

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİK MATERYALLERİN SPEKTROSKOPİK ANALİZİNE
YÖNELİK EKSTRAKSİYON TEKNİKLERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

Sinan KENDİR

**Danışman
Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2018**



© 2018 [Sinan KENDİR]

TEZ ONAYI

Sinan KENDİR tarafından hazırlanan "**Biyolojik Materyallerin Spektroskopik Analizine Yönelik Ekstraksiyon Teknikleri Üzerine Çalışmalar**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuş ve oy çokluğu ile kabul edilmiştir (Prof.Dr. Samim YAŞAR tarafından şerh konulmuştur).

Danışman **Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ**
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi **Prof. Dr. Samim YAŞAR**
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Jüri Üyesi **Prof. Dr. Bülent DEDE**
Süleyman Demirel Üniversitesi



Enstitü Müdürü **Doç. Dr. Şule Sultan UĞUR**



TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Sinan KENDİR



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGE DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Pestisitler	1
1.2. Standart Maddeler.....	5
1.2.1. Azinfosmetil.....	5
1.2.2. Klorprifos.....	5
1.2.3. Monokrotofos.....	7
1.3.GC-MS	7
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	18
2.1.Pestisit Analiz Yöntemleri	18
2.2. Quechers Metodu.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar ve Reaktifler	22
3.2. Kullanılan Cihazlar	23
3.2.1. Kromatoğrafik cihaz:.....	23
3.2.2. Laboratuvar cihazları:.....	24
3.3 Deneysel Bölüm	24
3.3.1 Çözeltilerin hazırlanması;	24
3.3.2 Biyolojik materyallerin hazırlanması	25
3.3.3 Deneyin yapılışı.....	25
3.3.4 Numunelerin GC-MS cihazına verilmek üzere hazırlanması.....	26
3.3.5 Agilent GC-MS(5975 GC-7890MSD) metodu	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	27
4.1 Azinfosmetil.....	27
4.2 Klorprifos.....	28
4.3 Monokrotofos	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	30
5.1 Azinfosmetil.....	30
5.2. Klorprifos.....	31
5.3 Monokrotofos.....	32
KAYNAKLAR	36
EKLER.....	40
EK A. Azinfosmetil Kromatogramları.....	40
EK B. Klorprifos Kromatogramları.....	47
EK C. Monokrotofos Kromatogramları.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	61

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİYOLOJİK MATERYALLERİN SPEKTROSKOPİK ANALİZİNE YÖNELİK EKSTRAKSİYON TEKNİKLERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Sinan KENDİR

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ

Biyolojik materyallerde (kan, idrar, mide içeriği, organ, göz içi sıvısı, safra gibi) kompleks teşkil eden çeşitli kirlilikler (yağ, parçalanmamış protein, matriks gibi) tespit etmeye çalıştığımız kimyasal maddelerin GC-MS ile analizlerinde iyonların baskılanması ve görüntülenememesi gibi çeşitli sorunlara neden olmaktadır. Bu çalışmada “farklı iki ekstraksiyon tekniği kullanılarak biyolojik materyallerin saflaştırılmasında istenmeyen büyük moleküllü yağ ve benzeri kirliliklerin kimyasal madde kaybına neden olmadan uzaklaştırılması, maliyet giderlerinin ve analiz süresinin azaltılması” hedeflendi.

Pestisitler, zararlı organizmaları yok etmek veya etkilerini azaltmak için geliştirilmiştir. Ancak etkileri yalnızca zararlı organizmalar ile sınırlı kalmayıp insanlar ve hayvanlar üzerinde sağlık sorunlarına neden olabilmekte ve çevreyi olumsuz etkilemektedir. Ayrıca, pestisit intoksikasyon vakalarının Adli Tıp Laboratuvarlarında sistematik toksikolojik analizleri yapılırken pestisit etken maddelerine en çok mide içeriğinde rastlanmaktadır. Bu yüzden mide içeriğindeki kirliliklerin ve matriks etkisinin giderilmesi önem arz etmektedir. Quechers metodu yüksek hassasiyeti, pratikliği ve seçiciliği nedeniyle tercih edilmiştir. Alınan 1,7 mL mide içeriği örneklerine 100 ppm lik, 100 µL Azinfosmetil, Klorprifos ve Monokrotofos pestisit standartları ilave edilmiştir. Asetonitrilde çözülmüş %1 lik asetik asit çözeltisinden 2 mL ve 1 mg Quechers ekstraksiyon tuzu(Q 150-AOAC metodu) NaOAC-MgSO₄ eklenerek yapılan ekstraksiyon işleminden elde edilen numunelerin GC-MS analiz sonuçlarıyla aynı şekilde hazırlanan mide içeriği örneklerinin 2 mL 1/3 etilasetat/hekzan çözeltisiyle sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen analiz sonuçları karşılaştırıldığında; Quechers metoduyla yapılan ekstraksiyonların çoğunluğunda bağıl bolluk ve benzeşme oranlarında artış tespit edilmiştir. Aynı şekilde Quechers metodu ile sıvı-sıvı çekitleme metodunun yağ asit oranları açısından karşılaştırılmasında Quechers metodundaki yağ asit oranlarının düşük olduğu gözlemlenmiştir. Tüm analiz verileri birlikte değerlendirildiğinde; Quechers ekstraksiyon yönteminin genel olarak sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminden daha hassas değerler verdiği ve daha temiz ekstraktlar elde edildiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Quechers, Pestisit, GC-MS, Azinfosmetil, Klorprifos, Monokrotofos, Ekstraksiyon

2018, 61 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

STUDIES on EXTRACTION TECHNIQUES for SPECTROSCOPIC ANALYSIS of BIOLOGICAL MATERIALS

Sinan KENDİR

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Chemistry**

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ

Fatty acids, unweathered proteins and the matrix of biological samples (blood, urine, stomach content, organ, eye fluid, bile etc.) cause ion suppression and we can not screen analytes in GC/MS analysis. In this study, removal of unwanted large fat molecules and similar impurities during purification of biological materials via two different extraction techniques without chemical substance loss; lowering the costs and shortening the analysis periods were aimed.

Pesticides are developed to destroy harmful organisms or to reduce their effects. However, the effects of pesticides are not limited with harmful organisms, they also cause health issues on human beings and animals and adversely affect environment. Moreover, when we investigate pesticide intoxication files in Forensic Laboratories pesticides are found especially in stomach contents. Hence, the removal of impurities and matrix effect in stomach contents is vital. Quechers method is chosen for high sensitivity, practicality and selectivity.

100 µL of 100 ppm Azinphos-methyl, Chlorpyrifos and Monocrotophos standards are spiked at 1,7 mL of stomach contents. Quechers extraction was done by adding 2 mL of 1 % acetic acid solution in acetonitrile and 1 mg of Quechers extraction salt (Q 150-AOAC method) NaOAC-MgSO₄. Liquid-liquid extraction was done by adding 2 mL of ethyl acetate-hexane (1:3, v/v) solution to the stomach contents. When GC/MS analysis results of two procedures are compared, an increase in the abundance and similarity ratios were detected in most of the extractions which are carried out via Quechers method. Comparison of fatty acid rates between Quechers method and liquid-liquid extraction method revealed that the rates in Quechers method was lower than the other method. When all data are evaluated together, it can be concluded that Quechers extraction method is more sensitive than liquid-liquid extraction method and Quechers method leads to cleaner extracts.

Keywords: Quechers, Pesticide, GC-MS, Azinphos-methyl, Chlorpyrifos, Monocrotophos, Extraction

2018, 61 pages

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ yönetiminde gerçekleştirilmiştir. Yüksek lisans eğitimim süresince, desteğini esirgemeyen kıymetli Danışman Hocam Prof. Dr. Ahmet Hakan AKTAŞ'a ve Prof. Dr. Mustafa CENGİZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Kurum imkanlarını istifademize sunarak araştırmanın yürütülmesine imkan sağlayan Adli Tıp Kurumu Başkanı Doç. Dr. Yalçın BÜYÜK'e , Prof. Dr. Sema DEMİRÇİN, Dr. İsmail KAHVECİ, Kim. Kemal KAPLAN ve Akdeniz Üniversitesi Araş.Gör. Dr Güven AKÇAY'a teşekkür ederim.

4197-YL1-14 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Hayatımı anlamlı kılan aileme, teşekkürlerimi sunarım.

Sinan KENDİR
ISPARTA, 2018

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.3. 1 Enjeksiyon Bloğu çalışma sistemi	11
Şekil 1.3. 2 Hidrodamıtma ile elde edilen Lippia alba esansiyel yağının toplam iyon akım kromatogramları.	12
Şekil 1.3. 3 Etil benzoatın GC-MS cihazıyla DB-5MS apolar kapiler kolonda elde edilen kromatografik piki.	13
Şekil 1.3. 4 GC-MS cihazının şematik gösterimi	17
Şekil 3.2.1. 1 Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi	23
Şekil 5. 1 Azinfos metil bağıl bolluk ve benzeşme oranı.....	31
Şekil 5. 2 Klorprifos bağıl bolluk ve benzeşme oranı.....	32
Şekil 5. 3 Monokrotofos bağıl bolluk ve benzeşme oranı.....	33
Şekil A.1.1. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	40
Şekil A.1.1. 2 Azinfosmetil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	40
Şekil A.1.1. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı	40
Şekil A.1.1. 4 Azinfosmetil quechers ekstraksiyon spektrumu.....	41
Şekil A.1.2. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	41
Şekil A.1.2. 2 Azinfosmetil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	41
Şekil A.1.2. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı	42
Şekil A.1.2. 4 Azinfos metil quechers ekstraksiyon spektrumu.....	42
Şekil A.1.3. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	42
Şekil A.1.3. 2 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	43
Şekil A.1.3. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı	43
Şekil A.1.4. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	44
Şekil A.1.4. 2 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	44
Şekil A.1.4. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı	44
Şekil A.1.4. 4 Azinfos metil quechers ekstraksiyon spektrumu.....	45
Şekil A.1.5. 1Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	45
Şekil A.1.5. 2 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	45
Şekil A.1.5. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı	46
Şekil A.1.5. 4 Azinfos metil quechers ekstraksiyon spektrumu.....	46
Şekil B.2.1. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	47
Şekil B.2.1. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	47
Şekil B.2.1. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	47
Şekil B.2.1. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	48
Şekil B.2.2. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	48
Şekil B.2.2. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	48
Şekil B.2.2. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	49
Şekil B.2.2. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	49
Şekil B.2.3. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	49
Şekil B.2.3. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	50
Şekil B.2.3. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	50
Şekil B.2.3. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	50
Şekil B.2.4. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	51
Şekil B.2.4. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	51
Şekil B.2.4. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	51
Şekil B.2.4. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	52
Şekil B.2.5. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	52

Şekil B.2.5. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	52
Şekil B.2.5. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	53
Şekil B.2.5. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	53
Şekil C.3.1. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	54
Şekil C.3.1. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	54
Şekil C.3.1. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	54
Şekil C.3.1. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	55
Şekil C.3.2. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	55
Şekil C.3.2. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	55
Şekil C.3.2. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	56
Şekil C.3.2. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	56
Şekil C.3.3. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	56
Şekil C.3.3. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	57
Şekil C.3.3. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	57
Şekil C.3.3. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	57
Şekil C.3.4. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	58
Şekil C.3.4. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	58
Şekil C.3.4. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	58
Şekil C.3.4. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	59
Şekil C.3. 5. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı	59
Şekil C.3.5. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu.....	59
Şekil C.3.5. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı.....	60
Şekil C.3.5. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu.....	60

ÇİZELGE DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3. 1 Kullanılan kimyasalların ve reaktiflerin isimleri, molekül yapıları, molekül ağırlıkları, saflık yüzdeleri ve üretildiği firmalar	22
Çizelge 4. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ve quechers ekstraksiyonlarının bağıllık ve benzeşme oranı değerleri	27
Çizelge 5. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ve quechers ekstraksiyonlarının bağıllık ve benzeşme oranı değerleri	28
Çizelge 4. 3 Monokrotofos sıvı-sıvı ve quechers ekstraksiyonlarının bağıllık ve benzeşme oranı değerleri	29



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DDT	Dikloro Difenil Trikloroetan
dk	Dakika
ECD	Elektron Yakalama Dedektörü
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FPD	Alev Fotometrik Dedektör
GC-MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi
LC	Sıvı Kromatografisi
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
mg	miligram
mL	mililitre
MS	Kütle Spektrometrisi
MSD	Kütle Seçici Dedektör
NPD	Azot-Fosfor Dedektör
Ppb	Milyarda bir (μL çözünen/kg veya litre çözelti)
ppm	Milyonda bir (mL çözünen/kg veya litre çözelti)
Ptfe	Politetrafloroetilen
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SIM	Moleküle Özgü İyonları Tespit Etme
SPME	Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu)
TCD	Isısal İletkenlik Dedektörü
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
TOF	Uçuş Zamanı
TQ	Üçlü Quadrupole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XSD	Halojen Spesifik Dedektör
μL	mikrolitre
μm	mikrometre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Cinsinden Sıcaklık Birimi

1. GİRİŞ

1.1. Pestisitler

Tüm maddeler üzerinde yaşayabilen ve besin maddelerinin hazırlanması, üretimi, tüketilmesi veya depolanması esnasında onların besin değeri ve kalitelerini azaltarak veya bozulmalarına sebep olan her türlü kemirici, böcek, yabani ot, parazit, mantar, vb. canlılara verilen ortak ada pes denir. Pesleri yok etmek için kullanılan kimyasal, fiziksel veya biyolojik savaşanlara ise pestisitler denir (Vural,2005).

Tarımda ve halk sağlığına zarar veren mikroorganizmalar ve diğer pestlerin kontrolünde yüzyıllardır kimyasalar kullanılmaktadır. Pestisitlerin kullanımı çok eski tarihlere kadar gitmektedir. İnsektisitlerin hazırlanışına dair kayıtlar M.Ö. 1500'lere ait bir papirüs üzerinde bit, pire ve eşek arılarına karşı bulunmuştur. Zararlılara karşı inorganik pestisitler 19.yy'da kullanılmıştır. Pestisit üretiminde organik kimyadan faydalanılması 1940'lardan sonrasına rastlamaktadır. DDT ve diğer çok bilinen insektisit ve herbisitlerin keşfi de bu zamanlara denk gelmektedir. Bugüne kadar 6000 kadar sentetik bileşik patent almıştır. Bunların ancak 600 kadarı ticari kullanım olanağı bulmuştur. Pestisitler, etkili maddelerinin kökenlerine göre doğal organik, inorganik ve sentetik organik maddeler olmak üzere üç gruba ayrılır. İlk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisitlerin kalıntılarının bulunmasıyla pestisit kalıntılarının önemi anlaşılmıştır. Ülkemizde 1959 yılından beri birçok pestisit kalıntı analiz çalışmaları yapılmıştır (Durmuşoğlu ve Çelik. 2001; Delen vd.2005 ; Durmuşoğlu vd.2010; Tiryaki O., 2013; Tiryaki vd. 2010).

Pestisitlerin bir kısmı toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmaz. Bazılarında ise sinir sistemini etkileyici, kanserojen ve hatta mutasyon oluşturunca etkiler tespit edilmiştir (Karaca vd.2005). Gıdalar pestisit kalıntılarının en önemli kaynağıdır. Yaşamın temel ihtiyacı gıdadır. Nüfusun artmasıyla artan gıda ihtiyacının karşılanabilmesi için tarım alanındaki verimin artırılması ve bu amaçla zirai

mücadele ilaçları (pestisitler) ve gübreler yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Gıdalarda koruma amaçlı olarak pestisitler kullanılmaktadır. Doğada kalıcı olan ve toksitesi yüksek bu türlerin fazla miktarda ya da kontrolsüz kullanımı; çevre kirliliğine, ciddi akut ve kronik sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Yarsan E., 2015).

Pestisitlerin verimliliklerinin artırılması hususunda önemli mesafeler alınmıştır. Kullanımı ile ilgili belirli kıstaslar getirilmiş olsa da, uygulanmalarının ardından yetiştirilen ürünlerin bekleme süresi dolmadan toplanması ve tüketime sunulması sonucunda besin zincirinde kalıntı olarak pestisitler yerini almaktadırlar. Toprakta kalıntı halinde bulunan pestisitlerin yağmur ve sulama suları vasıtasıyla yeraltı sularını kirllettikleri gözlemlenmiştir. Hedef organizmaya seçici etkinlik gösterememesi neticesinde organizma dışındaki diğer canlılarda da pestisitler ölüme kadar olan çeşitli hastalıklara yol açabilmektedirler. Gıdalarda kullanılmaları ve insanlar tarafından tüketilmeleri sonucunda insanlarda yaygın hastalıklara ve istenmeyen durumlara sebep olabilirler. Pekçok pestisit türünün insanlar üzerinde genotoksik etkileri olduğu da bilinen bir gerçektir.

Pestisitlerin kronik etkilerine maruz kalan çiftçilerle yapılan araştırmalarda; karaciğer, böbrek ve kaslarda bozukluklar görülmesinin yanında birçok genetik hasara da rastlanmıştır. Fetal dönemden itibaren pestisitlerin canlılar üzerindeki etkisi başlamaktadır. Bunların toksik kalıntılarının fetüse geçmesiyle düşükler, renk ve cilt bozukluğu bulunan çocuk doğumları meydana gelmektedir. Radyoaktif olarak işaretlenip kobay anneye verilen pestisit 5 saat sonra plasentadan fetüse geçtiği ve fetüsün göz sinir sistemi ve karaciğerde yerleştiği tespit edilmiştir. Etkilerini doğrudan periferik ve merkezi sinir sistemi üzerinde göstererek canlı yaşamını tehdit eden Organofosfatlı ve karbamatlı insektisitlerde bulunmaktadır. Organofosforlu insektisitler, eritrositlerin (kırmızı kan hücreleri) membran özelliklerini değiştirerek eritrosit fonksiyonunu engelleyerek kan hücreleri üzerinde zararlı etkilere sebep olmaktadır.

Eritrositlerin boyutlarının ve yüzey şekillerinin bozulmasına ve eritrosit antioksidan sistem enzimlerinin aktivitelerinin değişmesine sebep olan pestisitlerde bulunmaktadır.

Hızla artan dünya nüfusu gıda yetersizliğine sebep olmaktadır. Günümüzde tarım alanlarının kısıtlı olması ve hızlı nüfus artışı birim alandan en yüksek yerimin alınmasını şart koşmaktadır. Dünya nüfusunun %40'ının yeterli seviyede beslenemediği FAO verilerinde dile getirilmektedir. Açlık ve sefalet yüzünden her yıl binlerce kişi ölmektedir. Günümüzde tarım ilaçlarının kullanılmaması durumunda, kimi ürünlerde ortalama % 65 civarında rekolte kayıplarının olabileceği öngörülmektedir. Yabancı ot, sürme, süne, kımlı gibi zararlılarla zirai mücadele yapılamadığı takdirde sadece buğday üretimindeki kaybın değeri milyonlarla ifade edilmektedir. Az bir miktar ilaçlama masrafı ile bu kayıplar asgari düzeye indirilebilmektedir (Karakaya ve Boyraz). Dünyadaki ürün toplamının %20-40' ının böceklere bağlı olarak yitirilmekte ve bunun gelişmekte olan ülkelerde daha yüksek olduğu FAO verilerine göre belirtilmektedir. Hasat, kurutma, depolama, öğütme, pişirme dâhil hemen her aşamada kayıplar söz konusu olmaktadır. Kök için ortalama kayıp %20; tahıl ve taneliler için ise %10 olarak hesaplanmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Tarımsal ilaçların kullanımı tarımsal üretimi artırır. Bilinçsiz ve hatalı kullanımı doğrudan ya da dolaylı yollardan insana ve çevre sağlığına ait problemlerini de beraberinde getirirler.

Pestisitler, uygun dozlarda kullanılmaması, birden çok ilaç karışımıyla kullanımı, fazla sayıda ilaçlama yapılması, hasat dönemiyle son ilaçlama arasında gerekli olan süreye uyulmaması gibi durumlarda gıda maddelerinin üzerinde çok miktarda kalıntı bırakabilir. Yüksek dozda pestisit kalıntısına sahip yiyecekleri tüketen canlılarda akut veya kronik zehirlenmeler görülebilmekte, kimi ürünlerde ise kalite ve aroma değişikliklerine sebep olabilmektedirler (Karakaya ve Boyraz, 1992).

Pestisitler, zararlı organizmaları yok etmek veya etkilerini azaltmak için geliştirilmiştir. Ancak etkileri yalnızca zararlı organizmalar ile sınırlı kalmayıp insanlar ve hayvanlar üzerinde sağlık sorunlarına neden olabilmekte ve çevreyi olumsuz etkilemektedir (Lozowicka B. ve ark, 2016). Ayrıca, pestisit intoksikasyon vakalarının Adli Tıp Laboratuvarlarında sistematik toksikolojik analizleri yapılırken pestisit etken maddelerine en çok mide içeriğinde rastlanmaktadır. Bu yüzden mide içeriğindeki kirliliklerin ve matriks etkisinin giderilmesi önem arz etmektedir. Quechers metodu yüksek hassasiyeti, pratikliği ve seçiciliği nedeniyle tercih edilmiştir (Oellig, 2016).

Biyolojik materyallerde (kan, idrar, mide içeriği, organ, göz içi sıvısı, safra gibi) kompleks teşkil eden çeşitli kirlilikler (yağ, parçalanmamış protein, matriks gibi) tespit etmeye çalıştığımız kimyasal maddelerin GC-MS ile analizlerinde iyonların baskılanması ve görüntülenememesi gibi çeşitli sorunlara neden olmaktadır.

Bu çalışmada “farklı iki ekstraksiyon tekniği kullanılarak biyolojik materyallerin saflaştırılmasında istenmeyen büyük moleküllü yağ ve benzeri kirliliklerin kimyasal madde kaybına neden olmadan uzaklaştırılması, maliyet giderlerinin ve analiz süresinin azaltılması” hedeflendi.

Özellikle tarımsal faaliyetlerde yoğun olarak kullanılan insteksitlerden azinfosmetil, Klorprifos ve monokrotofos başta gelmektedir (Girón-Pérez vd. 2006; Gündüz vd. 2012). Bu insteksitler canlılar da nörotoksik etkisiyle sinir sistemi hasarı, denge kaybı ve davranış değişikliği gibi sorunlara sebep olmaktadır (Kammerbauer ve Moncada, 1998; Chandrasekara ve Pathiratne, 2007). Benzer rahatsızlıklar diğer pestisit türlerinde de görülmektedir (Machado ve Fanta, 2003; Venkateswara vd. 2003; Venkateswara, 2004; Venkateswaravd., 2005; Kavitha ve Venkateswara, 2007).

1.2. Standart Maddeler

1.2.1. Azinfosmetil

Azinfosmetil'in Spesifik Özellikleri ve Kullanımı.

Kimyasal Adı: Azinphos-methyl

CAS Numarası: 86-50-0

Moleküler Ağırlık: 317.32

Kimyasal Formülü: $C_{12}H_{16}N_3O_3PS_2$

Kullanım Tipi :İnsektisit

Kimyasal Sınıfı: Organofosforlu İnsektisit (Öterler, 2009)

Geniş spektrumlu organik fosforlu bir insektisittir.Genel olarak tirester olup fosforik asit türevleridir.Tüm etkili maddelerin yapısında fosfor atomu bulunur. Organik fosforlu insektisitlerin heterosiklik türevleri alt grubunda yer almaktadır (Türel,2007).

Azinfosmetil, kabuklu meyvelerde, sebzelerde ve meyvelerde kullanılan genel bir organofosfat insektisittir. 1959 yılında bulunmuştur. Günümüzde başka bir ekonomik alternatifinin olmadığı durumlarda kullanılmaktadır. Oda sıcaklığında renksiz katı halde bulunur ve pek çok çözücüde kolaylıkla çözünebilir Azinfosmetil bugüne kadar pek çok tarım ürününde farklı etkilerle kullanılmıştır Bazı ürünlerde insektisit büyük fayda sağlamış iken bazılarında etkisi az olmuştur. Günümüzde Azinfosmetil kullanımının büyük kısmı terk edilmiştir ve kullanımının bitki için büyük yarar getireceği ve de alternatifin olmadığı durumlarda kullanılmaktadır (Öterler, 2009).

1.2.2. Klorprifos

Klorprifos'in Spesifik Özellikleri ve Kullanımı.

Kimyasal Adı: [O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothionate,

CAS Numarası :2921 – 88 – 2

Moleküler Ağırlık: 350,58

Kimyasal Formülü: $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$

Kullanım Tipi: İnsektisit

Kimyasal Sınıfı: Organofosforlu İnsektisit

Klorprifos tarım alanlardaki ve hayvan çiftliklerindeki çeşitli zararlıları kontrol etmek için pek çok ülkede yaygın bir şekilde kullanılan etkili bir organofosfat pestisittir. Bu insektisit dünyada mısır, şekerpancarı ve diğer sebzelerde sıklıkla kullanılmaktadır. Klorprifos, organofosfat pestisitler içerisinde en çok kullanılanlardandır. Balıklar için toksik durumu organoklorlu pestisitlere göre daha fazladır. Klorprifos geniş spektrumlu bir organofosfat insektisit olup, ticari olarak tarım ürünlerini etkileyen yaprak böceklerinin ve toprak altı termitlerinin kontrolü için 10 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır. Hava ya da yüzey akışları ile doğal sulara girebilen Klorprifos, buradaki farklı organizmalarda özellikle de balıklarda birikmekte ve çeşitli zararlı etkilere yol açmaktadır. Klorprifos'un nörotansmitter asetilkolini, kolin ve asetata hızlı hidroliz eden kolinerjik sinapslarda nörotansmisyonunda önemli bir rol oynayan asetilkolin esterase enzimini inhibe ettiği bilinmektedir (Tutuş,2016).

Organofosfatlarla yüksek düzeylerdeki etkileşim septomları; hiperaktivite, felç ve nihayetinde de ölümdür. Organofosfat insektisitlerin inhibitör etkisi, enzimlerin aktif bölgelerine bağlanma kapasitelerine ve davranış ile yaşla ilişkili fosforilasyon oranlarına göre değişmektedir. Yaygın bir şekilde pestisit toksisitesinin belirlenmesinde erken uyarıcılar olarak kullanılmaktadır. Klorprifos'un sık kullanılabilirliği ve suda çözünürlüğü pek çok ülkede yer altı ve yer üstü sularında etkin kirletici olduğu sonucuna ulaştırmıştır. Klorprifos'un, yarılanma ömrü birkaç günden aylara kadar sürebilmekte ve çevrede kalıcı olarak bulunabilmektedir. Klorprifos'un, yüzey sularında 0.01 – 1.95 µg/L olarak bulunduğu belirlenmiştir. Ayrıca sivrisinek mücadelesinde yapılan doğrudan suya uygulamalarında ya da tarımsal akışlarla ulaşılan nehir ve göllerle 4.3 µg/L'ye kadar ulaştığı tespit edilmiştir(Tutuş,2016).

Klorprifos'un toksik etkileri yükselen bir ivmeyle insan sağlığını ve akuatik organizmaları tehdit etmektedir. Su ortamlarına giren Klorprifos sucul ekosistemlerde kirliliğe yol açmakta ve buna bağlı olarak da balıklarda sağlık

problemlerine neden olmaktadır. Klorprifos balıklar açısından oldukça toksiktir. Pestisitlerin uygulama alanına yakın yerlerdeki sucul sistemdeki balıklarda ölümler sıkça gözlenmiştir. Balıkların organofosfatla etkileşiminin glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, alkalin fosfataz, piruvat dehidrojenaz, suksinik dehidrojenaz, asetilkolin esteraz, laktat dehidrojenaz, malat dehidrojenaz, sitokrom oksidaz gibi çeşitli enzim aktivitelerini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca Klorprifos oksidatif strese neden olmakta ve antioksidatif ve fizyolojik aktiviteleri sınırlamaktadır. Yine Klorprifos'un karaciğer fonksiyon bozuklukları, immünolojik anormallikler, embriyo toksitesi, genotoksitesi, teratojenik etki ile nörokimyasal ve nörodavranış değişiklikleri gibi diğer birçok olumsuz etkilere de neden olduğu belirtilmektedir (Tutuş,2016).

1.2.3. Monokrotofos

Monokrotofos'un Spesifik Özellikleri ve Kullanımı.

Kimyasal Adı: Dimethyl (E)-1-methyl-2-(methylcarbamoyl)vinyl phosphate

CAS Numarası : 6923-22-4

Moleküler Ağırlık: 223.2 g / mol

Kimyasal Formülü: C₇H₁₄NO₅P

Kullanım Tipi: İnsektisit

Kimyasal Sınıfı: Organofosforlu İnsektisit

Monokrotofos bir organofosfat insektisittir. Kuşlar ve insanlar için akut zehirlidir. Monokrotofos esas olarak tarımda nispeten ucuz bir böcek ilacı olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, aynı zamanda intihar etmek için bir araç olarak sık sık kullanılır (Wikivisually.com,2018).

1.3.GC-MS

Gaz kromatografisi (GC), bilim ve teknolojinin birçok dalında geniş uygulama alanına sahip bir tekniktir. Gaz kromatografisi, bir karışımda bulunan bileşiklerini ve oranlarını belirlemede temel rol oynamıştır. Ancak, bu ayrılan ve miktarları belirlenen bileşiklerin kimyasal yapısını ve niteliğini belirlemek için

spektroskopik bir yöntem gereklidir. En çok kullanılan sistem, molekülün kütle spektrumunu (parmak izi) belirlemeye yarayan kütle spektrometri dedektörüdür (MSD). Kütle spektrumu, molekül ağırlığı ve element bileşimi hakkında bilgi sağlar. Eğer yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi kullanılırsa, mevcut fonksiyonel gruplar ve bazı durumlarda molekülün geometrisi ve üç boyut izomerliği hakkında da bilgi sağlayabilir (Stashenko ve Martínez,2014).

Gaz Kromatografisi

Gaz kromatografi sisteminde analiz edilecek örnek, sıvı bir çözelti veya katı faz mikro ekstraksiyonu gibi (SPME) bir yüzeye adsorblanmış moleküller olmalıdır. Örnek, GC' ye transferi boyunca yüksek sıcaklıktaki (200 – 300 °C) bir alanda hızlı bir şekilde buharlaştırılır ve taşıyıcı bir gaz (Ar, He, N₂ veya H₂) ile karıştırılır. Bu gaz karışımı, iç kısmı ince polimer bir filmle kaplanmış erimiş silikadan oluşan kapiler boruya yani kromatografik kolona girer. Analit molekülleri, taşıyıcı gaz (mobil faz) ve polimer kaplı sabit faz (kolon) arasında kimyasal yapılarına bağlı olarak ayrılır. Ayırma işleminin sonunda, analitler miktarlarıyla orantılı olarak fiziksel özellik olarak termal iletkenliğin, fizikokimyasal bir işlem olarak da alevli iyonlaşma, elektron yakalama gibi olayların gerçekleştiği moleküler tespit kısmına ulaşırlar ve elektriksel sinyal oluştururlar. Veri sistemi, veriyi işleyerek zamanla dedektör sinyalindeki değişiklikleri grafiğe geçirir ve bir kromatogram elde edilir. Bu nedenle, kromatografya giriş (enjektör), ayırma (kromatografik kolon), tespit ve veri işleme birimleri olmak üzere dört ana bölüm vardır. Her bölümün elde edilen sonuçlar ve analizin kalitesi üzerinde fonksiyon ve sorumluluğu vardır. Mesela; enjeksiyon sistemi örneğimizi molekül ağırlığı, uçuculuk veya kimyasal değişiklikler (bozunma ve izomerizasyon gibi) olmadan kantitatif olarak kolona gönderebilmelidir. Bu durum, kantitatif analiz için önemli bir aşamadır. GC çalışmalarının doğru yapılabilmesi için, kolona giriş kısmı kirlenmemiş, temiz, inert ve kaçaksız olmalıdır. GC analizlerinde bir analit için temel gereksinim, mobil faz içerisinde tespit edilebilecek miktarlarda olabilmesi için yeteri kadar uçucu olmasıdır. Düşük buhar basıncına sahip maddeler, kromatografik kolona

girmeyecek, enjeksiyon sisteminde birikecek ve sonunda sistemin kanallarını tıkayacaktır. Polaritesi fazla, ısıya dayanıksız, iyonik ve yüksek molekül ağırlığına sahip bileşikler rutin GC analizleri için uygun değildir. Analitin molekül yapısı ve içindeki fonksiyonel gruplarına bağlı olarak, bazı durumlarda, daha yüksek buhar basıncına sahip kimyasal bir türevini elde etmek mümkündür. Bu sayede bazı bileşikler GC analizlerine uygun hale getirilebilir (Stashenko ve Martínez,2014). Kromatografik kolonun en önemli özelliklerinden bir tanesi rezolüsyonu yani bileşenleri ayırma yeteneğidir. Kromatografik ayırma birçok işlemsel parametrenin bir fonksiyonudur. Bunlar, katı fazın yapısı, mobil faz, sıcaklık, kolonun boyutları yani uzunluğu (L), iç çapı (ID) ve sabit fazın kalınlığı (ds) vb. dir. Bir karışımdaki bileşen sayısı arttıkça, bileşiklerin tamamının ayrılabilmesi için daha uzun kolonlar gerekir. Alternatif olarak, aynı amaç için daha küçük iç çapa sahip kolonlar kullanılabilir. Açıkçası, kolonun uzunluğunun artması analiz süresini belirgin biçimde arttırır. Bu yüzden, poliaromatik hidrokarbonların (PAH) veya kontrollü ilaçların analizleri genellikle 30 m uzunluğundaki kolonlar kullanılarak gerçekleştirilirken; benzin-deki hidrokarbonların ayırımı için daha uzun 100 m uzunluğundaki kolonlar gereklidir (Stashenko ve Martínez,2014).

Örnek Giriş Sistemleri

Bir karışımdaki bileşenlerin kaçının tespit edilebileceğini belirleyen önemli parametrelerden bir diğeri, şüphesiz karışımın GC içerisine enjeksiyon şeklidir. Bir enjeksiyon sisteminin asıl amacı, örneği kromatografik kolona hızlı ve kantitatif olarak tekrarlanabilir biçimde transfer etmektir.

GC' deki bu önemli aşama aşağıdaki koşulları sağlamalıdır:

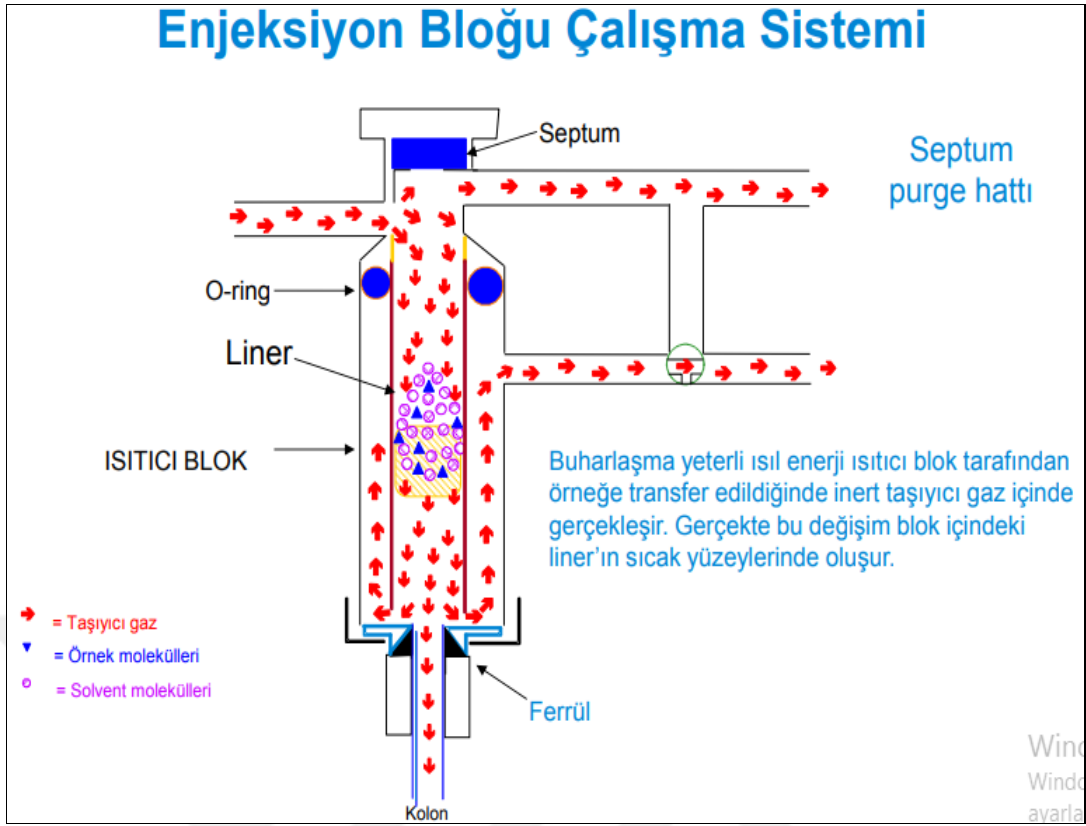
- 1) Örnek, kolona pik genişlemesini azaltabilmek için mümkün olduğunca ince bir kromatografik bant olarak girmelidir.
- 2) Analiz edilecek karışımdaki bileşenlerin yüzde bileşimi, enjeksiyondan önce ve enjeksiyondan sonra aynı olmalıdır.
- 3) Kolona transferleri esnasında bileşenler birbirleriyle reaksiyona girmemeli, kimyasal değişime (izomerleşme, hidroliz, polimerleşme vb.) uğramamalı veya enjektör gövdesine adsorblanmamalıdır. Örnek üzerinde

değişiklik olmadan kantitatif olarak transfer edilmelidir. Örnek enjeksiyonu, kesin, doğru, tekrarlanabilir veya öngörülebilir, kantitatif ve herhangi bir ayırım olmadan gerçekleşmelidir (Grob,1993).

Enjeksiyon şekli aşağıdaki kriterlere göre seçilir:

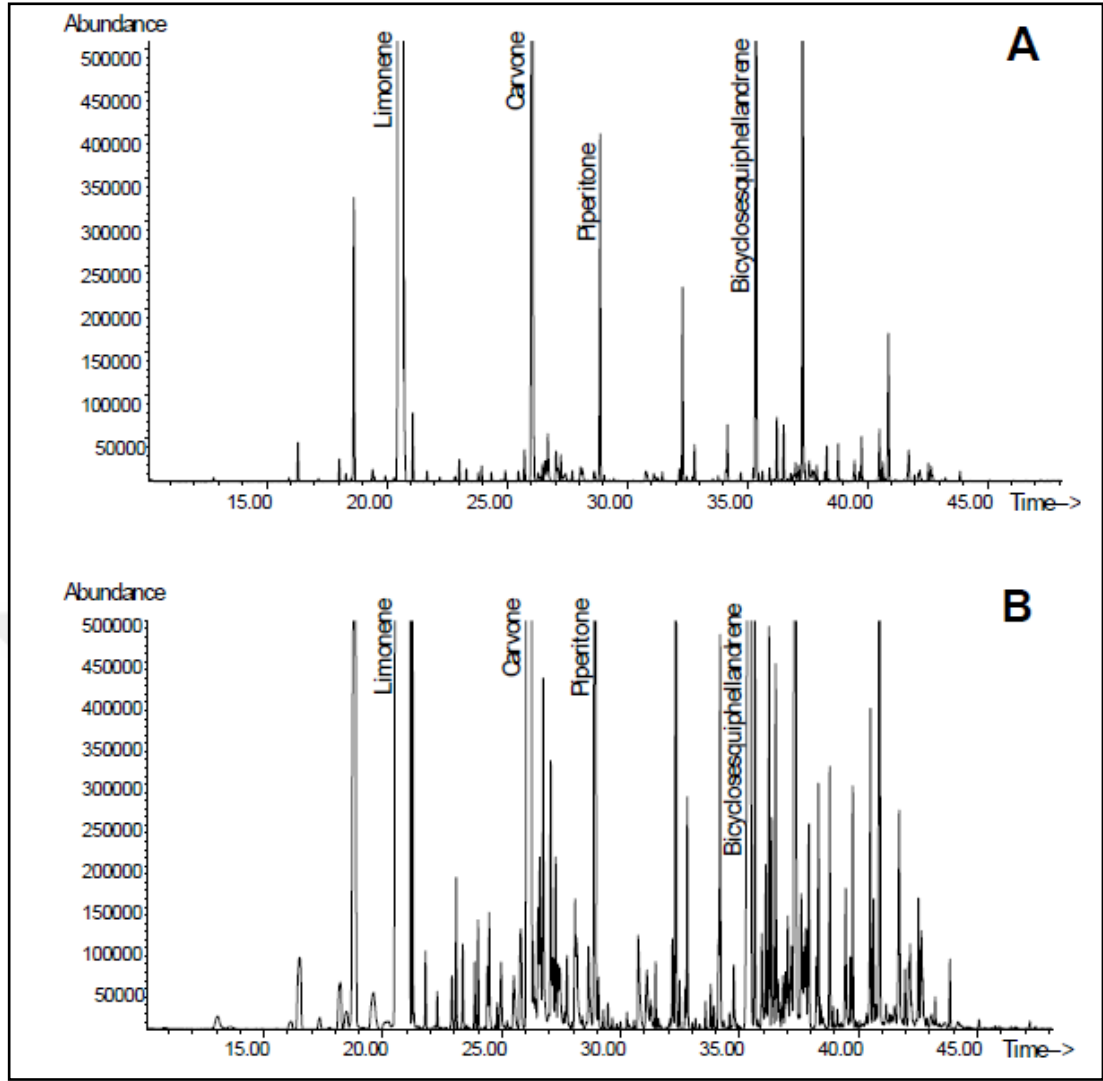
- 1) Kromatografik kolonun çeşidi (dolgulu kolon, büyük çaplı, kapiler)
- 2) Analitlerin kimyasal niteliğine (molekül ağırlığı, uçuculuk, polarite, ısısal kararlılık, reaktivlik vb.)
- 3) Analizin amacına (kalitatif veya kantitatif, eser analizi veya tam tersi bazı bileşiklerin yüksek derişimlerini ölçme amaçlı)

Kapiler kolonlar için en yaygın enjeksiyon blokları buharlaştırmalı ve kolon-üstü enjektörlerdir. Kolon-üstü enjektörlerde örnek önceden buharlaştırılmadan doğrudan kolona enjekte edilir. Örnek enjeksiyonu manuel olarak veya oto-örnekleyici yardımıyla gerçekleştirilebilir. Buharlaştırmalı enjektörde, 1-2 µL hacmindeki örnek septumdan geçerek ayrıca ısıtılan liner adı verilen cam bir silindire girer. Yüksek liner sıcaklığına (> 200°C) maruz kaldıktan sonra, örnek hızlıca buharlaşır ve oluşan gaz karışımı taşıyıcı gaz yardımıyla kolona gönderilir (Şekil 1.3.1) (Grob,1993).



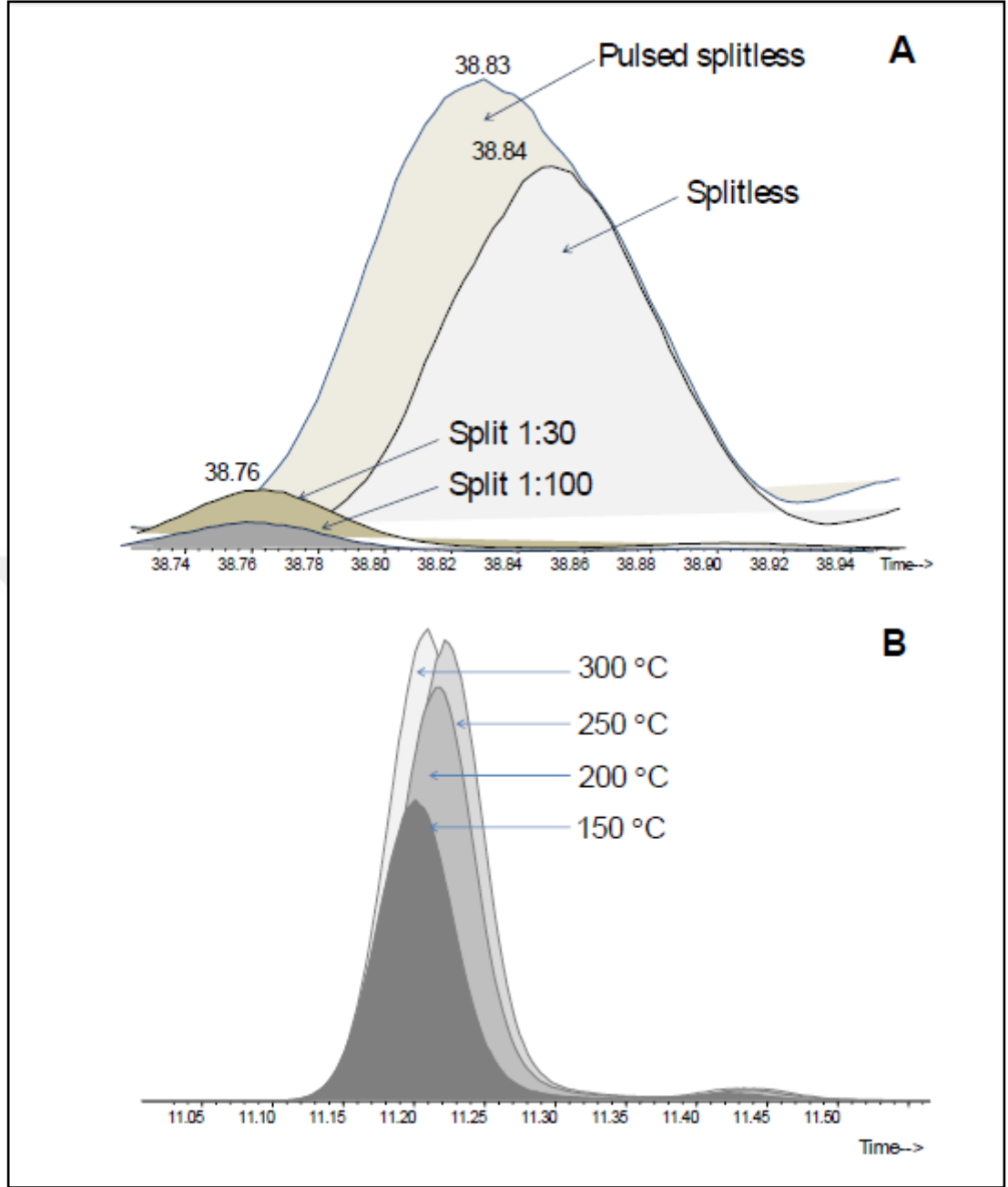
Şekil 1.3. 1 Enjeksiyon Bloğu çalışma sistemi (Su Yönetimi Genel Müdürlüğü, 2018)

Buharlaştırmalı enjektörler, örneğin kolon girişinde bölündüğü (split) veya örneğin bölünmeden tamamının kolona gönderildiği (splitless) olmak üzere iki ana şekilde çalıştırılabilir. Yüksek derişimli örnekler kolona küçük bir kısmının girmesi için split şeklinde enjekte edilir (Şekil 1.3. 2). Diğer taraftan, çevresel ve adli örneklerdeki eser miktardaki bileşikler analiz edilirken örneğin tamamının kolona transfer edilmesi gerektiğinden splitless enjeksiyon kullanılmalıdır.



Şekil 1.3. 2 Hidrodamıtma ile elde edilen *Lippia alba* esansiyel yağının toplam iyon akım kromatogramları. A. 1:30 oranında split enjeksiyon (1µl enjeksiyon hacmi) B. Splitless enjeksiyon (1µl enjeksiyon hacmi)

Splitless enjeksiyonda, örnek kolona sıcak enjeksiyon bloğundan yaklaşık 1 mL/dk) akış hızıyla yavaşça transfer edilir. Bu durum karışımındaki bazı bileşenlerin ısısal bozunmasına veya izomerleşmesine neden olabilir. Pulsu splitless adı verilen özel bir yöntem, örnek kolona transfer edilirken enjeksiyon boyunca kolonun üzerindeki basıncı arttırarak eser düzeydeki ısıca kararsız bileşiklerin analiz edilmesine imkan sağlar. Bu enjeksiyon çeşidinde, örneğin enjeksiyon bloğunun sıcak kısmında (250 – 300 °C) kalma süresi ciddi bir biçimde azalır ve dolayısıyla bazı bileşiklerin ısısal bozunmalarının da önüne geçilmiş olur (Grob,1987). (Şekil 1.3. 3)



Şekil 1.3. 3 Etil benzoatın GC-MS cihazıyla DB-5MS apolar kapiler kolonda (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) elde edilen kromatografik piki.

Enjeksiyon bloğu, kromatografik bir sistem için çok önemli bir bölgedir. Çünkü, bu bölge yüksek gürültü (kirlilik) veya hayalet piklerin kaynağı olabilir. Enjeksiyon verimi, optimum hız ve kolona giren örneğin sürekliliği; pikin genişliğini, simetrisini ve sonuç olarak verimli tekrarlanabilir ayırma ve miktarlandırmayı belirleyecektir. Enjeksiyon yöntemini seçerken aşağıdaki değişkenler seçilip optimize edilmelidir:

- 1) Enjeksiyon şekli (split, splitless, kolon-üstü veya sıcaklık programlı)

buharlaştırma (PTV))

- 2) Enjekte edilecek örnek hacmi
- 3) Enjektör sıcaklığı
- 4) Liner çeşidi (şekil, hacim, dolgu)
- 5) Kolonun başlangıç sıcaklığı (Splitless enjeksiyonlarda daha önemlidir.)
- 6) Enjeksiyon türü (Manuel veya otomatik)
- 7) Septum deliğindeki veya iğne enjeksiyon bloğundan çıktığındaki akış hızı
- 8) Solvent ve değişik solventlerle şırınganın yıkanma sayısı
- 9) Septum çeşidi (malzeme, yoğunluk, ısısal kararlılık, kanama) (Stashenko ve Martinez,2014)

Ayırma Prosedürü

Kromatografik kolon, GC' nin kalbidir. Dolgulu ve açık boru olmak üzere iki çeşit kolon vardır. İç çapı 0,32 mm veya daha küçük olanlara kapiler denir. Dolgulu kolonlarda, katı partiküller (silika, alümina, moleküler elekler, gözenekli sentetik polimerler vb.) destek olarak kullanılır. Günümüzde dolgulu kolon kullanımı oldukça sınırlıdır, çünkü açık boru kolonlar yüksek ayırma verimine sahiptir. Kolon verimi, teorik plaka sayısı (N) ile ifade edilir. N ne kadar fazlaysa, kolonun rezolüsyonu (verimi) o kadar fazladır.

GC kolonu seçilirken aşağıdaki parametreler ve özellikler dikkate alınmalıdır:

- 1) Faz çeşidi (niteliği, polaritesi)
- 2) Boyutları (uzunluk (L) ve iç çap (ID))
- 3) Faz kalınlığı

Kapiler kolonlar uzunluğuna göre; 5-15 m arası olanlar kısa, 20-30 m arası olanlar orta ve 50-100 m arası olanlar uzun olmak üzere üçe ayrılırlar.

30 m uzunluğundaki kolonlar en yaygın kolonlardır ve birçok analizde (ilaçlar, pestisitler, poliaromatik hidrokarbonlar vb.) kullanılırlar. Kolon uzunluğu arttıkça teorik plaka sayısı (N) ve rezolüsyon artar, fakat analiz süresi de önemli ölçüde artar. Kolonun rezolüsyonunu artırmanın ve analiz süresini kısaltmanın bir başka yolu kolonun iç çapını düşürmektir. Kapiler kolonların iç çapı genellikle 0,25 veya 0,32 mm'dir. Kolon uzunluğu iki katına çıkarılırsa,

rezolüsyon da iki katına çıkar; fakat iç çap yarıya düşürülürse rezolüsyon neredeyse dört katına çıkar. İç çapı düşürmek, analiz süresinde fark edilebilir bir düşüşe yol açar. Kapiler kolonlar için, en çok önerilen taşıyıcı gazlar He veya H_2 ' dir ve ortalama 25-35 cm/s doğrusal hız gerekli ayırma verimini elde etmemizi sağlar (Stashenko ve Martínez,2014).

GC Dedektörleri

Dedeksiyon sistemi, analit moleküllerini mobil fazdan ayırmaya yarayan bir sistemdir. Dedektör yanıtı (sinyal), analit moleküllerinin akışının fiziksel bir özelliğini (iyonik akım, ısısal iletkenlik, floresans, refraktif indis, foton emisyonu, elektron yakalama vb.) ölçmeye dayalıdır. Sinyal, kolondan çıkan analitin miktarıyla doğru orantılıdır. Bu sayede, kantitatif bir analiz gerçekleştirilmiş olur.

Gaz kromatografisinde kullanılan yaygın dedektörler:

- 1) Isısal iletkenlik dedektörü (TCD) ve kütle seçici dedektör (MSD) gibi evrensel dedektörler
- 2) Azot-fosfor dedektörü (NPD), elektron yakalama dedektörü (ECD) veya alevli fotometrik dedektör (FPD) gibi seçici dedektörler
- 3) SIM (seçici iyon görüntüleme) ile çalışan MSD, ısısal enerji analizörleri (TEA) veya atomik emisyon dedektörleri (AED) gibi özel dedektörler

Klasik dedektörlerden (FID, TCD, ECD, NPD) doğan en büyük kısıtlama bilinmeyen bir maddeyi tek başına tanımlamadaki belirsizliktir. Mutlak alıkonma zamanları (t_g) veya bir iç standarda (t_{gg}) ve sertifikalı standartlara bağlı alıkonma zamanları, bir maddenin olası tanımlanması için kullanılır. Bu bir görüntüleme analizidir. GC ile analiz edilen kompleks bir karışımdaki bir bileşiğin doğrulayıcı tanımlaması bileşiğin spektrumu gibi bir parmak izinin elde edilmesini gerektirir.

Kütle spektrometresi (MS), önceden iyonlaşmış bileşik molekülünün parçalanması sırasında oluşan yüklü parçaların (iyonlar) benzersiz bileşimi hakkında bilgi verir. Kromatografik analizin (görüntüleme) doğrulayıcı spektral

veri ile tamamlanması GC-MSD kombinasyonu kullanılarak gerçekleştirilebilir. GC-MSD analizi, alıkonma zamanları, kromatografik alanlar ve elektron çarpması tekniği ile 70 eV gerilim uygulandığında meydana gelen iyonlaşmalar ile birlikte karışımdaki bileşiklerin her birinin kütle spektrumları hakkında bilgi verir. 70 eV değeri kütle spektrumu elde etmek için standart bir değer aynı zamanda veri tabanlarının ve ticari spektral kütüphanelerin bir parçası olarak belirlenmiştir. Çünkü, birçok organik bileşik için en yüksek iyonlaşma verimi ve tekrarlanabilirlik bu enerjiye sahip elektronlarla bombardıman sonucunda elde edilmiştir. Organik bileşiklerin iyonlaşma enerjisi (potansiyel) 7 ila 14 eV arası değişir. 70 eV enerjiye sahip elektronlar ile çarpışma, hem moleküler iyon M^+ oluşmasını hem de oluşan M^+ iyonlarının parçalanmasını sağlar.

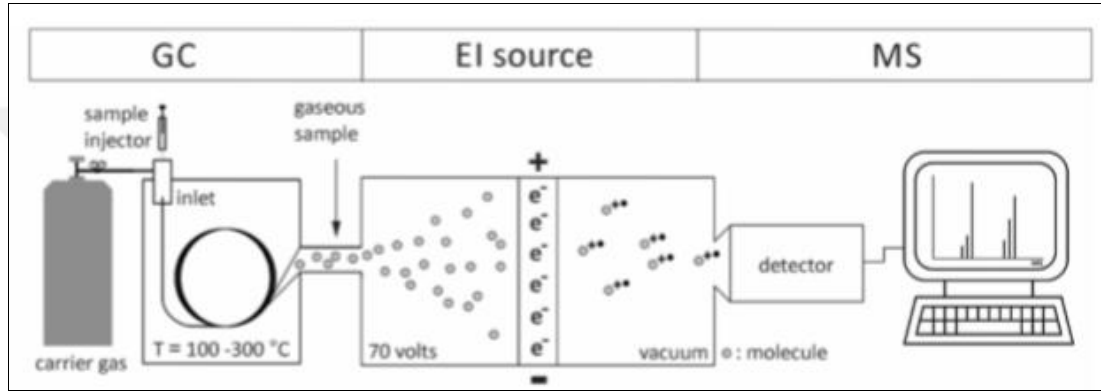
GC-MSD tekniği aletli analitik kimyada en çok kullanılan kombinasyondur ve adli, çevresel, doğal ürünler, gıda, aroma ve diğer birçok alandaki tetkiklere de uygulanabilir (Laskin ve Lifshitz,2006).

Kütle Seçici Dedektör

Gaz kromatografa eklenen bir kütle spektrometresi genellikle kütle seçici dedektör (MSD) olarak adlandırılır. MSD, analitin parçalanması ve tespit edilebilen iyonlara dönüşmesi için gerekli enerjinin elektron iyonlaşma veya elektron çarpışma (EI) ile sağlandığı iyonlaşma odasından oluşmaktadır. Pozitif veya negatif iyonların kimyasal iyonlaşması (CI), yumuşak bir iyonlaşma tekniğidir. CI, oldukça kararsız bir moleküler iyon oluştuğunda (ömrü 10^{-6} saniyeden daha kısa olan moleküler iyon) ve parçalanmanın oldukça şiddetli olduğu EI yöntemi kullanıldığında kütle spektrumunda moleküler iyonun görülmediği durumlarda kullanılan alternatif bir yöntemdir. İyonlaşma odasında oluşan iyonlar elektrotlar yardımıyla hizaya gelir (odaklanır), hızlanır ve kütle analizörüne yönlendirilir. Analizör, iyonları kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayırır. GC-MS cihazında birçok kütle analizörü kullanılabilir. Kuadrupol (Q) ve iyon tuzaklı (IT) en yaygın olanlarıdır. Son yıllarda, uçuş zamanlı analizör (TOF) kullanımında artış görülmektedir. Son olarak, Fourier Dönüşümlü İyon-Siklotron analizörleri (FT - ICR) ve Orbitrap cihazlar ticari olarak hali hazırda bulunabilir (Xian ve Marshall 2012; El-Aneed vd.,2009).

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi

GC-MS oldukça tercih edilen sinerjik bir bileşimdir. GC ile analiz edilebilen (düşük molekül ağırlıklı, orta ve düşük polariteye sahip, ppb-ppm derişimlerindeki bileşikler) MS ile de uyumludur. Küçük moleküllerin (uygulamaların % 90'dan fazlası) iyonlaşması için en yaygın teknik, elektron çarpışma (EI) tekniğidir. (Şekil 1.3. 4).(Mbughuni vd., 2016)



Şekil 1.3. 4 GC-MS cihazının şematik gösterimi

Veri Analizi ve Yorumlama

GC-MS cihazında bileşikleri tanımlamak için iki temel yol vardır. Birincisi, standart madde (sertifikalı referans madde) kullanmaktır. Fakat standartların tamamı her zaman mevcut olmayabilir ve birçok analit kolayca temin edilmeyebilir. İkinci yol, alıkonma indisleri ve deneysel kütle spektrumlarını (EI, 70 eV koşullarında) veritabanlarındaki ortogonal kolonlarda (polar ve apolar) elde edilmiş alıkonma indisleri ve standart kütle spektrumları (EI, 70 eV koşullarında) ile karşılaştırmaktır. Çoğu durumda, doğrulama için sertifikalı standart madde kullanımı gereklidir (Stashenko ve Martinez,2014).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Pestisit Analiz Yöntemleri

Farklı fiziko-kimyasal özelliklere sahip yüzlerce aktif maddenin; farklı matrikslerde, aynı anda analiz edilmesi gerekliliği pestisit analizlerini zorlaştırmaktadır. Kolorimetrik yöntemlerle ilk pestisit kalıntı analizleri gerçekleştirilmiştir. 1944 yılında sebzeler üzerinde gerçekleştirilen DDT analizi, türevlendirme ile mavi renk oluşturulması ve bu mavi rengin kolorimetrik olarak belirlenmesi temeline dayandırılarak yapılmıştır. Buna benzer farklı pestisit analizleri de yapılmıştır. Birden fazla pestisit bu şekilde analiz edilmesi mümkün olmamıştır. İnce tabaka kromatografisi (TLC) ile 1950'li yıllarda çoklu kalıntı analizlerine ilk geçiş gerçekleştirilmiştir. 20 kadar pestisit bir saatten daha kısa sürede analiz edilmesi bu teknik ile mümkün olmuştur. TLC tekniği pestisit analizlerinde yıllarda kullanılan en yaygın tekniktir. Çoklu kalıntı analizlerine geçiş 1950 ile 1970 yılları arasında olmuştur. Dolgulu kolonların kullanıldığı gaz kromatografisi (GC) tekniğinin alternatif teknik olarak öne çıkmaya başlaması bundan hemen sonra olmuştur. GC tekniğini pestisit analizlerinde en sık kullanılan teknik haline gelmesi 1950'li yıllardan 1960'lı yılların ortasına kadar geçen zamanda çeşitli seçici dedektörlerin (alev fotometrik dedektör (FPD), azot-fosfor dedektör (NPD), elektron yakalama dedektörü (ECD), halojen spesifik dedektör (XSD) geliştirilmesi ile mümkün olmuştur. Yüksek ayırma gücüne sahip kapiler kolonların geliştirilmesi GC tekniğinde devrim yaratmış ve takip eden yıllarda tekniğin çoklu kalıntı analizlerindeki etkinliği ve başarısı oldukça artmıştır. 1960'lı yılların sonlarında, benzersiz özellikleri, yüksek performansı ve düşük maliyeti kapiler GC tekniğinin en etkin ve en çok tercih edilen teknik haline gelmesini sağlamıştır (Aksu P. 2007; Yiğit, vd. 2012).

GC tekniğinin pestisit analizlerinde vazgeçilmezliği, kullanılan pestisitlerin % 60'dan fazlasının yapıları itibarıyla GC ile analize uygun olmasından kaynaklanmaktadır. Daha düşük uygulama miktarları gerektiren modern pestisitlerin kullanımı, kullanım alanları ve çeşitliliği yıllarla artmıştır.

Modern pestisitlerin önemli kısmı oldukça polar yapıda, uçuculuğu düşük ve/veya ısıya karşı duyarlı olduklarından GC ile analiz edilmeye uygun değildirler.

Bu noktada, türevlendirme aşaması içeren gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) metotları bu tür pestisitlerin analizlerinde öne çıkmaya başlamıştır. GC/MS teknolojisi 1970'li yılların sonunda ticari anlamda üretilmeye başlansa da, pestisit analizlerinde yaygın kullanımı 1990'lı yılları bulmuştur. Diğer taraftan, polar pestisitlerin birçoğunun herhangi bir türevlendirme yapılmadan sıvı kromatografisi (LC) ile analizinin mümkün olması, 1980'lerde UV ya da floresans dedektör ile birlikte kullanılan LC tekniğinin pestisit analizlerine girmesini ve polar pestisitlerin belirlenmesinde GC tekniğine tamamlayıcı bir teknik olarak kullanılmaya başlamasını sağlamıştır(Speed vd. 2000;Ulrich vd. 1996).

1990'lı yıllarda kütle spektrometrisi (MS) tekniğinin analizlerde kullanımının yaygınlaşması ile pestisit analizlerinde önemli gelişmeler sağlanmıştır. Etkili bir ayırım, tanımlama ve miktarsal sonuç sağlamasının yanısıra, aynı zamanda doğrulama da sağlaması MS tekniğinin kullanılma oranını oldukça artmıştır. Moleküle özgü iyonları tespit etme (SIM modu) temeline dayanarak çalışan bu teknikte, tespit limitleri 10 ppb seviyelerine kadar inmiş ve GC/MS ve LC/MS sistemleri yaygınlaşarak rutin kalıntı izleme programlarında kullanılmaya başlamıştır.

MS teknolojisindeki gelişmeler sonucu sıralı MS sistemlerinin geliştirilmesi ile seçicilik ve hassasiyet daha da artırılmıştır. Moleküle özgü ana iyon ve parçalanma iyonlarını belirleme temeline dayanarak çalışan bu teknikte, tespit limitleri 1 ppb seviyelerine kadar inmiştir. LC/MS/MS tekniğinin kullanılmaya başlaması ile, daha önce rutin izleme programlarına alınamayan polar pestisitlerin birçoğunun kapsama dahil edilmesi mümkün olmuştur. Çeşitli sıralı MS sistemleri olmakla birlikte, triple quadrupole (TQ) ve ion-trap sistemleri en yaygın kullanıma sahip olan sistemlerdir.

2.2. Quechers Metodu

- Hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam, güvenli (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) ekstraksiyon metodu olan Quechers pestisit analizlerinde devrim yaratmıştır.

- Steven J. Lehotay ve Michelangelo Anastassiades tarafından geliştirilmiştir.

- O zamana kadar Avrupa'da en yaygın kullanılan metoda göre: % 95 solvent tasarrufu, % 95 sarf malzeme maliyeti tasarrufu ve % 90 zaman tasarrufu sağlamıştır.

- Yüksek sayıda pestisit in ekstraksiyonunu mümkün kılmaktadır.

- Çok farklı matrikslerde kullanılabilir.

- Ekstraktların hem GC/MS(/MS) hem LC/MS(/MS) sistemlerine uygun olması nedeniyle yüksek seçicilik ve hassasiyet sağlamaktadır.

- Metodun modifikasyonlara karşı esnek ve sağlam olması farklı koşullarda uygulanabilirliğini artırmaktadır.

- Yeni teknolojilerin kazandırdıkları sayesinde tek bir örnekte 350-400 pestisit in analizi mümkündür.

- Quechers metodu sayesinde ekstraksiyon ve temizleme işlemi oldukça hızlı ve az çözücü kullanarak gerçekleştirilebilmekte ve oldukça yüksek sayıda pestisit in ekstraksiyonu mümkün olmaktadır.

- Tespit limitleri 1 ppb seviyelerine kadar inmiştir.

- Analiz süreleri oldukça kısalmıştır (~10-50 dak).

- Geliştirilen yeni teknoloji cihazlar artık uygun maliyetlerle üretilbildiğinden, bu cihazlar birçok laboratuvar da yer almaya başlamıştır.

- Henüz pestisit analizlerinde yaygın kullanım alanı bulmamakla birlikte, time of flight (TOF) sistemleri sağladıkları yüksek hassasiyet ile dikkat çekmektedir (Çetinkaya Açar,2015).

Günümüzde dünya çapında 1000'den fazla pestisit etken madde olarak kullanılmakta birlikte, tüketilen ürünlerdeki çok düşük miktarlardaki kalıntıları analiz etmek için verimli ve hızlı analitik yöntemlerin kullanılması gereklidir. Yapıları itibarıyla 100'den fazla farklı kimyasal sınıfa ait olan pestisitleri,

metabolitleri ve parçalanma ürünlerini Kodekslerde belirtilen kalıntı limitlerini tespit edebilecek Evrensel Çoklu Metotlara (Universal Multi Residue Method) ihtiyaç duyulmaktadır. Bugünlerde sebze ve meyvelerdeki pestisit kalıntılarının tespiti sürecinde numune hazırlama amaçlı olarak; basit, hızlı ve düşük maliyetli olan Quechers (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır (Anastassiades vd.2003; Schenk vd. 2004; Lehotay vd. 2005; Lehotay vd. 2005; Lehotay vd. 2005; Hercegova vd. 2006). Hazırlanan numunelerdeki pestisit kalıntı analizinde Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ve Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi (LC/MS/MS) sistemleri günümüzün en önemli dedeksiyon teknikleridir. Yapılarında Kütle Spektrometresi (MS) ünitesi veya üniteleri bulunan GC ve LC sistemleri eşzamanlı olarak kalitatif ve kantitatif analiz yapma imkanı sağlarlar. Her iki teknik de temelde kromatografi prensibi ile çalışsa da, iyonizasyon ve fragmentasyon aşamalarının farklı şekilde gerçekleşmeleri, kimyasal yapıları farklı olan analitlerin tespit ve miktarsal değerlendirmelerinin mümkün olan en geniş yelpazede olmasını sağlamaktadır. Her iki analitik sistemde tespit amaçlı olarak kütle spektrometresi dedektörü kullanılması, yüksek hassasiyet ve seçicilik sağlamakla birlikte, kromatografik olarak eşzamanlı olarak dedektöre ulaşan analitleri herhangi bir interferansa neden olmadan tespit edebilme imkanı sağlamaktadırlar. LC/MSMS ve GC/MS sistemleri günümüzdeki teknolojik gelişmelere uyum sağlayarak, analizlerin daha hızlı dolayısıyla daha verimli ve düşük maliyetli olmasını sağlamaktadır.

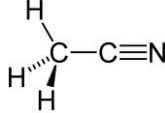
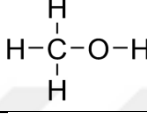
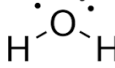
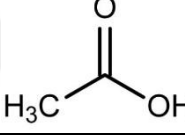
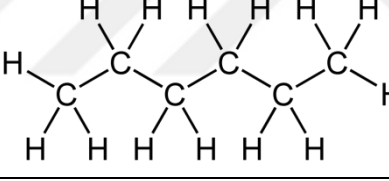
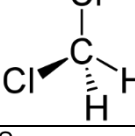
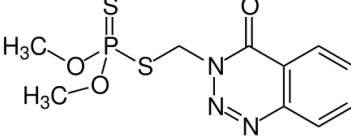
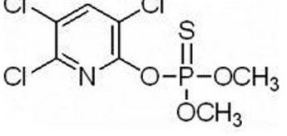
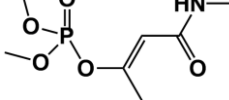
Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve gıda tarım örgütü (FAO)'nun oluşturdukları standartlar ürünlerdeki kalıntı limitlerini belirlerken, laboratuvarlarda pestisitler, kısa sürede birçok numunenin hızlı ve verimli olarak tespit edilmesini sağlayan Quechers yöntemi ile hazırlanmakta ve yaygın olarak GC-MS ve LC/MSMS gibi yüksek hassasiyetteki analitik cihazlarla kontrol edilmektedirler.

Adli vakalarda karşılaştığımız pestisit intoksikasyonlarında örneğin mide içeriğinde bulunması olayın aydınlatılmasında önem teşkil etmektedir. Bu nedenle çalışmamızda Quechers yöntemini ve mide içeriği örneklerini tercih ettik.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar ve Reaktifler

Çizelge 3. 1 Kullanılan kimyasalların ve reaktiflerin isimleri, molekül yapıları, molekül ağırlıkları, saflık yüzdeleri ve üretildiği firmalar

Kimyasal Adı - Formülü	Molekül Yapısı	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Saflık Yüzdesi (%)	Üretici Firma
Asetonitril CH ₃ CN		41.05	≥99,9	Merck
Metanol MeOH		32.04	≥99,9	Merck
Saf Su H ₂ O		18.02		Merck
Glasiyal Asetik Asit CH ₃ COOH		60.05	99,8-100,5	Riedel-de Haen
n-Hekzan CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₃		86.18	98-100	Merck
Diklorometan CH ₂ Cl ₂		84,93	85-88	Sigma-Aldrich
Azinfos Metil C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂		317.32	99.5	Sigma-Aldrich
Klorprifos C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS		350,59	99.5	Sigma-Aldrich
Monokrotofos C ₇ H ₁₄ NO ₅ P		223.16	99.9	Sigma-Aldrich

3.2. Kullanılan Cihazlar

3.2.1. Kromatografik cihaz:

Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi, iki güçlü analitik tekniğin kombinasyonudur. Gaz kromatografisi, karışımdaki bileşenleri ayırır. Kütle spektroskopisi, her bir bileşenin yapısal olarak tanımlanmasında yardımcı olur. Çok düşük miktarlardaki örneklerin tanımlanması, güçlü yapısal analiz, hızlı analiz süresi gibi önemli avantajları bulunmaktadır.

GC-MS sistemi çok bileşenli karışımlardaki elementlerin belirlenmesinde, gaz fazında bulunan ya da gazlaştırılabilen numunelerin kütle kromatografik yöntemle ayrımını sağlar. Elde edilen spektrumlar yardımıyla ileri seviye (organik, inorganik ve biyolojik) moleküler yapı tayinlerinde, kalitatif ve kantitatif çalışmalar için kullanılan yüksek performanslı ve yüksek hızlı bir gaz kromatografisi kütle spektrometresi sistemidir.

Gaz kromatografisinde karışımdaki maddeler birbirinden ayrıldıktan sonra iyonlaştırarak kütle spektrometresinde karışımdaki maddelerin kütlelerine bağlı olarak elementler tayin edilir.



Şekil 3.2.1. 1 Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi(Agilent GC-MS(5975 GC-7890MSD))

3.2.2. Labaratuvar cihazları:

- santfürüj nüve nf200
- elmasonic ultrasonic banyo
- tab-40 well azot evaporatörü
- dragon lab vortex
- schimadzu hassas terazi

3.3 Deneysel Bölüm

3.3.1 Çözeltilerin hazırlanması;

a) Azinfosmetil çözeltisinin hazırlanması;

Alınan 1,47 mg lık Azinfosmetil standartı 100 mL lik balon jojeye konuldu. 14,7 mL metanolde çözüldü. Balon jojenin ağzı kapatılarak 5 dk boyunca vortekslendi. Ardından ultrasonik banyoda 30 dk bekletilerek karışım homojen hale getirildi. 100 ppm lik Azinfosmetil çözeltisi hazırlandı.

b) Klorprifos çözeltisinin hazırlanması;

Pestisit standartı klorprifosdan schimadzu hassas terazisinde tartılarak 3,5 mg alındı. Tartımı yapılan standart 100 mL lik balon jojeye konuldu. 35mL metanolde çözüldü. Balon jojenin ağzı kapatılarak 5 dk boyunca vortekslendi. Ardından ultrasonik banyoda 30 dk bekletilerek karışım homejen hale getirildi.100 ppm lik klorprifos çözeltisi hazırlandı.

c) Monokrotofos çözeltisinin hazırlanması;

Alınan 4,60 mg lık Monokrotofos standartı 100 mL lik balon jojeye konuldu. 46 mL metanolde çözüldü. Balon jojenin ağzı kapatılarak 5 dk boyunca vortekslendi.Ardından ultrasonik banyoda 30 dk bekletilerek karışım homejen hale getirildi. 100 ppm lik Monokrotofos çözeltisi hazırlandı.

d) Asetik asit çözeltisi:

1 mL asetik asit pipetle alınarak 100 mL lik balon jojeye konuldu. Asetonitril ile 100 mL ye tamamlandı. Balon jojenin ağzı kapatılarak 5 dk boyunca

vortekslendi.Ardından ultrasonik banyoda 30 dk bekletilerek karışım homejen hale getirildi.

e) Hekzan-Etilasetat çözeltisi:

180 mL hekzan ve 60 mL etilasetat alınıp 250 mL lik balon jojeye konuldu. Balon jojenin ağzı kapatılarak 5 dk boyunca vortekslendi. Ardından ultrasonik banyoda 30 dk bekletilerek karışım homejen hale getirildi.

3.3.2 Biyolojik materyallerin hazırlanması

Adli tıp vakalarına ait imhaya ayrılmış mide içeriği örnekleri -20°C lik dondurucudan alınarak oda sıcaklığında çözüldü. 20 adet numune alındı. Her örnekten kullanacağımız üçer adet standart ve iki adet yöntem için toplamda 120 adet plastik deney tüpüne 1,7 mL lik mide içeriği örnekleri ependorf otomatik pipetle konuldu.

3.3.3 Deneyin yapılışı

a) 1,7 mL mide içeriği örnekleri alınarak 60 adet deney tüplerine konuldu. Daha önceden hazırlanan 100 ppm lik Azinfosmetil, Klorprifos, Monokrotofos stok çözeltilerinden 100 µL pipetle alınarak örneklere eklendi. Asetonitrilde çözülmüş %1 lik asetik asit çözeltisinden 2 mL alınarak tüplere eklendi. 1 mg Quechers ekstraksiyon tuzu (Q 150-AOAC metodu) NaOAC-MgSO₄ karışıma ilave edildi.Tüplerin kapakları kapatılarak 3 dk boyunca vortekslendi. 5000 rpm de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Tüplerdeki süpernatantlar pipetle alınarak cam deney tüplerine uçurulmak üzere konuldu.

b) Sıvı-sıvı ekstraksiyon

1,7 mL mide içeriği örnekleri alınarak 60 adet deney tüplerine konuldu. Daha önceden hazırlanan 100 ppm lik Azinfosmetil, Klorprifos, Monokrotofos stok çözeltilerinden 100 µl pipetle alınarak örneklere eklendi. Daha önceden hazırlanan hekzan- etil asetat çözeltisinden ikişer mL eklendi Tüplerin kapakları kapatılarak 3 dakika boyunca vortekslendi. 5000 rpm de 5 dk boyunca santrifüj edildi. Tüplerdeki süpernatantlar pipetle alınarak cam deney tüplerine

uurulmak üzere konuldu. Aynı işlem daha fazla geri kazanım amacıyla tekrarlandı.

c) Uçmak üzere azot evaporatörüne bırakılan 120 adet numune kuruyuncaya kadar düşük basınç altında uçuruldu.Oda sıcaklığında bir gün eker ocakta bekletildi.

3.3.4 Numunelerin GC-MS cihazına verilmek üzere hazırlanması

Numunenin cihaza hazırlanması: Uçan numunelerin üzerine 1 mL diklormetan ilave edilir. Vortekslenir 1 dk boyunca. Pipetle çekilip süzmek için enjektöre konur. Numune kaybı yaşamamak için yavaş bir şekilde 2 mL lik GC-MS vialine 0,22 m lik ptfe filtreden süzülür. Vialler GC-MS e daha önceden tespit ettiğimiz uygun metotla verildi.

3.3.5 Agilent GC-MS(5975 GC-7890MSD) metodu

Fırın Programı: 50⁰ C de 2 dakika bekletilir. Sonra dakikada 10⁰ C sıcaklık artırarak 290 ⁰ C ye getirilir.10 dk bu sıcaklıkda çalışır.Toplamda 36 dakika sürer.

Kolon: Agilent GC-MS(5975/7890) HP-5MS

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu bölümde Quechers yöntemiyle ekstraksiyonu yapılan numuneler ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulan numunelerdeki Azinfosmetil, Klorprifos, Monokrotofos miktarlarının bağıl bolluk ve benzeşme oranları tablolar halinde gösterilmiştir.

4.1 Azinfosmetil

Çizelge 4. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ve quechers ekstraksiyonlarının bağıl bolluk ve benzeşme oranı değerleri

AZİNFOS METİL				
	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon		Quechers Ekstraksiyon	
	Bağıl Bolluk (x1000)	Benzeşme Oranı (%)	Bağıl Bolluk (x1000)	Benzeşme Oranı (%)
Veri 1	25	43	8	27
Veri 2	12	27	4	23
Veri 3	15	27	8	64
Veri 4	17	27	8	50
Veri 5	20	12	10	38
Veri 6	15	32	5	38
Veri 7	12	32	8	36
Veri 8	18	16	5	36
Veri 9	15	10	8	38
Veri 10	15	10	8	25
Veri 11	15	14	6	37
Veri 12	15	10	6	32
Veri 13	15	12	7	32
Veri 14	14	25	5	34
Veri 15	15	12	10	50
Veri 16	15	16	7	37
Veri 17	12	14	3	38
Veri 18	15	10	5	27
Veri 19	12	16	7	25
Veri 20	15	12	7	23

4.2 Klorprifos

Çizelge 5. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ve quechers ekstraksiyonlarının bağıl bolluk ve benzeşme oranı değerleri

KLORPİRİFOS				
	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon		Quechers Ekstraksiyon	
	Bağıl Bolluk (x1000)	Benzeşme Oranı (%)	Bağıl Bolluk (x1000)	Benzeşme Oranı (%)
Veri 1	20	96	5	95
Veri 2	12	94	6	94
Veri 3	12	96	8	94
Veri 4	12	90	8	93
Veri 5	12	94	6	91
Veri 6	10	94	7	90
Veri 7	12	93	6	94
Veri 8	12	96	7	94
Veri 9	12	96	7	96
Veri 10	12	94	12	96
Veri 11	10	96	6	94
Veri 12	10	96	6	90
Veri 13	8	90	5	97
Veri 14	12	93	6	96
Veri 15	10	94	7	91
Veri 16	10	96	8	94
Veri 17	10	94	5	94
Veri 18	12	95	4	95
Veri 19	10	94	10	90
Veri 20	11	91	7	96

4.3 Monokrotofos

Çizelge 4. 3 Monokrotofos sıvı-sıvı ve quechers ekstraksiyonlarının bağıl bolluk ve benzeşme oranı değerleri

MONOKROTOFOS				
	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon		Quechers Ekstraksiyon	
	Bağıl Bolluk (x1000)	Benzeşme Oranı (%)	Bağıl Bolluk (x1000)	Benzeşme Oranı (%)
Veri 1	2	59	25	96
Veri 2	2	42	10	53
Veri 3	10	64	12	93
Veri 4	4	45	14	90
Veri 5	5	70	20	94
Veri 6	2	45	8	91
Veri 7	7	43	15	87
Veri 8	4	72	12	86
Veri 9	5	49	10	90
Veri 10	3	49	2	33
Veri 11	2	45	10	95
Veri 12	2	45	10	87
Veri 13	3	32	20	97
Veri 14	2	38	10	97
Veri 15	5	50	15	95
Veri 16	2	47	10	95
Veri 17	2	30	10	94
Veri 18	2	38	6	93
Veri 19	6	41	15	91
Veri 20	1	25	12	91

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışmamızda Azinfosmetil ile yaptığımız analizlerin kromotogramları EK A'da, Klorprifos analiz kromotogramları EK B'de, Monokrotofos analizlerinin kromotogramları EK C'de verilmiştir. Bu bölümde eklerde verilen analizler ve dördüncü bölümde verilen tablolar üzerinden araştırma bulguları tartışılarak, karşılaştırılarak bazı sonuçlara varılmıştır.

5.1 Azinfosmetil

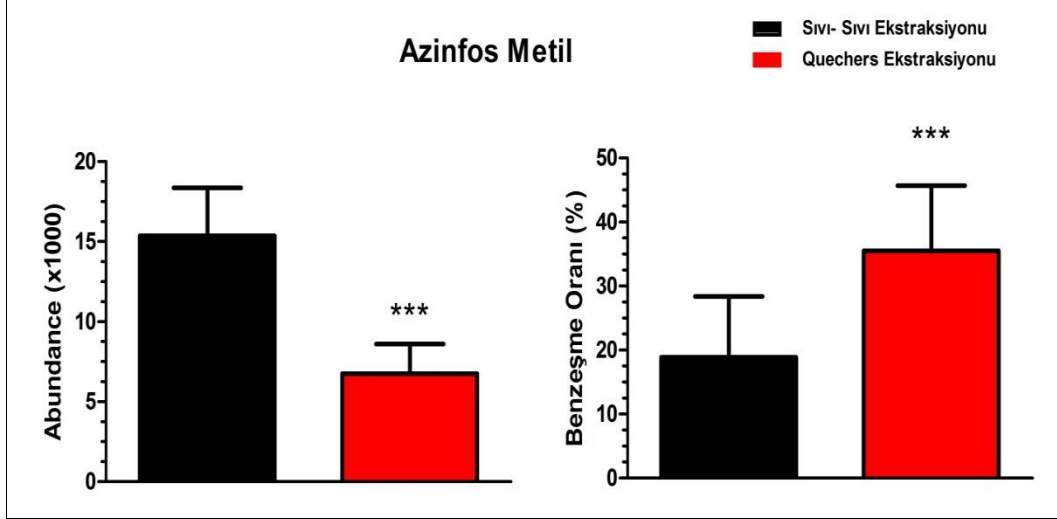
Azinfosmetil ile yapılan analizlerin sonuçlarını gösteren kromotogramlar EK A'da verilmiştir. Yapılan analizleri karşılaştırdığımızda: Şekil A.1.1.1.'deki kromotogramda bağıl bolluk değeri, Şekil A.1.1.3.'deki bağıl bolluk değerinden daha yüksektir. Fakat Şekil A.1.1.4.'deki benzeşme değeri Şekil A.1.1.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.

Şekil A.1.2.1.'in kromotogramındaki bağıl bolluk değeri, Şekil A.1.2.3.'deki bağıl bolluk değerinden yüksektir. Şekil A.1.2.2.'deki benzeşme değeri Şekil A.1.2.4.'deki benzeşme değerinden daha düşüktür.

Şekil A.1.3.1' de kromotogramda görülen bağıl bolluk değeri, Şekil A.1.3.3.'deki bağıl bolluk değerinden yüksektir. Fakat Şekil A.1.3.4.'deki benzeşme değeri Şekil A.1.3.2.'deki benzeşme değerinden büyük gözükmektedir.

Şekil A.1.4.1.'de kromotogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil A.1.4.3.'deki bağıl bolluk değerinden daha yüksektir. Şekil A.1.4.4.'deki benzeşme değeri ise Şekil A.1.4.2.'deki benzeşme değerinden bir miktar yüksektir.

Şekil A.1.5.1.'de görüldüğü üzere kromotogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil A.1.5.3.'deki bağıl bolluk değerinden daha yüksektir. Şekil A.1.5.4.'deki benzeşme değeri ise Şekil A.1.5.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.



Şekil 5. 1 Azinfosmetil bağıl bolluk ve benzeşme oranı

Azinfos Metil Quechers Ekstraksiyonu bağıl bolluk (ortalama $\pm$ SEM; 6.7 ± 1.8) ve benzeşme oranı (35.5 ± 10.1), Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu bağıl bolluk (15.4 ± 3.1) ve benzeşme oranı (18.9 ± 9.6) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p < 0.001$).

5.2. Klorprifos

Klorprifos ile yapılan analizlerin sonuçlarını gösteren kromatogramlar EK B’de verilmiştir. Yapılan analizleri karşılaştırdığımızda; Şekil B.2.1.1.’de kromatogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil B.2.1.3.’deki bağıl bolluk değerinden daha yüksektir. Fakat Şekil B.2.1.4.’deki benzeşme değeri Şekil B.2.1.2.’deki benzeşme değerinden daha yüksektir.

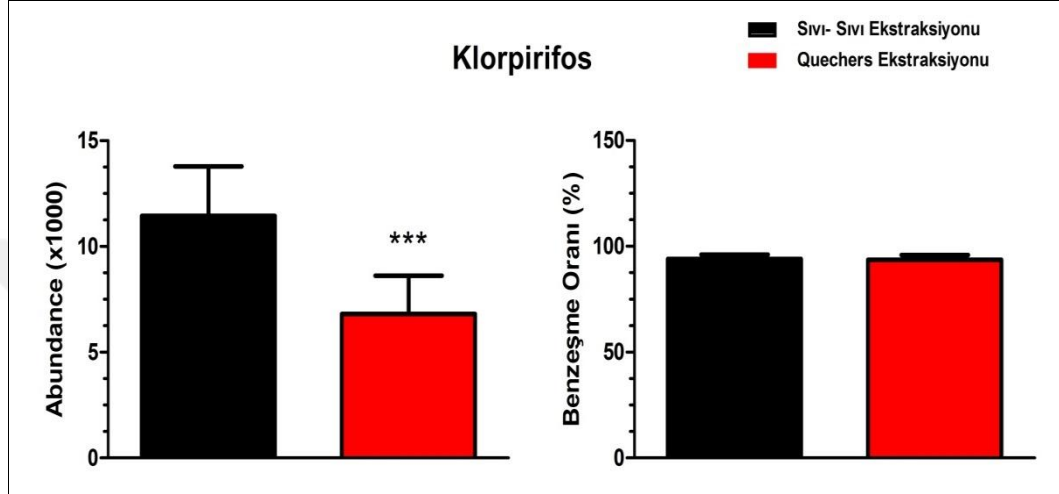
Şekil B.2.2.1.’de görüldüğü üzere kromatogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil B.2.2.3.’deki bağıl bolluk değerinden daha yüksektir. Fakat Şekil B.2.2.4.’deki benzeşme değeri Şekil B.2.2.2.’deki benzeşme değerinden yüksektir.

Şekil B.2.3.1.’de görüldüğü üzere kromatogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil B.2.3.3.’deki bağıl bolluk değerinden daha yüksektir. Fakat Şekil B.2.3.4.’deki benzeşme değeri Şekil B.2.3.2.’deki benzeşme değerinden yüksektir.

Şekil B.2.4.1.’de kromatogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil B.2.4.3.’deki bağıl

bolluk değerinden daha yüksektir. Fakat Şekil B.2.4.4.'deki benzeşme değeri Şekil B.2.4.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.

Şekil B.2.5.1.'de görüldüğü üzere kromotogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil B.2.5.3.'deki bağıl bolluk değerinden yüksek olmakla beraber Şekil B.2.5.4.'deki benzeşme değeri Şekil B.2.5.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.



Şekil 5. 2 Klorpirifos bağıl bolluk ve benzeşme oranı

Klorpirifos Quechers Ekstraksiyonu bağıl bolluk (ortalama $\pm$ SEM; 6.8 ± 1.8) ile Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu bağıl bolluk (11.5 ± 2.4) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p < 0.001$). Klorpirifos Quechers Ekstraksiyonu benzeşme oranı (93.7 ± 2.2) ve Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu benzeşme oranı (94.1 ± 1.9) arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$; $p = 0,6341$).

5.3 Monokrotofos

Monokrotofos ile yapılan analizlerin sonuçlarını gösteren kromotogramlar EK B'de verilmiştir. Yapılan analizler açısından karşılaştırdığımızda Şekil C.3.1.3.'de görüldüğü üzere kromotogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil C.3.1.1.'deki bağıl bolluk değerinden yüksektir. Şekil C.3.1.4.'deki benzeşme değeri Şekil C.3.1.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.

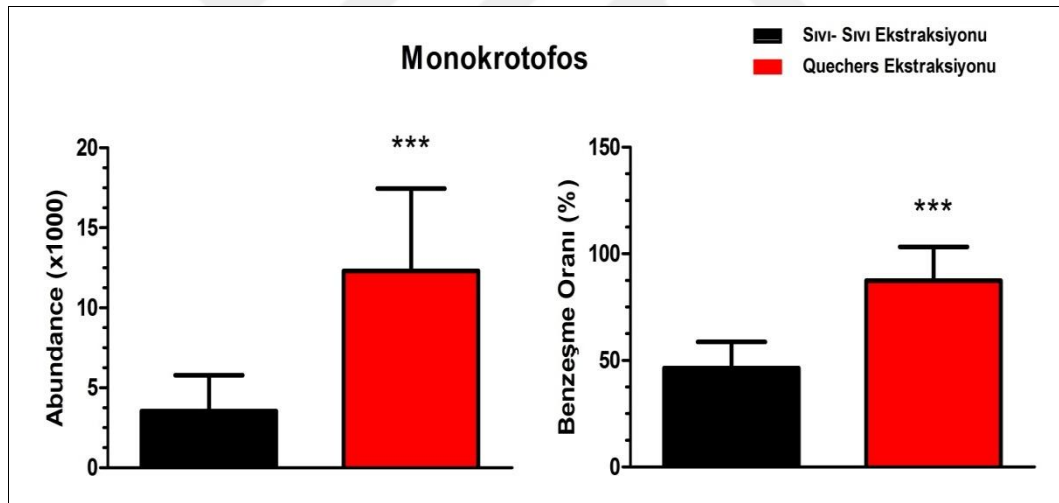
Şekil C.3.1.3.'de görüldüğü üzere kromotogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil

C.3.1.1.'deki bağıl bolluk değerinden yüksektir. Aynı zamanda Şekil C.3.1.4.'deki benzeşme değeri Şekil C.3.1.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.

Şekil C.3.1.1.'de görüldüğü üzere kromotogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil C.3.1.3.'deki bağıl bolluk değerinden yüksektir. Fakat Şekil C.3.1.4.'deki benzeşme değeri ise Şekil C.3.1.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.

Şekil C.3.1.3.'de görüldüğü üzere kromotogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil C.3.1.1.'deki bağıl bolluk değerinden yüksektir. Şekil C.3.1.4.'deki benzeşme değeri Şekil C.3.1.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.

Şekil C.3.5.1.'de görüldüğü üzere kromotogramdaki bağıl bolluk değeri, Şekil C.3.5.3.'deki bağıl bolluk değerinden oldukça düşüktür. Şekil C.3.1.4.'deki benzeşme değeri Şekil C.3.1.2.'deki benzeşme değerinden yüksektir.



Şekil 5. 3 Monokrotofos bağıl bolluk ve benzeşme oranı

Monokrotofos Quechers Ekstraksiyonu bağıl bolluk (ortalama $\pm$ SEM; 12.3 ± 5.1) ve benzeşme oranı (87.4 ± 15.8), Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu bağıl bolluk (3.5 ± 2.2) ve benzeşme oranı (46.5 ± 12.3) ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p < 0.001$).

Pestisitlerin numunelerden çekileme ve uzaklaştırılması aşamalarında uygulanan pek çok yöntem vardır. Bunların maliyet, süre, kolaylık, güvenilirlik,

evre hassasiyeti gibi ltleri göz önüne alındığında; Anastassiades ve arkadaşlarının geliştirdiği Quechers yöntemi diğer yöntemlere göre daha iyi sonuçlar vermektedir. Quechers metodunda öncelikle üzücü kullanılarak ekitleme yapılır. Ardından sodyum asetat ve magnezyum sülfat vb. tuzlar eklenerek su ortamdan alınır. Tek başına sodyum tuzları kullanılan yöntemlerde geri kazanımlar düşük seviyelerde kalmıştır. Magnezyum sülfat eklenmesi ile temiz kromotogramların oluşması, magnezyum sülfatın suyu ve kirlilikleri daha iyi tutması ile açıklanabilir. Daha sonra adsorban ile temizlik aşaması gerçekleştirilir. Pek çok pestisit ekitlemesinin başarı ile sonuçlanması tuzların oluşturduğu organik zcler ile mümkün olmaktadır. Quechers metodunun verimliliğinin yüksek olması, farklı polaritedeki pestisitlerin analizlerine imkn vermesi, çevreye duyarlı olması, zaman kazandırması gibi avantajları vardır. Yöntemin basit olması hataları da minimuma indirir. (Yavuz ve Paksoy,2016; Yiğit vd.,2012).

Meyve ve sebzeler için geliştirilen Quechers metodu günümüzde pek çok farklı alanda çeşitli modifikasyonlarla kullanılmakta ve başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Konu ile ilgili yapılan yayınların pek çoğu bu metoda atıf yapmaktadır. (Chromnews.com,2014)

Adli Tıp Laboratuvarlarında pestisit intoksikasyon vakalarının sistematik toksikolojik analizleri yapılırken pestisit etken maddelerine en çok mide içeriğinde rastlanmaktadır. Bu yüzden mide içeriğindeki kirliliklerin ve matriks etkisinin giderilmesi önem arz etmektedir. Pek çok alanda kullanılan güvenirliliği yüksek ve kolay, hızlı şekilde sonuç veren Quechers yöntemini pestisit intoksikasyon vakalarında kullanarak klasik Sıvı-Sıvı ekitleme yöntemi sonuçları ile karşılaştırdık. Araştırma bulguları bölümünde yer verdiğimiz izelge 4-1'deki verilerde görüleceği üzere Azinfosmetil'in bağıl bolluk oranı Sıvı-Sıvı ekitlemede daha yüksekken; benzeşme oranları Quechers metodunda daha yüksek çıkmıştır.

Çizelge 4-2'deki verilerde görüleceği gibi, Klorprifos'un bağıl bolluk oranı Sıvı-Sıvı ekitlemede daha yüksekken; benzeşme oranları Quechers metodunda daha

yüksek çıkmıştır.

Çizelge 4-3'deki verilerde görüleceği gibi, Monokrotofos'un bağıl bolluk oranı ve benzeşme oranları Quechers metodunda daha yüksek çıkmıştır.

Sonuç olarak, Çalışmamızda Quechers Ekstraksiyonu, Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon metodu ile maliyet, analiz süresi, analiz işlemlerinin pratikliği, analizlerin tekrarlanabilirliği, çözücü tüketiminin azlığı, elde edilen ekstraktlarda yağ ve yağ asitlerinin matriks etkisinin daha rahat giderilebilirliği, bağıl bolluk oranları ve benzeşme oranları açısından karşılaştırılmıştır. Quechers metodunda maliyet, analiz süresi, analiz işlemlerinin pratikliği, analizlerin tekrarlanabilirliği, çözücü tüketiminin azlığı, elde edilen ekstraktlarda yağ ve yağ asitlerinin matriks etkisinin daha rahat giderilebilirliği ve benzeşme oranları açısından sıvı-sıvı ekstraksiyon metoduna kıyasla daha iyi sonuçlar vermiştir. Sıvı-Sıvı ekstraksiyon metodunda Azinfosmetil ve Klorprifos standartlarıyla yapılan analizlerde daha yüksek bağıl bolluk oranlarına ulaşılmıştır. Kullanılan pestisit standartlarına ve mide içeriği örneklerine bağlı olarak farklı bulgulara ulaşılması olasıdır. Ayrıca, Quechers Ekstraksiyon metodunun Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon metoduyla istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Şekil 5.1, Şekil 5.2 ve Şekil 5.3'deki Azinfosmetil, Klorprifos ve Monokrotofos pestisit standartlarının bağıl bolluk ve benzeşme oranlarında anlamlı bir fark görülmüştür.

Adli Tıp Laboratuvarlarında pestisit intoksikasyon vakalarının sistematik toksikolojik analizleri yapılırken pestisit etken maddelerine en çok mide içeriğinde rastlanmaktadır. Bu yüzden mide içeriğindeki kirliliklerin ve matriks etkisinin giderilmesi önem arz etmektedir. Quechers metodu yüksek hassasiyeti, pratikliği ve seçiciliği nedeniyle tercih edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Açar,Ö.Ç.,2015.Pestisit analizleri. Erişim Tarihi: 10.03.2018. .
<https://gidalab.tarimorman.gov.tr/gidareferans/Belgeler/B%C3%B6l%C3%BCmler/Pestisit-Egitim-Notu2015.pdf>
- Aksu, P., 2007. Meyve ve sebzelerdeki pestisit kalıntılarının tayininde Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile Çoklu kalıntı analiz yönteminin geliştirilmesi. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Müh. A.B.D., Doktora Tezi, 389 s. İzmir.
- Anastassiades,M., Lehotay,S.J., Stajnbaher, D., Schenk,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), 412-431.
- Bayarı ,C.S., Kurttaş, T., Tezcan, L., 1998. Üç Boyutlu Yerde Yoğunluk Ölçümleri. Yerbilimleri ve Madencilik Kongresi, 2-6 Kasım, Ankara, 104-106.
- Chandrasekara, L.W.H.U.,Pathiratne, A., 2007. Body size- relateddifferences in theinhibition of brain acetylcholinesterase activity in juvenile Niletilapia (Oreochromisniloticus) by Klorprifos and carbosulfan. Ecotoxicology and Environmental Safety,67(1), 109-119.
- Durmuşoğlu, E.,Çelik, C., 2001. Türkiye’de pestisit kalıntıları üzerinde yapılan çalışmalar. Türk Entomoloji Dergisi, 25(1),65-80.
- Delen, N., Durmusoglu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A. 2005. Türkiye’dePestisit Kullanımı, Kalıntı ve Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6 ıncı Teknik Kongresi, 3 – 7 Ocak 2005,Ankara, 629-648.
- Durmuşoğlu, E., Tiryaki, O. ve Canhilal, R.,2010. Türkiye de pestisit kullanımı, kalıntı ve dayanıklılık sorunları. TMMOB-Ziraat Mühendisleri Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği 7. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak 2010, Ankara, 589-607.
- El-Aneed A, Cohen A, Banoub J. 2009. Mass Spectrometry, Review of the Basics: Electrospray, MALDI, and Commonly Used Mass Analyzers. Applied Spectroscopy Reviews,44(3), 210-230.
- Hercegova, A., Domotorova, M., Kruzlicova, D., Matisova, E.,2006. Comparison of sample preparation methods combined with fast gas chromatography-mass spectrometry for ultratrace analysis of pesticide residues in baby food, J. Sep. Sci. 29,1102-1109.
- Girón-Pérez, M.I.,Barcelós-García, R., Vidal-Chavez, Z. G., Romero-Bañuelos, C. A., Robledo-Marenco, M.L., 2006. Effect of Klorprifos on the hematology and

phagocytic activity of Nile tilapia cells (*Oreochromis niloticus*). Toxicology Mechanisms and Methods, 16(9), 495-499.

Grob K., 1987. On-Column Injection in Capillary Gas Chromatography. Dr. Alfred Heuthig GmbH, 591 s., Heidelberg.

Grob K., 1993. Split and Splitless Injection in Capillary GC. Huthig Buch Verlag, 547s., Heidelberg.

Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., 1997. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak dizisi No:52, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 173 s., Ankara.

Gündüz, S.G., Yılmaz, F.Ö., Baştürk, Ö., 2012. Klorprifosun *Cyprinus carpio* (L., 1758) Üzerine Akut Toksisitesi. Yunus Araştırma Bülteni, 2012 (1), 8-12.

Kammerbauer, J., Moncada, J., 1998. Pesticide residue assessment in three selected agricultural production systems in the Choluteca River Basin of Honduras. Environmental Pollution, 103(2-3), 171-181.

Karaca, İ., Ay, R. ve Karaca, G., 2005. Pestisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki etkileri. Hasad, Bitkisel Üretim, 21(245), 86-89.

Karakaya, M., Boyraz, N., 1992. Gıda Kirlenmesinde Pestisitler ve Korunma Yolları. Ekoloji Çevre Dergisi 1(4), 11-15.

Kavitha, P., Venkateswara, R.J., 2007. Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquitofish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. Pesticide Biochemistry and Physiology, 87(2), 182-188.

Laskin J., Lifshitz C., 2006. Principles of Mass Spectrometry Applied to Biomolecules. John Wiley and Sons, 687s., New York.

Lozowicka B., Mojsaka, P., Jankowska, M., Kaczynski, P., Hrynko, I., Rutkowska, E., Szabunko, J., Borusiewicz, A., 2016. Toxicological studies for adults and children of insecticide residues with common mode of action (MoA) in pome, stone, berries and other small fruit. Science of the Total Environment, 566-567, 144-156.

Mbughuni, M.M., Jannetto, P.J., Langman, L.J., 2016. Mass spectrometry applications for toxicology. Journal of The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 27(4), 272-287.

Monocrotophos

Erişim

Tarihi: 10.08.2018.

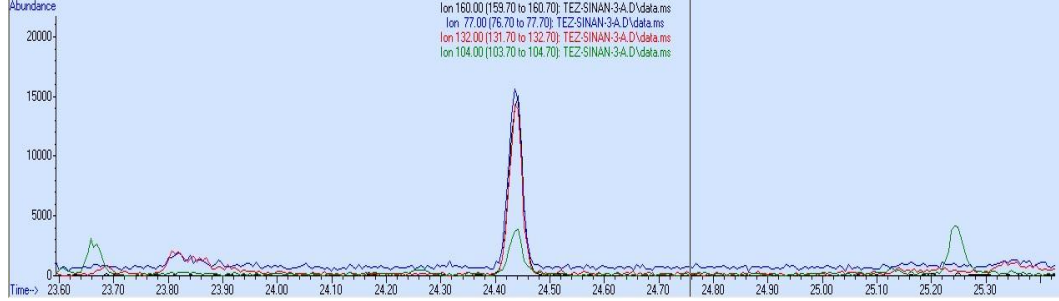
<https://wikivisually.com/wiki/Monocrotophos>

- Pestisit Analizinde Numune Hazırlamak Artık Çok Kolay!. 2014. Erişim Tarihi:10.03.2018. <https://www.chromnews.com/tr-tr/pestisit-analizinde-numune-hazirlamak-artik-cok-kolay/>.
- Oellig,Claudia, 2016.Acetonitrile extraction and dual-layer solid phase extraction clean-upfor pesticide residue analysis in propolis. Journal of Chromatography A,1445,19-26.
- Öterler,B.,2009. 3 Tatlı Su Fitoplankton Türünün (Chlorella Vulgaris Beij. 1890, Scenedesmus Quadricauda (Turpin) bréb. 1835 ve cyclotella meneghiniana kütz. 1844) Gelişimi Üzerine 5 Farklı Pestisit (Azinphos-Methyl, Malathion, Parathion-Ethyl, Terbufos, Trichlorfon) Toksisitesi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi,125s,Edirne.
- S.J. Lehotay, A.Kok, M. Hiemstra, P. van Bodegraven,2005. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection J. AOAC Int.,88 (2) 595-614.
- S.J. Lehotay, K. Mastovska, A.R. Lightfield, 2005.Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables, J. AOAC Int. ,88 (2) 615-629.
- S.J. Lehotay, K. Mastovska, S.J. Yun,2005. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes., J. AOAC Int., 88 (2), 630-638.
- Schenk,F.J., Hobbs,J.E., 2004.Evaluation of the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (Quechers) approach to pesticide residue analysis. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,73(1) 24-30.
- Speed,D.J., Dickson,S.J., Cairns,E.R., Kim,N.D., 2000. Analysis of six anticonvulsant drugs using solid-phase extraction, deuterated internal standards, and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Analytical Toxicology, 24 (8) 685-690.
- Stashenko,E. ve Martínez J.R. 2014. Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Advances in Gas Chromatography Xinghua Guo, IntechOpen, Erişim Tarihi: 18.07.2018. <https://www.intechopen.com/books/advances-in-gas-chromatography/gas-chromatography-mass-spectrometry>
- Su Yönetimi Genel Müdürlüğü ,2018. GC-GCMS_Uygulamaları. Erişim Tarihi: 18.08.2018. http://suyonetimi.ormansu.gov.tr/Libraries/su/GC-GCMS_Uygulamalar%C4%B1.sflb.ashx
- Tiryaki, O.,2016. Türkiye’de yapılan pestisit kalıntı analiz ve çalışmaları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 32(1),72-82.

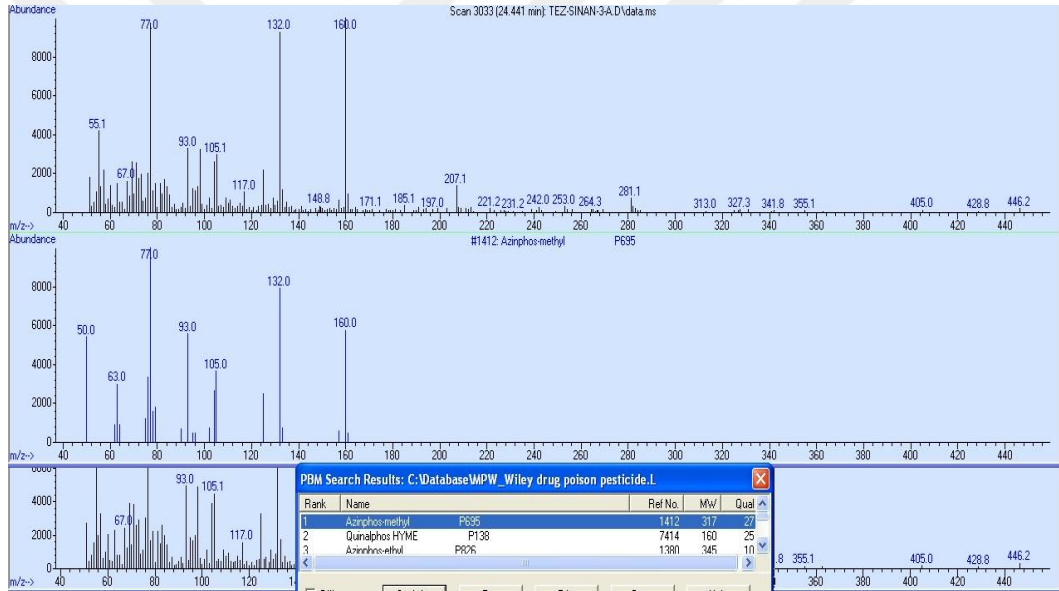
- Tiryaki, O. ve Temur, C., 2010. The fate of pesticide in the environment. Journal of Biological and Environmental Sciences,4(10), 29-38.
- Tutuş, R.,2016. Oreochromis Niloticus'un Karaciğer Dokusundaki Antioksidan Sistemler Ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Chlorpyrifos,Emamectin Benzoate Ve Abamectin Türü Pestisitlerin Etkiler. Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi,87s,Adıyaman.
- Türel, F.Ç.,2007. Farklı Toprak Tiplerinde Chlorpyrifos ve Primer Metaboliti TcP'nin Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Özelliklerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi,158s,Ankara.
- Ulrich, S., Isensee, T., Pester, U.,1996. Simultaneous determination of amitriptyline, nortriptyline and four hydroxylated metabolites in serum by capillary gas-liquid chromatography with nitrogen-phosphorus-selective detection. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 685(1), 81-89.
- Venkateswara, R.J., Shilpanjali, D., Kavitha, P., Madhavendra, S.S., 2003. Toxic effects of profenofos on tissue acetylcholinesterase and gill morphology in euryhaline fish, Oreochromis mossambicus. Archives of Toxicology. 77(4), 227- 232.
- Venkateswara, R.J., 2004. Effects of monocrotophos and its analogs in acetylcholinesterase activity's inhibition and its pattern of recovery on euryhaline fish, Oreochromis mossambicus. Ecotoxicology and Environmental Safety, 59(2), 217-222.
- Venkateswara, R.J., Ghousia, B., Pallela, R., Umsan, P.K. And Nageswara Rao, R., 2005. Change in behaviour and brain acetylcholinesterase activity in mosquito fish, Gambusia affinis in response to the sub-lethal exposure to Chlorpyrifos. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2(3), 478-483.
- Vural, N., 2005, Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Basımevi, 659 s, Ankara.
- Xian F, Hendrickson CL, Marshall AG. 2012. High Resolution Mass Spectrometry. Analytical Chemistry, 84, 708-719.
- Yarsan, E, 2015. Pestisitlerin insan ve hayvan sağlığına olumsuz etkileri. Ordu'da Gıda Güvenliği, 9(25), 2-8.
- Yavuz, O., Aksoy, A., 2016. Pestisit Analizlerinde Kullanılan Metotlar. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol. 2(2), 89-100.
- Yiğit, N., Öktem, A. B. ve Yentür, G., 2012. Bazı meyve ve sebzelerde pestisit kalıntılarının analizinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile çoklu kalıntı analiz metodunun geliştirilmesi. Bitki Koruma Bülteni, 52(4), 375-394.

EKLER

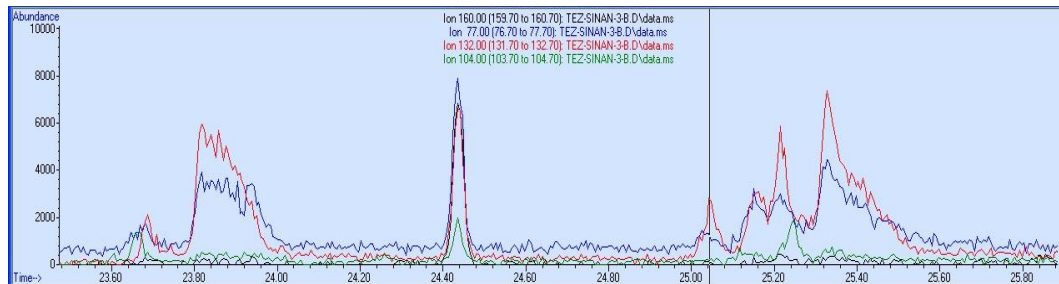
EK A. Azinfosmetil Kromotogramları



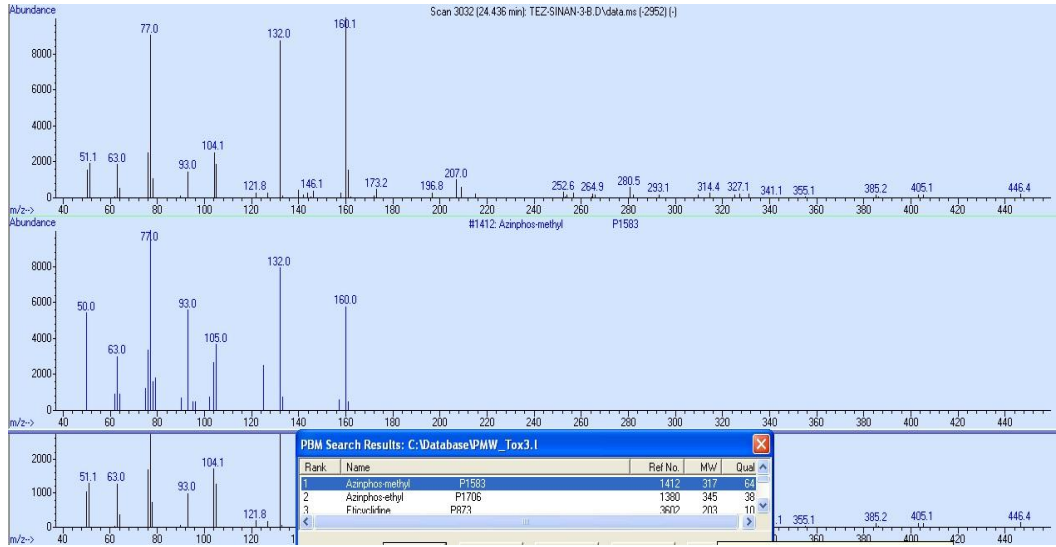
Şekil A.1.1. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



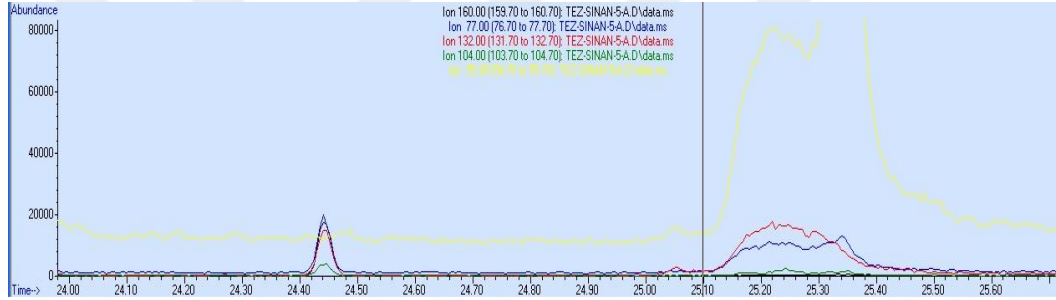
Şekil A.1.1. 2 Azinfosmetil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



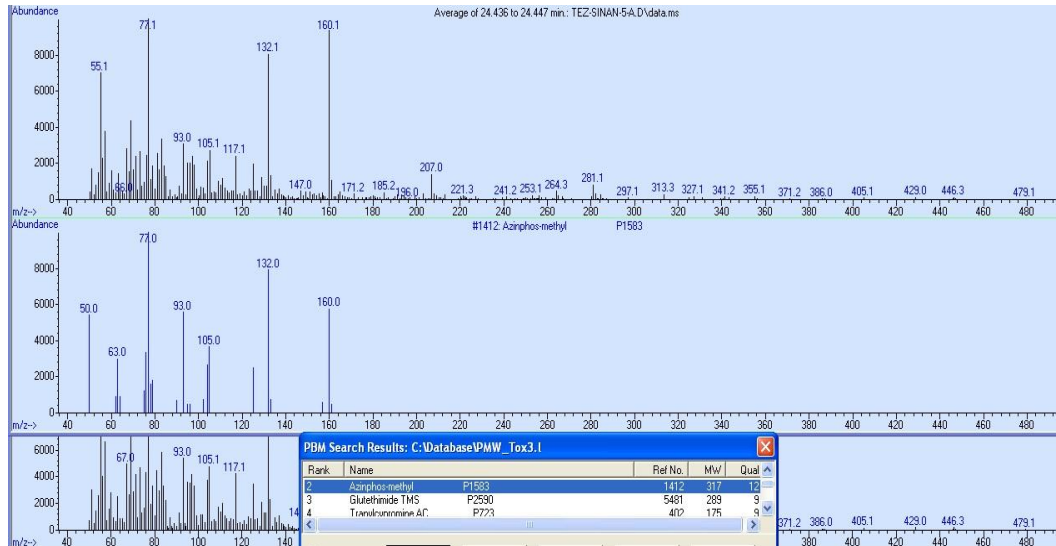
Şekil A.1.1. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı



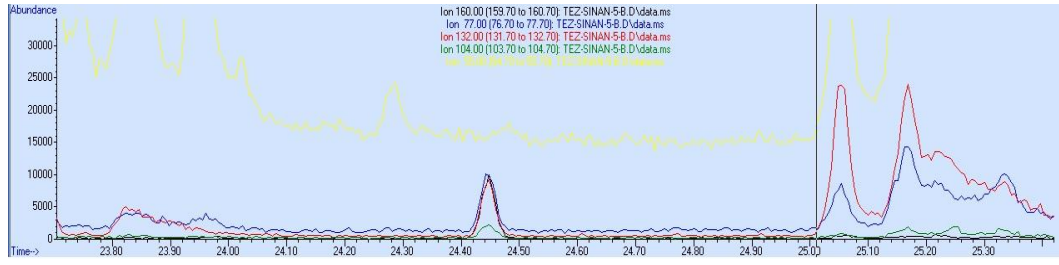
Şekil A.1.1. 4 Azinfosmetil quechers ekstraksiyon spektrumu



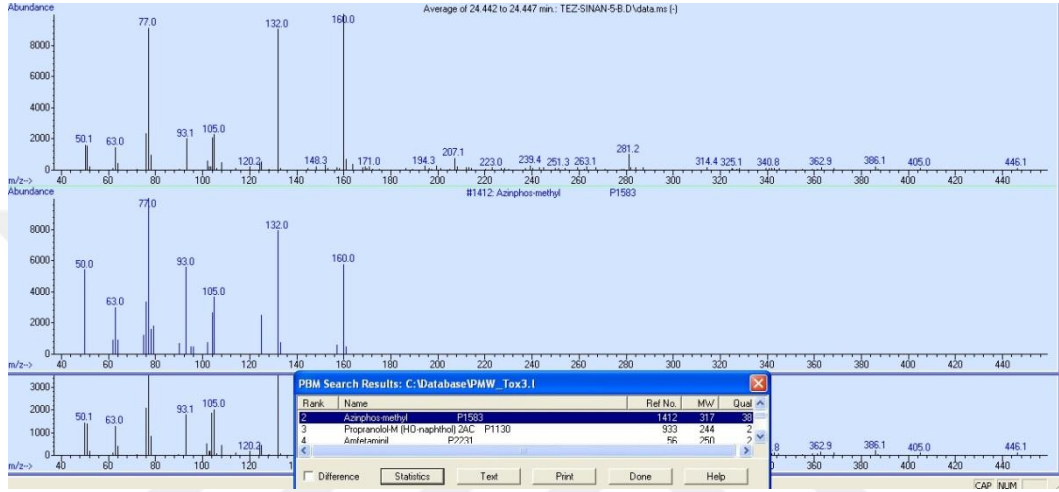
Şekil A.1.2. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromatogramı



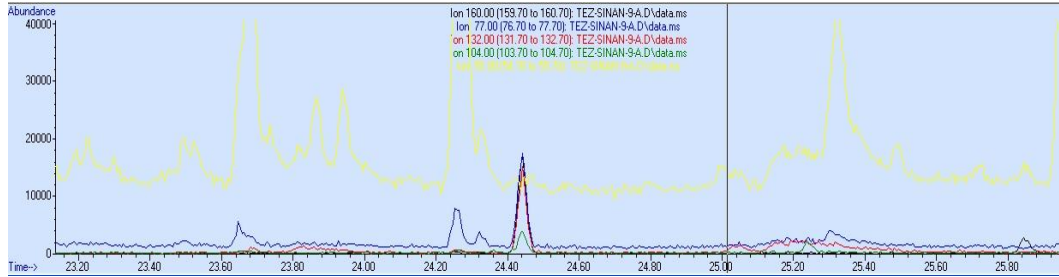
Şekil A.1.2. 2 Azinfosmetil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



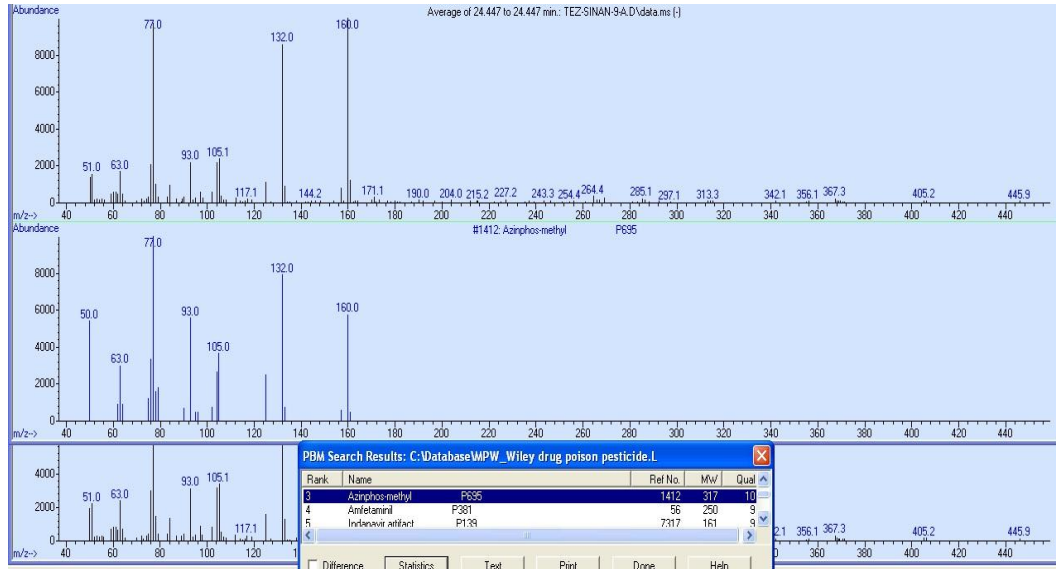
Şekil A.1.2. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı



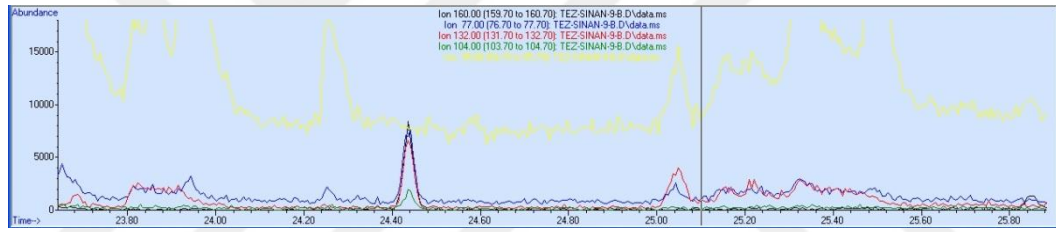
Şekil A.1.2. 4 Azinfos metil quechers ekstraksiyon spektrumu



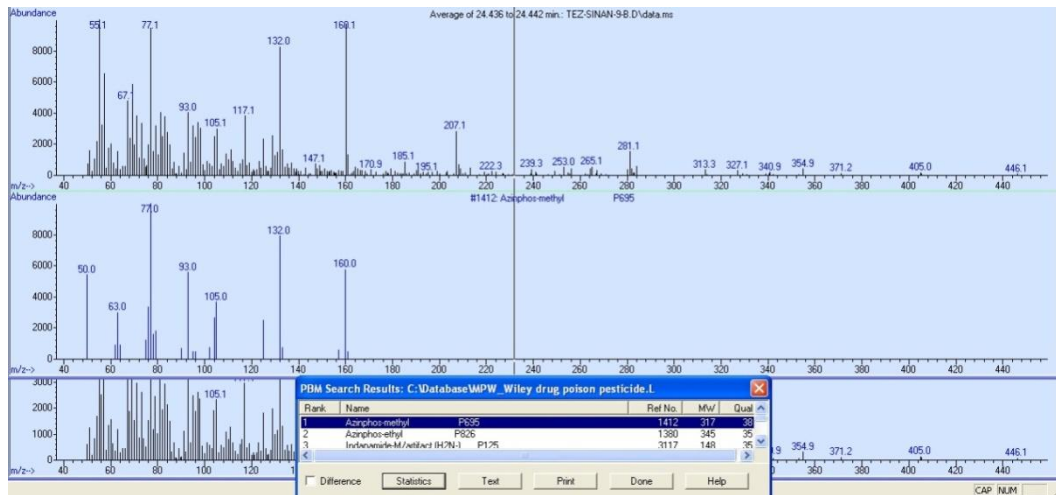
Şekil A.1.3. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



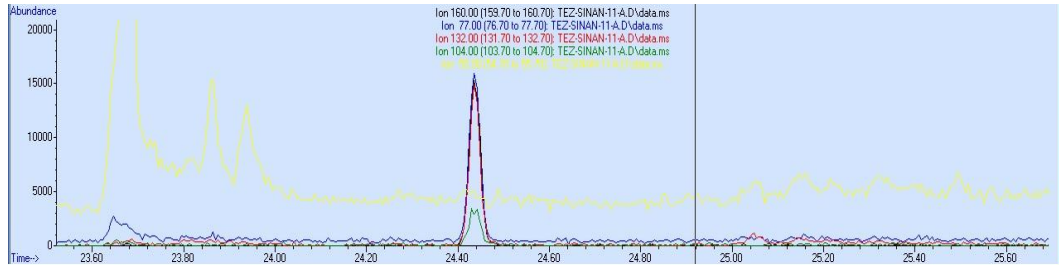
Şekil A.1.3. 2 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



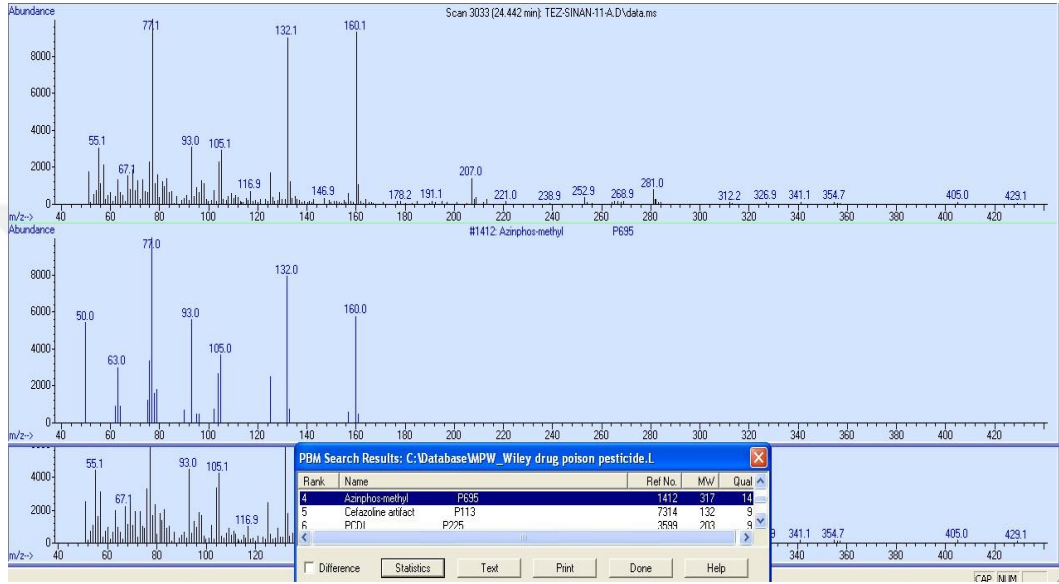
Şekil A.1.3. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı



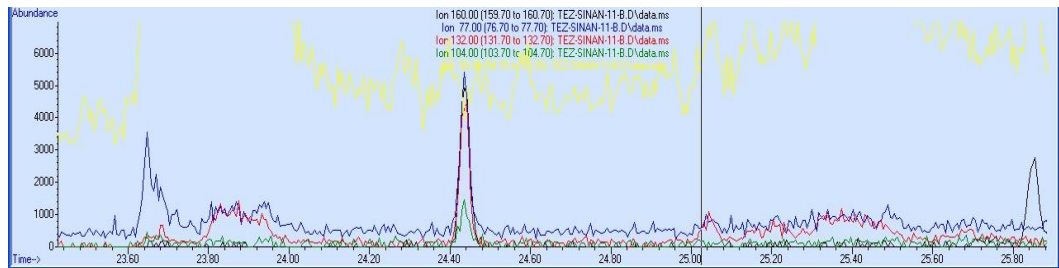
Şekil A.1.3. 4 Azinfos metil quechers ekstraksiyon spektrumu



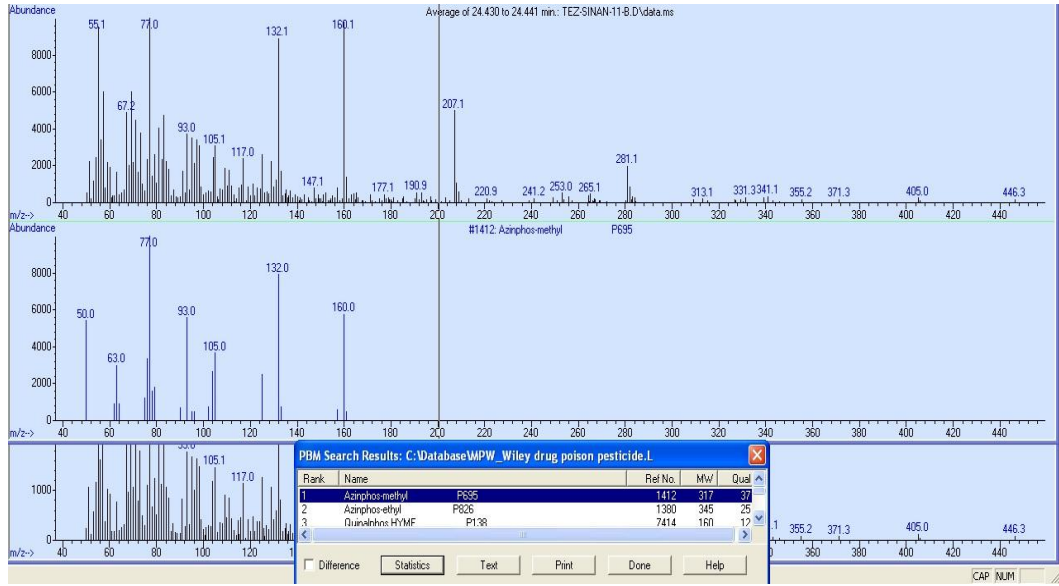
Şekil A.1.4. 1 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



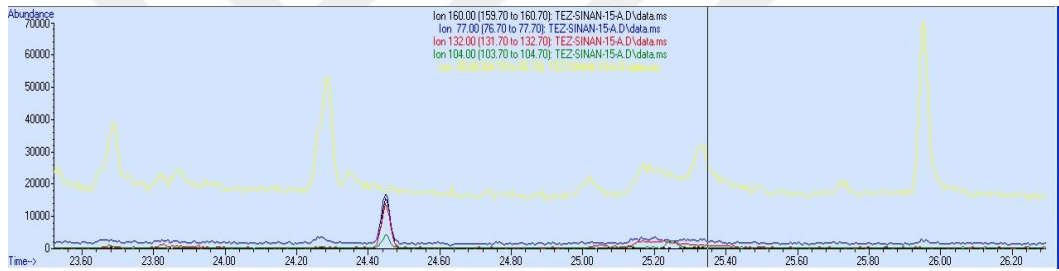
Şekil A.1.4. 2 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



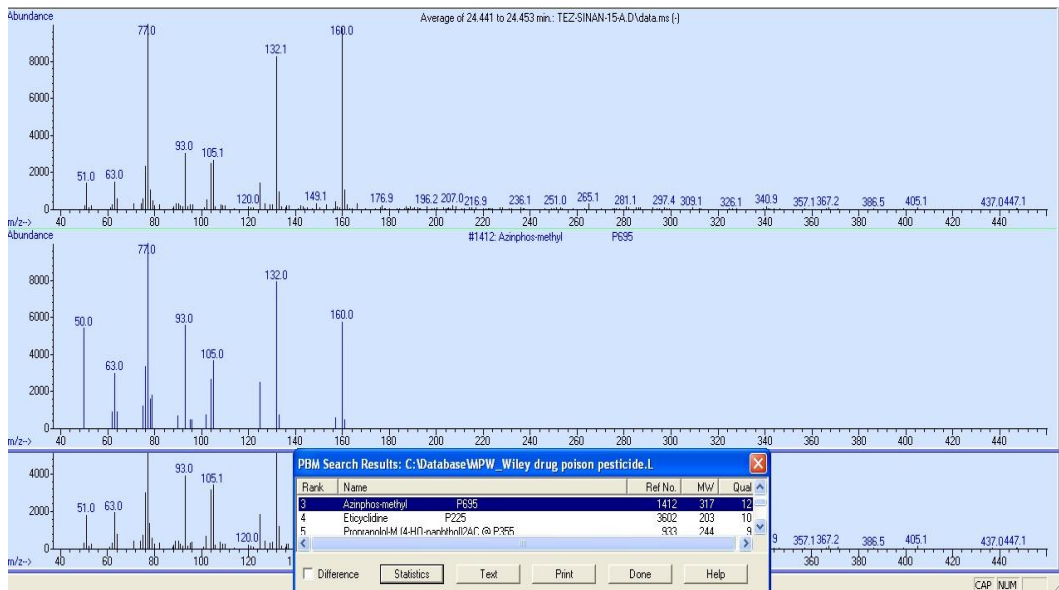
Şekil A.1.4. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı



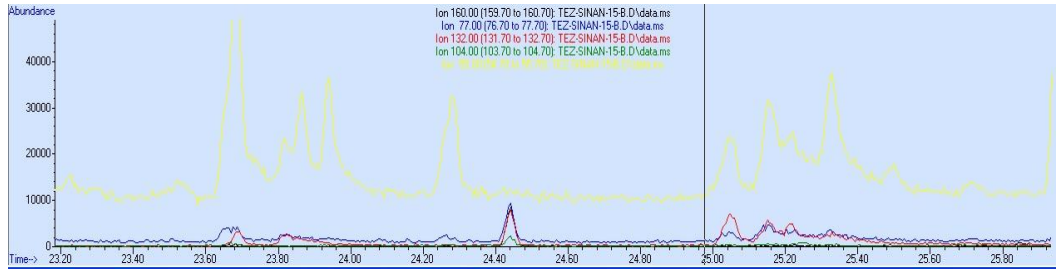
Şekil A.1.4. 4 Azinfos metil quechers ekstraksiyon spektrumu



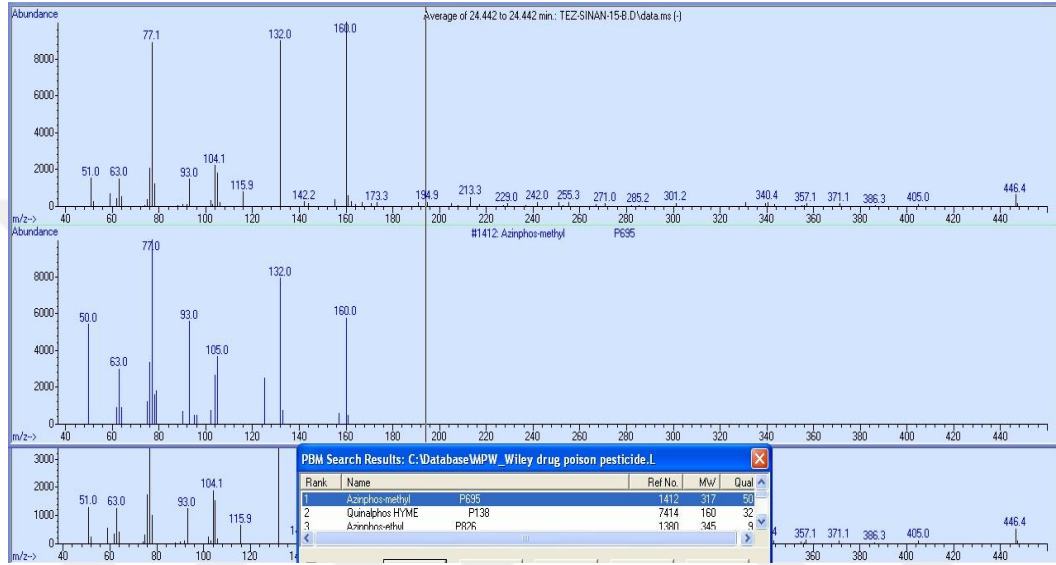
Şekil A.1.5. 1Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



Şekil A.1.5. 2 Azinfos metil sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu

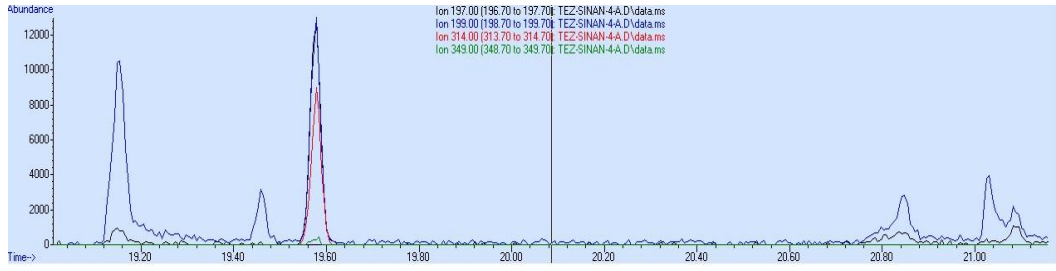


Şekil A.1.5. 3 Azinfos metil quechers ekstraksiyon kromotogramı

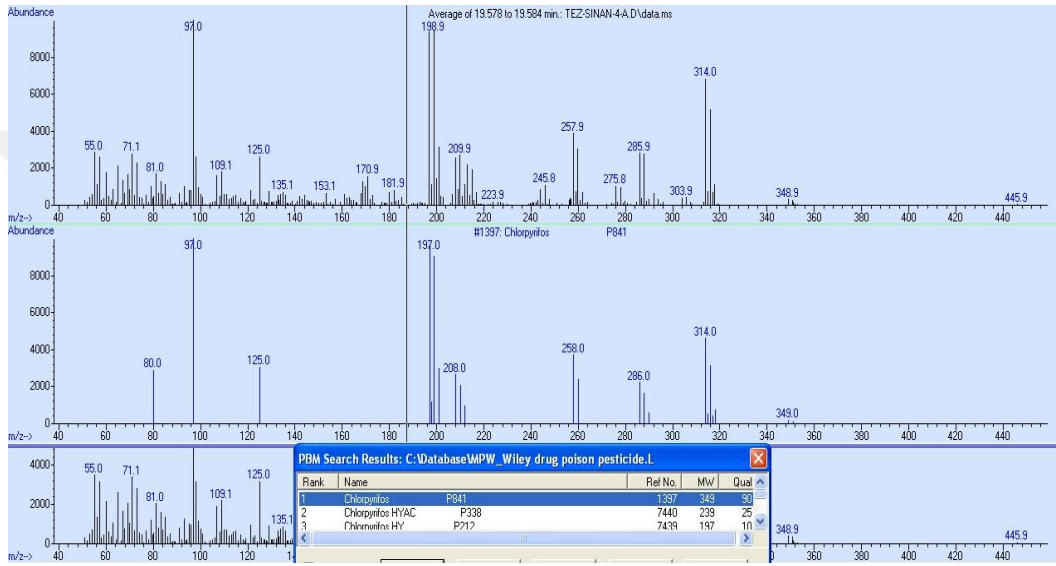


Şekil A.1.5. 4 Azinfos metil quechers ekstraksiyon spektrumu

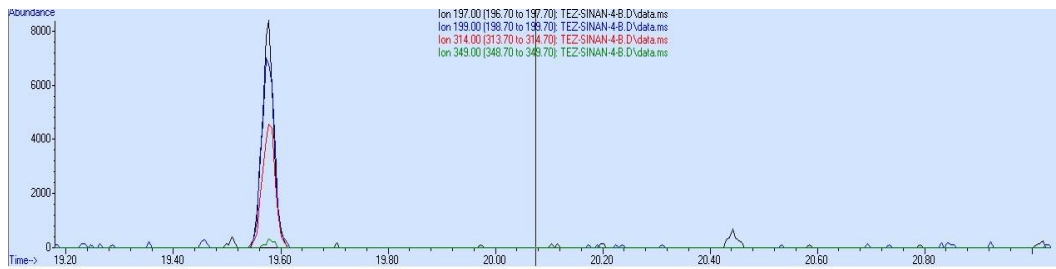
EK B. Klorprifos Kromotogramları



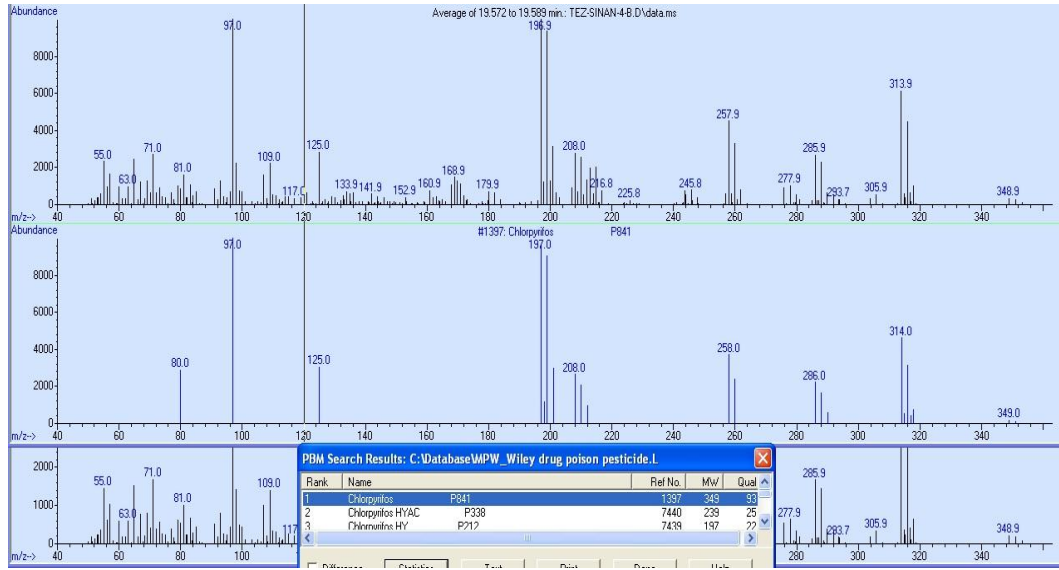
Şekil B.2.1. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



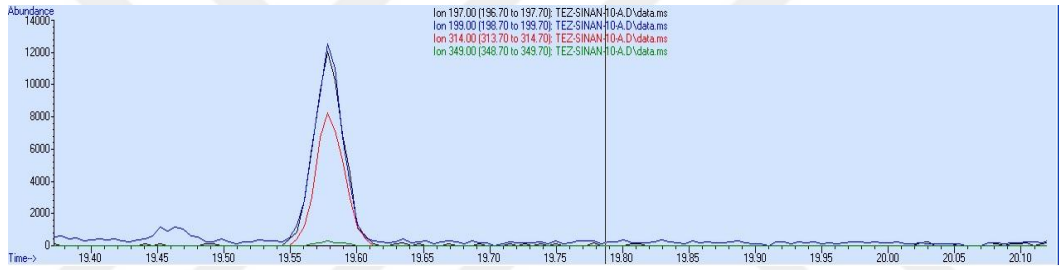
Şekil B.2.1. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



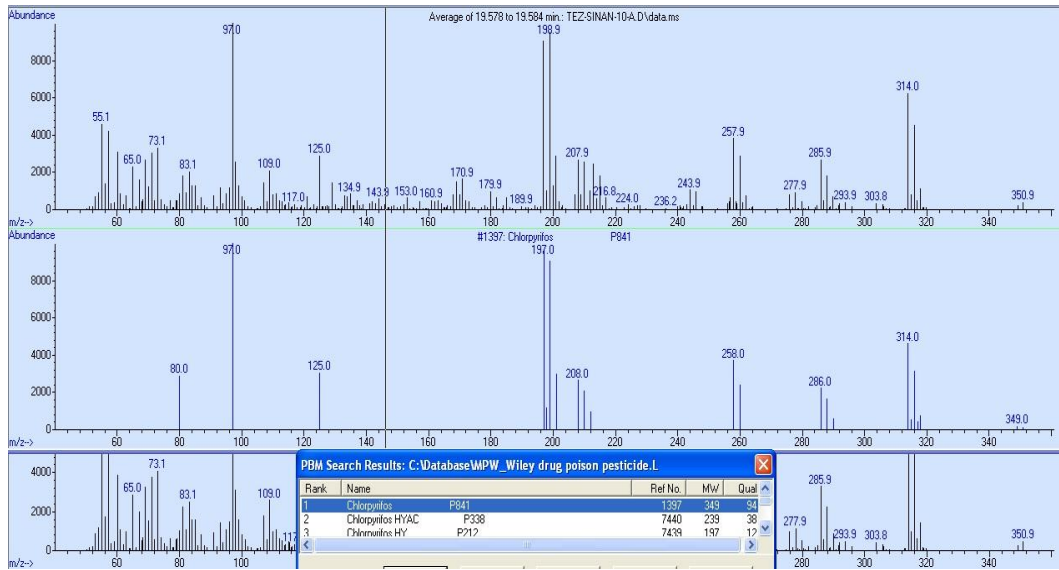
Şekil B.2.1. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı



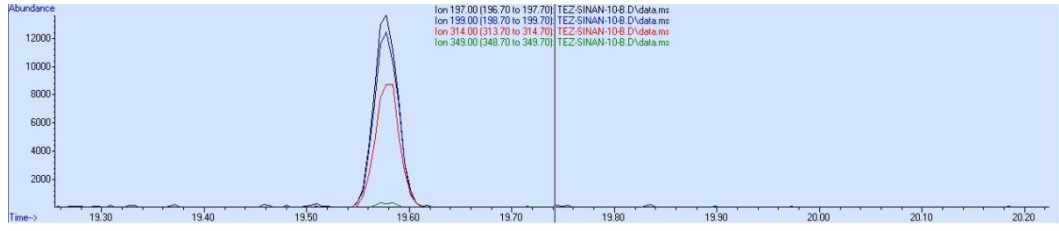
Şekil B.2.1. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu



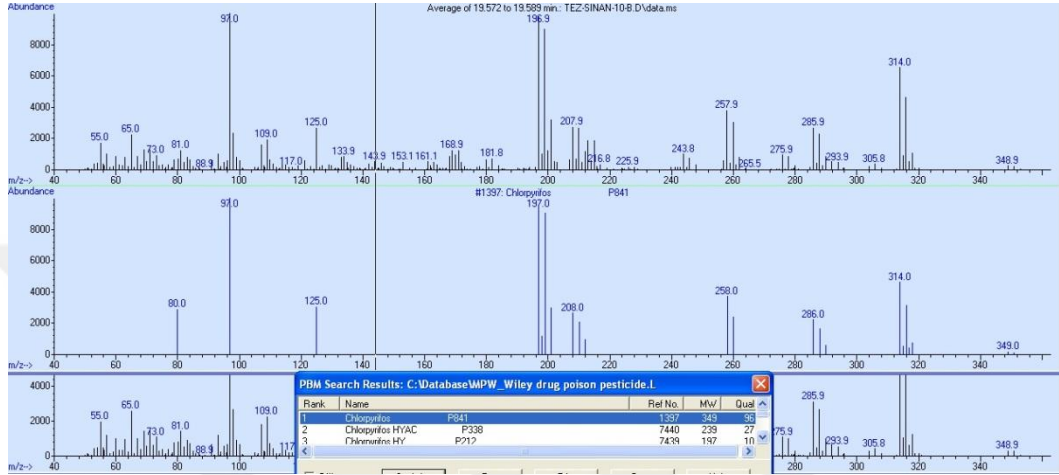
Şekil B.2.2. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



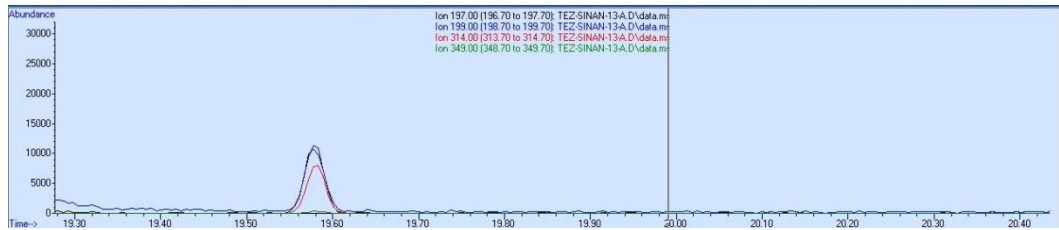
Şekil B.2.2. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



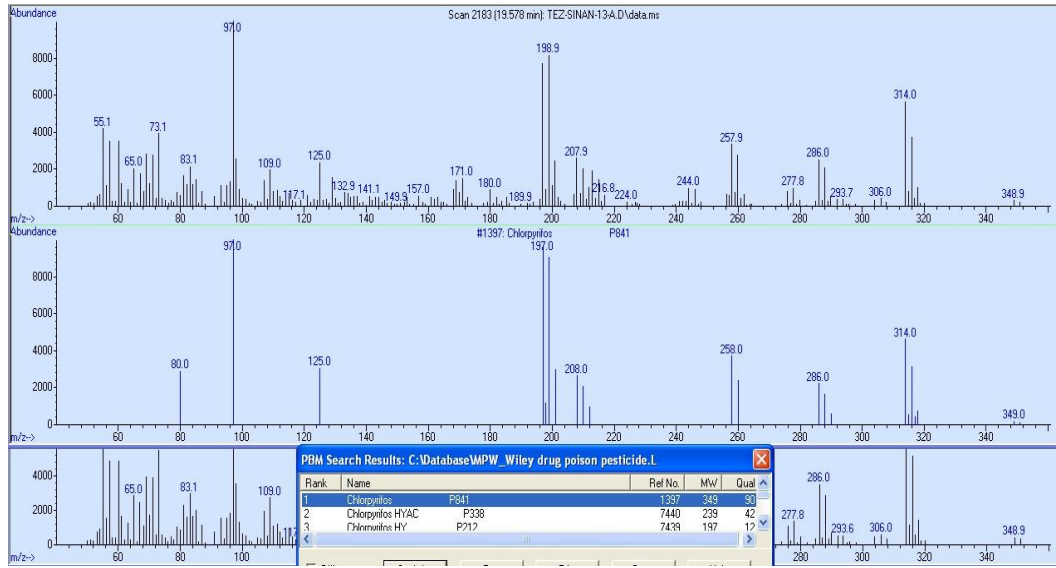
Şekil B.2.2. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı



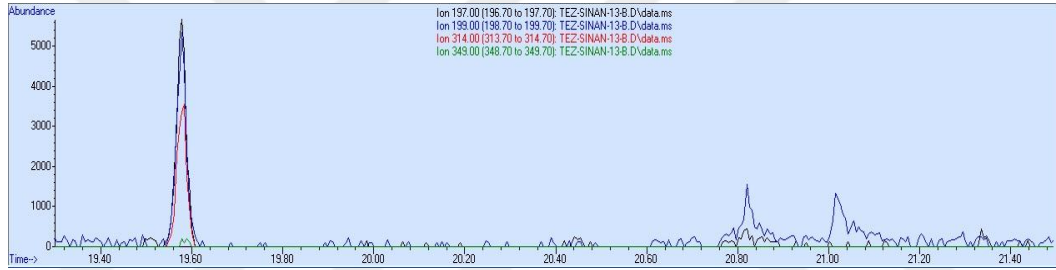
Şekil B.2.2. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu



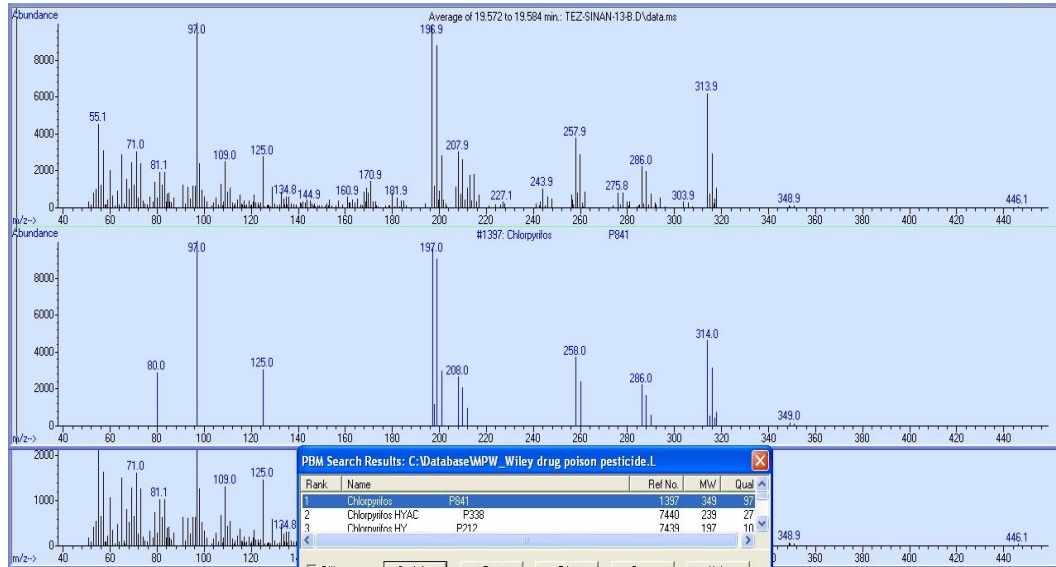
Şekil B.2.3. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



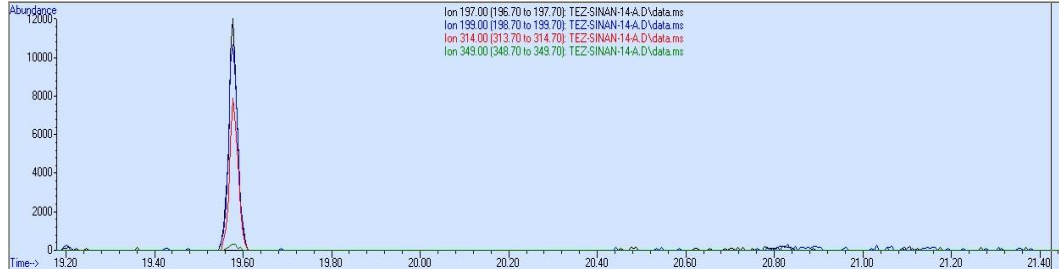
Şekil B.2.3. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



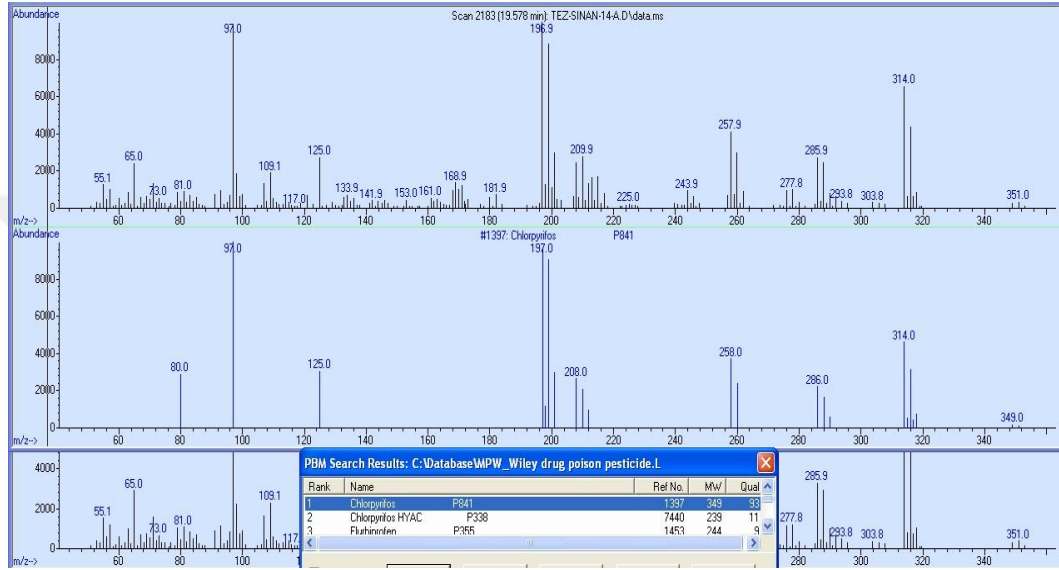
Şekil B.2.3. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı



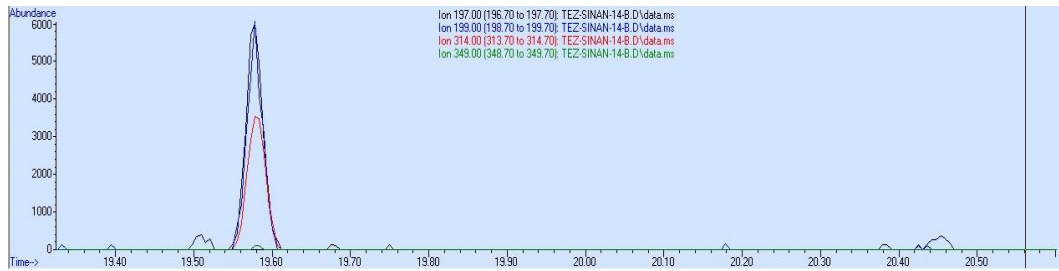
Şekil B.2.3. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu



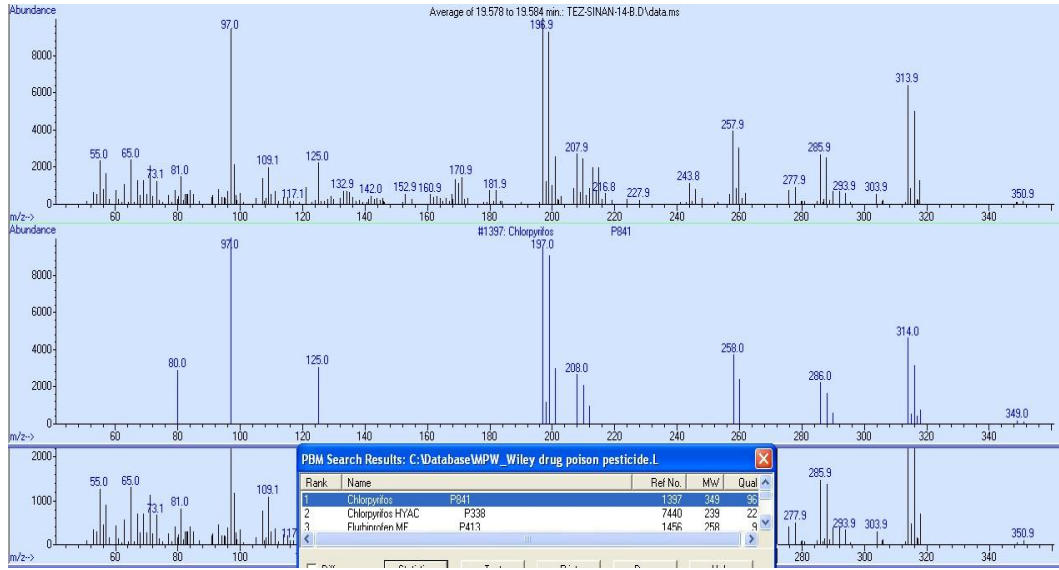
Şekil B.2.4. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



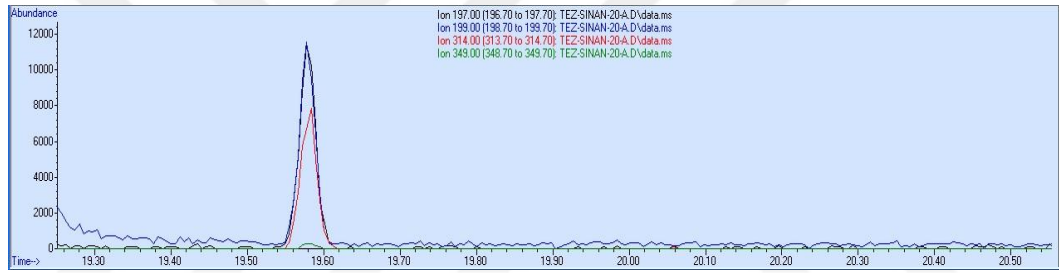
Şekil B.2.4. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



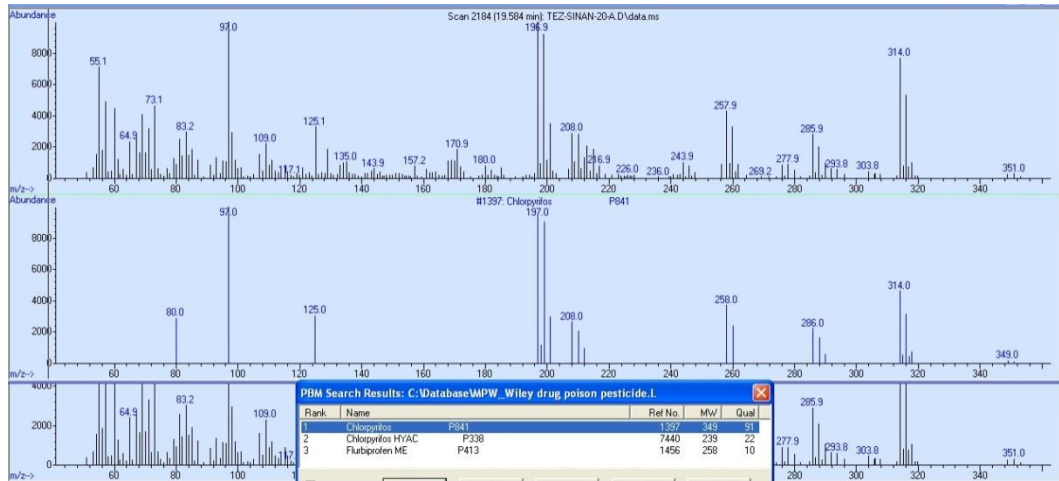
Şekil B.2.4. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı



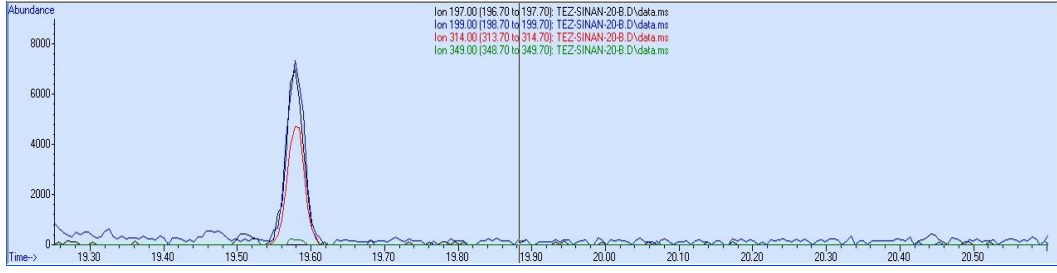
Şekil B.2.4. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu



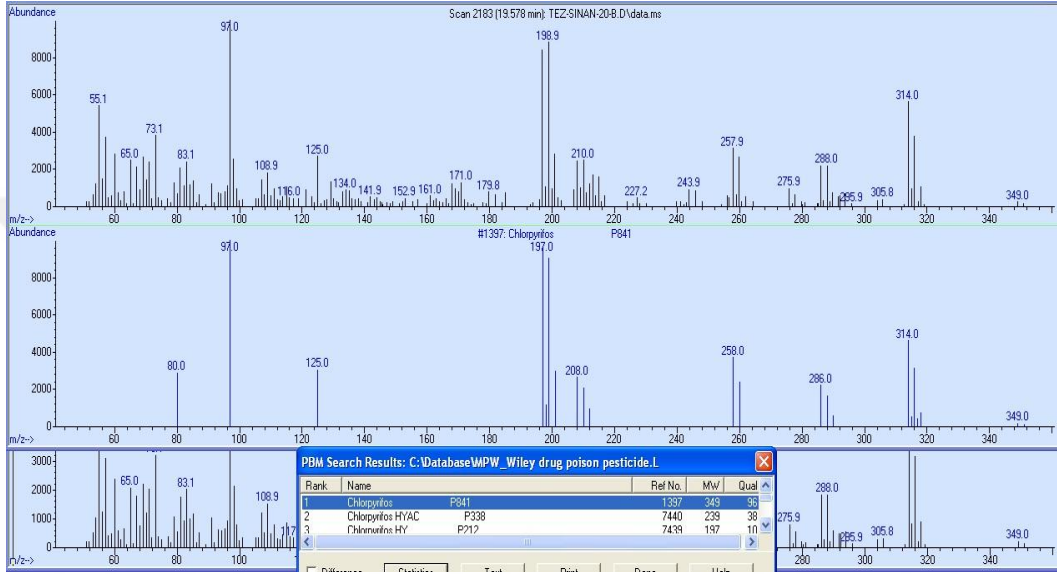
Şekil B.2.5. 1 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



Şekil B.2.5. 2 Klorprifos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu

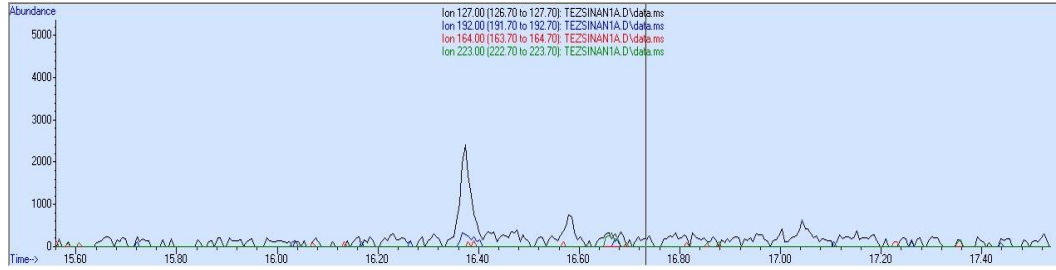


Şekil B.2.5. 3 Klorprifos quechers ekstraksiyon kromotogramı

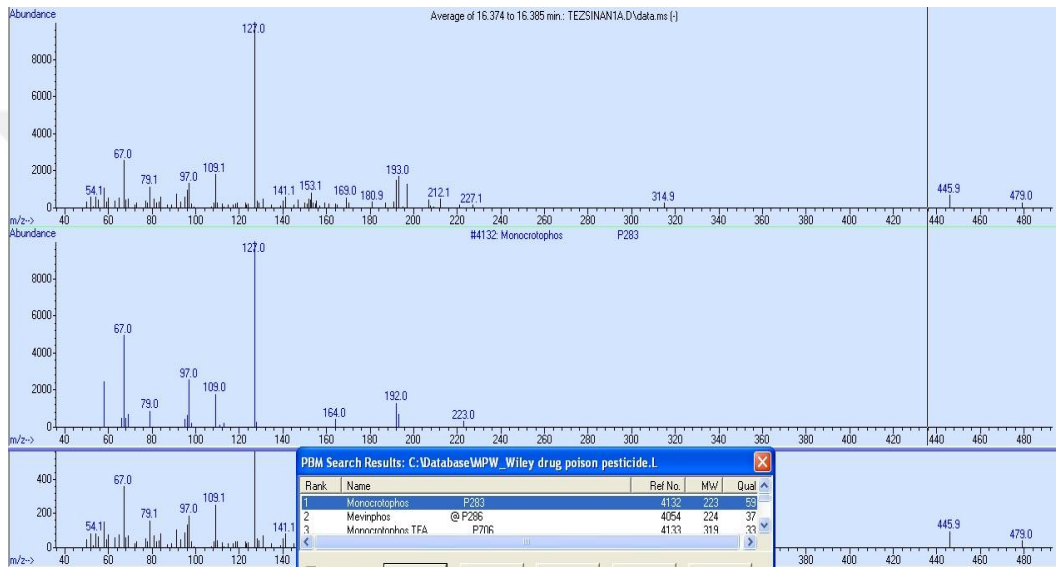


Şekil B.2.5. 4 Klorprifos quechers ekstraksiyon spektrumu

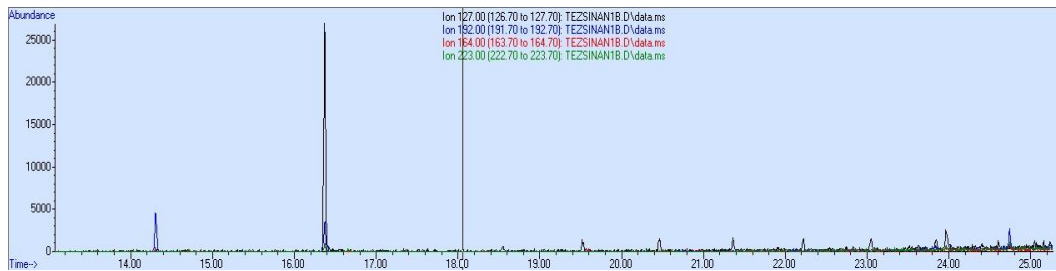
EK C. Monokrotofos Kromotogramları



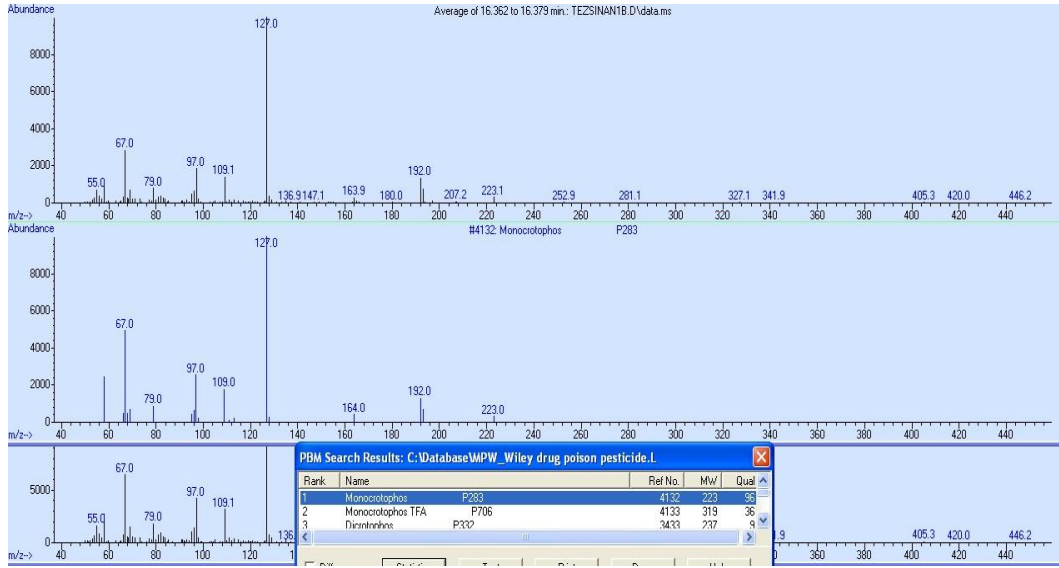
Şekil C.3.1. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



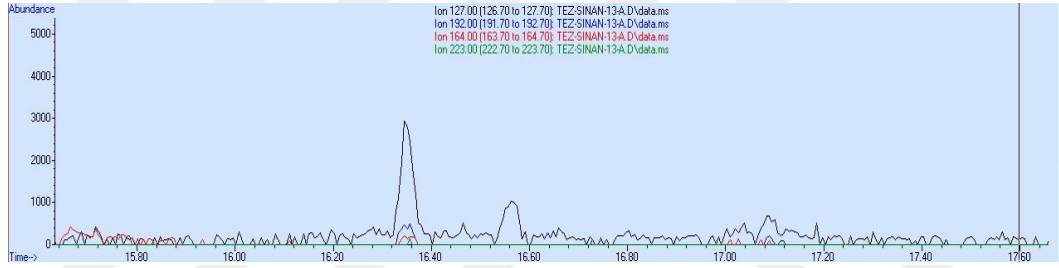
Şekil C.3.1. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



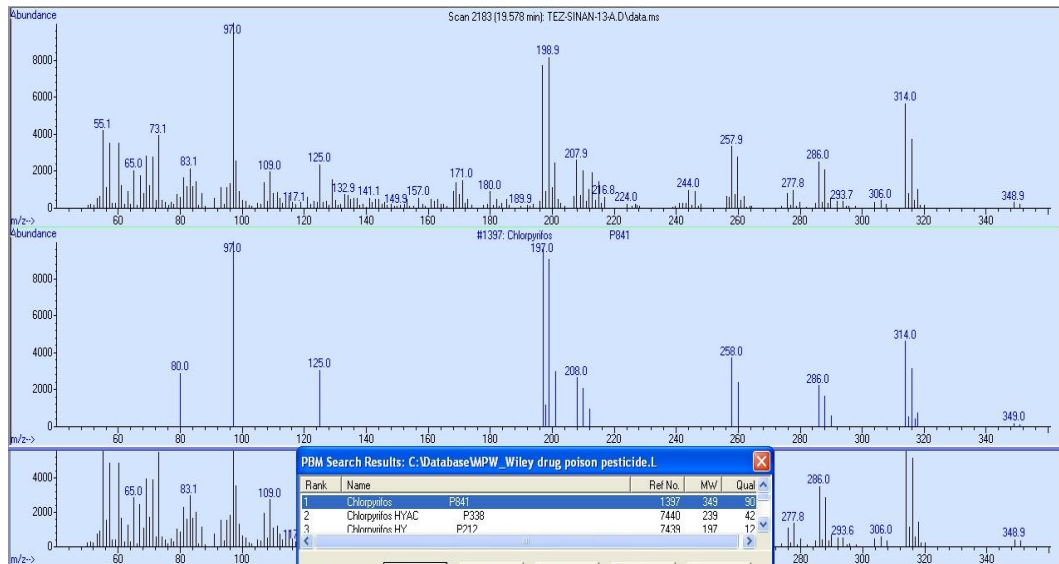
Şekil C.3.1. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı



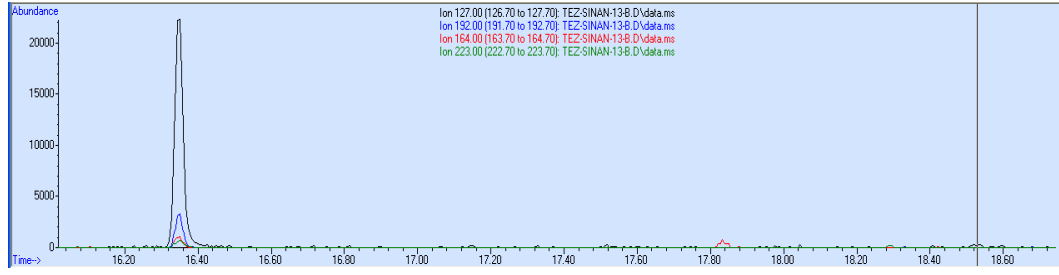
Şekil C.3.1. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu



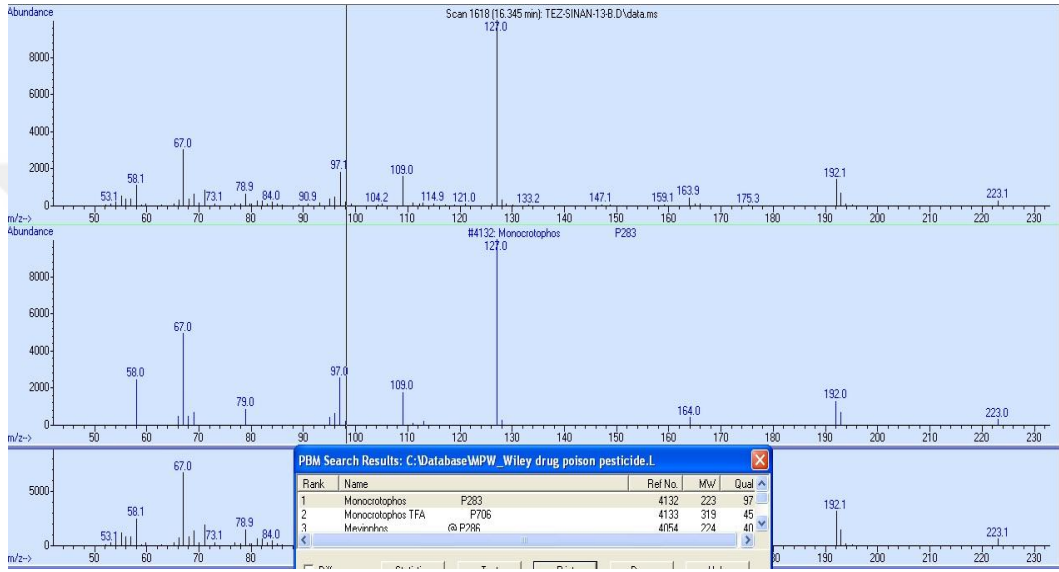
Şekil C.3.2. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



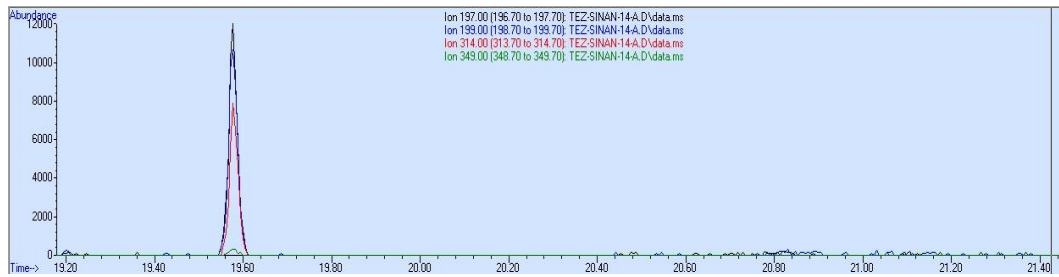
Şekil C.3.2. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



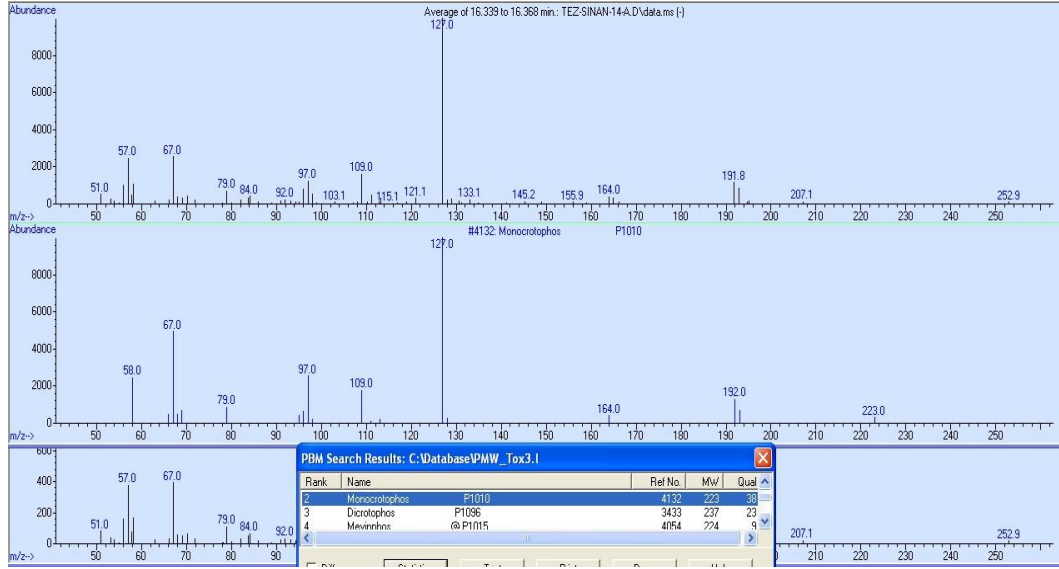
Şekil C.3.2. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı



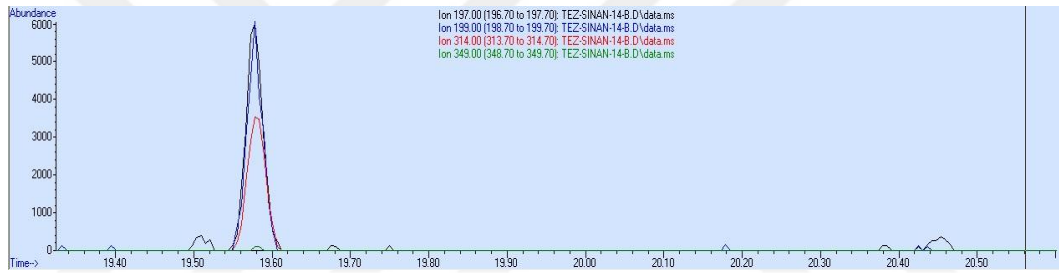
Şekil C.3.2. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu



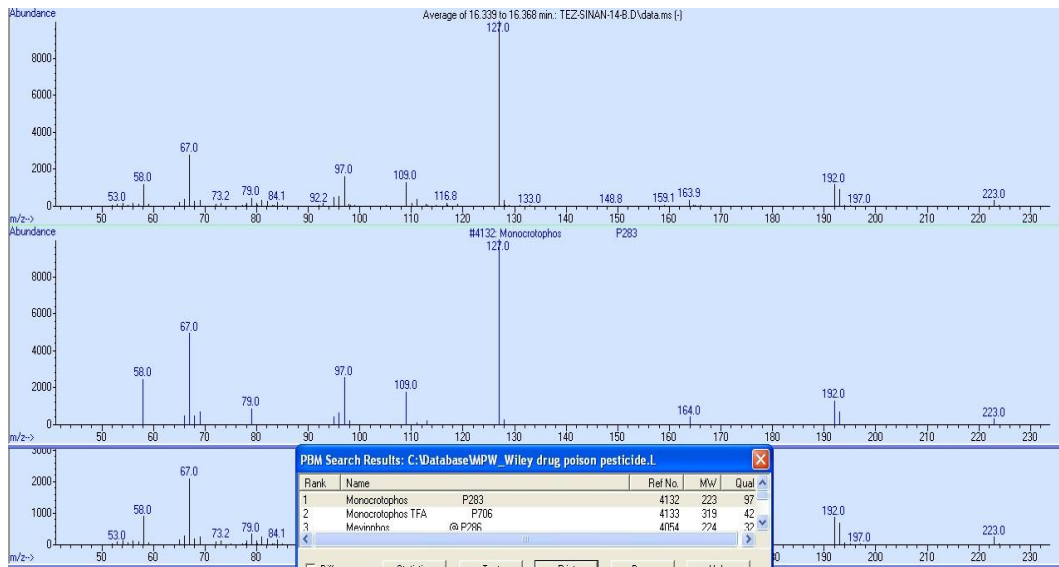
Şekil C.3.3. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



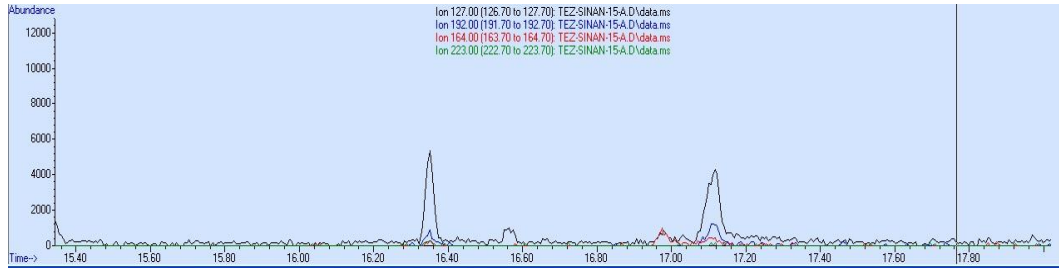
Şekil C.3.3. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



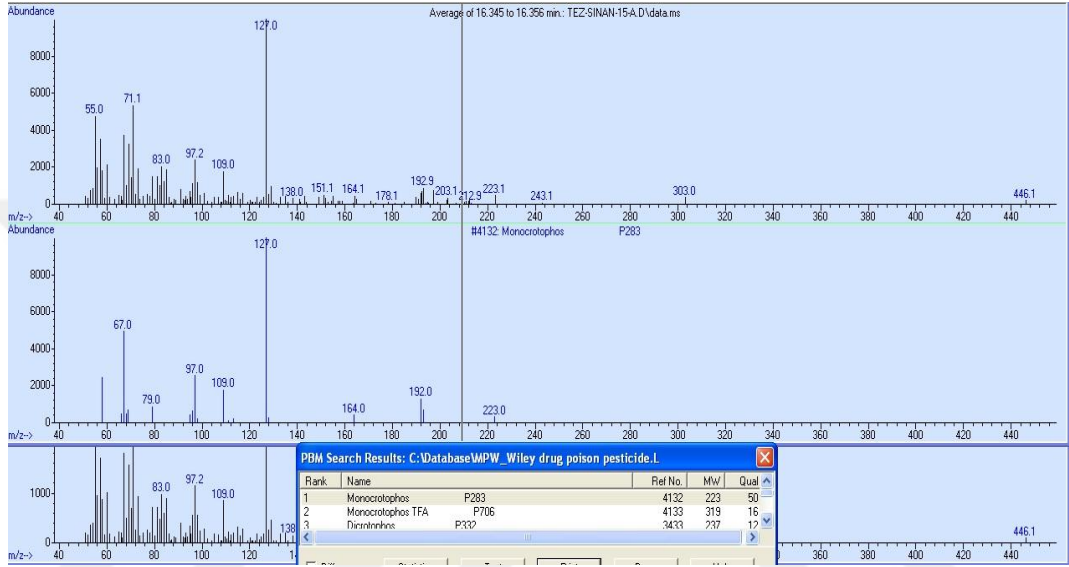
Şekil C.3.3. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı



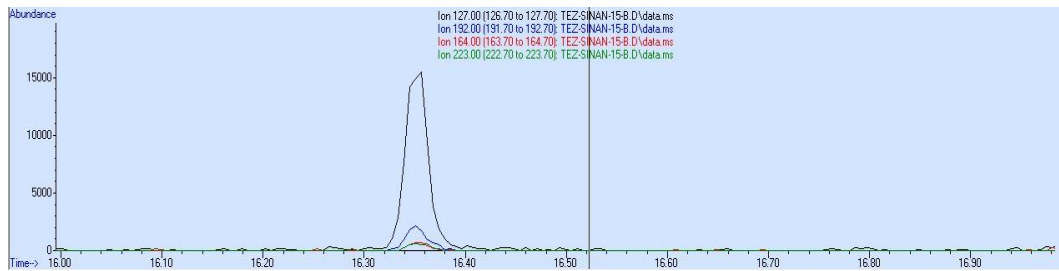
Şekil C.3.3. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu



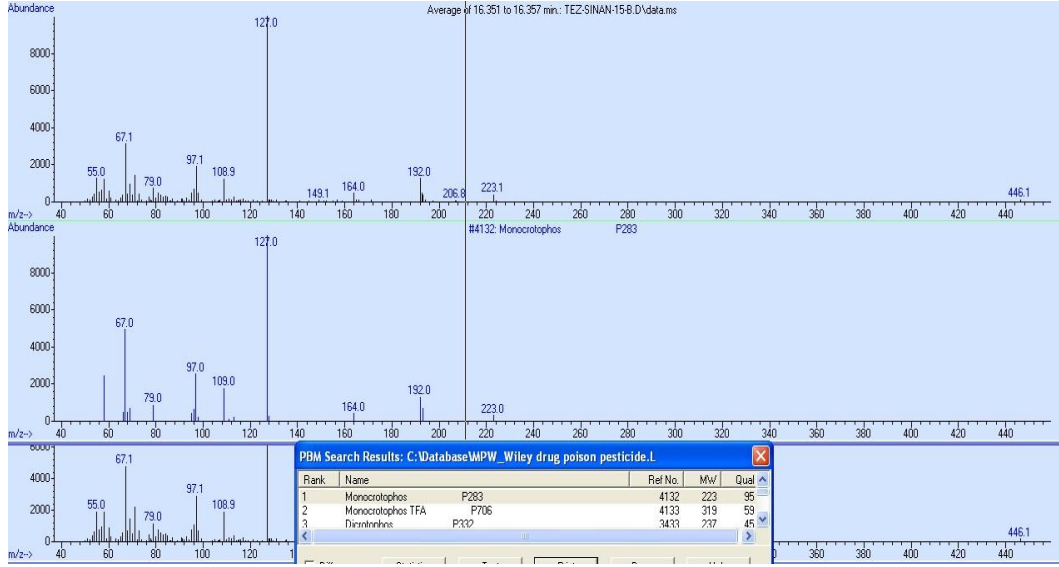
Şekil C.3.4. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



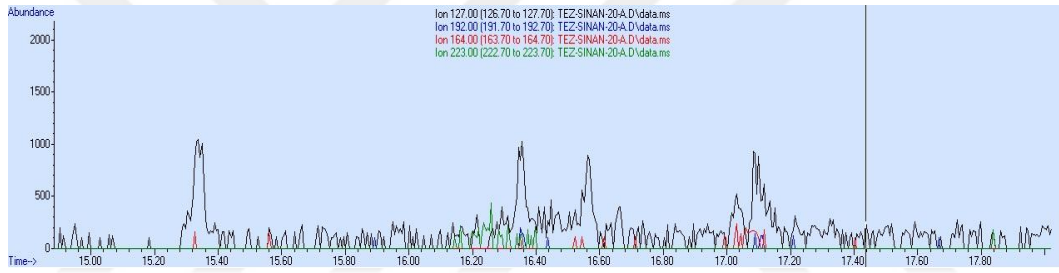
Şekil C.3.4. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



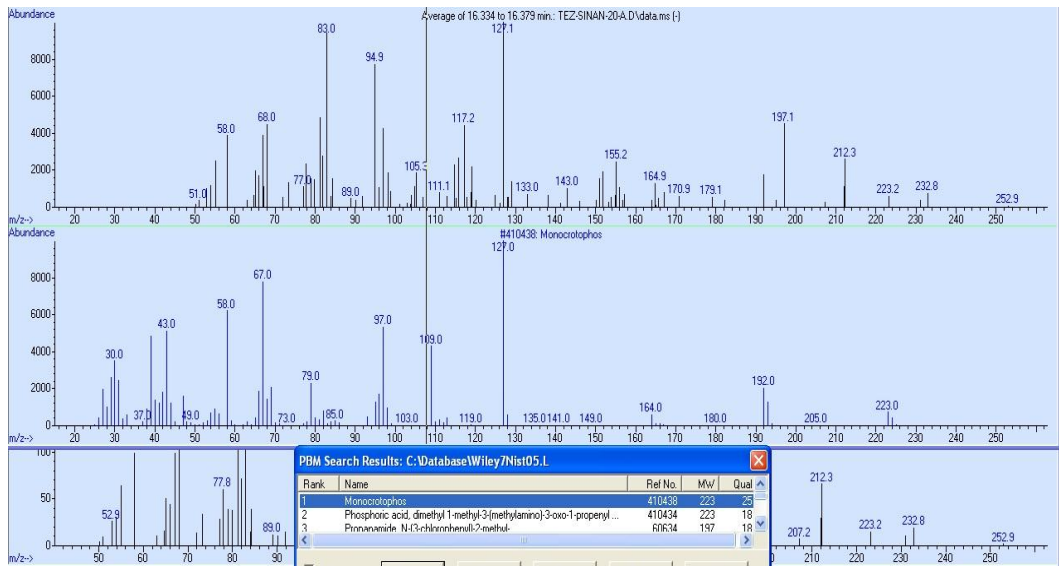
Şekil C.3.4. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı



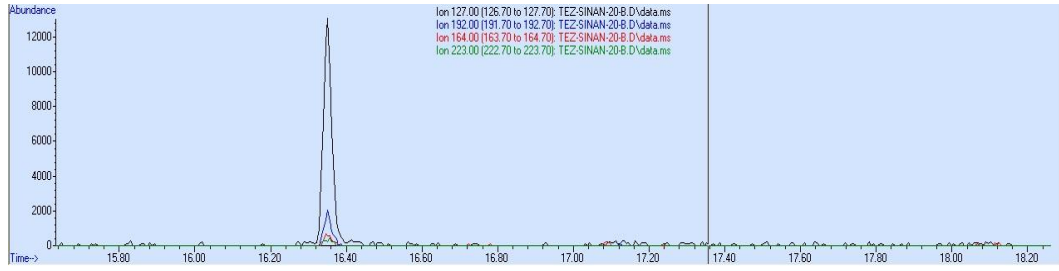
Şekil C.3.4. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu



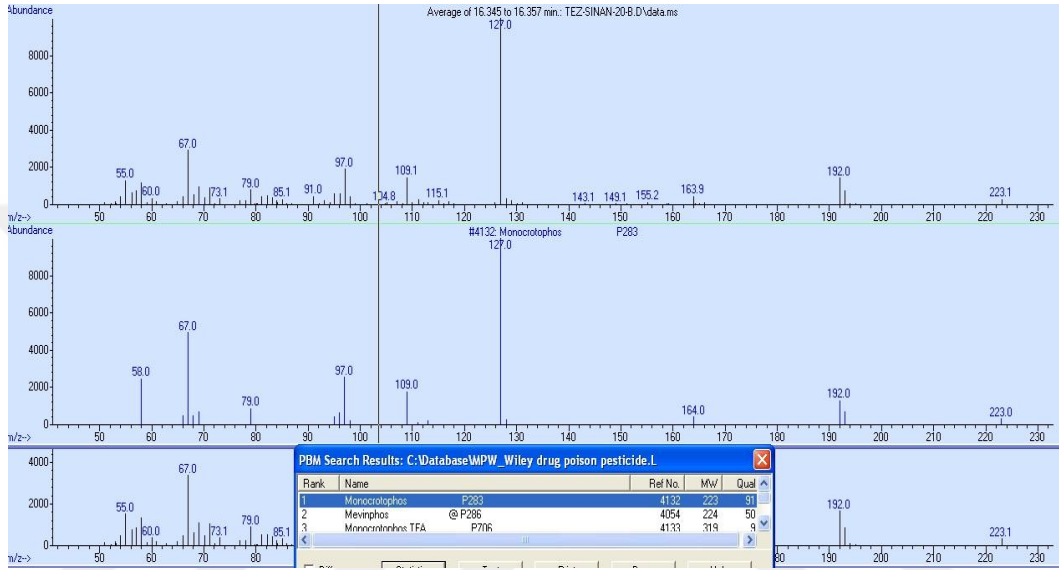
Şekil C.3.5. 1 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon kromotogramı



Şekil C.3.5. 2 Mononokrotofos sıvı-sıvı ekstraksiyon spektrumu



Şekil C.3.5. 3 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon kromotogramı



Şekil C.3.5. 4 Mononokrotofos quechers ekstraksiyon spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sinan KENDİR
Doğum Yeri ve Yılı : Muş, 1978
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : s.kendir@hotmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Antalya Gazi Lisesi, 1995
Lisans : CBÜ, Kimya Bölümü

Mesleki Deneyim

Konyaaltı Belediyesi 2000-2011
Adli Tıp Kurumu 2011-

Yayınlar

Kendir,S., Kaplan,K., Simsek,M., Akçay,G., Cengiz, M.,2016. GC-MS ile Yapılan Pestisit Analizlerinde Mide İçeriğindeki Matriks Etkisinin Quechers Metoduyla Giderilmesi. 16. Kromatografi Kongresi, 31 Ağustos-2 Eylül 2016,Malatya, s.82