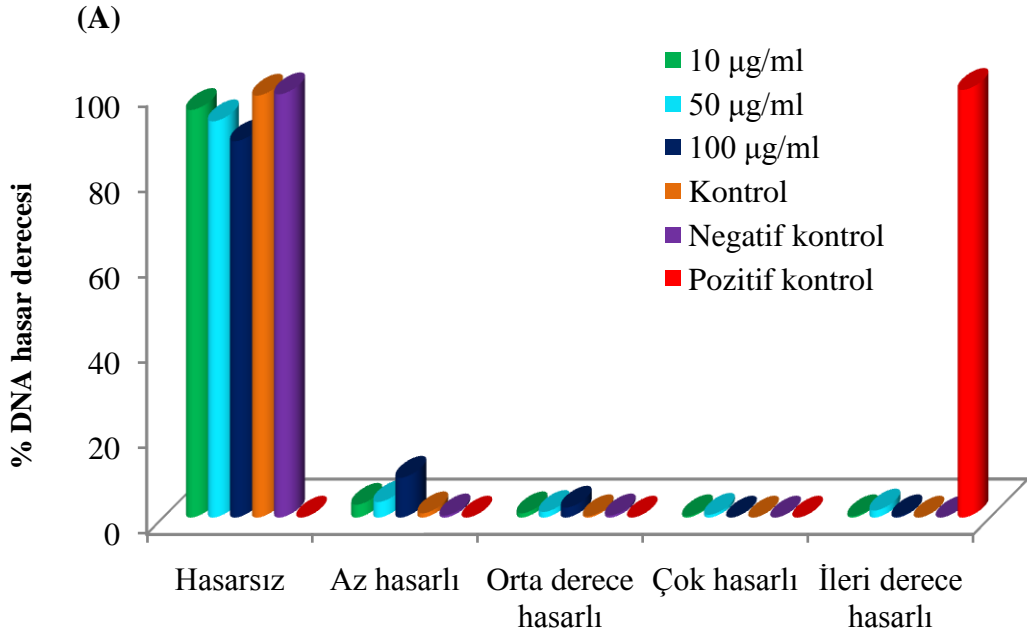
<b>Ethiofencarb (10 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	93	4	1	1	1	13
2. grup	96	3	1	0	0	5
3. grup	97	2	1	0	0	4
ORTALAMA	95.32	3	1	0.32	0.32	7.32*
<b>Ethiofencarb (50 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	92	5	1	1	1	14
2. grup	94	3	0	0	3	15
3. grup	92	3	3	1	1	16
ORTALAMA	92.66	3.66	1.32	0.66	1.66	15**
<b>Ethiofencarb (100 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	87	11	2	0	0	15
2. grup	92	6	2	0	0	10
3. grup	85	11	3	0	1	21
ORTALAMA	88	9.32	2.32	0	0.32	15.32**
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	98	2	0	0	0	2
2. grup	98	1	1	0	0	3
3. grup	100	0	0	0	0	0
ORTALAMA	98.66	1	0.32	0	0	1.66
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	98	1	1	0	0	3
2. grup	100	0	0	0	0	0
ORTALAMA	99	0.5	0.5	0	0	1.5
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

\*p=0.012; \*\*p=0.004, DNA hasarının istatistiksel anlamı

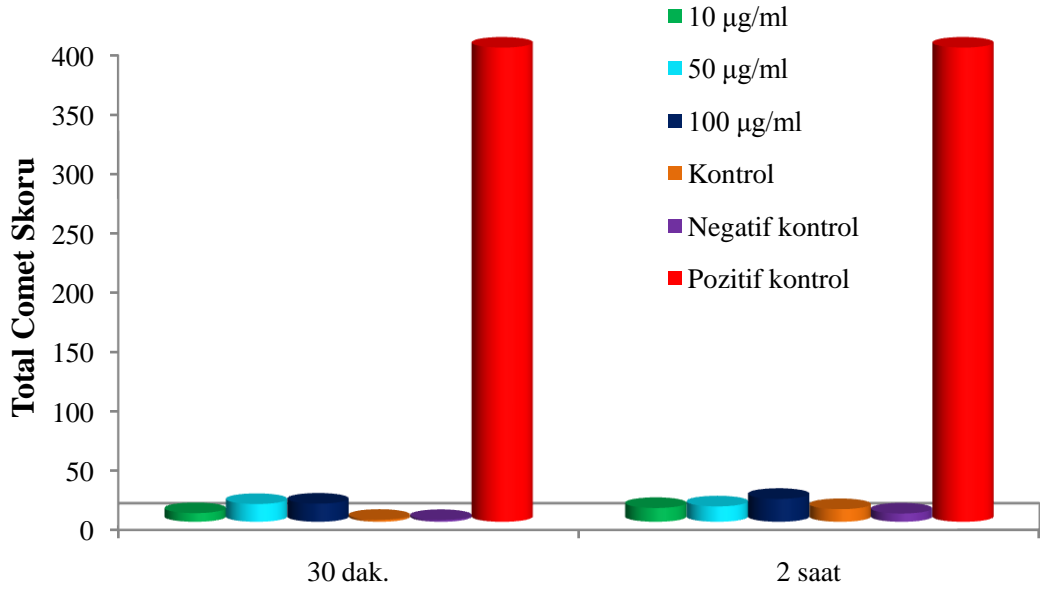
**Tablo 7.** Ethiofencarb ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

<b>Ethiofencarb (10 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	94	4	1	1	0	9
2. grup	90	6	2	1	1	17
3. grup	95	2	2	1	0	9
ORTALAMA	93	4	1.66	1	0.32	11.66*
<b>Ethiofencarb (50 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	95	4	0	0	1	8
2. grup	89	9	1	0	1	15
3. grup	92	5	0	1	2	16
ORTALAMA	92	6	0.32	0.32	1.32	13*
<b>Ethiofencarb (100 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	87	10	3	0	0	16
2. grup	85	11	3	0	1	21
3. grup	86	9	3	2	0	21
ORTALAMA	86	10	3	0.66	0.32	19.33**
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	90	9	1	0	0	11
2. grup	94	2	3	1	0	11
3. grup	95	2	2	0	1	10
ORTALAMA	93	4.32	2	0.32	0.32	10.66
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	97	2	1	0	0	4
2. grup	95	1	3	1	0	10
ORTALAMA	96	1.5	2	0.5	0	7
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

\*p>0.05; \*\*p=0.010, DNA hasarının istatistiksel anlamı



Şekil 19. Ethiofencarb ile lenfositlerde (A) 30 dak.; (B) 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı



**Şekil 20.** Ethiofencarb ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

### 6.1.3. Azinphos ethyl

**Tablo 8.** Azinphos ethyl ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

<b>Azinphos ethyl (10 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	96	3	1	0	0	5
2. grup	96	3	0	1	0	6
3. grup	94	5	0	0	1	9
ORTALAMA	95.32	3.66	0.32	0.32	0.32	6.66*
<b>Azinphos ethyl (50 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	93	4	0	2	1	14
2. grup	93	5	0	1	1	12
3. grup	89	11	1	0	0	13
ORTALAMA	91.66	7.32	0.32	1	0.66	13**
<b>Azinphos ethyl (100 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	88	7	1	1	3	24
2. grup	89	9	0	0	2	17
3. grup	88	8	2	1	1	19
ORTALAMA	88.32	8	1	0.66	2	20***
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	97	3	0	0	0	3
2. grup	94	6	0	0	0	6
3. grup	98	2	0	0	0	2
ORTALAMA	96.32	3.66	0	0	0	3.66
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	99	1	0	0	0	1
2. grup	98	2	0	0	0	2
ORTALAMA	98.5	1.5	0	0	0	1.5
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

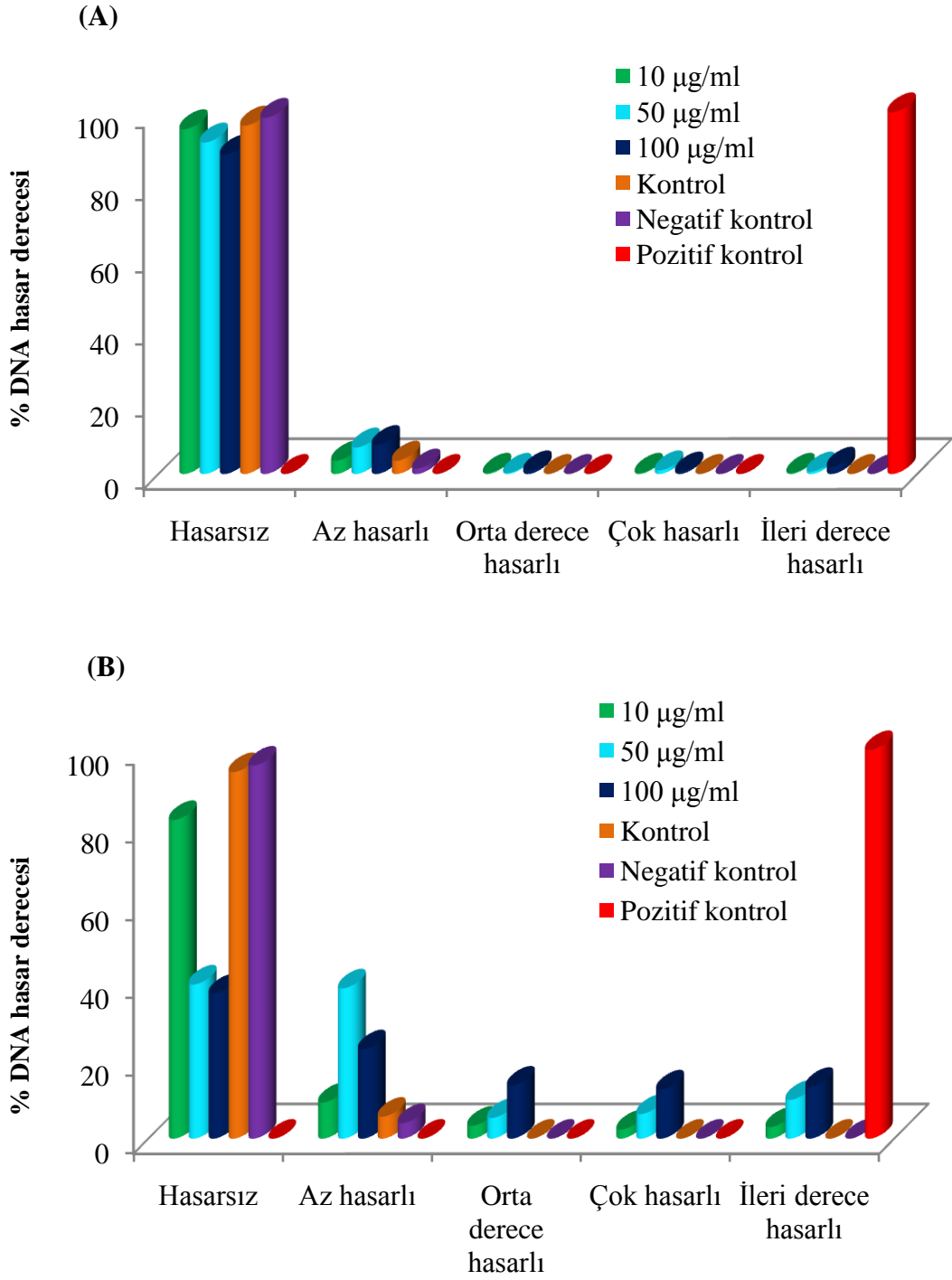
\*p>0.05; \*\*p=0.003; \*\*\*p=0.004, DNA hasarının istatistiksel anlamı



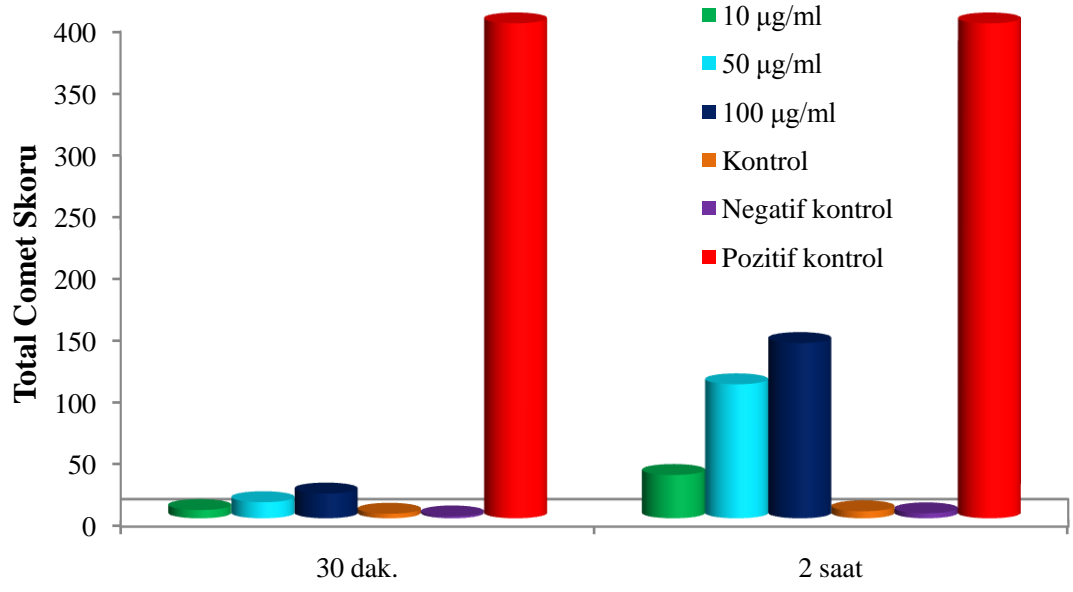
**Tablo 9.** Azinphos ethyl ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

<b>Azinphos ethyl (10 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	77	13	6	2	2	39
2. grup	83	10	2	3	2	31
3. grup	86	5	2	2	5	35
ORTALAMA	82	9.32	3.32	2.32	3	35*
<b>Azinphos ethyl (50 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	42	41	2	7	8	98
2. grup	39	33	8	8	12	121
3. grup	38	42	6	4	10	108
ORTALAMA	39.67	38.67	5.33	6.33	10	108.32*
<b>Azinphos ethyl (100 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	37	21	13	16	13	147
2. grup	37	31	13	8	11	125
3. grup	38	17	15	14	16	153
ORTALAMA	37.32	23	13.66	12.66	13.32	141.66**
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	94	6	0	0	0	6
2. grup	95	5	0	0	0	5
3. grup	94	6	0	0	0	6
ORTALAMA	94.32	5.66	0	0	0	5.66
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	96	4	0	0	0	4
2. grup	96	4	0	0	0	4
ORTALAMA	96	4	0	0	0	4
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

\*p=0.003; \*\*p=0.004, DNA hasarının istatistiksel anlamı



**Şekil 21.** Azinphos ethyl ile lenfositlerde (A) 30 dak.; (B) 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı



**Şekil 22.** Azinphos ethyl ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

#### 6.1.4. Chlorpyriphos methyl

**Tablo 10.** Chlorpyriphos methyl ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

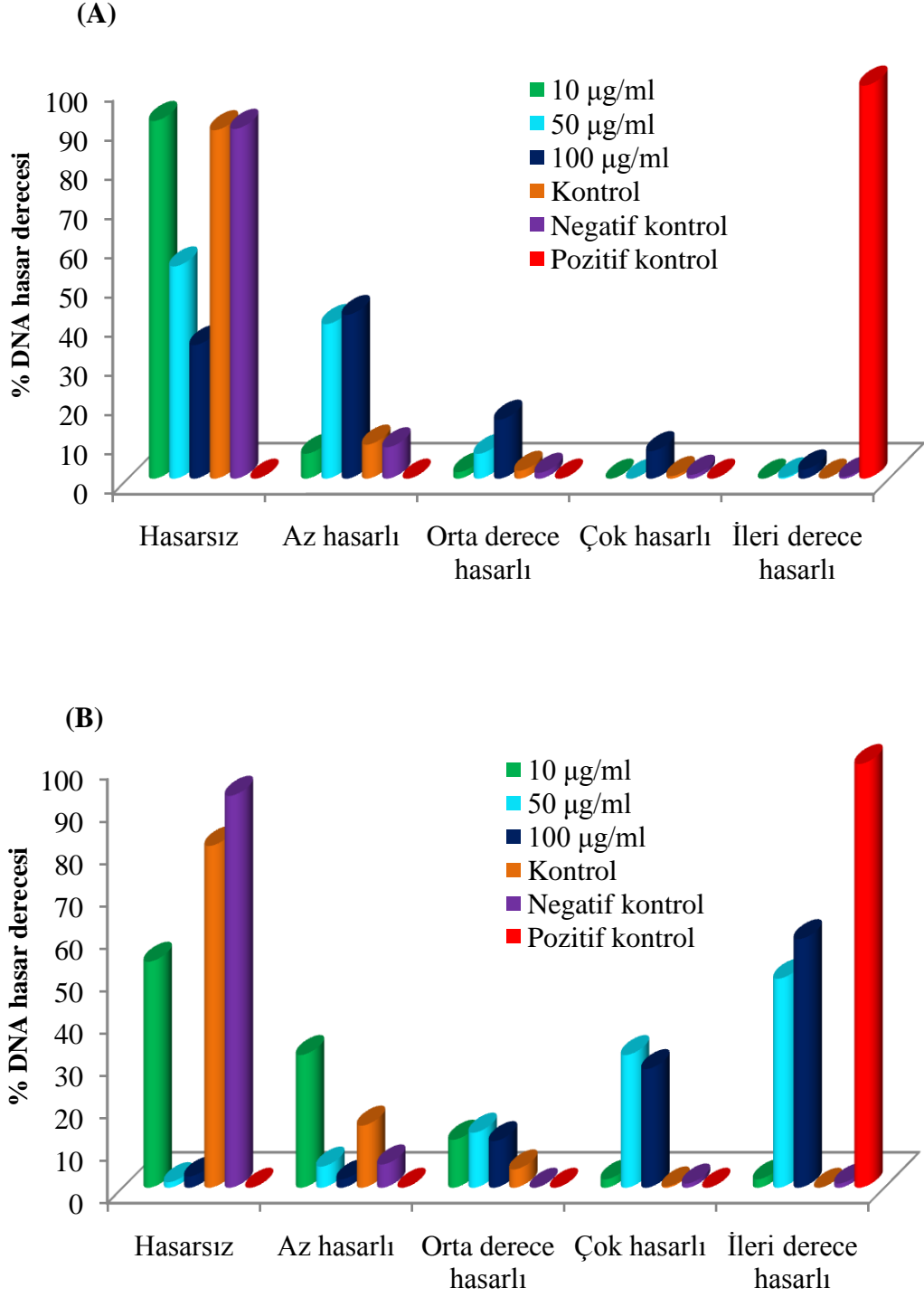
<b>Chlorpyriphos methyl (10 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	93	6	0	0	0	9
2. grup	88	11	0	0	0	14
3. grup	92	2	5	0	0	12
ORTALAMA	91	6.33	1.66	0	0	11.66*
<b>Chlorpyriphos methyl (50 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	30	63	7	0	0	77
2. grup	74	22	3	0	1	32
3. grup	58	33	9	0	0	51
ORTALAMA	54	39.33	6.33	0	0.33	53.33**
<b>Chlorpyriphos methyl (100 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	15	53	18	10	4	135
2. grup	57	36	5	2	0	52
3. grup	30	36	22	9	3	119
ORTALAMA	34	41.66	15	7	2.33	102***
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	90	8	2	0	0	12
2. grup	88	9	2	1	0	14
3. grup	88	9	2	1	0	16
ORTALAMA	88.66	8.66	2	0.66	0	14
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	90	7	0	2	1	17
2. grup	88	9	3	0	0	15
ORTALAMA	89	8	1.5	1	0.5	16
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

\*p>0.05; \*\*p=0.005; \*\*\*p=0.004, DNA hasarının istatistiksel anlamı

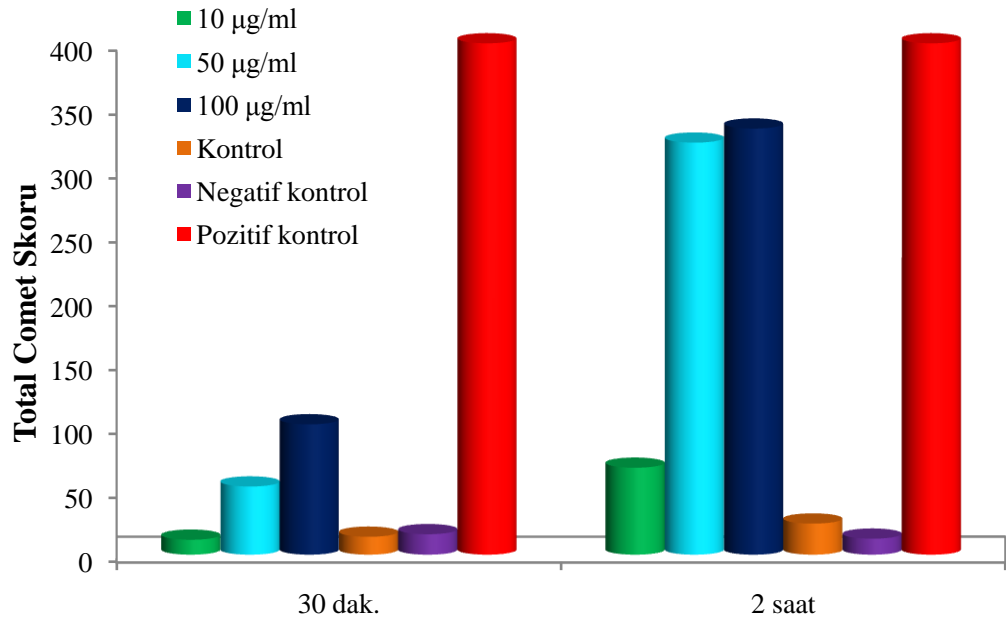
**Tablo 11.** Chlorpyriphos methyl ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

<b>Chlorpyriphos methyl (10 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri				İleri derece hasarlı	TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı		
1. grup	55	26	15	2	2	70
2. grup	46	41	10	1	2	72
3. grup	59	27	9	3	2	62
ORTALAMA	53.33	31.33	11.33	2	2	68*
<b>Chlorpyriphos methyl (50 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri				İleri derece hasarlı	TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı		
1. grup	2	6	19	35	38	301
2. grup	0	0	6	26	68	362
3. grup	2	9	14	33	42	304
ORTALAMA	1.32	5	13	31.32	49.32	322.32**
<b>Chlorpyriphos methyl (100 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri				İleri derece hasarlı	TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı		
1. grup	7	3	14	29	47	306
2. grup	1	0	3	27	69	363
3. grup	0	3	16	28	60	331
ORTALAMA	2.66	2	11	28	58.66	333.33**
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri				İleri derece hasarlı	TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı		
1. grup	75	21	4	0	0	29
2. grup	87	8	4	1	0	19
3. grup	80	15	5	0	0	25
ORTALAMA	80.66	14.66	4.33	0.32	0	24.32
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri				İleri derece hasarlı	TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı		
1. grup	92	8	0	0	0	8
2. grup	93	3	0	2	2	17
ORTALAMA	92.5	5.5	0	1	1	12.5
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri				İleri derece hasarlı	TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı		
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

\*p=0.008; \*\*p=0.004, DNA hasarının istatistiksel anlamı



**Şekil 23.** Chlorpyrifos methyl ile lenfositlerde (A) 30 dak.; (B) 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı



**Şekil 24.** Chlorpyrifos methyl ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

### 6.1.5. EPN

**Tablo 12.** EPN ile lenfositlerde 30 dak. inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

<b>EPN (10 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	93	5	2	0	0	9
2. grup	93	7	0	0	0	7
3. grup	98	2	0	0	0	2
ORTALAMA	94.66	4.66	0.66	0	0	6*
<b>EPN (50 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	81	34	5	4	0	56
2. grup	88	20	6	1	0	35
3. grup	89	32	3	2	0	44
ORTALAMA	86	11	1.32	1	0.66	19.32**
<b>EPN (100 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	84	12	3	0	2	34
2. grup	94	5	0	0	1	32
3. grup	93	3	1	1	2	29
ORTALAMA	90.2	6.32	1.32	0.32	1.66	17.32**
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	97	2	1	0	0	29
2. grup	98	0	1	0	1	34
3. grup	99	1	0	0	0	30
ORTALAMA	98	1	0.66	0	0.32	3.66
<b>DMSO Negatif kontrol (10 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	99	1	0	0	0	1
2. grup	100	0	0	0	0	0
ORTALAMA	99.5	0.5	0	0	0	0.5
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasar Dereceleri					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

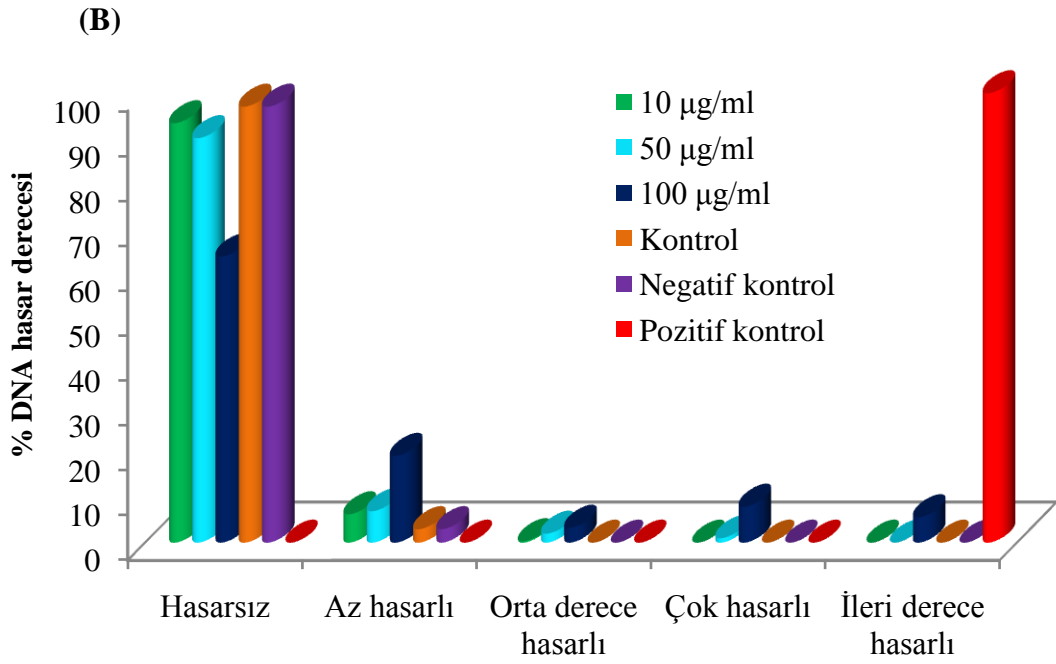
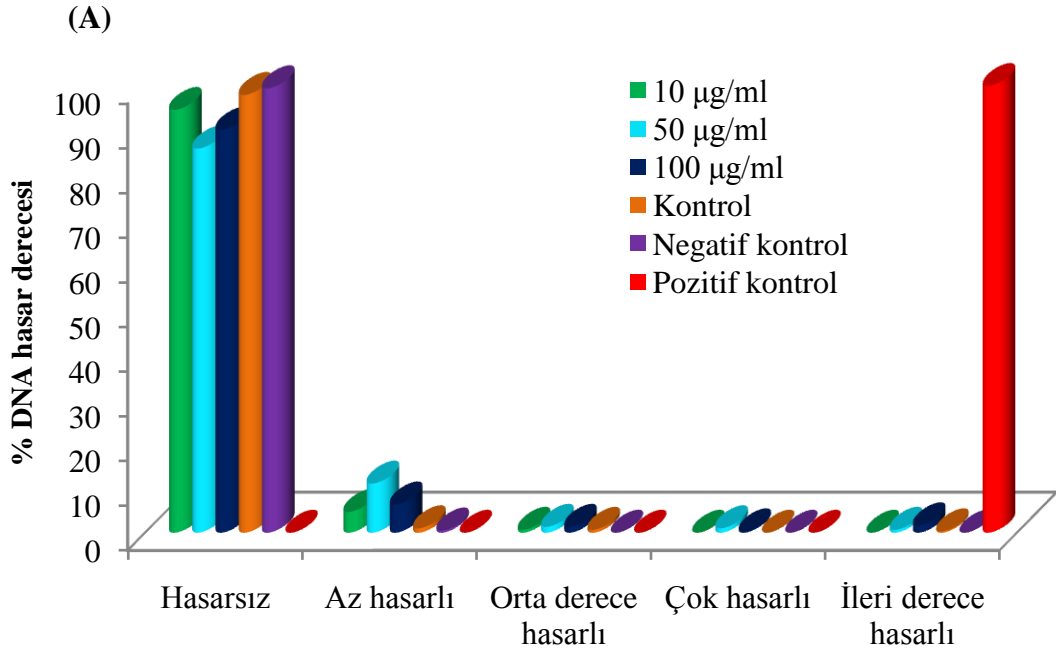
\*p>0.05; \*\*p=0.010, DNA hasarının istatistiksel anlamı



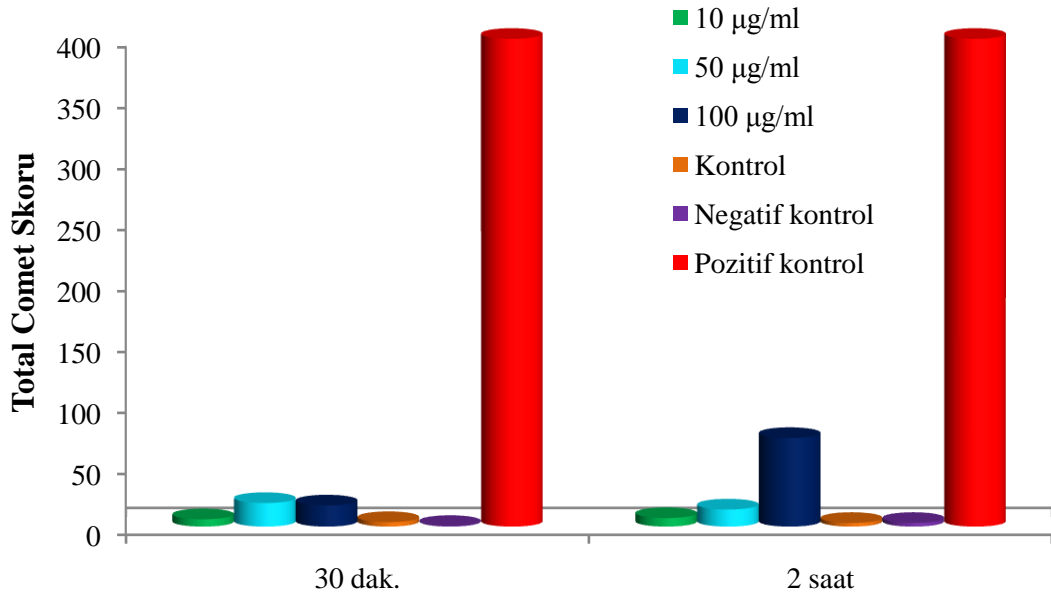
**Tablo 13.** EPN ile lenfositlerde 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen DNA hasar dereceleri ve total Comet skorları (TCS)

<b>EPN (10µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasarı					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	90	9	1	0	0	11
2. grup	95	5	0	0	0	5
3. grup	95	5	0	0	0	5
ORTALAMA	93.33	6.32	0.32	0	0	7*
<b>EPN (50 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasarı					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	90	5	4	1	0	16
2. grup	89	7	2	2	0	17
3. grup	91	9	0	0	0	9
ORTALAMA	90	7	2	1	0	14**
<b>EPN (100 µg/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasarı					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	38	22	5	8	5	76
2. grup	64	19	3	8	7	77
3. grup	63	17	2	8	5	65
ORTALAMA	63.66	19.32	3.32	8	5.66	72.66**
<b>Kontrol</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasarı					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	97	3	0	0	0	3
2. grup	99	1	0	0	0	1
3. grup	95	5	0	0	0	5
ORTALAMA	97	3	0	0	0	3
<b>Negatif kontrol DMSO (10 µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasarı					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	98	2	0	0	0	2
2. grup	96	4	0	0	0	4
ORTALAMA	97	3	0	0	0	3
<b>Pozitif kontrol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (400µL/ mL)</b>						
GRUP	Lenfositlerde DNA Hasarı					TCS
	Hasarsız	Az Hasarlı	Orta derece hasarlı	Çok hasarlı	İleri derece hasarlı	
1. grup	0	0	0	0	100	400
2. grup	0	0	0	0	100	400
ORTALAMA	0	0	0	0	100	400

\*p=0.032; \*\*p=0.004, DNA hasarının istatistiksel anlamı



**Şekil 25.** EPN ile lenfositlerde (A) 30 dak.; (B) 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen % DNA hasarı



**Şekil 26.** EPN ile lenfositlerde 30 dak. ve 2 saat inkübasyonu sonucu gözlenen total Comet skorları (TCS)

Aldicarb sulfon'un lenfositlerle 30 dak. inkübasyonu sonucu 10 ve 100 µg/mL konsantrasyonda DNA hasarı anlamlı bulundu. 2 saat inkübasyon sonunda 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonda ise DNA hasarı zayıf olarak gözlenmiş ve bu oluşan hasarda inkübasyon süresinin etkisi anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4., 5.; Şekil 17., 18.).

Ethiofencarb'ın lenfositlerle 30 dak. inkübasyonu sonucu 10 µg/mL konsantrasyonda istatistiksel olarak DNA hasarı anlamlı ancak düşük bulundu. 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda ise DNA hasarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek bulundu (Tablo 6.; Şekil 19., 20.). Ayrıca lenfositlerle 2 saat inkübasyonu sonucu ise sadece 100 µg/mL konsantrasyonda DNA hasarı anlamlı bulundu (Tablo 7.; Şekil 19., 20.).

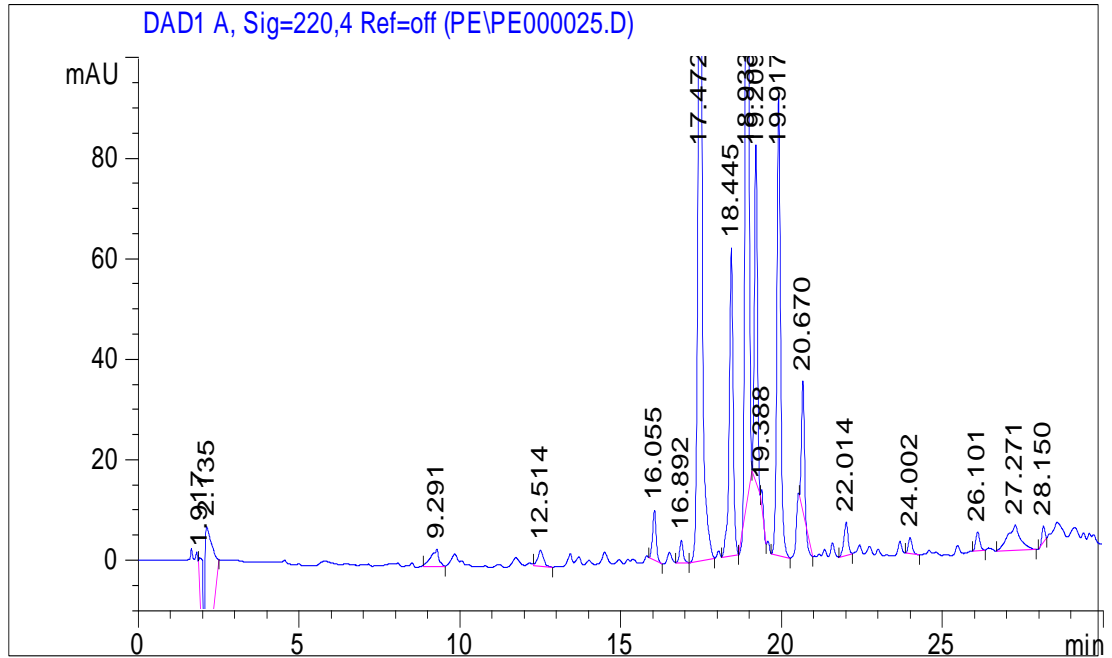
Azinphos ethyl'in lenfositlerle 30 dak. inkübasyonu sonucu 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda DNA hasarı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 8.; Şekil 21., 22.). Pestisit 2 saat inkübasyonu sonucu ise 10, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonda DNA hasarı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 9.; Şekil 21., 22.).

Chlorpyrifos methyl'in lenfositlerle 30 dak. inkübasyonu sonucu 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda DNA hasarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 10.; Şekil 23., 24.). Ayrıca lenfositlerle 2 saat inkübasyonu sonucu ise 10, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonda DNA hasarı istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 11.; Şekil 23., 24.).

EPN'nin lenfositlerle 30 dak. inkübasyonu sonucu 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda DNA hasarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fakat düşük bulundu (Tablo 12.; Şekil 25., 26.). Pestisitlerin 2 saatlik inkübasyonu sonucu ise 10, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonda DNA hasarı anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 13.; Şekil 25., 26.).

## 6.2. Pestisitlerin DAD/YBSK ile Analizleri

İstanbul'un değişik semtlerindeki marketlerden farklı markalarda 12 adet portakal suyu nektarı (meyve suyu oranı %50) ve 4 adet %100 portakal suyu, toplam 16 örneğin DAD/YBSK ile yapılan analizleri sonucunda pestisitlere rastlanmadı (Şekil 27.).

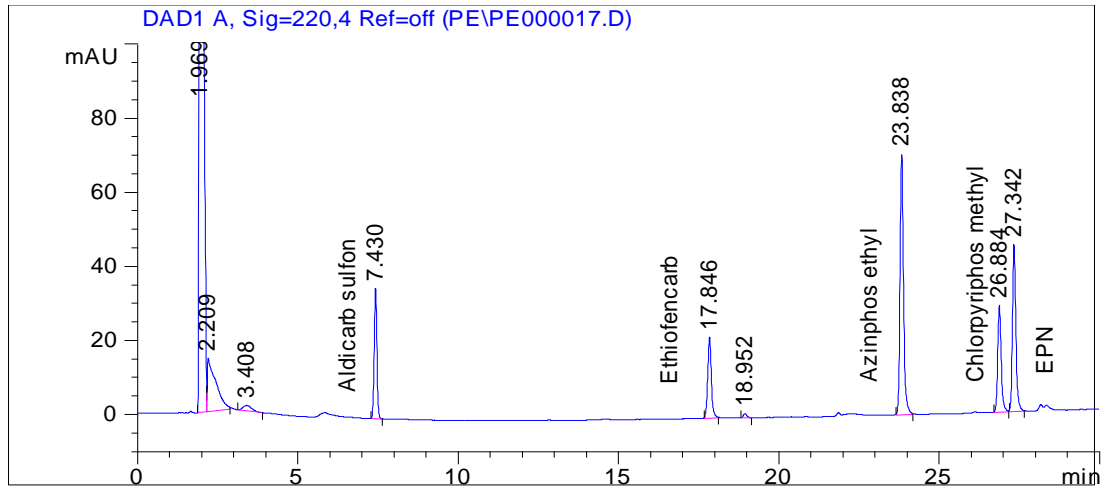


Şekil 27. Pestisit içermeyen portakal suyu örneğine ait kromatogram

Pestisit standart maddelerinin ölçü eğrileri, teşhis ve tayin limitlerine ilişkin parametreler Tablo 14.'te verilmiştir (Şekil 28. ve 29.). DAD'den elde edilen pestisit standart kromatogramındaki piklerin spektrumları Şekil 30.'da verilmiştir. Portakal suyu örneklerinde pestisitlere rastlansaydı detektörden elde edilen spektrumlarla karşılaştırma imkanı sağlanacaktı.

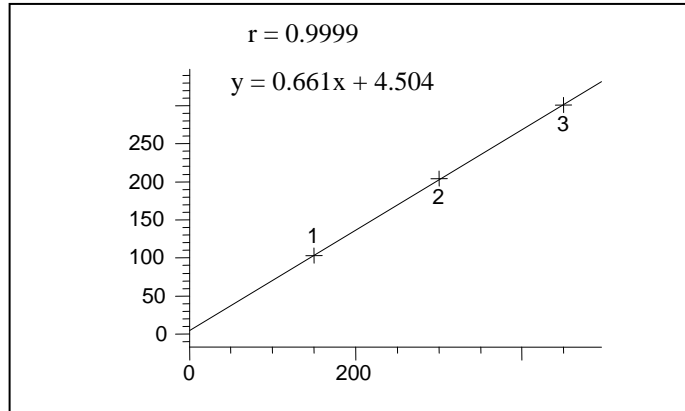
**Tablo 14.** Pestisit standartlarının ölçü eğrisi doğru denklemi, korelasyon katsayısı (r), teşhis (deteksiyon) sınırı (LOD), tayin limiti (LOQ)

Pestisit	Doğru denklemi	Korelasyon katsayısı (r)	LOD (ng)	LOQ (ng)
Aldicarb sulfon	$y = 0.661x + 4.504$	0.9999	8,3	29,05
Azinphos ethyl	$y = 4.959x + 27.828$	1.0000	3,66	12,8
Chlorpyriphos methyl	$y = 1.411x + 4.692$	1.0000	7,3	25,55
Ethiofencarb	$y = 1.414x - 34.100$	0.9990	2,89	10,1
EPN	$y = 3.150x + 12.053$	1.0000	9,8	34,3

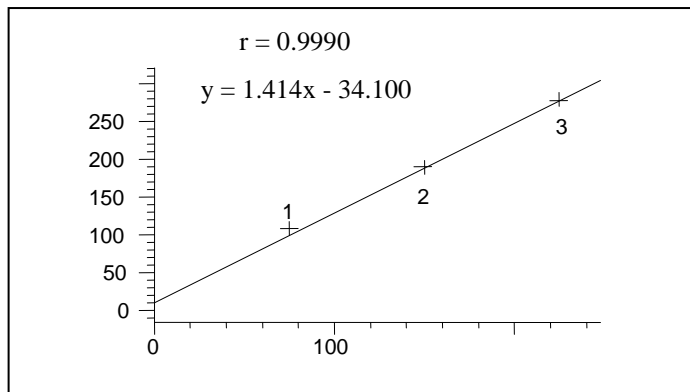


**Şekil 28.** Aldicarb sulfon (300 ng), ethiofencarb (150 ng), chlorpyriphos methyl (150 ng), EPN (100 ng) ve azinphos ethyl (100 ng) standart karışımlarına ait kromatogram

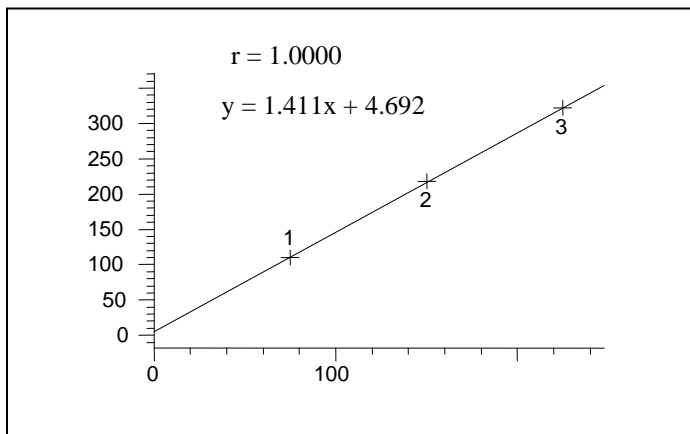
(a)

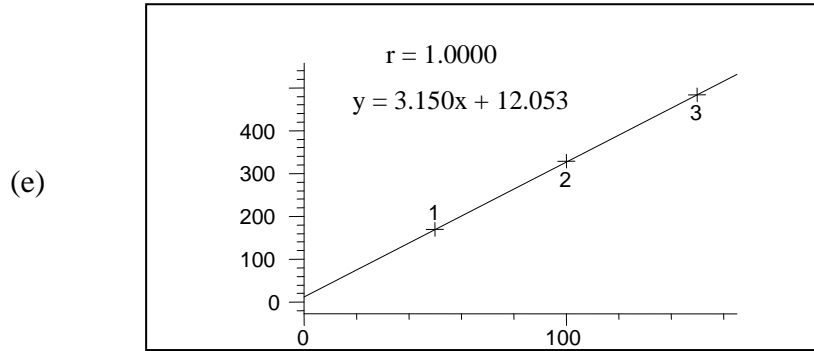
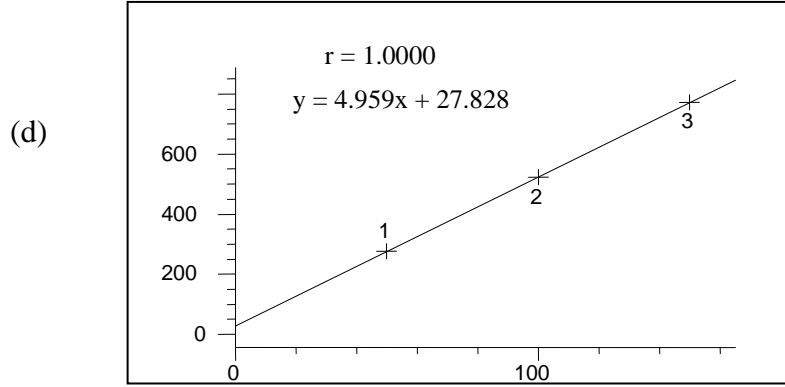


(b)

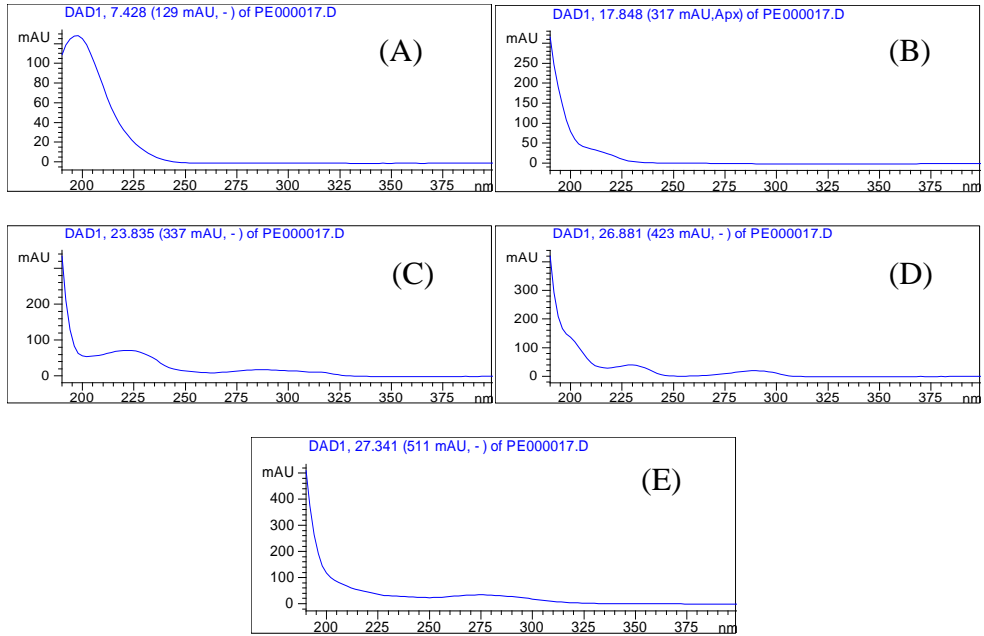


(c)





**Şekil 29.** Pestisitlerin ölçü eğrileri (a) aldicarb sulfon (150, 300 ve 450 ng), (b) ethiofencarb (75, 150 ve 225 ng) , (c) chlorpyriphos methyl (75, 150 ve 225 ng), (d) azinphos ethyl (50, 100 ve 150 ng), (e) EPN (50, 100 ve 150 ng)



**Şekil 30.** Aldicarb sulfon (A), ethiofencarb (B), azinphos ethyl (C), chlorpyriphos methyl (D) ve EPN (E)'nin DAD/YBSK'den elde edilen kromatogramdaki piklerin (Şekil 27.) spektrumları

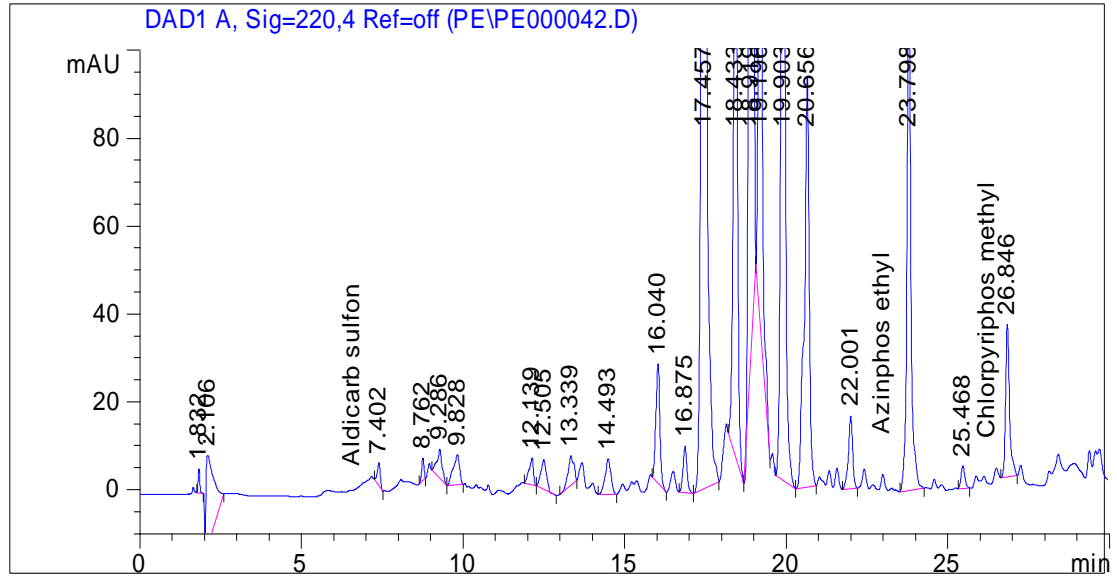
### 6.2.1. Geri kazanım çalışmaları

Önceden analiz edilen ve pestisit içermeyen portakal suyuna pestisitler ilave edilerek geri kazanım oranları hesaplandı (Tablo 15.; Şekil 31.).

**Tablo 15.** Çalışılan pestisitlerin alıkonma zamanları ( $t_R$ ), portakal suyundan % geri kazanım oranları ve bağıl standart sapma değerleri (% RSD)

Pestisit	$t_R$	Ortalama geri kazanım $\pm$ % RSD	
		İlave edilen miktar (ng/mL)	
		500	40
Aldicarb sulfon	7,42	13.81 $\pm$ 5.35	Tespit edilemedi
Azinphos ethyl	23,835	81.17 $\pm$ 3.91	32.14 $\pm$ 23.96
Chlorpyriphos methyl	26,755	80.12 $\pm$ 4.76	165.03 $\pm$ 22.77

n=4



**Şekil 31.** Aldicarb sulfon, chlorpyriphos methyl ve azinphos ethyl (500 ng) ilave edilmiş portakal suyu örneğine ait kromatogram



## 7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Pestisitler tarımda yaygın olarak kullanılan, zararlıların kontrolünü sağlamak için çevreye uygulanan bileşiklerdir. Çevrede kalıcı olmaları nedeniyle toksisitelerinin bilinmesi ve risk değerlendirmelerinin mutlaka yapılması gerekir.

Pestisitlerin kullanımı ile ilgili sınırlamalar getirilmesine rağmen kimyasal yapı, biyolojik aktivite ve yanlış kullanılmaları nedeniyle insan sağlığına zarar verebilecekleri unutulmamalıdır. Bu nedenle son yıllarda en fazla çalışmalar mutajenik etkilerinin araştırılması yönündedir ve bu amaçla *Bacillus subtilis* ve *Salmonella typhimurium* test suşları ile çalışmalar (77) yapılmakta olup DNA üzerine direkt etkileri üzerine daha az çalışma bulunmaktadır.

DNA hasarının belirlenmesi çalışmaları son yıllarda *in vivo* ve *in vitro* olarak ve özellikle insan lenfosit hücrelerinde Comet tekniği (8, 13, 41, 55, 58, 62, 64, 85, 91) ile araştırılmaktadır. Comet tekniği genotoksik etkinin değerlendirilmesinde hassas, ekonomik, kolay ve kısa sürede yapılması nedeniyle tercih edilmektedir ve tek hücrede DNA hasarını saptamak mümkündür. İnsan ve deney hayvanlarının lenfositlerinde kimyasalların genotoksik etkileri bu yöntemle izlenebilir. Bu çalışmada, organofosforlu pestisitlerden azinphos ethyl, chlorpyriphos methyl ve EPN ve karbamat grubu pestisitlerde aldicarb sulfon ve ethiofencarb pestisitlerin DNA üzerine direkt etkileri *in vitro* olarak Comet tekniği ile araştırılmış ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmada Comet tekniği ile pestisitlerin olası genotoksik etkilerini saptamadan önce lenfositlere toksik dozları belirlendi. Elde edilen sonuçlar 100 µg/mL konsantrasyonda pestisitlerin ileri derecede toksik olduğunu, hücrelerin ölümüne yol açtığını, hücre canlılığı trypan blue ile kontrol edilerek tespit edildi. Buna bağlı olarak 10, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda pestisitlerin etkileri, inkübasyon süreleri göz önünde bulundurularak DNA hasarları belirlendi. Ayrıca çalışmada daha önce Comet tekniği ile genotoksik etkileri araştırılmamış olan pestisitlerin LD<sub>50</sub> değerleri gözönüne alınarak kullanılacak olan madde konsantrasyonlarının hesaplanması yapıldı. Chlorpyriphos methyl'in oral LD<sub>50</sub> değeri 2000-3000 mg/kg olduğu halde ve çok toksik bir madde olmadığı düşünülmesine rağmen 50 ve 100

$\mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda DNA hasarı çok yüksek olarak bulundu (Tablo 10. ve 11.; Şekil 23. ve 24.). Diğer bir anlamlı sonuç, aldicarb sulfon'un genotoksik etkisi araştırıldığında görülmüştür. Aldicarb sulfon'un sıçanlarda  $\text{LD}_{50}$  değeri  $26.8 \text{ mg/kg}$  (oral) olarak belirlenmiştir. Genotoksik etkisini araştırdığımızda 2 saat inkübasyon sonucu sadece 50 ve  $100 \mu\text{g/mL}$  dozlarda zayıf DNA hasarı gözlenmiştir (Tablo 4. ve 5.; Şekil 17. ve 18.). Bu durum genotoksik etkinin  $\text{LD}_{50}$  değerleri ile doğru orantılı olmadığını göstermiştir.

Çalışmada pestisit standartlarının çözücüsü olarak kullanılan DMSO ve DNA üzerinde hasara yol açtığı bilinen  $\text{H}_2\text{O}_2$  kontrol olarak kullanıldı. Tek başına DMSO'nun pestisitler kadar hasara yol açmadığı buna karşın  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in tüm hücrelerde genomik DNA'nın ileri düzeyde kırılmasına neden olduğu görüldü.

Ethiofencarb'ın lenfositlerle 30 dak. inkübasyonu sonucu  $10 \mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda istatistiksel olarak anlamlı, ancak düşük bulundu. 50 ve  $100 \mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda ise DNA hasarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ve yüksek bulundu (Tablo 6.; Şekil 19. ve 20.). Ayrıca lenfositlerle 2 saat inkübasyonu sonucu ise sadece  $100 \mu\text{g/mL}$  konsantrasyonda DNA hasarı anlamlı bulundu (Tablo 7.; Şekil 19. ve 20.).

Azinphos ethyl (Tablo 8. ve 9.; Şekil 21. ve 22.), chlorpyriphos methyl (Tablo 10. ve 11.; Şekil 23. ve 24.) ve EPN (Tablo 12. ve 13.; Şekil 25. ve 26.) pestisitleri lenfositlerle 30 dak. inkübasyonu sonucu 50 ve  $100 \mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda DNA hasarı kontrol grubuna göre anlamlı olarak bulundu. Pestisitlerin 2 saat inkübasyonu sonucu ise 10, 50 ve  $100 \mu\text{g/mL}$  konsantrasyonlarda DNA hasarı istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Tarım çalışanlarının pestisitlere maruz kalmasıyla toksik etkilerin belirlenmesinde DNA hasarının izlenmesi birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Oregon'da meyva bahçelerinde çalışan pestisit uygulayıcıları ile çiftlik çalışanları üzerinde yapılan çalışmada DNA hasarı ve oksidatif stres kontrol grubuna göre pestisit uygulayıcı ve çiftlik çalışanlarında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (41).

Çiçek yetiştiricilerinin pestisitlere kronik olarak maruz kalması ile DNA hasarının meydana geldiği bildirilmiştir. İstatistiksel olarak DNA hasarının seks, yaş, içki içme, sigara içme ve maruziyet yılı arasında anlamlı istatistiksel sonuç elde edilememiştir (13).

Pestisitlere maruz kalma ile çeşitli kanser, özellikle immun sistem zayıflığı; örn. lösemi, Hodgkin lenfoma, mide ve prostat kanserlerinin ilişkili olduğu bildirilmektedir (13). Pestisitlere maruziyet ile DNA ve kromozomal hasar olduğu bilinmektedir.

Pestisit üretim fabrikasında çalışan Pakistanlı 29 işçi ve 35 kontrol grubunun lökositlerinde DNA hasarı incelenmiş, mesleki maruziyetin DNA hasarına sebep olduğu bildirilmiştir (8),.

Pestisitlere maruz kalan 135 meyva yetiştiricisi ile 106 kontrol grubu arasında DNA hasarı değerlendirilmiş, yüksek derecede pestisitlere maruz kalma ile DNA hasarının anlamlı arttığı ve bunun nedenleri olarak GSTP1 ve DNA-onarım XRCC1 genotiplerinin etkili olabileceği çalışmada gösterilmiştir (91).

Bir çalışmada enzimatik, hematolojik ve lipit parametrelerinin yanında kompleks pestisit karışımlarına mesleki olarak maruz kalan çiftlik işçilerinde DNA hasarı incelenmiştir. Comet tekniği kullanılarak yapılan çalışmada DNA hasarının arttığı, diğer analiz parametrelerin ise düştüğü tespit edilmiştir (64).

Diğer bir çalışmada bir karbamat pestisiti olan carbofuran üretiminde çalışan 30 işçi (en az 4 ay ile ortalama 15 yıl çalışan) ve 30 kontrol grubu ile genotoksik etki araştırılmış, DNA hasarı kontrol grubuna göre çok az anlamlı bulunmuştur. Ancak alkol alınması ve sigara içilmesinin etkiyi anlamlı hale getirdiği bildirilmiştir (99).

Ekvator'da pestisit püskürtücüsü 45 işçi genotoksik etkinin araştırılması amacıyla Comet tekniği ve CA testleri kullanılmış ve her iki test ile DNA hasarı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (56).

Bir çalışmada chlorpyrifos ve acephate'in genotoksik etkisi *in vivo* olarak Swiss albino farelerde araştırmıştır. Oral yol ile 0.28-8.96 mg/kg vücut ağırlığı dozları arasında 6 doz seçilmiş ve 24, 48, 72 ve 96 saat sonra Comet tekniği ile analizler yapılmıştır. Chlorpyrifos ve acephate'in 24 ve 48 saatte anlamlı olarak DNA hasarına neden olduğu, daha ileri saatlerde ise DNA hasarının azaldığı gözlenmiştir (62). Organofosforlu pestisitler alkilleyici ajanlardır ve DNA'nın alkillenmesine neden olur. Toksik etkinin görülmesinde dozun önemi çalışmada vurgulanmıştır (62).

Çalışmamız ile benzer bir proje çalışmasında (97), karbamat pestisitlerinden aminocarb, carbaryl, methiocarb, promecarb ve propoxur'un lenfositler ve MDCK (Maden-Darby Canine Kidney) hücrelerine 3, 10, 30 ve 100 µg/mL ilave edilerek DNA hasarı incelenmiştir. 100 µg/mL konsantrasyonda pestisitlerin MDCK hücrelerinde ileri derecede toksik olduğu, özellikle carbaryl ve methiocarb'ın bu konsantrasyonda hemen hemen tüm hücrelerin ölümüne yol açtığı gözlenmiştir. 10 ve 30 µg/mL konsantrasyonlarda pestisitlerin lenfosit ve MDCK hücrelerinde DNA hasarı incelenmiş, 30 µg/mL konsantrasyonda ve 16 saat süre ile methiocarb ve carbaryl'in 4. Derecede DNA hasarına neden olduğu görülmüştür. Karbamat pestisitleri lenfositlerde anlamlı DNA hasarına neden olurken MDCK hücrelerinde daha düşük hasara neden olmuştur (30 µg/mL konsantrasyon ve 48 saatte carbaryl, methiocarb ve promecarb'da 1. derece hasar). MDCK hücrelerinde genotoksitenin düşük olması, aktif bölünme sonucu DNA hasarı onarım mekanizmalarının etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Diğer bir çalışmada ise, dimethoate, methylparathion, propoxur, pirimicarb, cypermethrin ve permethrin'in 10, 50, 100 ve 200 µg/mL insan periferik lenfositlerine ilave edilip Comet tekniği ile *in vitro* olarak DNA hasarı incelenmiş ve doza bağlı olarak çalışmamızda olduğu gibi DNA hasarı yüksek bulunmuştur (85).

Yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü gibi DNA hasarının doza ve inkübasyon süresine göre anlamlı sonuçlar vermesi ile ilgili çalışmalar fazla olmasına rağmen, bir tek çalışmada ise tarım işçilerinde Comet tekniği kullanılarak DNA hasarı kontrol grubuna göre anlamlı bulunmamıştır (58).

Sonuç olarak çalışmamızda, bazı pestisitlerin lenfositler üzerine genotoksik etkilerinin araştırılmasında Comet testi kullanıldı ve doz ile inkübasyon süresine bağlı olarak artan düzeylerde DNA kırılmalarının olduğu saptandı.

Karbamat grubu pestisitler ısıya dayanıksız olmaları ve polaritelerinden dolayı gaz kromatografisi ile analizleri zordur bu yüzden analizleri genellikle floresan, UV-Vis, diode-array ve kütle spektrofotometre detektörlü yüksek basınçlı sıvı kromatografi cihazları ile yapılmaktadır (46, 49). Karbamatlar kuvvetli floresan özellik gösterdiği için kolon sonrası türevlendirme yöntemi ile 5-50 µg/L seviyelerinde (22), FD-YBSK ile 12.3-16 pg/mL (29) gibi düşük seviyelerde analizlerini yapmak mümkündür.

Çalışmamızın ikinci aşamasında, DNA hasarları incelenen aldicarb sulfon, ethiofencarb, azinphos ethyl, chlorpyrifos methyl ve EPN'nin, 2008/41 numaralı 26951 sayılı 29.07.2009 tarihli Türk Gıda Kodeksi gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri (MRL) tebliği'ne göre (65) portakalda bulunmasına izin verilen (MRL=Maximum residue limit) miktarları gözönüne alınarak portakal sularının SPE kolondan geçirilerek temizlenen ekstratlarının DAD/YBSK ile analizleri yapıldı (Tablo 14. ve 15.; Şekil 27., 28., 29.,30. ve 31.) ve pestisitlere rastlanmadı (Şekil 27.).

Bir çalışmada elma, şeftali, portakal ve frambuaz meyva sularında 12 farklı grup pestisit analizi yapılmış ve portakal sularında 0.58-8.21 ng/mL arasında carbendazim kalıntısına rastlanmıştır (61).

Diğer bir çalışmada, carbaryl ve organofosforlu bir bileşik olan triazophos pestisit kalıntısının su ve meyva suyu (elma, üzüm ve şeftali) örneklerinde analiz yapılmış, sadece üzüm suyunda triazophos 76 pg/mL olarak rastlanmıştır (29).

Folpet, chlorthalonil, quinomethion, tetradifon ve trifluralin pestisitlerinin elma konservesi, vişne suyu ve şeftali nektarı örneklerinde analizleri yapılmış ve pestisit kalıntısına rastlanmamıştır (82).

Halk sağlığı yönünden problem olan pestisit kalıntılarının gıdalarda (5, 12, 28), içme sularında (4, 55), meyva sularında (29, 61, 63, 82) analizleri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Günümüzde tarımda kullanılan pestisitlerin sayısının fazlalığı ve yoğun kullanılması gözönüne alınırsa DNA hasarının belirlenmesi konusunda daha fazla çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Pestisitlere meslekleri nedeniyle maruz kalan işçilerin, pestisitlerin olası genotoksik etkilerinden korunmak için maske ve kıyafet giymeleri çok önemlidir.

## 8. KAYNAKLAR

1. Ahmed FE. (2001). Analyses of pesticides and their metabolites in food and drinks. *Trends Anal Chem*, 20(11):649-661.
2. Alptekin D, Lüleyap HÜ, Yılmaz L, Demirhindi H, Göksel Y, Pazarbaşı A, Dokur M, Kasap M, Kasap H. (2006). The sister-chromatid exchange and acetylcholine esterase enzyme levels among patients with insecticide intoxication in the Çukurova region, Turkey. *Acta Med Okayama*, 60(2):121-126.
3. Asensio JS, Plaza-Medina M, Martinez-Soria MT, Perez- Clavijo M. (1999). Study of photodegradation of the pesticide ethiofencarb in aqueous and non-aqueous media, by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 840:235-247.
4. Aydın A, Yurdun T. (1999). Residues of organochlorine pesticides in water sources of İstanbul. *Water Air Soil Pollut*, 111:385-398.
5. Bai Y, Zhou L, Wang J. (2006). Organophosphorus pesticide in market foods in Shaanxi area, China. *Food Chem*, 98(2):240-242.
6. Barile FA. (2004). *Clinical Toxicology Principle and Mechanism*. Crc Press, Boca Raton, Florida, p.331-343.
7. Betti C, Davini T, Giannesi L, Loprieno N, Barale R. (1995). Comparative studies by comet test and SCE analysis in human lymphocytes from 200 healthy subjects. *Mutat Res*, 343:201-207.
8. Bhalli JA, Khan QM, Nasim A. (2006). DNA damage in Pakistani pesticide-manufacturing workers assayed using the comet assay. *Environ Mol Mutagen*, 47(8):587-593.
9. Bolognesi C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res*, 543:251-272.
10. Boussahel R, Bouland S, Moussaoui KM, Baudu M, Montiel A. (2002). Determination of chlorinated pesticides in water by SPME/GC. *Water Res*, 36(7):1909-1911.
11. Brendler-Schwaab S, Hartmann A, Pfuher S, Speit G. (2005). The *in vivo* comet assay: use and status in genotoxicity testing. *Mutagenesis*, 20 (4):245-254.
12. Carlo MD, Mascini M, Pepe A, Diletti G, Compagnone D. (2004). Screening of food samples for carbamate and organophosphate pesticides using an electrochemical bioassay. *Food Chem*, 84(4):651-656.
13. Castillo-Cadena J, Tenorio-Vieyra LE, Quintana-Carabia AI, Garcia-Fabila MM, Ramirez-San Juan E, Madrigal-Bujaidar E. (2006). Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixtures of pesticides. *J Biomed Biotech*, 2006:1-12.

14. Codagan JIG, Buckinham J, MacDonald FJ, Rhodes PH (Eds). (1995) Dictionary of Organic Compounds. 6<sup>th</sup> ed, Vol 2, CRC Press, United States.
15. Collins AR, Dusinska M, Franklin M, Somorovska M, Petrovska H, Duthie S, Fillion L, Panayiotidis M, Raslova K, Vaughan N. (1997). Comet assay in human biomonitoring studies: Reliability, validation and applications. *Environ Mol Mutagen*, 30:139-146.
16. Collins AR. (2004). The comet assay for DNA damage and repair. *Mol Biotech*, 26:249-261.
17. Collins AR. (2009). Investigating oxidative DNA damage and its repair using the comet assay. *Mutat Res*, 681:24-32.
18. Concha-Graña E, Fernández-Martínez G, Fernández-Villarrenaga V, Turnez-Carou MI, Muniategui-Lorenzo S, López-Mahía P, Prada-Rodríguez D. (2009). A study of large-volume on-column injection GC-ECD for the ultratrace analysis of organochlorine pesticides in water. *Talanta*, 78(3):764-771.
19. Costa C, Silva S, Coelho P, Roma-Torres J, Teixeira JP, Mayan O. (2007). Micronucleus analysis in a Portuguese population exposed to pesticides: Preliminary survey. *Int J Hyg Environ Health*, 210:415-418.
20. Costa C, Teixeira JP, Silva S, Roma-Torres J, Coelho P, Gaspar J, Alves M, Laffon B, Rueff J, Mayan O. (2006). Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis*, 21(5):343-350.
21. Costa LG.(2007). Toxic Effects of Pesticides. In: *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. Ed: Klaassen C. 7<sup>th</sup> ed, The McGraw-Hill Companies Inc., United States of America, p.883-931.
22. De Kok A, Hiemstra M. (1992). Optimization, automation and validation of the solid-phase extraction cleanup and on-line liquid chromatographic determination of N-methylcarbamate pesticides in fruits and vegetables. *J AOAC Int*, 75:1063-1072.
23. Demirel S, Zamani AG. (2002). Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Derg*, 12(3):123-127.
24. Erel Y, Yazıcı N, Özvatan S, Erçin D, Çetinkaya N. (2009). Detection of irradiated quail meat by using DNA Comet assay and evaluation of comets by image analysis. *Radiat Phys Chem*, 78(9):776-781.
25. Ergene S, Çelik A, Çavaş T, Kaya F. (2007). Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchange. *Environ Int*, 33:877-885.
26. Fairbairn DW, Olive PL, O'Neil KL. (1995). The comet assay: a comprehensive review. *Mutat Res*, 339 (1):37-59.



27. Faust F, Kassie F, Knasmüller S, Boedecker RH, Mann M, Mersch-Sundermann V. (2004). The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. *Mutat Res*, 566:209-229.
28. Fontcuberta M, Arquéz JF, Villalbí JR, Martínez M, Centrich F, Serrahima E, Pineda L, Duran J, Casas C. (2008). Chlorinated organic pesticides in marketed food: Barcelona 2001-06. *Sci Total Environ*, 389(1):52-57.
29. Fu L, Liu X, Hu J, Zhao X, Wang H, Wang X. (2009). Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of triazophos and carbaryl pesticides in water and fruit juice samples. *Anal Chim Acta*, 632:289-295.
30. Gangolli S. (1999). *The Dictionary of Substances and Their Effects*. 2<sup>nd</sup> ed, Vol 1, Royal Society of Chemistry, Cambridge.
31. Gonzalez NV, Soloneski S, Larramendy ML. (2006). Genotoxicity analysis of the phenoxy herbicide dicamba in mammalian cells *in vitro*. *Toxicol in Vitro*, 20:1481-1487.
32. Goto T, Ito Y, Yamada S, Matsumoto H, Oka H, Nagase H. (2006). The high throughput analysis of N-methyl carbamate pesticides in fruits and vegetables by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry using a short column. *Anal Chim Acta*, 555(2):225-232.
33. Greene SA, Pohanish RP (Eds). (2005). *Sittig's Handbook of Pesticides and Agricultural Chemicals*. William Andrew Publishing, Portland.
34. Gupta R (Ed). (2006). *Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds*. Elsevier Academic Press, United States of America.
35. Gül A. (2005). Investigation of acute toxicity of chlorpyrifos-methyl on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae. *Chemosphere* 59:163-166.
36. Johansen CA, Rincker CM, George DA, Mayer DF, Kous CW. (1984). Effects of aldicarb and its biologically active metabolites on bees. *Environ. Entomol.*, 13(5):1386-1398.
37. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR). (1977). Pesticide Residues in food: 1977 evaluations.
38. Karakaya AE, Ozcagli E, Ertas N, Sardas S. (2005). Assessment of abnormal DNA repair responses and genotoxic effects in lead exposed workers. *Am J Ind Med*, 47(4):358-363.
39. Kang HG, Jeong SH, Cho JH, Kim DG, Park JM, Cho MH. (2004). Chlorpyrifos-methyl shows anti-androgenic activity without estrogenic activity in rats. *Toxicology*, 199 (2-3):219-230.

40. Kayaalp SO. (2005). *Tıbbi Farmakoloji*. Yeditepe –Taş Kitapçılık Ltd. Sti, Ankara.
41. Kisby GE, Muniz JF, Scherer J, Lasarev MR, Koshy M, Kow YW, McCauley L. (2009). Oxidative stress and DNA damage in agricultural workers. *J Agromed*, 14(2):206-214.
42. Klug WS, Cummings MR. (2003). *Concepts of Genetic. Genetik Kavramlar*. 6<sup>th</sup> ed, Çeviren: Öner C, Palme Yayıncılık, Ankara.
43. Maran E, Fernandez M, Barbieri P, Font G, Ruiz MJ. (2009). Effects of four carbamate compounds on antioxidant parameters. *Ecotoxicol Environ Safety*, 72:922-930.
44. Marín-Huachaca, Delincée H, Mancini-Filho J, Villavicencio ALCH. (2005). Use of the Comet assay to detect beef meat treated by ionizing radiation. *Meat Sci*, 71:446-450.
45. Maroni M, Colosio C, Ferioli A and Fait A. (2000). Introduction. *Toxicology*, 143(1):5-118.
46. Mickova B, Kovalczuk T, Rauch P, Moreno MJ, Abad A, Montoya A, Ferri E, Fini F, Girotti S. (2005). Analytical performances of validated chemiluminescent enzyme immunoassays to detect N-methylcarbamate pesticides. *Anal Chim Acta*, 528:243-248.
47. Miyahara M, Sato A, Ito H, Toyoda M. (2002). Identification of low level gamma-irradiation of meats by high sensitivity Comet assay. *Radiat Phys Chem*, 63(3-6):451-454..
48. Moller P. (2006). Assessment of reference values for DNA damage detected by the comet assay in human blood cell DNA. *Mutat Res*, 612:84-104.
49. Nunes GS, Barcelo D. (1999). Analysis of carbamate insecticides in foodstuffs using chromatography and immunoassat techniques. *Trends in Anal Chem*, 18(2):99-107.
50. Nunes GS, Alonso RM, Ribeiro ML, Barcelo D. (2000). Determination of aldicarb, aldicarb sulfoxide and aldicarb sulfone in some fruits and vegetables using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 888:113-120.
51. Nye DE, Hurst HE, Dorough HW. (1976). Fate of Croneton (2- Ethylthiomethylphenyl N- Methylcarbamate) in Rats. *J Agric Food Chem*, 24 (2):371-377.
52. Ostling O, Johanson KJ. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 123 (1):291-298.
53. Pastor S, Gutierrez S, Creus A, Cebulska-Wasilewska A, Marcos R. (2001). Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. *Mutat Res*, 495:147-156.

54. Patel S, Bajpayee M, Pandey AK, Parmar D, Dhawan A. (2007). *In vitro* induction of cytotoxicity and DNA strand breaks in CHO cells exposed to cypermethrin, pendimethalin and dichlorvos. *Toxicol in Vitro*, 21:1409-1418.
55. Patsias J, Papadopoulou-Mourkidou E. (1999). A fully automated system for analysis of pesticides in water: On-line extraction followed by liquid chromatography-tandem photodiode array/postcolumn derivatization/ fluorescence detection. *J AOAC Int*, 82(4):968-981.
56. Paz-y-Mino C, Arevalo M, Sanchez ME, Leone PE. (2004). Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for *CYP 1A1* gene in Ecuador. *Mutat Res*, 562:77-89.
57. Pico Y, Kozmutza C. (2007). Evaluation of pesticide residue in grape juices and the effect of natural antioxidants on their degradation rate. *Anal Bioanal Chem*, 389:1805-1814.
58. Piperakis SM, Kontogianni K, Siffel C, Piperakis MM. (2006). Measuring the effects of pesticides on occupationally exposed humans with the comet assay. *Environ Toxicol*, 21(4):355-359.
59. Prabhavathy DG, Pasha SA, Jamil K. (2006). Cytotoxicity and genotoxicity induced by the pesticide prefenofos on cultured human peripheral blood lymphocytes. *Drug Chem Toxicol*, 29 (3):313-322.
60. Prince AE, Fan TS, Skoczinski BA, Bushway RJ. (2001). Development of an immunoaffinity-based solid-phase extraction for diazinon. *Anal Chim Acta*, 444:37-49.
61. Radišić M, Grujić S, Vasiljević T, Laušević M. (2009). Determination of selected pesticides in fruit juices by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chem*, 113:712-719.
62. Rahman MF, Mahboob M, Danadevi K, Banu BS, Grover P. (2002). Assessment of genotoxic effects of chlorpyrifos and acephate by the comet assay in mice leucocytes. *Mutat Res*, 516:139-147.
63. Ravelo-Perez LM, Hernandez-Borgez J, Rodriguez-Delgado MA. (2008). Multi-walled carbon nanotubes as efficient solid-phase extraction materials of organophosphorus pesticides from apple, grape, orange and pineapple fruit juices. *J Chromatogr A*, 1211:33-42.
64. Remor AP, Totti CC, Moreira DA, Dutra GP, Heuser VD, Boeira JM. (2009). *Environ Int*, 35:273-278.

65. Resmi Gazete. Türk Gıda Kodeksi gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri tebliği. 29 Temmuz 2008. Sayı: 36951, Başbakanlık Basımevi, Ankara.
66. Ribas G, Syrralles J, Carbonell E, Xamena N, Creus A, Marcos R. (1996). Genotoxic evaluation of the herbicide trifluralin on human lymphocytes exposed *in vitro*. *Mutat Res*, 371:15-21.
67. Roberts T, Hutson D, Lee PW, Nicholls PH, Plimmer JR. (1999). *Metabolic Pathways of Agrochemicals: Insecticides and Fungicides*. RSC Publishing, Cambridge.
68. Rowland RE, Edwards LA, Podd JV. Elevated sister chromatid exchange frequencies in New Zealand Vietnam war veterans. *Cytogenet Genome Res*, 116(4):248-251.
69. Rupa DS, Reddy PP, Reddi OS. (1989). Analysis of sister-chromatid exchanges, cell kinetics and mitotic index in lymphocytes of smoking pesticide sprayers. *Mutat Res*, 223(2):253-258.
70. Rupa DS, Reddy PP, Sreemannarayana K, Reddi OS. (1991). Frequency of sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of male pesticide applicators. *Environ Mol Mutagen*, 18(2):136-138.
71. Sailaja N, Chandrasekhar M, Rekhadevi PV, Mahboob M, Rahman MF, Vuyyuri SB, Danadevi K, Hussain SA, Grover P. (2006). Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat Res*, 609:74-80.
72. Sánchez-Brunete C, Rodriguez A, Tadeo JL. (2003). Multiresidue analysis of carbamate pesticides in soil by sonication-assisted extraction in small columns and liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 1007(1-2):85-91.
73. Sardaş S, Karabıyık L, Aygün N, Karakaya AE. (1998a). DNA damage evaluated by the alkaline Comet assay in lymphocytes of humans anaesthetized with isoflurane. *Mutat Res*, 418(1):1-6.
74. Sardaş S, Aygün N, Gamlı M, Unal Y, Unal N, Berk N, Karakaya AE. (1998b). Use of alkaline Comet assay (single cell gel electrophoresis technique) to detect DNA damages in lymphocytes of operating roop personnel occupationally exposed to anaesthetic gases. *Mutat Res*, 418(2-3):93-100.
75. Sardaş S, Yılmaz M, Oztok U, Cakır N, Karakaya AE. (2001). Assessment of DNA strand breakage by Comet assay in diabethic patients and the role of antioxidant supplementation. *Mutat Res*, 490(2):123-129.
76. Shadnia A, Azizi E, Hosseini R, Khoei S, Fouladdel S, Pajoumand A, Jalali N, Abdollahi M. (2005). Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulations. *Hum Exp Toxicol*, 24(9):439-445.

77. Shiau SY, Huff RA, Wells BC, Felkner IC. (1980). Mutagenicity and DNA-damaging activity for several pesticides tested with *Bacillus subtilis* mutants. *Mutat Res*, 71(2):169-179.
78. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*, 175:184-191.
79. Speit G, Vasquez M, Hartmann A. (2009). The comet assay as an indicator test for germ cell genotoxicity. *Mutat Res*, 681:3-12.
80. Storm JE. (2001). Organophosphorus Compounds. Eds: Bingham E, Cohns B, Powell CH. *Patty's Toxicology*, John Wiley & Sons, Inc., New York.
81. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC, Sasaki YF. (2000). Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for *in vitro* and *in vivo* Genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen*, 35:206-221.
82. Topuz S, Özhan G, Alpertunga B. (2005). Simultaneous determination of various pesticides in fruit juices by HPLC-DAD. *Food Control*, 16:87-92.
83. United Nations Environment Programme, The International Labour Organization and The World Health Organization. (1986). Organophosphorus Insecticides: A General Introduction. Environmental Health Criteria 63, Geneva.
84. Ündeğer Ü, Başaran N. (2002). Assessment of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticide mixtures by the alkaline comet assay. *Arch Toxicol*, 76:430-436.
85. Ündeğer Ü, Başaran N. (2005). Effects of pesticides on human peripheral lymphocytes *in vitro*: induction of DNA damage. *Arch Toxicol*, 79(3):169-176.
86. Ventura BC, Angelis DF, Marin-Morales MA. (2008). Mutagenic and genotoxic effects of the Atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the Comet assay. *Pestic Biochem Phys*, 90:42-51.
87. Vigreux C, Poul JM, Lebailly P, Godard T, Sichel F, Henry-Amar M, Gauduchon P. (1998). DNA damaging effects of pesticides measured by the single cell gel electrophoresis assay (comet assay) and the chromosomal aberration test, in CHOK1 cells. *Mutat Res*, 419:79-90.
88. Villarini M, Moretti M, Pasquini R, Scassellati-Sforzolini G, Fatigoni C, Marcarelli M, Monarca S, Rodríguez AV. (1998). *In vitro* genotoxic effects of the insecticide deltamethrin in human peripheral blood leukocytes: DNA damage (Comet assay) in relation to the induction of sister-chromatid exchanges and micronuclei. *Toxicology*, 130:129-139.
89. Vural N. (2005). *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, s. 344-379.

90. Wilson III DM, Thompson LH. (2007). Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange. *Mutat Res*, 616:11-23.
91. Wong RH, Chang SH, Ho SW, Huang PL, Liu YJ, Chen YC, Yeh YH, Lee HS. (2008). Polymorphism in metabolic GSTP1 and DNA-repair XRCC1 genes with an increased risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. *Mutat Res*, 654:168-175.
92. World Health Organization. (1986). Carbamate Pesticides: A General Introduction. Environmental Health Criteria 64, Geneva.
93. World Health Organization (WHO), Food and Agricultural Organization (FAO). Chlorpyrifos methyl. WHO/FAO Data Sheets on Pesticides No. 33.
94. World Health Organization (WHO), Food and Agricultural Organization (FAO). (1994). Azinphos ethyl. WHO/FAO Data Sheets on Pesticides No. 72.
95. World Health Organization (WHO). (2005). The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2004, Switzerland.
96. Yaren H, Kenar L, Karayılanoğlu T. (2007). Önemli bir kimyasal silah grubu: Sınır ajanları. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(6):491-500.
97. Yurdun T, Turan K. (2002). Pestisitlerin genotoksik etkilerinin araştırılması. M.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı. Proje No:SAĞ-061/131102.
98. Yurdun T. (2007). Hasta bina sendromu etkeni uçucu organik bileşikler ve diğer solunan kimyasallar. İçinde: *Hasta bina sendromu*. Ed: Özyaral O, Keskin Y. Türkiye Tekstil Sanayi İşverenleri Sendikası. Tığlat Matbaacılık A.Ş., İstanbul, s.283-320.
99. Źeljeđić D, Vrdoljak AL, Radić B, Fuchs N, Berend S, Oreščanin V, Kopjar N. (2007). Comparative evaluation of acetylcholinesterase status and genome damage in blood cells of industrial workers exposed to carbofuran. *Food Chem Toxicol*, 45:2488-2498.

## 10. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Fazilet Esra	<b>Soyadı</b>	İNCEDERE
<b>Doğum Yeri</b>	Üsküdar/İSTANBUL	<b>Doğum Tarihi</b>	02/07/1984
<b>Uyruğu</b>	T.C.	<b>Tel</b>	0544 581 50 56
<b>E-mail</b>	esrainc@hotmail.com		

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Lisans</b>	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2006
<b>Lise</b>	Kadıköy Osmangazi Anadolu Lisesi	2002

### İş Deneyimi

	<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (Yıl - Yıl)</b>
<b>1.</b>	Mesul Müdür	Marmara Galenos Ecza Deposu Tic. ve San. A.Ş.	2007-Devam ediyor
<b>2.</b>	Eczacı	Yeditepe Üniversitesi Hastanesi	2006-2007

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>Okuduğunu Anlama*</b>	<b>Konuşma*</b>	<b>Yazma*</b>
İngilizce	İyi	İyi	İyi
Almanca	Orta	Zayıf	Zayıf

	<b>Sayısal</b>	<b>Eşit Ağırlık</b>	<b>Sözel</b>
<b>ALES Puanı</b>	87,336	83,119	78,178
<b>LES Puanı</b>	63,978	59,845	61,912

### Bilgisayar Bilgisi

<b>Program</b>	<b>Kullanma becerisi</b>
Microsoft Office Programları	Çok iyi