



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KROMATOĞRAFİK ANALİZ ÖNCESİNDE SULU
ÖRNEKLERDE BAZI ENDOKRİN BOZUCU
KİMYASALLARIN ÖNDERİŞTİRİLMESİ İÇİN
İNCE FİLM EKSTRAKSİYON YÖNTEMİNİN
GELİŞTİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Fethullah BAYRAM

Kimya Anabilim Dalı

İzmir
2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KROMATOĞRAFİK ANALİZ ÖNCESİNDE SULU ÖRNEKLERDE
BAZI ENDOKRİN BOZUCU KİMYASALLARIN
ÖNDERİŞTİRİLMESİ İÇİN İNCE FİLM EKSTRAKSİYON
YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

Fethullah BAYRAM

Danışman : Doç.Dr Füsun PELİT

Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Yüksek Lisans Programı

İzmir
2019

Fethullah BAYRAM tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan *“Kromatografik Analiz Öncesinde Sulu Örneklerde Bazı Endokrin Bozucu Kimyasalların Önderiştirilmesi için İnce Film Ekstraksiyon Yönteminin Geliştirilmesi”* başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve **21.10.2019** tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Füsun PELİT
Raportör Üye : Doç. Dr. Hasan ERTAŞ
Üye : Prof. Dr. İlgi KARAPINAR

İmza

.....
.....
.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum *“Kromatografik analiz öncesinde sulu örneklerde bazı endokrin bozucu kimyasalların önderiştirilmesi için ince film ekstraksiyon yönteminin geliştirilmesi”* başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

21 / 10 / 2019



Fethullah BAYRAM

ÖZET**KROMATOĞRAFİK ANALİZ ÖNCESİNDE SULU
ÖRNEKLERDE BAZI ENDOKRİN BOZUCU KİMYASALLARIN
ÖNDERİŞTİRİLMESİ İÇİN İNCE FİLM EKSTRAKSİYON
YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

BAYRAM, Fethullah

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Füsün PELİT

21 Ekim 2019, 85 sayfa

İlaçlar, pestisitler gibi organik bileşiklerin analizi, insan sağlığı ve çevre kirliliği açısından önemlidir. Pestisitlerin klinik, gıda ve çevre örneklerinde analizi için dünya çapında oldukça büyük bütçeli yatırımlar yapılmaktadır. Ülkemizde de pestisit analizlerini gerçekleştirmek üzere devlete bağlı olarak çalışan ya da özel birçok kuruluş vardır ve bu laboratuvarlar her yıl milyonlarca ödeneği analiz basamaklarına harcamaktadır. Bu maliyetleri düşürmek için alternatif ucuz ve kolay yöntem arayışları sürmektedir.

Pestisit analizleri analitlerin uygun çözücü ortamında herhangi bir bozunma veya dönüşüm olmadan alınıp düşük düzeylerde tekrarlanabilir ve doğru bir şekilde elde edilmesi prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla yaygın olarak kabul edilen yöntemler kromatografik yöntemlerdir. Örnek hazırlama aşaması iki ana amaca hizmet etmektedir. Birincisi numuneyi temizlemek ve ikinci olarak zenginleştirme işlemi ile yöntemin hassasiyetini arttırmaktır. Geleneksel numune hazırlama süreçlerinden sıvı-sıvı özütleme (LLE) ve katı faz ekstraksiyonu (SPE) teknikleri, çok miktarda çözücü tüketen zaman alıcı tekniklerdir. Bu nedenle, mevcut tekniklere alternatif olabilecek ucuz ve pratik sistemlere ihtiyaç vardır.

Bu tez çalışmasında endokrin bozucu pestisitlerin ekstraksiyonu için santrifüj tüpünün iç duvarında kaplanmış çok ince bir polimerik film

kullanılmıştır. Kaplama türü olarak polisiloksan, silisyumdioksit nanopartiküllü polisiloksan, ultramino partiküllü polisiloksan ve zeolit partiküllü polisiloksan yapıları kullanılmıştır ve bu yapılar santrifüj tüpünün iç çeperine kaplanmıştır. Denemelerde Klorpirifos (CP), Prosimidon (PRC), Bromopropilat (BRP) ve Lambda-Siyalotrin (LMD) pestisitlerinin tüp içi ince film ekstraksiyon yöntemi (TFE) ile ekstraksiyonunun performansı elektron yakalama dedektörü ile gaz kromatografisi (GC-ECD) kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Ekstraksiyon adımında, TFE tüplerine 10 mL su numunesi konmuş ve 40 dakika karıştırılmıştır. Ekstraksiyondan sonra numune tüpten alınarak çeperlerde adsorbe olan pestisitler 200 µl etil asetat ile vorteks altında 1 dakika boyunca desorbe edilmiştir. Elde edilen ekstrakt çözeltisi GC-ECD sistemine enjekte edilmiştir. Bu tez kapsamında TFME prosedürüyle ilgili parametreler; ekstraksiyon çözücüsü türü, pH, ekstraksiyon çözücü hacmi, karıştırma süresi, numune hacmi ve ekstraksiyon üzerindeki tuz etkisi Plackett-Burmann tasarımı uygulanarak taranmıştır ve sonrasında öne çıkan parametreler Box-Behnken Dizaynı kullanılarak optimize edilmiştir. Kuyu suyu örneklerinde pestisit kalıntılarının belirlenmesi için yöntem uygulanarak analitik validasyon gerçekleştirilmiştir. Yapılan denemeler sonucunda çalışılan tüm pestisitler için regresyon katsayıları 0.99'dan büyük olan doğrusal kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir. RSD değerleri, üç konsantrasyon seviyesi için % 10'dan az bulunmuştur. Belirleme sınırı (LOD) seviyeleri; sırasıyla CP, PRC, BRP, LMD için 0.04, 0.9, 0.02 ve 0.04 ng L⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

Bu tez kapsamında geliştirilen yöntem, pestisit analizinde örnek hazırlama adımlarında kullanılan mevcut tekniklere alternatif olabilecek ve analiz adımlarını kısaltan ve daha ucuz ve daha çevre dostu bir alternatif sunan yeni bir ekstraksiyon kabını içermektedir.

Anahtar Kelimeler: Pestisit, Tüp içi ince film ekstraksiyon, Gaz Kromatografisi

ABSTRACT**DEVELOPMENT OF THIN FILM EXTRACTION METHOD FOR
THE PROCESSING OF SOME ENDOCRINE DETERMINING
CHEMICALS IN WATER SAMPLES BEFORE
CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS**

BAYRAM, Fethullah

Master in Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Füsün PELİT

October, 21, 2019, 85 pages

Analysis of organic compounds such as drugs, pesticides is important for human health and environmental pollution. Investments in clinical, food and environmental samples of pesticides are made on a large budget basis worldwide. In our country, there are many governmental or private institutions to carry out pesticide analyzes and these laboratories spend millions of allowances on the analysis steps each year. The search for alternative cheap and easy methods to reduce these costs continues.

Pesticide analyzes are based on the principle that analytes can be taken in the appropriate solvent medium without any degradation or conversion and obtained at low levels, reproducible and accurately. For this purpose, widely accepted methods are chromatographic methods. The sample preparation stage serves two main purposes. The first is to clean the sample and the second is to increase the sensitivity of the process with the enrichment process. Liquid-liquid extraction (LLE) and solid phase extraction (SPE) techniques, which are conventional sample preparation processes, are time consuming techniques that consume large amounts of solvents. Therefore, there is a need for inexpensive and practical systems that may be an alternative to existing techniques.

In this thesis, a very thin polymeric film coated on the inner wall of the centrifuge tube was used for extraction of endocrine disrupting pesticides. As

the coating type, polysiloxane, silicon dioxide nanoparticulate polysiloxane, ultramino particulate polysiloxane and zeolite particulate polysiloxane structures were used and these structures were coated on the inner wall of the centrifuge tube.

The performance of Chlorpyrifos (CP), Prosimidone (PRC), Bromopropylate (BRP) and Lambda-Sialotrin (LMD) pesticides by in-tube thin film extraction method (TFE) was compared with gas chromatography (GC-ECD).

In the extraction step, 10 mL of water sample was placed in TFE tubes and stirred for 40 minutes. After extraction, the sample was taken from the tube and adsorbed pesticides on the walls were desorbed under vortex with 200 μ L ethyl acetate for 1 minute. The resulting solution was injected into the GC-ECD system. In this thesis, parameters related to TFME procedure; The type of extraction solvent, pH, extraction solvent volume, mixing time, sample volume and salt effect on extraction were screened by applying the Plackett-Burmann design, and then the prominent parameters were optimized using Box-Behnken Design.

Analytical validation was performed by applying the method for the determination of pesticide residues in the well water samples. As a result of the experiments, linear calibration graphs with regression coefficients greater than 0.99 were obtained for all pesticides studied. RSD values were less than 10% for three concentration levels. Limit of detection (LOD) levels; 0.04, 0.9, 0.02 and 0.04 ng L⁻¹ for CP, PRC, BRP, LMD, respectively.

The method developed in this thesis includes a new extraction vessel which can be an alternative to the existing techniques used in sample preparation steps in pesticide analysis and shortens the analysis steps and offers a cheaper and more environmentally friendly alternative.

Keyword: Pesticide, In-tube thin film extraction, Gas Chromatography

ÖNSÖZ

Günümüzde endokrin bozucu kimyasallar olarak bilinen pestisitlerin analizi oldukça önem taşımaktadır. Çoğu araştırmacı var olan tekniği geliştirmek ve ya yeni teknikler geliştirmek için çalışmalar yapmaktadır.

Bu tez çalışmasında kromatografik analizler öncesi sulu örneklerde bazı endokrin bozucu kimyasalların ön deriştirilmesi için ince film ekstraksiyon yönteminin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu yöntemde bir santrifüj tüpü içerisine polisiloksan ve ultraamino nanopartiküllü polisiloksan kaplanıp ince bir film oluşturulmuştur. Üretilen bu sorbentlerin optimizasyon çalışmaları yapılmıştır ve sulu örneklerde denenmiştir. Sonuç olarak, bu yöntemin pestisit analizlerinde daha çevreci ve daha duyarlı bir yöntem olduğu saptanmıştır.

İZMİR

21/10/2019

Fethullah BAYRAM



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1.GİRİŞ	1
1.1.Endokrin Bozucu kimyasallar (EDC)	1
1.2.Pestisitler.....	1
1.2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	2
1.2.1.1 Hedeflenen Haşere türlerine göre sınıflandırma	2
1.2.1.2 Pestisitlerin Kimyasal Sınıflandırılması	3
1.3 Tez Kapsamında Analizi Gerçekleştirilen Pestisitlerin Özellikleri	4
1.4 Pestisit Analizlerinde Kullanılan Örnek Hazırlama Yöntemleri	5
1.4.1 Sıvı Sıvı Özütleme (LLE)	6
1.4.2 Katı Faza Özütleme (SPE)	6
1.4.3 QuEChERS	7
1.4.4 Manyetik Katı Faz Özütleme (MSPE).....	8
1.4.5 Dispersif Sıvı Sıvı Mikro Özütleme (DLLME)	9
1.4.6 Katı Faz Mikro Özütleme (SPME)	9
1.5 Gaz Kromatografisi.....	13
1.6 Kemometri ve Deneysel Tasarım.....	14
1.6.1 Plackett-Burman Tasarımı	14
1.6.2 Box-Behnken Dizayn.....	17
1.7 Tezin Amacı.....	18
2. DENEYSEL KESİM	21
2.1 Kullanılan Malzeme ve Reaktifler	21
2.2 Materyal ve Metod.....	22
2.3 Santrifüj Tüpünün İç Çeperine İnce Filmin Kaplanması.....	23
2.3.1 Polisiloksan Kaplama.....	23

2.3.2 Zeolite, Ultraamino ve Silisyum Dioksit Nanopartiküllü Kaplama	24
2.4 Kromatografik Analiz İçin Örnek Hazırlama Prosedürü	24
2.4.1 Polisiloksan Kaplama İçin Örnek Hazırlama Prosedürü	25
2.4.2 Ultraamino Kaplama İçin Örnek Hazırlama Prosedürü	26
3. SONUÇLAR	27
3.1 TFE Tüplerinin Yüzey Karakterizasyonu	27
3.2 Polisiloksan Kaplanmış TFE Tüpleri ile Yapılan Çalışmalar	28
3.2.1 Polisiloksan Kaplamada TFE için Deneysel Parametrelerin PCB Tasarımı ile Optimizasyonu	28
3.2.2 Polisiloksan Kaplamada TFE Çözgen Türünün Etkisi.....	33
3.2.3 Polisiloksan Kaplamada TFE İçin Deneysel Parametrelerin Box Behnken Tasarımı ile Optimizasyonu	35
3.2.4 Polisiloksan Kaplama İle Yapılan Kalibrasyon Çalışmaları	39
3.2.4 Polisiloksan Kaplama İçin Yötemin Analitik Özellikleri	42
3.3 Ultra Amino, Zeolit, Silisyum Dioksit Nanopartikül İçeren Polisiloksan Kaplanmış TFE Tüpleri İle Yapılan Çalışmalar	45
3.3.1 Adsorban Türünün Seçimi	45
3.3.2 Ultraamino Partiküllü Polisiloksan Kaplamada TFE İçin Deneysel Parametrelerin PCB Tasarımı İle Optimizasyonu	48
3.3.3 Ultraamino Partiküllü Polisiloksan Kaplamada TFE İçin Deneysel Parametrelerin Box Behnken Tasarımı İle Optimizasyonu.....	52
3.3.4 Ultraamino Partiküllü Polisiloksan Kaplama İle Yapılan Kalibrasyon Çalışmaları	57
3.3.5 Ultraamino Partiküllü Polisiloksan Kaplama İçin Yötemin Analitik Özellikleri.....	59
4. TARTIŞMA	63
KAYNAKLAR.....	65
TEŞEKKÜR	81
ÖZGEÇMİŞ	83
EKLER	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1 SPE Tekniğinin Şematik Prosedürü	7
Şekil 1. 2 QuEChERS Tekniğinin Şematik Prosedürü	8
Şekil 1. 3 MSPE tekniğinin şematik prosedürü	8
Şekil 1. 4 DLLME Tekniğinin Şematik Prosedürü	9
Şekil 1. 5 SPME şematik gösterimi	10
Şekil 1. 6 Box-Behnken Tasarımının Grafikselsel Gösterimi.....	17
Şekil 2. 1 Polisiloksan kaplama için ince film hazırlama yönteminin şematik gösterimi	23
Şekil 2. 2 Tüp içi İnce Film Kaplama.....	24
Şekil 2. 3 Tüp içi ince film ekstraksiyonu (TFE) için polisiloksan kaplamalı tüpte gerçekleşen örnek hazırlama prosedürünün şematik gösterimi	26
Şekil 3. 1 Ultraamino nanopartiküllü polisiloksan kaplamaya ait SEM görüntüsü.....	27
Şekil 3. 2 Polisiloksan kaplamaya ait SEM görüntüsü.....	27
Şekil 3. 3 CP Pestisi için Pareto Kartı	31
Şekil 3. 4 PRC Pestisi için Pareto Kartı.....	31
Şekil 3. 5 BRP Pestisi için Pareto Kartı.....	32
Şekil 3. 6 LMD Pestisi için Pareto Kartı	32
Şekil 3. 7 CP Pestisi için çözgen türünün etkisi	33
Şekil 3. 8 PRC Pestisi için çözgen türünün etkisi.....	34
Şekil 3. 9 BRP Pestisi için çözgen türünün etkisi.....	34
Şekil 3. 10 LMD Pestisi için çözgen türünün etkisi	35
Şekil 3. 11 CP ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler	38
Şekil 3. 12 PRC ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler	38
Şekil 3. 13 BRP ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler	38
Şekil 3. 14 LMD ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler	39

Şekil 3. 15 CP ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi	40
Şekil 3. 16 PRC ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi ...	40
Şekil 3. 17 BRP ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi ...	41
Şekil 3. 18 LMD ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi ..	41
Şekil 3. 19 TFE ekstraksiyonundan sonra polisiloksan kaplamada 1 ngmL ⁻¹ derişimli CP, PRC, BRP, LMD için elde edilen kromatogram	41
Şekil 3. 20 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde CP için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiğı	43
Şekil 3. 21 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde PRC için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiğı	43
Şekil 3. 22 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde BRP için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiğı	44
Şekil 3. 23 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde LMD için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiğı	44
Şekil 3. 24 TFE ekstraksiyonundan sonra polisiloksan kaplamada 10 ngmL ⁻¹ derişimli CP, PRC, BRP, LMD için elde edilen kromatogram	45
Şekil 3. 25 0.02 g adsorban miktarı için elde edilen alan değerleri	46
Şekil 3. 26 0.04 g adsorban miktarı için elde edilen alan değerleri	46
Şekil 3. 27 0.06 g adsorban miktarı için elde edilen alan değerleri	47
Şekil 3. 28 0.08 g adsorban miktarı için elde edilen alan değerleri	47
Şekil 3. 29 CP Pestisi için Pareto Kartı	50
Şekil 3. 30 BRP Pestisi için Pareto Kartı	51
Şekil 3. 31 PRC Pestisi için Pareto Kartı	51
Şekil 3. 32 LMD Pestisi için Pareto Kartı	51
Şekil 3. 33 CP ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler ..	55
Şekil 3. 34 PRC ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler	55
Şekil 3. 35 BRP ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler	56
Şekil 3. 36 LMD ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler	56
Şekil 3. 37 CP ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi	57
Şekil 3. 38 PRC ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi ...	58
Şekil 3. 39 BRP ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi ...	58

Şekil 3. 40 LMD ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi..	58
Şekil 3. 41 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde CP için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği	60
Şekil 3. 42 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde BRP için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği	60
Şekil 3. 43 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde LMD için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği	61
Şekil 3. 44 TFE ekstraksiyonundan sonra ultraamino partiküllü polisiloksan kaplamada 10 ngmL ⁻¹ derişimli CP, PRC, BRP, LMD için elde edilen kromatogram	61





TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. 1 Su, örneklerinde son on yılda uygulanan pestisit örnek hazırlama teknikleri ve analitik karakteristikleri	12
Tablo 1. 2 12 deneyli Plackett-Burman Tasarımı	16
Tablo 1. 3 Box-Behnken dizayn tablosu	17
Tablo 1. 4 Tez kapsamında çalışılan pestisitlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri	19
Tablo 2. 1 Gaz Kromatografik ölçüme ilişkin koşullar.....	22
Tablo 3. 1 Plackett Burman Tasarımı için seçilmiş faktörler ve düzeyleri .	29
Tablo 3. 2 Modele göre analitler için elde edilen sonuçlar	29
Tablo 3. 3 Modele göre analitler için elde edilen standart etki değerleri....	30
Tablo 3. 4 Box-Behnken dizaynı çalışma koşulları	36
Tablo 3. 5 Box-Behnken analizi sonucu herbir pestisit değerleri için okunan alan değerleri ve deneysel çalışma koşulları.....	37
Tablo 3. 6 Polisiloksan kaplama kullanılarak elde edilen analitik karakteristikler	42
Tablo 3. 7 Plackett Burman Tasarımı için seçilmiş faktörler ve düzeyleri .	48
Tablo 3. 8 Modele göre analitler için elde edilen sonuçlar	49
Tablo 3. 9 Modele göre analitler için elde edilen standart etki değerleri....	49
Tablo 3. 10 Box-Behnken dizaynı çalışma koşulları	52
Tablo 3. 11 Box-Behnken analizi sonucu herbir pestisit değerleri için okunan alan değerleri ve deneysel çalışma koşulları.....	53
Tablo 3. 12 Ultraamino kaplı Polisiloksan kaplama kullanılarak elde edilen analitik karakteristikler	59
Ek 1 :Ultraamino kaplı tüplerde Box-Behnken sonucu elde edilen denklemden hesaplanan gözlenen (observed) ve tahminlenen (Predicted) değerleri	85



SİMGELER VE KISALTMALAR

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
EDC	Endokrin Bozucu Kimyasallar (Endocrine Disrupting Chemicals)
LLE	Sıvı-Sıvı Özütleme(Liquid-Liquid Extraction)
TFE	İnce Film Mikro Özütleme (Thin Film Extraction)
SPE	Katı Faz Özütleme(Solid Phase Extraction)
SPME	Katı Faz Mikro Özütleme(Solid Phase Micro Extraction)
GC	Gaz Kromatografisi(Gas Chromatography)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu(Scanning Electron Microscope)
MSPE	Manyetik Katı Faz Özütleme
OP	Organofosfat(Organophosphorus)
OCP	Organoklorlu Pestisit (Organochlorine Pesticide)
CP	Klorprifos (Chlorpyrifos)
PRC	Prosimidon(Procyimidone)
BRP	Brompropilat(Bromopropylate)
LMD	Lambda-Sihalotrin (Lambda-Cyhalothrin)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
EPA	Çevre Koruma Ajansı (Environmental Protection Agency)
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
DLLME	Dispersif Sıvı Sıvı Mikro Özütleme (Dispersive Liquid-Liquid MicroExtraction)
ECD	Elektron Yakalama Dedektörü (Electron Capture Dedector)
IT	İyon Tuzağı (İon Trap)
PCB	Plackett-Burman Tasarımı (Plackett-Burman Design)
GC-ECD	Gas Kromatografisi-Elektron Yakalama Dedektörü (Gas Chromatography-Electron Capture Dedector)
BR	Britton-Robinson Tamponu (Britton Robinson Buffer)



1.GİRİŞ

1.1.Endokrin Bozucu kimyasallar (EDC)

Yetmiş yıldan fazla bir süredir araştırmacılar, bazı doğal ve sentetik kimyasalların hayvan sistemindeki endokrin hormonlarını değiştirebileceğini belirtmişlerdir. Üzerinde titizlikle durulan endokrin sistemini etkileyen bu kimyasallara endokrin bozucu kimyasallar (EDC) adı verilmiştir. Günlük yaşamda yaygın olarak kullanılan bu bileşikler vücudun sinir sistemini etkileyerek yaban hayatı ve insanlarda çok sayıda yan etkiye sahiptir. (Snyder vd., 2004). EDC'ler, reseptörlerin sentezini değiştirerek, doğal hormonların etkisini baskılayarak veya hormonların sentezini, taşınmasını, metabolizmasını ve atılımını değiştirerek endokrin sistemi etkileyebilmektedir. (Munaretto vd., 2013).

EDC'ler; ilaçlardan, steroidlerden, endüstriyel kimyasallardan, kişisel bakım ürünlerinden ve böcek ilaçlarından oluşmaktadır. Son zamanlarda, pestisitler de EDC olarak gündeme alınmıştır. Bu bileşiklerin çeşitli yüzey ve yer altı sularında tespit edilebilmesi ile hastalıklar ile olan ilgisi araştırılmış ve kimi pestisit gruplarının eser düzeydeki derişimlerinin Parkinson ve Alzheimer gibi nörolojik hastalıklar geliştirebileceği, endokrin sistemi etkileyebileceği gösterilmiştir. (Mc Kinlay vd., 2008; Zhao vd., 2008).

1.2.Pestisitler

Uluslararası Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tanımına göre, pestisit, insan veya hayvan hastalıklarının tümü dahil olmak üzere herhangi bir haşereyi önleme, yok etme veya kontrol etmeyi amaçlayan herhangi bir madde veya madde karışımıdır ve gıda, zirai ürünler, odun ve odun ürünleri veya hayvan yemlerinin üretimi, işlenmesi, depolanması veya pazarlanması sırasında veya bunlara zarar verebilecek istenmeyen bitki veya hayvan türleri; veya hayvanlara, vücutlarındaki veya içindeki böceklerin, örümceklerin veya diğer zararlıların kontrolü için verilebilir şekilde tanımlanmıştır (FAO, 2003)

Bu terim; büyüme düzenleyicileri, yaprak dökücükleri, kurutucuları, meyve inceltici maddeleri, meyve veya ürün inceltme maddelerinin erken olgunlaşmasını önleyen maddeleri, mahsullere uygulanan maddelerin depolama veya nakliye sırasında bozulmayı önlemek için kullanılan maddeleri içermektedir. “Pest” terimi, diğer türler arasında böcekleri, yabancı otları, memelileri ve mikropları kapsamaktadır (EPA, 2017).

1.2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması

1.2.1.1 Hedeflenen Haşere türlerine göre sınıflandırma

Zararlı organizmaları kontrol etmenin en uygun yollarından biri, çeşitli pestisitlerin kullanılmasıdır. Amacına bağlı olarak amaçlandıkları pestisitler, aşağıdaki temel gruplara ayrılmaktadır:

- Akarisitler-akarlar veya kenelerin kontrolü için
- Algisitler-algilerin ve diğer sucul bitki örtüsünün tahrip edilmesi için
- Avisitler-kuş zararlılarının kontrolü için
- Bakterisitler-bakteri ve bitkilerin bakteriyel hastalıkların kontrolü için
- Fungisitler-bitki hastalıklarının ve çeşitli mantarların kontrolü için
- Herbisitler-yabancı otların kontrolü için
- İnsektisitler-zararlı böceklerin kontrolü için (bireysel böcek öldürücüler grupları da afisitler, yaprak bitlerinin kontrolü için Preparatlar gibi daha spesifik isimlere sahiptir)
- Limacides veya molluscicides-gastropodlar da dahil olmak üzere çeşitli yumuşakçaların kontrolü için
- Nematisitler-yuvarlak solucanların kontrolü için (nematodlar)
- Rodentisitler-kemirgenlerin kontrolü için kullanılır.

Pestisitler, bitkilerin büyümesini uyaran veya geciktiren kimyasal bileşikleridir. Ayrıca yaprakları (defoltanları) veya kurutucu bitkileri (tatlıları) çıkaranları içermekte ve pamuk, soya fasulyesi, patates ve diğer birçok mahsulün hasadı için işlerin mekanikleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. "Böcek ilacı" terimi ayrıca zararlı böcekleri kovma (kovucu) ve cezbedici (cezbedici) zararlı bileşiklerine de uygulanmaktadır (Tuzimski, 2018).

1.2.1.2 Pestisitlerin Kimyasal Sınıflandırılması

Pestisitler kimyasal açıdan sınıflandırıldığında üç ana kategoriye ayrılmaktadır (<http://www.alanwood.net/pesticides>).

Organoklorlu Pestisitler

Organoklorlu pestisitler (OCPs) meyve ve sebzeleri zararlı organizmalara ve hastalıklara karşı korumak için yoğun olarak kullanılmaktadır (Wang, vd., 2019). Bu pestisitlerin kullanımı son yüz yılda yasaklanmış olsa da hala su (Li, vd., 2015) (Mehdinia, vd., 2016) süt (Sajid, vd., 2016), bal (Tahboub, vd., 2006) (Mahpishanian ve Sereshti, 2017), sebze (Wang, vd., 2018) ve meyve (Wu, vd., 2016) gibi bazı örneklerin matrisinde bulunabilmektedir. Kanserojen ve çevresel sürdürülebilirliği özelliğe sahip olmasından dolayı bu pestisitlerin kalıntıları insanların kaygılanmasına neden olmaktadır (Asati, vd., 2018).

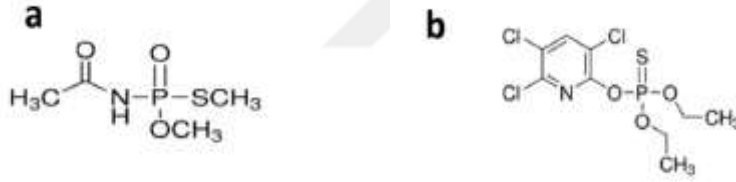
Karbamatlı Pestisitler

Karbamat pestisitler geniş biyolojik aktivitesi, düşük biyoakümülyasyon ve nispeten kısa ömrü nedeniyle tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır (Li, vd., 2015) (Shi, Zhihong, vd., 2015). Karbamat pestisitler bir dereceye kadar parçalanabilse de, aşırımı kullanımından dolayı bazı gıda maddelerinde bulunabilmektedir (Wang, vd., 2013). Gıda ve hayvan yemindeki pestisit kalıntıları şarap, meyve suyu ve süt gibi kontamine olmuş gıdaların doğrudan

tüketilmesiyle insan sistemine girebilmektedir (Goto, vd., 2005) (Bogialli, vd., 2004).

Organofosforlu Pestisitler

Organofosfor bileşikleri (OPs) kimyasal pestisitlerin en büyük gruplarından birini oluşturmaktadır. Bu bileşikler bitkileri, çiftlik hayvanlarını ve insan sağlığını korumak için 60 yıldan fazla süredir kullanılmaktadır. Bu bileşikler alkollerin fosforik asit ile tepkimeye girmesiyle üretilmektedir (Ghorab ve Khalil, 2015) ve genellikle herbisit, fungusit, insektisitler olarak kullanılmaktadır. Çünkü bu bileşikler düşük maliyet ve geniş aktiviteye sahip olmaktadır. Ayrıca bu OP'ler çok toksik özelliğe sahiptir. (Costa, 2006). Aşırı kullanımı hedef dışı organizmaların yani kuşların, balıkların, insanların bu bileşiklere maruz kalarak zarar görmesi ile sonuçlanmaktadır (Salvi vd., 2003; Pazou vd., 2006; Reinecke ve Reinecke, 2007; Revankar ve Shyama, 2009; Jekanovic vd., 2011).



Şekil 1 Organofosforlu pestisitlerin molekül yapısı a) Klorpirifos b) Klorpirifos-metil (Derbalah vd., 2018)

1.3 Tez Kapsamında Analizi Gerçekleştirilen Pestisitlerin

Özellikleri

Klorpirifos

Klorpirifos (0,0-dietil 0 - (3,5,6-trikloro-2-piridinil) - fosforotioat), Dow Chemical Company tarafından bir organofosfor pestisiti (OP) olarak piyasaya sunulmuştur ve 1965 yılında, önemli bitkilerde yaygın kullanım için bir yeşillik pestisit olarak (Fang vd., 2008) ve 1960'lardan beri ticari olarak kullanılmaktadır.(Das ve Adhya, 2015).. Klorpirifos (CP) muhtemelen hem toksisite hem de kimya açısından pestisit kullanımının uç noktalarını temsil eder. Avrupa'da yılda 50.000 kg'ın üzerinde ve ABD tarımında yılda 5 milyon

kg'ı aşan miktarlarda kullanılır. Bu nedenle, sucul ekosistemleri etkileme potansiyeli önemlidir (Simon,1998).

Prosimidon

Dikarboksimidik mantar öldürücü Prosimidon (Sialex 50 WDG), BotrytisCinerea, Monilia ve Sclerotinia türleri gibi mantar hastalıklarını kontrol etmek için sıklıkla kullanılan özellikle meyve yetiştiriciliği, çilek, şarap, bahçecilik , çiçek ve süs yetiştiriciliğinde kullanılan bir pestisittir.(Vanni vd., 2000) Ayrıca bağcılıkta gri küf önlemek için kullanılan üç dikarboksimidik mantar öldürücülerden biridir.(Schwack vd., 1995)

Brompropilat

Brompropilat pestisiti (isopropyl 4,4'-dibromobenzilate) son zamanlarda tanıtılan difenil köprülü akarısittir. Akut ve kronik etkisi olan beyaz kristal bir katıdır. Bu pestisit tetranychid ve eriophyid bitlerinin kontrolü için kullanılmaktadır. (www.npic.orst).

Lambda-Siyalotrin

Lambda-Siyalotrin, 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-dimethyl-cyano(3-phenoxyphenyl)methyl cyclopropane carboxylate kimyasal formülüne sahip olan insektisittir. Ayrıca renksiz özelliğe sahip olmakla beraber piretroid olarak adlandırılan kimyasal grubuna ait olan bir pestisittir. (Pelit, 2009).

1.4 Pestisit Analizlerinde Kullanılan Örnek Hazırlama

Yöntemleri

Çeşitli numunelerdeki pestisit kalıntılarının analizindeki ana zorlayıcı sorunlardan biri yüksek matris etkisiyle ilgilidir (Hakme vd., 2018). Matris etkisi, matrisin karmaşıklığına bağlıdır. Kullanılan çok çeşitli pestisitler ve

matrislerin doğal karmaşıklığı nedeniyle farklı örnek ön işlem prosedürleri önerilmiştir.

1.4.1 Sıvı Sıvı Özütleme (LLE)

LLE, kapsamlı bir ayırma tekniğidir. Genel olarak, bir temizlik aşaması takip eder fakat aynı zamanda n-heksan ile sadece özütleme aşaması olarak uygulanabilir. Bu tekniğin dezavantajı, büyük miktarda çözücü tüketiminde ve otomatik hale getirilmesinde zorluk çekmektedir. Bazı durumlarda, daha sonraki analizlerde karışabilecek ko-ekstrakte edilmiş bileşiklerin çıkarılması için ek bir temizleme aşaması gerekli bulunmuştur (Ángel vd., 2012).

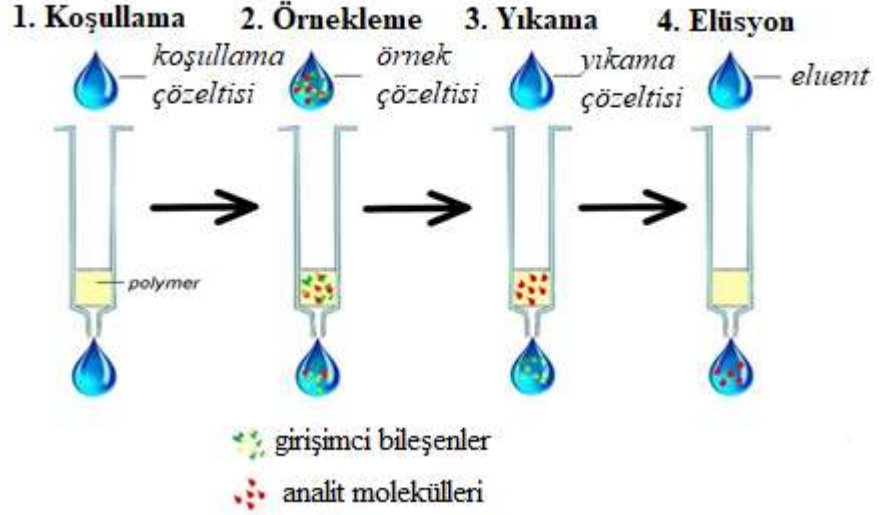
1.4.2 Katı Faza Özütleme (SPE)

Katı faz ekstraksiyonu (SPE), karmaşık matrisi çıkarmak, hedef analitleri önceden konsantre etmek ve numuneleri sonraki numune girişi ve ölçümleri için uygun hale getirmek için yaygın olarak kullanılan bir numune ön işlem tekniğidir. SPE, analitlerin katı sorbentlere adsorpsiyonu üzerine yapılır, bu nedenle uygun bir sorbent seçmek çok önemlidir ve sorbent ile analitlerin kendisi arasındaki etkileşime bağlıdır. (Samsidar vd., 2018)

SPE yöntemi, kromatografik analiz öncesinde daha temiz piklerin eldesine olanak sağladığı için analitik kimyacılar tarafından sıklıkla kullanılmıştır. Alümina, Florisil, C18, Diol, anyon veya katyon değişimi, silika, primer, sekonder amin, grafitlenmiş karbon siyahı, hidrofilik/lipofilik dengeli kopolimer gibi N-vinilpirrolidon ve divinilbenzen gibi sorbentleri içeren farklı SPE kartuşları, çeşitli örneklerde pestisit kalıntılarının belirlenmesi için tutucu maddelerdir. Çok yakın zamanda pestisit içeren numunelerin hazırlanmasında, polistiren kaplı manyetik nanoparçacıkların kullanıldığı çift SPE ve çift moleküler olarak basılmış polimerler de uygulanmıştır.

Bu teknik, tek kullanımlık adsorban kullanan diğer SPE tekniklerinden farklıdır; manyetik adsorbanlar toplanabilir, temizlenebilir ve

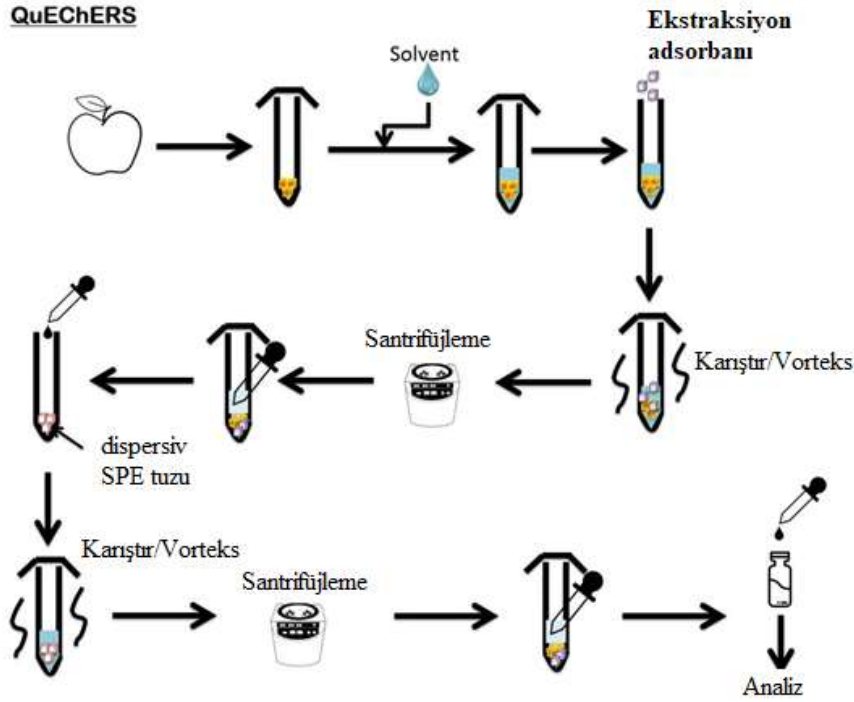
geri dönüştürülebilir. SPE tekniği ile örnek hazırlama için uygulanan işlem basamakları Şekil 1.1’de verilmiştir.



Şekil 1. 1 SPE Tekniğinin Şematik Prosedürü (Sandoval vd., 2017)

1.4.3 QuEChERS

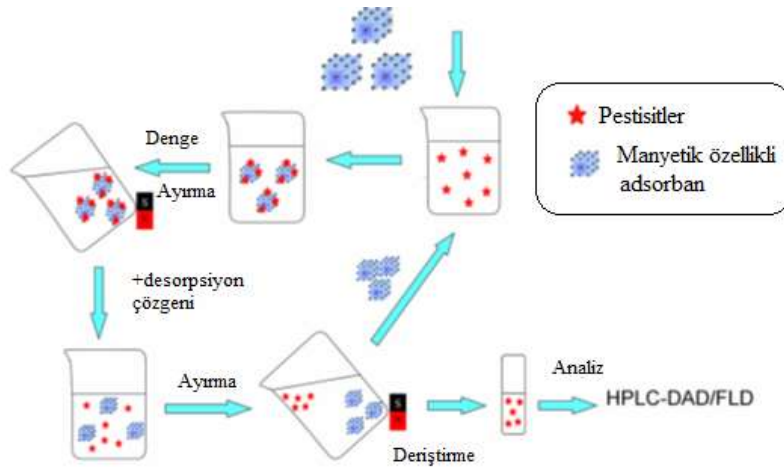
QuEChERS (hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam ve güvenli) numune hazırlama tekniği, farklı pestisit çeşitlerinin çok sınıflı veya çok kesitli analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Samsidar vd., 2018). QuEChERS prosedürü temel olarak birkaç adım içerir: (1) Organik bir çözücü ile ilk özütlenme aşaması; (2) Tuz karışımının eklenmesi ile özütlenme / bölümlendirme aşaması ve; (3) Ham özüt malzemelerinin bir bölümünün temizleme basamağı; (4) Elde edilen nihai organik özüt, enstrümental sistemle doğrudan analiz edilmektedir. Metot, belirli pestisitlerin bozulmasını önlemek için bir tamponlama aşamasında modifiye edilmiştir ve ayrıca yağ içeriği yüksek ve pigment içeren örnekler de dahi iyi sonuçlar alınabilmektedir.



Şekil 1. 2 QuEChERS Tekniğinin Şematik Prosedürü (Anastassiades vd., 2003)

1.4.4 Manyetik Katı Faz Özütlemesi (MSPE)

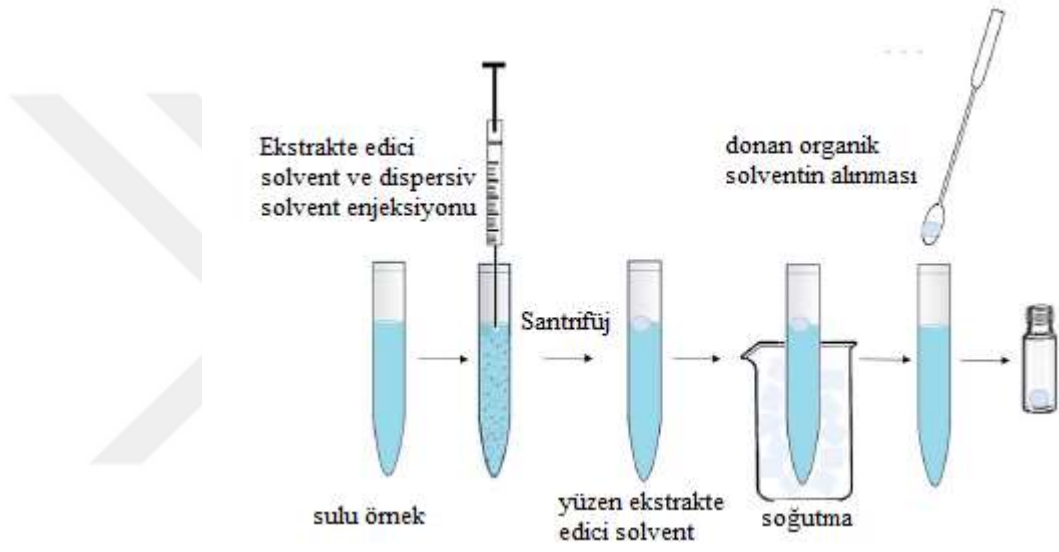
Manyetik katı faz ekstraksiyonu (MSPE), manyetik veya mıknatıslanabilir adsorbanların kullanımına dayanmaktadır. Yöntemde, bir çözeltiye veya süspansiyona ilave edilen manyetik adsorban, analiti çıkarır. Daha sonra, adsorbana adsorbe edilmiş analite geri kazanmak için uygun bir manyetik ayırıcı kullanılmaktadır ve sonrasında analit adsorbandan ayrıştırılıp analiz edilmektedir.



Şekil 1. 3 MSPE tekniğinin şematik prosedürü (Ma vd., 2018)

1.4.5 Dispersif Sıvı Sıvı Mikro Özütleme (DLLME)

Dispersif sıvı sıvı mikroekstraksiyon (DLLME), pestisitlerin analizi için numune hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan minyatür bir tekniktir. DLLME'de, ekstraksiyon ve dağıtıcı çözücüler bir şırınga kullanılarak sulu numuneye aynı anda ve hızlı bir şekilde enjekte edilir. Analit, ekstraksiyon çözücüsündeki ince damlacıklar vasıtasıyla numuneden ekstrakte edilir. Daha sonra, santrifüjleme faz ayrılmasını teşvik etmek için kullanılır ve analitin zenginleştirilmesine olanak sağlar (Tette vd., 2016).



Şekil 1. 4 DLLME Tekniğinin Şematik Prosedürü (Primel vd., 2017)

1.4.6 Katı Faz Mikro Özütleme (SPME)

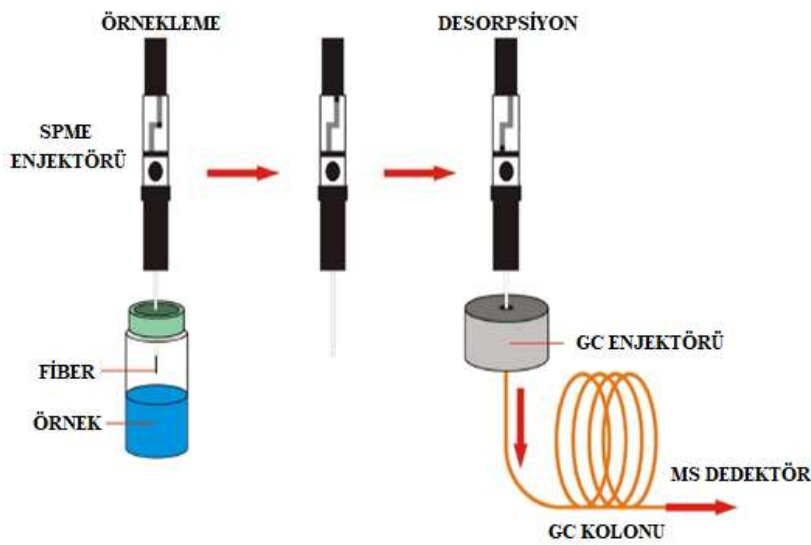
Katı-faz mikro-ekstraksiyonu (SPME), incelenen numune matrislerinden hedef analitlerin özütlenmesi için mikro yapıda ekstraksiyon fazını kullanan bir numune hazırlama tekniğidir. Analitler, numune matrisler ve ekstraksiyon fazları arasındaki bölüşüm dengesine ulaştığında, ekstraksiyon fazları ile ekstrakte edilen analitlerin miktarları artmaktadır. Uygulamada, denge durumuna genellikle ekstrakte edilen analit teorik denge ekstraksiyon miktarına yeterince yakın olduğu zaman ulaşılmaktadır. SPME yönteminde özütleme fazları, genellikle destekleyici substratlar üzerinde kaplanır veya monolitik fiberler veya ince filmler halinde hazırlanmaktadır.

SPME'de çok küçük miktarlarda ekstraksiyon fazları kullanıldığından, mutlak geri kazanımlar genellikle düşüktür.

Ekstrakte edilen miktarın, numune matriksindeki analitin toplam miktarına kıyasla önemsiz olduğu ve analitin numune matriksindeki dağılımını önemli ölçüde değiştirmedeği durumda, SPME, analitlerin serbest konsantrasyonlarının belirlenmesinde biyolojik ve çevresel örneklerde kullanılabilmektedir (Zielińska vd., 2012)

SPME'nin mutlak geri kazanımları çoğu zaman aşırı derecede düşük olmasına rağmen, SPME'yi kromatografi ile veya doğrudan kütle spektrometrisi ile birleştirirken çok iyi hassasiyetler elde edilebilmektedir, çünkü ekstrakte edilen analitlerin büyük bölümleri analiz için analitik cihazlara başarıyla aktarılabilir (Deng vd., 2014; Lord, 2007).

SPME'nin SPE'ye kıyasla bir avantajı da hiç bir solvent içermemesi veya daha az çözücüye ihtiyaç duyulmasıdır. Günümüzde, gaz kromatografisi (GC) ile birleşmiş SPME, çeşitli kaynaklardan uçucu ve yarı uçucu maddelerin analizi için en verimli ve uygun yöntemlerden biri haline gelmiştir. (Vanelslander vd., 2012). SPME ayrıca belirli polaritelere ve spesifik fonksiyonel gruplara sahip ekstraksiyon fazları geliştirerek, polar analitleri özütlemek ve hatta aynı anda farklı polaritelere sahip geniş bir analit yelpazesini ekstrakte etmek için kullanılmıştır (Vuckovic vd., 2011).



Şekil 1. 5 SPME şematik gösterimi (Schmidt ve Podmore, 2015)

Yukarıda detaylıca anlatılan örnek hazırlama yöntemleri dışında da ekstraksiyon prosedürleri mevcuttur. Literatürde kullanılan güncel pestisit analiz yöntemleri bu tez kapsamında derlenmiştir ve Tablo 1.1’ de özetlenmiştir.



Tablo 1. 1 Su, örneklerinde son on yılda uygulanan pestisit örnek hazırlama teknikleri ve analitik karakteristikleri

Analit	Matriks	Analiz Metodu	Örnek hazırlama yöntemi	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$).	Geri kazanım (%)	Ref.
Chlorpriphos-methyl Vinclozolin Chlorpyriphos Aldrin Penconazole Procymidone Tebuconazole Bromopropylate Lambda-cyhalothrin	su	GC-MS/MS	DI-SPME	0.01-0.07	86 – 98	Jabali, 2019
Chlorpyrifos Procymidone	su	GC-MS	HF-LPME	0.118 0.208	110-112	Eduard, 2019
Ethoprophos Parathion-methyl	su	GC-MS	3D-GA-SPE	0.62 0.88	96.5 93.8	Sun vd., 2018
Malathion Chlorpyrifos	su	GC-FPD	MSPE	0.016 0.016	91.8 s 90.2	Wang vd., 2018
Malathion Chlorpyrifos	su	GC-MS	DLLME	1.3 0.74	91 $\pm$ 1 91 $\pm$ 2	Farajza deh 2016
Chlorpyrifos Penconazole Difenoconazole Tebuconazole	su	GC-FID	SHLLE	0.73 0.34 1.2 0.51	91 $\pm$ 1 95 $\pm$ 2 91 $\pm$ 3 93 $\pm$ 3	Farajza deh, 2015
Azoxystrobin Diethofencarb pyrimethanil	su	HPLC-DAD	AALLME	0.08 0.25	82.3 84.8 88.0	Wu, 2015
Parathion-methyl	su	HPLC-DAD	VLDS-SD-DLLME	0.5	87.6	Seebun rueng, 2014
Chlorpyrifos-methyl Chlorpyrifos	su	HPLC-CPE	SPE	1.5 1.5	88.8 80.5	Zhang vd., 2013
Chlorpyrifos Ethion Malathion	su	GC-MS	SPE	0.08 0.1 0.1	87.9 87.1 79.7	Fang vd., 2012
Malathion Chlorpyrifos Fenitrothion	su	GC-NPD	SPE	0.07 0.03 0.01	74.8 108.6 99.1	Milho me vd., 2011

1.5 Gaz Kromatografisi

GC kolonunun seçimi böcek ilacı analizinde çok önemli bir görevdir. Pestisitleri belirlemek için ga kromatografisinde (GC) çeşitli sütunlar kullanılabilir. Sabit faz, pestisitlerin polaritesinin bir fonksiyonu olarak seçilmelidir. En çok kullanılanlardan biri,% 95 dimetil-% 5 difenilpolisiloksandan oluşan (örneğin, HP-5 ms, VF-5 ms, DB-5 ms, OV-5) sabit fazlı tipik birleşmiş silika(Martínez-Domínguez vd., 2014) Pestisit analizi için kullanılmış olan diğer sütunlar, örneğin, Rxi-5Sil MS (düşük polarite fazı, 1,4 bis (dimetilsiloksi) fenilen dimetilpolisiloksan; 46OCP'ler), DB-1701 (DB-5 ms'den daha fazla polar;% 14 siyanopropilfenil) % -86 dimetilpolisiloksan; 3 OPP'ler) ve Elit35 (orta kutupsal,% 35 difenil-% 65 dimetilpolisiloksan; 4OCP'ler). Spesifik kolonlar,% 95 dimetil-% 5 difenilpolisiloksan HP-1707MS'den (tipik DB-5 ms; 6OCP'lerden daha polar) oluşan tipik bir şekilde kaynaşmış silika kolonuna kıyasla düşük sayıda pestisit ayırmak için kullanılmıştır.(Martínez-Domínguez, vd., 2014)

İki boyutlu gaz kromatografisi (GC×GC) de pestisitlerin belirlenmesi için sıklıkla uygulanır. Temel olarak, bu teknik, ortogonal ayırma koşullarını oluşturmak için temelde farklı ayırma mekanizmaları üzerinde iki GC ayırmasından oluşur. İlk ayırma, kutup üzerinde durağan bir faz içeren bir sütun üzerinde gerçekleşir ve ikinci ayırma, kutupsal veya şekil seçici bir yapıya sahip bir sütundadır.

GC, esasen ölçülecek pestisitlerin sınıfına bağlı olarak farklı türlerde tespit yöntemleri ile birleştirilir. Elektron yakalama dedektörü (ECD) genellikle kullanılmıştır. ECD kullanımının genellikle numunelerin temizliğine özel dikkat gösterilmesi gerektiği bildirilmiştir. (LeDoux, 2011)

GC ayırma işleminden sonra elektrolitik iletkenlik tespiti (ELCD) ayrıca organoklorin pestisitler, piretroidler, triazinler ve bir karbamat gibi birçok pestisit için de uygulanmıştır. Pestisit kalıntısı saptaması GC – MS ile de sağlanmıştır. MS ile birleştirilmiş GC'de, pestisit tutma süresi ve kütle spektrumları ile tanımlanmıştır. Tek sık uygulanan dört kutuplu bir

alternatif olarak, iyon kapanı (IT) da uygulanmıştır, burada bir tarama kazanım modu iyon seçiminin takip edilmesinin izlenmesine izin verir. Günümüzde tandem-MS (QqQ) yapılmasına izin vererek çoğu MS analizörünün kombinasyonları mümkündür.

Çeşitli numunelerdeki pestisit kalıntılarının analizindeki ana zorlayıcı sorunlardan biri yüksek matris etkisiyle ilgilidir. (Hakme, E vd., 2018). Matris etkisi, matrisin karmaşıklığına bağlıdır. Kullanılan çok çeşitli pestisitler ve matrislerin doğal karmaşıklığı nedeniyle farklı örnek ön işlem prosedürleri önerilmiştir.

1.6 Kemometri ve Deneysel Tasarım

Deneysel sonuçları birçok faktör etkileyeceğinden, oldukça karmaşık deneysel tasarımlar da ihtiyaç duyulabilir. Bu faktörlerin en iyi uygulanma seviyesinin seçimi, yani deneysel koşulların optimize edilmesi için de oldukça ayrıntılı çalışmalara gerek duyulacaktır. Bu yöntemleri tanımlamak için genel olarak kemometri terimi kullanılır. Kemometride faktör, bir deneyden çıkarılan sonuçları etkileyen herhangi bir deneysel koşula verilen isimdir (Miler, J. N ve Miler, J. C., 2012) Deneysel tasarım terimi genellikle, deney sonuçlarını etkileyebilecek faktörlerin belirlenmesi, kontrol edilemeyen faktörlerin en aza indirecek şekilde deneyin tasarlanması ve mevcut çeşitli faktörlerin etkisini ayırmak ve değerlendirmek için istatistiksel analiz yapılması amacı ile kullanılmaktadır.

1.6.1 Plackett-Burman Tasarımı

Tamamlanmamış faktöriyel tasarımlar arasında en basit ve en belirgin olanları faktörlerin temel etkileri üzerine bilgi sağlayan, ama bunların etkileşimleri hakkında bilgi vermeyen Plackett-Burman tasarımlarıdır. Bu yöntemlerin en belirgin özelliği hepsinin $4n$ adet deney yapmaya dayalı olmasıdır. Burada $n=1,2,3$ olup 4, 8, 12 vb. deney sayısı verilmektedirler. Bu nedenle bunlar deney sayısının 2^n olduğu faktöriyel ve kısmi faktöriyel

tasarımların sınırlamalarından kurtulmaktadırlar. Bir $4n$ deneyli Plackett-Burman tasarımıyla $4n-1$ faktöre kadar çalışmak mümkün olmaktadır. Fakat bu tasarımlar ilgilenilen faktörlerin sayısı verilen bir tasarımın en büyük sayısından küçük olduğu durumlarda yaygın olarak kullanılırlar. Örneğin; dört faktörün çalışılmasının arzu edildiğini düşünelim. Dört deney, sadece üç faktörle baş edebileceğinden, yedi faktöre izin verebilen 8 deneyli Plackett-Burman tasarımı kullanılabilir. Üç faktör ise sahte faktörler olarak isimlendirilir ve kimyasal olarak hiçbir etkisi yoktur.

Yine de oldukça değerlidirler çünkü aşağıda gösterildiği gibi belirlenen net etkileri ölçme hatasının hesaplanmasında kullanılabilir. Plackett-Burman deney tasarımlarının bu önemli özelliği, diğer bazı tasarımların yüksek seviyeli etkileşimleri göz ardı etmesi gibi verilen herhangi bir olasılık seviyesinde hangi gerçek faktörlerin anlamlı olduğunun belirlenmesine izin vermektedir. Bu ölçme hatası belirleme yöntemi daha büyük tasarımlar kullanılarak büyütülebilmektedir. Örneğin, altı faktörün çalışıldığını düşünelim. Yedi faktöre kadar izin verebileceği için sekiz deneyli bir Plackett-Burman tasarımı kullanılabilir fakat bu durumda ölçme hatasını hesaplamak için geriye sadece bir sahte faktör kalacaktır Eğer bunun yerine 12 deneyli bir tasarım kullanılırsa, beş sahte faktör kalacak, fazla deney yapma pahasına ölçme hatası ve her bir gerçek faktörün etkisinin anlamlılığı ise daha geliştirilebilecektir.

Bir Plackett-Burman tasarım düzeninin yapısını anlamak oldukça kolaydır. 11 faktöre kadar çalışmaya müsaade gösteren 12 deneyli bir tasarımın kullanıldığını düşünelim. Her zaman olduğu gibi faktörlerin yüksek seviyeli artı işaretiyle ve düşük seviyeleri eksi işaretiyle gösterilir. İlk deneyde A-K arasında 11 faktör (sahteler de dahil) bir üretim vektörü kullanarak aşağıdaki gibi ayarlanmaktadır.

A B C D E F G H I J K

+ + - + + + - - - + -

Bir sonraki deneyde faktör dereceleri en sondaki işareti, sırasının en başına getirerek aşağıdaki gibi ayarlanabilmektedir:

A B C D E F G H I J K

- + + - + + + - - - +

Bu döngüsel proses, tamamında altı faktörün yüksek derecede ve beş faktörün düşük derecede bulunduğu 11 deney için tekrarlanır. Onikinci ve son deney tüm faktörleri düşük seviyelerine ayarlayarak bunu dengeler, böylece tüm tablo 66 artı işareti ve 66 eksi işareti içerir. Her bir faktörün etkisi de aşağıdaki gibi verilmektedir.

$$1/6 [(\sum y+) - \sum(y-)]$$

Burada $y+$, sorgulanan faktör yüksek derecesine ayarlandığındaki sistem yanıtlarını, $y-$ ise düşük derecesine ayarlandığındaki sistem yanıtlarını simgelemektedir.. İhtiyaç duyulan karaların toplamı $N \times (\text{hesaplanan etki})^2 / 4$ formülü ile gösterilmektedir. Buradaki N, 12 olan deney sayısını ifade etmektedir (Miler, J. N. ve Miler, J. C., 2012).

Tablo 1. 2 12 deneyli Plackett-Burman Tasarımı (Fusun, 2009)

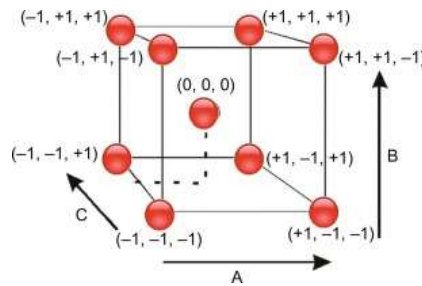
| Deney Sayısı | Faktör | | | | | | | | | | |
|--------------|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | + | - | + | - | - | - | + | + | + | - | + |
| 3 | + | + | - | + | - | - | - | + | + | + | - |
| 4 | - | + | + | - | + | - | - | - | + | + | + |
| 5 | + | - | + | + | - | + | - | - | - | + | + |
| 6 | + | + | - | + | + | - | + | - | - | - | + |
| 7 | + | + | + | - | + | + | - | + | - | - | - |
| 8 | - | + | + | + | - | + | + | - | + | - | - |
| 9 | - | - | + | + | + | - | + | + | - | + | - |
| 10 | - | - | - | + | + | + | - | + | + | - | + |
| 11 | + | - | - | - | + | + | + | - | + | + | - |
| 12 | - | + | - | - | - | + | + | + | - | + | + |

1.6.2 Box-Behnken Dizayn

En çok kullanılan üç seviyeli faktöriyel tasarım Box ve Behnken Tasarımıdır. Tasarımlar üç veya daha fazla bağımsız değişken için kullanılabilir. Box-Behnken tasarımı, gömülü bir faktöriyel veya fraksiyonel faktöriyel tasarım içermediği için bağımsız bir kuadratik tasarımdır. Bu tasarımda tedavi kombinasyonları, işlem alanının kenarlarının orta noktalarında ve merkezde bulunur (Şekil 1.7) Bu tasarımlar dönebilen (veya yakın dönebilen) ve her faktörün üç seviyelerini gerektirir. Tasarımlar, merkezi kompozit tasarımlara kıyasla ortogonal engelleme için sınırlı bir kabiliyete sahiptir. Bu tasarımlar 3 veya 4 faktör içeren durumlarda merkezi kompozit tasarımı daha az kombinasyonu gerektirir.

Tablo 1. 3 Box-Behnken dizayn tablosu

| A | B | C |
|----|----|----|
| -1 | -1 | 0 |
| -1 | 1 | 0 |
| 1 | -1 | 0 |
| 1 | 1 | 0 |
| -1 | 0 | -1 |
| -1 | 0 | 1 |
| 1 | 0 | -1 |
| 1 | 0 | 1 |
| 0 | -1 | -1 |
| 0 | -1 | 1 |
| 0 | 1 | -1 |
| 0 | 1 | 1 |
| 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 |

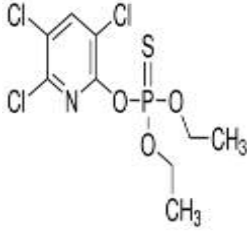
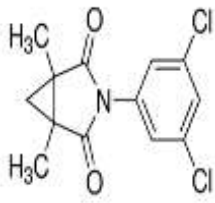
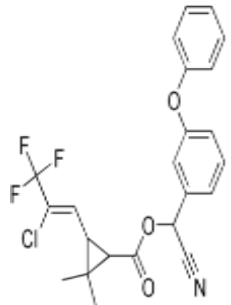


Şekil 1. 6 Box-Behnken Tasarımının Grafikselsel Gösterimi

1.7 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasını amacı ülkemizde birçok tarım ürününün özellikle sebze ve meyvelerin korunmasında sıklıkla kullanılan ve endokrin bozucu özellik gösteren pestisitlerin tayini için hızlı, daha az çözen tüketen, kolay ve önderiştirme kapasitesi yüksek olan ince film özütleme yöntemi geliştirmektir. Bu tez kapsamında laboratuvar ortamında hazırlanmış farklı polarite ve gözenek boyutuna sahip polimerler santrifüj tüpünün içi çeperine kaplanarak bu yüzeylerin ekstraksiyon amaçlı kullanılması amaçlanmıştır. Geliştirilen yöntem su örneklerinde ilgili pestisitlerin analizi için valide edilmiştir. Tez kapsamında çalışılan pestisitlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 1. 4 Tez kapsamında çalışılan pestisitlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri

| Adı | Kimyasal Yapısı/ IUPAC adlandırması | Fizikokimyasal Özellik |
|---------------------|---|--|
| Klorprifos |  <p>0,0-diethyl 0-(3,5,6-trichloro-2-pyridinyl)-phosphorothioate</p> | <p>MW: 350,57 gmol⁻¹
 CF: C₉H₁₁Cl₃NO₃PS
 EN: 42 °C
 BB: 2.02x10⁻⁵ mm Hg 25 °C
 D: 1,4 gcm⁻³
 S: 1.4mgL⁻¹ suda 25°C,
 650 g/100g asetonada
 H: 2.93x10⁻⁶ atm-m³mol⁻¹
 log K_{ow}: 4.96</p> |
| Prosimidon |  <p>N-(3,5-Dichlorophenyl)-1,2-dimethylcyclopropane-1,2-dicarboximide</p> | <p>MW: 284,138 gmol⁻¹
 CF: C₁₃H₁₁Cl₂NO₂
 EN: 166 °C
 BB: 1.40x10⁻⁴ mmHg
 D: 1,59 gcm⁻³
 S: 1.58x10⁻⁵ M (suda)
 H:
 log K_{ow}: 3.08</p> |
| Brompropilat |  <p>propan-2-yl 2,2-bis(4-bromophenyl)-2-hydroxyacetate</p> | <p>MW: 428,12
 CF: C₁₇H₁₆Br₂O₃
 EN: 77 °C
 BB: 8.2x10⁻⁸ mm Hg 20°C
 D: 1.49 gcm⁻³ 20°C
 S: 0.1 mgL⁻¹ suda , 850 gkg⁻¹ asetonada 20 °C
 H: 4.6x10⁻⁷ atm m³mol⁻¹
 log K_{ow} : 5.40</p> |
| Lambda |  <p>3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-dimethyl-cyano(3-phenoxyphenyl)methyl cyclopropane carboxylate</p> | <p>MW: 449,85 gmol⁻¹
 CF: C₂₃H₁₉ClF₃NO₃
 EN: 49.2 °C
 BB: <0.001 Pa 20 °C
 D: Bağıl Yoğunluk (su = 1): 1.3
 S: suda çözünmez
 H: -
 log K_{ow}: 7.0</p> |



2. DENEYSEL KESİM

2.1 Kullanılan Malzeme ve Reaktifler

Kullanılan susuz NaCl, Na₂SO₄ 550 °C de 2 saat bekletilerek kurutulmuştur ve (J.T Beaker) markadır. Analitik saflıkta aseton (Sigma Aldrich) kullanılmıştır. Pestisit stok standartları Chlorpyrifos (O,O-Diethyl O-3,5,6-trichloropyridin-2- phosphorothioate) (98.4%), Penconazole (1-[2-(2,4-dichloro phenyl)-n-pentyl]-1H-1,2,4-triazole) (99.2%), Bromopropylate (isopropyl-4,4'-dibromobenzilate) (97.5%), Procymidone (3-(3,5-dichlorophenyl)-1,5-dimethyl -3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2,4-dione) (98%), ve Lambda-cyhalothrin (3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-dimethyl-cyano (3-phenoxy phenyl) methyl cyclopropane carboxylate) (98.5%) Dr. Ehrenstrofer GmbH markadır ve bu pestisitlerin standart çözeltileri katılarından tartılarak aseton ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Standartlar +4 C°'de buzdolabında bekletilmiştir.

İyi bir enstrümantal performans sağlamak için, kalite kontrol (QC) standartları (10-20-50 ng L⁻¹), örnek çalışma boyunca başlangıçta, sonunda ve periyodik olarak enjekte edilmiştir. Enstrümantal kalibrasyon için, kalibrasyon aralığı standartları, her örnek çalışmasının başlangıcında ve sonunda çift olarak enjekte edilmiştir. TFE tüplerinin yüzey karakterizasyonu için Thermo Scientific Apreo S marka SEM Cihazı kullanılmıştır. Nanopartiküllerin, polisiloksanın ve kullanılan pestisitlerin tartılmasında kullanılan 5 haneli terazinin markası Mettler Toledo MT5'dir. Santrifüj için SİGMA 3-30KS marka cihaz kullanılmıştır. Vorteks işlemleri için Jeio Tech-Lab Companion marka cihaz kullanılmıştır. Adsorpsiyon işlemi için kullanılan karıştırıcının markası BioSan Multi RS-60'tır.

Britton-Robinson çözeltisi eşit derişimlerde (0.04 M) olacak şekilde fosforik asit borik asit ve asetik asit karıştırılarak hazırlandı. pH ayarı için sodyum hidroksit çözeltisi (0.2 M) kullanılmıştır. dı. BR tamponu geniş pH aralığında çalışılmasına izin vermektedir (2-12). Denemelerde kullanılan Etilasetat (Lab-Scan), aseton (Sigma Aldrich), asetonitril (Sigma Aldrich)

,etanol (JT Baker) gibi çözümler desorpsiyon çözgeni olarak kullanılmıştır ve tümü analitik saflıktadır. Ticari polimeri çözmek için toluen (Sigma Aldrich) kullanılmıştır.

Tuz etkisi için Merck marka NaCl ve Na₂SO₄ kullanılmıştır. Ultraamino adsorban Restek markadır. Silisyumdioksit, zeolit gibi kimyasallar nanopartikül denemeleri için kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan kuyu suyu Manisa Bölgesinde bağcılık yapılan tarlalardan alınmıştır.

2.2 Materyal ve Metod

Gaz Kromatografik (GC) analizler Agilent (Model 7820A Series) marka Agilent 7673A otoörnekleyici ve ECD dedektör sistemini içeren cihazda yapılmıştır. Bu analize ilişkin çalışma koşulları aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Tablo 2. 1 Gaz Kromatografik ölçüme ilişkin koşullar

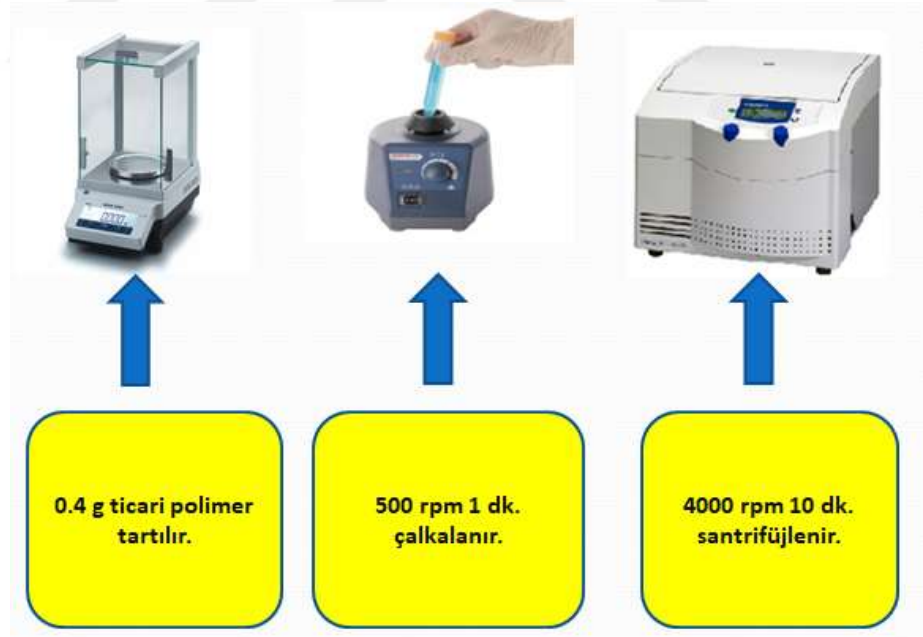
| Parametre | ECD | Parametre | ECD |
|-------------------------|---------|--------------------|---------|
| Kolon | DB-1 | Bitiş süresi | - |
| Uzunluk | 30 m | Hız A | 3°C |
| Çap | 0.25 mm | Bitiş sıcaklığı A | 200 °C |
| Splitless enjeksiyon | + | Bitiş süresi A | - |
| Enjeksiyon hacmi | 1µL | Hız B | 8°C |
| Enjeksiyon sıcaklığı °C | 250 °C | Bitiş sıcaklığı | 280°C |
| Fırın sıcaklığı °C | 70 °C | Bitiş zamanı B | 10 dk |
| Başlangıç sıcaklığı. | 70 °C | Dedektör sıcaklığı | 300°C |
| Başlangıç süresi | 2 dk | Taşıyıcı gaz | He |
| Hız | 25 °C | Diğer gazlar | Azot |
| Bitiş sıcaklığı | 150 °C | Akış hızı | 1 mL/dk |

2.3 Santrifüj Tüpünün İç Çeperine İnce Filmin Kaplanması

İnce film hazırlama prosedürü ticari polimer ve nanopartiküller için aşağıda detaylı şekilde anlatılıp şematik gösterimleri ile birlikte verilmiştir.

2.3.1 Polisiloksan Kaplama

Bu kaplamayı gerçekleştirmek için 0,4 g ticari silikon polimerinden tartılmıştır ve 1 mL toluen içerisinde homojen olacak şekilde çözülmüştür. Bu çözeltiden 800 μ L tüpün çeperlerine değmeyecek şekilde dip kısmına eklenerek, 500 rpm 1 dk vorteks yapılmıştır. Bu işlemden sonra tüp içerisindeki çözelti enjektör ile alınıp tek katmanlı bir yüzey eldesi için 10dk 4000 rpm dönme hızında tüpler santrifüjlenmiştir ve en dipte toplanan çözelti enjektörle alınmıştır. Çapraz bağların oluşması için tüpler 48 saat oda koşullarında bekletilmiştir (Şekil 2.1).



Şekil 2. 1 Polisiloksan kaplama için ince film hazırlama yönteminin şematik gösterimi

2.3.2 Zeolite, Ultraamino ve Silisyum Dioksit Nanopartiküllü Kaplama

Zeolit, ultraamino ve silisyum dioksit nanopartiküllü polisiloksan kaplama için 0,02g partiküller ayrı ayrı tartılmış ve 1mL toluen içerisinde homojen olacak şekilde çözülmüştür. İçerisinde 0.4 g olacak şekilde ticari polimer tartılmış ve bu çözelti homojen olacak şekilde ultrasonikasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra bu çözeltilerden 800 µL tüpün çeperlerine değmeyecek şekilde dip kısmına eklenip, 500 rpm 1dk vorteks yapılmıştır.

Santrifüj tüpünün iç çeperine tutunan polimerik filmden arta kalan çözelti enjektör ile alınmıştır. Fakat daha ince film olması için 10 dk 4000 rpm dönme hızında santrifüj yapılmıştır ve dipteki çözelti yeniden enjektörle alınmıştır. Çapraz bağların oluşması için tüpler 48 saat bekletilmiştir. Tüp içi ince filmlili ekstraksiyon (TFE) için laboratuvar ortamında ürettiğimiz bu kaplamalara ait bir fotoğraf Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2. 2 Tüp içi İnce Film Kaplama

2.4 Kromatografik Analiz İçin Örnek Hazırlama Prosedürü

Kuyu suyu örneklerinde hedeflenen pestisitlerin gaz kromatografik analizi için öncesinde gerçekleştirilen özütleme yöntemi 2 tür kaplama için

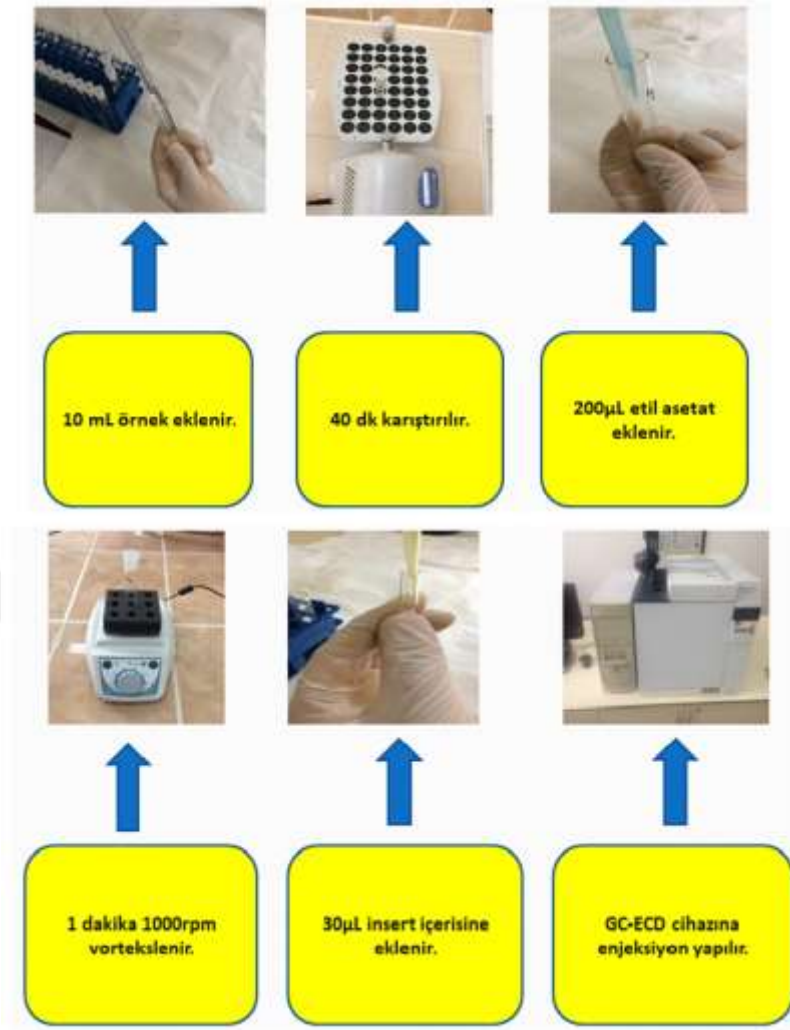
basamaklarla verilmiştir. Bunlara ilişkin şematik gösterimler aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir.

2.4.1 Polisiloksan Kaplama İçin Örnek Hazırlama Prosedürü

Polisiloksan kaplama sonrası su örneklerinde pestisit türlerinin ekstraksiyonu için izlenen prosedür şu şekildedir:

Öncelikle 250 mL kuyu suyu örneği süzülür. Daha sonra behere alınarak manyetik karıştırıcıda pH 3 olacak şekilde HCl ile ayarlanır. pH'ı ayarlanan kuyu suyu örneği polisiloksan kaplı tüplere her biri 10 mL olacak şekilde eklenir. Adsorpsiyon işlemi için tüpler 40 dakika karıştırıcıda çalkalanır ve pestisitlerin adsorpsiyonu yüzeyde gerçekleşir.

İçerisindeki çözelti tamamen alınarak desorpsiyon çözgeni olan 200 µL etil asetat eklenir. 1 dakika 1000 rpm karıştırıcıda çalkalanır (Desorpsiyon işlemi gerçekleşir.) Kalıntı suyu gidermek için desorpsiyon çözeltisi vial içerisine konan Na₂SO₄ ile kurutulur ve içerisinden 30 µL kadar alınıp insertin içerisine eklenip viallenir. Son olarak kromatografik analiz için GC-ECD cihazına enjeksiyonu yapılır.



Şekil 2. 3 Tüp içi ince film ekstraksiyonu (TFE) için polisiloksan kaplamalı tüpte gerçekleşen örnek hazırlama prosedürünün şematik gösterimi

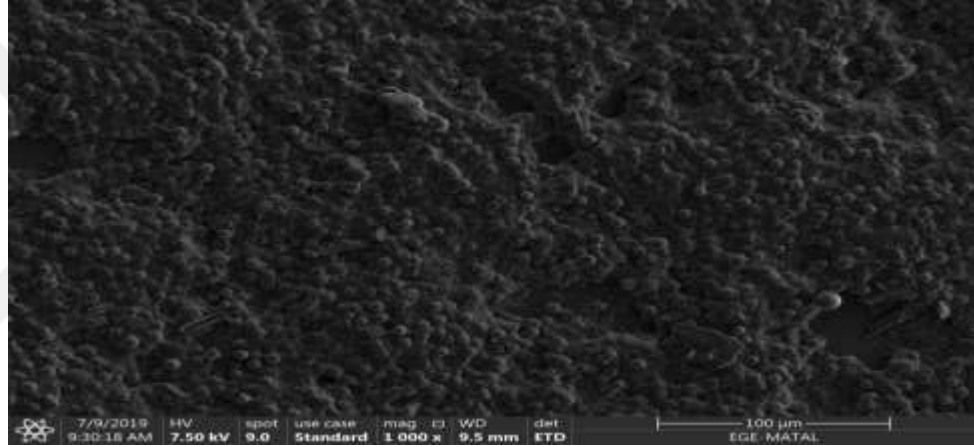
2.4.2 Ultraamino Kaplama İçin Örnek Hazırlama Prosedürü

Benzer yaklaşımlar ultraamino içeren polisiloksan kaplamalar için de yapılmıştır. Fakat bu kaplama ile çalışırken örneğin desorpsiyon aşamasında ortama 300 µL aseton eklenmiştir. 1 dakika 500 rpm vorteksli karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra desorpsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında çözgeni tamamen uçuruncaya kadar azot sistemi altında uçurulmuştur. Bu şekilde örnek yeniden önderiştirilmiştir. Tüpün içerisinde 50 µL aseton eklenip 1 dakika 500 rpm çalkanalarak insertlere eklenip viallenip GC-ECD cihazına enjeksiyon yapılmıştır.

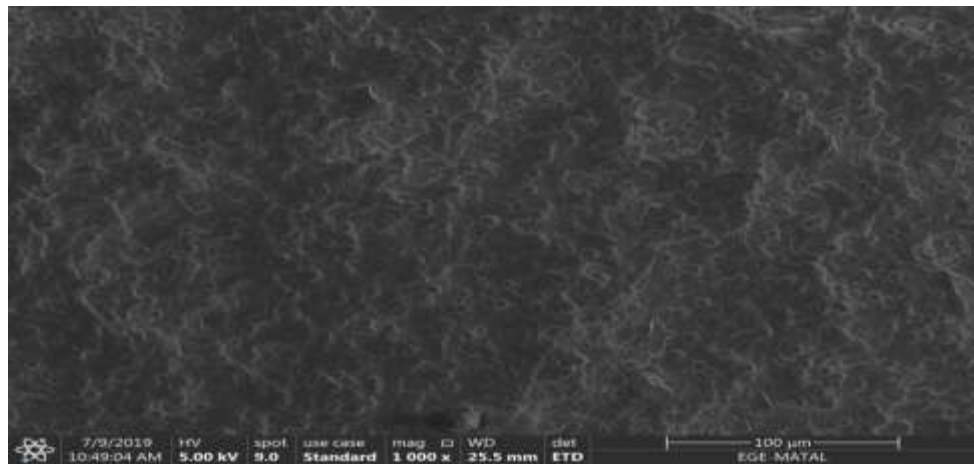
3. SONUÇLAR

Bu çalışmada, polisiloksan ve zeolit, silisyum dioksit, ultra amino adsorbanlarını da içeren polisiloksan kaplı ekstraksiyon tüplerinde kuyu suyu örneklerinde dört tür pestisitın tayin için analitik bir yöntemin optimizasyonu ve ardından elektron yakalama dedektörlü gaz kromatografisi ile tespiti anlatılmıştır. Endokrin bozucu pestisit olarak CP, PRC, BRP ve LMD türleri seçilmiştir.

3.1 TFE Tüplerinin Yüzey Karakterizasyonu



Şekil 3. 2 Polisiloksan kaplamaya ait SEM görüntüsü



Şekil 3. 1 Ultraamino nanopartiküllü polisiloksan kaplamaya ait SEM görüntüsü

3.2 Polisiloksan Kaplanmış TFE Tüpleri ile Yapılan Çalışmalar

Deneyisel kesimde anlatıldığı üzere, laboratuvar ortamında kaplamalarını gerçekleştirdiğimiz polisiloksan kaplamaların TFE prosedürünün optimizasyonu için kemometrik yöntemler kullanılmıştır.

3.2.1 Polisiloksan Kaplamada TFE için Deneyisel Parametrelerin PCB Tasarımı ile Optimizasyonu

Gerçekleştirilen TFE yönteminde sinyali etkileyebilecek parametrelerin sayısı göz önüne alındığında, yöntemi optimize etmek için Plackett Burmann tasarımı uygulanmıştır. Bu tasarım, problemin çok sayıda faktörü içerdiği özellikle ön çalışmalarda çok kullanışlı bir tasarımdır. Bu amaçla, optimizasyon çalışmaları için 10 ng / mL CP, PRC, BRP ve LMD standart çözeltileri kullanılmıştır. PCB Faktörleri ve seviyeleri Tablo 3.1' de verilmiştir. Söz konusu faktörler + (yüksek), - (düşük) olarak kodlanmış iki düzeyde değerlendirilmiştir.

Faktörlerin ana etkileri kromatogramlardan elde edilen pik alanların parametresi ile ilişkili olarak hesaplanmıştır. 12 deney yapılmıştır ve pestisitlerin sonuçları Tablo 3.2'de verilmiştir. CP, PRC, BRP ve LMD 'nin etki listesi Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3. 1 Plackett Burman Tasarımı için seçilmiş faktörler ve düzeyleri

| Faktör Kodu | Açıklama | (+) değer | (-) değer |
|-------------|------------------------------|-----------|-----------|
| A | Monomer Miktarı(g) | 0.4 | 0.2 |
| B | Film Vorteks Hızı (rpm) | 1000 | 500 |
| C | Monomer Hacmi (μ L) | 800 | 300 |
| D | Adsorpsiyon Süresi (dk) | 40 | 10 |
| E | Desorpsiyon Hızı (rpm) | 1000 | 500 |
| F | Desorpsiyon Süresi (dk) | 3 | 1 |
| G | Desorpsiyon Çözgen Türü | Etanol | Aseton |
| H | Desorpsiyon Hacmi (μ L) | 500 | 200 |
| J | Örnek Hacmi (mL) | 10 | 3 |
| K | Tuz Etkisi | + | - |
| L | pH | 9 | 3 |

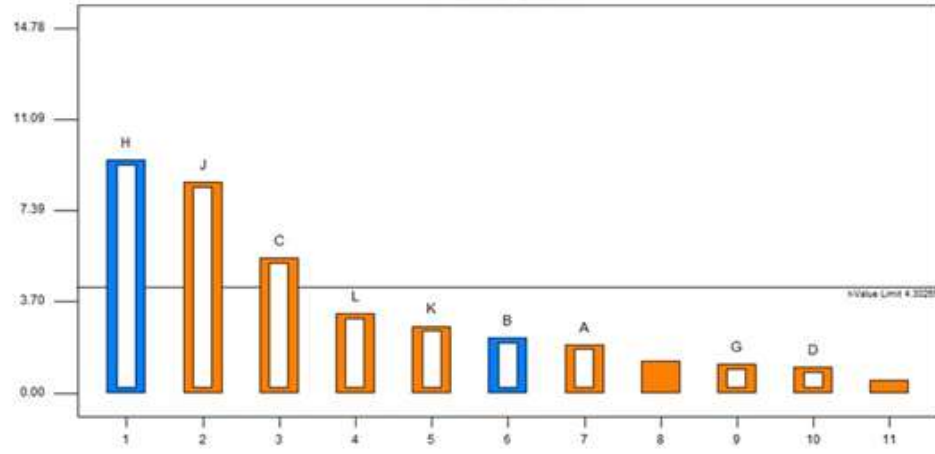
Tablo 3. 2 Modele göre analitler için elde edilen sonuçlar

| Deney sayısı | Pik Alanı | | | |
|--------------|-----------|-----|------|-----|
| | CP | PRC | BRP | LMD |
| 1 | 23 | 20 | 98 | 11 |
| 2 | 40 | 57 | 171 | 7 |
| 3 | 155 | 16 | 92 | 136 |
| 4 | 86 | 38 | 493 | 93 |
| 5 | 450 | 145 | 1596 | 78 |
| 6 | 45 | 66 | 276 | 7 |
| 7 | 558 | 111 | 2621 | 477 |
| 8 | 249 | 80 | 761 | 133 |
| 9 | 41 | 116 | 1387 | 64 |
| 10 | 460 | 86 | 1280 | 73 |
| 11 | 257 | 93 | 752 | 76 |
| 12 | 32 | 13 | 199 | 62 |

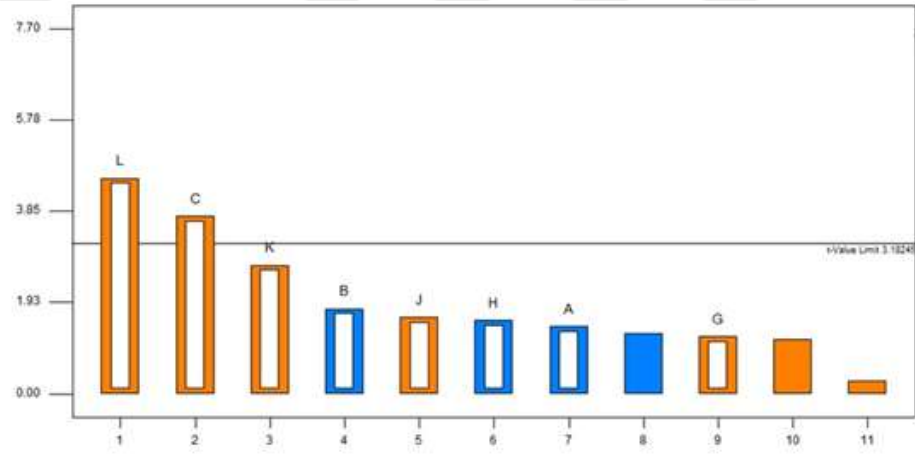
Tablo 3. 3 Modele göre analitler için elde edilen standart etki değerleri

| Açıklama | CP | PRC | BRP | LMD |
|-------------------------|---------|---------|----------|---------|
| Monomer Miktarı(g) | 48.667 | -15.5 | 23.3333 | 61.5 |
| Film Vorteks Hızı (rpm) | -55.667 | -19.5 | -220 | -34.833 |
| Monomer Hacmi (μL) | 135.67 | 40.833 | 703 | 73.833 |
| Adsorpsiyon Süresi (dk) | 26 | 12.5 | 401 | 71.833 |
| Desorpsiyon Hızı (rpm) | 32.6667 | -13.833 | -54 | 94.167 |
| Desorpsiyon Süresi (dk) | 13 | 2.8333 | -332.667 | -28.5 |
| Desorpsiyon Çözgen Türü | 28.667 | 13.167 | -196.33 | -101.83 |
| Desorpsiyon Hacmi (μL) | -235 | -16.833 | -525.33 | -80.833 |
| Örnek Hacmi (mL) | 212.33 | 17.5 | 695.667 | 102.5 |
| Tuz Etkisi | 67.333 | 29.50 | 176.33 | -39.17 |
| pH | 79.667 | 49.50 | 754.00 | 62.17 |

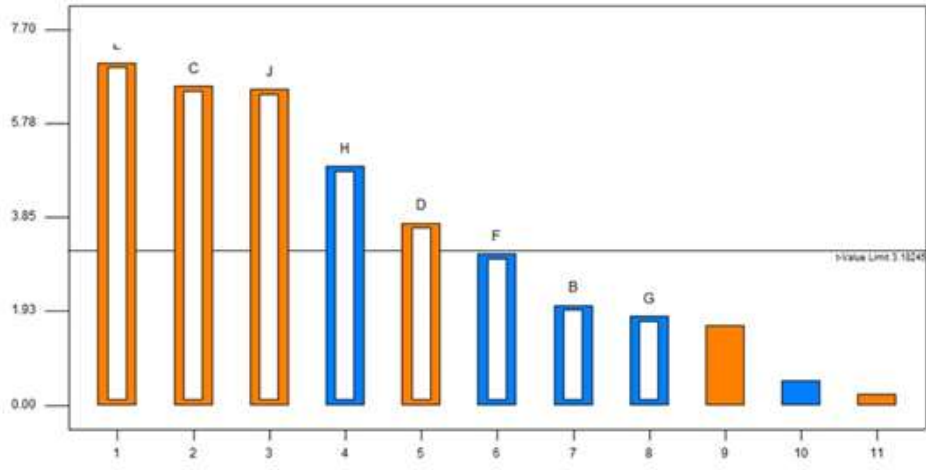
Elde edilen parametreler Pareto çizelgeleri kullanılarak değerlendirildiğinde ve Excel programı ile çizilen regresyon çizgisinden elde edilen sonuç değerleri ile uyumlu bulunmuştur. "Olasılık > F" nin her analit değeri 0.0500'den az olan model terimlerini göstermiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı sonuç vermiştir. Aşağıda verilen her bir analit için Pareto şemalarından görülebileceği gibi (Şekil 3.3 ile 3.6), üç parametrenin (J: Örnek Hacmi, C: Monomer Hacmi, L: pH,) kromatografik analizin tepe alanı üzerinde anlamlı bir etkisi vardır. Tümünün standart etki değerlerinin büyüklükleri değerlendirildiğinde çalışılması gereken önemli parametreler olarak Monomer Hacmi, pH ve Örnek Hacmi olarak seçilmiştir ve diğer tüm parametreler elde edilen standart etki değerleri de göz önüne alınarak sabit koşullarda çalışılmıştır. Daha sonra Box-Behnken Deney tasarımı dizayn edilmiştir.



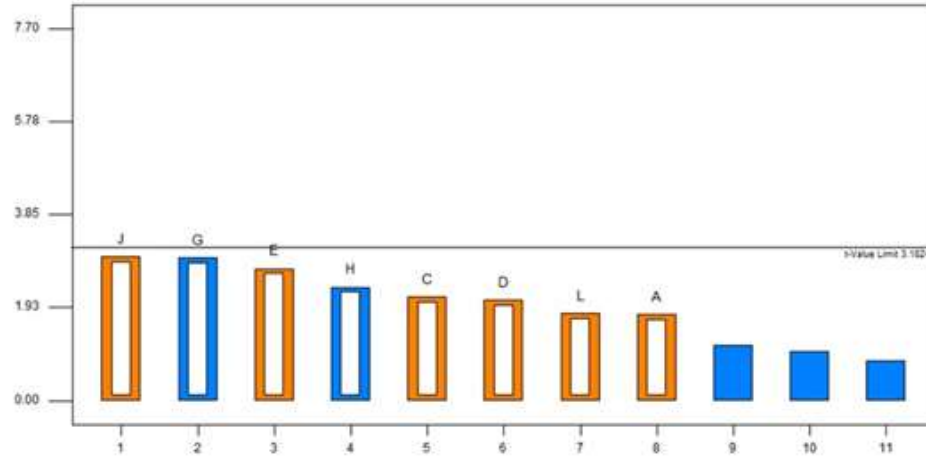
Şekil 3. 3 CP Pestisi için Pareto Kartı



Şekil 3. 4 PRC Pestisi için Pareto Kartı



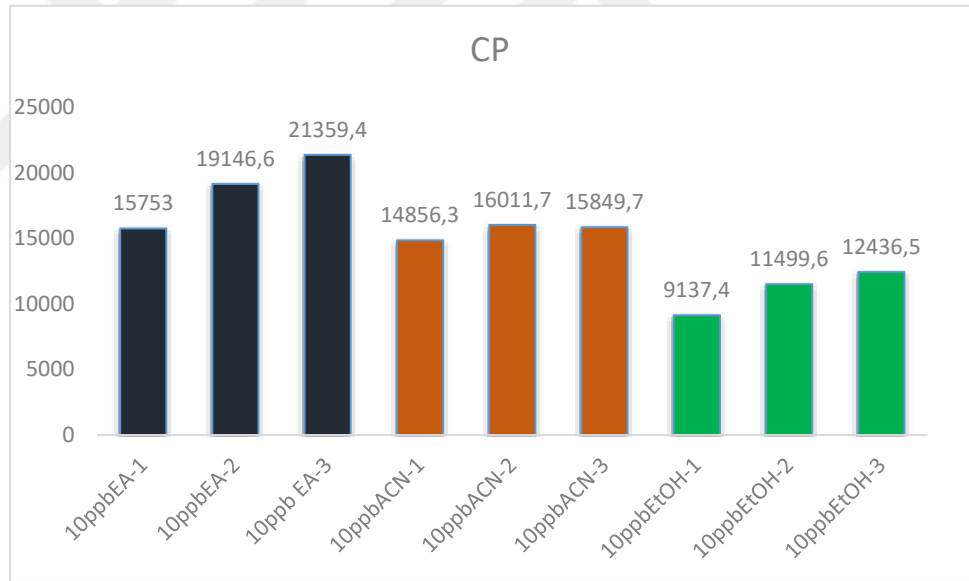
Şekil 3. 5 BRP Pestisi için Pareto Kartı



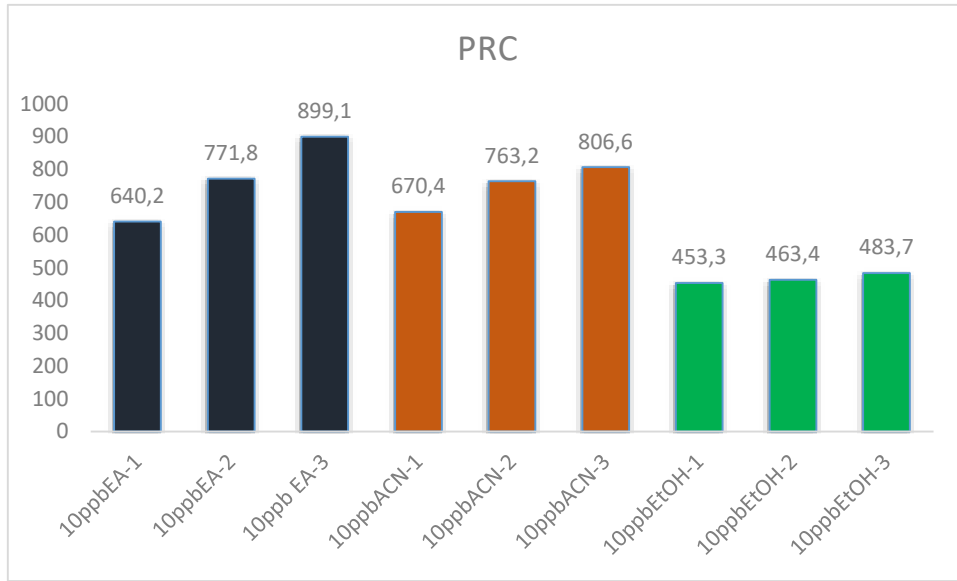
Şekil 3. 6 LMD Pestisi için Pareto Kartı

3.2.2 Polisiloksan Kaplamada TFE Çözgen Türünün Etkisi

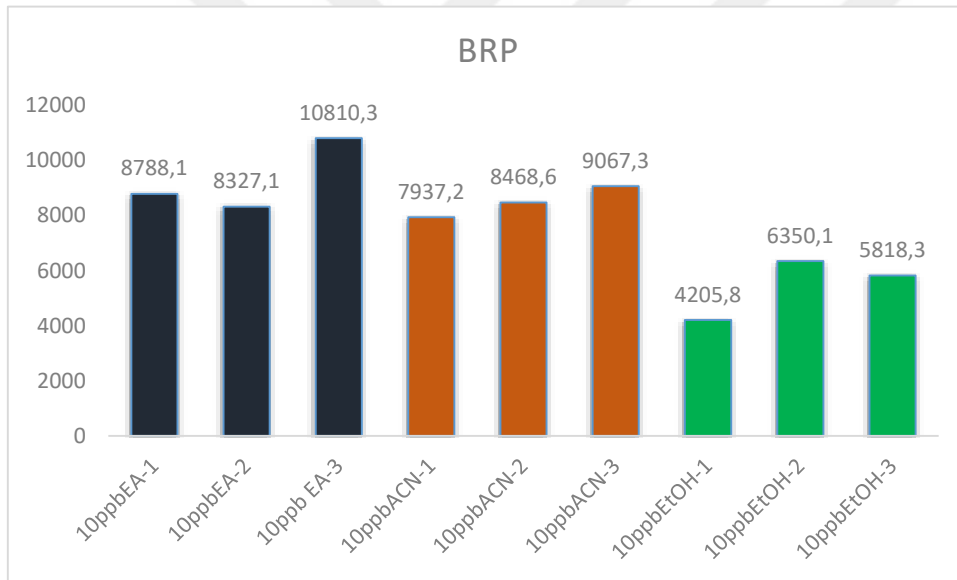
Polisiloksan kaplamalı TFE tüplerinde ekstraksiyon sonrasında yüzeye adsorplanan pestisitlerin geri desorpsiyonu için farklı polaritelere sahip çözgen türlerinin etkisi bu bölümde verilmiştir. Bu amaçla 10 mL 10 ng mL⁻¹ pestisit karışımını içeren sulu standart örneği (pH:3), 40 dakika adsorpsiyona tabi tutulmuştur. Bu adımdan sonra tüp içerisindeki sulu standart boşaltılarak 200 µL farklı polaritelere sahip olan etilasetat (Polarite indeksi: 4.4), etanol (Polarite indeksi: 5.1) asetonitril (Polarite indeksi: 5.8) gibi çözgenler ile deorpsiyon gerçekleştirilmiştir. Farklı çözgenler için çalışılan pestisitlere karşı alınan alan değerleri Şekil 3.7 ile Şekil 3.10 arasında verilmiştir. Bu denemeler sonucunda desorpsiyon çözgen türü olarak Etilasetat (4.4) seçilmiştir.



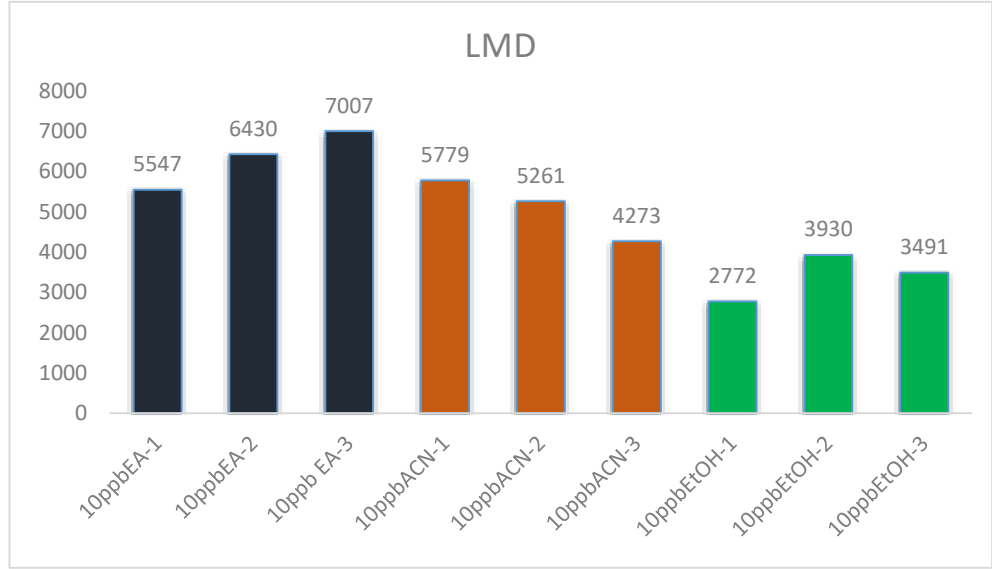
Şekil 3. 7 CP Pestisi için çözgen türünün etkisi



Şekil 3. 8 PRC Pestisi için çözen türünün etkisi



Şekil 3. 9 BRP Pestisi için çözen türünün etkisi



Şekil 3. 10 LMD Pestisi için çözgen türünün etkisi

3.2.3 Polisiiloksan Kaplamada TFE İçin Deneysel Parametrelerin Box Behnken Tasarımı ile Optimizasyonu

Optimizasyon çalışmaları genellikle geleneksel bir deneme-yanılma yönteminde, her bir faktörü ayrı ayrı veya daha yakın zamanda deneysel bir tasarımın kullanımına dayanan istatistiksel bir yöntem kullanarak inceleyerek gerçekleştirilir. İkinci metodoloji, bu faktörler arasındaki herhangi bir etkileşim hakkında daha fazla bilgi sağlar ve gerekli deney sayısı bu yolla azaltılabilir.

Tepki yüzey metodolojisinin (RSM) kullanılması, birkaç faktörün etkisinin yanı sıra bunlar arasındaki etkileşimlerin değerlendirilmesini mümkün kılacak ve ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesinde başarıyla kullanılmıştır. Tezin bu bölümünde Box-Behnken Tasarımı için uygulanacak dört faktör seçildi. İncelenen faktörlerin seviyeleri Tablo 3.8'de verilmiştir. Burada C, Monomer Hacmi, J, Örnek Hacmidir, L,pH'tır.

Deney noktalarının sayısı (N), ifade ile tanımlanır;

$$N = 2 K (K-1) + C_0$$

Burada, K değişkenlerin sayısı ve C₀ ise merkez noktaların sayısıdır. Bu çalışmada, K ve C₀, sırasıyla 3 ve 5'e ayarlanmış, bu da 17 deney yapılması gerektiği anlamına gelmektedir. Elde edilen veriler tüm pestisitler

için varyans (ANOVA) testi ile değerlendirilmiştir. PCB sonucu ortaya çıkan önemli 3 parametre belirlendikten sonra Box Behnken dizaynı için söz konusu faktörler + (yüksek), - (düşük) 0 (orta) olarak kodlanmış üç düzeyde değerlendirilmiştir. Çalışılan koşullar Tablo 3.4’de belirtilmiştir.

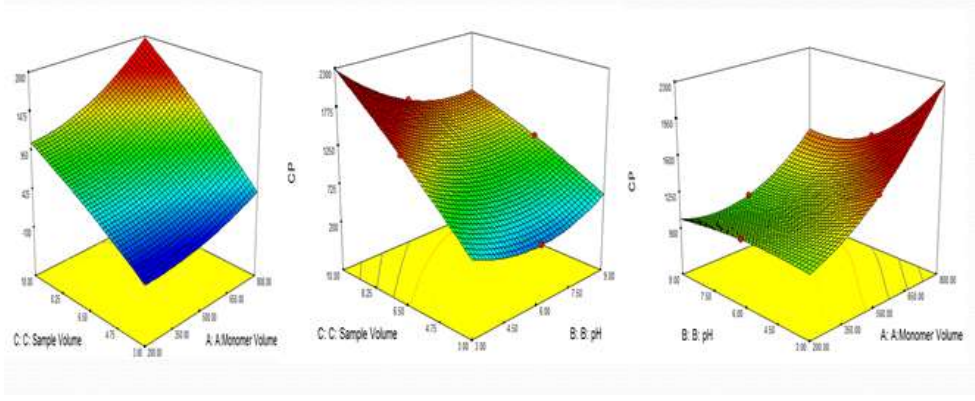
Tablo 3. 4 Box-Behnken dizaynı çalışma koşulları

| Parametre | (+) Değer | (0) Değer | (-) Değer |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|
| Monomer Hacmi (µL) | 800 | 500 | 200 |
| pH | 9 | 6 | 3 |
| Örnek Hacmi (mL) | 10 | 6,5 | 3 |

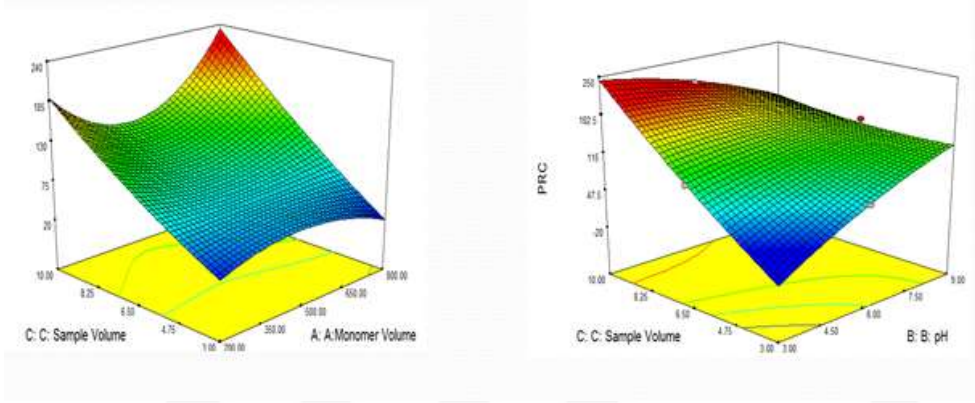
Diğer parametrelerden tuz etkisi (+), monomer ağırlığı (0.4 g), film vorteks hızı (500 rpm), adsorpsiyon süresi (40 dk.), desorpsiyon hızı (1000 rpm), desorpsiyon Süresi (1 dk), desorpsiyon çözgen türü (Etilasetat) ve desorpsiyon hacmi: (200 µL) olacak şekilde çalışılmıştır. Tablo 3.5 bu koşullarda orta noktada beş kez çalışılan box-Behnken analizi sonucu herbir pestisit değerleri için okunan alan değerlerini vermektedir. Şekil 3.11 ile 3.14 arasında herbir pestisit ekstraksiyonu için optimum koşullarda elde edilen tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürlere ait üç boyutlu grafikler verilmektedir.

Tablo 3. 5 Box-Behnken analizi sonucu herbir pestisit değerleri için okunan alan değerleri ve deneysel çalışma koşulları

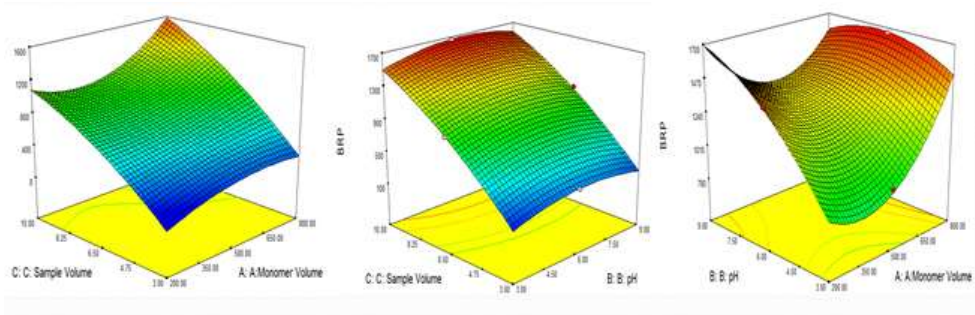
| Monomer Hacmi (µL) | pH | Örnek Hacmi (mL) | CP | PRC | BRP | LMD |
|--------------------|------|------------------|------|-----|------|-----|
| 200.00 | 9.00 | 6.50 | 869 | 108 | 1289 | 653 |
| 500.00 | 9.00 | 3.00 | 475 | 161 | 540 | 167 |
| 500.00 | 6.00 | 6.50 | 842 | 162 | 1248 | 114 |
| 200.00 | 6.00 | 3.00 | 282 | 83 | 343 | 105 |
| 800.00 | 6.00 | 3.00 | 292 | 70 | 344 | 326 |
| 200.00 | 3.00 | 6.50 | 486 | 87 | 423 | 406 |
| 800.00 | 9.00 | 6.50 | 1078 | 138 | 1075 | 189 |
| 500.00 | 3.00 | 3.00 | 95 | 21 | 125 | 35 |
| 500.00 | 6.00 | 6.50 | 792 | 64 | 1129 | 162 |
| 200.00 | 6.00 | 10.00 | 1067 | 167 | 1419 | 431 |
| 500.00 | 6.00 | 6.50 | 621 | 98 | 783 | 192 |
| 800.00 | 3.00 | 6.50 | 1470 | 104 | 952 | 631 |
| 500.00 | 6.00 | 6.50 | 729 | 90 | 1006 | 300 |
| 500.00 | 6.00 | 6.50 | 501 | 63 | 646 | 10 |
| 800.00 | 6.00 | 10.00 | 1594 | 207 | 1665 | 482 |
| 500.00 | 3.00 | 10.00 | 1477 | 141 | 879 | 557 |
| 500.00 | 9.00 | 10.00 | 980 | 42 | 1304 | 395 |



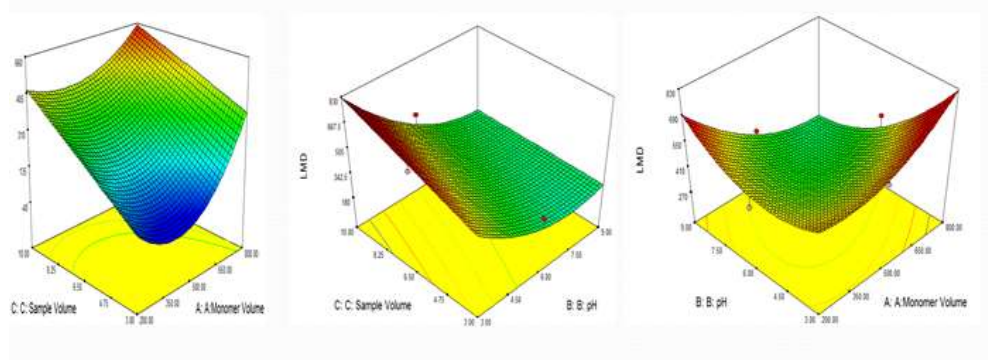
Şekil 3. 11 CP ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler



Şekil 3. 12 PRC ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler



Şekil 3. 13 BRP ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler



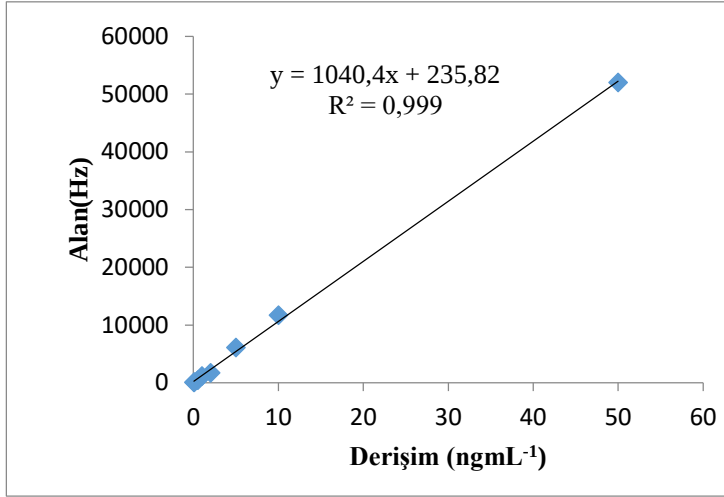
Şekil 3. 14 LMD ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler

Box-Behnken Dizaynı Sonrası Optimize Edilmiş Sonuçlar

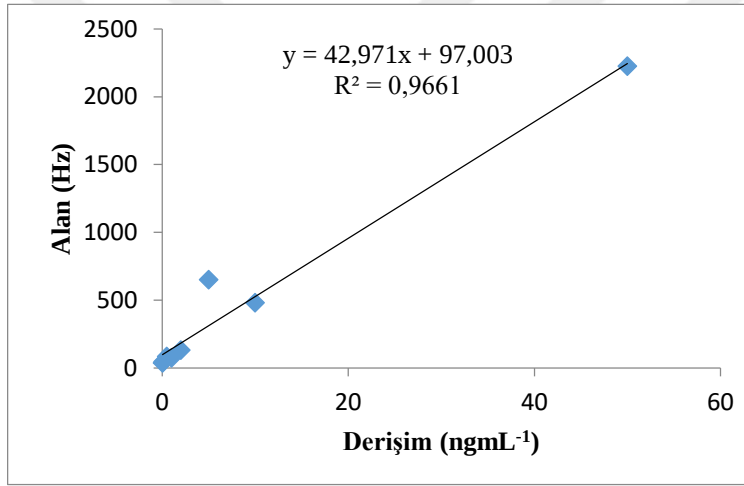
- Örnek Hacmi: 10 mL
- Monomer Hacmi: 800 μ L
- pH:3 olarak bulunmuştur.

3.2.4 Polisiloksan Kaplama İle Yapılan Kalibrasyon Çalışmaları

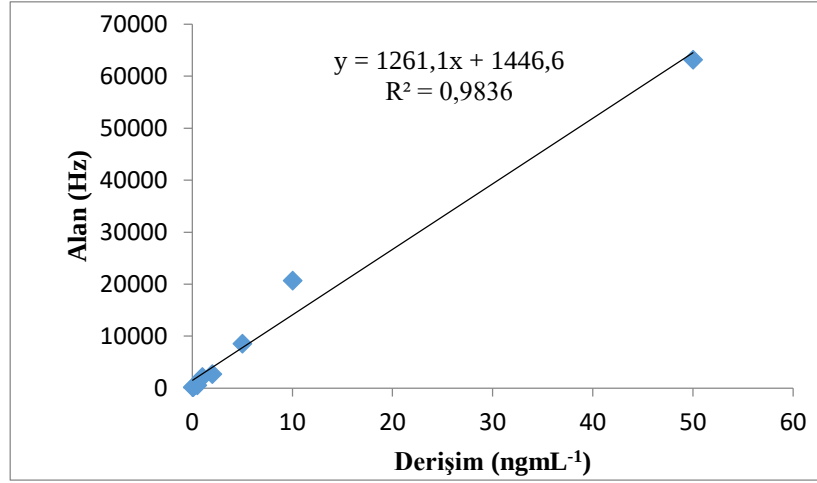
PCB ve Box-Behnken taramalarından elde edilen optimum koşullar altında çalışıldığında her bir pestisit türü için kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Çalışma koşullarında örnek hacmi 10 mL, polisiloksan kaplam için monomer hacmi 800 μ L, pH: 3, tuz etkisi (+), monomer ağırlığı (0.4 g), film vorteks hızı (500 rpm), adsorpsiyon süresi (40 dk.), desorpsiyon hızı (1000 rpm), desorpsiyon Süresi (1 dk), desorpsiyon çözügen türü (Etilasetat) ve desorpsiyon hacmi: (200 μ L) olacak şekilde çalışılmıştır. Bu deneysel koşullar altında farklı derişimli standartlar TFE ekstraksiyon adımlarından geçirilmiş ve elde edilen alan değerleri ile kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Sonuç olarak elde edilen eğriler Şekil 3.15 ile Şekil 3.18 arasında verilmiştir. TFE ekstraksiyonundan sonra 1 ngmL⁻¹ için elde edilen kromatogram Şekil 3.19’de verilmiştir.



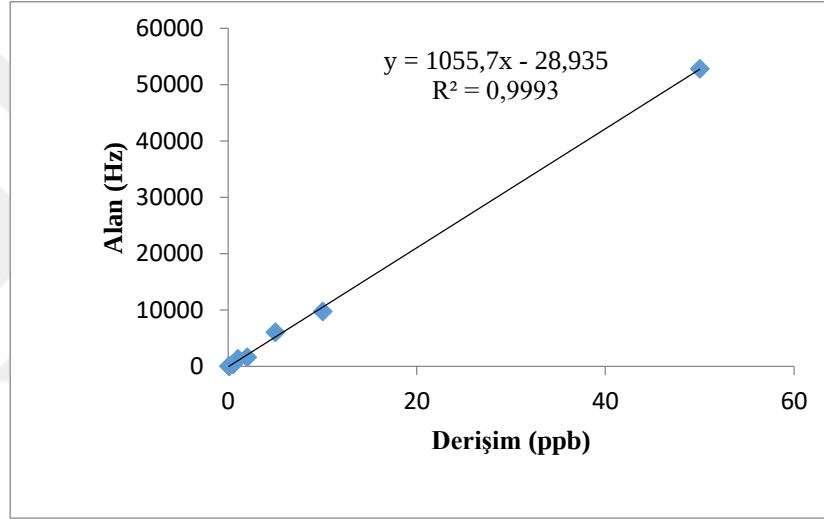
Şekil 3. 15 CP ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi



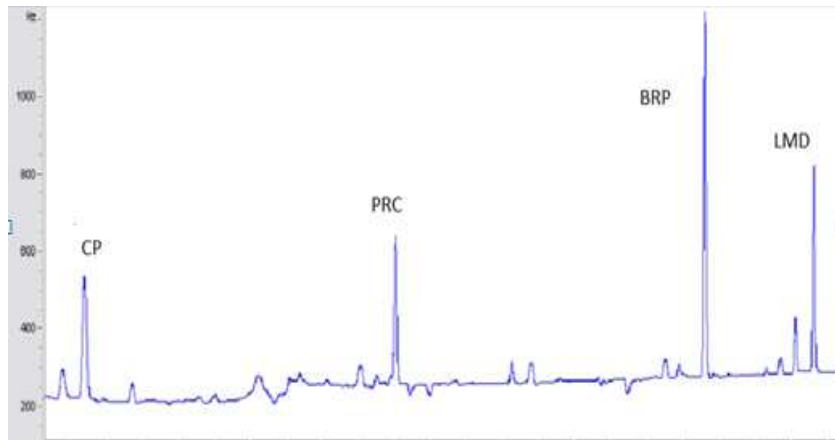
Şekil 3. 16 PRC ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi



Şekil 3. 17 BRP ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi



Şekil 3. 18 LMD ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi



Şekil 3. 19 TFE ekstraksiyonundan sonra polisiloksan kaplamada 1 ngmL⁻¹ derişimli CP, PRC, BRP, LMD için elde edilen kromatogram

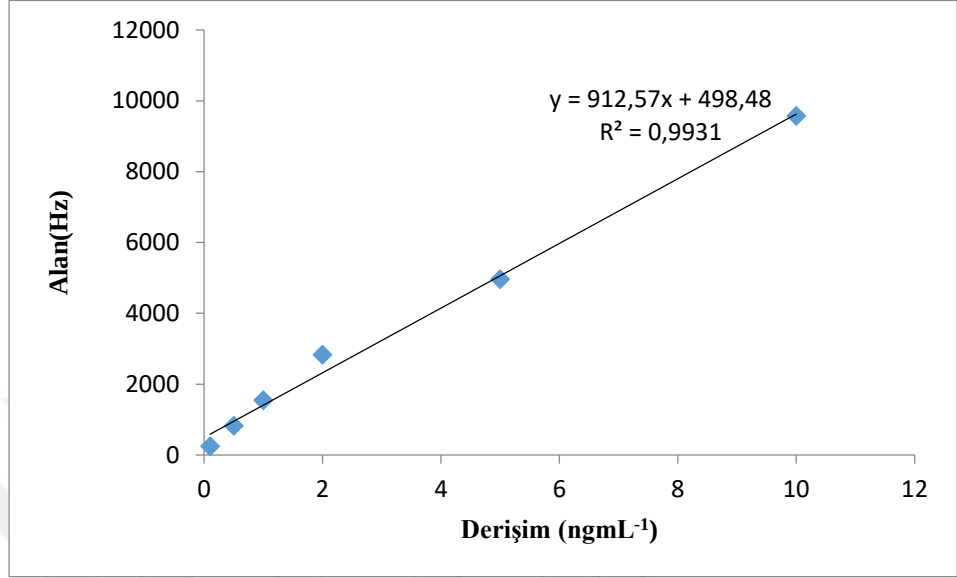
3.2.4 Polisiloksan Kaplama İçin Yötemin Analitik Özellikleri

Bu tez kapsamında uygulanan validasyon parametreleri, aşağıdaki kriterleri göz önünde bulundurarak, EN-45000 Avrupa normlarına (AB Standardı, 1989) uygun olarak yapılmıştır: Özgüllük, belirtme sınırı (LOD), saptama sınırı (LOQ), doğruluk (% 100), hassasiyet (tekrarlanabilirlik, RSD <% 20), (doğrusallık, $r > 0,95$) ve pratiklik (maliyet, karmaşıklık, vb.). Elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde aşağıdaki Tablo 3.6 oluşturulmuştur.

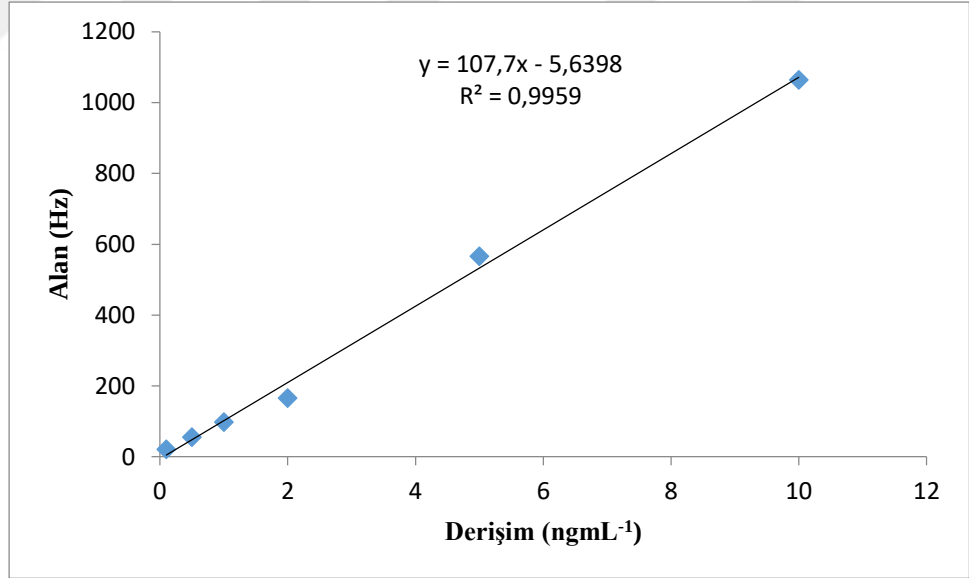
Tablo 3. 6 Polisiloksan kaplama kullanılarak elde edilen analitik karakterisitikler

| Analit | Lineer Denklem | Lineer Aralık (ngmL ⁻¹) | R ² | LOD (ngmL ⁻¹) | LOQ (ngmL ⁻¹) | RSD(%)
1.0 ng mL ⁻¹
(n=5) | RSD(%)
5.0 ng mL ⁻¹
(n=5) |
|------------|------------------|-------------------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|--|--|
| | | | | | | Tüpler arası | Tüp içi |
| CP | 1040,4x + 235,82 | 0.1-50 | 0,999 | 0.04 | 0.13 | 14.5 | 12.7 |
| PRC | 43,498x + 54,987 | 3-50 | 0,998 | 0.9 | 3.14 | 15.4 | 21.1 |
| BRP | 1259,7x + 1208,5 | 1-10 | 0,9905 | 0.02 | 0.07 | 18.6 | 10.7 |
| LMD | 1055,7x - 28,935 | 0.1-50 | 0,9993 | 0.04 | 0.14 | 3.6 | 21.3 |

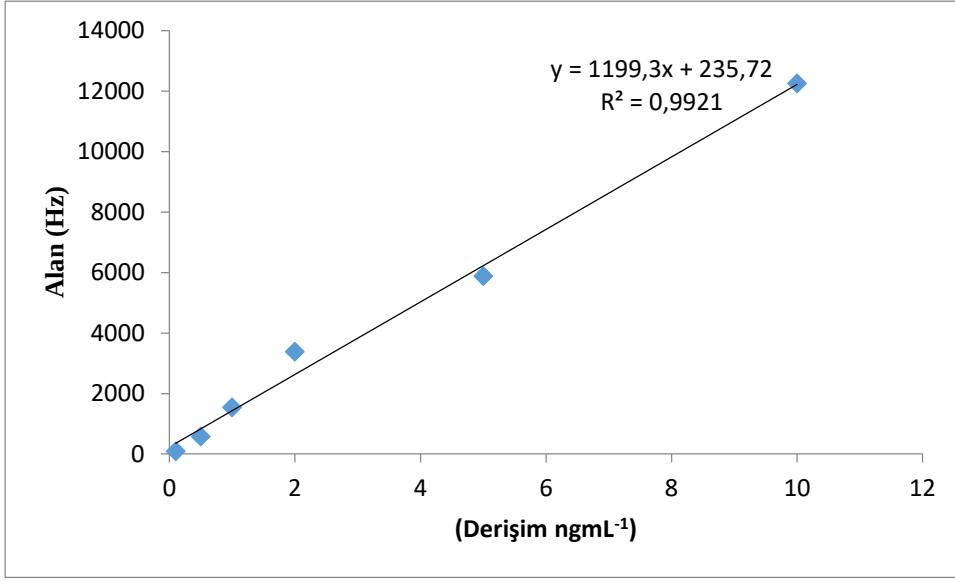
Geliştirilen bu yöntem kuyu suyu örneklerinde pestisit analizi için uygulanmıştır. Alınan 3 paralel örnekler üzerine standart katma yapılarak IFME prosedürü uygulanmış ve elde edilen standart katma eğrileri aşağıda verilmiştir (Şekil 3.20-Şekil 3.23). Polisiloksan kaplama içeren tüplerde kuyu suyu için 5 ng mL⁻¹ standart katılmış örnekler için hesaplanan geri kazanım değerleri %80 ile %106 arasında bulunmuştur.



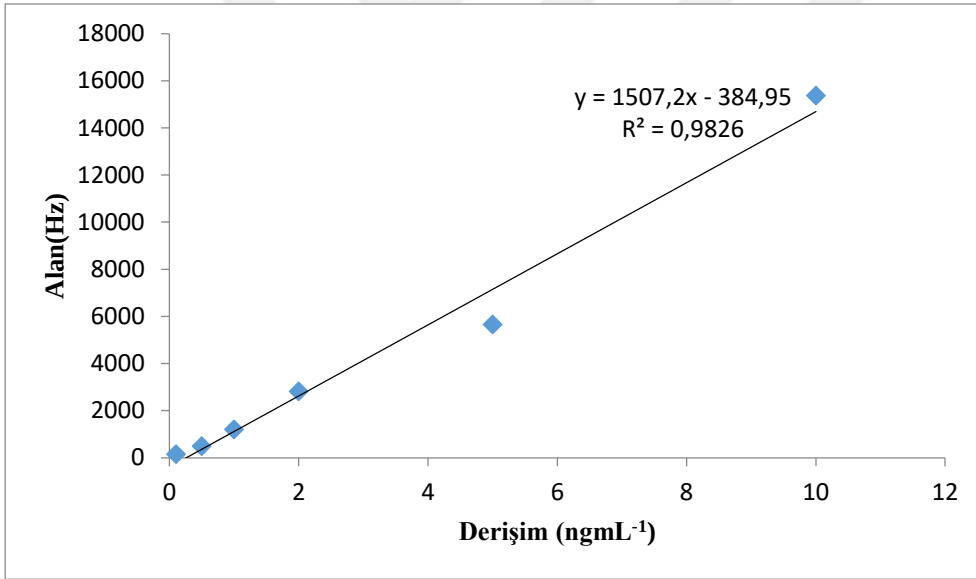
Şekil 3. 20 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde CP için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği



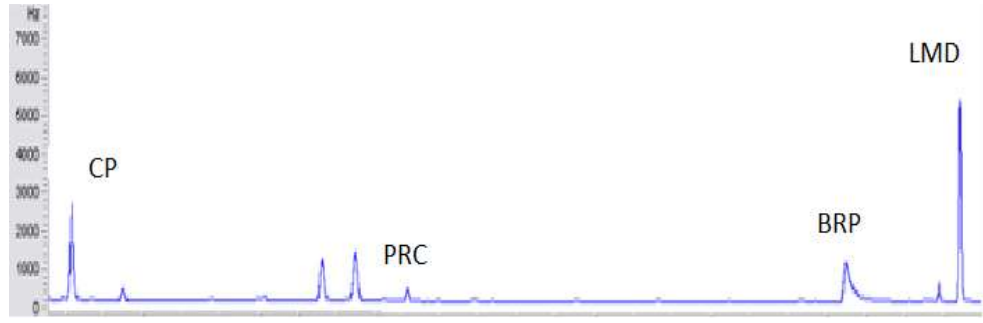
Şekil 3. 21 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde PRC için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği



Şekil 3. 22 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde BRP için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği



Şekil 3. 23 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde LMD için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği

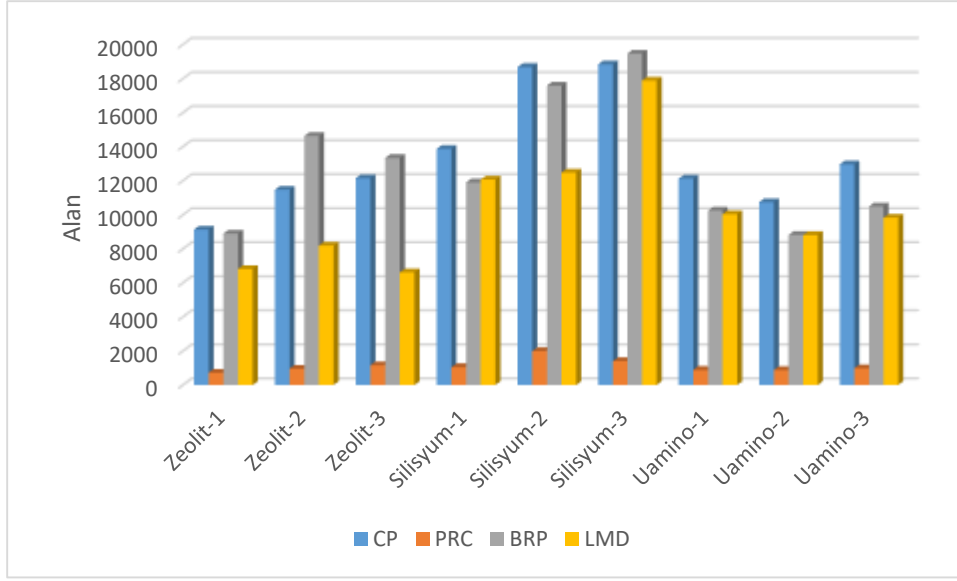


Şekil 3. 24 TFE ekstraksiyonundan sonra polisiloksan kaplamada 10 ngmL^{-1} derişimli CP, PRC, BRP, LMD için elde edilen kromatogram

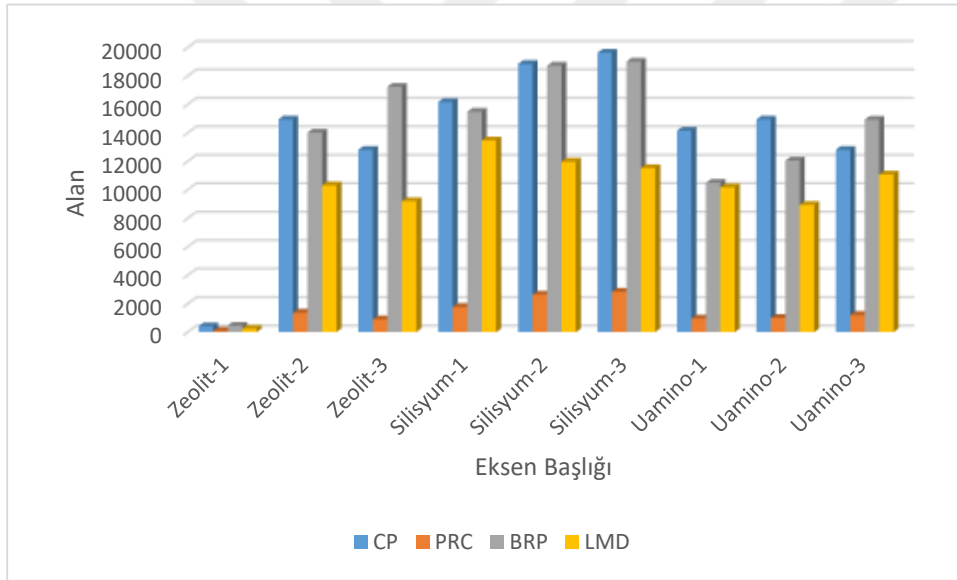
3.3 Ultra Amino, Zeolit, Silisyum Dioksit Nanopartikül İçeren Polisiloksan Kaplanmış TFE Tüpleri İle Yapılan Çalışmalar

3.3.1 Adsorban Türünün Seçimi

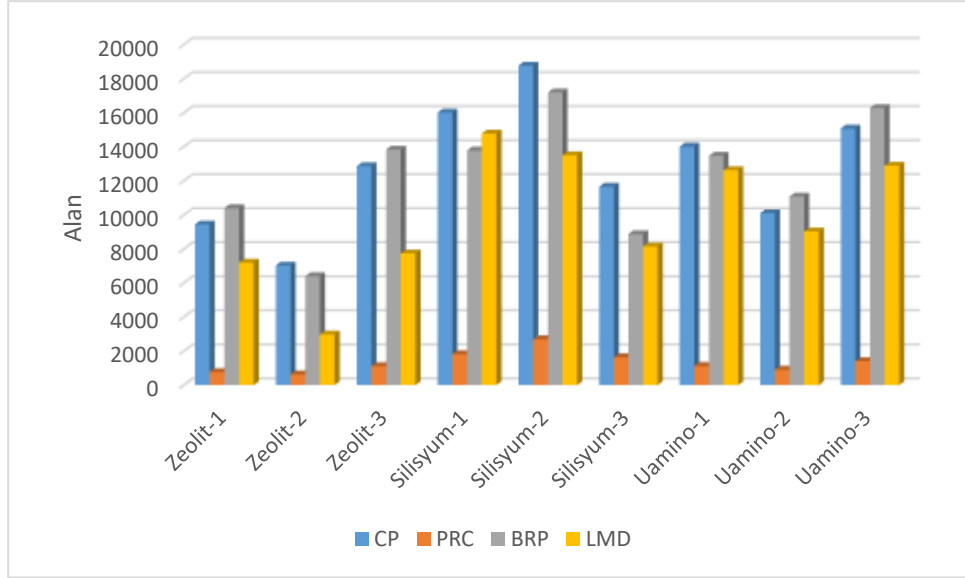
Polisiloksan kaplama ile deneysel parametreler optimize edilip TFE yöntemi kuyu suyu örneklerine uygulandıktan sonra etkileşen yüzey alanine arttırmak için laboratuvarımızda bulunan katı adsorbanlar kaplama sırasında ortama eklenerek yüzeyde tutunmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ultra amino, zeolit, silisyum dioksit nanopartiküller kullanılmıştır. Öncelikle kullanılan adsorban miktarlarının etkisi 3 paralel çalışılarak izlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla 0.02 g, 0.04 g, 0.06 g ve 0.08 g kaplama miktarları ortamında kaplamalar yapılmış ve elde edilen alan değerleri grafiğe geçirilmiştir (Şekil 3.25-Şekil 3.28). Bu denemeler sonucunda silisyumdioksit için 0.08 g madde miktarı aşırı viskoz olduğu için denenememiştir. Aşağıdaki grafiklerden de görüldüğü üzere adsorban miktarı arttıkça alan değerleri düşmektedir. Bu üç adsorban türünün yanıtları karşılaştırıldığında en iyi verim silisyum dioksit için elde edilmiştir fakat yine de çok farklı sonuçlar alınamamaktadır. Bu nedenle en iyi alınan sonuç ve temin edilmesi kolay olduğu için 0.02 g ultraamino kaplama sonraki denemelerde kullanılmıştır.



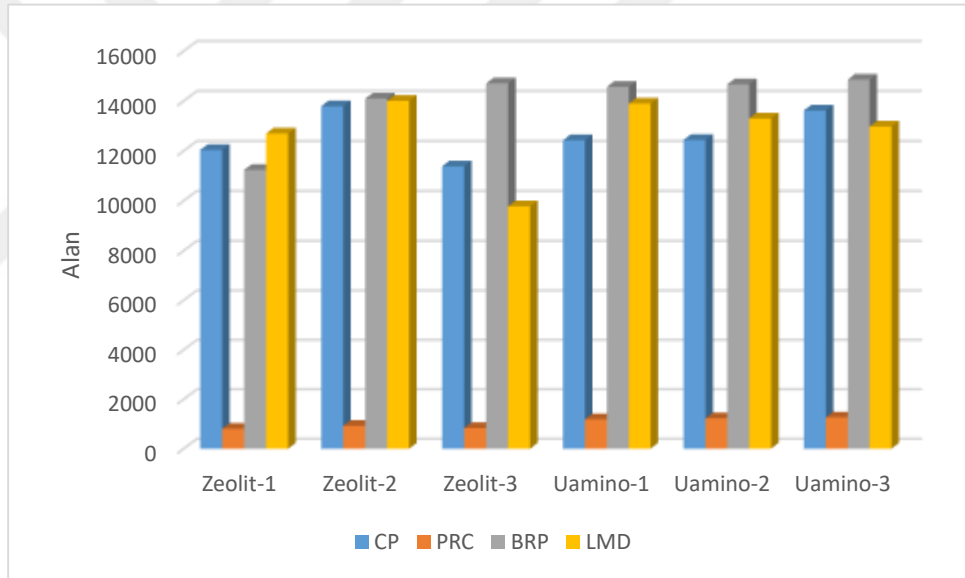
Şekil 3. 25 0.02 g adsorban miktarı için elde edilen alan değerleri



Şekil 3. 26 0.04 g adsorban miktarı için elde edilen alan değerleri



Şekil 3. 27 0.06 g adsorban miktarı için elde edilen alan değerleri



Şekil 3. 28 0.08 g adsorban miktarı için elde edilen alan değerleri

3.3.2 Ultraamino Partiküllü Polisiloksan Kaplamada TFE İçin Deneysel Parametrelerin PCB Tasarımı İle Optimizasyonu

Gerçekleştirilen TFE yönteminde sinyali etkileyebilecek parametrelerin sayısı göz önüne alındığında, yöntemi optimize etmek için Plackett Burmann tasarımı uygulanmıştır. Bu tasarım, problemin çok sayıda faktörü içerdiği özellikle ön çalışmalarda çok kullanışlı bir tasarımdır. Bu amaçla, optimizasyon çalışmaları için 10 ng mL⁻¹ CP, PRC, BRP ve LMD standart çözeltileri kullanılmıştır. PCB Faktörleri ve seviyeleri Tablo 3.7' de verilmiştir. Söz konusu faktörler + (yüksek), - (düşük) olarak kodlanmış iki düzeyde değerlendirilmiştir.

Faktörlerin ana etkileri kromatogramlardan elde edilen pik alanların parametresi ile ilişkili olarak hesaplanmıştır. 12 deney yapılmıştır ve pestisitlerin sonuçları Tablo 3.8'de verilmiştir. CP, PRC, BRP ve LMD 'nin etki listesi Tablo 3.9'de verilmiştir.

Tablo 3. 7 Plackett Burman Tasarımı için seçilmiş faktörler ve düzeyleri

| Faktör Kodu | Açıklama | (+) değer | (-) değer |
|-------------|-------------------------|-----------|------------|
| A | Uçurma Etkisi | + | - |
| B | Film Vorteks Hızı (rpm) | 1000 | 500 |
| C | Monomer Hacmi (µL) | 800 | 300 |
| D | Adsorpsiyon Süresi (dk) | 40 | 10 |
| E | Desorpsiyon Hızı (rpm) | 1000 | 500 |
| F | Desorpsiyon Süresi (dk) | 3 | 1 |
| G | Desorpsiyon Çözgen Türü | Aseton | Etilasetat |
| H | Desorpsiyon Hacmi (µL) | 500 | 200 |
| J | Örnek Hacmi (mL) | 10 | 3 |
| K | Tuz Etkisi | + | - |
| L | pH | 9 | 3 |

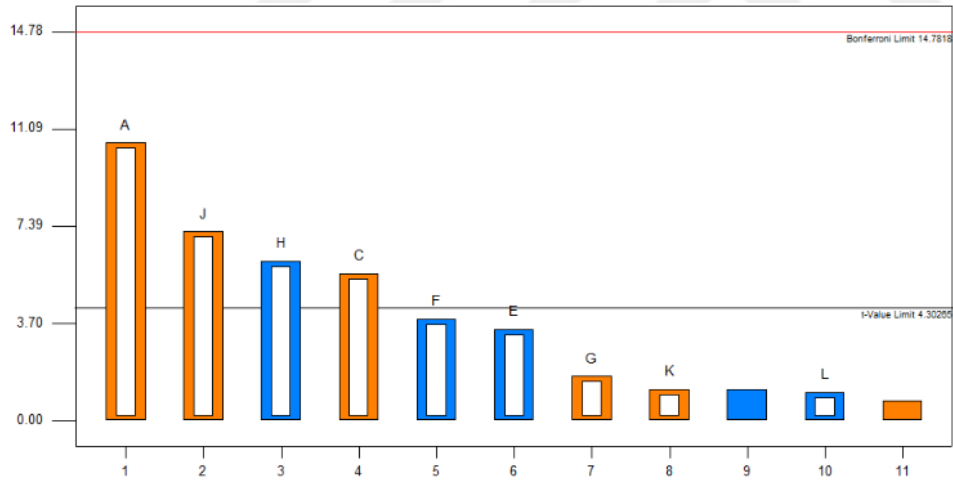
Tablo 3. 8 Modele göre analitler için elde edilen sonuçlar

| Deney sayısı | Pik Alanı | | | |
|--------------|-----------|------|-------|-------|
| | CP | PRC | BRP | LMD |
| 1 | 23386 | 782 | 21376 | 22716 |
| 2 | 2801 | 285 | 1486 | 1490 |
| 3 | 6182 | 438 | 4458 | 1979 |
| 4 | 1995 | 106 | 3159 | 492 |
| 5 | 14654 | 1634 | 10434 | 13259 |
| 6 | 11813 | 925 | 7541 | 5827 |
| 7 | 14567 | 792 | 15564 | 12291 |
| 8 | 3806 | 216 | 9513 | 3314 |
| 9 | 4762 | 444 | 3825 | 4040 |
| 10 | 72039 | 2640 | 46941 | 27371 |
| 11 | 48593 | 1174 | 57772 | 79508 |
| 12 | 21482 | 2288 | 17149 | 21458 |

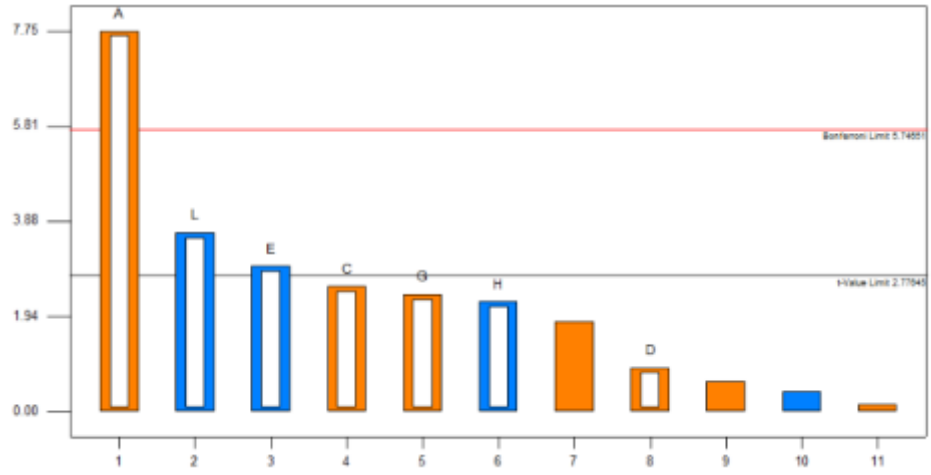
Tablo 3. 9 Modele göre analitler için elde edilen standart etki değerleri

| Açıklama | CP | PRC | BRP | LMD |
|-------------------------|----------|---------|-----------|-----------|
| Uçurma Etkisi | 26309 | 1193.67 | 20534.67 | 23683.67 |
| Film Vorteks Hızı (rpm) | 1880.33 | -66.33 | -2233.33 | -8671.67 |
| Monomer Hacmi (µL) | 13954.33 | 393 | 12570 | 12010.67 |
| Adsorpsiyon Süresi (dk) | -2982.67 | 139 | 1985 | 11280.33 |
| Desorpsiyon Hızı (rpm) | -8665.67 | -456.33 | -2244 | 3240.67 |
| Desorpsiyon Süresi (dk) | -9654.33 | 96 | -7038.33 | -8023.67 |
| Desorpsiyon Çözgen Türü | 4220.67 | 368.33 | 86 | -7968 |
| Desorpsiyon Hacmi (µL) | -15127 | -346 | -14813.33 | -13565 |
| Örnek Hacmi (mL) | 17907.33 | 23.33 | 16553.67 | 16566.67 |
| Tuz Etkisi | 3005.33 | 284 | -4395 | -12290.33 |
| pH | -2691.33 | -562.67 | 4547.67 | 8686 |

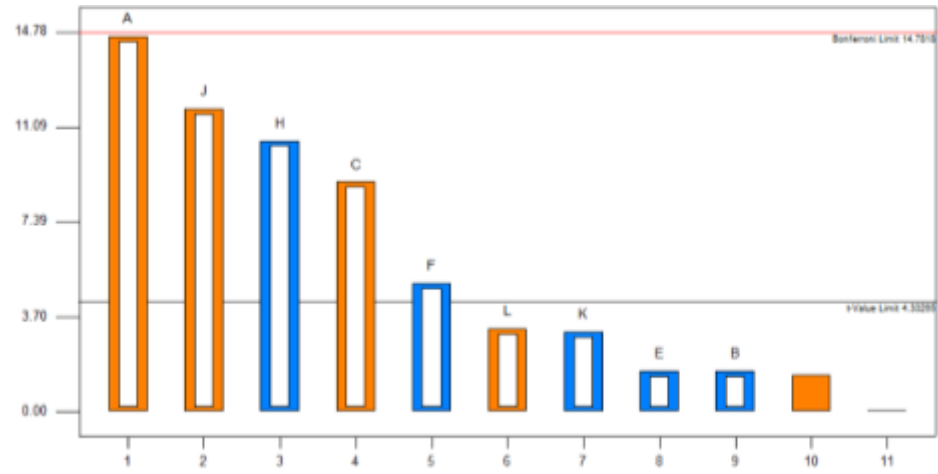
Elde edilen parametreler Pareto çizelgeleri kullanılarak değerlendirildiğinde ve Excel programı ile çizilen regresyon çizgisinden elde edilen sonuç değerleri ile uyumlu bulunmuştur. "Olasılık > F" nin her analit değeri 0.0500'den az olan model terimlerini göstermiştir ve model istatistiksel olarak anlamlı sonuç vermiştir. Aşağıda verilen her bir analit için Pareto şemalarından görülebileceği gibi (Şekil 3.29 ile 3.32), dört parametrenin (A: Uçurma Etkisi, J: Örnek hacmi, H: Desorpsiyon Hacmi, C: Monomer Hacmi,) kromatografik analizin tepe alanı üzerinde anlamlı bir etkisi vardır. Tümünün standart etki değerlerinin büyüklükleri değerlendirildiğinde çalışılması gereken önemli parametreler olarak Monomer hacmi, Desorpsiyon hacmi ve Örnek hacmi olarak seçilmiştir ve diğer tüm parametreler elde edilen standart etki değerleri de göz önüne alınarak sabit koşullarda çalışılmıştır. Daha sonra Box-Behnken Deney tasarımı dizayn edilmiştir.



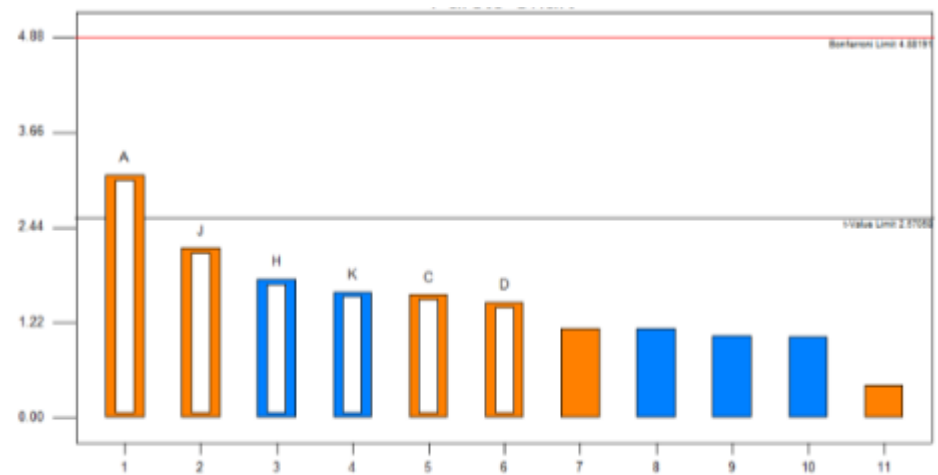
Şekil 3. 29 CP Pestisi için Pareto Kartı



Şekil 3. 31 PRC Pestisi için Pareto Kartı



Şekil 3. 30 BRP Pestisi için Pareto Kartı



Şekil 3. 32 LMD Pestisi için Pareto Kartı

3.3.3 Ultraamino Partiküllü Polisiloksan Kaplamada TFE İçin Deneysel Parametrelerin Box Behnken Tasarımı İle Optimizasyonu

PCB sonucu ortaya çıkan önemli 3 parametre belirlendikten sonra Box Behnken dizaynı için söz konusu faktörler + (yüksek), - (düşük) 0 (orta) olarak kodlanmış üç düzeyde değerlendirilmiştir. Çalışılan koşullar Tablo 3.10'da belirtilmiştir. Diğer parametrelerden tuz etkisi (+), film vorteks hızı (500 rpm), adsorpsiyon süresi (40 dk.), desorpsiyon hızı (1000 rpm), desorpsiyon Süresi (1 dk), desorpsiyon çözgen türü (Aseton), pH:3 ve uçurma etkisi: + olacak şekilde çalışılmıştır. Tablo 3.11 Box-Behnken analizi sonucu herbir pestisit değerleri için alan değerlerini vermektedir. Şekil 3.33 ile 3.36 arasında herbir pestisit ekstraksiyonu için optimum koşullarda elde edilen tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürlere ait üç boyutlu grafikler verilmektedir.

Tablo 3. 10 Box-Behnken dizaynı çalışma koşulları

| Parametre | (+) Değer | (0) Değer | (-) Değer |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Monomer Hacmi (µL) | 800 | 500 | 200 |
| Desorpsiyon Hacmi (µL) | 300 | 200 | 100 |
| Örnek Hacmi (mL) | 10 | 6,5 | 3 |

Tablo 3. 11 Box-Behnken analizi sonucu herbir pestisit değerleri için okunan alan değerleri ve deneysel çalışma koşulları

| Monomer Hacmi (µL) | Desepsiyon Hacmi (µL) | Örnek Hacmi (mL) | CP | PRC | BRP | LMD |
|--------------------|-----------------------|------------------|-------|------|-------|-------|
| 800 | 100 | 6.50 | 13537 | 1117 | 20992 | 23571 |
| 500 | 200 | 6.50 | 15242 | 1250 | 15278 | 24768 |
| 200 | 100 | 6.50 | 14458 | 1356 | 32808 | 36901 |
| 500 | 200 | 6.50 | 11437 | 1201 | 11633 | 12267 |
| 500 | 200 | 6.50 | 10043 | 1100 | 15044 | 23703 |
| 200 | 200 | 3.00 | 10393 | 1458 | 11454 | 11685 |
| 200 | 300 | 6.50 | 11232 | 960 | 20476 | 25757 |
| 800 | 200 | 3.00 | 8268 | 885 | 7529 | 8185 |
| 200 | 200 | 10.00 | 15917 | 1032 | 40469 | 61411 |
| 500 | 200 | 6.50 | 12565 | 1428 | 18292 | 14530 |
| 500 | 200 | 6.50 | 9816 | 1100 | 14566 | 18164 |
| 500 | 100 | 3.00 | 12585 | 1258 | 16729 | 20436 |
| 500 | 100 | 10.00 | 21060 | 1698 | 28091 | 37898 |
| 800 | 200 | 10.00 | 23010 | 1810 | 31259 | 42753 |
| 500 | 300 | 10.00 | 23081 | 1554 | 28518 | 39356 |
| 800 | 300 | 6.50 | 15473 | 1470 | 22642 | 28892 |

Yapılan ANOVA testi sonucunda dört pestisit için de kuadratik modelleme gerçekleştirilmiştir. CP için ANOVA sonuçlarında F değeri 8.73 ve p değeri 0.0046 olarak bulunmuştur. p değeri 0.05 değerinin altında olduğu için modelin anlamlı (significant) olduğu kanıtlanmaktadır. Elde edilen eğrinin R^2 değeri ise 0.9182'dir. Box-Behnken yaklaşımı sonucu CP için elde edilen denklem aşağıda verilmiştir.

$$CP = +11820.60 + 1036.00A + 408.38B + 4587.63C + 1290.50AB + 2304.50AC - 128.75BC - 855.18A^2 + 2709.50B^2 + 3431.58C^2$$

PRC için ANOVA sonuçlarında F değeri 10.18 ve p değeri 0.0029 olarak bulunmuştur. Elde edilen eğrinin R^2 değeri ise 0.9290'dır. Box-Behnken yaklaşımı sonucu PRC için elde edilen denklem aşağıda verilmiştir.

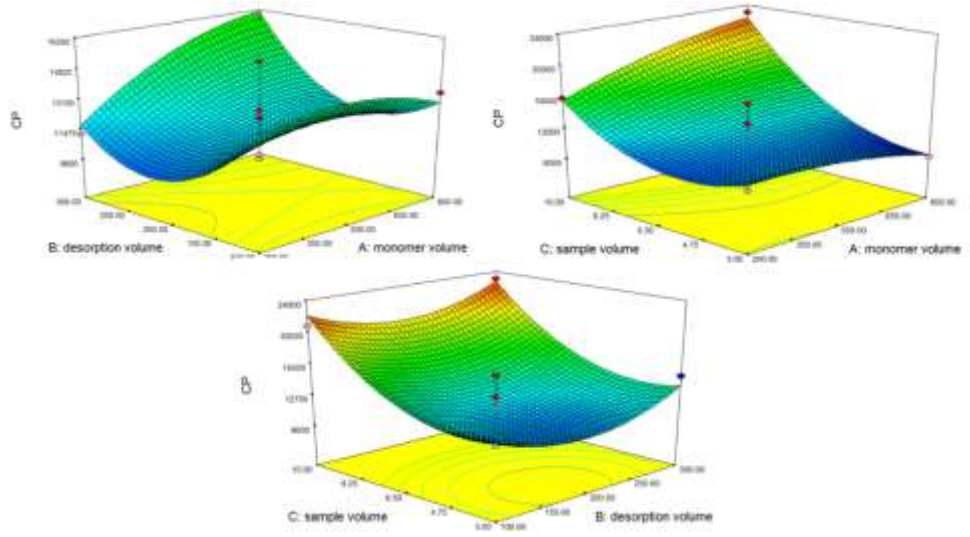
$$PRC = +1215.80 + 59.50A + 11.87B + 119.13C + 187.25AB + 337.75AC - 106.50BC - 103.15A^2 + 113.10B^2 + 183.60C^2$$

BRP için ANOVA sonuçlarında F değeri 10.18 ve p değeri 0.0029 olarak bulunmuştur.. Elde edilen eğrinin R^2 değeri ise 0.9079'dır. Box-Behnken yaklaşımı sonucu BRP için elde edilen denklem aşağıda verilmiştir.

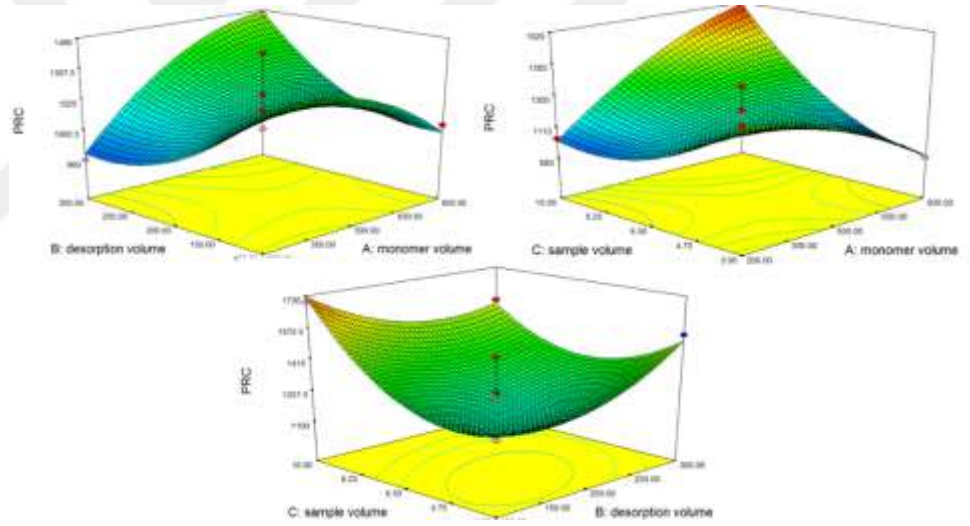
$$BRP = +14962.60 - 2848.13A - 1691.88B + 98.97C + 3495.50AB - 1321.25AC + 926.75BC + 5123.95A^2 + 4142.95B^2 + 2591.20C^2$$

LMD için ANOVA sonuçlarında F değeri 5.42 ve p değeri 0.0183 olarak bulunmuştur.. Elde edilen eğrinin R^2 değeri ise 0.8745'dir. Box-Behnken yaklaşımı sonucu LMD için elde edilen denklem aşağıda verilmiştir.

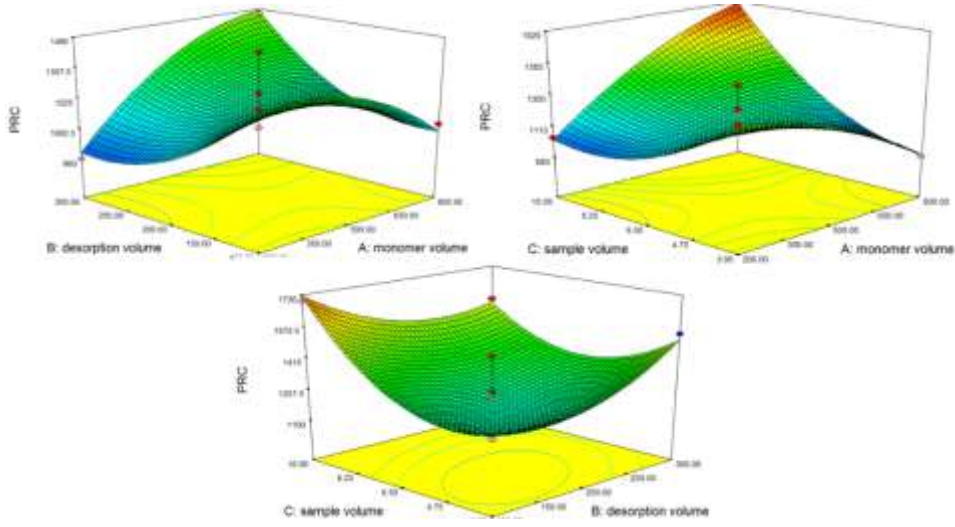
$$LMD = +18686.40 - 4044.13A - 1064.62B + 15603.50C + 4116.25AB - 3789.50AC + 1402.50BC + 6304.43A^2 + 3789.42B^2 + 6017.67C^2$$



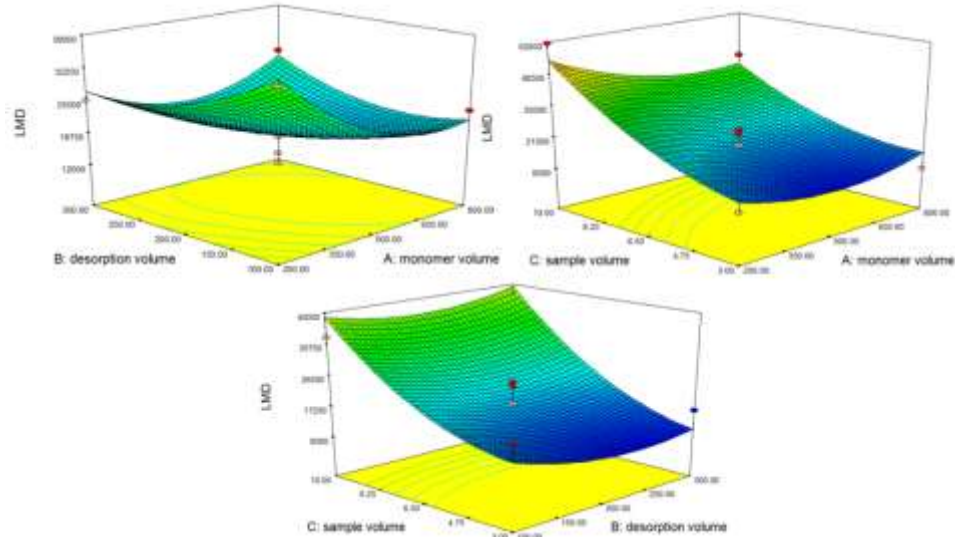
Şekil 3. 33 CP ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler



Şekil 3. 34 PRC ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler



Şekil 3. 35 BRP ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler

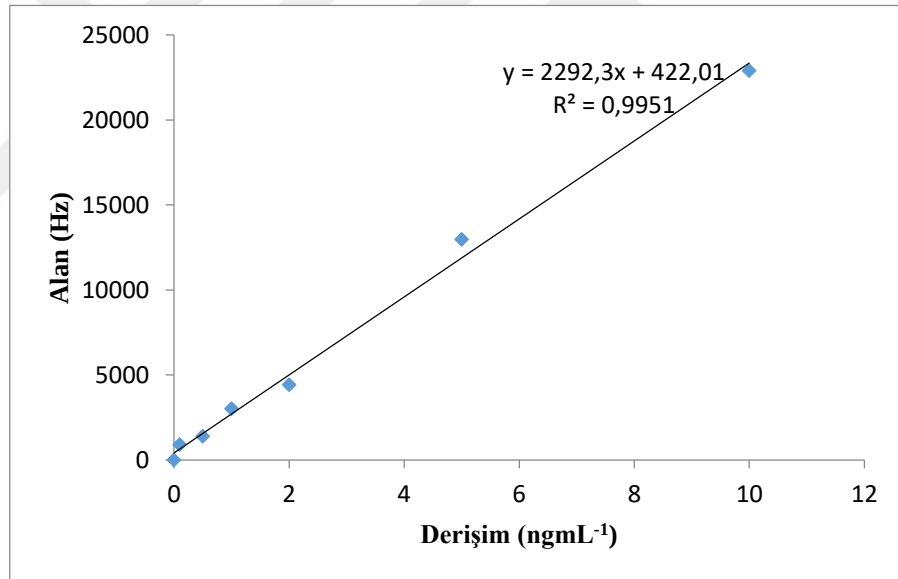


Şekil 3. 36 LMD ekstraksiyonu için tipik cevap yüzeyleri ve ilgili kontürler

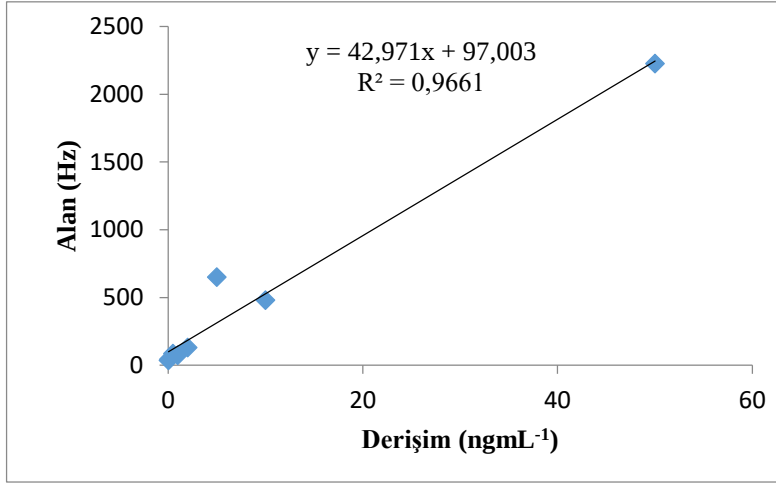
Yukarıda verilen tüm veriler değerlendirildiğinde Box-Behnken Dizaynı Sonrası Optimize Edilmiş Sonuçlar, Örnek Hacmi: 10 mL, Monomer Hacmi: 800 μ L, Desorpsiyon Hacmi:300 μ L olarak seçilmiştir.

3.3.4 Ultraamino Partiküllü Polisiloksan Kaplama İle Yapılan Kalibrasyon Çalışmaları

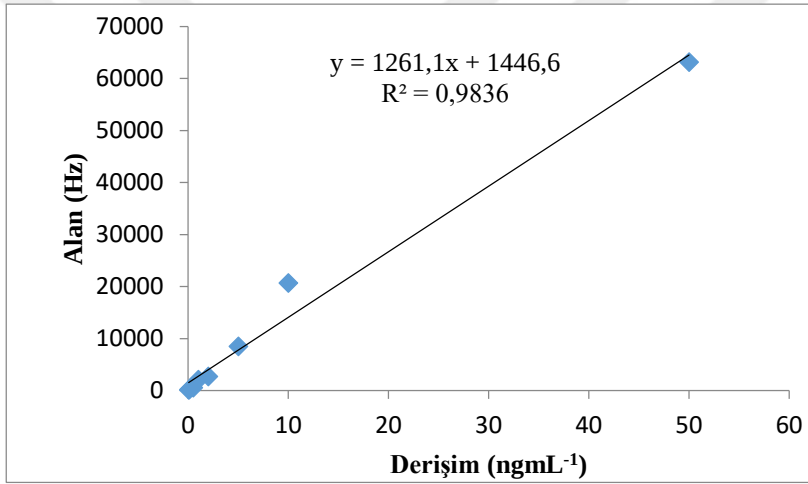
PCB ve Box-Behken taramalarından elde edilen optimum koşullar altında çalışıldığında her bir pestisit türü için kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir. Çalışma koşullarında örnek hacmi 10 mL, polisiloksan kaplam için monomer hacmi 800 µL, pH: 3, tuz etkisi (+), uçurma: +, film vorteks hızı (500 rpm), adsorpsiyon süresi (40 dk.), desorpsiyon hızı (1000 rpm), desorpsiyon Süresi (1 dk), desorpsiyon çözgen türü (Aseton) ve desorpsiyon hacmi: (300 µL) olacak şekilde çalışılmıştır. Bu deneysel koşullar altında farklı derişimli standartlar TFE ekstraksiyon adımlarından geçirilmiş ve elde edilen alan değerleri ile kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Sonuç olarak elde edilen eğriler Şekil 3.37 ile Şekil 3.40 arasında verilmiştir.



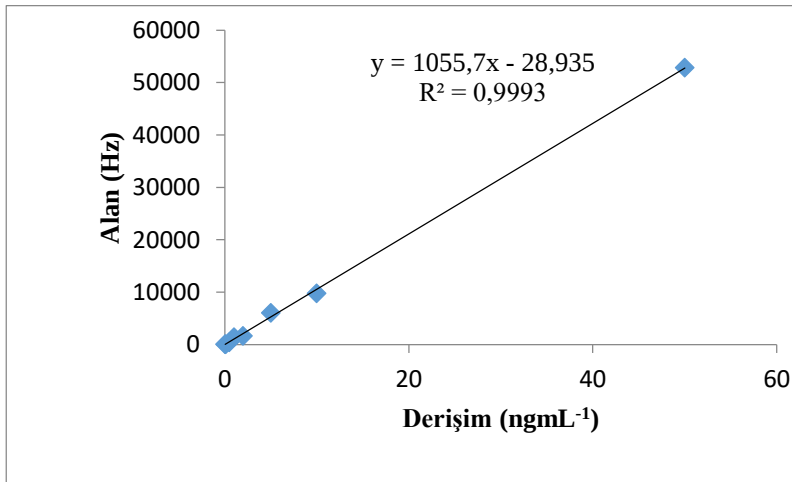
Şekil 3. 37 CP ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi



Şekil 3. 38 PRC ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi



Şekil 3. 39 BRP ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi



Şekil 3. 40 LMD ekstraksiyonundan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi

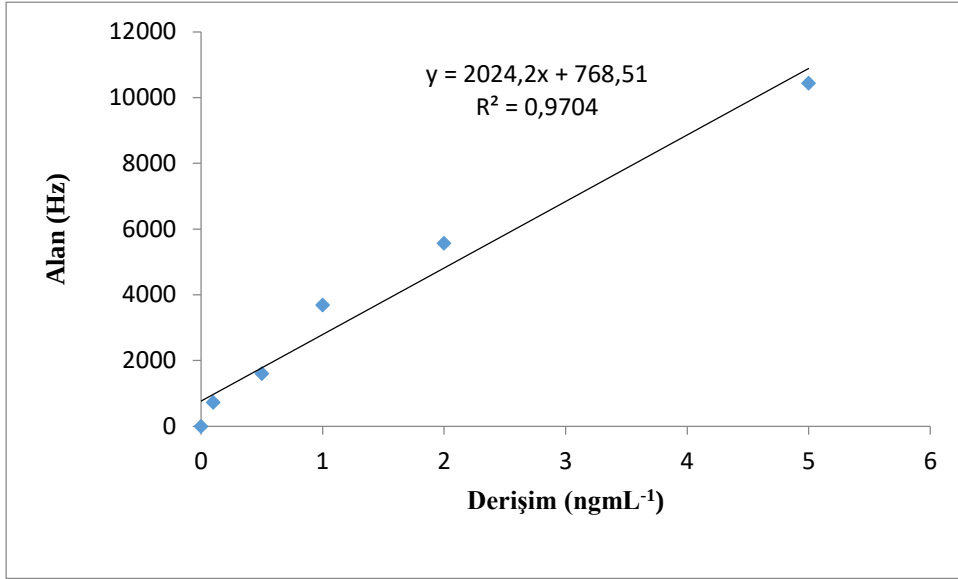
3.3.5 Ultraamino Partiküllü Polisiloksan Kaplama İçin Yötemin Analitik Özellikleri

Bu tez kapsamında geliştirilen TFE tekniğinin analitik karakteristikleri LOD, LOQ, tekrarlanabilirlik, doğrusallık gibi analitik parametreleri hesaplanmıştır ve elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde aşağıdaki Tablo 3.12 oluşturulmuştur.

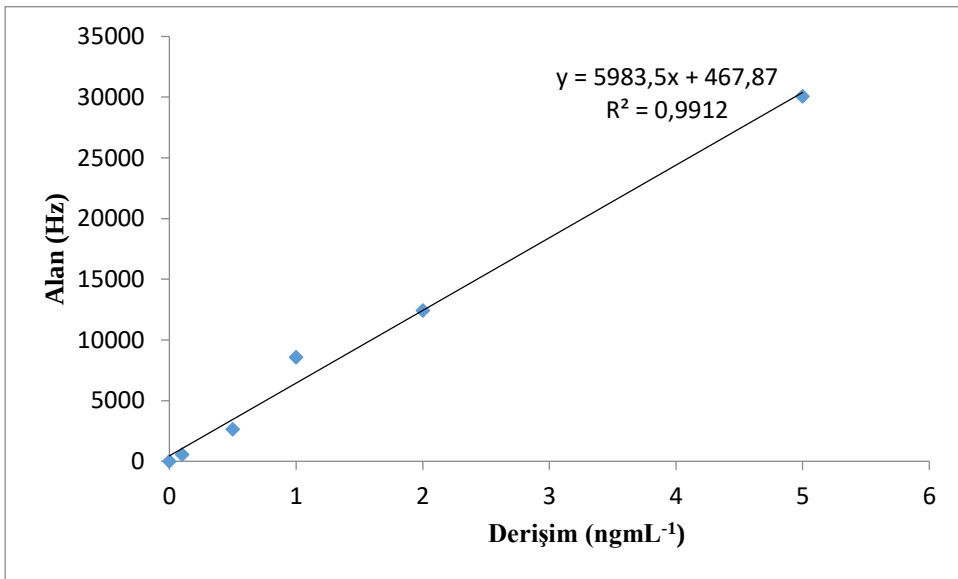
Tablo 3. 12 Ultraamino kaplı Polisiloksan kaplama kullanılarak elde edilen analitik karakterisitikler

| Analit | Lineer Denklem | Lineer Aralık (ngmL ⁻¹) | R ² | LOD (ngmL ⁻¹) | LOQ (ngmL ⁻¹) | RSD(%)
1.0 ng mL ⁻¹
(n=5) | RSD(%)
5.0 ng mL ⁻¹
(n=5) |
|------------|---------------------|-------------------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|--|--|
| | | | | | | Tüpler arası | Tüp içi |
| CP | 2024,2x
+ 768,51 | 0.1-5 | 0,9704 | 0,0530
8 | 0,175164 | 11.2 | 12 |
| BRP | 5983,5x
+ 467,87 | 0.1-5 | 0,9912 | 0,0976
27 | 3,221697 | 11.7 | 11.6 |
| LMD | 8663,6x
+ 64,187 | 0.5-5 | 0,9986 | 0,2734
82 | 0,90249 | 7.9 | 23.2 |

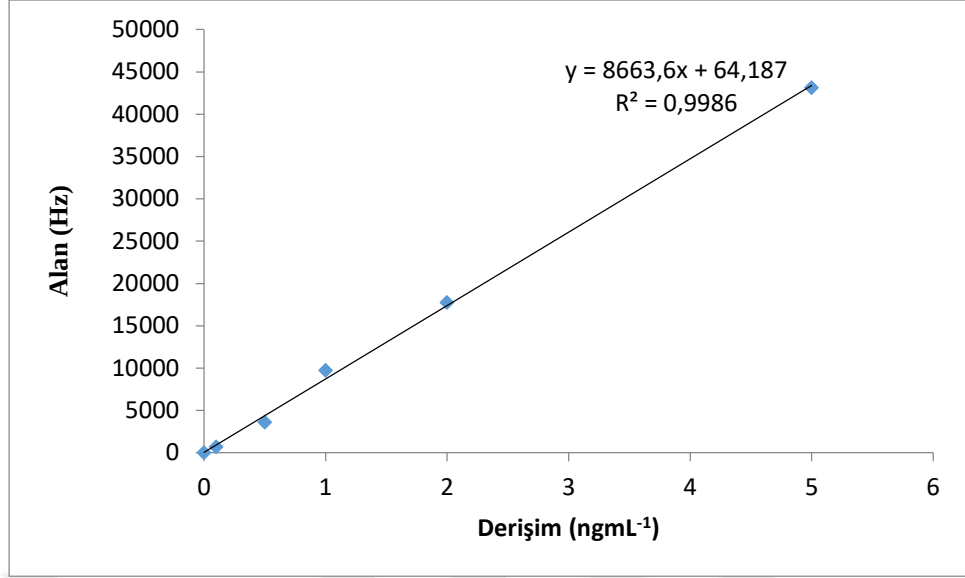
Geliştirilen bu yöntem kuyu suyu örneklerinde pestisit analizi için uygulanmıştır. Alınan 3 paralel örnekler üzerine standart katma yapılarak IFME prosedürü uygulanmış ve elde edilen standart katma eğrileri aşağıda verilmiştir (Şekil 3.41-Şekil 3.43). Ultraamino içeren polisiloksan kaplama içeren tüplerde kuyu suyu için 5 ng mL^{-1} standart katılmış örnekler için hesaplanan geri kazanım değerleri %95 ile %99 arasında bulunmuştur.



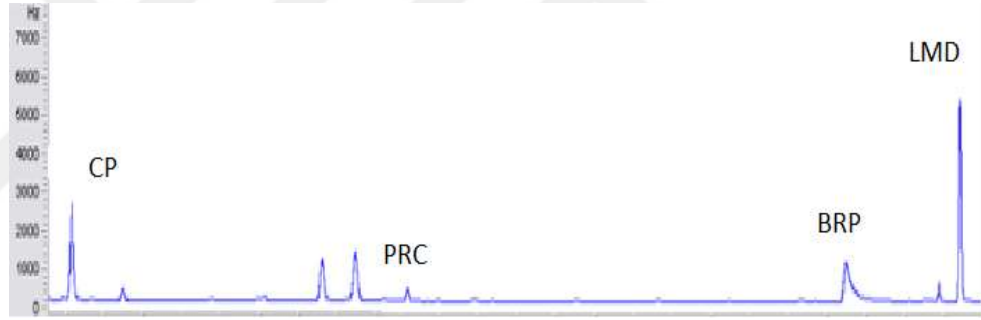
Şekil 3. 41 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde CP için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği



Şekil 3. 42 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde BRP için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği



Şekil 3. 43 TFE yöntemi ile hazırlanan kuyu suyu örneklerinde LMD için elde edilen standart katma kalibrasyon grafiği



Şekil 3. 44 TFE ekstraksiyonundan sonra ultraamino partiküllü polisiloksan kaplamada 10 ngmL⁻¹ derişimli CP, PRC, BRP, LMD için elde edilen kromatogram



4. TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında önerilen TFE yöntemi, su örneklerinde pestisitlerin saptanması için yeterli duyarlılığı koruyan ekonomik ve basitleştirilmiş bir ekstraksiyon ve temizleme prosedürüdür. Polisiloksan kaplamanın kullanıldığı ekstraksiyon tüplerinde zenginleştirme faktörleri sırasıyla CP, PRC, BRP ve LMD için 32, 2.0, 38, 46 olarak hesaplanmıştır. Ultraamino kaplama ile oluşturulan kaplamalarda ise deriştirme faktörleri 76, 13, 204, 389 olarak hesaplanmıştır. Bu tezde geliştirilen örnek hazırlama tekniğı ile özellikle apolar nitelikli pestisitlerin sinyali geliştirilmiştir. Bu gelişmiş yöntem, saha örnekleme çalışmalarına daha yeşil bir şekilde uygulanabilir.



KAYNAKLAR

An, Z.L., Chen, Y.H., Zhang RP., 2010, Integrated ionization approach for RRLCMS/MS-based metabonomics: finding potential biomarkers for lung cancer, *J. Proteome Res.*, 9(8), 4071–4081p.

Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., Schenck, F. J., 2003, Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC international*, 86(2), 412-431p.

Asati, A., Satyanarayana, G. N. V., Srivastava, V. T., Patel, D. K., 2018, Determination of organochlorine compounds in fish liver by ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of organic droplet coupled with gas chromatography-electron capture detection. *Journal of Chromatography A*, 1561, 20-27p.

Bajtarevic, A., Ager C., Pienz, M., 2009, Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath, *BMC Cancer*, 9, Innsbruck, Austria, 348-364p.

Bogialli, S., Curini, R., Di Corcia, A., Laganà, A., Nazzari, M., & Tonci, M., 2004, Simple and rapid assay for analyzing residues of carbamate insecticides in bovine milk: hot water extraction followed by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 351-357p.

Budak,Ş ve Dönmez,S., 2012, Gıda Biliminde Yeni Omik Teknolojileri, *Gıda*, 37 (3) ,Ankara, 173-179 s.

Bullinger, D., Fux, R., and Nicholson,G., 2008, Identification of urinary modified nucleosides and ribosylated metabolites in humans via combined ESI-FTICR MS and ESI-IT MS analysis, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 19(10),1500–1513p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Buszewski B, Olszowy P, Ligor T, Szultka M, Nowaczyk J, Jaworski M, Jackowski M., Development of novel molecularly imprinted solid-phase microextraction fibers and their application for the determination of antibiotic drugs in biological samples by SPME-LC/MSAnal Bioanal Chem. 397, 1, 173-179p.

Buszewski, B., Rudnicka J., Ligor T., 2012, Analytical and unconventional methods of cancer detection using odor, Trends in Anal. Chem., 38 1-12p.

Calderón-Santiago M., Priego-Capote F., Turck N., 2015, Human sweat metabolomics for lung cancer screening, Anal. Bioanal. Chem., 407, 5381-5392p.

Carmoa, Sângela Nascimento do., Meribb, Josias., Carasek, Eduardo., 2019, Bract as a novel extraction phase in thin-film SPME combined with 96-well plate system for the high-throughput determination of estrogens in human urine by liquid chromatography coupled to fluorescence detection, Journal of Chromatography B, 1118–1119 (2019), 17–24p.

Carrola, J., Rocha, C.M., Barros, A.S., 2011, Metabolic signatures of lung cancer in biofluids: NMR-based metabonomics of urine, J. Proteome Res., 10(1), 221–230p

Chen,X., Y,Ba., L,Ma., X,Cai., 2008, Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases, Cell Research ,18, 997-1006p.

Chishti, Z., Hussain, S., Arshad, K.R., Khalid, A., Arshad, M., 2013, Microbial degradation of chlorpyrifos in liquid media and soil. J. Environ. Manag. 114, 372–380p.

Costa, L.G., 2006, Current issues in organophosphate toxicology. 826 Clin. Chim. Acta 366, 1–13p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Cudjoe (a), E., Vuckovic, D., Hein, D., Pawliszyn, J., 2009, Investigation of the effect of the extraction phase geometry on the performance of automated solid-phase microextraction, *Anal. Chem.*, 81, 4226-4232p.

Cudjoe (b) E., Pawliszyn J., 2009, A new approach to the application of solid phase extraction disks with LC-MS/MS for the analysis of drugs on a 96-well plate format, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 50, 556p.

Das, S., Adhya, T.K., 2015, Degradation of chlorpyrifos in tropical rice soils. *J. Environ. Manag.* 152, 36–42p.

Deng, J., Yang, Y., Wang, X., Luan, T., 2014, Strategies for coupling solid-phase microextraction with mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 55, 55-67p.

Derbalah, A., Chidya, R., Jadoon, W., Sakugawa, H., 2018, Temporal trends in organophosphorus pesticides use and concentrations in river water in Japan, and risk assessment. *Journal of Environmental Sciences*.

Dizdaş, T.N., Pelit, F.O., Korba, K., Pelit, L., 2015, Preparation and Characterization of a Novel SolidPhase Microextraction Material for Application to the Determination of Pesticides”. *Analytical Letters*, DOI: 10.1080/00032719.2015.1033720

EPA., 2006, Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC

EPA., 2017, US Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/pesticides/about;2017>

Ewy, A., Math, A., Patterson, D., Haznadar, M., 2014, Noninvasive Urinary Metabolomic Profiling Identifies Diagnostic and Prognostic Markers in Lung Cancer, *Cancer Res.*, 74(12), 3259-3270p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Fang, H., Xiang, Y.Q., Hao, Y.J., Chu, X.Q., Pan, X.D., Yu, J.Q., Yu, Y.L., 2008, Fungal degradation of chlorpyrifos by *Verticillium* sp. DSP in pure cultures and its use in bioremediation of contaminated soil and pakchoi. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 61 (4), 294–303p.

FAO., 2003, International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides; FAO–Rome.

Ghorab, M.A., Khalil, M.S., 2015, Toxicological effects of organo-874 phosphates pesticides. *Inter. J. Environ. Monitor. Anal.* 3 (4), 875 218–220p

González-Curbelo, M. Á., Herrera-Herrera, A. V., Ravelo-Pérez, L. M., Hernández-Borges, J., 2012, Sample-preparation methods for pesticide-residue analysis in cereals and derivatives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 38, 32-51p.

Goto, T., Ito, Y., Oka, H., Saito, I., Matsumoto, H., Sugiyama, H., Nagase, H., 2005, The high throughput analysis of N-methyl carbamate pesticides in wine and juice by electrospray ionization liquid chromatography tandem mass spectrometry with direct sample injection into a short column. *Analytica chimica acta*, 531(1), 79-86p.

Greenberg, A.K., Lee, M.S. 2007, Biomarkers for lung cancer: clinical uses, *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 13, 249-255p.

H.K. Garg, 2014, Pesticides: Environmental Impacts and Management Strategies, Retrieved from <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/46083.pdf>.

Hakme, E., Lozano, A., Ferrer, C., Díaz-Galiano, F. J., Fernandez-Alba, A. R., 2018, Analysis of pesticide residues in olive oil and other vegetable oils. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 100, 167-179p.

Hanai, Y(a), Shimono,K., Oka,H., 2012, Analysis of volatile organic compounds released from human lung cancer cells and from the urine of tumor-bearing mice, *Cancer Cell International*, 12(7), 1-13p.

KAYNAKLAR (Devamı)

He, Xiao-Mei., Zhu, Gang-Tian., Yin, Jia., Zhao, Qin., Yuan, Bi-Feng., Qi Feng, Yu., 2014, Electrospun polystyrene/oxidized carbon nanotubes film as both sorbent for thin film microextraction and matrix for matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 290 (2018), 49–55p.

Hites, R. A., Foran, J. A., Carpenter, D. O., Hamilton, M. C., Knuth, B. A., Schwager, S. J., 2004, Global assessment of organic contaminants in farmed salmon. *Science*, 303(5655), 226-229.

Hoekstra, P. F., O'hara, T. M., Backus, S. M., Hanns, C., Muir, D. C. G., 2005, Concentrations of persistent organochlorine contaminants in bowhead whale tissues and other biota from northern Alaska: Implications for human exposure from a subsistence diet. *Environmental Research*, 98(3), 329-340p.

<http://www.alanwood.net/pesticides>.

Hutchinson, J.P., Setkova, L., Pawliszyn, J., 2007, Automation of solid-phase microextraction on a 96-well plate format, *J. Chromatogr. A*, 1149, 127p.

Jokanovic, M., Kosanovic, M., Brkic, D., Vukomanovic, P., 2011, 927 Organophosphate induced delayed polyneuropathy in man: an 928 overview. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 113, 7–10p.

Kosaka,N., Iguchi,H., Ochiya,T., 2010, Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis, *Cancer Sci.*,101(10), 2087–2092.

Lafuente, A.R., Mirnaghi, F.S., Pawliszyn, J., 2013, Determination of cocaine and methadone in urine samples by thin-film solid-phase microextraction and direct analysis in real time (DART) coupled with tandem mass spectrometry, *Anal Bioanal Chem.*, 405,9723–9727p.

KAYNAKLAR (Devamı)

LeDoux, M., 2011, Analytical methods applied to the determination of pesticide residues in foods of animal origin. A review of the past two decades. *Journal of chromatography A*, 1218(8), 1021-1036p.

Leonard, A. W., Hyne, R. V., Lim, R. P., Chapman, J. C., 1999, Effect of endosulfan runoff from cotton fields on macroinvertebrates in the Namoi River. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 42(2), 125-134p.

Li, Dan., Zou, Juan., Cai, Pei-Shan., Xiong, Chao-Mei., Ruan, Jin-Lan., 2016, Preparation of magnetic ODS-PAN thin-films for microextraction of quetiapine and clozapine in plasma and urine samples followed by HPLC-UV detection, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 125 (2016), 319–328p.

Li, N., Chen, J., Shi, Y. P., 2015, Magnetic graphene solid-phase extraction for the determination of carbamate pesticides in tomatoes coupled with high performance liquid chromatography. *Talanta*, 141, 212-219p.

Li, S., Lu, C., Zhu, F., Jiang, R., Ouyang, G., 2015, Preparation of C18 composite solid-phase microextraction fiber and its application to the determination of organochlorine pesticides in water samples. *Analytica chimica acta*, 873, 57-62p.

Liu, Feilong., Xu, Hui., 2017, Development of a novel polystyrene/metal-organic framework-199 electrospun nanofiber adsorbent for thin film microextraction of aldehydes in human urine, *Talanta*, 162 (2017), 261–267p.

Lord, H. L., 2007, Strategies for interfacing solid-phase microextraction with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1152(1-2), 2-13p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Mahpishanian, S., Sereshti, H., 2017, One-step green synthesis of β -cyclodextrin/iron oxide-reduced graphene oxide nanocomposite with high supramolecular recognition capability: Application for vortex-assisted magnetic solid phase extraction of organochlorine pesticides residue from honey samples. *Journal of Chromatography A*, 1485, 32-43p.

Marrs, T. C., 1993, Organophosphate poisoning. *Pharmacology & therapeutics*, 58(1), 51-66p.

Martínez-Domínguez, G., Plaza-Bolaños, P., Romero-González, R., Garrido-Frenich, A., 2014, Analytical approaches for the determination of pesticide residues in nutraceutical products and related matrices by chromatographic techniques coupled to mass spectrometry. *Talanta*, 118, 277-291p.

McKinlay, R., Plant, J. A., Bell, J. N. B., Voulvoulis, N., 2008, Endocrine disrupting pesticides: implications for risk assessment. *Environment international*, 34(2), 168-183p.

Mehdinia, A., Rouhani, S., Mozaffari, S., 2016, Microwave-assisted synthesis of reduced graphene oxide decorated with magnetite and gold nanoparticles, and its application to solid-phase extraction of organochlorine pesticides. *Microchimica Acta*, 183(3), 1177-1185p.

Mfarrej, M. F. B., Rara, F. M., 2019, Competitive, Sustainable Natural Pesticides. *Acta Ecologica Sinica*, 39(2), 145-151p.

Miler, J. N. ve Miler, J. C., 2012, Analitik Kimyacılar İçin İstatistik ve Kemometri.

Mirnaghi, F.S (a), Pawliszyn, J., 2012, Reusable Solid-Phase Microextraction Coating for Direct Immersion Whole-Blood Analysis and Extracted Blood Spot Sampling Coupled with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Direct Analysis in Real Time-Tandem Mass Spectrometry, *Anal. Chem.*, 84, 8301-8309p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Mirnaghi, F.S(b), Monton, M.R.N., Pawliszyn, J., 2012, Thin-film octadecyl-silica glass coating for automated 96-blade solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry for analysis of benzodiazepines, *Journal of Chromatography A*, 1246, 2–8p.

Mirnaghi, F.S. ,Mousavi, M., Rocha, S.M., Pawliszyn, J., 2013, Automated determination of phenolic compounds in wine, berry, grape samples using 96-blade solid phase microextraction system coupled with liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1276, 12–19p.

Mirnaghi, F.S., Chen, Y., Sidisky, L.M., Pawliszyn, J., 2011, Optimization of the Coating Procedure for a High-Throughput 96-Blade Solid Phase Microextraction System Coupled with LC_MS/MS for Analysis of Complex Samples, *Anal. Chem.*, 83, 6018–6025p.

MJ., Wu, G., Li, S., Tan, W., Wang, X., Li, J., Chen, L., 2018, Magnetic solid-phase extraction of heterocyclic pesticides in environmental water samples using metal-organic frameworks coupled to high performance liquid chromatography determination. *Journal of Chromatography A*, 1553, 57-66p.

Moein M.M (a), El-Beqqali A., Javanbakht M., 2014, On-line detection of hippuric acid by microextraction with a molecularly-imprinted polysulfone membrane sorbent and liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1372, 55–62p.

Moein M.M (b)., Jabbar D., Colmsjö A., 2014, A needle extraction utilizing a molecularly imprinted-sol–gel xerogel for on-line microextraction of the lung cancer biomarker bilirubin from plasma and urine samples, *Journal of Chromatography A*, 1366, 15–23p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Moein M.M (c), Javanbakht,M., Karimi, M., 2015, Three-phase molecularly imprinted sol–gel based hollow fiber liquid-phase microextraction combined with liquid chromatography–tandem mass spectrometry for enrichment and selective determination of a tentative lung cancer biomarker, „Journal of Chromatography B, 995–996 (2015), 38–45p.

Munaretto, J. S., Ferronato, G., Ribeiro, L. C., Martins, M. L., Adaime, M. B., Zanella, R., 2013, Development of a multiresidue method for the determination of endocrine disrupters in fish fillet using gas chromatography–triple quadrupole tandem mass spectrometry. Talanta, 116, 827-834p.

Okçu, F., 2009, Voltammetric And Chromatographic Method Development for Pesticide Residues in wine Sample

Ouyang, G., Vuckovic, D., Pawliszyn, J., 2011, Nondestructive sampling of living systems using in vivo solid-phase microextraction. Chemical Reviews, 111(4), 2784-2814p.

Özkara, H., 2008, Gelişen klinik biyokimya: metabolomik, Hacettepe Tıp Dergisi, 39, 4-8s.

Pawliszyn, J., Arthur, C.L., 1990, Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers, Anal. Chem., 62, 2145p.

Pazou, E. Y. A., Boko, M., Van Gestel, C. A., Ahissou, H., Lalèyè, P., Akpona, S., van Straalen, N. M., 2006, Organochlorine and organophosphorous pesticide residues in the Ouémé River catchment in the Republic of Bénin. Environment International, 32(5), 616-623p.

Pelit, F. O., Pelit, L., Ertas, H., Ertas, F. N., 2012, Development of a gas chromatographic method for the determination of Chlorpyrifos and its metabolite Chlorpyrifos-oxon in wine matrix. Journal of Chromatography B, 904, 35-41p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Pelit, F. O., Yengin, Ç., 2014, Application of solidified floating organic drop microextraction method for biomonitoring of chlorpyrifos and its oxon metabolite in urine samples. Journal of Chromatography B, 949, 109-114p.

Pesticides, 2008. Retrieved from World Health Organization: <http://www.who.int/ceh/capacity/Pesticides.pdf>

Primel, E. G., Caldas, S. S., Marube, L. C., Escarrone, A. L. V., 2017, An overview of advances in dispersive liquid–liquid microextraction for the extraction of pesticides and emerging contaminants from environmental samples. Trends in Environmental Analytical Chemistry, 14, 1-18p.

Reinecke, S.A., Reinecke, A.J., 2007, The impact of organophosphate pesticides in orchards on earthworms in the Western Cape, South Africa. Ecotoxicol. Environ. Saf. 66, 244–251p.

Revankar, P.R., Shyama, S.K., 2009, Genotoxic effects of monocrotophos, an organophosphorous pesticide, on an estuarine bivalve, Meretrix ovum. Food Chem. Toxicol. 47, 1618–1623p.

Risticevic, S., Niri, V., Vuckovic, D., Pawliszyn, J., 2009, Recent developments in solid-phase microextraction, Anal. Bioanal. Chem., 393, 781-795p,

Ross, C., Pawliszyn J., 2005, Extraction Solid-Phase Microextraction Encyclopedia of Analytical Science, 608-616p.

Sajid, M., Basheer, C., & Mansha, M., 2016, Membrane protected micro-solid-phase extraction of organochlorine pesticides in milk samples using zinc oxide incorporated carbon foam as sorbent. Journal of Chromatography A, 1475, 110-115p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Samsidar, A., Siddiquee, S., Shaarani, S. M., 2018, A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. Trends in food science & technology, 71, 188-201p.

Sandoval Riofrio, M. A., 2017, Extraction of Phorbol Esters (PEs) from Pinion cake using computationally-designed polymers as adsorbents for Solid Phase Extraction (Doctoral dissertation, Department of Chemistry).

Schmidt, K., Podmore, I., 2015, Current challenges in volatile organic compounds analysis as potential biomarkers of cancer. Journal of biomarkers

Schwack, W., Bourgeois, B., Walker, F., 1995, Fungicides and photochemistry photodegradation of the dicarboximide fungicide procymidone. Chemosphere, 31(9), 4033-4040p.

Shen, H. 2008, Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery, Clin. Cancer Research ,14(19), USA, 6246-6252p.

Shi, Z., Hu, J., Li, Q., Zhang, S., Liang, Y., Zhang, H., 2014, Graphene based solid phase extraction combined with ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for carbamate pesticides analysis in environmental water samples. Journal of Chromatography A, 1355, 219-227p.

Simon, D., Helliwell, S., Robards, K., 1998. Analytical chemistry of chlorpyrifos and diuron in aquatic ecosystems. Anal. Chim. Acta 360 (3), 1–16p.

Snyder, S. A., Westerhoff, P., Yoon, Y., Sedlak, D. L., 2003, Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: implications for the water industry. Environmental engineering science, 20(5), 449-469p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Songa, Aiyang., Wangb, Jiankang., Lub, Gongxuan., Jiaa, Zongping., Yanga, Jing., Shia, Enlin., 2018, Oxidized multiwalled carbon nanotubes coated fibers for headspace solid-phase microextraction of amphetamine-type stimulants in human urine, *Forensic Science International*, 290 (2018), 49–55p.

Tahboub, Y. R., Zaater, M. F., & Barri, T. A., 2006, Simultaneous identification and quantitation of selected organochlorine pesticide residues in honey by full-scan gas chromatography–mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 558(1-2), 62-68p.

Tang vd., 2019, Metabolomics workflow for lung cancer: Discovery of biomarkers, *Clinica Chimica Acta*, 495(2019), China, 436-445p.

Tette, P. A. S., Guidi, L. R., de Abreu Glória, M. B., Fernandes, C., 2016, Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*, 149, 124-141p.

Tuzimski, T., 2018, Herbicides and Pesticides Tomasz Tuzimski, Medical University of Lublin, Lublin.

Vanelslander, B., Paul, C., Grueneberg, J., Prince, E. K., Gillard, J., Sabbe, K.,Vyverman, W., 2012, Daily bursts of biogenic cyanogen bromide (BrCN) control biofilm formation around a marine benthic diatom. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(7), 2412-2417p.

Vanni, A., Gamberini, R., Calabria, A., Nappi, P., 2000, Determination and identification of metabolites of the fungicides Iprodione and Procymidone in compost. *Chemosphere*, 41(9), 1431-1439p.

Vatinno, R., Vuckovic, D., Zambonin, C.G., Pawliszyn, J., 2008, Automated high-throughput method using solid-phase microextraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of ochratoxin A in human urine, *J. Chromatogr. A*, 1201, 215-221p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Virgiliou, Christina., Sampsonidis, Ioannis., Gika, Helen G., Raikos, Nikolaos., A. Theodoridis, Georgios., 2015, Development and validation of a HILIC-MS/MS multitargeted method for metabolomics applications, *Electrophoresis*, 36, 2215-2225p.

Vuckovic, D., Cudjoe, E., Hein, D., Pawliszyn, J., 2008, Automation of Solid-Phase Microextraction in High-Throughput Format and Applications to Drug Analysis, *Anal. Chem.*, 80, 6870–6880p.

Vuckovic, D., Pawliszyn, J., 2009, Automated study of ligand-receptor binding using solid-phase microextraction, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 50, 550-555p.

Vuckovic, D., Risticevic, S., & Pawliszyn, J., 2011, In vivo solid-phase microextraction in metabolomics: opportunities for the direct investigation of biological systems. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(25), 5618-5628p.

Wang, W., Li, Z., Zhang, S., Yang, X., Zang, X., Wang, C., & Wang, Z., 2019, Triazine-based porous organic framework as adsorbent for solid-phase microextraction of some organochlorine pesticides. *Journal of Chromatography A*.

Wang, W., Wang, W., Zhang, S., Li, Z., Wang, C., Wang, Z., 2018, Hyper-crosslinked polymer nanoparticles as the solid-phase microextraction fiber coating for the extraction of organochlorines. *Journal of Chromatography A*, 1556, 47-54p.

Wang, X., Cheng, J., Zhou, H., Wang, X., & Cheng, M., 2013, Development of a simple combining apparatus to perform a magnetic stirring-assisted dispersive liquid–liquid microextraction and its application for the analysis of carbamate and organophosphorus pesticides in tea drinks. *Analytica chimica acta*, 787, 71-77p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Wu, J., Mullet, W.M., Pawliszyn, J., 2002, Electrochemically Controlled Solid-Phase Microextraction Based on Conductive Polypyrrole Films, *Anal. Chem.*, 74, 4855–4859p.

Wu, J., Pawliszyn, J., 2001, Preparation and applications of polypyrrole films in solid-phase microextraction, *Journal of Chromatography A*, 909(1), 37–52p.

Wu, M., Chen, G., Liu, P., Zhou, W., Jia, Q., 2016, Preparation of porous aromatic framework/ionic liquid hybrid composite coated solid-phase microextraction fibers and their application in the determination of organochlorine pesticides combined with GC-ECD detection. *Analyst*, 141(1), 243-250p.

Wu, Q., Yu, X., Wang, Y., 2014, Pressurized CEC coupled with QTOF-MS for urinary metabolomics, *Electrophoresis*, 35, 2470–2478p.

www.npic.orst

Yadav, M., Shukla, A.K., Srivastva, N., Upadhyay, S.N., Dubey, S.K., 2016, Utilization of microbial community potential for removal of chlorpyrifos: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.* 36 (4), 727–742p.

Yang, Q., Shi, X., Wang, Y., 2010, Urinary metabonomic study of lung cancer by a fully automatic hyphenated hydrophilic interaction/RPLC-MS system, *J. Sep. Sci.*, 33(10), 1495–1503p.

Zhao, M., Zhang, Y., Liu, W., Xu, C., Wang, L. and Gan, J., 2008, Estrogenic activity of lambda-cyhalothrin in the MCF-7 human breast carcinoma cell line, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(5): 1194-1200 p.

Zhou X., Wang X., 2015, Klotho: a novel biomarker for cancer, *J cancer Res. Clin. Oncol.*, 141, 961-969p.

KAYNAKLAR (Devamı)

Zielińska, K., Van Leeuwen, H. P., Thibault, S., & Town, R. M.,
2012, Speciation analysis of aqueous nanoparticulate diclofenac complexes
by solid-phase microextraction. Langmuir, 28(41), 14672-14680p.





TEŞEKKÜR

Öncelikle bana bu çalışma boyunca yol gösteren desteğini ve sabrını esirgemeyen Danışmanım Doç.Dr. Füsun PELİT'e gönülden teşekkür etmek isterim.

Çalışma arkadaşlarım olan Yüksek Lisans öğrencileri İlknur Bağatır Erbaş ve Ebru Çalkan'a yardımlarından dolayı teşekkür etmek isterim.

Hayatım boyunca ve aynı zamanda bu çalışma boyunca bana maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme, annem Azize'ye, babam Orhan'a ve ablam Hilal'e teşekkür etmek isterim.

Son olarak bu çalışma boyunca bana psikolojik destek olan, beni motive eden sevgili nişanlım Melis Kösen'e teşekkür etmek isterim.

Fethullah BAYRAM

2019, İZMİR



ÖZGEÇMİŞ

İsim:Fethullah

Soyadı: BAYRAM

Doğum Tarihi ve yeri: 21 Mart 1992, Çaycuma, TÜRKİYE

İletişim: fethullahbayramfb@gmail.com

Eğitim:

Yükseklisans: Ege Üniversitesi, Analitik Kimya, 2017-2019

Lisans: Ege Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2010-2017

GÖREV ALDIĞIM ÇALIŞMALAR:

2017-2019 Klinik Örneklerde Biyomarker Profilinin Belirlenmesi İçin 96 lık İnce Film Mikroözütleme Çubuklarının Geliştirilmesi ve Üretimi (TUBİTAK Araştırma Projesi)

KURS, SEMİNER,PROJELER,YAYINLAR,ÖDÜLLER

- ISO 9001 : 20015 Kalite Yönetim Sistemi
- ISO 17025 : 2015 Deney Ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği
- GMP : İyi Üretim Uygulamaları
- GLP : İyi Laboratuvar Uygulamaları
- Yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) Başarı Sertifikalı
- Gaz Kromatografisi- (GC) Başarı Sertifikalı
- 9-11 MAYIS 2018 8th BBCAC 2018 kongresinde Development of Thin Film in Tube Extraction Method for the Analysis of Endocrine Disruptor Pesticides konulu Poster sunumu



EKLER**Ek 1 :**Ultraamino kaplı tüplerde Box-Behnken sonucu elde edilen denklemden hesaplanan gözlenen (observed) ve tahminlenen (Predicted) değerleri

| CP | | PRC | | BRP | | LMD | |
|-------------------|----------------------|-------------------|----------------------|-------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
| Gözlenen değerler | Tahminlenen değerler | Gözlenen değerler | Tahminlenen değerler | Gözlenen değerler | Tahminlenen değerler | Gözlenen değerler | Tahminlenen değerler |
| 10393 | 11078 | 885 | 898 | 11454 | 14307 | 8185 | 15150 |
| 9816 | 11820 | 960 | 990 | 11633 | 14962 | 11685 | 15659 |
| 10043 | 11820 | 1032 | 1019 | 14566 | 14962 | 12267 | 18686 |
| 11232 | 11756 | 1117 | 1086 | 15278 | 14962 | 14530 | 18686 |
| 11437 | 11820 | 1100 | 1215 | 14566 | 14962 | 18164 | 18686 |
| 12565 | 11820 | 1201 | 1215 | 16729 | 14419 | 20436 | 15357 |
| 12585 | 12837 | 1250 | 1216 | 18292 | 14962 | 23703 | 18686 |
| 13537 | 13012 | 1258 | 1275 | 20992 | 19578 | 23571 | 21684 |
| 14458 | 13521 | 1356 | 1342 | 20476 | 21890 | 24768 | 18686 |
| 15242 | 11820 | 1428 | 1216 | 22642 | 23185 | 25757 | 27643 |
| 15121 | 13911 | 1458 | 1455 | 28091 | 32358 | 28892 | 27787 |
| 15917 | 15644 | 1470 | 1484 | 28518 | 30828 | 36901 | 38005 |
| 15473 | 16409 | 1540 | 1512 | 31259 | 28405 | 37898 | 43759 |
| 23010 | 22325 | 1554 | 1537 | 32808 | 32265 | 39356 | 38778 |
| 23081 | 22829 | 1810 | 1812 | 40469 | 36744 | 42753 | 44434 |