



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**KATI FAZ MİKRO EKSTRAKSİYON  
YÖNTEMİYLE ORGANOFOSFORLU  
PESTİSİTLERİN TAYİNİ İÇİN YÖNTEM  
GELİŞTİRİLMESİ**

---

DENİZ DEVECİOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
Kimya Anabilim Dalı  
Analitik Kimya Programı

**DANIŞMAN**

Doç. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU

**İSTANBUL, 2015**

---

## TEŞEKKÜR

‘Katı Faz Mikro Ekstraksiyon Yöntemiyle Organofosforlu Pestisitlerin Tayini İçin Yöntem Geliştirilmesi’ isimli yüksek lisans tez çalışması, Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında gerçekleştirilmiş olup, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Başta, tez çalışmam süresince, engin bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, en kötü hissettiğim anlarda bile sıklımadan derdimi dinleyip, tecrübeleriyle beni aydınlatan, yüce yürekli hocam, sayın Doç. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU’ na,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgileriyle yolumu aydınlatan değerli hocalarım Doç. Dr. Bahattin YALÇIN ve Doç. Dr. Metin ÖZER’ e

Bıkmadan yorulmadan sorularımı eksiksiz cevaplayan, manevi değerini her an hissettiğim saygı değer hocam Arş. Gör. Dr. Oya AYDIN URUCU’ ya,

Güler yüzünü eksik etmeyen sevgili hocalarım, Yrd. Doç. Dr. Sabahattin DENİZ, Arş. Gör. Hatice CEYLAN ve Arş. Gör. Dr. Soner Çubuk’ a,

Bu zor zamanlarımda nazımı çekmeye gönüllü talip, nişanlım Onur YİĞİT’ e,

Ve hayatım boyunca bir an olsun desteğini esirgemeyen, yanımda olmadıklarında bile her an yanımda hissettiğim, canım annem Alime DEVECİOĞLU, canım babam Kadir DEVECİOĞLU ve biricik kardeşim Kübra Nur DEVECİOĞLU’ na,

En içten teşekkürlerimi borç bilirim.

# İÇİNDEKİLER

## SAYFA

TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ÖZET .....	v
ABSTRACT .....	vi
SEMBOLLER .....	vii
KISALTMALAR .....	viii
ŞEKİL DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGE DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Tezin Amacı .....	1
2. PESTİSİTLER .....	2
2.1. Pestisitlerin Kullanımı .....	3
2.2. Türkiye’ de Pestisit Kullanımı .....	3
2.3. Dünyada Pestisit Kullanımı .....	4
2.4. Pestisitlerin İnsanlar Üzerine Olan Etkileri .....	5
2.4.1. Pestisitlerin İnsanlar Üzerinde Akut Etkileri .....	6
2.4.2. Pestisitlerin İnsanlar Üzerinde Kronik Etkileri .....	6
2.5. Pestisitlerin Toprak, Su Ve Hayvanlar Üzerine Etkileri .....	6
2.6. Pestisitlerin Sınıflandırılması .....	7
2.6.1. Kimyasal Sınıflandırma .....	9
2.6.1.1. İnorganik Pestisitler .....	9
2.6.1.2. Doğal Organik Pestisitler .....	9
2.6.1.3. Sentetik Organik Pestisitler .....	9
2.6.1.3.1. Organoklorlu Pestisitler .....	10
2.6.1.3.2. Organofosforlu Pestisitler .....	10
2.6.1.3.3. Kükürtlü Pestisitler .....	11
2.6.1.3.4. Karbamatlar .....	12
2.6.1.3.5. Sentetik Pretroitler .....	13
2.7. Organofosforlu Pestisitlerin Etki Mekanizması .....	14

2.8. Chlorpyrifos' un Genel Özellikleri .....	15
2.9. Chlorpyrifos İle İlgili Yapılan Çalışmalar .....	20
3. KROMATOĞRAFİ VE TEMEL KAVRAMLAR .....	22
3.1. Kromatografik Metotların Sınıflandırılması .....	23
3.2. Kalitatif Analiz .....	24
3.3. Kantitatif Analiz .....	25
3.4. Pik Alanlarına Göre Analiz .....	25
3.5. Pik Yüksekliğine Göre Analiz .....	25
3.6. Standartlarla Yapılan Kalibrasyon .....	26
3.7. İç Standart Yöntemi .....	26
3.8. Alan Normalizasyon Yöntemi .....	26
3.9. Kromatografi Mekanizması .....	26
4. GAZ KROMATOĞRAFİSİ (GC) .....	27
4.1. Gaz Kromatografi Cihazı .....	27
4.1.1. Gaz Kromatografisinin Kısımları .....	28
4.2. GC Uygulamaları .....	31
4.3. Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi (GC-MS) .....	33
5. MEYVELERDE BAZI PESTİSİT KALINTI ANALİZ ÇALIŞMALARININ İNCELENMESİ .....	36
5.1. Meyvelerde Bazı Pestisit Kalıntı Analizi İçin Analitik Teknikler .....	36
5.1.1. Örnek Hazırlama .....	36
5.1.2. Ekstraksiyon .....	36
5.1.3. Örnek Temizlenmesi .....	36
5.1.4. Örnek Ekstraksiyon Teknikleri .....	36
5.1.5. KFME Optimize Koşulları .....	39
5.1.5.1. Fiber Seçimi .....	39
5.1.5.2. Ekstraksiyon Süresi Ve Sıcaklığı .....	41
5.1.5.3. pH' ın Etkisi .....	42
5.1.5.4. Tuz Etkisi .....	42
5.1.5.5. Çalkalama Etkisi .....	42
5.1.5.6. Örnek Hacmi .....	42
5.1.5.7. Desorpsiyon Süresi Ve Sıcaklığı .....	42
6. MATERYAL VE YÖNTEM .....	43
6.1. Materyal .....	43

6.1.1. Kullanılan Kimyasallar .....	43
6.1.2. Standartlar .....	43
6.1.3. Cihazlar .....	43
6.2. Yöntem .....	43
6.2.1. Standart Stok Çözeltisi .....	43
6.2.2. Örnek Hazırlama .....	44
7. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	44
7.1. Kromatografik Şartların Optimizasyonu .....	44
7.2. Kiraz Örneğindeki Pestisit Kalıntılarının Analizleri .....	46
7.3. Analiz Metotlarının Geçerli Kılınması (Validasyonu) .....	49
7.4. Dedeksiyon Limitleri (LOD) .....	49
8. SONUÇLAR .....	50
8.1. Yöntemin Standart Referans Materyallere Uygulanması .....	50
EKLER .....	52
KAYNAKLAR .....	53

## **ÖZET**

### **KATI FAZ MİKRO EKSTRAKSİYON YÖNTEMİYLE ORGANOFOSFORLU PESTİSİTLERİN TAYİNİ İÇİN YÖNTEM GELİŞTİRİLMESİ**

Katı Faz Mikro Ekstraksiyon tekniği, bir fiber yardımıyla analiz maddesinin adsorblanıp, Gaz Kromatografisi' ne enjekte edilmesiyle gelişen desorpsiyon olayıdır.

Günümüzde önemli bir sorun haline gelen pestisit kalıntıları canlı hayatını olumsuz etkilemekte, gelecek yaşam için endişe oluşturmaktadır. Pestisitlerin neden olduğu sorunların giderilmesi amacıyla kiraz örneklerinde organofosforlu pestisit kalıntı analizleri için Katı Faz Mikro Ekstraksiyon yöntemi geliştirmek amaçlanmıştır.

Geliştirilen yöntemde kiraz örneği, su:metanol (% 80) karışımı ile karıştırılıp, seçilen PDMS kaplı fiber ile ekstrakte edilmiştir. Ardından Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) kullanılarak, uygun programla, Chlorpyrifos içeren numuneler analiz edilmiştir. Katı faz mikro ekstraksiyon yönteminin sıcaklık, karıştırma hızı, ekstraksiyon süresi gibi tüm koşulları için en uygun değerler belirlenmiştir.

Chlorpyrifos için teşhis sınırı 0,3 µg/L ve tayin sınırı 1 µg/L olarak bulunmuştur. Ortalama geri kazanım değerleri % 93 – 98 aralığındadır. Yöntem organofosforlu pestisit karışımı olan mix 101' e uygulanarak, yöntemin geçerliliği gözlenmiştir.

**Temmuz, 2015**

**Deniz DEVECİOĞLU**

## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF ORGANOPHOSPHOROUS PESTICIDES WITH SOLID PHASE MICRO EXTRACTION METHOD**

In Solid Phase Micro Extraction (SPME) technique, organic phase adsorb with optimal fiber use, then desorb into the Gas Chromatography with injector.

Nowadays, pesticide residues has become a major problem, Chlorpyrifos a danger for the living life. The purpose of this study, is to determine organophosphorous pesticides with method of Solid Phase Micro Extraction in cherry examples.

In studied method, a mixture of water:methanol (80%) was used as solvent and extracted with PDMS fiber coating. The extracts were than injected to Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) and analysed in splitless mode. HP5-MS column was used in GC/MS and Chlorpyrifos was formed with developed run programme.

Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of this method for cherry samples were 0,3 µg/L and 1 µg/L respectively. The method was successfully applied to determination of Chlorpyrifos a standart referance material mix-pesticide 101.

**July, 2015**

**Deniz DEVECİOĞLU**

## SEMBOLLER

Kd (ads)	: Adsorpsiyon Katsayısı
Kd (des)	: Desorpsiyon Katsayısı
tR	: Alıkonma Zamanı
Rs	: Kolon Ayırma Gücü
tM	: Kolonda Tutulmayan Kısımın Çıkma Zamanı
W	: Pik Alanı

## KISALTMALAR

KFME	: Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
GC	: Gaz Kromatografisi
GC-MS	: Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometresi
EPPO	: Avrupa Ve Akdeniz Bitki Koruma Organizasyonu
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda Ve Tarım Örgütü
WHO	: Dünya Sağlık Teşkilatı
EPA	: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
DDT	: Dikloro Difenil Trikloroethan
ChE	: Kolinesteraz
AchE	: Asetil Kolinesteraz
LD50	: Ortalama Öldürücü Doz
IUPAC	: Uluslararası Temel Ve Uygulamalı Kimya Birliği
LC	: Sıvı Kromatografisi
GLC	: Gaz-Sıvı Ayırma
PDMS	: Poli Dimetil Siloksan
PDMS-DVB	: Poli Dimetil Siloksan – Divinil Benzen
PA	: Poliakrilat
LOD	: En Düşük Tespit Limiti
LOQ	: En Düşük Hesaplama Limiti

## ŞEKİL DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Türkiye’ de pestisit kullanımı .....	3
Şekil 2.2 Dünyada pestisit kullanımı .....	5
Şekil 2.3 Organofosforlu pestisitlerin genel yapısı.....	11
Şekil 2.4 Organik kükürtlü pestisitlerin genel yapısı.....	12
Şekil 2.5 Karbamatlı pestisitlerin genel yapısı.....	12
Şekil 2.6 Chlorpyrifos.....	16
Şekil 2.7 Chlorpyrifos’ un çevredeki dönüşümü.....	18
Şekil 2.8 Chlorpyrifos’ un nötr pH’ daki hidroliz reaksiyonu.....	18
Şekil 2.9 Chlorpyrifos’ un alkalın pH’ daki hidroliz reaksiyonu.....	18
Şekil 2.10 Chlorpyrifos’ un iyonlarının oluşumu (I).....	19
Şekil 2.11 Chlorpyrifos’ un iyonlarının oluşumu (II).....	20
Şekil 3.12 Bir kromatografik pikten standart sapma $\tau'$ nun tayini.....	23
Şekil 4.13 Bir gaz kromatografi cihazının şeması.....	28
Şekil 4.14 Kromatogram pikleri.....	30
Şekil 4.15 Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi cihazı.....	33
Şekil 4.16 Kuadrupol iyon için iki şematik diyagramı.....	34
Şekil 4.17 Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi sistemi.....	34
Şekil 5.18 Katı faz ekstraksiyon yöntemiyle maddelerin ayrılma şekilleri.....	37

Şekil 5.19 Supelco tarafından geliştirilen ticari katı faz mikro ekstraksiyon aygıtı.....	38
Şekil 5.20 Tepe boşluğu ve direkt batırma yoluyla ekstraksiyon prosesi ve GC ve HPLC analizleri için desorpsiyon sistemi.....	39
Şekil 7.21 Desorpsiyon sıcaklığının etkisi.....	45
Şekil 7.22 Değişen tuz oranlarına karşı pik alanları.....	46
Şekil 7.23 Chlorpyrifos' un kromatogramı.....	47
Şekil 7.24 Ekstraksiyon sürelerine bağlı olarak değişen pik alanları.....	47
Şekil 7.25 Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi.....	48
Şekil 7.26 Karıştırma hızının (rpm) pik alanlarına etkisi.....	49
Şekil 7.27 Chlorpyrifos' un standart referans materyalde analizi sonucu elde edilen kromatogramı.....	51

## ÇİZELGE DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 2.1 Türkiye’ de tarım ilaçları tüketim miktarları (ton).....	4
Çizelge 2.2 Kükürlü pestisitlerin ve karbamatların zehirlilikleri.....	13
Çizelge 2.3 Fosforlu pestisitlerin zehirlilikleri.....	15
Çizelge 2.4 Bazı ürünlere uygulanan Chlorpyrifos için standart doz miktarları...	17
Çizelge 3.5 Kromatografik Ayırmaların Sınıflandırılması.....	24
Çizelge 4.6 Dedektör tipleri ve uygulanan örnekler.....	31
Çizelge 5.7 En sık kullanılan fiberlerin genel özellikleri.....	40
Çizelge 5.8 Fiberlerin özellikleri.....	41
Çizelge 7.9 Uygulanan fırın sıcaklık koşulları.....	45
Çizelge 7.10 Hesaplanan % geri kazanım değerleri.....	49



# 1. GİRİŞ

## 1.1. Tezin Amacı

Gaz kromatografisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, spektrometrik teknikler vb. yardımıyla yapılan analizler öncesinde örnek hazırlama basamağı gerekmektedir. Genellikle, sıvı-sıvı ekstraksiyon metodu ve sonrasında çözücülerin uzaklaştırılması bu amaçla sıklıkla kullanılmaktadır. geleneksel sıvı-sıvı ekstraksiyon çalışmalarında aşırı miktarda çözücü harcanması, fazla zaman alması ve maliyetinin yüksek olması gibi dezavantajları vardır. Bunun yanı sıra, gerekli saflığa sahip olmayan ekstraktlar elde edilmesi, ekstraksiyon sırasında emülsiyon faz oluşması, duyarlı kantitatif sonuçlar elde edilememesi ve çözücülerin yeterince uzaklaştırılmaması gibi istenmeyen durumlarla da karşılaşılabilir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu dışında distilasyon, santrifüjleme, süzme, liyofilizasyon gibi diğer önemli ekstraksiyon metotları da benzer sakıncalara sahiptir. Katı faz mikro ekstraksiyon (KFME) diğer geleneksel ekstraksiyon tekniklerine göre daha az çözücü kullanımı sağlayan, hızlı, kolay ve ucuz bir tekniktir. En önemli özelliklerinden biri de HPLC ve GC-MS ile uyum içerisinde çalışabilmektedir [1-2].

Organofosforlu pestisitler, omurgalı hayvanlarda ve böceklerde benzer metabolizma özelliklerine sahiptir. Metabolizmanın şekli esterleşme ile oksidasyon ve hidrolizdir. Genellikle suda az, organik çözücü ve yağlarda ise daha iyi çözünürler. Suda hidrolize uğradıklarından etkilerini kaybeden organofosforlu bileşikler, yağda iyi çözüldükleri için meyve ve bitki yapraklarına kolay nüfuz edebilirler. Yüksek toksik özellikteki bu bileşikler ikinci dünya savaşı sırasında Nazilerce kimyasal silah olarak kullanılmış ve birçok kişinin ölümüne neden olmuştur.

Organofosforlu pestisitler, organoklorlu pestisitlere göre yağda daha az birikirler. Bu nedenle böcekler için daha toksik ve kalıcılığı organoklorlu pestisitlere nispeten daha az olan organofosforlu pestisitlere yönelimi arttırmıştır. Sentezlenmeleri kolay olduğu için grubun büyümesi hatta çeşitlenmesi de kolaydır. Düşük pH' ya ve yoğunluğa bağlı olarak organofosforlu pestisitlerin, toprakta veya sulu ortamda kalma süresinin yanı sıra dağılımı da değişebilir. Buna bağlı olarak alkali koşullar meydana geldiğinde hızla parçalanırlar. Hatta pH' ın 7'nin üzerinde her bir birimlik artışı parçalanma hızını ya da oranını yaklaşık olarak on kat artırır [3].

Günümüzde en çok kullanılan organofosforlu pestisitlerden bazıları Chlorpyrifos, Chlorthion, Metasystox, Resitox, Dipterex, Diazinon, Malathiondur [4].

Bu çalışmada amaç, GC-MS' te organofosforlu bir pestisit türü olan Chlorpyrifos analizinde kullanılabilir yeni bir yöntem ortaya koymaktır. Katı faz mikro ekstraksiyon yöntemi ile pestisit tayininde fiber seçimi en önemli parametredir. Bu aşamadan sonra adsorpsiyona etki edecek parametrelerin etkisi incelenerek, maksimum adsorpsiyon kapasitesi için optimum koşulların belirlenmesi sağlanacaktır. Bu sayede seçiciliği oldukça yüksek aynı zamanda, tayin sınırı da oldukça düşük bir yöntem geliştirilmesi istenmektedir.

## 2. PESTİSİTLER

Artan nüfus yoğunluğuna bağlı olarak besin maddelerine olan ihtiyaç da artmıştır. Bu nedenle tarımsal üretimde, bahçecilikte vb. alanlarda hem üretimi arttırmak hem de yabancı otlardan ve zararlı canlılardan korunmak amacıyla zirai ilaçlar kullanılmaya başlanmıştır. Kullanılan bu zirai ilaçlara genel olarak pestisit denilmektedir. Dozunda kullanıldığında sorun oluşturmazken, aşırı kullanımı ile toksik etki gösteren bazı pestisitler ciddi sağlık sorunlarına ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Sağlık sorunlarından bazıları kanser, sinir sistemi problemleri ve hatta mutasyon oluşturan etkiler olarak saptanmıştır.

Olumsuz sonuç oluşturmayacağı düşüncesiyle kullanılan pestisitler, zaman geçtikçe çevre ve dolayısıyla insanlar açısından problem teşkil etmeye başlamıştır. Eğer pestisitler kullanımdan belirli bir süre sonra gün ışığı etkisiyle bozulmamış veya bakteri etkinlikleriyle kimyasal olarak yapılarında bozulma gerçekleşmemişse, toprakta birikmeleri söz konusu olmaktadır. Böyle bir durumda, pestisitli toprakta mikroorganizmaların ve bazı yararlıların etkinliklerini sürdürememeleri hatta yok olmaları meydana gelmektedir. Ayrıca yarılanma ömürleri uzun olan ağır metal içerikli pestisitler, bitkiler tarafından alındığında, dolayısıyla insanların tüketimi sonucu sağlık sorunlarını da beraberinde getirmektedir. Toprakta biriken pestisit kalıntılarının yağmur sularının etkisiyle alt katmanlara geçmesine, böylece yer altı sularına ulaşmasına neden olur. Bu da içme sularına pestisit bulaşması, yine insan sağlığının tehdit edilmesi anlamına gelmektedir.

Pestisitli uygulamalarda hedef, pestisitinin zararlıya ulaşması, toprakta kaldığı süre boyunca onu yok etmesi ve akabinde derhal parçalanarak zararsız bir şekilde yok olmasıdır.

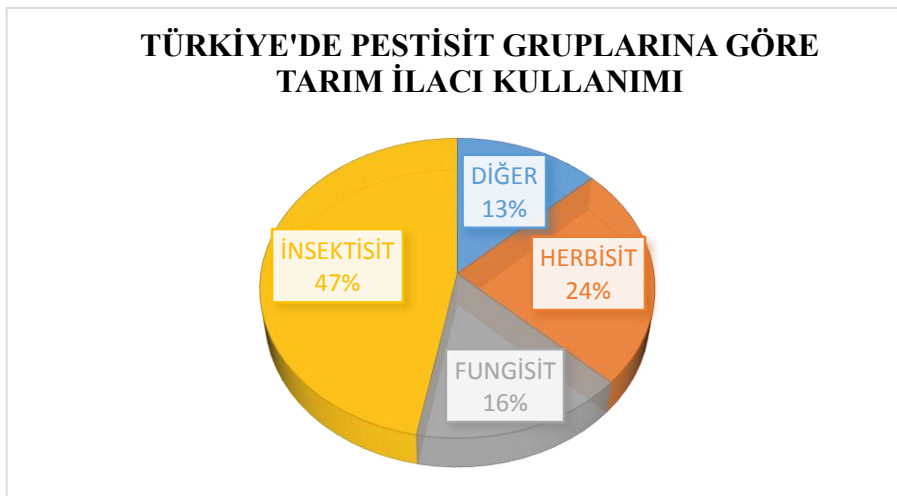
## 2.1. Pestisitlerin Kullanımı

Bitki sağlığı hususunda sentetik kimyasalların gereğinden fazla kullanılmaya başlanması, insan, hayvan ve çevre sağlığı konusunda risk etmenlerinin arttığını göstermektedir. Ülkelerce pestisit kullanımına dair önlemler alabilmek için belgelendirme, yok edilmelerini sağlama, güvenli taşınmaları vb. yasal düzenlemeler getirilirken, faaliyetlerini uluslararası düzeyde gerçekleştiren bazı kuruluşlar da bu konuya duyarsız kalmamışlardır. Günümüzde Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Organizasyonu (EPPO), Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ve Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) gibi birçok kuruluş gerek insan, gerekse hayvan ve çevre konusunda pestisitlerin kullanımıyla ilgili çaba göstermektedirler.

Gerek bitki yetiştiriciliği gerekse onların zararlılardan korunması konusunda, kullanılan kimyasallarla ilgili olarak, ciddi önlemler alınması gerekmektedir. Doğru, bilinçli, yeteri kadar ve güvenilir kimyasal kullanımı, hem bitkiler, hem elde edilecek ürünler, hem de insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. Bu gibi hususlarda gerekli özveri sağlandığında olası tehlikelerin önüne geçilmiş olunacaktır.

## 2.2. Türkiye’ de Pestisit Kullanımı

Ülkemizde pestisit kullanımı açısından tarımsal alanlar ön planda gelmektedir. Tarımsal savaşta, 346 pestisit aktif maddesi içerikli 1483 ilaç kullanılmaktadır. Tarım ilaçlarının tüketimi ülkemizde, 1979’dan itibaren 2002 yılına kadar % 45 oranında artış göstermiştir. Araştırma sonuçları ülkemizde yıllık pestisit kullanımının % 40’ının Akdeniz bölgesinde yapıldığını göstermektedir [5].



Şekil 2.1 Türkiye’ de pestisit kullanımı

İnsan sağlığı hususunda kullanılan, öldürücü nitelikli ürünlerle ilgili yönetmelik, 1930 yılında yürürlüğe giren 1593 sayılı Umumi Hıfzısıhha Kanunu gereğince, “Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığını İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük” içeriğince hazırlanan Bakanlık Genelgesi temel alınarak sürdürölmektedir. 27 Ocak 2005 tarihi ve 25709 sayılı, Resmi Gazetede yayınlanan “Halk Sağlığı Alanında Haşerelere Karşı İlaçlama Usul ve Esasları Hakkında Yönetmelik” insan sağlığını ve huzurunu olumsuz etkileyen zararlılara karşı kimyasal içerikli maddeler kullanarak bu zararlıları engellemek isteyen gerçek ve tüzel kişilere ait işyerlerinin çalışma usul ve esasları ile resmi kurum ve kuruluşların ilaçlama usul ve esaslarını belirlemek ve halk sağlığının korunması amacıyla hazırlanmıştır. Bu yönetmeliğin amacı, çevre sağlığı, kullanılacak ürünlerin temin yerlerinin standartları ve bu yerlerin işleyiş durumları incelenmek istenmiştir.[6]

**Çizelge 2.1** Türkiye’ de tarım ilaçları tüketim miktarları (ton)

	1990	1991	1992	1993	1994	1995
İnsektisitler	18.551	11.400	13.900	13.427	11.953	17.383
Herbisitler	6.349	7.191	5.864	9.134	8.513	8.876
Fungisitler	5.504	5.559	5.911	5.868	4.880	5.774
Diğerleri	3.561	4.036	3.571	3.935	3.656	4.960
Toplam	34.055	28.226	29.251	29.363	29.183	36.993

### 2.3. Dünyada Pestisit Kullanımı

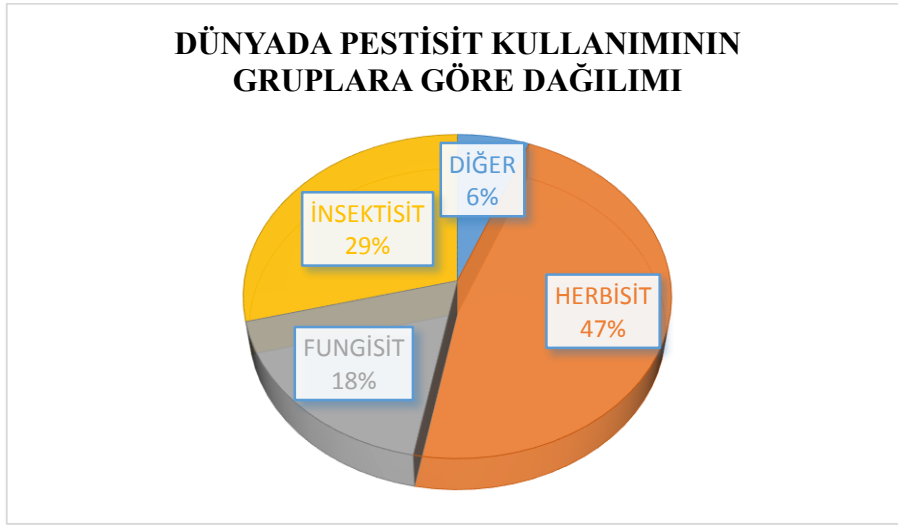
Pestisitler önemli ölçüde tarımsal alanlarda kullanılmaktadır. Sıtma, sarıhumma, tifüs ve veba gibi taşıyıcı vasıtasıyla yayılım gösteren bazı hastalıkların kontrolü için de pestisitler kullanılmaktadır. Günümüzde satışı serbest olan bu bileşiklerin kullanımı da epey yaygındır.

Çoğunluğu organik bileşik olmak üzere yaklaşık 1500 pestisit aktif maddesi, 2000 tarım zararlısına karşı kullanılmaktadır. Gelişmekte olan ölkelerde kullanılmakta olan en önemli pestisit grubu organofosforlu bileşiklerdir. Önümüzdeki yıllarda kullanımlarının daha da artacağı tahmin edilmektedir. [7]

Organoklorlu pestisitler ise çevredeki aktivitelerinin daha uzun olması ve parçalanma sürelerinin yavaş olması nedeniyle daha az tercih edilirler. Dünyada, yılda ortalama 2,5-3

milyon ton pestisit kullanıldığı ve bu bileşiklerin % 29'unun insektisit, % 18'inin fungusit, % 47'sinin herbisit olduğu tahmin edilmektedir. Gelişmiş ülkelerde % 80 gibi büyük bir oranda pestisit kullanılmasına rağmen, zehirlenme olaylarına çoğunlukla gelişmekte olan ya da gelişmemiş ülkelerde rastlanmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporlarında, her yıl yaklaşık olarak 3 milyon pestisit zehirlenmesinin meydana geldiği ve bu zehirlenmelerin 220.000' inin ölümlle sonuçlandığı belirtilmektedir [5].



**Şekil 2.2** Dünyada pestisit kullanımı

#### **2.4. Pestisitlerin İnsanlar Üzerine Olan Etkileri**

Pestisitler tüm canlılar üzerinde olumsuz etki bırakırlar. İnsanlar üzerindeki etkileri de oldukça önemli sonuçlar oluşturabilmektedir. Bu olumsuz etkiler, birçok faktöre bağlı olarak her bünyede farklı olabilmektedir. Kişinin yaşı, cinsiyeti, yaşadığı ortam şartları, ekonomik durumu, ırkı, beslenme şekli, sağlık durumu, pestisit oluşturduğu etki süresinin uzunluğu, kişinin direnci vb. etkiler, pestisitlerin oluşturacağı sonuçları değiştirmektedir.

Pestisitlerin insanlar üzerinde oluşturduğu etkiler, çeşitli doku ve organlarda tahribatın yanı sıra alerji ve bazı kanser hastalıklarına davetiye çıkarmaktadır. Uzun süre pestisite maruz kalan hastaların doku ve organlarında sentetik özellikte bazı maddelere rastlanmış, daha da kötüsü bu maddelere uzun süre maruz kalan hastalarda kronik etki gözlenmiştir. Alerjik etkinin nedeni olarak, hassas yapılı insanların bizzat ilacı uygulaması ve bunun yanı sıra dolaylı yoldan ilaçlı havayı tenneffüs etmesi görülmektedir. Gözlerde kaşıntı, kanama, deri kızarıklıkları, döküntü ve kaşıntı, alerjik etkiye bağlı olarak belirlemektedir. Kanser hastalıklarının temel

sebebi, kullanılan pestisitlerin kanserojen özellikte olmasıdır. Günümüzde kanserojen etki taşıyan bütün pestisitlerin kullanımını yasaklanmıştır [8].

#### **2.4.1. Pestisitlerin İnsanlar Üzerinde Akut Etkileri**

Pek çok ülkede pestisit zehirlenmelerinin faciayla sonuçlandığı belirtilmiştir. Asya’ da ‘yeşil devrim’ adıyla başlatılan pirinç yetiştirme hareketinde, fazla kullanılan insektisitler, erkeklerde % 27’ lik artış gösteren ölümlere sebep olmuştur. Hindistan’ da bir pestisit fabrikasında 14 yılında gerçekleşen kazada 200.000 kişi zehirlenmiş, bunların 2500 kadarı hayatını kaybetmiştir.

Akut zehirlenmeler, pestisite direkt maruz kalan, pestisitli ürünleri yiyen kişilerde görülmektedir. Başlıca belirtileri mide bulantısı ile kusma olarak görülmektedir. Akut zehirlenmelerin astım ve şiddetli alerji hastaları üzerindeki etkisi, ölümle sonuçlanacak kadar ciddidir.

#### **2.4.2. Pestisitlerin İnsanlar Üzerine Kronik Etkileri**

Pestisitlere maruz kalan kişilerde, vücutta pestisit birikmesi durumunda kronik zehirlenmeler meydana gelir. Kronik zehirlenmeler başta kanser olmak üzere, sinir sistemi hastalıkları, epilepsi, hipertansiyon, kısırlık gibi pek çok hastalığa neden olmaktadır.

Yapılan son çalışmalar, pestisit odaklı kanser hastalıklarının arttığı yönündedir. Özellikle karaciğer, testis, beyin, lenfoma ve akciğer kanseri ile lösemide ciddi artış olduğu belirlenmiştir. Hastaların mesleklerine bakıldığında pestisitle sürekli iç içe olan, pestisit üretim çalışanları, tarım işçileri ile böcek kontrol çalışanları, başta gelmektedir. Doğuma bağlı olarak bu çalışanların çocuklarında da pestisit kaynaklı bazı hastalıkların varlığı belirlenmiştir.

#### **2.5. Pestisitlerin Toprak, Su ve Hayvanlar Üzerine Olan Etkileri**

Pestisitler, doğrudan uygulama ile olduğu gibi, yağmur suları etkisiyle de toprağa geçebilmektedir. Mevsime göre kuruyup düşen ağaç ve bitki yaprakları, toprakta ciddi pestisit kalıntısı meydana getirmektedir.

Toprakta bulunan mikroorganizmalar, bitki ve hayvan artıklarını parçalayarak dengenin bozulmasını önlemektedir. Aynı zamanda toprak ve bitkinin ihtiyacı olan azotu sağlamak için atmosferde bulunan serbest azotu sabitler. Böylesi bir denge söz konusu iken, pestisitlerin varlığı önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

Tarım alanlarında kullanılan Dikloro Difenil Trikloroethan (DDT) ve bu gibi pestisitler, toprakta birikerek, verimli alanlar için tehdit oluşturur. Nitekim işlenmiş bir kg toprakta, trilyonlarca bakteri, milyonlarca mantar, protozoa, alg ve bunun gibi pek çok canlı bulunmaktadır. Bu canlıların her biri toprak için oldukça önemlidir. Pestisitlerin bu organizmalara etkisi kesin bilinmemekle birlikte; toprak için gerekli denge faaliyetlerini bu canlılar organize etmektedir.

Tarımsal savaşında kullanılan pestisitler, uygulanmak istenen zararlıların yanı sıra toprak için asıl faydalı olan canlıları da etkilemektedir. Bu etkiler farklı olmakla birlikte, faydalı bilinen bazı toprak canlılarını daha çok etkilediği belirlenmiştir. Bunun sebebi olarak besinleri olan zararlıların yok olması görülmektedir. Ayrıca direkt uygulanan pestisitlerin çoğu, faydalı böcekler için, zararlı böceklere oranla daha çok toksik etki oluşturmaktadır. Toprağın sahip olduğu pH, sıcaklık, nem, organik madde, doku, mikrobiyal aktivitesinin yanı sıra, pestisitlerin sahip olduğu adsorpsiyon kapasitesi, uçuculuk özelliği, bitki köklerinde pestisitlerin tutunması, yıkanması gibi özellikler, pestisitlerin kalıcılığını etkiler.

Topraktaki pestisitler sadece toprak canlılarına değil, sularla taşınması halinde su canlılarına da olumsuz etki oluşturmaktadır. Balıklarda bağışıklık sisteminde görülen zayıflık, üreme ve beslenme bozuklukları, pestisitlerin yol açtığı sorunlardan sadece birkaçıdır. Bunların yanı sıra pestisitler, balık larvaları üzerinde de oldukça etkilidir; gelişimin yavaşlamasına, karaciğer ve solungaçların tahribatına neden olur. Tüm bunlar neticede balıkla beslenen canlıları da tehdit etmekte, vücuda alınan kalıntı miktarını arttırmaktadır.

Pestisitlerin hatalı ve bilinçsizce uygulanması, bitkilerle beslenen kuşların yanı sıra, böcekçil ve yırtıcı kuşları da etkilemiş, sayılarında azalmalara neden olmuştur. Ötücü kuşlar, balıkçılar ve güçlü yapılarına rağmen pestisitlerden en çok etkilenen kuşlar kartallardır. İnsanların pestisit kullanımındaki bilinçsiz davranışları ve inek, kedi, köpek, at gibi bazı çiftlik hayvanlarının olumsuz hareketleri, zehirlenmelere sebebiyet verir. İstenilen verimin elde edilememesi bunların yanı sıra, yeterli ve gerekli besin alamaması, haliyle yemden yararlanamaması olarak karşımıza çıkar. Tüm bu olumsuzluklar üremeye etki ederek neslin devamını tehdit eder [9].

## **2.6. Pestisitlerin sınıflandırılması**

Pestisitler, hedef alınan organizmaya göre gruplandırılmalarının yanı sıra kimyasal bileşenlerine göre de adlandırılırlar [10].

Hedef alınan organizmaya göre;

- a. İnektisitler (böcek öldüren pestisitler)
- b. Herbisitler (yabani otları öldüren pestisitler)
- c. Fungisitler (bitki üzerindeki mantarları öldüren pestisitler)
- d. Rodentisitler (kemirgenleri öldüren pestisitler)
- e. Nemasitler (nematodları öldüren pestisitler)
- f. Akarisitler (akar öldüren pestisitler)
- g. Molluskisitler (sümüklü böcekleri kontrol eden pestisitler)
- h. Algisitler (algleri, yosunları öldüren pestisitler) [11].

İnektisitler toprak, bitki, hayvan ve insanları, çevredeki böceklere karşı koruma amacıyla kullanılırlar. Dünya üzerinde bulunan hemen hemen bir milyon böcek türünün on bin kadarı tarım ürünleri açısından tehdit oluşturmaktadır. Alınan önlemler bu zararlılardan korunmayı sağladığı gibi, aşırı uygulamalar neticesinde ciddi sorunlara sebep olmaktadır. Ürünlere ve yaşam alanlarına uygulanan inektisitler gözle görülmezler ve bu pestisitler bir süre sonra bozunmaktadırlar.

Herbisitler, makineleştirilmiş tarım uygulayan ülkelerde yabani ot kontrolünü sağlayabilmek için, uygulanan pek çok metodun yerini almaktadır. Herbisitler toprağın ekime hazırlanmasına dair her anlamda hazırlanması konusunda, etkili ve ekonomik yabani ot kontrolü sağlar. Herbisitler daha çok, yol ve ark kenarları ile endüstriyel bölge ve sulama kanalları gibi, çiftliklerden uzak bölgelerde yaygın kullanılmaktadır. Bu kadar sık kullanımına rağmen herbisitler, bitkinin normal büyüme hızını bozacak hatta durduracak etki oluşturmaktadır. Bitki ne kadar hassas ise ölümü o kadar mümkün olmaktadır. Herbisitlerin memeliler üzerine toksik etkileri düşüktür, bu nedenle memeli ya da böcekleri değil de daha çok bitkileri etkiledikleri görülmektedir [12].

Bazı herbisitler kalıcılık açısından avantaj sağlayabildiği gibi dezavantaj da oluşturabilmektedirler. Elbette ki toprak üzerinde uzun süre aktif kalmasını, çevresel bakımdan kimse istemeyecektir. Nitekim birçok herbisit suda yüksek çözünürlüğe sahip olduğundan yağmur suyu veya sulama suları yardımıyla, topraktaki aktivitesini kaybetmektedir.

Fungisitler, tarımda yaygın olarak mantar zararlılarına karşı kullanılan kimyasal bileşiklerdir. Herbisit ve inektisitlerden daha çok kullanılırlar. Endüstriyel alanda koruyucu olarak da kullanımı yaygındır [12]. Akarasitler, genelde ev tozu olarak bilinen, astım hastalığına

sebepler olan parazitlerle, bit, kene gibi zararlılara karşı kullanılırlar. Rodentisitler, tarım, ev, ahır gibi yerlerde yaşayan kemirici zararlılara karşı kullanılırken; molluskisitler sümüklü böcek kontrolü ve algisitler de mavi-yeşil algilere karşı kontrolü sağlamak için kullanılırlar [10].

### **2.6.1. Kimyasal Sınıflandırma**

Pestisitler etken maddelerinin kimyasal yapılarına göre aşağıda gösterildiği şekilde gruplara ayrılırlar:

- ✓ inorganik pestisitler
- ✓ doğal organik pestisitler
- ✓ sentetik organik pestisitler olarak üç grupta incelenirler [8].

#### **2.6.1.1. İnorganik Pestisitler**

Bileşiminde arsenik, civa, florür, bakır ve elementel kükürt içeren pestisitlerdir. Elementel kükürt dışında arsenik, civa, florür ve bakır içeren pestisitler bitkilerde ve toprakta uzun süre kalabilmektedirler. Bakır tuzları geniş kullanım alanına sahip olup, herbisit ve fungusit olarak kullanılırlar. Kullanıldıkları andan itibaren, ortamın nemi ve karbondioksitin etkisiyle iyonlaşırlar [13]. Civalı pestisitlerin fungusit etkisi göstermesinin yanı sıra insektisit etkisi de vardır. Bu tür pestisitler, tüm canlılar için oldukça tehlikeli ve zehirlidir. Elementel kükürt de insektisit ve fungusit olarak kullanılabilir. Bu gibi tehlikeli bileşikler canlılarda kronik hastalıklara neden olurlar [10].

#### **2.6.1.2. Doğal Organik Pestisitler**

Bu tür pestisitler bitkilerden özütlenme yolu ile elde edilirler. Elde edilmeleri oldukça zordur, bu nedenle yaygın olarak kullanılmazlar. Rotenon, nikotin ve piretrin bitkisel içerikli organik pestisitlerdendir. Bu doğal organik pestisitler *Derris* spp. adı verilen baklagiller ailesine üye bitki köklerinden elde edilen zehirli maddelerdir [10].

#### **2.6.1.3. Sentetik Organik Pestisitler**

Sentetik yani yapay organik pestisitler diğer pestisit türleri inorganik ve doğal organik pestisitlerden daha fazla zehirlidirler. Üstelik, naturel ortamda özelliğini kaybetmeden yıllarca varlığını sürdürebilme özelliğine sahiptirler. Bu pestisitler, kendi içinde organoklorlu, organofosforlu, kükürtlü pestisitler, karbamatlar ve sentetik piretroitler olarak gruplara

ayrılırlar. Özellikle organoklorlu pestisitler, canlıların yağ dokularında birikirler. Böylece çevrede kalıntı oluşumuna, dolayısıyla ciddi çevre sorunlarına neden olmaktadır [10].

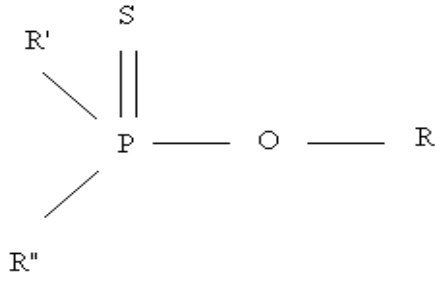
#### **2.6.1.3.1. Organoklorlu Pestisitler**

Yapılarında karbon atomuna klor bağlanmasıyla elde edilen aromatik veya alifatik yapıdaki klorlu hidrokarbon bileşiklerdir. Organoklorlu pestisitler suda çözünmez, organik çözücü ve yağda kolay çözünürler. Oldukça dayanıklı yapıya sahiptirler, bu nedenle toprakta uzun süre ayrışmadan kalabilirler. Biyolojik parçalanmalarının, vücuttan atılmalarının ve biyotransformasyonlarının çok yavaş olması, çevrede ve organizmada birikmesine yol açarak uzun süreli tehdit oluşturur. Hatta besin zinciri yoluyla insanlara kadar ulaştıkları belirlenmiştir [9]. Organoklorlu pestisitlerin, organik çözücülerin yanı sıra yağlarda çözünüyor olması, onların çevrede uzun süre kalmasına ve canlıda sinirsel toksisiteye yol açmasına neden olmaktadır. Evcil hayvanlardan temin edilen sütte birikmeleri, insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. 2008 yılında Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nca organoklorlu pestisitler yasaklanmış, ancak geçmişte yapılan araştırmalarda, hala kalıntılara kan ve anne sütünde rastlanmıştır [5-9-10].

#### **2.6.1.3.2. Organofosforlu Pestisitler**

Organofosforlu pestisitler, en sık kullanılan pestisitler olup, pestisitlerin önemli bir kısmını oluşturmaktadırlar. Organofosforlu pestisitler, fosfat esteri yapısında olup, fosfonik, fosforik, fosfonotioik, fosforotioik ve asitlerin ester, amid ve tiyol türevlerindedir. Günümüzde 300'den fazla organofosforlu ester yapısında aktif (insektisidal) madde bulunmaktadır. Bu pestisitlerin çoğu oda sıcaklığında sıvı haldedir. Organofosforlu bileşiklerin kimyasal kararlılıkları; toksik etkilerini, çevresel kalıcılıklarını ve kullanımlarını büyük ölçüde etkilemektedir.

Bu pestisitler canlılar üzerinde diğer pestisitlere nazaran daha çok akut zehir etkisi göstermelerine rağmen, kalıcı değildirler. Bu özellikleri, onların tarımsal faaliyetlerde, organoklorlu pestisitlerden daha çok tercih edilmelerine sebep olmaktadır. Organofosforlu pestisitler oldukça geniş bir etki alanına sahiptirler. Ayrıca organofosforlu pestisitlerin biyolojik olarak suda ve toprakta ayrışabilenlerinin sayısı hiç de az değildir. Organofosforlu pestisitler Şekil 2.3' deki gibi kimyasal yapıya sahiptirler. Şekilde görüldüğü gibi alkollerin, ortofosforik asitle tepkimesi sonucu oluşan ester yapısındaki bileşiklerdir.



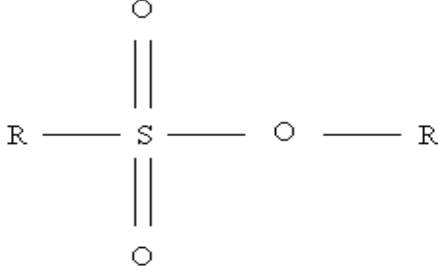
**Şekil 2.3** Organofosforlu pestisitlerin genel yapısı

R' ve R'' alkil gruplarına sahip olan organofosforlu pestisitler, görüldüğü gibi fosfat esteridir. -R grubu değişken olabildiği gibi farklı gruplarla yer değiştirmesi, farklı pestisit türevlerinin oluşmasına yol açmaktadır. -R grubuna bağlı olarak, fenil grupları ile fenil türevleri, alifatik gruplar ile alifatik türevler, ve hidroksil grupları ile hidroksil türevleri elde edilebilir. Alifatik türevlerden, zehir oranı düşük olan Malathion ve Triklorfan genellikle meyvecilikte meyve sineği kontrolü için kullanılırlar. Alifatik türevlere göre daha kararlı olan fenil türevleri, buldukları ortamda daha uzun süre kalırlar. En çok bilinen fenil türevi pestisit aprathion' dur. Parathion-ethyl, Parathion-methyl' e göre daha çok tercih edilir; çünkü zehir oranı daha azdır.

Alifatik ve fenil türevi pestisitlere göre heterosiklik türevleri daha karmaşık moleküler yapıya sahiptir ve daha kalıcıdır. Bu nedenle daha çok tercih edilirler. Heterosiklik türevlerden olan Diazinon, böcek öldürücü olarak ev ve bahçelerde sık kullanılmaktadır. Organofosforlu pestisitler, canlılarda kolinesteraz (ChE) ile asetil kolinesteraz (AchE) enzimlerinin etkinliklerini gidererek, zehir etkisi oluştururlar. Bu zehir canlılarda sinir sistemini etkilemektedir. Yapılan çalışmalar organofosforlu pestisitlerin insanlar ve gıdalar üzerinde pek çok olumsuz etkiye yol açtığını ortaya koymuştur.

### 2.6.1.3.3. Kükürtlü pestisitler

Organik kükürtlü pestisitlerde merkez atom kükürttür (Şekil 2.4). Kimyasal yapısı aşağıdaki gibidir.

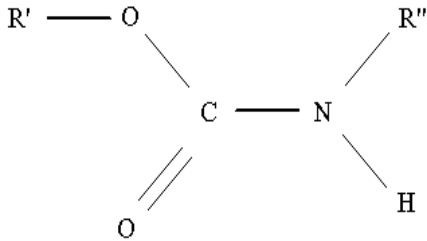


**Şekil 2.4** Organik kükürtlü pestisitlerin genel yapısı

Organik kükürtlü pestisitler böceklerde çok düşük zehirliliğe sahiptir. Genelde peynir kurdu ile mücadelede kullanılmaktadır.

#### 2.6.1.3.4. Karbamatlar

Karbamik asit türevlerinden olan karbamatlı pestisitler daha çok insektisit olarak kullanılırlar. Kimyasal yapısı Şekil 5'deki gibidir. Karbamatlar, organofosforlu pestisitler gibi kolinesteraz enzimine etki ederler. Sudaki çözünürlükleri fazla olan bu insektisitlerin topraktaki ömrü bir haftadır. Organizmada birikmeyen karbamatlar, yüksek kararlılıktaki organoklorlu pestisitlerden olan Aldrin, Heptachlor ve Dieldrin yerine tercih edilirler.



**Şekil 2.5** Karbamatlı pestisitlerin genel yapısı

Karbamatlı pestisitler çok yönlü özelliklere sahiptirler. Örneğin Carbaryl; çimen ve bahçe korumasında, Carbofuran ve Aldicarb; toprak korumasında, Thiodicarb; mısır, pamuk ve soya fasulyesinde, Propoxur ve Bendiocarb; ev tipi zararlılarına karşı korumada kullanılmaktadır [14].

**Çizelge 2.2** Kükürtlü pestisitlerin ve karbamatların zehirlilikleri

Etkin Madde	Akut Zehirlilik (LD <sub>50</sub> , mg/kg)	Ticari Adı	Etkin Madde (% m/m)
Kükürtlü Pestisitler			
Tetradifon	14700	Astedifon	7,52
Propargit	2200	Akarjit	58,8
Karbamatlar			
Karbaril	850	Korvin	85
Metomil	17-24	Lannat	20
Aldikarb	1	Temik	15
Karbafuran	-	Furadan	5
Tiyodikarb	66	Larvin	37,5

#### 2.6.1.3.5. Sentetik Piretroitler

Sentetik piretroitler, doğal piretrin temel alınarak hazırlanan maddelerdir [15]. Sentetik piretroitler, düşük toksisiteye sahip olmaları nedeniyle, vektörel kaynaklı hastalıklarla mücadelede, pek çok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca yarılanma ömürlerinin kısa olması, değerini daha da arttırmaktadır. Hedef organizmalar için seçici olan sentetik piretroitler, balıklar için zehirli etki oluşturmaktadırlar. Piretroitler, kuşlarda ve memelilerde kullanılan değerlerin 10-1000 katı kadar daha düşük oranlarda balıklara uygulandıklarında, balıklarda oldukça zehirli, nörotoksik etki göstermektedirler.

Sentetik piretroitler de kimyasal yapılarına göre gruplandırılırlar. 1. Tip piretroitler, siyano grubu içermeyen piretroitlerden oluşurken; 2. Tip piretroitler  $\alpha$ -pozisyonlarında siyano grubu içerirler. Piretroitler, sodyum kanalları üzerinde, mikromolar boyutlardaki konsantrasyonlarda bile çok büyük etkiler oluşturmaktadırlar. Sodyum kanallarının açık halini hedef alan piretroitler, bu açık halin devamlılığını sağlayarak kanalların aktivitelerini

kaybetmesine engel olurlar. Bu durum da böceklerde, yoğun heyecanlanma ve sinirliliğe yol açarak, felç ve ölüme yol açar [16].

## **2.7. Organofosforlu Pestisitlerin Etki Mekanizması**

Organofosforlu pestisitler toksik etkilerini "kolinesteraz ve asetil kolinesteraz inhibitörleri" olarak gösterirler. Organofosforlu pestisitler etki mekanizmasına göre iki tiptir.

*Direkt etkililer;* organizmada herhangi bir aktivite gerekmeksizin, direkt kolinesteraz enzimini inhibe ederler.

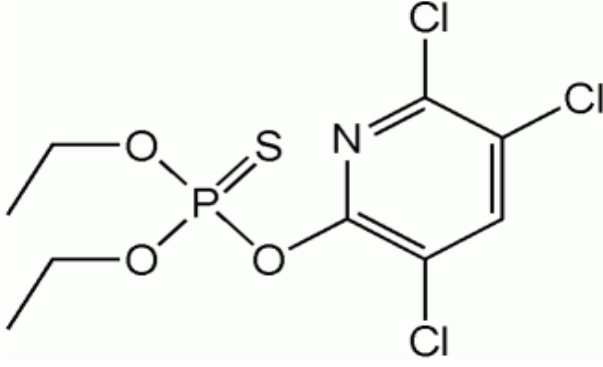
*İndirekt etkililer;* fosforat yapısında olup, aktif olabilmeleri için "okso" şekline dönüşmeleri gerekmektedir. Malathion: Geniş spektruma sahip organofosforlu bir pestisittir. Asetil kolinesteraz enzimine etki ederek, sinirlerde asetil kolin birikimine neden olur. Bu sinirsel etki, temas eden canlıların (bit, kene, pire) felç olmasına yol açar [5-10-17].

**Çizelge 2.3** Fosforlu pestisitlerin zehirlilikleri

Etkin Madde	Akut Zehirlilik (LD <sub>50</sub> , mg/kg)	Ticari Adı	Etkin Madde (% m/m)
Alifatik Türevleri			
Malation	2800	Malation	65
Triklorfon	630	Diptereks	60
Monokrotofos	8614	Anokron	40
Dimetoat	500-600	Afidreks	40
Dikrotofos	22	Bikron	24
Fenil Türevleri			
Paration-Methyl	14-24	Folidal	36
Tetraklorvinfos	4000-5000	Gardona	24
Profenofos	358	Kurakron	50
Heterosiklik Türevler			
Diazinon	300-400	Adizon	18,5
Azinfos-Metil	16,4	Azinfos	23
Chlorpyrifos-Methyl	2140	Reldan	22,7
Methidation	25-54	Megasit	42,6
Fosmet	230-299	İmidan	50

## 2.8. Chlorpyrifos' un Genel Özellikleri

Organofosforlu bir pestisit olan Chlorpyrifos' un IUPAC adlandırılması O,O-Diethyl O-3,5,6-Trichloro-2-Pyridymonothio Phosphat şeklinde olup, geniş spektruma sahip bir insektisittir.



**Şekil 2.6** Chlorpyrifos

Chlorpyrifos, Dow Elanco adında bir firma tarafından 1965 yılında ticari ismi Dursban olarak üretilmeye başlanmıştır. Ticari anlamda Lorsban, Agrospan, Priman, Korban, Empire, Piridane, Stipend gibi isimlerle de tanınır.

Moleküler formülü  $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$  olan Chlorpyrifos, 350,59 g/mol ağırlığa, 45,5-46,5 °C erime noktasına,  $1,87 \times 10^{-5}$  mm Hg buhar basıncı ve  $1,40 \text{ g/cm}^3$  yoğunluğa sahiptir [18]. Genel yapı olarak organofosforlu insektisitler, fosforik asit türevleridir. Etkili tüm maddelerin yapısında fosfor atomu bulunmaktadır. Organofosforlu insektisitlerden olan Chlorpyrifos, heterosiklik türevlerin alt grubundandır. Bu grupta Chlorpyrifos' un yanı sıra Diazinon, Primiphos-methyl, Azinphos-methyl, Phosmet, Methidation, ve Chlorpyrifos-methyl de bulunur.

Organofosforlu insektisitler, genelde yapılarındaki fosfor atomuna bağlı kimyasal yapının özelliğine göre etki mekanizmasına sahip olup, yine fosfor atomuna göre seçici ve kalıcılık özellik sergilerler. Ancak fosfor grubu, oksidasyon ve hidroliz gibi kimyasal tepkimelerden oldukça etkilenirler [10].

Kristal görünümde, kükürt kokulu beyaz bir madde olan Chlorpyrifos, toz, mikrokapsül, sıvı, granül gibi formlarda da olabilmektedir. Uygulama alanları arasında yem ve tohumlar da bulunmaktadır.

Sudaki çözünürlüğü normal şartlarda 2 mg/L olan Chlorpyrifos, metanol, kloroform, hekzan gibi çözücülerde yüksek çözünürlüğe sahiptir. Oda koşullarında yarılanma ömürleri araştırılmış, hidroliz için 18,9-80 gün, fotoliz için 21-28 gün, buharlaşma için 3,5-20 gün olarak tespit edilmiştir. Dayanıklılık değerlendirmelerinde sudaki dayanıklılığı 0,2-4 gün arasında değişirken, sedimentte 0,8-120 gün ve bitkide 1-7 gün olarak belirtilmiştir. Kaynama noktası ortam şartlarına göre değişime uğradığı belirtilerek 41,5- 44 °C olarak belirtilmiştir.

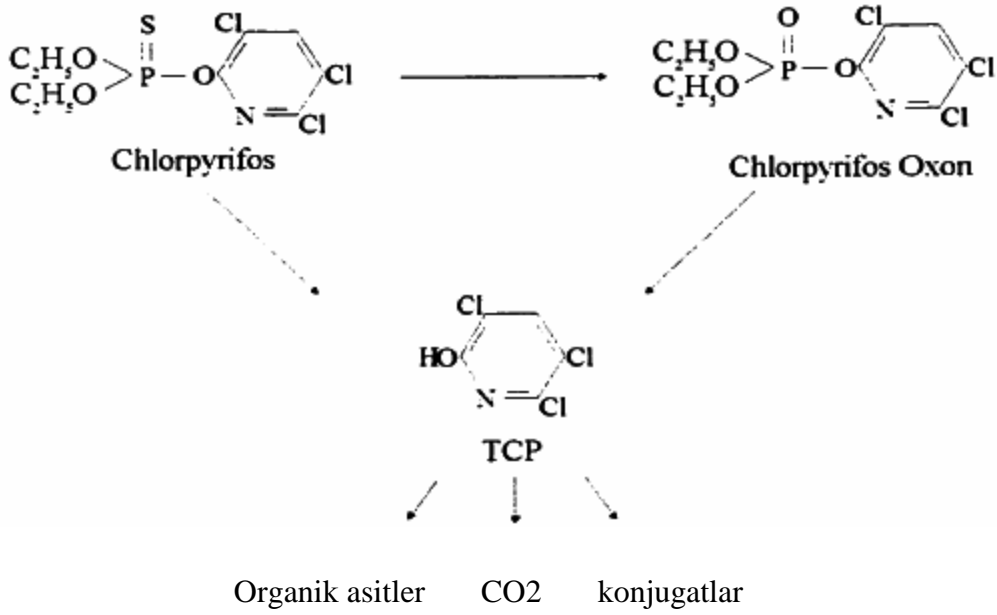
Polar olmayan, hidrofobik özellikteki Chlorpyrifos, ilk olarak sivrisinek larvalarının kontrolü için kullanılmış, daha sonra bu uygulama tekrarlanmamıştır. Genelde süs bitkileri, çimler ve depo ürünleri üzerinde böcekleri yok etmek için kullanılır. Hedef olarak bitki kurtları ile bitler, evsel böcek ve ateş karıncaları yok edilmek istenir. Bitkilerin aynı sıra meyve, koyun ve hindilerde de kullanılmaktadır. Uygulama dozu her ürün için farklılık göstermektedir.

**Çizelge 2.4** Bazı ürünlere uygulanan Chlorpyrifos için standart doz miktarları

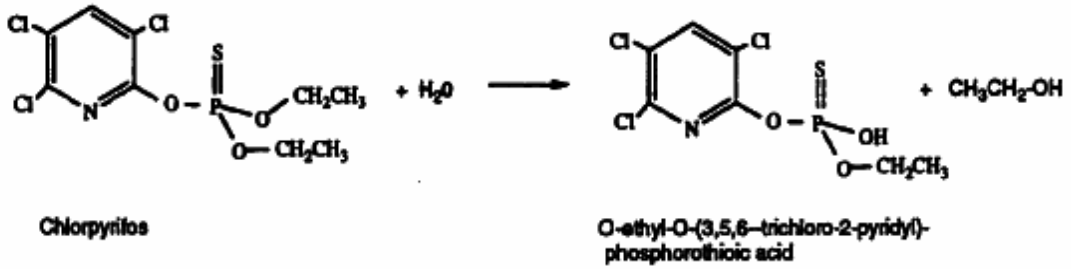
<i>Kullanılan ürün</i>	<i>Standart doz</i>
Mısır	0.56- 2.24 kg aktif madde/ ha
Buğday	0.28- 0.56 kg aktif madde/ ha
Tütün	1.18- 1.68 kg aktif madde/ ha
Şeker pancarı	1.12-2.24 kg aktif madde/ ha

Chlorpyrifos, termitisit olarak beyaz karıncaların kontrolü için kullanıldığında, 392 kg aktif madde/ha gibi oldukça yüksek dozlar söz konusu olmaktadır. Bunların yanı sıra Odenkirchen ile Eisler (1988), Worting ile Hance (1991), Wilcock ve arkadaşlarının (1994) yaptığı araştırmalarda Chlorpyrifos' un balıklar ve diğer su canlıları üzerinde, oldukça yüksek toksik etki oluşturduğundan bahsedilmiştir. Tüm bunlara rağmen Chlorpyrifos, yüksek biyolojik aktiviteye ve kısa yarı ömre sahip olması nedeniyle önemli bir insektisit olarak kullanılmaktadır.

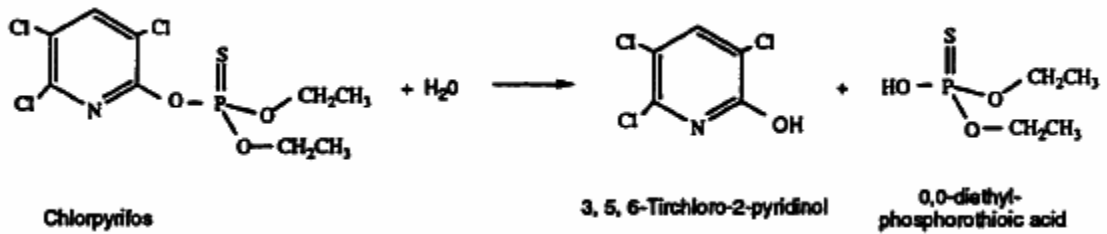
Chlorpyrifos' un tabiattaki durumu adsorpsiyon, desorpsiyon, parçalanma ve dönüşüm olayları tarafından yönlendirilmektedir. Şekil 2.7 de Chlorpyrifos' un doğadaki dönüşümü, Şekil 2.8 ve Şekil 2.9' da Chlorpyrifos' un nötr ve alkali pH ortamlarındaki hidrolizi verilmiştir [16].



Şekil 2.7 Chlorpyrifos'un çevredeki dönüşümü

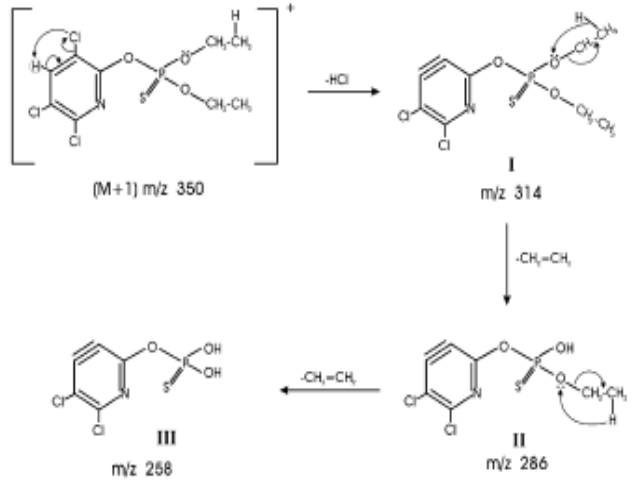


Şekil 2.8 Chlorpyrifos'un nötr pH'da hidroliz reaksiyonu

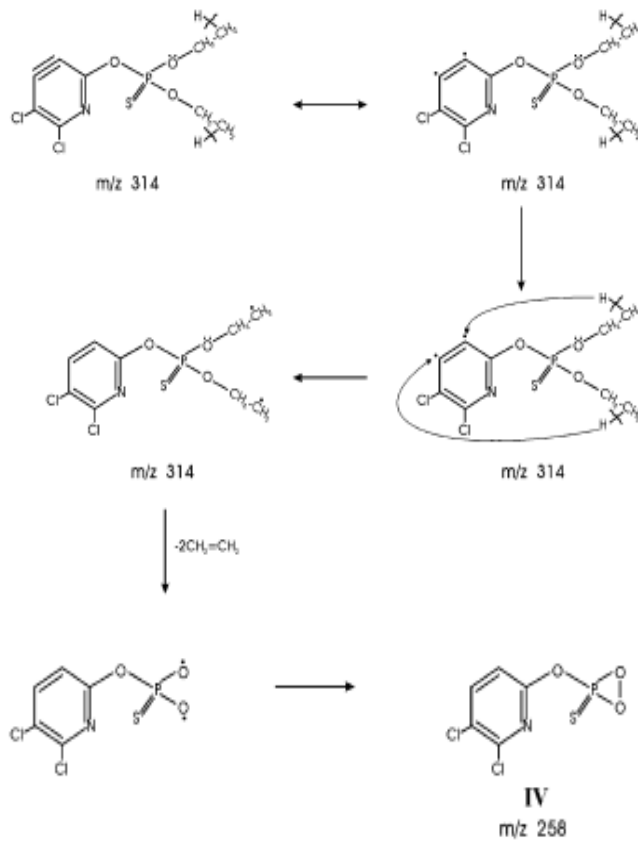


Şekil 2.9 Chlorpyrifos'un alkaline pH'da hidroliz reaksiyonu

Chlorpyrifos, GC-MS' te 198-258-314 numaralı piklere sahiptir. Bu pikler görüldüğünde Chlorpyrifos' tan söz etmek mümkün olmaktadır. Aşağıdaki şekillerde Chlorpyrifos' a ait iyonların oluşumları ayrıntılı olarak verilmektedir.

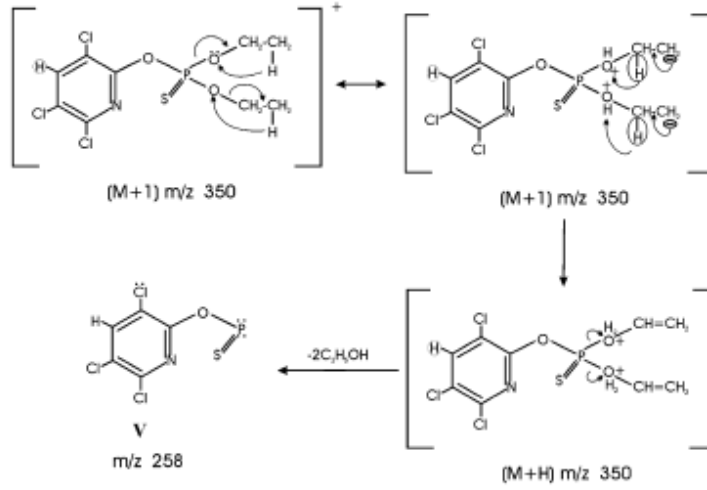


**Scheme - I**

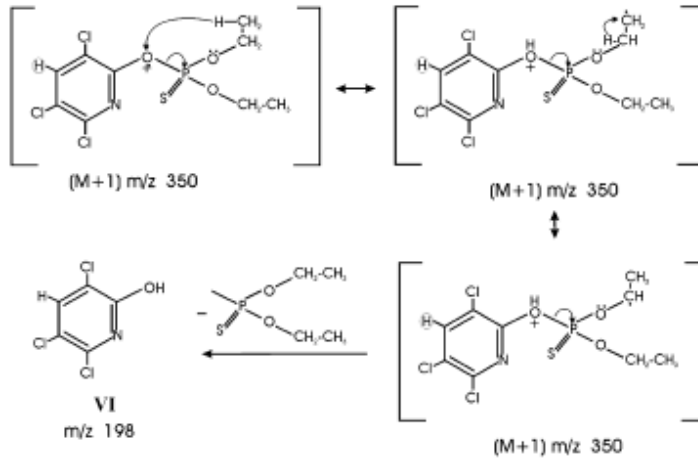


**Scheme - II**

**Şekil 2.10** Chlorpyrifos' un iyonlarının oluşumu (I)



Scheme - III



Scheme - IV

Şekil 2.11 Chlorpyrifos' un iyonlarının oluşumu (II) [19].

## 2.9. Chlorpyrifos İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Yer fıstığı tarlasında yapılan Chlorpyrifos ve Quinalphos pestisit uygulamalarının bakteri popülasyonunun tamamında düşürücü etki oluşturduğu gözlenmiş, alınan sonuçlara göre tohum ilaçlamasının ardından 60, toprak ilaçlamasının ardından ise 45 gün sonra bu etkinin sona erdiği; ancak bu uygulamada Chlorpyrifos' un mantar popülasyonu için artırıcı etki oluşturduğu kaydedilmiştir. Çalışılan toprakta Chlorpyrifos' un kalıcı olmadığı, 7 ile 9 arasında değişen yarılanma ömrüne sahip olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, uygulanan farklı dozlardaki Chlorpyrifos' un topraktaki bakterilerin, aktinomiset, mantar ve enzimlerin aktivitelerine etkisi incelenmiş, 2 mg/kg ölçekli uygulamanın bir gün sonrasında bakteri ile aktinomisetlerin popülasyonlarında azalma olduğu belirlenmiştir. Bu miktar 10 mg/kg' a çıkarıldığında ise Chlorpyrifos' un inhibitör etki göstererek bütün mikroorganizmaları

etkilediği saptanmıştır. Fakat deneme bitiminde yapılan çalışmalarda mikroorganizma popülasyonlarında olumlu sonuçlar kaydedilmiştir.

Amerika' da yapılan bir araştırmada şehir sularında pestisit kirlenmesine rastlanmıştır. bu kirlenmenin genel olarak organofosforlu ve karbamatlı pestisitler nedeniyle olduğu belirlenmiştir. güney Kaliforniya' dan alınan örneklerde geçerli pestisitlerin bozunma ve adsorpsiyon-desorpsiyon özellikleri araştırılmıştır. oksijenli ortam koşullarında Chlorpyrifos ve Diazinon organofosforlu pestisitlerin yarılanma ömürlerinin 14-24 gün olduğu belirlenirken, Chlorpyrifos' un oksijensiz ortam koşullarında yarılanma ömründe önemli ölçüde artış tespit edilmiştir. bütün pestisitler için adsorpsiyon katsayısındaki artışın zamana bağlı olarak değiştiği kaydedilmiştir. Diğer pestisitlerle karşılaştırıldığında Chlorpyrifos' un adsorpsiyon potansiyeli daha yüksek değerdedir. pestisitlerin kalıcılığı ile redoks özellikleri arasında bir ilişki olduğu, dolayısıyla pestisit aktivitesinin, adsorpsiyonu ile ters orantılı olarak değiştiği, yani zamanla artan adsorpsiyonun, pestisit aktifliğini düşürebileceği bildirilmiştir.

Brezilya' da alınan iki farklı toprağın analizi çalışmasında Chlorpyrifos ve diğer sekiz pestisit, denge metoduna göre çalışılmış, adsorpsiyon özellikleri belirlenmiştir. Sonuçlara göre adsorpsiyon, genel olarak Langmuir denklemine uyum sağlarken, düşük konsantrasyonlar için Freundlich denklemine uygun bulunmuştur. Kil ve organik madde kapasitesi bakımından daha fazla olan toprakta, Chlorpyrifos için kaydedilen adsorpsiyon katsayısı değeri, daha yüksek bulunmuştur. Chlorpyrifos' un toprak tarafından adsorpsiyonu konusunda yapılan bir çalışmada, ticari gübreden ekstrakte yoluyla alınan çözünmüş organik madde kullanılmıştır. Çalışma sonucunda alınan veriler, adsorpsiyon kapasitesi ile çözünmüş organik madde konsantrasyonu arasında ters orantı olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, kolon çalışmaları ile doğrulanmıştır. Buradan anlaşılan, organik gübreden elde edilen çözünmüş organik maddelerin uygulandığı topraklarda kimyasal taşınımı artabilmektedir.

Gaz kromatografisi ile yapılan çalışmada orman toprağı ve çam toprağı kalıntılarında Chlorpyrifos' un yarılanma ömrüyle ilgili çalışılmış, orman toprağında bu değer 11,48 gün bulunurken, çam toprağında daha yüksek bir değerde bulunmuştur. Chlorpyrifos ve diğer iki pestisit, toprak solucanlarındaki pestisit konsantrasyonu ile topraktaki adsorpsiyon ve desorpsiyon olayları arasındaki ilişkiyi araştırmak için yapılan çalışmada pestisitlerin izotermelerinin yanı sıra, adsorpsiyon ve desorpsiyon özellikleri de denge adsorpsiyon denemesiyle belirlenmiştir. Neticede Chlorpyrifos' un adsorpsiyon gücünün toprak üzerinde Chlorpyrifos ile birlikte üç pestisit topraktaki adsorpsiyon ve desorpsiyon özellikleri

ile toprak solucanlarındaki pestisit konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koymak üzere yapılan çalışmada denge adsorpsiyon denemesi ile pestisitlerin adsorpsiyon ve desorpsiyon katsayıları ve izotermi belirlenmiştir. Pestisitlerden sadece Chlorpyrifos' un Kd (ads) ve Kd (des) değerleri ile biyokonsantrasyon arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Araştırmacılar, bunun Chlorpyrifos' un toprak üzerinde güçlü adsorpsiyonuna bağlı olduğunu bildirmişlerdir [20].

### **3. KROMATOĞRAFI VE TEMEL KAVRAMLAR**

Rus kimyacı ve botanikçi Michael Tswett tarafından ilk defa 1906 tarihinde kullanılan kromatografi terimi anlam olarak 'chroma' renk ve 'graphein' yazma kelimelerinden oluşmaktadır. Bu konuda ilk Nobel ödülü İsveçli Tiselius ile İngiltereli Martin ve Syngge' e verilmiştir.

Kromatografi, bir hareketli ve bir durgun fazdan oluşan, farklı maddeleri farklı alıkonma zamanlarına göre analiz edebilen tekniktir. Bu teknik kalitatif ya da kantitatif analiz yapma imkanı sunmaktadır. Kromatografide durgun fazdan, sıvı veya gaz haldeki hareketli fazda bulunan karışımdaki bileşenlerin, geçme hızlarına göre ayırım yapılmaktadır. 1993' te IUPAC tarafından yapılan tanımda, kromatografinin, biri hareketli olmak üzere diğeri sabit iki faz arasında dağılmış olan bileşenlerin ayrılması için kullanılan fiziksel bir metod olduğundan bahsedilmektedir [22].

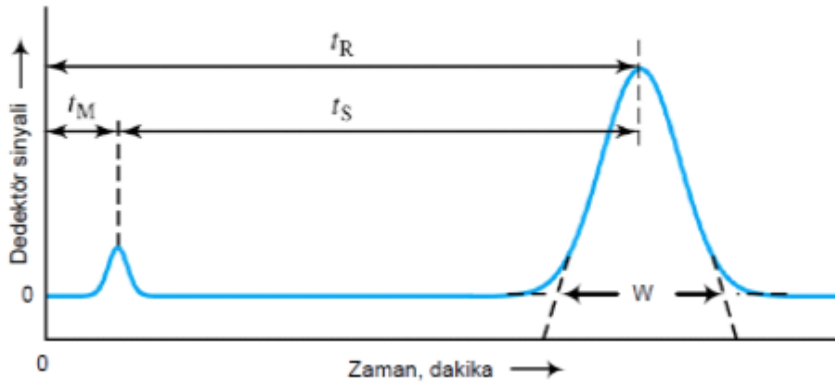
Kromatografi, cihaza verilen örneğin, hareketli faz yardımı ile kolon adı verilen sabit faza ilerletilerek, burada fiziksel etkileşimler sonucu tutunma sürelerinin farklılığına dayanarak, ayırımının yapıldığı sistemdir.

Kromatografi, kompleks haldeki karışımların içeriğindeki çeşitli maddeleri birbirinden ayırmaya ve onları analiz etmeye olanak veren bir ayırma yöntemidir. Bu yöntem bilim adamlarının çalışmalarını oldukça kolaylaştırmış ve de kolaylaştırmaya devam etmektedir. Kromatografik uygulamaların tümü, bir "sabit faz" ile bir "hareketli faz" temeline dayanmaktadır.

Kromatografik yöntemle analiz işlemi sırasında, karışımın bileşenleri sabit faz üzerinden, hareketli faz yardımı ile sürüklenerek taşınır; karışım içeriğindeki maddelerin taşınma hızlarının farklı olması, her bir bileşenin sabit faz üzerinde farklı yol almasına ve gruplar halinde ilerlemesine neden olur, böylece karışımdaki bileşenler birbirinden ayrılırlar. Kromatografide 4 temel kavram vardır. Bunlar;

1. Sabit (durgun) faz
2. Hareketli faz
3. Alıkonma zamanı
4. Kolon ayırma gücüdür.

Sabit faz, bir kolon içinde ya da düz bir zeminde tutturulmuş fazdır. Hareketli faz ise sabit faz üzerinden ya da arasından geçen ve karışımın da bulunduğu faza denir. Örneğin kolona enjekte edilmesi ile, detektörde okunmasına kadar geçen zaman, alıkonma zamanıdır ( $t_R$ ) [21]. Kolon ayırma gücü ( $R_s$ ) ise, kolonun örnek içindeki herhangi iki bileşeni kantitatif olarak ayırabilmesinin bir ölçüsüdür [20].



**Şekil 3.12** Bir kromatografik pikten standart sapma  $\tau_c$  nun tayini

(  $W = 4\tau_c$ ,  $t_R$ : kolon dolgusu içinde maddenin alıkonma zamanı,  $t_M$ : kolonda tutulmayan kısmın çıkma zamanı )

### 3.1. Kromatografik Metotların Sınıflandırılması

- *Ayırma mekanizmasına göre sınıflandırma*

- Adsorbsiyon Kromatografi
- Dağılma (Partition) Kromatografi
- İyon-değiştirme kromatografi
- Jel Geçirgenlik Kromatografi
- Zone Elektroforez
- Afinite Kromatografi
- Chiral Kromatografi

- *Hareketli faza göre sınıflandırma*

✚ Sıvı Kromatografisi (LC)

✚ Gaz Kromatografisi (GC)

- Uygulanan tekniğe göre sınıflandırma

✚ Kolon Kromatografisi

✚ Düzlem Kromatografisi

✚ İnce Tabaka Kromatografisi,

✚ Kağıt Kromatografisi [23]

**Çizelge 3.5** Kromatografik Ayırmaların Sınıflandırılması

Adı	Hareketli faz tipi	Sabit faz tipi	Sabit fazı tutma yöntemi
Gaz-sıvı	Gaz	Sıvı	Bir tüp içindeki poröz katı üzerinde veya kapiler bir tüpün iç cidarı üzerinde adsorblanır.
Gaz-katı	Gaz	Katı	Bir kolon (tüp) içinde tutulur.
Dağıtma	Sıvı	Sıvı	Bir kolon (tüp) içindeki poröz bir katı üzerinde adsorblanır.
Adsorbsiyon	Sıvı	Katı	Bir kolon (tüp) içinde tutulur.
Kağıt	Sıvı	Sıvı	Kalın bir kağıdın gözenekleri içinde tutulur.
İnce tabaka	Sıvı	Sıvı-katı	Bir cam levhadaki ince toz halin-deki katı üzerinde tutulur.
Jel	Sıvı	Sıvı	Polimerik bir katının lifleri arasında tutulur.
İyon değiştirme	Sıvı	Katı	Bir kolondaki (tüp) iyon değiştirici reçine üzerinde tutulur.

### 3.2. Kalitatif Analiz

Bir kromatogram, analizlenmiş numune bileşenleri hakkında yeteri kadar bilgi verememektedir. Gerekli bilgilerin sağlanması, farklı sıyırma sıcaklarının uygulanabilmesi için hareketli ve sabit fazların değiştirilmesi gerekmektedir. Tüm bunlara rağmen kromatografide yapılan analizlerde alınan sonuçlar, IR, NMR veya MS uygulamalarıyla yapılan analizlere göre yetersiz kalmaktadır. Bu durumda kalitatif analizler için kromatografinin başarısız bir teknik olduğu söylenemez.

Adları bilinen ve genelde birlikte bulunan bazı karışımların analizi yapılabilir. Uygun işlemler neticesinde kromatografik sonuçları incelenebilir. Ancak bu maddelerin varlığının ya da yokluğunun teyidi için, madde kimyasal ya da spektral olarak tanımlanmalıdır. Kompleks bir maddenin spektroskopik tekniklerle analizlenmesi için önceden kromatografik analize ihtiyaç vardır. Açıkça belirtilmelidir ki, yapılacak herhangi bir spektroskopik analizin sonuçlandırılması, kromatografiye bağlıdır.

### **3.3. Kantitatif Analizler**

Kantitatif analiz, kromatografide sıkça kullanılan bir yöntemdir. Yöntemin basit, hızlı ve oldukça iyi ayırım yapabilme özelliği nedeniyle son kırk yılda epey ilgi görmüştür.

Kromatografide kantitatif analiz yapılırken oluşan pikinin yüksekliği ya da alanı üzerinde durulur. Bu değerler, standartla kıyaslanarak ölçüm değerlendirilmesi yapılır. Çalışma koşulları, her iki analiz sonucunun konsantrasyon ile doğru orantılı olarak değişimini göstermektedir.

### **3.4. Pik Alanlarına Göre Analiz**

Pik alanına göre yapılacak analizler, pik yüksekliğine göre yapılacak analizlere kıyasla daha güvenilirdir. Çünkü pik yüksekliğine göre analizde alınması gereken önlemler, belirlenmesi gereken koşullar, bu analiz için geçerli değildir, bu değişkenler pik alanına etki etmemektedir. Kolaylık açısından pik yüksekliğinin ölçülmesi daha caziptir ve alanı ölçülemeyecek kadar dar pikler için yükseklik ölçümü daha doğru sonuçlar verir. Günümüz kromatografi cihazları bilya ile disk ya da elektronik bilgisayarlara sahiptir ve pik alanları kolaylıkla ve titizlikle ölçülebilir. Ancak bu tür sistemlerin olmadığı kromatogramlarda, gerekli hesaplama işlemleri el ile yapılır.

### **3.5. Pik Yüksekliğine Göre Analiz**

Pik yüksekliğine göre analiz yapılırken, taban üzerinde pikin başlangıç ve bitiş çizgileri aynı doğru üzerinde birleştirilir, pikin tepe noktasından bu doğruya bir dikme indirilir. Çizilen bu dikmenin uzunluğu pike ait yüksekliği verir. Analiz için optimum koşullar belirlenmeli ve bu koşullar analiz sonuçlanana kadar sabit tutulmalıdır. En çok dikkat edilmesi gereken koşullar kolonun sıcaklığı, hareketli fazın akış hızı ve numunenin enjeksiyon hızıdır.

### **3.6. Standartlarla Yapılan Kalibrasyon**

Kantitatif analizlerde genelde numune bileşimine yakın olması açısından bir seri standart çözelti ile çalışılır. Analizlenen standartlara ait kromatogramlar kullanılarak, pik yüksekliklerinin-alanlarının, numunenin konsantrasyonuna göre kalibrasyon grafiği oluşturulur. Oluşan grafikte orjinden bir doğru geçer ve bu grafiğe göre gerçekleştirilir. Kalibrasyon grafiği ile standart çözelti işlemlerinin kontrolü, sonuçların verimi açısından önemlidir. Analizde kullanılan standart çözelti ile numune hacminin sabit olmaması; aynı zamanda enjeksiyon hızından kaynaklı hatalar, analiz sonuçlarını etkilemektedir. Genelde enjekte edilecek maddeler için mikro şırınga ile 1µl kadar miktar alınması yeterlidir. Ölçümlerin hatasız gerçekleşmesi için tek mikro şırınga kullanılması gerekir.

### **3.7. İç Standart Yöntemi**

Kantitatif kromatografik analizlerde en verimli sonuçlar enjeksiyon kaynaklı hataların olmadığı iç standart yöntemi ile yapılır. Analiz için numuneye, gerçekten tartımı hassas alınmış bir iç standart maddesi eklenir. Alınan sonuçlardan numuneye ait pik alanı ya da yüksekliği ile iç standarta ait pikin alanı ya da yüksekliği oranı kullanılarak analitik parametre oluşturulur. İç standart pikinin, numuneye ait pike yakın olması, diğer bileşen piklerinden ise uzakta olması, yöntemi başarılı kılmaktadır.

### **3.8. Alan Normalizasyonu Yöntemi**

Numune enjeksiyonundaki olumsuzluk nedeniyle oluşan hata, alan normalizasyon yöntemi ile halledilebilir. Numunedeki tüm bileşenlerin kolondan çıkması sonucu oluşan tüm pikler için alan hesaplanır, her bir bileşen için bilinen dedektör algılama faktörü ile çarpım yapılarak düzeltilir. Numunenin pik alanının, oluşan toplam piklerin alanına oranı, numunenin konsantrasyonunu verir. Analitin konsantrasyonu, analit pikine ait alanın toplam pik alanlarına bölünmesiyle hesaplanır [16].

### **3.9. Kromatografi Mekanizması**

Kromatografinin enjeksiyon portu kullanılarak, eser miktarda numune, cihaza verilir. Numune hareketli faz yardımıyla, kromatogramın içinde bulunan ve kolon adı verilen bir boru içinde sürüklenir.

Numune kolonda sürüklenirken, bileşenler birbirinden uzaklaşır. Teker teker kolonu terk ederek uygun detektörce belirlenen bileşenler için, pik oluşur. Numune bileşenlerine ait bu pikler, kromatogram adını alır.

#### **4. GAZ KROMATOĞRAFİSİ (GC)**

İlk olarak 1941 yılında Martin ve Synge tarafından bulunmuş olmasına rağmen, 1952 yılında Martin ve James tarafından cihaz olarak geliştirilmiştir. 1952 yılından bu yana da, özellikle 60' lı yıllarda, analitik kimya başta olmak üzere, pek çok alanda kullanılmıştır. Gaz kromatografisi, analiz edilmek istenen bileşiğin gaz halde olup, hareketli faz olarak kullanılması ile katı bir fazın yüzeyine sabitlenmiş durgun sıvı faz arasındaki dağılımı ilkesine göre kurulmuştur. Uçucu yağların, gazların ve yüksek sıcaklıkta bozunmadan buharlaştırılabilen maddelerin kolaylıkla analiz edilmesine olanak sağlayan kromatografik bir yöntemdir. GC, sahip olduğu kendine has kütüphanesiyle çalışmalarda kolaylık sağlamanın yanı sıra, kalitatif analizle birlikte kantitatif analizlerin gerçekleştirilmesine de olanak sağlamaktadır. Bu özelliği GC' yi, diğer yöntemlerden ayrıcalıklı kılmaktadır [24].

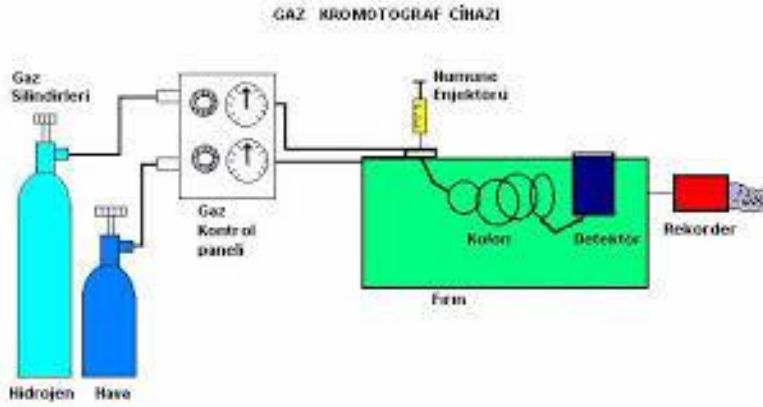
GC, yüksek sıcaklıklara rağmen bozunmadan buharlaşabilen bileşikler saflaştırma ve analizi için kullanılan, kromatografik yöntemlerden olan, yaygın bir yöntemdir. Gaz-sıvı ayırma kromatografisi (GLC) olarak da bilinir. En çok, maddelerin saflık derecelerini tespit edebilmek, farklı bileşenleri içeren karışımların ayrılmasını sağlamanın yanı sıra bu bileşiklerin içeriklerini miktar olarak tespit etmek için kullanılır. Ayrıca sahip olduğu kütüphane sayesinde, bileşiklerin belirlenmesinde ve saf maddelerin karışımdan eldesinde uygulanmaktadır.

GC' de, hareketli faz olarak genellikle inert bir gaz olan helyum ya da reaktif olmayan bir gaz olan azot, taşıyıcı görevi yapmaktadır. Durgun faz ise kolon denilen metal bir hortum gibi, inert katı olan çok küçük özellikli polimer ya da sıvı bir tabakadır.

Analizlenen gaz fazlı bileşikler, sabit fazla çevrili kolon çeperleriyle etkileşirler. Bu durumda her bir bileşik için, kolonda farklı kalma, tutunma sürelerine neden olur. GC' nin avantajı, kolonda alıkonma sürelerinin karşılaştırılabilir olmasındandır [25].

##### **4.1. Gaz Kromatografi Cihazı**

Gaz kromatografi (GC) cihazı genel olarak bir taşıyıcı gaz sağlayıcı ve kontrol kısmı, örnek enjeksiyonunun yapıldığı enjektör bloğu, kromatografik kolon ve fırın, dedektör, sinyal işleyici ve bilgisayardan oluşmaktadır. GC cihazının basit bir şeması Şekil 4.13’ te gösterilmiştir [26].



Şekil 4.13 Bir gaz kromatografisi cihazının şeması

#### 4.1.1. Gaz Kromatografisinin Kısımları

Gaz kromatografisi cihazının sahip olduğu kısımlar taşıyıcı gaz, enjektör bloğu, kolon, dedektör ve kaydedicidir.

*Taşıyıcı Gaz;* Cihaza enjekte edilen numuneyi taşıma özelliği ile sürükleyen kolon içindeki dolgu maddesi veya taşınan madde çeşitleriyle tepkimeye girmeyen inert gazlardan oluşmaktadır. Taşıyıcı gaz olarak en çok hidrojen, helyum ve azot gazları kullanılmaktadır.

Ancak hidrojen gazının numune ile tepkimeye girebileceği, dolayısıyla yeni madde oluşumu sebebiyle tercih edilmemektedir. Dolayısıyla helyum ve azot gazının kullanılması daha uygundur.

*Enjeksiyon Bölmesi;* İçinde buharlaştırıcı olan ve kolonun başında bulunan kısımdır. Enjeksiyon bölmesinin sıcaklığının kontrolü, iyi ayarlanması önemli bir konudur. Aşırı ısıtılması sonucu madde bozunmasına sebebiyet vermesi nedeniyle, sadece buharlaştırabileceği kadar ısıtılması gereklidir. Küçük ancak etkili olan bu detay, hem ayırımın iyi olmasını hem de olası kolon kirliliğinin önlenmesini sağlamaktadır.

Enjektör bölmesinin çalışma programı, split ve splitless olmak üzere iki mod ile yapılmaktadır. Madde miktarına dayalı programlar olan split ve splitless modlarda, maddenin küçük miktarı enjekte edilecekse split mod, maddenin tamamı enjekte edilecekse splitless mod

tercih edilir. Madde miktarının yanı sıra derişik numune kullanılıyorsa split mod tercih edilir. Bu, kolon kirlenmesini önlediği gibi, daha düzgün kromatogramların elde edilmesini sağlar. Kullanılacak madde oldukça seyreltik bir madde ise madde kaybı olmaksızın, analizin verimi açısından splitless mod tercih edilir.

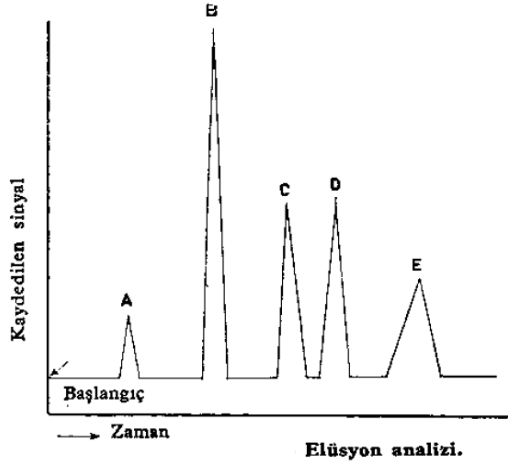
*Kolon;* Genelde dolgulu ve kapiler kolonlar olmak üzere iki çeşit kolon kullanılmaktadır. Dolgulu kolonlarda dolgu maddesi, analiz edilecek maddelerin gaz haldeki fiziksel özellikleri dikkate alınarak seçilmektedir. Dolgu maddesi ile analizi gerçekleştirilecek maddenin etkileşimi oldukça önemlidir. Maddenin türüne göre seçilen kimyasal dolgulu kolon kullanılır.

Dolgulu kolonlar, istenilen uzunluk ve iç çap ölçülerinde temin edilebilmektedir. Bu tür kolonlar genelde bakır, paslanmaz çelik, cam, teflon veya alüminyumdan yapılmakta; dolgu maddesi olarak, homojen ve inert katı maddeler kullanılarak sabit sıvı fazla kaplanmaktadır. Kolonların çapı yaklaşık 2-4 mm ve uzunluğu 2-3 m' dir.

Kapiler kolonlar ise dolgulu kolonlara nazaran yüksek ayırma gücüne sahiptir. Analizlerde yüksek verim sağladıkları için daha kullanışlıdır [24].

*Fırın;* Kromatografide karışımların etkili biçimde analizleri için kolon sıcaklığının en uygun koşullara getirilmesi gerekmektedir. Fırın olarak tanımlanan bu bölümde sıcaklık, oda sıcaklığının üzerindedir. Bu bölümde valfler, kolon ve dedektör bulunmaktadır. Dedektörün farklı bölgede bulunması durumunda ısıtma işlemi için yardımcı direnç uygunlanmalıdır [26].

*Dedektör;* GC' de analiz sonrasında numune bileşenlerine ait verilerin eldesi, dedektör tarafından sağlanmaktadır. Dedektör, kromatografide kolonla ayrılma işlemini takip etmektedir. Numune gaz halde kolona, buradan da detektöre geçer. Analiz, gaz haldeki numunenin atık bölmesinden uzaklaştırılmasıyla sonuçlanır. Analize ait verilerin sinyali dedektörden kromatogramı oluşturan kaydediciye iletilir. Kromatogram, numuneyi oluşturan her bir bileşen için uygun piklerdir. Bir dedektör için kararlılık, doğrusallık, hız, hassasiyet ve tekrarlanabilen sonuçlar oldukça önemlidir.



**Şekil 4.14** Kromatogram pikleri

Gaz kromatografisinde kullanılan farklı detektör türleri şunlardır:

- İnfrared Analiz Cihazı (GC-FT-IR)
- Kütle (mass) Spektrometresi (GC-MS)
- Alev İyonizasyon Detektörü (FID)
- Elektron Yakalama Dedektörü (Beta Işını İyonizasyonu Detektörü (ECD))
- Nitrojen Fosfor Dedektörü (NPD)
- Termal İletkenlik Dedektörü (TCD)
- Yüzey Potansiyeli Detektörü

En çok tercih edilen dedektör, her tür numune için kullanılabilir olması açısından Termal İletkenlik Detektörüdür. Bu dedektör, taşıyıcı gaz ile karışmış olan numuneye uygulanan ısı işleme sonucu oluşan ısı iletkenlik farkına göre ölçüm yapmaktadır. Ölçülen bu fark kaydedicide kromatograma dönüştürülür.

Elektron Yakalama Dedektöründe elektronlar ile düşük enerjiye sahip  $\beta$  ışını ve iyonlar üretilir. Analiz sırasında kolondan çıkan maddelere, üretilen  $\beta$  ışınları gönderilir. Bu ışınlar organik madde varlığında, iyonizasyon sonucu sabit akım oluştururlar. Organik madde olmaması halinde, madde tarafından elektronların yakalanması sonucu akım kaybı olur. Elektron Yakalama Dedektörü de bu akım kaybını ölçerek sinyal oluşturur.

Alev İyonizasyon Dedektörünün çalışma prensibi, maddelerin alev içerisinde polarlık derecelerine göre iyonlaştırılması temeline dayanmaktadır. Bu tür dedektörler hidrokarbonlara karşı duyarlı, alevde iyonlaşmayan azot, oksijen, karbondioksit vb. moleküllere karşı duyarlı değildir.

Termal İletkenlik Dedektörü, uygulanan akım sonucu oluşan ısı iletkenliğinin değişimine göre çalışmaktadır. Bu amaçla "katharometre" adı verilen cihaz kullanılmaktadır. Bu tip dedektörler ucuz, basit ve oldukça kabadır. Diğer detektörlerden daha az hassasiyete sahiptirler.

Kütle Spektrometresinde ölçüm, maddelerin molekül ağırlıklarına göre yapılmaktadır. Burada kolona alınan maddeler polarlık derecelerine göre ayrılırlar. Daha sonra dedektöre gelen maddeler, ağırlıkça en hafifi en önce olma koşuluna göre kolonu terk eder [27].

#### Çizelge 4.6 Dedektör tipleri ve uygulanan örnekler

<i>Dedektör tipi</i>	<i>Uygulanabilir örnekler</i>
Termal iletkenlik (TCD)	Evrensel
Alev iyonizasyon (FID)	Hidrokarbonlar
Nitrojen Fosfor (NPD)	N, P içeren örnekler
Elektron Yakalama (ECD)	Halojenli hidrokarbonlar
Atomik emisyon (AED)	Element seçici
Fotoiyonizasyon (PID)	Gaz ve buhar bileşikleri
Kütle spektrometre (MSD)	Ayarlanabilir örnek

## 4.2. GC Uygulamaları

GC, maddelerin ayrılmasının yanı sıra ayrılan maddelerin neler ve ortamda ne kadar bulduklarına dair kullanılmaktadır. GC, analize hazırlanan maddenin ya da herhangi bir türevi buharlaşma özelliğine sahip karışımların, biyolojik kimyasal maddelerin ya da organik-metal gibi sistemlerin ayrılması işlemlerinde kullanılabilen özel bir cihazdır. Ayrıca bir karışımın bileşenlerini ve onların birleşme oranlarını da analiz etmektedir. Bu analizler kalitatif ve kantitatif analizler olarak nitelendirilmektedir. Kalitatif analiz, maddenin kolon içerisinde alıkonma zamanına dayanırken, kantitatif analiz bu maddeye ait kromatogram piklerinin yükseklik ve alanlarıyla ilgilidir.

*GC' de Kalitatif Analiz;* maddelerin alıkonma zamanlarına göre saflık derecelerini belirlemek için kullanılır. Ancak bu işlem yeterli olmayabilir.

Analiz sırasında kolondan geçen bir bileşiğin sahip olduğu hız, alıkonma zamanı ve alıkonma hacmi, onun tanımlanması için kullanılacak karakteristik özelliklerdir. Gerçek alıkonma zamanı, bileşik ile bileşik miktarının, taşıyıcı gaz hızının, kolon ve kolon sıcaklığının bir işlevidir. Analizde, bilinen standart maddeler kullanılarak, sabit sıcaklık, aynı kolon ve hareketli faz akış hızı koşullarında, bilinmeyen maddelerin karşılaştırılması yapılırsa, beklenen verim gerçek değerinde ve en uygun şartlarda alınmış olur. Görülüyor ki, alıkonma zamanlarına göre karşılaştırılma yapılması için, çalışma koşullarının aynı olması gerekmektedir.

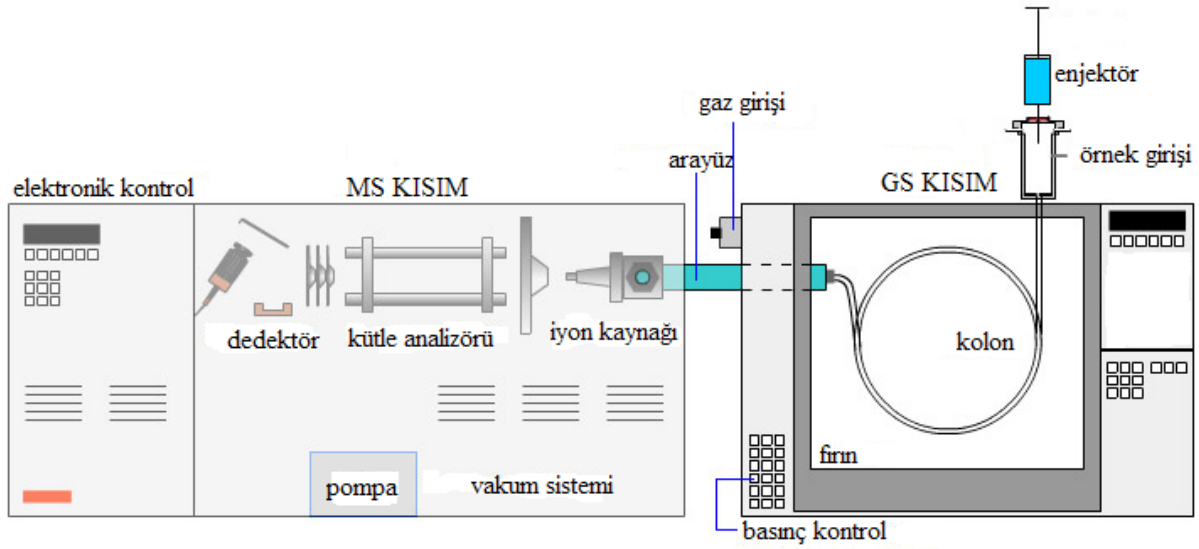
Numunenin içeriği, kullanılan kolonda aynı piki oluşturacak bileşiklerin olup olmaması durumuna karşı bilinmelidir. Daha verimli analiz sonuçları için, aynı numune farklı özellikli kolonlarda analiz edilmelidir. Bu gibi durumlar için GC-MS, IR ve UV kullanımı, bileşiklerin ayrıntılı tanınmalarında daha uygun sonuç vermektedir [28].

*GC' de Kantitatif Analiz;* GC' nin analitik uygulamalarının başında sıvıların ve gazların kantitatif analizleri gelmektedir. Alınan piklerden faydalanılarak kantitatif analiz yapılabilir. Bu tür analizlerde hata oranı %1' e kadar düşmektedir. Kantitatif analizde, numune içerisindeki bileşenler GC' de fiziksel ayrılmaya uğrarlar ve kalitatif analizdeki gibi referans standart bir numune analizi ile karşılaştırılırlar. Kalitatif analizden farklı olarak, analizlerde elde edilen piklerin alanı ve yükseklikleri esas alınır. Ancak ortam koşullarına göre kullanılan kolon dolgu maddesi, doldurulma şekli ve hareketli fazın hızı pik yüksekliği için olumsuz etki oluşturabilmektedir. Bu nedenle pik alanları, sonuçlar açısından daha güvenilirdir.

Tüm analiz sonunda belirlenen pik alanı ve yüksekliğine göre kalibrasyon eğrisi oluşturulur. Bu eğri, numunenin miktarını belirlemek için kullanılır. Eğri oluşturulurken maddenin pik alanının, standartın pik alanına oranı ile bu orana karşı madde miktarı kullanılarak eğri yapılır. Standart madde seçilirken, analizi gerçekleştirilecek numune ile aynı alıkonma zamanlarına sahip, ancak farklı pikler oluşturabilen madde olmasına dikkat edilmesi oldukça önemlidir.

Diğer bir kantitatif analiz yöntemi de numuneye belirli ölçüde standart madde eklemektir. Bu sayede elde edilecek olan geri kazanım değerleri hesaplanarak analiz sonuçlandırılır [28].

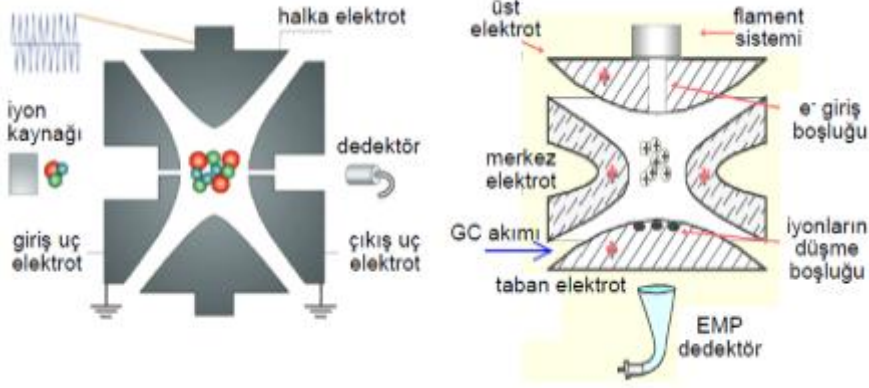
### 4.3. Gaz kromatografisi –Kütle Spektrometresi (GC-MS)



Şekil 4.15 Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi cihazı

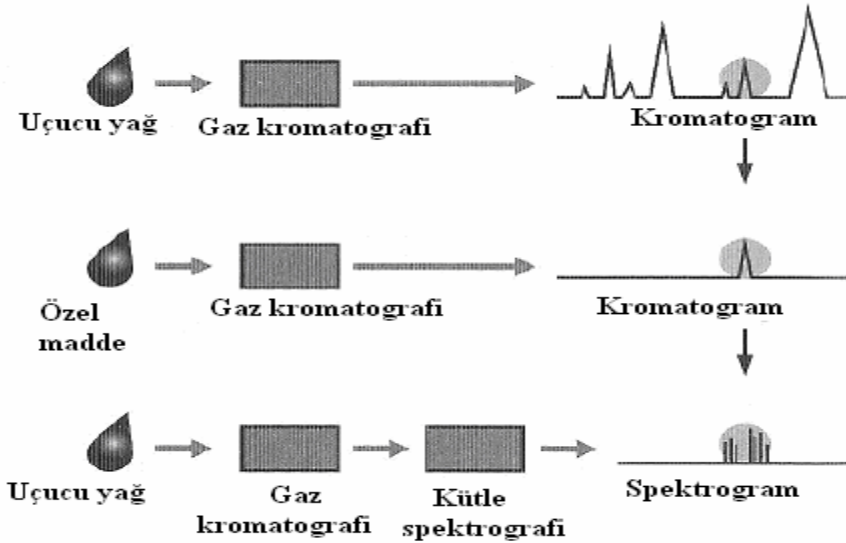
Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi (GC-MS), içerikleri belli olmayan numunelerin analizi için kullanılan oldukça gelişmiş bir kromatografi cihazıdır. GC-MS sisteminde, MS kısım analiz boyunca kütle taraması yapar. Numune GC' den geçip MS kısma geldiğinde iyon kaynağının elektron-darbe (EI) özelliği ile iyonlaştırılıp ayrıştırılır. İyonlaşma, elektron bombardımanı sırasında oluşan elektrostatik kuvvetler sayesinde, numunenin elektron kaybetmesi sonucu meydana gelir. Bombardımanın neticesinde iyonlar ayrılmaya başlar. Daha sonra iyonlar kütle analizörüne gelir ve burada kütle/yük ( $m/z$ ) oranına göre analizörü terk ederler. İyonlar çoğunlukla tek değerlidir.

GC-MS sisteminde numuneye ait bileşenlerin alıkonma zamanları kromatogram tarafından belirlenirken, numunede hangi bileşenlerin bulunduğu pikler yardımıyla kütle analizörü tarafından belirlenir. Kuadropol iyon kapanı, en çok kullanılan kütle analizörüdür. Bu analizör gaz moleküllerine ait anyon ve katyonların, manyetik ve elektrik alan sayesinde uzunca bir süre tutulmasını sağlar. Analizörde halka şeklinde merkez; yarım küre şeklinde üst ve taban elektrot olmak üzere üç elektrot bulunur. Kütle analizi ile iyonizasyon işlemleri aynı bölüme gerçekleşir. Numuneden ayrılan iyonlar, iyon dedektör ile ölçülür. Elektron multiplier iyon dedektörü sürekli dinod tip bir dedektör olup, kullanımını oldukça yaygındır [27].



**Şekil 4.16** Kuadrupol iyon için iki şematik diyagramı

GC kısım, numune içerisinde gaz halde bulunan ya da zahmetsiz buharlaşabilen bileşenleri ayırmak için kullanılır. GC’ de ayrılarak gelen bileşenlerin, iyonizasyon işlemine tabi tutulmasıyla manyetik alan oluşur. Bu alanda bileşenler yüklerine göre ayrılarak oluşturdukları sinyaller MS kısım ile spektruma dönüştürülür [29-30].



**Şekil 4.17** GC-MS sistemi

GC-MS, analitik teknik olarak sağlam iki cihazın birleştirilmesiyle oluşturulmuştur. GC, numunedeki bileşenleri ayırırken, MS bileşenleri yapılarına göre tanımlar. MS için madde miktarı çok da önemli değildir; çünkü numuneleri tanımlarken çok küçük miktarlar yeterli olmaktadır. Ayrıca hızlı ve verimli analiz özellikleri diğer avantajlarıdır.

GC-MS, bileşiklerin hangi bileşenlerden oluştuğunun, gaz hale geçebilen ya da gaz haldeki numunelerin analizini sağlar. Analiz verileri (spektrumlar) kullanılarak daha kompleks yapıları biyolojik, organik ya da inorganik bileşiklerin yüksek performanslı analizleri de GC-MS sistemi ile gerçekleştirilmektedir [31].

GC-MS' i diğer kromatografik yöntemlerden üstün kılan en önemli özelliği, bir numunenin yanlış analiz edilmesine imkan vermemesidir. Çünkü çalışılan numunenin kolonda alıkonma zamanı ile kütle spektrumu birbiriyle bağımsızdır. Bu durum, numunenin alıkonma zamanı ve kütle spektrumları incelenilerek açıklanabilir. İlgili numune için çalışılacak olan bir standart numune, verilerin karşılaştırılması için yeterli olacaktır.

GC-MS' te kısaca, GC kısmında numuneyi oluşturan bileşikler ayrılır, daha sonra MS kısmında iyonlaştırılarak kütlelerine göre analiz edilirler. Analizlerde elektron-darbe modu için iyonlaşma değeri, ortak standart kabul edilen, 70 eV' luk değerdir. Cihazın göstermiş olduğu teknik özellikler, onu uluslararası değere taşımış; bu da kullanım açısından ortak kütüphanelerin oluşturulmasını sağlamıştır. Oluşturulan kütüphaneler sayesinde önemli birçok maddenin içeriği aydınlatılmıştır [29].

En basit haliyle MS, iyon kaynağı, kütle analizörü, iyon toplayıcı, vakum ve bir veri sisteminden meydana gelir. Yüksek enerjili elektronlar tarafından numunenin bombardıman edilmesi iyon kaynağının görevidir. Bombardımana uğrayan numune molekülleri parçalanır ve iyonlaşır. İyonlaşan numune, iyon kaynağı ile kütle analizörüne püskürtülür.

Bileşiklerin GC-MS ile analizleri sonucu oluşan kütle spektrumları, kalitatif tayinler için oldukça güvenilir sonuçlar vermektedir. Yüksek ayırma gücü, kalitatif-kantitatif ve hızlı analiz özelliği ile sahip olduğu hassasiyet, önemli avantajlarıdır [32].

### GC-MS' in Uygulama Alanları

Genellikle analitik kimya alanında uçucu özelliğe sahip maddelerin ve gazların bileşenlerinin tespiti ve analizleri için kullanılan metot; alkaloid, terpen, steroid, ilaç ve petrol ürünleri analizlerinin yanı sıra; ayrıntılı şekilde gıda ve yağların kalitatif ve kantitatif analizlerine olanak sunar. Ayrıca, uyuşturucu madde analizi gibi adli tıp vakalarında da sık kullanılmaktadır [31-33].

## **5. MEYVELERDE BAZI PESTİSİT KALINTI ANALİZ ÇALIŞMALARININ İNCELENMESİ**

### **5.1. Meyvelerde Bazı Pestisit Kalıntı Analizi için Analitik Teknikler**

Meyve ve sebzelerde eser miktarlarda da olsa pestisit bulunabilir. Bu eser miktarlar ppm, ppb ya da daha az olabilir. Yabancı iyonları içeren doğal besinlerde az miktarda bulunan pestisit gibi maddeleri ölçmek zordur. Böyle durumlarda analitik yöntemlerden yardım almak ve bazı temel unsurlara göre çalışmak oldukça önemlidir.

#### **5.1.1. Örnek Hazırlama**

Temin edilen meyve ve sebze numuneleri varsa çekirdeklerinden arındırılıp blenderden geçirilir. Bu aşamada numunenin kirlenmemesi ve pestisit kaybı yaşanmaması için gerekli önlemler alınır. Her şeyin normal olduğu kontrol edildikten sonra analize hazırlamak üzere, numuneden homojen örnekler alınır.

#### **5.1.2. Ekstraksiyon**

Ekstraksiyon aşamasında amaç numunedeki pestisitlere uygun çözeltiyi uygulayarak, onları diğer bileşenlerden ayırmaktır. Bu çözücüler genelde aseton, etanol, metanol çözücülerdir. Çözücüden en iyi şekilde yararlanabilmek için numuneyle homojenize olmasını sağlamak önemli bir etkidir.

#### **5.1.3. Örnek Temizlenmesi**

Numuneler, ortamda bulunması istenmeyen bileşenlerden uzaklaştırılması ve derişimin artırılması amacıyla temizleme işlemine tabi tutulurlar. Bu işlem sonunda, cihaz olası kirlilikten, analiz edilecek maddenin yanlış tespitinden ve sonuca olumsuz etki edecek tüm etkenlerden korunum sağlanır.

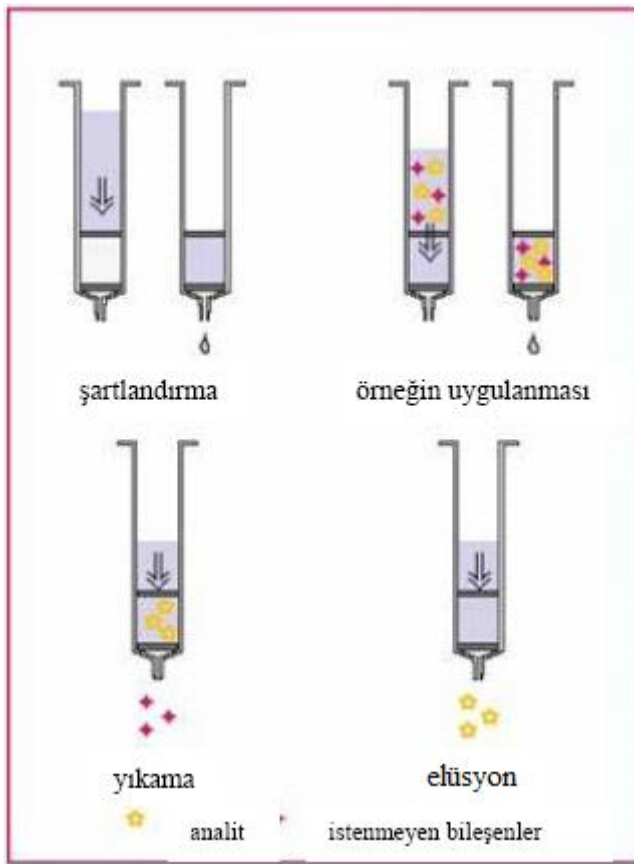
#### **5.1.4. Örnek Ekstraksiyon Teknikleri**

Örnek ekstraksiyon teknikleri altı başlıkta incelenir;

- Süper kritik akışkan ekstraksiyonu (SKAE)
- Basınçlı akışkan ekstraksiyonu (BAE)
- Sıvı-sıvı ekstraksiyon (SSE)
- Jel geçirgenlik kromatografisi

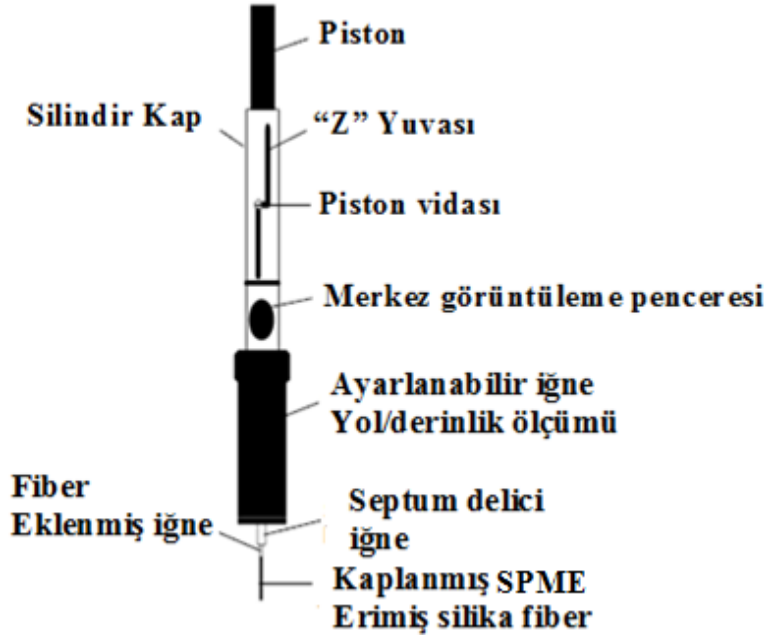
- Katı faz ekstraksiyonu (KFE)
- Katı faz mikro ekstraksiyonu (KFME)

*Katı faz ekstraksiyonu;* Bu yöntem, sıvı numunelerin istenmeyen bileşenlerden ayırmak amacıyla, adsorban görevindeki çeşitli maddelerin yardımıyla, tek kullanımlık kolonlara doldurularak, hızlı bir şekilde numune hazırlanmasını sağlamıştır. Sıvı-sıvı ekstraksiyona göre çok daha ucuz, daha hızlı ve daha az çözücüyle çalışma imkanı sunar. Ayrıca analizin verimini artırır, temiz ekstrakt sağlar ve yüksek geri kazanım oranları sağlar.



**Şekil 5.18** Katı faz ekstraksiyon yöntemiyle maddelerin ayrılma şekilleri

*Katı faz mikro ekstraksiyonu;* Pawliszyn ve arkadaşları tarafından 1990 yılında geliştirilen katı faz mikro ekstraksiyon düzeneği, erimiş silika kaplı bir durgun fazdan ibarettir. Ekstraksiyon işlemi doğrudan uygulanır ve silika kaplı durgun faz olarak kullanılan fiber üzerine adsorbesi sağlanır. Gerek kullanılan çözücü miktarı, gerek hazırlık süresi, gerekse oluşan atık miktarı açısından oldukça avantajlı bir yöntemdir. Bu yöntem GC’ de olduğu gibi HPLC’ de de kolayca kullanım sağlar. Uçucu ve yarı uçucu özellikteki çevre, gıda ve biyolojik örneklerin analizinde kullanılır. Fiber, çok az numune ve çok az çözücü kullanımı ile analizin gerçekleştirilmesine olanak sağlar. KFME’ de kullanılan fiber Şekil 5.19’ daki gibidir.

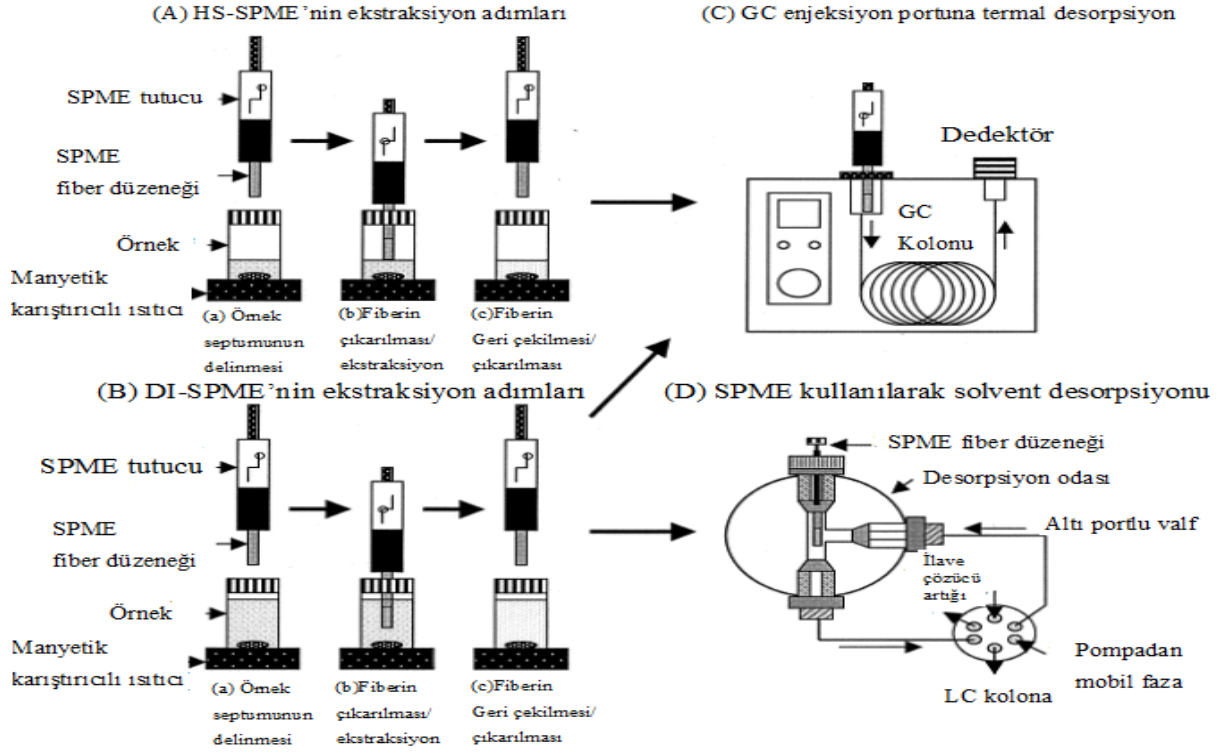


**Şekil 5.19** Supelco tarafından geliştirilen ticari katı faz mikro ekstraksiyon aygıtı

KFME iki farklı uygulamayla gerçekleştirilir.

1- *Direkt daldırma (Direct-immersion DI)*; Fiber direkt olarak numuneyle batırılır. Optimum ortam koşullarına göre belirlenen süre kadar numune adsorpsiyonu sağlandığında, fiber GC' ye enjekte edilerek analiz sağlanır. Bu yöntem çözelti analizleri için uygundur.

2- *Tepe boşluğu (Head-space HS)*; Gaz fazlı örneklerin analizi için uygulanır. Teknikte uçucu sıvı örnekleri için fiber, örneğin üst kısmında bekletilerek gaz faza maruz kalması sağlanır.



**Şekil 5.20** Tepe boşluğu ve direkt batırma yoluyla ekstraksiyon prosesi ve GC ve HPLC analizleri için desorpsiyon sistemi

### 5.1.5. KFME Optimize Koşulları

#### 5.1.5.1. Fiber Seçimi

Kimyasal olarak stabil ve inert bir madde olan erimiş silika ile kaplı 1cm uzunluğundaki fiberler kullanılmaktadır. Fiberler fiziksel ve kimyasal olarak farklı sınıflandırılmıştır. Uçucu, yarı uçucu veya uçucu olmayan bileşenlerin analizi için fiberin sahip olduğu sabit faz, uygun fiber seçildiğinde verimli ekstraksiyon işlemi gerçekleştirebilmektedir. Uygulanan numunenin molekül ağırlığı, kaynama noktası, polaritesi, buhar basıncı, büyüklüğü, sahip olduğu fonksiyonel gruplar, fiberin polaritesi, sahip olduğu fonksiyonel gruplar ve ekstraksiyon mekanizması gibi faktörler fiber sabit fazının ekstraksiyon kapasitesini etkiler.

**Çizelge 5.7** En sık kullanılan fiberlerin genel özellikleri

<i>Açıklama</i>	<i>Kimyasal Karakteri</i>	<i>Fiber Kalınlığı (μm)</i>	<i>Madde Tipi</i>
PDMS	Apolar	100	Uçucular (MA=60-275 g/mol)
	Apolar		
	Apolar	30	Apolar yarı uçucular (MA= 80-500 g/mol)
		7	Apolar yüksek molekül ağırlıklı bileşikler (MA= 125-600 g/mol)
PDMS-DVB	Bipolar	65	Uçucu aminler ve nitro-aromatik bileşikler (MA=50-300 g/mol)
	Bipolar	60	Aminler ve polar bileşikler (sadece HPLC için)
PA	Polar	85	Polar yarı uçucular (MA= 80-300 g/mol)
PDMS-Karboksen	Bipolar	75/85	Gaz ve düşük molekül ağırlıklı bileşikler (MA=30-225 g/mol)
Karbovaks	Polar	60	Alkol ve polar bileşikler (MA=40-275 g/mol)
DVB/Karboksen	Polar	50/30	Kokulu bileşikler; uçucular ve yarı uçucular
DVB/Karboksen	Polar	50/30	Eser bileşiklerin analizi

PDMS: Polidimetilsiloksan, DVB: Divinilbenzen, PA: poliakrilat

Fiberler, erimiş silika çapı, polarlık, kaplama stabilitesi, dayanılabilir en yüksek sıcaklık vb. parametrelere göre farklı özelliklere sahiptir.

**Çizelge 5.8** Fiberlerin özellikleri

Fiber Kaplama	Erimiş Silika Çapı (mm)	Erimiş Silika Yarıçapı (mm)	Çekirdek Hacmi (mm <sup>3</sup> )	Toplam Çap (mm)	Toplam Hacim (mm <sup>3</sup> )	Faz Hacmi (mm <sup>3</sup> )	Polarlık	Kaplama Stabilitesi	Maksimum Sıcaklık °C
7µm PDMS	0,110	0,055	0,095	0,124	0,121	0,026	Apolar	Zincirli	340
30µm PDMS	0,110	0,055	0,095	0,170	0,227	0,132	Apolar	Zincirsiz	280
100µm PDMS	0,110	0,055	0,095	0,300	0,707	0,612	Apolar	Zincirsiz	280
85µm Poliakrilat	0,110	0,055	0,095	0,280	0,616	0,521	Polar	Çapraz bağlı	320
65µm PDMS/DVB	0,110	0,055	0,095	0,240	0,452	0,357	Bipolar	Çapraz bağlı	270
75µm Karboksen/PDMS	0,110	0,055	0,095	0,260	0,531	0,436	Bipolar	Çapraz bağlı	340
65µm Karbovaks/DVB	0,110	0,055	0,095	0,240	0,452	0,357	Polar	Çapraz bağlı	260
60µm PDMS/DVB*	0,160	0,080	0,201	0,280	0,616	0,415	Polar	Çapraz bağlı	270

### 5.1.5.2. Ekstraksiyon Süresi ve Sıcaklığı

Ekstraksiyon sırasında fiberin numuneyle muamele süresi, analiz sonuçlarını etkilemektedir. Ekstrakte edilmek istenen bileşenlerin numune ortamında bitmesi için gerekli süre, denge süresi olarak adlandırılır. Denge süresinin belirlenmesi için optimum koşullar denenmelidir.

Sıcaklık da, ekstraksiyona süre kadar etki eden bir parametredir. Özellikle yarı uçucu maddelerin ekstraksiyonu sırasında sıcaklığa dikkat edilmelidir. Maddelerin buhar basınçları

sıcaklıktan etkilenir. Bunun yanı sıra, yüksek sıcaklık, uçucu özellikteki maddelerde adsorpsiyonu kolaylaştırır. Optimize edilen ortam koşullarında analizin verimli sonuçlanmasını sağlar. Tüm bu avantajların yanı sıra, madde miktarında azalmaya sebep olması, sıcaklığın ekstraksiyon üzerine bir dezavantajdır.

#### **5.1.5.3. pH' ın Etkisi**

Direkt daldırma yöntemiyle yapılmak istenen analizlerde, maddelerin asidik ya da bazik özellik göstermesi, fiberin kaplama maddesine olumsuz etki etmektedir. Analizi yapılacak maddenin pH' ı azaldıkça ekstraksiyon verimi artar.

#### **5.1.5.4. Tuz Etkisi**

Daha çok tepe boşluğu yönteminde tercih edilen, numunenin tuz ile aşırı doymuş çözeltisinin analizi tuz miktarına bağlı olarak, direkt daldırma yöntemi için de uygulanmaktadır. Tuz, ekstrakte edilmek istenen bileşenin fiber sabit fazı ile daha çok etkileşmesine neden olur. Bu da ekstraksiyonu olumlu etkiler.

#### **5.1.5.5. Çalkalama Etkisi**

Ekstraksiyon sırasında numunenin çalkalanması, istenen bileşen ile fiber sabit fazı arasında kütle transferini kolaylaştırmaktadır. Yine en uygun çalkalama hızı, denemeler sonucu belirlenecektir.

#### **5.1.5.6. Örnek Hacmi**

Sıcaklık, buharlaşma, adsorpsiyon vb. nedenlere bağlı olarak madde miktarının azalması, fiberin yeterince temas edememesi durumlarında, analizden istenen verim sağlanamamaktadır. Bu parametrelerden bağımsız olarak da fiberin numune ile tam anlamıyla temas halinde olduğundan emin olunmalı, kullanılan vialler yeterince doldurulmalıdır.

#### **5.1.5.7. Desorpsiyon Süresi ve Sıcaklığı**

GC ile yapılan analizlerde, numunenin özelliklerine uygun optimum koşullar belirlenmediği sürece, yeterli verim alınması mümkün değildir. Adsorpsiyon süresi ve sıcaklığı kadar, numunenin GC' deki desorpsiyon süresi ve sıcaklığı da oldukça önemlidir. Bir maddenin desorpsiyonuna sıcaklığın etkisi incelendiğinde numunenin uçuculuğu, enjeksiyon portunda ayarlanan fırın sıcaklığı, kullanılan fiberin kaplama kalınlığı ve desorpsiyonun numuneye etki edebildiği süre büyük önem taşır. Desorpsiyonun en verimli olduğu sıcaklık, uçucu maddelerin

sahip olduğu kaynama noktasına en yakın olduğu sıcaklıktır. Analiz sırasında piklerde genişleme olmaması için kolonun soğuk tutulması ya da soğutulması gereklidir. Desorpsiyon süresi, maddenin apolar özellikte olması durumunda birkaç saniye sürecek şekilde çok kısadır. Ancak bu sürecinin en az 1-2 dk uzatılması analizin yararına olacaktır [21].

## **6. MATERYAL VE YÖNTEM**

### **6.1. Materyal**

#### **6.1.1. Kullanılan Kimyasallar**

Çalışmada kullanılan çözücüler, GC saflıkta olup Merck (Darmstadt, Germany) firmasından temin edilmiştir. Kullanılan saf su Milipore 0,45 µm membran filtreden geçirilerek hazırlanmıştır.

#### **6.1.2. Standartlar**

Meyve ve sebze yetiştiriciliğinde kullanılan insektisit etkili Chlorpyrifos pestisiti, Dr. Ehrenstorfer GmbH'den satın alınmıştır.

#### **6.1.3. Cihazlar**

- GC-MS cihazı- Agilent teknoloji 5975C
- Manyetik karıştırıcılı ısıtıcı

### **6.2. Yöntem**

#### **6.2.1. Standart Stok Çözeltisi**

Dr. Ehrenstorfer GmbH' den temin edilen Chlorpyrifos 100 ppm olacak şekilde metanolde çözülerek stok çözeltisi hazırlandı. Ardından yine metanol ile Chlorpyrifos, 50 ppm olarak ara çözelti hazırlandı.

Chlorpyrifos ara çözeltileri, önceden hazırladığımız 50 ppm' lik çözeltden, 0,1 ppm, 0,01 ppm ve 0,005 ppm' lik konsantrasyonlarda hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerde, su:metanol oranı % 80 ve ortamın tuzluluk oranı % 8 olarak sabit tutuldu.

## 6.2.2. Örnek hazırlama

Çalışmamızda kullandığımız kiraz örnekleri İstanbul-Kadıköy semt pazarından temin edildi. Kiraz örneği önce çekirdeklerinden arındırılıp blenderden geçirilirdi. Sonrasında her biri 50 g olarak tartılan kiraz örnekleri, numune kaplarına alındı. Chlorpyrifos için, 0,1 ppm, 0,01 ppm ve 0,005 ppm' lik ara çözeltilerinin belirli hacimleri kiraz örnekleriyle muamele edildi. Karışımlar homojen olması için vorteks ile çalkalanıp, oda koşullarında 1 saat bekletildi.

Üzerine su:metanol karışımı ilave edildi ve belirli bir hacme tamamlandı. Son durumda ortamdaki su:metanol oranı % 80 ve tuz oranı % 8 olacak şekilde sabitlendi. Numuneler GC-MS ölçümleri için viallere alındı.

KFME için hazır hale getirilen numunelerin analizinde, Hamilton 7005 model şırınga ile ABD, Supelco, Bellefonte marka PDMS (100 µm, 24 ga) kaplı fiber kullanıldı. Etkin bir yöntem geliştirebilmek için kromatografik şartların ve KFME parametrelerinin optimizasyonu yapıldı.

## 7. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 7.1. Kromatografik Şartların Optimizasyonu

GC-MS ile Clorpyrifos analizi yapılırken splitless modunda çalışılmıştır. GC-MS ile çalışma şartlarını belirlemek üzere 0,001 - 0,01 - 0,05 - 0,1 - 1 - 5 - 10 ppm konsantrasyonlarında 7 adet Clorpyrifos standartı kullanılmıştır. GC-MS çalışma şartları aşağıda belirtilmiştir;

- Agilent 5975C marka GC-MS
- HP-5-MS, 30 x 0,25 mm x 0,25 µm kolon ölçüleri
- 1 mL/dk He gazı akış hızı
- 250 °C enjeksiyon sıcaklığı
- 1 µL enjeksiyon hacmi

### 7.1.1. Fırın Programının Belirlenmesi

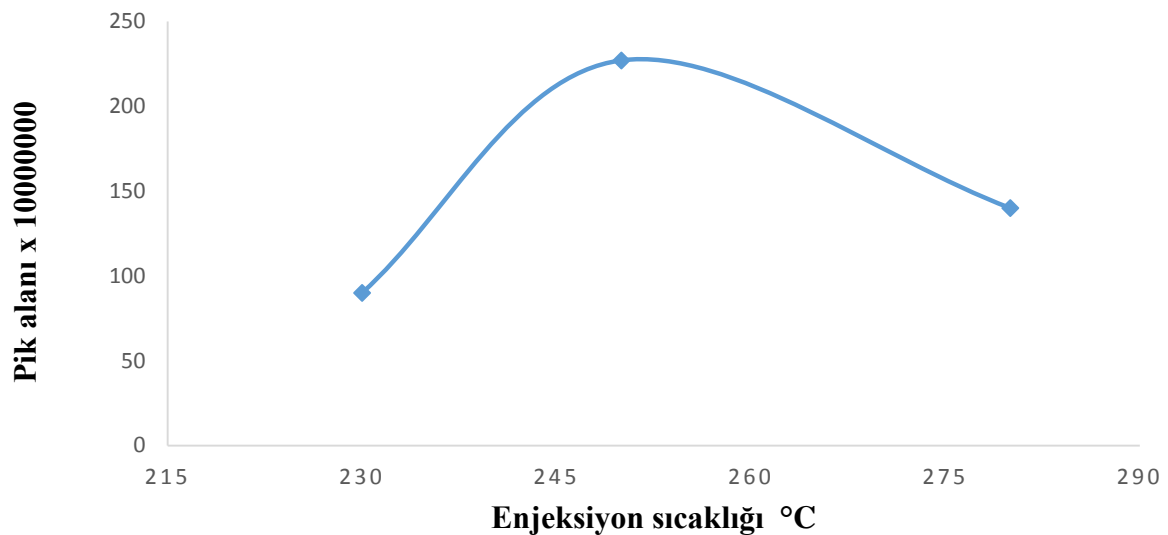
Seçilen fırın programı sonuçların hassas bir şekilde alınmasını sağlamalı aynı zamanda süresinin de makul bir aralıkta olması gerekmektedir. Yaptığımız çalışmalar sonucunda elde ettiğimiz en iyi fırın programı, Çizelge 7.9’ da gösterilmiştir.

**Çizelge 7.9** GC-MS fırın programı

<i>Sıcaklık artış miktarı °C/dk</i>	<i>Fırın sıcaklığı °C</i>	<i>Bekleme süresi</i>
----	100	2
15	250	5

### 7.1.2. Enjeksiyon Sıcaklığı

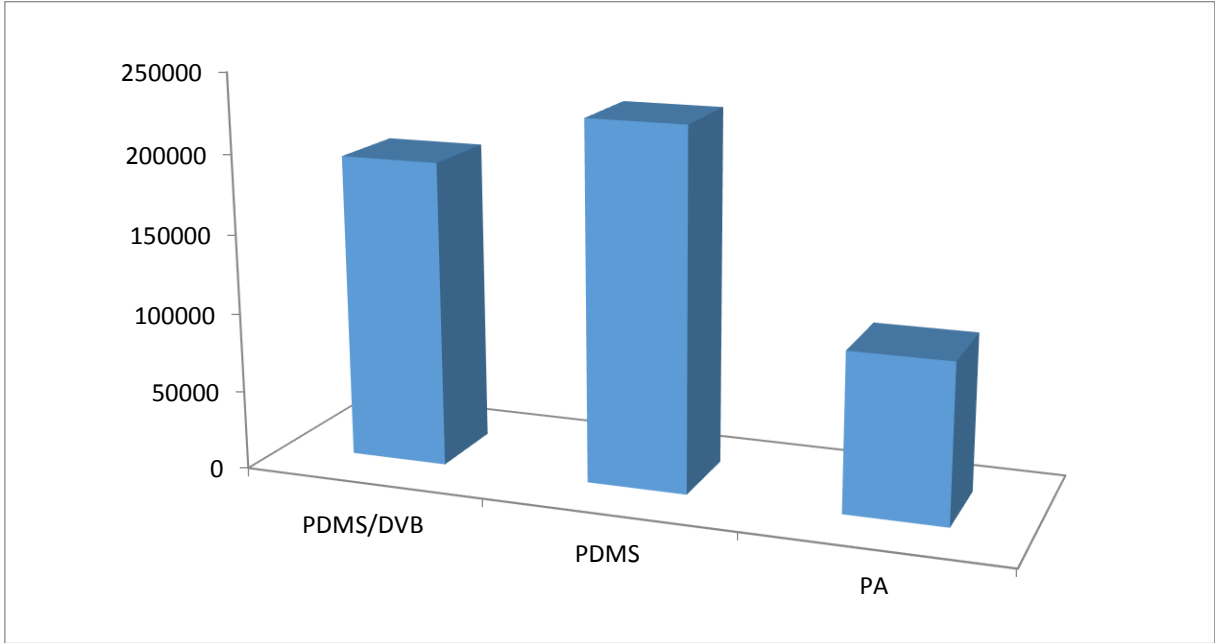
Enjeksiyon sıcaklığı, yüksek çözünürlükte, net piklerin elde edildiği ve numune kaybının olmadığı en uygun sıcaklıkta olması gerekir. Çalışmanın diğer parametreleri sabit tutularak 0,01 ppm Chlorpyrifos’ un, 230 - 250 - 280 °C enjeksiyon sıcaklıklarında, belirlediğimiz fırın programı ile analizi yapıldı. Şekil 7.21’ e göre en uygun enjeksiyon sıcaklığı 250 °C’ dir.



**Şekil 7.21** Enjeksiyon sıcaklığının etkisi

### 7.1.3 Fiber seçimi

KFME yönteminde kullanılabilir farklı kaplamalardan oluşan fiberler bulunmaktadır. En iyi ekstraksiyonu sağlamak için farklı fiberlerin karşılaştırılması gerekir. 10 ppb Chlorpyrifos içeren kiraz örnekleri, karşılaştırma amacıyla PA, PDMS ve PDMS/DVB kaplı fiber çeşitleriyle ekstrakte edilmiştir. Her bir fiber tipi için elde ettiğimiz pik alanı belirlendiğinde en uygun fiber çeşidinin PDMS kaplı fiber olduğu belirlenmiştir.

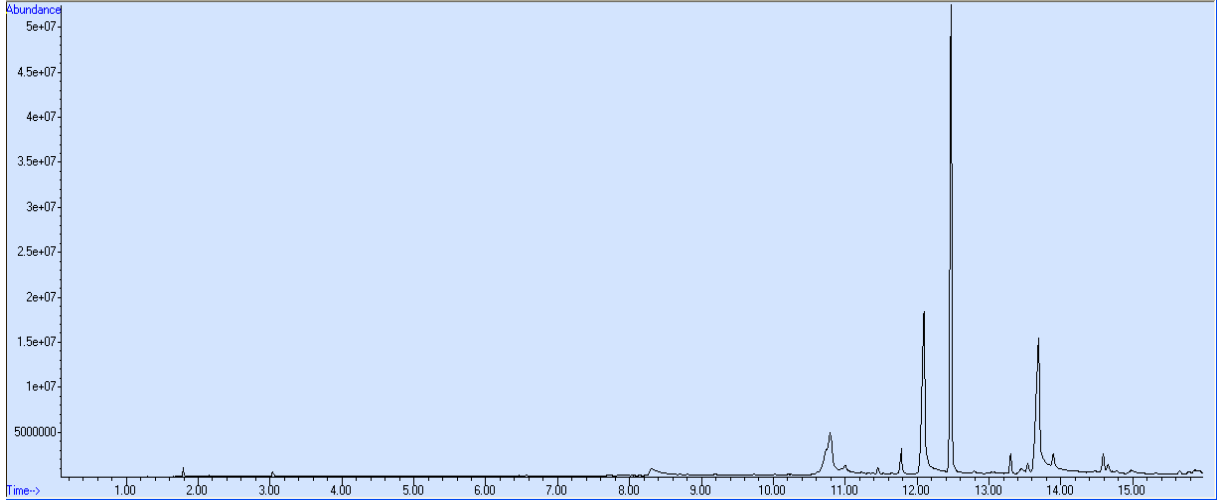


Şekilfnvalkvnmpslđşç....

### 7.2. KFME şartlarının optimizasyonu

KFME yöntemine etki eden ekstraksiyon çözücüsü, tuzluluk oranı, ekstraksiyon zamanı, sıcaklık, karıştırma hızı gibi ana parametrelerin en uygun değerleri bulunmuştur.

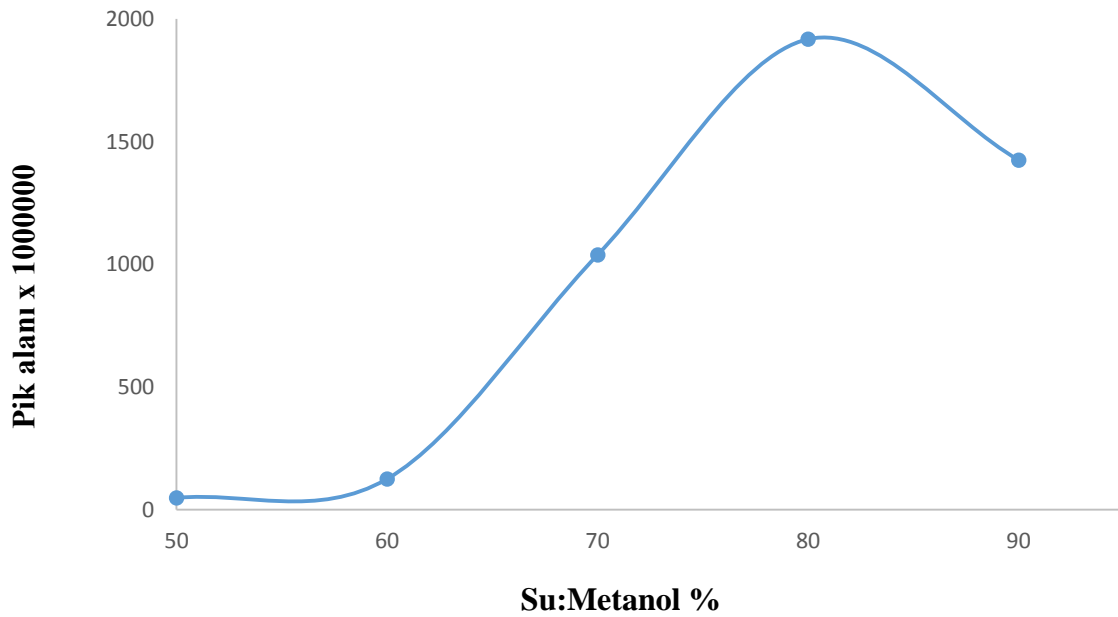
KFME tekniğinde direkt daldırma metodu uygulandı. Kiraz örneklerine Chlorpyrifos ve mix-101 pestisit standart çözeltileri eklenerek geliştirilen yöntem ile analizi yapıldı. Ekstraksiyon koşulları için 60°C – 300 rpm – 25 dk süre ve 100 µm ‘ lik PDMS kaplı fiber kullanımı uygun bulundu.



Şekil 7.24 Chlorpyrifos' un kromatogramı

### 7.2.1. Çözücü oranının etkisi

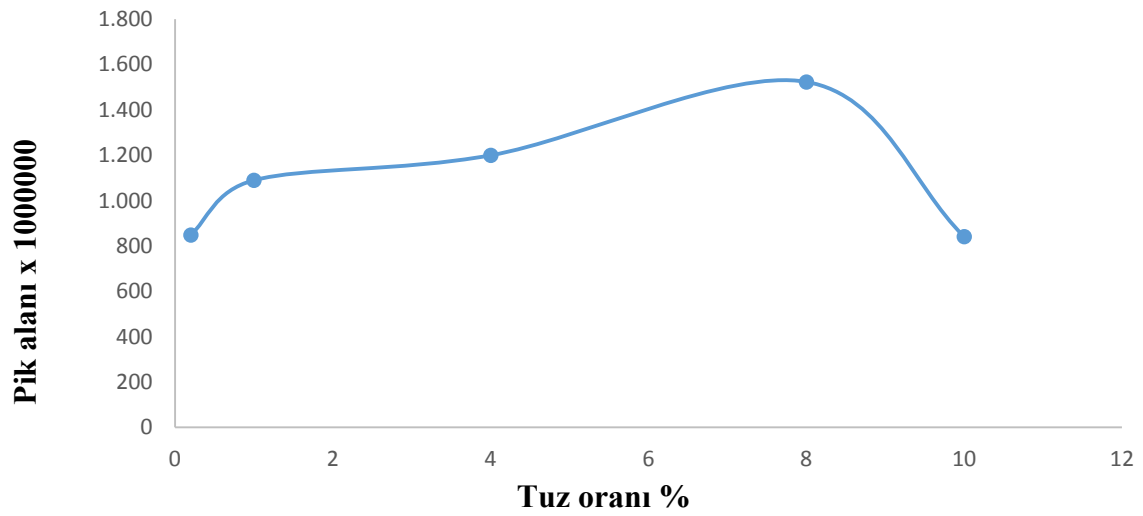
KFME yöntemi ile kiraz numunelerinde Chlorpyrifos analizi için su:metanol karışımı ekstraksiyon çözeltilisi olarak kullanılmıştır. En yüksek pik alanı elde edebilmek için en uygun su:metanol oranı bulunmaya çalışılmıştır. Bu amaçla % 90 (h/h), % 80 (h/h), % 70 (h/h), % 60 (h/h) ve % 50 (h/h) oranlarında hazırlanan çözücüler kullanılarak, 1 ppm Chlorpyrifos' a çözücü oranının etkisi belirlendi. Şekil 7.22' ye göre çözücü oranının etkisi en iyi % 80 (h/h) oranında bulundu.



Şekil 7.22 Değişen çözücü oranlarına karşı pik alanları

### 7.2.2. Tuz oranının etkisi

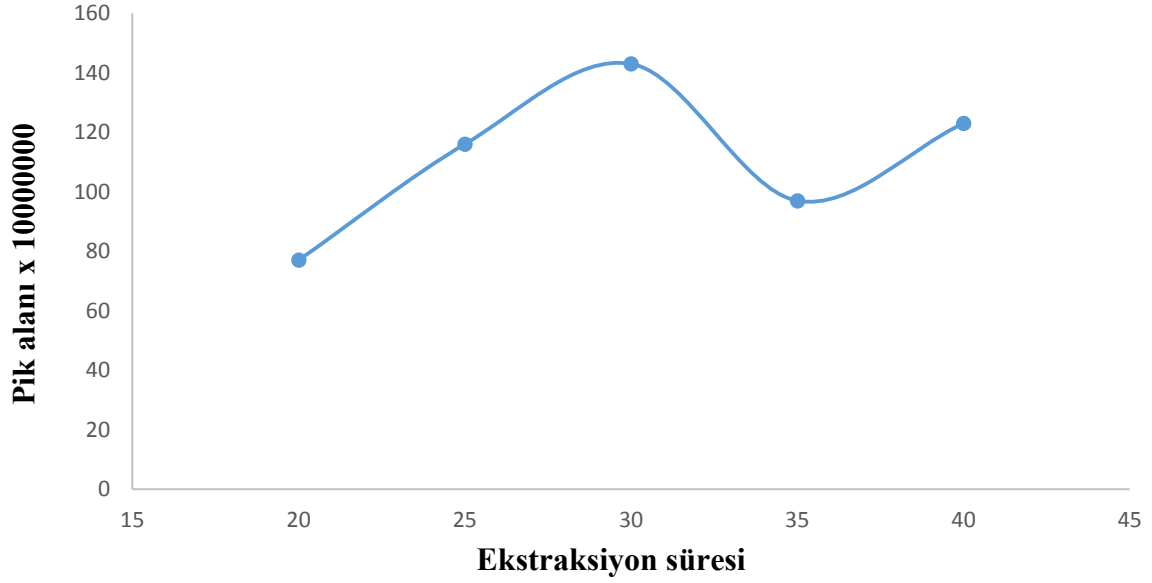
Tuz ilavesi analiz edilmek istenen maddenin örnekteki çözünürlüğünü değiştirerek daha etkili ekstraksiyon yapılmasını sağlamaktadır. Bu amaçla yöntemimize tuz ilavesinin etkisi incelenmiştir. NaCl:su çözeltisi % 0,2 (a/h) - % 10 (a/h) arasındaki oranlarda, diğer ortam şartları sabit tutularak, Chlorpyrifos konsantrasyonu 1 ppm olacak şekilde hazırlanan numuneler analiz edildi. En yüksek pik alanına göre % 8 oranında tuz kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 7.23 Değişen tuz oranlarına karşı pik alanları

### 7.2.3 Ekstraksiyon süresinin etkisi

KFME tekniğiyle çalışılırken dikkat edilmesi gereken bir diğer husus ekstraksiyon süresidir. Büyük moleküllü maddelerin adsorpsiyonları uzun süreceğinden, ekstraksiyon süresinin de uzun tutulması gerekebilir. Ekstraksiyon süresinin belirlenmesi için 20-40 dk arasında çalışmalar yapıldı.

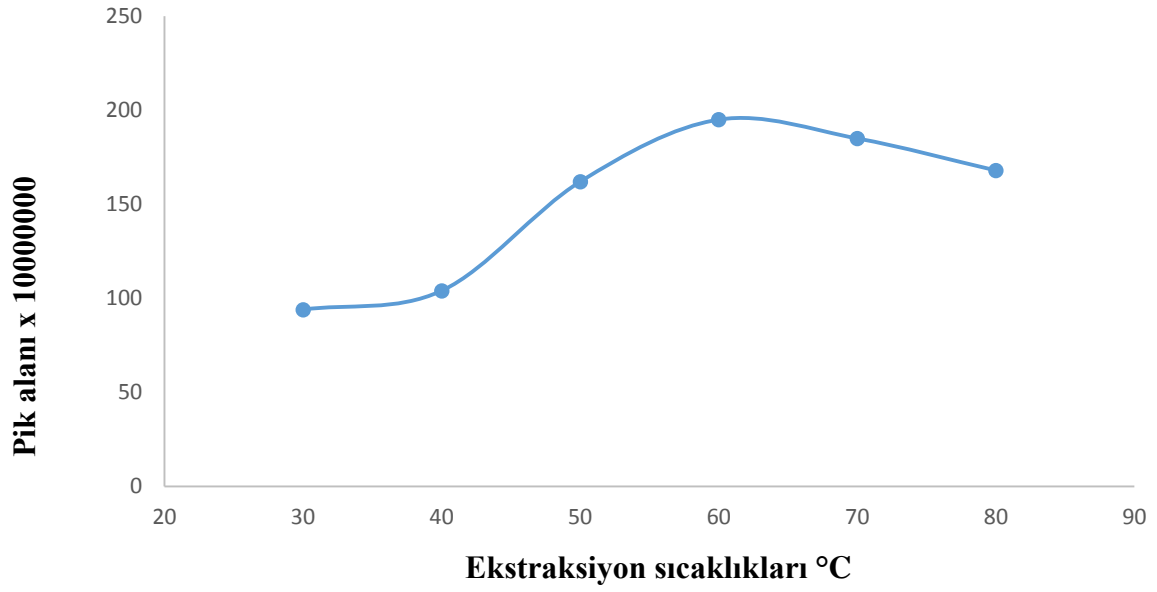


**Şekil 7.25** Ekstraksiyon sürelerine bağlı olarak değişen pik alanları

Şekil 7.25' teki veriler dikkate alınarak ekstraksiyon süresinin 30 dk olmasına karar verildi.

#### **7.2.4 Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi**

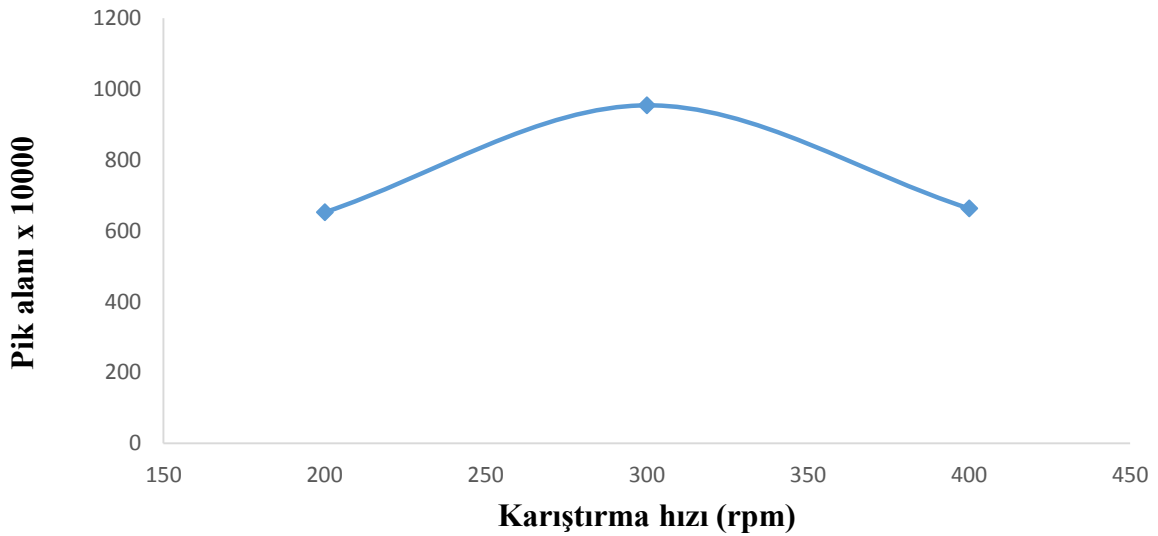
Yüksek sıcaklık hızlı buharlaşma sağlarken, maddelerin difüzyon oranını artırıcı rol oynar. Bu da maddelerin fiber üzerine daha çok adsorbe olmasını sağlar. Bunun yanı sıra yüksek sıcaklık, fiber kaplamanın, organik maddeler söz konusu olduğunda, yeteneğini kaybetmesine yol açar. Ayrıca yüksek sıcaklık, hidrolize uğrayan pestisitler için, bozunma hızını artırır, verimi düşürür. Özellikle kararsız bileşiklerin düşük sıcaklıklarda analizi daha uygundur. Maddelerin bozunmadan en yüksek verimle analiz edilebileceği ekstraksiyon sıcaklığının belirlenmesi gerekir. Bu amaçla 30-80 °C arasında farklı sıcaklıklarda analiz yapılarak en uygun ekstraksiyon sıcaklığı araştırılmıştır. Sonuç olarak en uygun sıcaklığın 60 °C olduğuna karar verildi.



Şekil 7.26 Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi

### 7.2.5 Karıştırma hızının etkisi

KFME yöntemine etki edebilecek bir diğer parametre de ekstraksiyon karıştırma hızıdır. Karıştırma aşamasında numuneden fibere madde adsorpsiyonu etkin hale gelir, hızlanır. Ekstraksiyon hızı, vialin ve manyetik karıştırıcının ebatlarına bağlı olmakla birlikte, çok hızlı ekstraksiyonlarda adsorplanan madde miktarı azalır. En uygun karıştırma hızını belirlemek için 200-500 rpm arasında farklı değerlerle çalışıldı. Verimin en yüksek olduğu 300 rpm, optimum değer olarak belirlendi.



Şekil 7.27 Karıştırma hızının (rpm) pik alanlarına etkisi

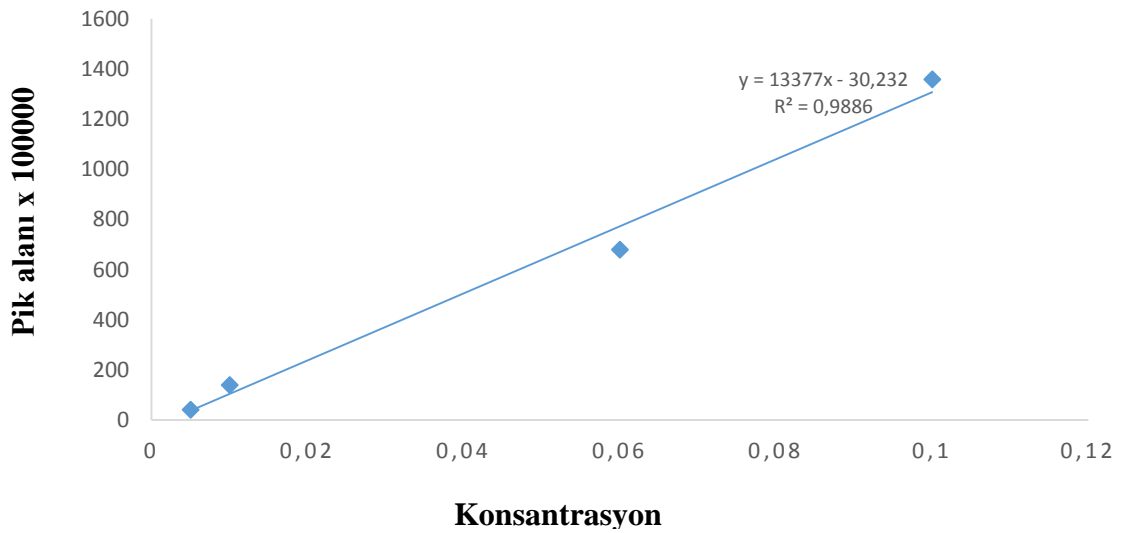
### 7.3. Analiz Metotlarının Geçerli Kılınması (Validasyonu)

#### 7.3.1. Doğrusallık

0,005 – 0,1 ppm arasındaki konsantrasyonlarda Chlorpyrifos içeren kiraz örneklerine ait kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır.

Kalibrasyon grafiğinin denklemi:  $y = 13377x - 30,232$

$R^2 = 0,9886$



Şekil 7.27 Chlorpyrifos içeren kiraz örneklerine ait kalibrasyon grafiği

#### 7.3.2 Teşhis sınırının belirlenmesi

Teşhis sınırını belirleyebilmek amacıyla cihazda belirli konsantrasyonlara sahip numunelerde sinyal / gürültü oranları hesaplanmıştır. Sinyal / gürültü oranının 3'e eşit olduğu derişim teşhis sınırı olarak belirlenmiştir. Analizlerimizde 0,3 µg/L' de sinyal / gürültü oranının yaklaşık 3 olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla teşhis sınırı 0,3 µg/L' dir.

#### 7.3.3 Tayin sınırının belirlenmesi

Tayin sınırını belirleyebilmek amacıyla cihazda belirli konsantrasyonlara sahip numunelerde sinyal / gürültü oranları hesaplanmıştır. Sinyal / gürültü oranının 10' a eşit olduğu derişim tayin sınırı olarak belirlenmiştir. Analizlerimizde 1 µg/L' de sinyal / gürültü oranının yaklaşık 3 olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla tayin sınırı 1 µg/L' dir.

### 7.3.4 Doğruluk

0,0 – 0,005 – 0,01 – 0,1 ppm konsantrasyonlarında Chlorpyrifos içeren dört kiraz örneği hazırlandı. Geliştirilen KFME yöntemine göre analizleri yapılan numunelerde geri dönüşüm yüzdeleri hesaplanmıştır. Hesaplanan % geri kazanım değeri % 93 ile % 98 arasındadır.

**Çizelge 7.10** Hesaplanan % geri kazanım değerleri

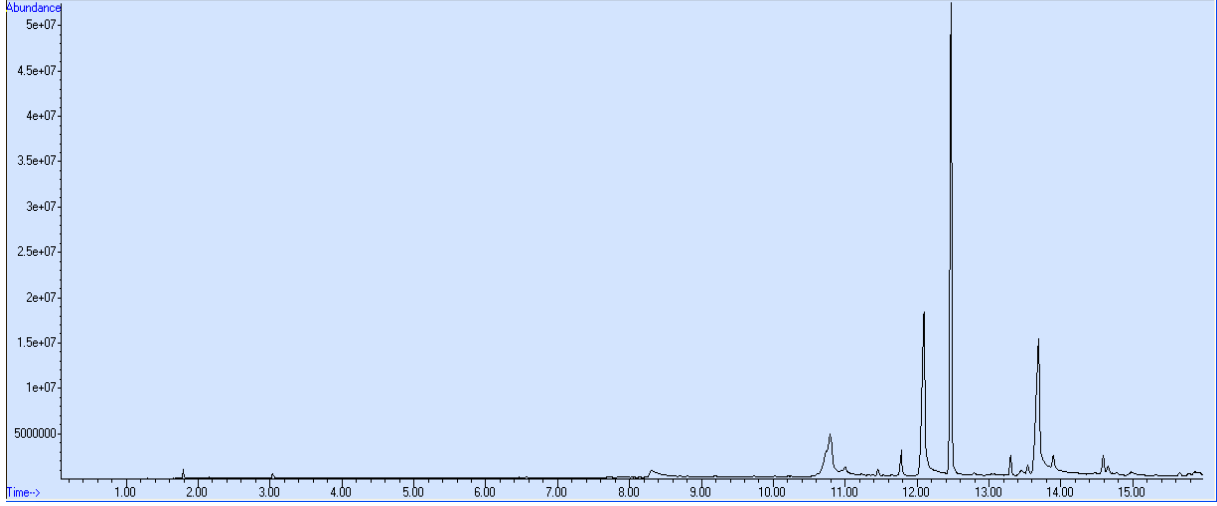
İlave Edilen Konsantrasyon	Bulunan Konsantrasyon	% Geri Kazanım
0	-	-
0,005	0,0049	98
0,01	0,0093	95
0,1	0,093	93

### 7.3.5 Seçicilik

KFME ile yapılan pesitisit analiz yöntemi, içeriğinde farklı yirmi pestisit (Alachlor, Ametryn, Atrazine, Azinphos-Methyl, Azinphos-Ethyl, Chlorpyrifos, Diazinon, Malathion, Metolachlor, Molinate, Parathion-methyl, Parathion-ethyl, Pendimethalin, Pirimicarb, Prometryn, Propazine, Simazine, Terbutylazine, Terbutryn, Trifluralin) bulunan organofosforlu pestisit mix-101 karışımı ile yinelendi. Analiz edilmek istenen Chlorpyrifos' a ait pikler net bir şekilde gözlendi. Gerçekleştirilen yöntem bu çalışma ile desteklendi. Analize ait pik spektrumu Şekil 7.29' deki gibidir.

**Çizelge 7.11** Kiraz numunelerindeki Chlorpyrifos' un mix-pestisit 101 içerisinde tayini

Analit	Sertifikalı Miktar	Tayin Edilen Miktar
Chlorpyrifos	50 ng/μL	49 ng/μL ± 0,005



**Şekil 7.29** mix pestisit 101 içerisinde Chlorpyrifos' un analiz kromatogramı

## 8. SONUÇLAR

Tarımsal mücadelede kullanılmak istenen ancak bilinçsiz kullanım neticesinde, tüm canlılar için tehdit oluşturan pestisitlerin, kiraz üzerinde bıraktıkları kalıntıları analiz ederek bu sorunları gündeme getirmek, çalışmamız için önem taşımaktadır. Geliştirilen KFME yöntemi, kısa sürede en az miktarda çözücü kullanılarak, çevreye duyarlı, olabildiğince hassas, kolay çalışma şartları sağlayan, zamandan tasarruf sunan basit bir yöntemdir. Pestisitlere maruz kalan, bu nedenle sağlığı söz konusu olan bütün canlılar açısından yararlı olabileceğini umduğumuz bir çalışmadır.

KFME yönteminin ilk aşamasında uygun fırın programı bulunmaya çalışılmıştır. Yaptığımız denemeler sonucunda en hassas ve hızlı sonuçlar, 100 °C ile başlanıp, 2 dk bekletildikten sonra, 15 °C/ dk ile 250 °C' ye gelinerek 5 dk bekletilen fırın programı ile elde edildi.

Enjeksiyon sıcaklığının belirlenmesi amacıyla 230 – 250 – 280 °C' lerde çalışılmış ve en uygun enjeksiyon sıcaklığının 250 °C olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon verimi için önemli parametrelerden olan fiber seçimi için üç fiber türü (PA, PDMS, PDMS/DVB) karşılaştırılmış, çalışmamızda en uygun olanın PDMS olduğu belirlenmiştir.

+Ekstraksiyonun en verimli olduğu su:metanol oranı bulunmaya çalışılmış ve bu oran % 80 su:metanol olarak bulunmuştur. Dolayısıyla yöntemde kullanılan organik çözücü miktarı oldukça düşüktür. Tuz ilavesi analiz edilecek maddenin suda çözünürlüğünü azaltarak fiberin

adsorpsiyon kapasitesini arttırmaktadır. Bu amaçla % 0,2 – 12 arasında tuzluluk miktarı çalışmaları yapılmıştır. Ekstraksiyon veriminin en yüksek olduğu tuzluluk oranının % 8 olduğu bulunmuştur. Ekstraksiyon için 300 rpm karıştırma hızı, 25 dk karıştırma süresi ve 60 °C ekstraksiyon sıcaklığı, denemeler sonucunda en uygun şartlar olarak belirlenmiştir.

Yöntemin validasyon çalışmalarında, ilk olarak doğrusallık çalışması yapılmış, elde edilen kalibrasyon grafiğinin denklemi:  $y = 13377x - 30,232$ ,  $R^2 = 0,9886$  bulunmuştur.

Sinyal / gürültü oranının 3 olduğu konsantrasyon teşhis sınırı, sinyal / gürültü oranının 10 olduğu kısım tayin sınırı olarak belirlenmiş olup: teşhis değeri: 0,3 µg/L, tayin sınırı: 1 µg/L bulunmuştur. Bu sonuçlar, yöntemimizle, çok küçük konsantrasyonlarda bile hassas tayin yapılabildiğini göstermiştir.

Seçicilik çalışmaları, Pesticide-Mix 101 kodlu referans organofosforlu pestisit karışımı ile yapılmış 20 çeşit pestisit arasından Chlorpyrifos net bir şekilde tayin edilmiştir.

Geliştirdiğimiz yöntem meyvelerde Chlorpyrifos kalıntı analizi için optimize edilmiştir. Maliyeti az, çok az organik çözücü kullanımı gerektiren, ekstraksiyon basamakları hızlı ve kolay olan çevreci, hassas ve seçici bir yöntemdir.

## **KAYNAKLAR**

- [1] Popiel, S. Sankowska, M. “Determination Of Chemical Warfare Agents And Related Compounds In Environmental Samples By Solid Phase MiChlorpyrifosoextraction With Gas Chromatography” , 2011.

- [2] Hu, X. Dai, G. Huang, J. Ye, T. Fan, H. Youwen, T. Yu, Y. Liang, Y. “Molecularly Imprinted Polymer Coated On Stainless Steel Fiber For Solid-Phase Microextraction Of Chloroacetanilide Herbicides In Soybean And Corn” , 2010.
- [3] Akan, T. “Organofosforlu Pestisitlerin Arpa Bitkisi (Hordeum Vulgare L.) Ve Zebra Balığı (Danio Rerio) Üzerindeki İn Vitro Genotoksik Etkilerinin Comet Testi İle Araştırılması”, 2012.
- [4] Odenkirchen EW, Eisler R. Chlorpyrifos Hazards To Fisch, Wildlife, Intervertebrates: A Synoptic Review, 2005.
- [5] Akçan, R. “Pestisit Uygulanan Tavşanlarda Postmortem Kan Ve Kemik İliğinde Pestisit Düzeylerinin Araştırılması”, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana, Türkiye, 2008.
- [6] Tarakçı, Ü. , Türel, İ. “ Halk Sağlığı Amaçlı Kullanılan Pestisitlerin (Biyosidal) Güvenilirlik Standartlarının Karşılaştırılması”, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji Ve Toksikoloji AD, Van, Türkiye, 2009.
- [7] Organophosphorus Pesticides, World Health Organization  
Erişim: <http://www.who.int>  
Erişim tarihi: 03.02.2015.
- [8] Şahin, B. ” Düzcede Bitkisel Üretimde Kullanılan Biti Koruma Ürünlerinin Kullanımı Ve Çevreye Olan Etkileri “, Ziraat Yüksek Mühendisi İl Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü, Türkiye, 2012.
- [9] Erdem, Ö. “Ankara Ayaş İlçesindeki İçme Ve Sulama Sularında Organoklorlu Pestisitlerin Kromatografik Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 2010.
- [10] Ögüt, S. ” Isparta Yöresinde Kullanılan Bazı Pestisitlerin Elma-Kirazlardaki Pestisit Kalıntıları Ve Bu Ürünlerin Tarımında Çalışan Tarım İşçilerinin Kan Parametrelerine Etkilerin Belirlenmesi”, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye, 2012.

- [11] Organik Kirleticiler / Hidrokarbonlar  
Erişim: [http://www.agri.ankara.edu.tr/soil\\_sciences/1250\\_\\_cevrekirliligi\\_ders\\_2.pdf](http://www.agri.ankara.edu.tr/soil_sciences/1250__cevrekirliligi_ders_2.pdf)  
Erişim tarihi: 05.02.2015
- [12] Sağlam, H. "Melen Havzasında Pestisit Uygulamaları Ve Pestisitlerin Biyolojik Bozunma, Yüzeysel Akış Ve Sızma Yüzdelerinin Tahmini", Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye, 2008
- [13] Buchel, K. H. Chemistry of Pesticides, Hardcover, 1983.
- [14] Mercan, H. "Triazin Grubu Pestisitlerin Elektrokimyasal Davranışlarının İncelenmesi Ve Tayinleri", Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 2010.
- [15] Serbes, D. "Cyfluthrin, Imidacloprid Ve Karışım Uygulamalarının Cyprinus Carpio'da Beyin Ve Karaciğer Dokularında Glutasyon, Malondialdehit Ve Protein Karbonil Düzeylerine Etkileri", Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye, 2011.
- [16] Çimen Türel, F. "Farklı Toprak Tiplerinde Chlorpyrifos Ve Primer Metaboliti TCP'nin Adsorpsiyon Ve Desorpsiyon Özelliklerinin Belirlenmesi", Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 2007.
- [17] Sevim, R. "Pestisitler", Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya, Türkiye, 2011.
- [18] Kaya, E. "Klorprifos Ve Deltamethrin'in Kan Ve Beyin Lipid Peroksidasyon Ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri", Yüksek Lisans Tezi Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye, 2005.
- [19] Sinha, S.N., Pal, R., Dewan, A., Mansuri M.M., Saiyed, H.N., National Institute of Occupational Health, , Gujarat, India, 2006.
- [20] Akdoğan, A. "Bazı Pestisitlerin Kromatografik Ayrılmaları Ve Tayinleri", Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Pamukkale, Türkiye, 2011.

- [21] Yurtman Gündüz, Z., “Kati Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi İle Pestisitlerin Gaz Kromatografisinde Tayini”, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, İstanbul, Türkiye, 2013.
- [22] Skoog, D.A., West, D.M., Principles of Instrumental Analysis, 1981.
- [23] Enstrümental Analiz Ders Notları  
Erişim: [http://www.bayar.edu.tr/besergil/enstrumetal\\_analiz](http://www.bayar.edu.tr/besergil/enstrumetal_analiz)  
Erişim Tarihi: 16.01.2015
- [24] Ulaş, N. ” Salvia Staminea Bitkisinin Uçucu Bileşenlerinin GC-MS, Headspace Yöntemleri Yoluyla Analizi Ve Karşılaştırması”, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya ABD, Trabzon, Türkiye, 2014.
- [25] Gaz Kromatografisi  
Erişim: [http://tr.wikipedia.org/wiki/Gaz\\_kromatografisi](http://tr.wikipedia.org/wiki/Gaz_kromatografisi)  
Erişim Tarihi: 07.11.2013
- [26] Gaz Kromatografisi  
Erişim: <http://www.bilimfeneri.gen.tr/dosyalar.html>  
Erişim Tarihi: 19.05.2013
- [27] Kromatografi Dedektörleri  
Erişim: [http://www.bayar.edu.tr/besergil/3\\_kromatografi\\_dedektorleri.pdf](http://www.bayar.edu.tr/besergil/3_kromatografi_dedektorleri.pdf)  
Erişim Tarihi: 19.05.2013
- [28] Orhun, F. “Gaz Kromatografisi, Taşıyıcı Gazın Akış Hızının Tesirleri Üzerinde TeChlorpyrifosübi Araştırmalar Ve Metodun Türkiye'deki Bazı Tabii Gazların Hidrokarbon Analizlerine Tatbiki”, Maden Tetkik Ve Arama Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
- [29] Yıkılmaz, Y. “Alabalıklarda Florfenikol Kalıntılarının Gc-Ms Yöntemiyle Belirlenmesi”, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 2014.

- [30] Kuyumcu, E. “Soğuk Algınlığında Kullanılan Halk İlaçlarında Uçucu Yağ, Mineral Ve Eser Elementlerin Tayini”, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya, Türkiye, 2009.
- [31] Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi [GC/MS]  
Erişim: <http://asubtam.aksaray.edu.tr/index.php/cihazlar/142-gc-ms>  
Erişim Tarihi: 23.12.20014
- [32] Agilent GC-MS Spektrometresi  
Erişim: <http://grumlab.giresun.edu.tr/index.php?id=310>  
Erişim Tarihi: 19.05.2013
- [33] İyon Dedektörleri  
Erişim: [http://www.bayar.edu.tr/besergil/2\\_iyon\\_dedektorleri.pdf](http://www.bayar.edu.tr/besergil/2_iyon_dedektorleri.pdf)  
Erişim Tarihi: 19.05.2013