

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
ADLİ TIP VE ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Salih Cengiz

**ETİL ASETAT METODU İLE MEYVE VE SEBZELERDE PESTİSİT ANALİZİ VE
METOT VALİDASYONU**

FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager
Tolga Şahin

İSTANBUL, 2019

İstanbul, 16 Temmuz 2019

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
ADLİ TIP ve ADLİ BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA**

Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin 36.maddesi uyarınca Enstitünüz Fen Bilimleri Anabilim Dalı'nın yüksek lisans öğrencisi Tolga ŞAHİN'in

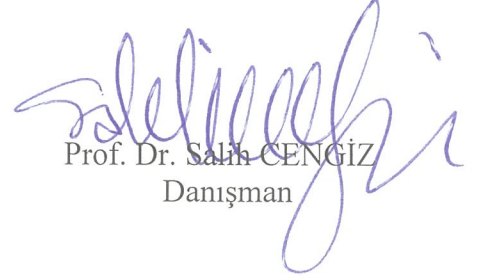
"Etil Asetat Metodu İle Meyve ve Sebzelere Pestisit Analizi ve Metot Validasyonu"

Adlı tezi jürimizce tetkik edilmiş ve kendisine tez savunması yaptırılmıştır.


Yukarıda adı geçen tezin ve tez savunmasının kabul edilmesine oy birliğiyle karar verilmiştir.



Prof. Dr. H. Bülent ÜNER
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Salih CENGİZ
Danışman



Prof. Dr. Mustafa ÖZCAN
Üye



Prof. Dr. Keyser SÖZGEN BAŞKAN
Üye



Doç. Dr. Hüseyin ÇAKAN
Üye

ÖZET

Bilinçsiz pestisit kullanımı dünya üzerinde halk sağlığını tehdit eden en önemli etmenlerden biridir. Pestisit kalıntılarının çevreyi, doğayı ve insan sağlığını olumsuz yönde etkilediği yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. Kronik pestisit maruziyetinin önlenmesi için çiftçinin bilinçlendirilmesinin yanı sıra hızlı, güvenilir ve seçici analiz metotlarının kullanılması da oldukça önemlidir.

Bu çalışmada, daha önce hiç uygulanmamış olan Etil Asetat yöntemi kullanılarak GC-MS-MS'te sebze ve meyvelerde pestisit analizi yapılmış ve metot geçerli kılınarak seçilen pestisit etken maddeleri için ölçüm belirsizlikleri hesaplanmıştır. Çalışma için en çok tüketilen sebze ve meyvelerden limon ve domates temsili olarak seçilmiş ve çalışmalar bu matrisler ile yapılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda hesaplanan ölçüm belirsizliklerinin %15'in altında olması analiz metodunun hassasiyetinin ve seçiciliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Analiz metodunun seçiciliğinin ve hassasiyetinin yüksek olması düşük seviyelerdeki pestisit kalıntılarının da güvenilir bir biçimde tespit edilmesine olanak sağlamaktadır.

Bu analiz metodunun hızlı, güvenilir ve hassas olması sebebiyle dar bir ölçüm aralığında sonuç verilmesine olanak sağlamaktadır. Dar bir ölçüm aralığında sonuç verilmesi kronik maruziyetin azaltılması konusunda olumlu yönde etkili olacaktır.

Anahtar Kelimeler: pestisit, sebze, meyve, etil asetat

ABSTRACT

Utilizing pesticides unconsciously is one of the important factors threatening public health in all over the world. As a result of the studies, it was determined that pesticide residues negatively affect the environment, nature and human health. In order to prevent chronic pesticide exposure, raise the awareness of the farmers alongside we should use fast, reliable and selective analysis methods.

In this study, pesticide analysis was carried out in GC-MS-MS in vegetables and fruits by using Ethyl Acetate method which was not applied before and validation uncertainties were calculated for the selected pesticide active substances. Lemon and tomatoes were the most commonly consumed vegetables and fruits and the studies were carried out with these matrices.

As a result of the studies, the fact that the calculated measurement uncertainties are at very low levels shows that the sensitivity and selectivity of the analysis method is high. The high selectivity and sensitivity of the analysis method, allows reliable determination of low levels of pesticide residues.

The analysis method is reliable and sensitive because of this it provides to give results in a narrow range. Achieving results in a narrow measurement range will have a positive effect on the reduction of chronic exposure.

Key words: pesticides, vegetables, fruits, ethyl acetate

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgisi ve engin tecrübeleri ile yolumu aydınlatan, güçlükler karşısında beni cesaretlendiren, eğitim hayatımın yanısıra iş hayatımda da desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Saih CENGİZ'e,

Eğitimim süresince hem bilimsel hem de manevi anlamda desteğini esirgemeyen, yol gösteren, deneyimlerini aktaran ve motivasyonumu artıran değerli hocam Dr.Dilek SALKIM İŞLEK'e,

Hayatım boyunca bana destek olan ve güçlü duruşu ile en büyük ilham kaynağım annem Emel ŞAHİN'e, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen ve yol gösteren babam Mehmet ŞAHİN'e, eğitim hayatım boyunca maddi manevi her türlü desteği sağlayan bu çalışmayı kendisine atfettiğim rahmetli dedem Kemal TÜPÜMÜT'e

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tolga ŞAHİN

İstanbul, 2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması	6
2.2 Kimyasal Yapılarına Göre Pestisitler	7
2.2.1 Organofosforlu Pestisitler	7
2.2.2 Karbamatlı Pestisitler	7
2.2.3 Organoklorlu Pestisitler.....	7
2.2.4 Piretroidler.....	8
2.3. Biyopestisitler.....	8
2.3.1 Mikrobiyal Pestisitler	8
2.3.2 Bitki ile Birleşik Koruyucular	8
2.3.3 Biyokimyasal Pestisitler	8
2.4 Pestisitlerin Bozunma Mekanizmaları.....	9
2.5 Pestisitlerin Yarılanma Ömrü	11
2.6 Pestisitlerin Toksikolojik Olarak Sınıflandırılması	12
2.7 Bromopropylate.....	13

2.7.1 Bromopropylate Toksik Etkileri.....	14
2.8 Chlorpyrifos.....	15
2.8.1 Chlorpyrifos Toksik Etkileri	16
2.9 Cypermethrin.....	18
2.9.1 Cypermethrin Toksisitesi	20
2.10 Deltamethrin.....	21
2.10.1 Deltamethrin Toksisitesi	22
2.11 Endosulfan.....	23
2.11.1 Endosulfan Toksisitesi	25
2.12 Ölümcül Pestisit Dozları: LD50 ve MRL.....	26
2.13 Pestisit Analiz Yöntemleri.....	27
2.14 Metot Validasyonu	29
2.15 Verifikasyon	30
2.15.1 Tespit Limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ)	31
2.15.2 Doğrusallık (Linearite).....	31
2.15.3 Seçicilik.....	32
2.15.4 Doğruluk.....	33
2.15.5 Kesinlik	33
2.15.5.1 Tekrarlanabilirlik.....	33
2.15.5.2 Tekrarüretilebilirlik	34
2.16 Ölçüm Belirsizliği	34
2.16.1 Belirsizlik Kaynakları	35
2.16.2 A Tipi Belirsizlikler	35
2.16.3 B Tipi Belirsizlikler.....	35
2.16.4 Belirsizlik Bileşenleri.....	35

2.16.5 Hata ve Belirsizlik	36
2.16.6 Belirsizlik Kaynaklarının Belirlenmesi	37
2.16.7 Belirsizlik Bileşenlerini Ölçülmesi:	38
2.16.8 İstatiksel Dağılım Tipleri:	38
2.16.9 Birleşik Belirsizlik.....	39
2.17 Gaz Kromatografisi	43
2.18 Gaz Kromatografi Cihazı ve Bileşenleri	43
2.18.1 Hareketli Faz Taşıyıcı Gaz Kaynağı	44
2.18.2 Durgun Fazlar Kolonlar	44
2.18.3 Enjeksiyon Bloğu	45
2.18.3.1 <i>Split inlet</i>	46
2.18.3.2 <i>Splitless inlet</i>	46
2.18.3.3 <i>On-column inlet</i>	47
2.18.3.4 <i>PTV inlet</i>	48
2.18.4 Kolon Fırını	48
2.18.5 Gaz Kromatografisi Dedektörleri.....	48
2.18.6 Kütle Spektrometresi.....	49
2.18.6.1 <i>Yüksek vakum sistemi</i>	50
2.18.6.2 <i>İyon kaynağı</i>	51
2.19 GC-MS-MS Cihazı Çalışma Prensibi	51
3.GEREÇ VE YÖNTEM	53
3.1 Kullanılan Kimyasallar.....	53
3.2 Çözeltiler	53
3.3 Kullanılan Meyve-Sebze Örnekleri.....	54
3.4 Kullanılan Laboratuvar Gereçleri.....	54

3.5 Standart Çözeltilerinin Hazırlanması	55
3.6 Örneklerin Hazırlanması	55
3.7 GC-MS-MS Cihaz Koşulları	56
4. BULGULAR	60
4.1 Doğrusallık ve Lineer Ölçüm Aralığı Çalışmaları	60
4.2 LOD-LOQ Çalışmaları.....	64
4.3 Kesinlik	65
4.3.1 Tekrarlanabilirlik Çalışmaları	65
4.3.2 Tekrarüretilebilirlik Çalışmaları.....	67
4.3.3 Geri Kazanım Çalışmaları	68
4.4 Ölçüm Belirsizliği Hesaplamaları	70
5.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	74
KAYNAKLAR.....	78
ÖZGEÇMİŞ	81

TABLOLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Bazı İnsektisit ve Herbisitlerin Toprakta Dayanım Süreleri	11
Tablo 2: Pestisitlerin Toksikolojik Açından Sınıflandırılması (Tablodaki sınıflandırmalar ratlarda'ki akut değerleri cinsinden verilmiştir.).....	12
Tablo 3: Bromopropylate'ın Genel Özellikleri	13
Tablo 4: Bromopropylate toksik etkileri	14
Tablo 5: Chlorpyrifos Genel Özellikleri	15
Tablo 6: Chlorpyrifos toksik etkileri	17
Tablo 7: Cypermethrin genel özellikleri	18
Tablo 8: Deltamethrin genel özellikleri	22
Tablo 9: Endosülfan genel özellikleri	24
Tablo 10: Pestisitlerin vücuda giriş yollarına göre toksikasyon dereceleri.....	26
Tablo 11: Sıvı Enjeksiyon Teknikleri	46
Tablo 12: Kütle Dedektörlerinde kullanılan İyon Kaynakları ve İyonlaştırıcılar	51
Tablo 13: GC-MS-MS kolon, inlet, sıcaklık, enjeksiyon hacmi ve gaz akışı parametreleri....	57
Tablo 14: MS-MS Parametreleri	58
Tablo 15: Çalışmada kullanılan pestisitlerin MS-MS parametreleri.....	59
Tablo 16: Pestisit etken maddelerine ait kalibrasyon verileri	60
Tablo 17: Domateste yapılan LOD-LOQ çalışması sonuçları	64
Tablo 18: Limonda yapılan LOD-LOQ çalışması sonuçları	64
Tablo 19: Domates 10 ppb tekrarlanabilirlik çalışmaları.....	65
Tablo 20: Domates 100 ppb tekrarlanabilirlik çalışmaları.....	65
Tablo 21: Limon 10 ppb tekrarlanabilirlik çalışmaları	66
Tablo 22: Limon 100 ppb tekrarlanabilirlik çalışmaları	66

Tablo 23: Domates 10 ppb tekrarüretilebilirlik çalışmaları	67
Tablo 24: Domates 100 ppb tekrarüretilebilirlik çalışmaları	67
Tablo 25: Limon 10 ppb tekrarüretilebilirlik çalışmaları	68
Tablo 26: Limon 100 ppb tekrarüretilebilirlik çalışmaları	68
Tablo 27: Domates 10 ppb geri kazanım çalışmaları	69
Tablo 28: Domates 100 ppb geri kazanım çalışmaları	69
Tablo 29: Limon 10 ppb geri kazanım çalışmaları	69
Tablo 30: Limon 100 ppb geri kazanım çalışmaları	70
Tablo 31: Standart hazırlamadan gelen belirsizliğin hesaplanması	70
Tablo 32: Numune Hazırlamadan gelen belirsizliğin hesaplanması	70
Tablo 33: Bromopropylate Ölçüm Belirsizliği Tablosu	71
Tablo 34: Chlorpyrifos Ölçüm Belirsizliği Tablosu	71
Tablo 35: Cypermethrin-I Ölçüm Belirsizliği Tablosu	71
Tablo 36: Cypermethrin-II Ölçüm Belirsizliği Tablosu	71
Tablo 37: Cypermethrin-III Ölçüm Belirsizliği Tablosu	72
Tablo 38: Cypermethrin-IV Ölçüm Belirsizliği Tablosu	72
Tablo 39: Deltamethrin Ölçüm Belirsizliği Tablosu	72
Tablo 40: Endosulfan -Alpha Ölçüm Belirsizliği Tablosu	72
Tablo 41: Endosulfan -Beta Ölçüm Belirsizliği Tablosu	73
Tablo 42: Endosulfan-Sulfate Ölçüm Belirsizliği Tablosu	73

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Parathion'un Paraoxon'a Dönüşümü	10
Şekil 2: DDT'nin Anaerobik ve Aerobik Yollarla Degradasyonu	10
Şekil 3: Bromopropylate molekülü	13
Şekil 4: Chlorpyrifos molekülü	15
Şekil 5: Cypermethrin molekülü	18
Şekil 6: Cypermethrin izomerleri	19
Şekil 7: Deltamethrin Molekülü	21
Şekil 8: Endosülfan Molekülü	23
Şekil 9: Endosülfan izomerleri	24
Şekil 10: Belirsizlik bileşenlerinin balık kılçığı diyagramında gösterimi	37
Şekil 11: Belirsizliğin Kapsadığı Aralığın Gösterilmesi	42
Şekil 12: Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması Aşamaları	42
Şekil 13: Gaz Kromatografi Cihazı Kısımları	43
Şekil 14: Splitt/splitless Inlet	47
Şekil 15: Kütle Spektrometresi Kısımları	50
Şekil 16: PTV parametreleri	56
Şekil 17: GC-MS-MS fırın parametreleri	57
Şekil 18: MS-MS İyon ve tarama parametreleri	58
Şekil 19: Bromopropylate Kalibrasyon Eğrisi	60
Şekil 20: Chlorpyrifos Kalibrasyon Eğrisi	61
Şekil 21: Cypermethrin-I Kalibrasyon Eğrisi	61
Şekil 22: Cypermethrin-II Kalibrasyon Eğrisi	61
Şekil 23: Cypermethrin-III Kalibrasyon Eğrisi	62

Şekil 24: Cypermethrin-IV Kalibrasyon Eğrisi.....	62
Şekil 25: Deltamethrin Kalibrasyon Eğrisi	62
Şekil 26: Endosulphan Alpha Kalibrasyon Eğrisi.....	63
Şekil 27: Endosulphan Beta Kalibrasyon Eğrisi	63
Şekil 28: Endosulphan Sulphate Kalibrasyon Eğrisi.....	63



KISALTMALAR

MRL	: Maksimum Kalıntı Limiti
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
CAC	: Kodeks Alimentarius Komisyonu
EPA	: ABD Çevre Koruma Ajansı
GAP	: İyi Tarım Uygulamaları
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
ppm	: milyonda bir kısım (mg/kg)
ppb	: milyarda bir kısım (ng/kg)
GC-MS-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi-Kütle Spektrometresi
GC-ECD	: Gaz Kromatografisi- Elektron Yakalama Dedektörü
LC-MS-MS	: Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi-Kütle Spektrometresi
FID	: Alev iyonlaştırma dedektörü
TCD	: Termal iletkenlik dedektörü
NPD	: Azot-Fosfor dedektörü
FPD	: Alev fotometrik dedektör
PID	: Foto iyonlaştırma dedektörü
G-SC	: Gaz-katı kromatografi
G-LC	: Gaz-sıvı kromatografi
WCOT	: Duvar-kaplı açık borusal kolon
SCOT	: Destek-kaplı açık boru kolon
SPME	: Katı Faz Mikroekstraksiyonu
nm	: Nanometre
LD₅₀	: Populasyonda %50 oranında ölüm oluşturan doz

LOD	: Tespit Limiti
LOQ	: Teşhis Limiti
$\bar{X}_{\text{kör}}$: Kör örnek analizlerinin ortalaması
S₀	: Kör örnek analizlerinin standart sapması
SD	: Standart Sapma
CV	: Varyasyon Katsayısı
RSD_r	: Rölatif standart
U	: Genişletilmiş Belirsizlik
S_r	: Tekrarlanabilirlik Standart Sapması
R	: Tekrarlanabilirlik limiti
S_R	: Tekrarüretilebilirlik standart sapması
R	: Tekrarüretilebilirlik limiti
u_c	: Standart belirsizlik

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya nüfusunun hızla artması ve buna bağlı olarak artan beslenme ihtiyacını karşılamak ve birim alandan daha fazla ürün elde etmek için yoğun tarım uygulamaları gündeme gelmiştir. Buna bağlı olarak; bitkilerin ve bitkisel ürünlerin zararlılardan korunması ve daha kaliteli ürün elde edilmesi amacıyla tarımsal ilaçların kullanılması kaçınılmaz olmuştur. Günümüzde kullanılan tarımsal ilaçların yüzlerce farklı çeşidi ve binlerce değişik formülasyonu bulunmaktadır.

Başlangıçta olumlu olarak görülen tarımsal ilaç kullanımı zamanla insan sağlığı ve çevre adına oldukça büyük bir tehdit haline gelmeye başlamıştır.

Kullanılan pestisitler uygulama sonrası belirli bir süreç içinde güneş ışığı ile bozunmaya uğramamışsa ya da bakteri faaliyetleri ile kimyasal yapıları bozulmamışsa zamanla toprakta birikir. Toprakta biriken pestisitler toprak mikroorganizmaları ve bazı hayvansal zararlıların yok olmalarına veya geçici süre inaktive olmalarına neden olurlar. Ayrıca alüminyum, bakır, kalay gibi ağır metaller içeren pestisitlerin yarılanma ömürleri uzun olduğundan bitkiler tarafından kullanılması sonrasında insanlarda sağlık sorunlarına yol açabilir (1).

Pestisit aktif maddelerinin çevre ve insan sağlığı açısından toksik, mutajenik, kanserojenik, teratojenik olması sebebiyle bıraktıkları kalıntı düzeylerinin ölçülmesi bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir konu olmuştur. İnsanların pestisitlerden doğrudan zarar görmesi, kazalar hariç tutulduğu takdirde üretim, nakliye, depolama, kullanma ve pestisit kalıntılarını içeren besin maddelerinin tüketimi kademelerinde ortaya çıkmaktadır. Kolay buharlaşma eğiliminde olan pestisitler solunumla, diğerleri ise deri ve sindirim yoluyla organizmaya girmektedirler. Arazi uygulamaları, kapalı ortamlarda yapılan uygulamalara kıyasla insanlar için daha az tehlike arz eder. Pestisitlerin sulandırılarak süspansiyon halinde uygulanması

solunum yoluyla meydana gelen tehlikeyi azaltmaktadır. Toz uygulamalarının oluşturacağı solunum zehirlenmelerine karşı sıvı formülasyon avantajlı olsa da uygulamalar esnasında deri yoluyla organizmaya girme tehlikesi daha fazladır (2).

Tarımsal ürün yetiştiriciliği sırasında pek çok hastalık, zararlı ve yabancı otlar gibi problemlerle karşı karşıya kalınmaktadır. Bu problemler ile mücadelede kullanılan insektisit (böcek öldürücüler) grubu pestisitler önemli bir yer teşkil etmektedir. İnsektisitlerin yaklaşık yarısı, organik fosforlu insektisitler grubuna girmektedir. Organik fosforlu grubuna giren insektisitlerin kullanımı, dünyada olduğu gibi ülkemizde de oldukça yaygındır. Bu durumun nedenlerini, EPA (Environmental Protection Agency), 1999 yılında yayınladıkları raporda; organik fosforlu insektisitlerin diğer insektisit gruplarına göre daha ucuz, etki spektrumlarının daha geniş olması ve genel olarak diğer gruplara göre daha stabil olmaları şeklinde özetlemiştir. Organik fosforlu insektisitler ise sıcak kanlılar için oldukça zehirli olan pek çok etken maddeyi içermektedir. Türkiye'de ruhsatlı insektisitler içinde toksikolojik olarak organik fosforlu insektisitlerin çoğu "çok zehirli" kategorisindedir. Organik klorlu pestisitler ise kullanıldıkları alanlarda bıraktıkları kalıntı miktarı sebebiyle oldukça önemlidir (1).

Pestisitler insanlarda; akut ve kronik zehirlenmelere, kansere, alerjik reaksiyonlara, sinir sisteminin tahribatına, öğrenme güçlüğü ve hafıza kaybına, insan organizmasının hayati fonksiyonlarından biri olan enzimlerin çalışma mekanizmalarının bozulmasına, hücre içi DNA moleküllerinde bozulmalara ve mutasyona neden olurlar (3).

Günümüzde bitki koruma ürünleri, tarımsal üretimde sağladığı artışla önemli bir girdi oluştururken, aynı zamanda bilinçsiz kullanımları sebebiyle meydana gelen kalıntı sorunu ile de giderek sağlığımızı kötü yönde etkilemektedir. Ayrıca tarım ilaçlarının çevre kirliliğine de neden olması tüm dünya ülkelerinde bir tedirginlik oluşturmuş ve daha seçici davranılması için farkındalık oluşturmuştur. Bu nedenle de zaman zaman bazı pestisitler yasaklanmaktadır.

Genellikle bitkiler ve bitkisel ürünler üzerinde az ya da çok pestisit kalıntısı bulunmaktadır. Ürün üzerinde veya içinde bulunan pestisit ve/veya pestisit türevleri “*pestisit kalıntısı*” şeklinde adlandırılır. Pestisit kalıntıları, orijinal kimyasal yapıları veya metabolitleri şeklinde bulunabilmektedir. Bu noktada önemli olan pestisit kalıntısının miktarıdır. Kalıntı seviyesinin insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturmayacağı sınır, genellikle maksimum kalıntı limiti (tolerans, MRL) olarak tanımlanır.

İyi Tarım Uygulamaları (GAP- Good Agricultural Practices) sonucu gıdalarda, tarımsal ürünlerde veya hayvan yemlerinde yasal olarak bulunmasına izin verilen en yüksek pestisit kalıntı miktarı maksimum kalıntı limiti (MRL, tolerans) olarak tanımlanmakta ve 1 kg üründe bulunmasına izin verilen mg aktif madde (mg a.m./kg ürün, ppm) olarak ifade edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO)'nun bünyesinde bulunan Kodeks Alimentarius Komisyonu (CAC), ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), AB Komisyonu gibi kurumlar tarafından limitler belirlenmekte ve yönetmelikler düzenlenmektedir(4).

Ülkemizdeki Pestisit Kalıntı Limitlerinin en güncel hali, 91/414/EEC sayılı Avrupa Birliği Direktifi ve 396/2005/EC sayılı Avrupa Birliği Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü'nün ilgili hükümleri dikkate alınarak çıkarılan Türk Gıda Kodeksi (TGK) 25.11.2016 tarih ve 29899 Sayılı Resmi Gazete'de ile ortaya konmuş, özellikle AB uyum çalışmaları gereği uyumlu hale getirmekle yükümlü olduğumuz konulardan biri olan limitlerin uyumlu hale getirilmesi için, AB pestisit kalıntı limitlerinin büyük bir kısmı alınarak yasal limitlerimizin en son hali yayınlanmıştır. Oldukça dinamik bir konu olması sebebiyle, TGK limitleri belirli aralıklarla güncellenmektedir.

Kalıntı miktarları milyonda bir kısım (ppm), milyarda bir kısım (ppb) gibi oldukça düşük düzeylerde olduğu için kalıntı analizleri, zahmetli, pahalı, bilgi ve deneyim gerektiren

analizlerdir. Tarımsal ürünlerin üretiminden tüketimine kadar geçen her safhada pestisit kalıntılarının kontrol ve denetimlerinin yapılması gerekmekte, bunun için de güvenilirliği yüksek, kolay ve hızlı analiz metotlarının kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (5).

Bu çalışmanın amacı, meyve sebze ürünlerinde kullanılan tarım ilaçlarının, ülkemizde daha önce uygulanmamış olan Etil Asetat Metodu ile analizini GC-MS-MS'te valide ederek pestisit etken maddelerinin ölçüm belirsizliklerini hesaplamak olarak belirlenmiştir.

Pestisit kalıntıları insan sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmakta ve bu sebeple gıda maddelerindeki kalıntı miktarların doğru tespit edilmesi de zehirlenme ve kanser vakalarının oluşumunu önlemek adına oldukça önemlidir.

2.GENEL BİLGİLER

Pestisit; insan, yararlı hayvan ve yararlı bitkilere olumsuz etkileri bulunan zararlılara karşı kullanılan kimyasal ve fiziksel bileşimlerin genel adı olup, bunun yerine tarım ilacı tanımlaması da kullanılmaktadır. Pestisit; yabancı kaynaklı bir kelime olup pest=zararlı, cide = öldürücü anlamına gelir. Tarımsal ürün yetiştiriciliği, depolanması, taşınması, dağıtımını sırasında veya gıdaların, zirai ürünlerin işlenmesi sırasında istenmeyen zararlıları önlemek, yok etmek ve kontrol altına almak amacıyla kullanılan kimyasal maddelerdir (1).

Pestisitlerin büyük bir kısmı uygulandıkları bitki, toprak ve su ortamında uzun süre bozulmadan kalabilen, canlıların bünyesinde birikebilen yapılara sahiptir. İdeal bir pestisit;

- İstenmeyen zararlıyı kontrol altına alabilmesi,
- Hedefi olmayan canlıya zarar vermemesi yani seçici olması,
- Uygun bir zaman sürecinde ekolojik olarak kabul edilebilir ürünlere dönüşmesi,
- Uygulama alanında kalabilmesi,
- Çevrede birikme potansiyelinin olmaması gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir (6).

Pestisit seçiminde göz önünde bulundurulması gereken önemli kriterler vardır, bunlar:

Güvenli olması, seçici (spesifik) olması, kısa ömürlü olması ve su ve topraktaki kalıcılığının az olmasıdır. Özellikle güneş ışığı, nem ve yağmur gibi fiziksel etmenler pestisitlerin kalıcılığı üzerinde etkili olmaktadır (4).

Pestisit kalıntıları; bir gıda, zirai ürün veya hayvan yeminde pestisit kullanımı sonucu kalan herhangi bir etken madde veya maddeler grubudur. Bu terim, pestisitlerin dönüşüm ürünleri, metabolitleri, reaksiyon ürünleri ve toksikolojik önemi olabilen safsızlıklar gibi tüm pestisit türevlerini içerebilir. Ürünlerde saptanan kalıntı ppm (mg/kg) olarak pestisit miktarıdır. Toksik kalıntı tek başına kullanılan ilacın etken maddesini ifade etmemekte olup, etken maddenin

metabolitlerini de kapsayabilir. Aynı şekilde kimyasal değişme veya parçalanma ürünleri de kalıntı olarak ifade edilir.

2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması

Kültür bitkilerine zarar veren hastalık etmenlerini, zararlıları ve yabancı otlar gibi organizmaları öldüren pestisitler farklı birtakım özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. En yaygın sınıflandırma biçimi ise etkiledikleri canlı gruplarına göre sınıflandırmadır. Buna göre pestisitler;

1-İnsektisitler (Böcekleri öldüren): Klorlanmış hidrokarbonlular, organik fosforular, karbamatlar, sentetik pretroidler, bakteriler

2-Akarisitler (Akarları öldüren): Amin ve hidrazin türevleri, kükürtlüler, organik kalaylılar

3-Nematisitler (Nematodları öldüren)

4-Mollusisit (Yumuşakçaları öldüren)

5-Rodentisit (Kemirgenleri öldüren)

6-Avisit (Kuşları öldüren)

7-Fungisit (Fungusları öldüren): Bakırlılar, kalaylılar, kükürtlüler, dithiokarbamatlar, benzimidazoller, piperazinler, triazoller

8-Bakterisit (Bakterileri öldüren)

9-Herbisit (Yabancı otları öldüren): Benzimidazoller, karbamatlılar, anilidler, triazinler, uraciller

10-Algisit (Algleri öldüren) olmak üzere sınıflandırılmaktadır.

Pestisitler kimyasal yapılarına göre: organik klorlular, organik fosforular, karbamatlar, doğal ve sentetik pretroidler olmak üzere 4 gruba ayrılırlar (6).

2.2 Kimyasal Yapılarına Göre Pestisitler

2.2.1 Organofosforlu Pestisitler

Fosforik asidin organik esteri olan bu pestisitler, merkezi sinir sisteminde yer alan kimyasal bir nörotransmitter madde olan asetilkolinin regülasyonunda görev alan enzimi (Asetilkolinesteraz) inhibe etmek suretiyle sinir sistemine etki ederler. Akut toksisiteleri yüksek, kronik toksisiteleri düşük pestisitlerdir. Birçok organofosforlu pestisit, insektisitler kapsamındadır. Bu pestisitler 19. yüzyılın başlarında keşfedilmiş olup, böcekler ve insanlar üzerindeki etkileri ise 1932 yılında keşfedilmiştir. Bu pestisitlerin bazı türleri oldukça zehirlidir hatta 2. Dünya Savaşı'nda düşman askerlerinin sinir sistemine zarar vermek amacıyla kimyasal silah olarak kullanılmıştır. Organofosforlu pestisitler doğada kalıcı bir etki göstermezler.

2.2.2 Karbamatlı Pestisitler

Karbamik asitten türetilerek elde edilen bileşiklerden oluşurlar. Bu tür pestisitler de organofosforlu pestisitlere benzer etki gösterirler ancak kalıcılıkları daha düşüktür. Asetilkolinesteraz enzime etkileri genelde geri dönüşümlüdür. Karbamatlı pestisitlerin birkaç alt grubu vardır.

2.2.3 Organoklorlu Pestisitler

Organoklorlu pestisitler, farklı tür ve yapıdaki hidrokarbonların %33-67 arasındaki oranlarda klorlanmasıyla oluşmuş, yapısında çok sayıda sentetik bileşen içeren kimyasal bileşiklerdir. Organoklorlu pestisitler, apolar yapılarından dolayı yağda çözünürler, uçuculukları az ve bozunmaları yavaştır. Yağ dokuda birikirler, kronik zehirlenme ve hastalıklara sebep olurlar. Geçmiş yıllarda kullanımı yaygın olan bu pestisitlerin; insan sağlığına ve çevreye zarar vermeleri, doğada kalıcı hasar yaratmaları sebebiyle kullanımları büyük ölçüde yasaklanmıştır (3).

2.2.4 Piretroidler

Krizantem (kasımpatı) bitkisinde dogal olarak bulunan piretrin maddesinin sentetik olarak üretilmiş türevleridir. Işık ve sudan etkilenecek şekilde kolayca bozunurlar. Doğada daha stabil olmaları için modifiye edilmişlerdir. Bazı sentetik piretroidler sinir sistemi açısından zararlıdır.

2.3. Biyopestisitler

Biyopestisitler, bitkiler, hayvanlar, bakteriler ve bazı mineraller gibi dogal materyallerden elde edilen pestisit türleridir. Biyopestisitler 3 ana alt başlıkta toplanmaktadır:

2.3.1 Mikrobiyal Pestisitler

Çoğunlukla bakteri, mantar, virüs ve protozoa gibi mikroorganizmalardan oluşurlar. Mikrobiyal pestisitler çeşitli zararlıların kontrolünde kullanılabilirler. Bu pestisitlerin verimli olarak kullanılması için, kontrolü hedeflenen zararlıya özgü olmaları gerekir. Örneğin, bir grup mantar yabancı otların kontrolünde etkili iken, diğer bir grup bir kısım böceklerin öldürülmesinde etkili olabilir.

2.3.2 Bitki ile Birleşik Koruyucular

Bitkilere genetik materyal eklenmesiyle bitki tarafından üretilen pestisit etken maddeleridir. Örneğin; Bacillus Thuringiensis bakterisinin pestisit üreten gen kısmı bitkiye verilerek bitkinin kendisinin pestisit üretmesi sağlanabilir (3).

2.3.3 Biyokimyasal Pestisitler

Toksik olmayan mekanizmalar tarafından dogal olarak üretilip zararlıların kontrolünde kullanılan pestisitlerdir. zararlı böcekleri tuzağa çekmek için kullanılan seks feromonları bunlara örnek olarak gösterilebilir. Böceklerin dış kısmında bulunan kitin kabuğun kitinaz

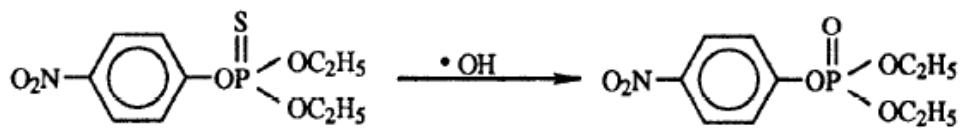
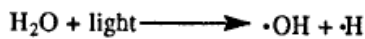
enzimi kullanılarak parçalanıp böceğin ölmesini sağlaması da biyokimyasal pestisitlere örnektir (3).

2.4 Pestisitlerin Bozunma Mekanizmaları

Bir çok pestisit etken maddesi, uygulanmalarının ardından havaya karışmakta ve havada iki ana bozunma mekanizması ile parçalanmaktadır. Bunlar; fotokimyasal reaksiyonlar ve serbest radikal reaksiyonlarıdır. Fotokimyasal reaksiyonlar suda veya havada gerçekleşebilen ve güneş ışığı tarafından yönetilen reaksiyonlardır. Bozunma reaksiyonları sonrasında ana bileşikten daha çok veya daha az toksik yeni ürünler oluşabilmektedir.

Güneş ışığı fotonlar halinde yayılır. Bu ışın demeti enerjileri pestisitler tarafından absorplandığında yapılarındaki kimyasal bağlar kırılır. Pestisitlerin parçalanmaları genellikle güneşten gelen %4 oranında, 290-400 nm dalga boyundaki ışınlar tarafından gerçekleştirilmektedir. 290 nm'nin altında kalan dalga boyları ozon tabakası tarafından filtre edilirken, 400 nm üzerindeki ise bu bağları kırabilecek kapasitede enerji yoğunluğuna sahip değildir.

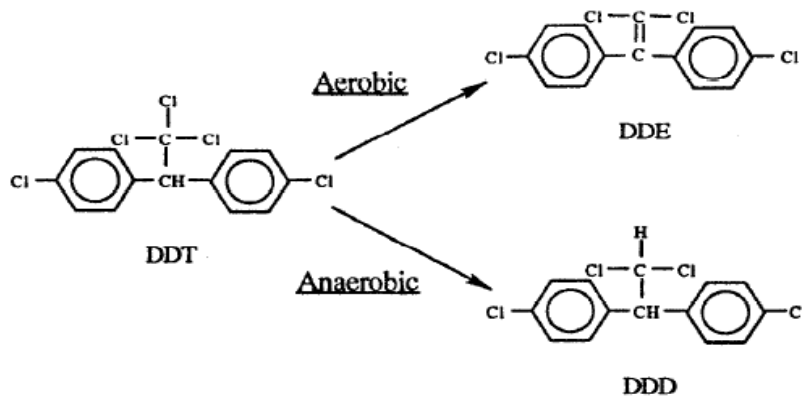
İkinci tip bozunma reaksiyonları da fotonların havada bulunan diğer moleküller ile etkileşimlerinin ardından oluşan serbest radikallerin pestisitlerle reaksiyona girmeleri ile oluşur.



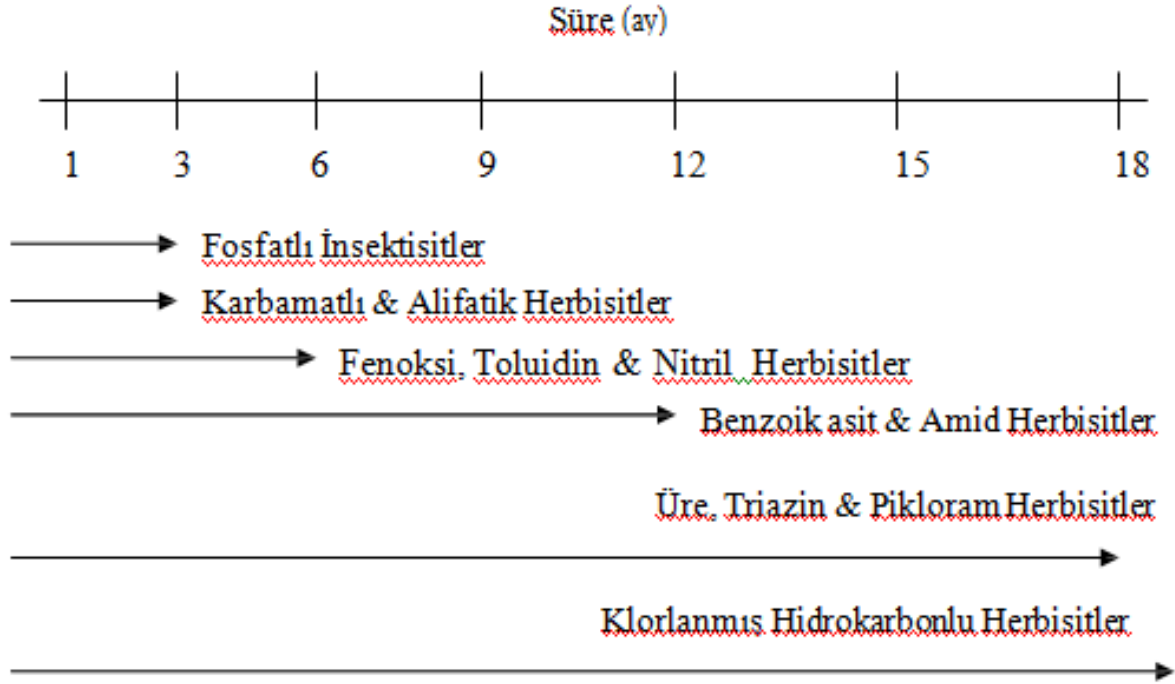
Şekil 1: Parathion'un Paraoxon'a Dönüşümü (6)

Bozunma mekanizmaları güneş ışığı ile direkt olarak bağlantılı olduğu için, gün ortasında güneş ışınları yeryüzüne ulaşırken daha az yol kat ettiği için bu ışınlar ozon tabakası tarafından daha az filtre edilmekte, dolayısıyla daha fazla fotokimyasal reaksiyon gerçekleşmektedir. Fotokimyasal bozunma reaksiyonları, sıcaklık ile doğru orantılı olarak artmaktadır.

Pestisitlerin bozunma mekanizmalarından bir diğeri de mikrobiyal yolla gerçekleşen bozunmalardır. Bu bozunmalar, kimyasalların hücre duvarlarından geçerek adsorbe edilmesi ile CO₂, H₂O ve mineral tuzlara kadar parçalanmasını şeklinde gerçekleşir. Ancak balıklar gibi daha gelişmiş canlılarda kimyasalların parçalanma işlemlerinde mineralizasyon aşaması gerçekleştirilememektedir. Enzimler bu parçalanma işlemlerinde aktif olarak rol almakta ve son ürünler ana molekülden daha çok veya daha az toksik olabilmektedir. Bakteriler pH'ı 5.5'tan büyük olan toprak ve sularda, küfler ise daha çok asidik ortamlarda yıkım işlemini gerçekleştirirler (6).



Şekil 2: DDT'nin Anaerobik ve Aerobik Yollarla Degrasyonu (6)

Tablo 1: Bazı İnektisit ve Herbisitlerin Toprakta Dayanım Süreleri (6)

2.5 Pestisitlerin Yarılanma Ömrü

Yarılanma ömrü ($T_{1/2}$) bir kimyasal için kalıcılığın ölçütlerinden biridir. Bir maddenin yarılanma ömrü, konsantrasyonunun yarısının bozunması için geçen zamanı ifade etmektedir. Başka bir şekilde tanımlanacak olursa bir pestisit 10 günlük yarılanma ömrüne sahipse, normal koşullarda pestisit uygulamasından 10 gün sonra yarısının bozunması gerekir. Bu sürenin sonunda, pestisitlerin aynı bozunma hızı sabiti ile parçalanmaya devam etmesi gerekmektedir.

Yarılanma ömrü bazen de uygulanan pestisitinin yarısının bozunması, karbondioksit gazı olarak açığa çıkması için geçen zaman olarak ifade edilmektedir. Toprak altında ve yeraltı sularında $T_{1/2}$ değeri daha yüksektir. Pestisitler böylelikle bozunmadan sulu ortamda daha derinlere ulaşarak kalıntı bırakmaktadır.

Bir etken maddenin yarılanma ömrünün ($T_{1/2}$) uzun olması, o maddenin doğada daha uzun süre kalması anlamına gelmektedir. Yarılanma ömrü ne kadar kısa ise bozunma oranı da o

kadar hızlı olup, tamamen yok olma süresi kısalmaktadır. Pestisitlerin yarılanma ömrüne toprağın nemi, sıcaklığı, oksijen durumu, toprak pH, mikrobiyal nüfus, fotodegradasyon ve diğer etmenler etki etmektedir (7).

2.6 Pestisitlerin Toksikolojik Olarak Sınıflandırılması

Her bir pestisit hedef canlılarına farklı şekillerde etki etmektedir. Etki mekanizmaları kompleks olmakla beraber, hedef organizmada oluşturduğu toksik etki bir takım biyokimyasal süreçler sonunda ortaya çıkmaktadır. Pestisitler canlı organizmalarında iki tip toksik etki göstermektedir.

Akut etki; pestisit tek bir dozda alındığında kısa süre sonra ortaya çıkan ve belirtileri tanımlanabilen etki,

Kronik etki; uzun zaman aralığında, öldürücü doz altındaki tekrarlı alımlar sonrası ortaya çıkan etki olarak ifade edilmektedir.

Akut etkinin değeri LD₅₀ olarak ifade edilir. LD₅₀ popülasyonda %50 oranında ölüm oluşturan doz olarak tanımlanabilmektedir. LD₅₀ değerinin düşük olması o etken maddenin toksisitesinin yüksek olduğunu göstermektedir (7).

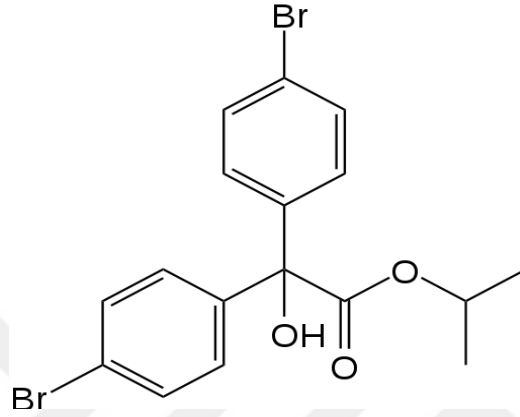
Tablo 2: Pestisitlerin Toksikolojik Açıdan Sınıflandırılması (Tablodaki sınıflandırmalar sıçanlardaki akut değerleri cinsinden verilmiştir.) (7)

Zehirlilik sınıfı	Sıvı İlaçlar LD ₅₀ mg/kg		Katı İlaçlar LD ₅₀ mg/kg	
	Ağız Yoluyla	Deri Yoluyla	Ağız Yoluyla	Deri Yoluyla
Çok Zehirli	<20	<40	<5	<10
Zehirli	20-200	40-400	5-50	10-100
Orta Dereceli	200-2000	400-4000	50-500	100-1000
Az Zehirli	>2000	>4000	>500	>1000

Bu çalışmada geçerli kılınan pestisit etken maddeleri;

Halojenli pestisitler grubundan Bromopropylate, organoklorlu pestisitler grubundan Endosulfan, organofosforlu pestisitler grubundan Chlorpyrifos ve piretroidler grubundan Cypermethrin'dir.

2.7 Bromopropylate



Şekil 3: Bromopropylate molekülü

Tablo 3: Bromopropylate'ın Genel Özellikleri (8)

Fiziksel Hali	Beyaz, kristalize toz
Molekül Formülü	$C_{17}H_{16}Br_2O_3$
Kimyasal Adı	isopropyl-4,4'-dibromobenzilate
Molekül Ağırlığı	$428.12 \text{ g mol}^{-1}$
Erime Noktası	$77 \text{ }^{\circ}\text{C}$
Buhar Basıncı	$5.5 \cdot 10^{-7} \text{ mm Hg}/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $5.25 \cdot 10^{-3} \text{ mm Hg}/100 \text{ }^{\circ}\text{C}$
Yoğunluğu	$1.59 \text{ g/cm}^3 (20 \text{ }^{\circ}\text{C})$
Çözünürlüğü	$<0.5 \text{ ppm}$ ($20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ suda), organik solventlerde çözünür
Stabilitesi	Nötral ve hafif asidik ortamlarda oldukça kararlı, yarılanma ömrü pH:0 %10'luk metanol çözeltisi içinde 50 gün; pH 6-7 suda, >3 yıl; pH 9 (0.05 M boraks tamponunda), 15 gün;

<http://npic.orst.edu/factsheets/archive/chlorptech.html> (16.07.2019)

<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/Reports/154.htm> (16.07.2019)

Bromopropylate, Eriophyidae (erifid akarları), Tenuipalpidae (sahte örümcek akarları) ve Tetranychidae (örümcek akarları) gibi akarlara karşı etkili bir kontakt akarisitir. Her ne kadar kimyasal olarak belirgin bir ovisidal öldürücü etkiye sahip olmasa da, erken yumurta gelişimi aşamalarında bir miktar aktivite gösterir, yeni yumurtadan çıkmış larvaları yapraklar üzerinde kontakt etkiyle öldürmektedir.

Pamuk, üzüm, soya fasulyesi, portakal başta olmak üzere çeşitli sebze ve meyvelerde kullanılmaktadır.

2.7.1 Bromopropylate Toksik Etkileri

Tablo 4: Bromopropylate toksik etkileri

Tür	Cinsiyet	Kullanım Şekli	Saflık	LD50 (mg/kg)	Referans
Fare	Erkek	Oral	Teknik	8000	JMPR 1993
Sıçan	Dişi+Erkek	Oral	Teknik	>5000	
Sıçan	Dişi+Erkek	Oral	Formülasyon	6000	
Sıçan	Dişi+Erkek	Oral	Formülasyon	>23100	

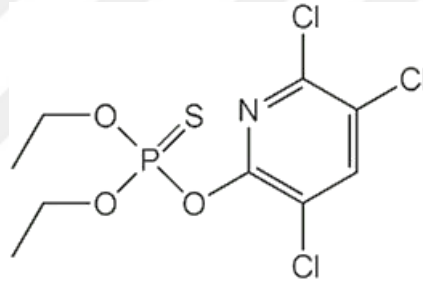
Yapılan kısa süreli çalışmalarda;

10 erkek ve 10 dişi sıçan dört hafta boyunca haftada 6 gün vücut ağırlıklarına göre %5'lik süspansiyon formundaki Bromopropylate'ın 0, 40, 200, 1000 ve 5000 mg/kg konsantrasyonundaki formlarıyla oral yolla beslenmiş. En yüksek doz seviyesinin hayvanlar ölmeden 21 gün önce poliüriye sebep olduğu görülmüştür. 1000 ve 200 mg/kg gruplarında vücut ağırlığında ve beslenmede azalma gözlemlenmiştir. Karaciğer ağırlıkları en yüksek üç dozaj grubunda artmış ve hücre şekillerinde bozulma ve periportal infiltrasyon görülmüştür. En yüksek dozda ise hepatik nekroz görülmüştür.

Yapılan uzun süreli çalışmalarda;

50 erkek ve 50 dişi sıçan grubunun iki yıl boyunca 0, 15, 30 ve 100 ppm Bromopropylate içeren diyetler ile beslenerek yapılan hayvan deneyinde; her gruptan beş erkek ve beş dişi sıçan 18 ay sonra ölmüş. Deney süresince sıçanların vücut ağırlıkları ve beslenme düzeyleri kontrol grubundakilerle aynı seviyelerde devam etmiştir. 30 ve 100 ppm seviyelerinde beslenen dişi sıçanlardan yalnızca 3 tanesi 24 ay hayatta kalmıştır. 100 ppm seviyesinde beslenen sıçanlardan 24 ay hayatta kalanların karaciğer dokuları üzerinde yapılan araştırmalarda mitokondrilerinde bozulmalar ve belirgin lipid birikimleri gözlemlenmiştir. Görülen bu farklılıkların hücre altyapısında önemli patolojik değişiklikler olduğu düşünülmemiştir. Bulunan tümörlerin yerinin ve sayısının kontrol grubu ve deney grubunda benzer olduğu görülmüştür (8).

2.8 Chlorpyrifos



Şekil 4: Chlorpyrifos molekülü(9)

Tablo 5: Chlorpyrifos Genel Özellikleri(9)

Fiziksel Hali	Beyaz kristalize katı
Molekül Formülü	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS
Kimyasal Adı	<i>O,O</i> -Diethyl <i>O</i> -3,5,6-trichloropyridin-2-yl phosphorothioate
Molekül Ağırlığı	350.6 g mol ⁻¹
Erime Noktası	42 °C
Buhar Basıncı	1.87 x 10 ⁻⁵ mmHg, 25 °C'de
Yoğunluğu	1.398 g/cm ³ (20 °C)
Çözünürlüğü	Suda 0.0014 g/L (1.4 mg/L), 25 °C'de Etil Asetat ve toluen çözünürlüğü yüksek olmakla birlikte hekzan, metanol gibi solventlerde de iyi çözünür.
Stabilitesi	Yarılma ömrü toprakta 7-120 gün arasında değişkenlik göstermektedir. Sudaki yarılma ömrü pH:7 25 °C'de 35 ila 78 gün arasında değişkenlik göstermektedir.

Chlorpyrifos bahçe, tarım ve ormanlarda zararlılara karşı mücadelede sıklıkla kullanılan bir pestisittir. Toprakta veya mahsul yapraklarında, turunçgil, çekirdeksiz meyveler, fındık, incir, çilek, asma, muz, patates, pancar, pirinç gibi ürünlerde ve aynı zamanda süs bitkilerinin kontrolünde kullanılmaktadır. Apolar moleküler yapısı ve suda çözünbilme özelliğinin düşük olması sebebiyle çevrede hızlı bir şekilde sudan organik faza geçer bu sebeple insanların chlorpyrifosa maruz kalma riski oldukça yüksektir.

2.8.1 Chlorpyrifos Toksik Etkileri

Kullanımının yaygın olması sebebiyle insanların sıklıkla maruz kaldığı organofosfatlı bir insektisittir. Lipofilik yapısı sebebiyle hücre zarından sitoplazmaya kolayca geçerek pek çok hasara yol açabilmektedir ve kan-beyin bariyerini geçebilen bir bileşik olduğu bildirilmiştir. Memeliler tarafından hızlı bir şekilde absorbe ve metabolize edildiği bildirilmiştir. Chlorpyrifos'un metabolitleri olan chlorpyrifos-oxon ve 3,5,6-trikloro-2-pridinol Chlorpyrifos'dan daha toksiktir. Chlorpyrifos-oxon sinir uçlarında bulunan asetil kolin esteraz enzimini inhibe eder. Chlorpyrifos kalıntı analizi çalışmalarında da güneşte kurutma sonrası yarılanma ömrünün 5.64 gün olduğu görülmüştür. Chlorpyrifos WHO tarafından 1999 yılında "kısmen tehlikeli" olarak sınıflandırılmıştır. Literatürdeki risk değerlendirme çalışmalarında chlorpyrifosun sucul canlılar arasında özellikle kabuklular, omurgalılar ve böcek larvaları üzerinde daha etkili olduğu belirtilmiştir. Dokularda birikimi çok 1mg/kg dan düşük orandadır. İnsanda oral yoldan alındığında idrarda %70, deri yoluyla alındığında ise idrarda %1.3 oranında görülmektedir. Sıcakkanlı hayvanlarda organofosfatlı bileşiklerin toksik etkilerinin en önemlisi solunum kaslarının görevinin engellenmesidir. Chlorpyrifos risk seviyesi oldukça yüksek bir pestisittir. Dozla doğru orantılı olarak toksisitesi artar. Toprakta, bitkilerde, yer altı sularında biyolojik birikimle yüksek seviyelere ulaşmakta ve toksisite oluşturmaktadır. Chlorpyrifos'a anne karnında ya da çocukluk döneminde maruz kalınması oldukça tehlikeli olabilir. Chlorpyrifos maruziyetine bağlı olarak üreme sistemini olumsuz yönde etkiler ve

kusurlu doku oluşumuna neden olabilir. Aynı zamanda vücuttaki organların ağırlığını azaltabildiği görülmüştür (9;10).

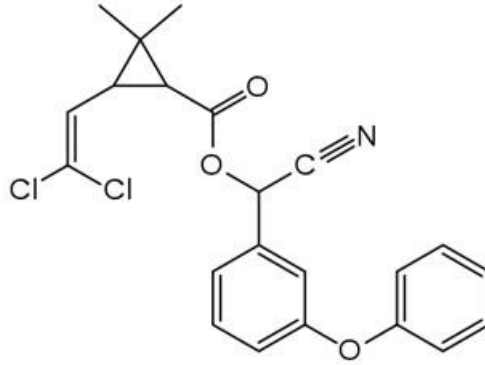
Chlorpyrifos farklı organlarda lipid peroksidasyonu ile birlikte oksidatif strese sebep olmaktadır. Chlorpyrifos ve diğer pek çok organofosfatlı pestisit DNA'da hasar meydana getirmektedirler. Bununla birlikte chlorpyrifosun hepatik disfonksiyona, immunolojik anomalilere, nörokimyasal değişimlere sebep olduğu bilinmektedir. Genotoksik ve teratojenik etkilerinin yanı sıra, hücre membranında sinyal iletimini bozduğu da belirtilmiştir(10).

Tablo 6: Chlorpyrifos toksik etkileri

	Yüksek Toksikite	Orta Düzey Toksikite	Düşük Toksikite	Çok Düşük Toksikite
Akut Oral LD₅₀	≤50 mg/kg	>50-500 mg/kg	>500-5000 mg/kg	>5000 mg/kg
İnhalasyon LC₅₀	≤0.05 mg/kg	>0.05-0.5 mg/kg	>0.5-2.0 mg/kg	>2.0 mg/kg
Dermal LD₅₀	≤200 mg/kg	>200-2000 mg/kg	>2000-5000 mg/kg	>5000 mg/kg
Primer Göz İrritasyonu	Korozif (oküler dokunun geri dönüşümsüz tahribatı, 21 günden fazla devam eden kornea tutulumu veya tahrişi)	Kornea tutulumu veya 8 - 21 gün içerisinde gözde irritasyon	Kornea tutulumu veya 7 günden az bir sürede gözde irritasyon	24 saatten daha kısa bir sürede görülen etkiler
Primer Ten İrritasyonu	Korozif (doku tahribatı ve yara oluşumu)	72 saatte ciddi tahriş (şiddetli eritem veya ödem)	73 saatte orta derecede tahriş	72 saatte hafif veya az tahriş (tahriş veya eritem yok)

[http://npic.orst.edu/factsheets/archive/chlorpotech.html#acute\(16.07.2019\)](http://npic.orst.edu/factsheets/archive/chlorpotech.html#acute(16.07.2019))

2.9 Cypermethrin



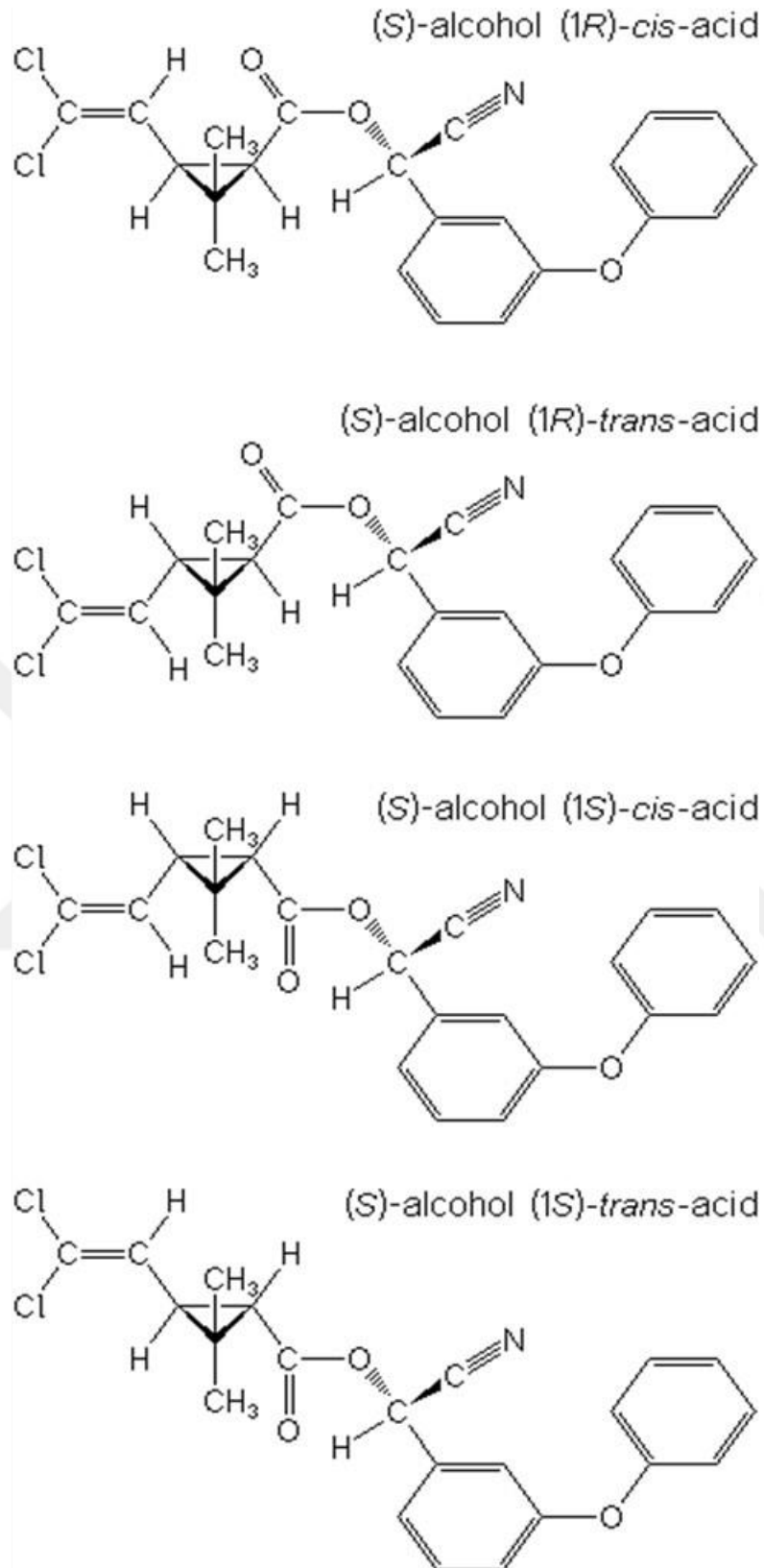
Şekil 5: Cypermethrin molekülü(11)

Tablo 7: Cypermethrin genel özellikleri

Fiziksel Hali	Viskoz sarı sıvıdan yarı katı kristalize forma değişkendir
Molekül Formülü	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
Kimyasal Adı	[Cyano-(3-phenoxyphenyl)methyl]3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2 dimethylcyclopropane-1-carboxylate
Molekül Ağırlığı	416.30 g/mol
Erime Noktası	80 ⁰ C'nin üzerinde olup cis/trans oranına ve saflığına göre değişiklik gösterir
Buhar Basıncı	1.9x10 ⁻⁷ pa, 20 ⁰ C
Yoğunluğu	1.23 kg/l, 20 ⁰ C
Çözünürlüğü	Sudaki çözünürlüğü 9.0 x 10 ⁻⁶ g/l, 20 ⁰ C Sikloheksan ve Ksilende > 600, Aseton > 450, Etanol>337 Hekzan>103 g/l , 20 ⁰ C
Stabilitesi	Asidik ve nötral koşullarda kararlıdır, alkali koşullarda stabil değildir 220 ⁰ C'ye kadar kararlılığını korur. Oda koşullarında stabildir.

<http://www.fao.org/docrep/W4601E/w4601e07.htm>(16.07.2019)

<http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim163.htm>(16.07.2019)



Şekil 6: Cypermethrin izomerleri

<http://extoxnet.orst.edu/pips/cypermet.htm>(16.07.2019)(11)

<http://en.wikipedia.org/wiki/Cypermethrin>(16.07.2019)(11)

Tarımda; pamuk, sebze ve meyve zararlılarını da içeren birçok zararlının kontrolünde kullanılmaktadır. Bunun yanında ev, depo, mağaza, sera, gemi, nakliye kamyonları gibi daha birçok yerde ilaçlama amacıyla kullanılmaktadır. EPA Cypermethrini orta dereceli toksik bileşik [sınıf II] ve insanlarda muhtemel kanserojen [grup C] olarak sınıflandırmaktadır. Cypermethrin, suda çözünürlüğü düşük olduğundan toprak partiküllerine kuvvetlice adsorbe olma eğilimi gösterir ve bu sebeple yeraltı sularını kontmine eder (11).

4 cis ve 4 trans olmak üzere 8 farklı izomeri bulunmaktadır. Cis/trans izomer oranı üretimdeki kaynaklara göre değişkenlik göstermektedir(12).

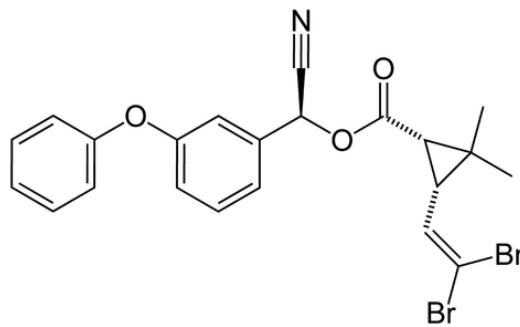
Cypermethrinin cis ve trans izomerlerinden yalnızca ikişer tanesi insektisit özellik göstermektedir. Bu 4 etkili monomeri içeren Beta Cypermethrin'dir. Bu tür pestisit etken maddeleri rasemik karışımları halinde satıldığında bu çevreye daha çok zarar vermelerine sebep olmaktadır. Düşük etkili ya da etkisiz kimyasal formların karışımlar içerisinde kullanılması pest kontrolü anlamında efektif olmadığı gibi suya ve toprağa karışarak çevreyi gereksiz bir biçimde kirletmekte olup bunun yanısıra toksik etkileri sebebiyle de insan sağlığına daha fazla zarar vermektedirler(13).

2.9.1 Cypermethrin Toksikitesi

Cypermethrinin canlılardaki toksisitesi kullanılan farmasötik şekline ve uygulama yoluna bağlı olarak değişkenlik gösterir. Etki süresi normal şartlar altında 10 gün iken, uygulandıkları yerlere göre bu süre bazen 12 ile 16 hafta arasında değişebilir. Zehirlenmenin ilk belirtilerini atlatarak 2-3 gün hayatta kalan hayvanların iyileşebileceği gözlemlenmiştir. 90 gün boyunca 1500 mg/kg dozda Cypermethrini oral yolla alan köpekler üzerinde yapılan deneysel çalışmalar sonucunda belirgin toksisite bulguları; anoreksi, ishal, ataksi, tremorlar, inkordinasyon ve hiperestezi şeklinde görülmüş olup ölüm görülmediği belirtilmiştir. Memelilerin piretroitlere karşı direnç mekanizmasının böceklerden daha yüksek olmasının sebebi, karaciğer metabolizmalarının daha

hızlı olması ve idrarla aktif olmayan metabolitlerin organizmadan atılmasıdır tarafından, cypermethrin toksikasyonu görülen bir insanda karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri ile glikoz düzeylerinin istatistiki olarak önemli değişiklikler olmadığı bildirilmiştir. 4-28 gün boyunca 250 mg/kg dozda günde 4 saat aralıklarla sıçanlara dermal uygulanan cypermethrinin karaciğer, böbrek, akciğer ve beyinde hafif histopatolojik değişikliklere neden olduğunu bildirmiştir. Cypermethrin vücutta en çok yağ dokuda, karaciğer ve böbrekte birikir. Memelilerde cypermethrin toksisitesi bu şekildeyken, suda yaşayan organizmalar (eklem bacaklılar ve balıklar) için de birçok çalışma yapılmış ve toksik etkilerin gözlemlendiği bildirilmiştir. Kurbağa (*Rana arvalis*) larvaları ile yapılan bir çalışmada, larvaların farklı aşamalarda alfa-cypermethrine maruz bırakılmasının, üreme başarısında azalma ve metamorfoz süresinde gecikme gibi olumsuz vakalara yol açtığı bildirilmiştir. Cypermethrinin zehirlilik sınıfı 2 olup LD50 ağızdan sıçanlarda 250 mg/kg (mısır yağında) ya da 4123 mg/kg (suda)'dır. Günlük alınabilir zararsız miktarı 0.05 mg/kg olarak bildirilmiştir. Cypermethrin, balıklarda ve akuatik omurgasızlarda yüksek derecede toksiktir. (14).

2.10 Deltamethrin



Şekil 7: Deltamethrin Molekülü(15)

Tablo 8: Deltamethrin genel özellikleri

Fiziksel Hali	Beyaz Kristalize Toz
Molekül Formülü	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Kimyasal Adı	[(S)-cyano-(3-phenoxyphenyl)-methyl] (1R,3R)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethyl-cyclopropane-1-carboxylate
Molekül Ağırlığı	505.21 g/mol
Erime Noktası	98-101 ⁰ C
Buhar Basıncı	1.5 x 10 ⁻⁸ mmHg, 25 ⁰ C
Yoğunluğu	0.5 g/cm ³ (25 ⁰ C)
Çözünürlüğü	Suda <0.002 mg/L, Aseton (500 g/L); Ethanol (15 g/L); Sikloheksan (750 g/L); Dioksan (900 g/l); Ksilen (250 g/L); Etilasetat.
Stabilitesi	Deltametrin, ışığa, ısıya (40 ⁰ C 'de 6 ay) ve havaya karşı dayanıklıdır, ancak alkali ortamlarda kararsızdır.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/endosulfan#section=Methods-of-Manufacturing>

(16.07.2019)

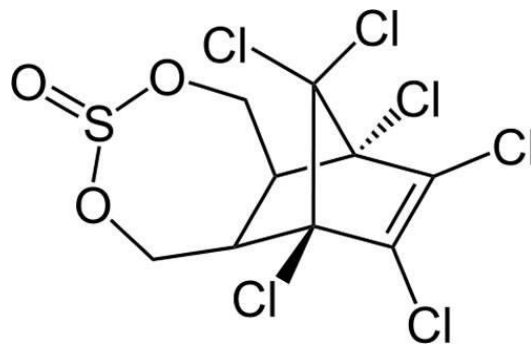
Deltametrin, sineklerde öldürücü etkisi yüksek olan bir α -siyano piretroitdir. Piretroitler, yapısal olarak piretrumdan elde edilen farmakolojik olarak etkin, zararlılara karşı tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan sentetik bileşiklerdir. Deltamethrinin kullanıldığı başlıca alanlar zeytin sineği, buğday sünesi, buğday kıvımlı, pamukta bulunan çizgili yaprak kurdu, elma kurdu, elma ağ kurdu, testereli arı, yaprak galeri güvesi, salkım güvesi, patates böceği, mercimek, mısırdaki koçan kurdu, ayçiçeğinde çayır tırtılı, fındıkta kır tırtılı, şeker pancarında pancar piresi, kalkan böceği ile mücadele olarak sıralanabilir Deltametrin, sinekler, diğer antropotlar ve balıklar için son derece toksiktir.

2.10.1 Deltamethrin Toksisitesi

Piretrinler, gastrointestinal sistem (oral) ve solunum yollarından (inhalasyonla) kolayca emilir, ancak deri yoluyla emilimleri zayıftır. Yoğun Lipofilik olmaları sebebiyle aktif bileşenleri karaciğerde hızla ve yoğun bir şekilde metabolize edilir. Zayıf biyoyararlanım ve hızlı metabolize olması, muhtemelen düşük memeli toksisitesine neden olmaktadır. Güçlü lipofilik ester yapıda oldukları için hızla birçok böceklere nüfuz eder ve sinir sistemlerini felç ederler.

Piretrum veya piretrin daha çok alerjik hipersensitivite reaksiyonlarına neden olmaktadır. Piretrinlerin neden olduğu toksisite raporlarının sayısı son yıllarda büyük ölçüde azalmıştır. Piretrinler genellikle düşük akut toksisiteye sahiptir, ancak önemli miktarlarda yutulursa konvülsiyon oluşturabilirler. Literatürde yaşamı tehdit eden az sayıda vaka bulunmaktadır. Klinik raporlar, çeşitli alerjik dermatit formlarına da neden olabileceğini düşündürmektedir. Alerjik solunum reaksiyonları (rinit ve astım), anafilaktik ve pnömonik belirtiler gösteren vakalar da bildirilmiştir. Oküler maruziyet kornea erozyonlarına neden olabilmektedir. Yüksek dozlarda beslenen hayvanlarda titreme, ataksi, solunum ve tükürük salgısında artış tespit edilmiştir. Memelilerde ise metabolizması ve atılımı hızlı olduğu için toksisitesi oldukça düşüktür. Toksik etkilerini sineklerde ve memelilerde öncelikle sinir sistemi üzerinde gösterir. Piretroit grubu insektisitlerin, alerjik ve immünolojik etkileri de vardır. Piretroit zehirlenmeleri, hiper hassasiyet, aşırı salivasyon, koreoatetoz, titreme ve felç ile açığa çıkar fakat duymusal sinirlerde hiçbir tekrarlayan sinir atışları görülmez. Piretrinler, sinir sistemi aşırı aktivitesine yol açan sodyum kanalları üzerinde etkilidir. Zehirlenme belirtilerindeki bazı farklılıkların dışında, tüm piretroid tipleri için temel hedef sodyum kanalıdır. Tüm aktif piretroidler uyarılabilir doku içindeki sodyum kanallarıyla etkileşir ve zar depolarizasyonu ile sodyum akımını uzatır. (15,16,17).

2.11 Endosülfan



Şekil 8: Endosülfan Molekülü(18)

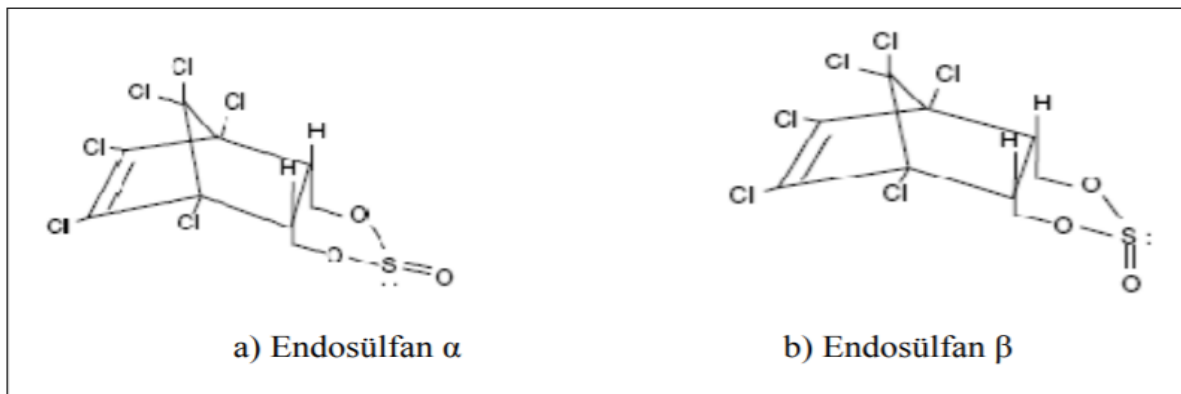
Tablo 9: Endosülfan genel özellikleri

Fiziksel Hali	Saf endosülfan renksiz kristal şeklindedir. Teknik endosülfan ise sarı-kahverengi
Molekül Formülü	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
Kimyasal Adı	6,7,8,9,10,10-Hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro- 6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepine-3-oxide
Molekül Ağırlığı	406.93 g/mol
Erime Noktası	70-100 °C
Buhar Basıncı	1,73x10 ⁻⁷ mm Hg (25°C)
Yoğunluğu	1.745 g/cm ³ (20 °C)
Çözünürlüğü	Su 0.33 mg/L, Etil Asetat 200 g/L, Diklorometan 200 g/L, Toluen 200 g/L Etil Alkol 65 g/L, Hekzan 24 g/L (20°C)
Stabilitesi	Güneş ışığına karşı stabildir, asitli ve alkali ortamlarda yavaşça hidrolize olarak dioller ve kükürtdioksit oluşturur. Isıyla dekompoze olarak HCl ve sülfoksitler yayar.

[https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/endosulfan#section=LogP\(16.07.2019\)](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/endosulfan#section=LogP(16.07.2019))

[http://extoxnet.orst.edu/pips/endosulf.htm\(16.07.2019\)](http://extoxnet.orst.edu/pips/endosulf.htm(16.07.2019))

Endosülfan; geniş spektrumlu bir insektisittir. Endosülfan; tarım alanlarında pamukta, sebze ve meyvelerde, tarla bitkilerinden çeltik, sorgum ve yağlı tohumlarda yaygın kullanılan organoklorlu bir insektisittir. Mısır, sorgum gibi hububat türleri üzerine uygulandığı gibi; çay, kahve, meyve ve sebzelerde de kullanılmaktadır. Endosülfan; Endosülfan Alfa (α ,A,I) ve endosülfan Beta (β ,B,II) isimli iki stereoizomerden oluşmaktadır. Bu iki izomeri kimyasal yapısı aşağıdaki gibidir. Endosulfan Sülfat formu doğada biyotransformasyona uğrayarak okside olması sonucu oluşmaktadır.

**Şekil 9:** Endosülfan izomerleri (18)

Endosülfan böcekler ve akarlar üzerinde temas yoluyla zehirleyici özelliğe sahiptir. Endosülfanın diğer organoklorlu pestisitlere göre sudaki çözünürlüğü çok daha yüksektir (0.33 mg/L) ve lipidlere afinitesi ise daha azdır. Endosülfan degradasyonu sonucu bilinen 5 ara ve son ürün oluşabilmektedir. Endosülfan-diol, endosülfan-sülfat, endosülfanaldehit (endosülfan α -hidroksi ether), endosülfan-ether ve endosülfan-lakton degradasyonu sırasında oluşan ana metabolitleri olarak kabul edilir. Bunlardan en önemlisi endosülfansülfattır. Endosülfan, oksidasyon ile daha toksik olan endosülfan-sülfata dönüşebilir.

2.11.1 Endosülfan Toksisitesi

Endosülfan; solunum, deri ve sindirim yollarıyla organizmaya alabilmektedir. Dokulara geçen pestisitler çeşitli şekillerde metabolize olarak biyotransformasyona uğrarlar ve sonuçta bir kısmı detoksifiye olurken bir kısmı da daha toksik bileşiklere dönüşerek aktif hale gelirler. Organoklorlu pestisitlerin bir kısmı sitokrom P-450 izoformları, endoperoksidaz sentaz gibi çeşitli enzimlerin etkisi ve katalizörlüğünde epoksidasyona ve oksidasyona uğrayarak daha etkin metabolitlerine dönüşürler. Siklodien grubu (endosülfan vb.) insektisitlerin karaciğerde metabolize olması ile bir dizi deklorine ve hidrokstile bileşik oluşmaktadır. Endosülfan çevre için ciddi bir probleme neden olan organoklorlu pestisitlerden biridir. Özellikle balıklar ve omurgasızlar için aşırı derecede toksiktir. Endosülfan biyotransformasyon sonucunda, endosülfan sülfat, ether, diol ve lakton metabolitlerine dönüşmektedir. Özellikle soğuk şartlarda endosülfanın dahil olduğu organoklorinler daha kararlı hale geçerek ekosistemler organoklorinlerin toksik etkilerini arttırıcı özellik gösterirler. Zirai aktivitelerin yapıldığı bölgelerde pestisit kontaminasyonlarının yüzey ve yer altı sularında yüksek miktarda bulunması sık karşılaşılan bir problemdir. Endosülfanın yüzey ve yer altı sularında bulunması, insanlar ve suda yaşayan canlılar üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri nedeniyle büyük ilgi uyandırmıştır. EPA' nın modellemesine göre yüzeysel sularda 4.49 ve 23.86 ppb aralığında çevre için akut toksik etki özellik göstermektedir. EPA' ya göre 0.22 μ g/L üzerindeki

endosülfan konsantrasyonları suda yaşayan canlılar için olumsuz etkiye neden olmaktadır.. Endosülfanın solunum yolu ile alınması daha az toksik etki göstermektedir. Belirlenmiş solunum LC50 değeri 1 saat için 21 mg/L ve 4 saat için 8 mg/L dir. Hayvanlarda deri veya göz tahrişi görülmüştür. Alfa izomerin beta izomerden daha zehirleyici olduğu ileri sürülmektedir. Endosülfan zehirlenmesinin en önemli belirtisi merkezi sinir sisteminin uyarılmasıdır. İnsanlarda görülen akut toksik etkiye bağlı semptomlar; koordinasyon bozukluğu, denge kaybı, solunum güçlüğü, kusma, ishal, taşikardi, çarpınma ve bilinç kaybı şeklinde belirtilmektedir. EPA'ya göre 0.056 µg/L'nin üzerindeki kronik endosülfan konsantrasyonları suda yaşayan canlılar için olumsuz etkiye neden olmaktadır. Endosülfanın insanlarda belirli maruziyet seviyelerinde üremeyi etkileyebildiği bildirilmektedir, ayrıca kanserojenik etkisi de söz konusudur. Endosülfan bakteri ve maya hücreleri üzerinde mutajenik rol oynamaktadır. Endosülfan metabolitleri hücresel değişimlere sebep olma eğilimi göstermektedir. Bu bileşik, iki farklı memeli türü üzerinde mutajenik etkilere neden olmaktadır. Endosülfana maruziyeti yüksek dozda ise insanlar üzerinde de mutajenik etkiler oluşabilir (18).

2.12 Ölümcül Pestisit Dozları: LD50 ve MRL

Tablo 10: Pestisitlerin vücuda giriş yollarına göre toksikasyon dereceleri(15)

Sınıf	Farelerde LD ₅₀ (mg/kg vücut ağırlığı)				
		Oral		Dermal	
		Katı *	Sıvı *	Katı *	Sıvı *
Ia	Çok toksik	5 ya da daha az	20 ya da daha az	10 ya da daha az	40 ya da daha az
Ib	Toksik	5–50	20–200	10–100	40–400
II	Orta toksik	50–500	200–2000	100–1000	400–4000
III	Az toksik	500'den daha yüksek	2000'den daha yüksek	1000'den daha yüksek	4000'den daha yüksek

* "Katı" ve "sıvı" kavramları etken maddenin fiziksel halini belirler (WHO, 2004)

Pestisitlerin karsinojenik olduğunun bulunmasından sonra 1960'lı yıllarda ünlü Biyolog Rachel Carson tarafından başlatılan bir çevre hareketiyle ilk olarak Amerika'da 37 pestisit yasası

çıkarılmıştır. Bu yasalar ile birlikte kullanılan pestisit miktarlarının kontrol altında tutulması için EPA (Environmental Protection Agency), FAO (Food and Agriculture Organization) ve WHO (World Health Organization) olarak bilinen komiteler kurulmuştur. Bu kuruluşların yaptığı bilimsel araştırmalarla, bütün dünyada pestisit kullanımının çok daha kontrollü yapıldığı, mevcut etkili maddelerin yeniden emniyet testlerine alındığı ve bu değerlendirmeler sonunda bazı pestisitlerin çeşitli ülkelerde yasaklandığı, kısıtlandığı ya da kullanımının kontrol altına alındığı bilinmektedir. Pestisitlerin ölümcül dozları ve besin maddelerindeki kalıntılarının insanlar için kronik toksisitesi iki şekilde ele alınmaktadır:

1) Letal Doz (LD50): Belirli ağırlıktaki bir canlıya uygulandığında belirli bir süre içinde ölüme yol açan minimum miktardır. Deneklerin % 50'sinde ölüm meydana getiren dozdur. Birimi mg/kg (vücut ağırlığı) olarak belirtilmektedir.

2) Maksimum kalıntı limitleri (Maximum Residue Limits-MRL): Gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen en fazla pestisit miktarını (ppm) ifade eden değerdir. Codex Alimentarius ve EPA (Environmental Protection Agency) gibi kuruluşların bu değerleri içeren listeleri mevcuttur. Bu miktarlar tarımsal ürünlerin uluslararası pazarlaması bakımından da önemlidir. Tolerans miktarını aşan değerlerde pestisit kalıntısı tespit edilen tarımsal ürünler alıcı ülkeler tarafından geri çevrilmiştir (15).

2.13 Pestisit Analiz Yöntemleri

Pestisitler fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre de gruplandırılabilirler. Pestisitler asidik, bazik ve nötral, uçucu olanlar ve olmayanlar, halojen içerenler, fosforlu, kükürtlü ve azotlu olanlar şeklinde de sınıflandırılabilir. Bu heteroatomlar, pestisitlerin hangi yöntemle analiz edileceklerinin belirlenmesi açısından önem taşır. Bu farklılıklar, tüm pestisitlerin analiz edilebileceği evrensel bir metodun geliştirilmesinde önemli sıkıntılara yol açmaktadır.

Bitki dokusunda veya toprakta absorbe/adsorbe edilen ve dolaşımda olan pestisit kalıntıları 3 farklı formda bulunabilmektedir. Serbest kalıntı şeklinde bulunanlar, ekstraksiyon metotları ile buldukları ortamdaki kolayca ekstrakte edilebilmektedirler. Ancak, bitki veya toprağa geri dönüşsüz bir biçimde bağlananlar bu yöntemlerle buldukları ortamdaki ekstrakte edilememektedirler. Bunlardan farklı olarak, ekstrakte edilebilen fakat bitkinin doğal dokularına birleşip bağlı olan kalıntılar da bulunmaktadır. Bu pestisit kalıntıları bitkilerde lignin, karbonhidrat ve protein kısımlarına, toprakta ise organik maddelere, humik asit, fulvik asit ve humin kısımlarına bağlı kalmaktadır ve pestisit uygulamasından sonra geçen süreye bağlı olarak bağlı kalıntı düzeyi % 10-93 arasında değişmektedir (6).

Ekstrakte edilen pestisit kalıntılarının ayırımı, belirlenmesi ve miktarının saptanması, HPLC, GC gibi cihazlarda oldukça seçici dedektörler kullanılarak yapılmaktadır. Bu konuda en çok tercih edilen GC/ECD sistemi ile pestisit kalıntılarının tanımlanması ve miktarsal analizlerinin yapılması sonra da GC/MS ile doğrulanmasıdır (1).

GC/MS ve LC/MS/MS sistemleri birlikte kullanıldıklarında yüzlerce pestisit analizi yapılmasına imkân tanır. Analitik sonuçları karşılaştırıldığında, her iki sistemde de analizlenebilen pestisitlerin LC/MS/MS analizleri tercih edilmektedir.

Pestisit kalıntı analizlerinde en etkili yaklaşım çoklu kalıntı analizleridir. İlk çoklu kalıntı analiz metodu Mills (1963) tarafından geliştirilmiş ancak aşırı polar pestisitlerin ekstraksiyonunda yetersiz kalmıştır. Luke ve ark. (1978) ile Spech ve Tilkes (1980) tarafından, orta derecede polar pestisitlerin yüksek oranda geri kazanımını sağlayan bir metot yayınlanmıştır ve Luke metodu AOAC resmi metodu olarak yayınlanmıştır (6).

Pestisit analizleri için genel prosedür, gıda ürününün en az üç dakika homojenizasyonu ve aseton veya etil asetat gibi çözücülerle sıvı ekstraksiyonu ile başlar ve bunu saflaştırma ve konsantrasyon işlemleri izler (1).

Yine son dönemde oldukça yaygın olarak kullanılan Quechers metodunun farklı formları Lehotay ve ark. tarafından 2005 ve 2007 yıllarında AOAC metodu olarak yayımlanmıştır.

Quechers metodunda tek tip solvent ile hem polar hem de apolar karakterli pestisitlerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmekte, aynı zamanda ilave bir konsantre etme işlemine ihtiyaç duyulmadan, hem GC/MS hem de LC/MS-MS ile analiz yapılabilmektedir (6).

Etil asetat su ile iyi karışabilme özelliği sebebiyle hem polar hem de apolar pestisitlerin ekstraksiyonu için uygun bir solventtir. Bu özelliği sebebiyle meyve, sebze ve kurutulmuş ürünlerin (sulandırılarak kullanımında) ekstraksiyonunda kullanılabilir, aynı zamanda yağı iyi çözmesi sebebiyle yüksek yağ içeren ürünlerin ekstraksiyonu için de uygun bir solvent olarak bilinir. Etil asetat aynı zamanda GC kolonlarında iyi ıslanabilir bir solvent olduğu için GC analizlerinde tercih edilir ve Asetonitrile göre daha düşük polariteli olması sebebiyle özellikle uçucu pestisitlerin analizi için de oldukça uygun bir solventtir(19).

2.14 Metot Validasyonu

Kantitatif analizlerde laboratuvar tarafından yeni bir metot geliştirildiğinde aşağıdaki validasyon parametreleri uygulanır.

- Seçicilik (Selectivity) / Spesifiklik (Specificity)
- Tespit Limiti (Limit of Detection)
- Ölçüm Limiti (Limit of Quantification)
- Ölçüm Aralığı/Doğrusallık (Range/Linearity)
- Doğruluk
 - Kesinlik (Presicion)
 - Tekrarlanabilirlik (Repeatability)

- Tekrar Üretilirlik (Laboratuvarlar arası) (Reproducibility- Inter Laboratory)
- Gerçeklik (Trueness)
 - Bias
 - Geri kazanım
- Sağlamlık (Robustness/Ruggedness)

2.15 Verifikasyon

Kantitatif analizlerde valide edilmiş ulusal veya uluslararası bir metodun laboratuvarında uygulanabilirliğinin görülmesi amacıyla aşağıdaki parametreler uygulanır.

- Seçicilik (Selectivity) / Spesifiklik (Specificity)
- Tespit Limiti (Limit of Detection)
- Ölçüm Limiti (Limit of Quantification)
- Doğrusallık (Range/Linearity)
- Doğruluk
 - Kesinlik (Presicion)
 - Tekrarlanabilirlik (Repeatability)
 - Tekrar Üretilirlik (Laboratuvarlar arası) (Reproducibility- Inter Laboratory)
 - Gerçeklik (Trueness)
 - Bias
 - Geri kazanım (20)

2.15.1 Tespit Limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ)

Genel olarak; tespit limiti (LOD), metodun laboratuvar koşullarında örnekteki varlığını tespit edebildiği ancak kesin miktarını ölçemediği en düşük analit konsantrasyonu; ölçüm limiti (LOQ) ise miktarsal olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Farklı LOD ve LOQ hesaplama yöntemleri bulunmakla beraber bu çalışmada aşağıdaki hesaplama yöntemi kullanılmıştır(21).

$$LOD=3 \times S_0 + \bar{X}_{k\ddot{o}r}$$

$$LOQ=10 \times S_0 + X_{ort}$$

$\bar{X}_{k\ddot{o}r}$:Kör örnek analizlerinin ortalaması

S_0 : Kör örnek analizlerinin standart sapması

2.15.2 Doğrusallık (Linearite)

Çalışma aralığı, metodun kabul edilebilir bir belirsizlikle verdiği tüm sonuçların aralığıdır. Çalışma aralığının alt sınırı ölçüm limitidir (LOQ), üst sınırı ise analitik hassasiyette önemli farklılıkların gözlemlendiği konsantrasyon seviyesi olarak tanımlanır veya metodun belirttiği konsantrasyon aralıkları (alt ve üst sınırlar) kullanılır. Validasyon/verifikasyon çalışması sırasında metodun bu çalışma aralığında kullanılabilir olduğunun doğrulanması gerekir.

Metot çalışma aralığını belirlemek için örnek körü ve bilinen konsantrasonlarda örnekler, referans materyaller veya kirletilmiş örnekler (metot içerisinde aksi belirtilmemiş ise ISO 11095'e göre en az 3 farklı konsantrasyon seviyesinde veya metodun, mevzuatın gerektirdiği seviyelerde, standart çözelti ile, en az 2 tekrarlı yapılmalıdır.) metodun çalışma yöntemi uygulanarak en az 2 kez cihazda okutulur ve bir kalibrasyon grafiği elde edilir (20). Ancak,

pestisit analizleri için özel olarak yayınlanan uluslararası dökümanda (SANTE dokümanı) validasyon çalışmaları sırasında doğrusallık kontrolü için yapılan çalışmalarda beş konsantrasyonda doğrusallık kontrolü yapılması gerektiği belirtilmektedir (SANTE dokümanı Tablo 5). Uygun bir kalibrasyon fonksiyonu kullanılmalıdır (örneğin; doğrusal, ikinci derece (quadratic), ağırlıklı veya ağırlıksız). Kalibrasyon standartlarının kalibrasyon fonksiyonu kullanılarak hesaplanan konsantrasyonları (x_i , hesaplanan) gerçek konsantrasyonlardan (x_i) $\pm\%20$ 'den fazla sapma göstermemelidir(21).

Cihaz ve Metot çalışma aralıkları değerlendirilirken;

Sonuçlar grafiksel olarak verilir (kalibrasyon grafiği) ve doğrusallığın ilk değerlendirmesi görsel (lineer veya lineer değil vs.) olarak yapılır. Validasyon/verifikasyon çalışması sırasında;

- Konsantrasyon ve cihaz sinyali arasındaki ilişkinin doğrulanması,
- Çalışma aralığının metotta belirtilenle uyumlu olduğunun gösterilmesi,
- Önerilen cihaz kalibrasyon prosedürünün (tek noktalı, çok noktalı vs) doğrulanması gerekir.

Sonraki aşamada regresyon analizi ile kalibrasyon eğrisi değerlendirilir. Konsantrasyon ve cihaz sinyali arasındaki ilişki incelenerek doğrusallık, korelasyon katsayısı (r) ile gösterilir. Yüksek bir korelasyon katsayısı sağlanmalıdır. Örneğin (r) $>0,99$ gibi.

Doğrusal olmadığı yönde şüphe oluşması durumunda daha ileri istatistiksel değerlendirmeler (Mandel's Uygunluk Testi, Rezidüel Analizi vs.) de uygulanabilir.

2.15.3 Seçicilik

Seçicilik, metodun örnekte girişim oluşturabilecek başka bir analit varlığında hedef analiti ayırabilme ve doğru olarak tanımlayabilme kabiliyeti olarak tanımlanabilir. Kromatografik sistemlerde kör matriks örneğinde hedef analite girişim oluşturabilecek bir pik olmamalıdır.

Kromatografi cihazlarının kullanıldığı metotlarda seçicilik sistem uygunluk parametrelerinden teorik tabaka sayısı ve ayırma faktörü ile de değerlendirilebilir. Aynı anda çok sayıda analitin tespit edilebildiği metotlar için ayırma faktörü önemli bir performans parametresidir.

2.15.4 Doğruluk

Doğruluk, bir ölçüm sonucunun referans (gerçek) değere yakınlığını ifade eder. Doğruluğun kesinlik ve gerçeklik olmak üzere iki bileşeni vardır.

2.15.5 Kesinlik

Kesinlik ölçüm sonuçlarının birbirlerine yakınlığının ölçüsüdür ve ölçüm sonuçlarının ortalama değer etrafındaki dağılımını gösterir. Tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik olmak üzere iki bileşeni vardır. Kesinlik standart sapma (SD, s) veya varyasyon katsayısı (Coefficient of variation, CV (RSD)) ile ifade edilir ve rasgele hatalardan etkilenir. İyi çalışma teknikleri ile küçültülebilir; ancak tamamen elimine edilemez.

2.15.5.1 Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik, bir metodun aynı laboratuvarında, aynı cihazla/metotla, aynı uygulama koşulları altında, aynı kişi tarafından kısa zaman (analizin süresi ve analitin yapısına göre değişir) aralığında, aynı veya benzer matrikslerde elde edilen ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Standart sapma (sr), bağıl standart sapma (RSDr) veya % bağıl standart sapma (%RSDr) ile ifade edilir.

Validasyon/Verifikasyon planında belirlenen her bir seviye için en az 6 tekrarlı çalışma yapılarak tekrarlanabilirlik verileri elde edilir. Validasyon planı oluşturulurken hem tekrarlanabilirlik hem de tekrar üretilebilirliği içerecek şekilde oluşturulabilir. Bu amaçla çalışmalar aynı gün veya farklı günlerde paralel bağımsız çalışma olarak yapılabilir(20).

2.15.5.2 Tekrarüretilebilirlik

Laboratuvarlar arası tekrar üretilebilirlik, bir metodun farklı laboratuvarlarda, farklı cihazla, farklı kişi tarafından farklı kimyasallar kullanılarak geniş zaman aralığında, aynı veya benzer matrikslerde elde edilen ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür.

Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik ise, bir metodun aynı laboratuvarlarda aynı/farklı cihazlarla, farklı kişiler tarafından, geniş zaman aralığında, aynı veya eş değer matrikslerde yaptığı ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığının ölçüsüdür. Zamana göre değişen (tekrar üretilebilirliği olmayan) analitler için tekrar üretilebilirlik, tekrarlanabilirlik koşullarının en az bir tanesi değiştirilerek yapılabilir.

2.16 Ölçüm Belirsizliği

Ölçülen miktar ile bağıntılı olarak karşılanabilecek değerler aralığını tanımlar. Dolayısıyla, ölçüm belirsizliği hesaplanarak ölçüm ile birlikte verildiğinde, elde edilen ölçüm değerinin hangi sınırlar içinde yer alacağını ve güven aralığını yansıtır.

Belirsizlik, ölçüm sonucu ile ilişkili olup, ölçülenin değer dağılımını karakterize eden bir parametredir. Parametre; standart sapma veya bir güven aralığı genişliği olabilir.

Ölçüm belirsizliği birçok bileşenden oluşmaktadır. Bu bileşenlerin bazıları, ölçüm sonuçlarının istatistiksel dağılımıyla değerlendirilir ve standart sapma ile karakterize edilir. Standart sapma ile karakterize edilebilecek diğer bileşenler, tecrübe ve diğer bilgilere göre varsayımsal olasılık dağılımları ile değerlendirilir.

Ölçüm belirsizliği bir ölçüm sonucunun geçerliliği hakkında şüphe ifade etmez, aksine belirsizliğin bilinmesi bir ölçüm sonucunun geçerliliğine olan güvenin artmasını sağlar (22).

2.16.1 Belirsizlik Kaynakları

Uygulamada bir sonucun belirsizliği; tamamlanmamış çözümlene, örnekleme, matriks etkileri ve girişimler, çevre koşulları, kütlelerin ve hacimsel aletlerin belirsizlikleri, referans değerler, ölçüm metodu ve prosedüründe yaklaşımlar, varsayımlar ve rastgele değişim gibi birçok olası kaynaktan ortaya çıkabilir.

2.16.2 A Tipi Belirsizlikler

Ölçüm sonuçlarının istatistiksel olarak hesaplanabildiği belirsizliklerdir(22). (validasyon parametrelerinden hesaplanan belirsizlikler)

2.16.3 B Tipi Belirsizlikler

A tipi ölçüm belirsizliği dışında kalan parametrelerden gelen belirsizliklerdir. Daha önceden yapılan ölçümlerden elde edilen veriler, ilgili malzemeler ve kullanılan cihazlar konusundaki deneyim ve daha önce edinilmiş bilgiler, üretici firmadan alınan özellik bilgileri, kalibrasyon sertifikalarından elde edilen veriler, doğrulanmış bir ölçüm cihazının doğruluk sınıfı, el kitaplarından alınan referans verilere ilişkin belirsizlikler bu tip belirsizliklere örnek olarak verilebilir(23).

2.16.4 Belirsizlik Bileşenleri

Toplam belirsizliğin tayin edilebilmesi için, tüm belirsizlik kaynaklarının tek tek değerlendirilmesi ve katkılarının belirlenmesi gerekir. Katkıların her biri, bir belirsizlik bileşeni olarak değerlendirilir. Standart sapma şeklinde ifade edildiğinde, belirsizlik bileşeni “standart belirsizlik” olarak bilinir. Eğer bileşenler arasında korelasyon varsa, o zaman bu hesaba kovaryansın belirlenmesiyle dahil edilmelidir. Bununla birlikte, bazı bileşenlerin birleşik etkisini değerlendirmek de mümkündür (21).

Bir ölçüm sonucu y için, toplam belirsizlik, birleşik standart belirsizlik olarak adlandırılır ve $uc(y)$ ile ifade edilir. Tüm belirsizlik bileşenlerinden elde edilen toplam varyansın pozitif kareköküne eşit olan tahmini bir standart sapmadır ve belirsizlikte yayılma kanunu kullanılarak değerlendirilir.

Analitik kimyada birçok amaç için genişletilmiş belirsizlik U kullanılmaktadır. Genişletilmiş belirsizlik, ölçülenin değerinin daha geniş bir güven aralığında bulunmasını sağlar. Genişletilmiş belirsizlik (U), $uc(y)$ ile kapsam faktörü k 'nın çarpımı ile hesaplanır. k faktörünün seçimi istenilen güven aralığına bağlıdır. %95 güven aralığı için $k=2$ 'dir.

2.16.5 Hata ve Belirsizlik

Hata ve belirsizlik farklı kavramlardır. Hata bireysel bir sonuç ve gerçek değer arasındaki fark olarak tanımlanır ve tek bir değerdir. Prensipten bilinen bir hata değeri sonucu düzeltmek için kullanılabilir.

Diğer yandan belirsizlik, bir dizi şeklinde olur. Eğer bir analitik prosedür için tayin edilmişse ve örnek tipi tanımlanmışsa, tüm tespitler için geçerli olabilir. Genel olarak bir belirsizlik değeri, bir ölçüm sonucunu düzeltmek için kullanılamaz.

Bir ölçüm sonucunun belirsizliği hiçbir zaman kendi hatasını temsil eden veya düzeltme sonrası kalan hata şeklinde yorumlanmamalıdır(21).

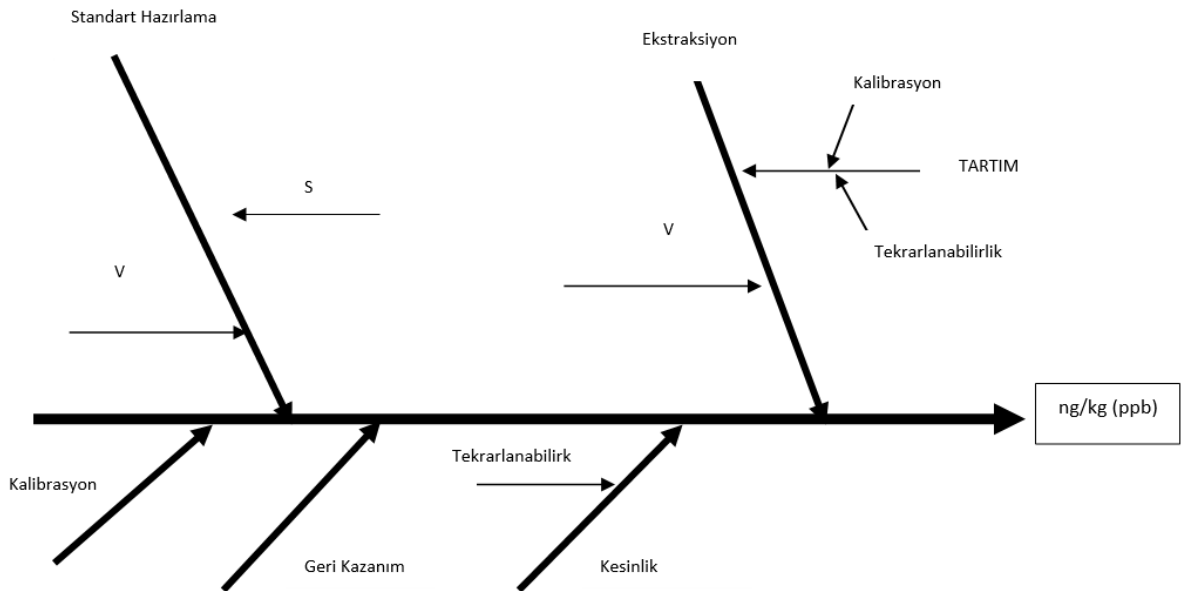
Hata, rastgele ve sistematik olmak üzere iki farklı şekilde ifade edilmektedir. Rastgele hata, ölçülen değeri etkileyen niceliklerin, önceden kestirilemeyen stokastik (kaderci), temporal (hayali olmayan) veya spatial (uzayda) değişimleridir. Rastgele hatalar, tekrarlanan gözlemlerde farklı değerler çıkmasına neden olur. Bir ölçümde rastgele hatayı dengelemek olanaklı değilse de çok sayıda gözlem yapılarak teorik olarak sıfıra bile düşürülebilir.

Sistemik hatalar da rastgele hatalar gibi tamamen yok edilemez fakat onların değeri de çok düşürülebilir. Eğer sistemik hata ölçümü etkileyen niceliğin bilinen bir etkisinden kaynaklanıyorsa bu etki nicelendirilebilir ve bu etkiyi dengelemek için düzeltme veya düzeltme faktörü uygulanır. Bu uygulamadan sonra sistemik etkenlerden kaynaklanan hatanın beklenen değeri sıfırdır(23).

2.16.6 Belirsizlik Kaynaklarının Belirlenmesi

Olası belirsizlik kaynakları listelenir. Bu, birinci basamakta tanımlanan ve belirsizliğe katkıda bulunan kaynakları içerebilir. Diğer kaynakları da içerebilir, ancak kimyasal varsayımlardan doğan kaynakları mutlaka içermelidir.

Hesaplamaya bağlı olarak gelebilecek belirsizlik kaynakları balık kılıçığı diyagramında gösterilir. Bileşenin alt bileşenleri ayrıca belirtilmelidir.



Şekil 10: Belirsizlik bileşenlerinin balık kılıçığı diyagramında gösterimi(21)

2.16.7 Belirsizlik Bileşenlerini Ölçülmesi:

Tanımlanan potansiyel belirsizlik kaynaklarının her birinin belirsizlik boyutu tayin edilir. Bir dizi ayrı kaynakla ilişkili, belirsizliğe katkısı bulunan tek bir kaynağı tanımlamak ve belirlemek çoğunlukla mümkündür. Mevcut veri hesaplarının tüm belirsizlik kaynakları için yeterli olup olmadığı ve tüm belirsizlik kaynaklarının hesaplanması için ek deneyler ve çalışmaların planlanması oldukça önemlidir.

İkinci adım belirtilen kaynakların (örneğin, balonjoje bir ana bileşen, balonjoje için sıcaklık, kalibrasyon, tekrarlanabilirlik alt bileşenleridir) bir grup olarak değerlendirilmesidir.

Bu belirsizlikler veya daha önceki elde edilen tüm veriler kullanılabilir (doğrulama değerleri, kalibrasyon değerleri, validasyon çalışmasından elde edilen tekrarüretilebilirlik, sapma, valide edilmiş metotla karşılaştırma değerleri) .

Tüm bu grupların belirsizlikleri; standart sapmaları, üçgensel, dikdörtgensel dağılım olup olmamasına, analizde kullanım tekrarına, kullanan personelin tekrarlanabilirlik değerlerine göre alt bileşenleriyle bir araya getirilir. Bunların dışında kalan belirsizlik kaynağı olarak görülen tüm kaynaklar eklenir. Grupların standart sapmaları veya belirsizlikleri hesaplanır ve “u” ile ifade edilir(21).

2.16.8 İstatiksel Dağılım Tipleri:

İstatistiksel Dağılım 3 farklı biçimde ifade edilir. Bunlar:

Normal Dağılım: Ölçüm sonucu $\pm a$ %95 olarak verilmişse standart belirsizlik $a\sqrt{2}$ olarak hesaplanır.

Dikdörtgen Dağılım: Sertifika veya ürün spesifikasyonu güvenilirlik yüzdesi olmadan verilmişse (örneğin $25\text{mL} \pm 0,05\text{mL}$) standart belirsizlik $u(x) = a\sqrt{3}$ olarak hesaplanır.

Üçgen Dağılım: Verilen değerlerin uç değerlerde olma olasılığı az ve ortalama değerde olma olasılığı yüksek olduğu belirtilmişse üçgen dağılım kullanılır. Standart belirsizlik $u(x) = a\sqrt{6}$ olarak hesaplanır .

2.16.9 Birleşik Belirsizlik

Birleşik belirsizlik hesabı, belirsizliği oluşturan parametrelerin bir araya getirilmesinden oluşturulur. Üçüncü basamakta elde edilen bilgiler bireysel kaynaklar veya farklı kaynakların kombine etkisi ile ilişkili olup, toplam belirsizlik üzerine bir dizi sayısal katkı oluşturacaktır. Katkılar standart sapma olarak ifade edilmelidir ve uygun kurallar ile birleştirilerek birleşik standart sapma elde edilmelidir. Genişletilmiş belirsizlik değerini elde etmek için uygun kapsam faktörü kullanılmalıdır

Birleşik belirsizliğin hesaplanması için iki yöntemden biri kullanılabilir. Bunlar:

Belirsizlik Kaynaklarının Her Birinin Belirsizlik Değerlerinden Belirsizliği Hesaplama Yöntemi:

Tüm belirsizlik bileşenlerinin tek tek ele alınıp, her bir bileşen belirsizlik değerinin birleştirilmesinden ulaşılan belirsizlik değeridir(21).

Validasyon Çalışma Sonuçlarının Kullanılarak Belirsizliği Hesaplama Yöntemi:

Validasyon çalışması yapılmış metodun tekrarüretilebilirlik, sapma ve bu bileşenlere katılmayan metod performansını etkileyecek bileşenler yardımıyla belirsizlik değerlendirilir. Değerlendirmede kullanılacak parametreler formülleri ve tanımları ile aşağıda belirtilmiştir.

- **Tekrarlanabilirlik:** Aynı laboratuvarında, aynı metod, aynı örnek, aynı cihaz ve aynı analist ile kısa zaman aralığında yapılan ölçüm sonuçlarının birbirlerine olan yakınlığının ölçüsüdür(21).

$$s = \left\{ \frac{\sum_{i=1}^n (x - x_i)^2}{n - 1} \right\}^{\frac{1}{2}}$$

x: Ölçüm sonuçlarının ortalaması, xi: Çalışmanın ölçüm sonucu, n: Yapılan ölçüm sayısıdır.

$$\text{Standart Belirsizlik} = CV_r = \left\{ \frac{\text{Std. Sapma}}{\text{Ortalama}} \right\}$$

- **Tekrarlanabilirlik Limiti** : Tekrarlanabilirlik koşulları altında 2 paralel sonuç arasında çıkabilecek %95 ihtimalle maksimum farkın değeridir.

$$r = 2.83 \times S_r$$

$$S_r = (CV_r \times \text{Konsantrasyon})/100$$

r: Tekrarlanabilirlik limiti ve sr: Tekrarlanabilirlik standart sapmasıdır.

- **Tekrarüretilebilirlik** : Bir zaman periyodu içinde yapılmış, farklı analist, kullanılma ihtimali olan farklı cihazlar ile çalışılmış, analizi etkileyebilecek ve karşılaşılabilecek tüm şartları da içeren sonuçlardır. Çalışma yapılan her seviye göz önüne alınmalıdır. İlk olarak yapılan çalışmalar ile sonuçların standart sapması hesaplanır(21).

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_{ii})^2}{2n}}$$

xi: İlk çalışmanın ölçüm sonucu

xii: İkinci çalışmanın ölçüm sonucu

n: Yapılan ölçüm sayısı

$$\text{Standart Belirsizlik} = \text{CVR} = \left\{ \frac{\text{Std. Sapma}}{\text{Ortalama}} \right\}$$

- **Tekrarüretilebilirlik Limiti** : Tekrarüretilebilirlik koşulları altında 2 sonuç arasında çıkabilecek %95 ihtimalle maksimum farkın değeridir.

$$R = 2.83 \times S_R$$

$$S_R = (\text{CV}_R \times \text{Konsantrasyon})/100$$

R: Tekrarüretilebilirlik limiti ve S_R : Tekrarüretilebilirlik standart sapmasıdır.

- **Sapma**: CRM veya ilgilenilen analitin eklendiği numune üzerinden elde edilen geri kazanım değerlerinden saptanır.

$$\text{Mutlak Hata} = \frac{[\text{Gerçek Değer} - \text{Ortalama Ölçüm Sonucu}]}{\text{Gerçek Değer}} \times 100$$

$$\text{Düzeltilme Faktörü} = \text{Ortalama ölçüm sonucu} / \text{Gerçek değer}$$

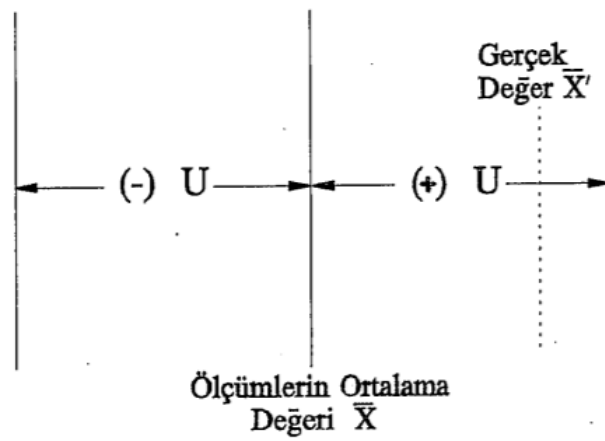
- **Birleşik Belirsizliğin Hesaplanması**

Belirsizlik kaynaklarının her birinin hesaplanan standart belirsizlikleri kullanılarak aşağıdaki formülasyona göre birleşik belirsizlik hesaplaması yapılır. Formülde toplama olarak yer alanların belirsizliklerinin karelerinin toplamı alınır ve karekökü hesaplanır(21).

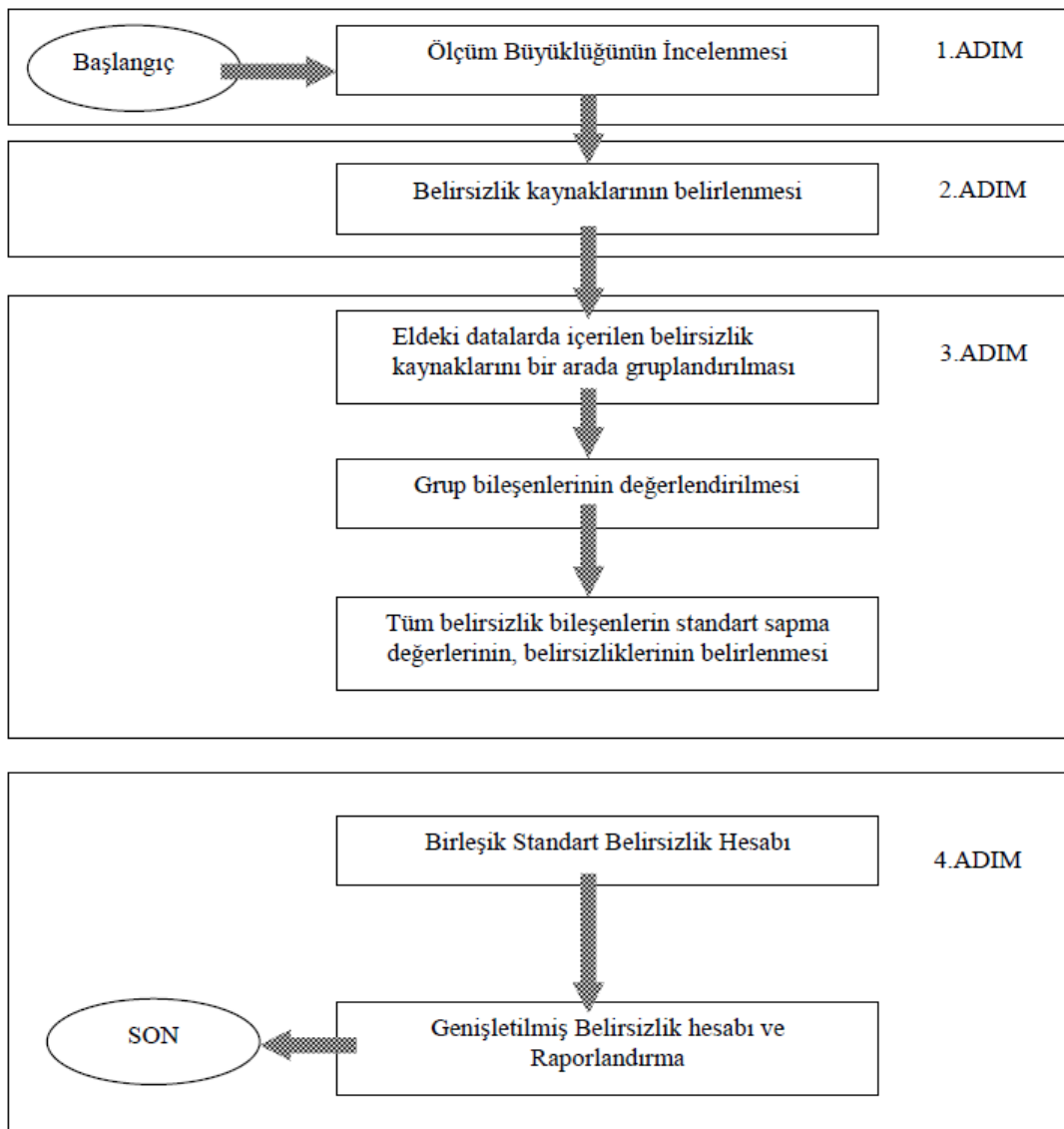
$$u_c = \sqrt{(u_{\text{standart}})^2 + (u_{\text{numune}})^2 + (u_{\text{kesinlik}})^2 + (u_{\text{kalibrasyon}})^2}$$

U: Standart Belirsizlik (u_c) x k(%95 güven aralığı k=2 dir)

U: Genişletilmiş Belirsizlik



Şekil 11: Belirsizliğin Kapsadığı Aralığın Gösterilmesi (23)



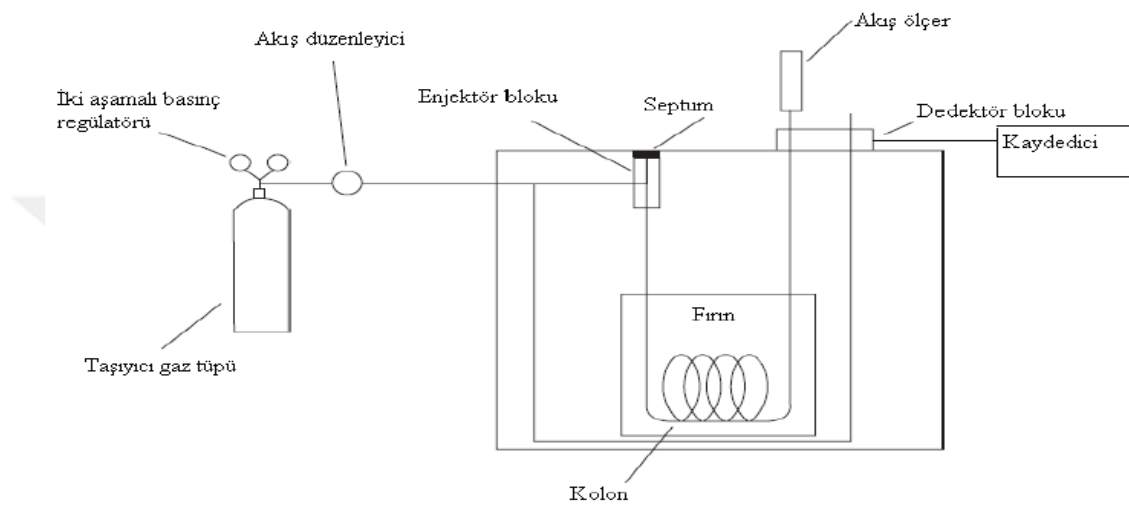
Şekil 12: Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması Aşamaları(21)

2.17 Gaz Kromatografisi

Gaz kromatografisi, hareketli fazın bir gaz olduğu kromatografik metottur. Gaz kromatografisi, analitin gaz haldeki hareketli faz ile bir katının yüzeyine sabitlenmiş durgun sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur. Gaz kromatografisinde (GC), buharlaştırılan numune kromatografik kolonun girişine enjekte edilir ve inert bir hareketli gaz faz ile elüe edilir. Gaz Kromatografisinde diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz faz analitin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi, analiti kolon boyunca taşımaktır. İki tür gaz kromatografi yöntemi vardır: Gaz-katı kromatografi (G-SC), gaz-sıvı kromatografi (G-LC). Gaz-sıvı kromatografi birçok alanda yaygın olarak kullanıldığı için adı genelde kısaltılır ve gaz kromatografi terimi kullanılır.

2.18 Gaz Kromatografi Cihazı ve Bileşenleri

Gaz kromatografi cihazı genel olarak altı kısımdan oluşmaktadır. Bunlar: taşıyıcı gaz sağlayıcı, örnek enjeksiyonunun yapıldığı enjektör sistemi, kromatografik kolon, kolon fırını, dedektör ve bilgisayardan oluşmaktadır. Cihazın kısımları aşağıda açıklanmıştır. Gaz kromatografi cihazının basit bir şeması Şekil 13'te gösterilmiştir.



Şekil 13: Gaz Kromatografi Cihazı Kısımları (7)

2.18.1 Hareketli Faz Taşıyıcı Gaz Kaynağı

Gaz Kromatografi sistemlerinde taşıyıcı gaz seçimi oldukça önemlidir. Taşıyıcı gaz kolonda gerçekleşen ayırma prosesini ve dedektör performansını da büyük ölçüde etkiler. Taşıyıcı gaz analit bileşenlerine ve kolon dolgu maddesine karşı inert olmalıdır. Gaz kromatografi cihazlarında genellikle inert olan helyum, hidrojen ve azot taşıyıcı gaz olarak kullanılmaktadır. Gaz seçimi ise kullanılan detektör tipine göre yapılmaktadır. Taşıyıcı gaz tüpüne basınç ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bağlı olmalıdır. Akış hızı kontrolü, normal olarak gaz silindirine bağlı iki basamaklı basınç regülatörleri ve kromatografik sisteme bağlı akış regülatörleri ile yapılır. Modern ticari kromatografi sistemleri akış hızını istenilen değerlere ayarlayabilen ve kontrol eden elektronik sistemlerle donatılmışlardır.

Taşıyıcı gazdaki hava, su buharı ve eser miktardaki hidrokarbon gazları gibi kirlilikler analizi yapılacak örnek reksiyonunu, kolon dolgu maddesini ve dedektörün performansını olumsuz yönde etkileyebilir. Gazın saflığı kromatografi sisteminin gerekliliklerini sağlayabilecek düzeyde olmalıdır. GC'de % 99.999 saflıkta taşıyıcı gaz kullanmak gerekmektedir.

2.18.2 Durgun Fazlar Kolonlar

Gaz-sıvı kromatografi kolonlarındaki durgun sıvı faz, yüksek kaynama sıcaklığına (kaynama noktası kolon çalışma sıcaklığının en az 100°C üstünde olmalı) sahip olmalıdır, termal olarak kararlı ve inert olmalı, kolonda uygun bir alıkonma zamanına ulaşabilmek için, ayrılacak maddeler durgun faz ile uyumlu olmalıdır. Kromatografik çalışmalarda madde ve sıvı fazın polarlıklarının birbirine yakın olması istenir. Bu durumda alıkonma süresi, maddelerin kaynama noktalarına bağlı olur. Gaz kromatografisinde dolgulu ve kapiler kolonlar olmak üzere iki tür kolon kullanılır. Bugüne kadar çalışmaların büyük bir çoğunluğu dolgulu kolonlar ile gerçekleştirilmiştir. Ancak son zamanlarda dolgulu kolonlar, bazı özel uygulamalar hariç yerlerini daha verimli ve hızlı kapiler kolonlara terk etmişlerdir. Kromatografik kolonların

boyları 2-50 m veya daha büyük olabilir. Kolonlar; paslanmaz çelikten, camdan, erimiş silisten veya teflondan oluşabilir (7).

Günümüzde en sık kullanılanlar kapiler kolonlardır bunlar; duvar-kaplı açık borusal kolon (WCOT) ve destek-kaplı açık boru kolon (SCOT) olmak üzere ikiye ayrılır. Duvar-kaplı kapiler kolonlarda kolon duvarı, sıvı faz ile ince bir film halinde kaplanır. Destek-kaplı kolonlarda kolon duvarı 30 µm kadar kalınlıkta diatome toprağı gibi bir destek maddesiyle kaplanır. Bu kolonlara diğerlerine göre daha fazla sıvı faz konulabildiği için kolon kapasitesi yükselmektedir. SCOT kolonlarının ayırma verimi WCOT'lardan daha düşük olup, dolgu kolonlardan da daha yüksek olduğu bilinmektedir(7).

2.18.3 Enjeksiyon Bloğu

Numune enjeksiyonu analizin ilk basamağını oluşturur. Ayrımın iyi olabilmesi enjeksiyona bağlı olarak değişiklik gösterir. Numune enjeksiyonu kolon verimini etkileyeceğinden, numunenin uygun miktarda ve buhar halinde tek seferde enjekte edilmesi kolon açısından daha iyi olacaktır. Enjeksiyonun yavaş yapılması veya sisteme fazla miktarda numune verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayırma gücüne neden olmaktadır. Sıvı veya gaz numune enjeksiyonunda, en yaygın olarak kullanılan yöntem sızdırmaz enjektörlerdir. Enjeksiyon, silikon lastik bir diyaframdan veya bir septumdan yapılır. Septumun hemen arkasında, kolonun giriş ucunda hızlı buharlaştırıcı bölme bulunur. Enjeksiyonun yapıldığı bu kısım numune içinde bulunan kaynama noktası en büyük maddenin kaynama noktasından 50°C kadar yüksek sıcaklığa kadar ısıtılmalıdır. Kantitatif analizler için enjeksiyon hacmi, 0,1-20 µL arasında değişkenlik göstermektedir(7).

Günümüzde geliştirilmiş enjeksiyon bloğu sayesinde (split/splitless) enjeksiyonlar daha güvenilir bir biçimde yapılabilmektedir. Sıklıkla kullanılmakta olan üç adet numune enjeksiyon

tekniki vardır. Sıvı enjeksiyonu, Gaz enjeksiyonu (Headspace), Katı Faz Mikroekstraksiyonu (SPME) (7).

Tablo 11: Sıvı Enjeksiyon Teknikleri

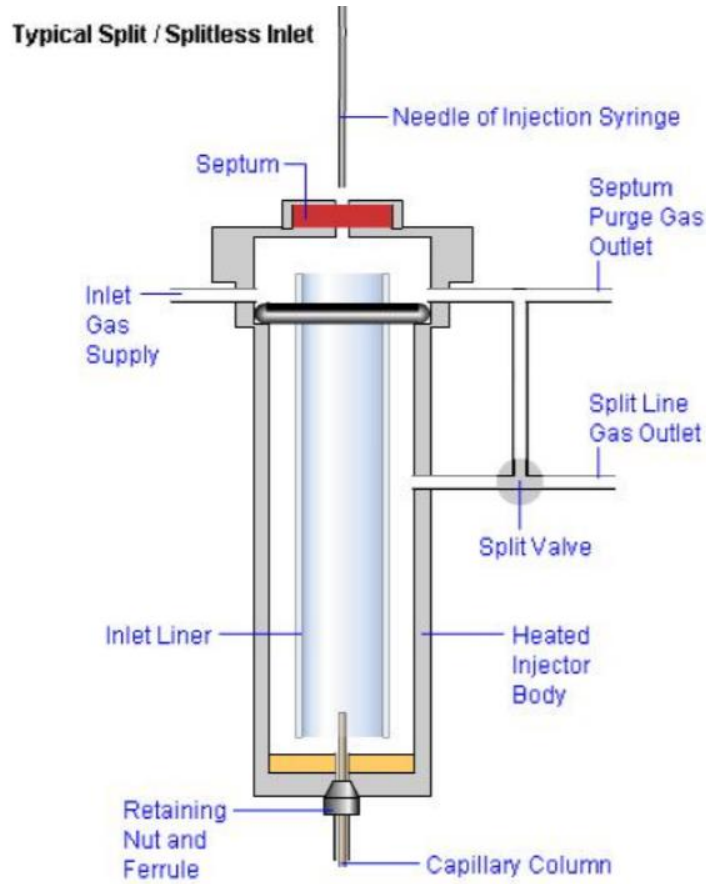
Sıvı Enjeksiyon Teknikleri	
Sıcak Enjeksiyon Teknikleri	Soğuk Enjeksiyon Teknikleri
Split	OCI
Splitless	PTV

2.18.3.1 Split inlet

İki ana problemi çözmek amacıyla dizayn edilmiştir. Bunlardan birincisi; kolon içerisinde oluşabilecek olası aşırı yüklemenin önüne geçmektir. Çözölmeye çalışılan ikinci problem ise örnek enjeksiyonunda kullanılan enjektörlerin, kapiler kolonun içine girmesinin mümkün olmamasından dolayı, örneği kolona aktaracak sisteme ihtiyaç duyulmasıdır. Split inletler, enjekte edilen numunenin sadece belirli bir oranının kolona gitmesine ve bu oranın operatör tarafından belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Numune çözöltisi istenilen oranda kapiler kolona gönderilirken, geri kalan kısmı da enjeksiyon sırasında açık olan bir valf vasıtasıyla dışarı atılmaktadır. Böylelikle uygun miktarda numune kolona gönderilmektedir(7).

2.18.3.2 Splitless inlet

Split inlet ile aynı enstrümantasyona sahip olup, enjekte edilen örnek çözöltinin hemen hemen tamamını kapiler kolona göndererek, yüksek bir duyarlılık sağlamaktadır. Bu özelliği ile eser analizlerde daha çok tercih edilmektedir. Splitless modu, enjeksiyon sırasında fazla numunenin dışarı atılmasını sağlayan valfin kapalı olması dışında, genel olarak split modu ile aynı şekilde çalışır. Valfin kapalı olmasından dolayı, örnek buharları kapiler kolon yolu dışında gidecek bir yol bulamaz ve bu sayede örnek buharının yaklaşık %95'i kolona gönderilmiş olur. Valf açıldığı zaman ise inlet içindeki buhar hızla inletin terk ederek valften dışarı çıkar, bu sayede bir sonraki enjeksiyon için inlet bloğu temizlenmiş olur(7).



[https://www.chromacademy.com/Essential Guide Webcast/Split Splitless Injection/Split Splitless Injection.pdf](https://www.chromacademy.com/Essential%20Guide%20Webcast/Split%20Splitless%20Injection/Split%20Splitless%20Injection.pdf) (16.07.2019)

Şekil 14: Splitt/splitless Inlet

2.18.3.3 On-column inlet

Örnek çözeltisini bir buharlaştırma işlemine tabi tutmadan, doğrudan kapiler kolona göndermek amacıyla tasarlanmıştır. Bu tip inletlerde örnek çözeltisini kolona göndermek için özel enjektörler kullanılmaktadır. On column inletlerde örnek çözelti, buharlaştırmaya tabi tutulmadığı için kolona ulaştığında sıvı fazdadır. Kolon fırınının sıcaklık programı ayarlanarak, sıvı fazdaki örnek çözeltisinin içerdiği bileşenler, buhar basınçlarına göre ayrılarak sırasıyla dedektöre ulaşır. Fakat bu inlet kullanıldığında örnek çözelti bütünüyle sisteme gönderildiğinden, kirli örnekler kolonun ömrü için bir sorun kaynağı oluşturur.

2.18.3.4 PTV inlet

Yukarıda bahsi geçen üç tekniğin bir karışımıdır. Soğuk enjeksiyon yapılabilmesi yönüyle on-column, enjekte edilen örneğin bir buharlaşmaya tabi tutulması yönüyle de split/splitless inlet tipine benzer. On column inlet sisteminin en büyük dezavantajı yukarıda da bahsedildiği gibi örneğin tamamının direkt olarak enjekte edilmesidir. Fakat PTV inletlerde buharlaştırma bloğuna henüz soğukken enjekte edilen örnek, sistemin çok hızlı bir şekilde ısıtılmasıyla (10-20 s içinde 4000C'ye kadar) kolona gönderilir. Bu özellik kullanılarak aynı zamanda, örneğin sisteme enjekte edildikten sonra başlangıçta sadece çözücü moleküllerinin kolona gönderilmesi (uygun bir sıcaklık seçilerek) ve analitlerin sistemde tutunması sağlanabilir. Bu sayede çok yüksek hacimli enjeksiyonlar yapılmasına rağmen, duyarlık muazzam şekilde artırılabilir. Daha sonra sistemin sıcaklığı artırılarak analitler de kolona gönderilmektedir(7).

2.18.4 Kolon Fırını

Hatayı en aza indirmek için, kolon sıcaklığının 0,1°C duyarlıkla kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu nedenle kolonlar, 10-30 cm çapında spiraller haline getirilerek sıcaklığı kontrol edilebilen fırın bölmesine yerleştirilir. Optimum kolon sıcaklığı, numunenin kaynama noktasına ve istenen ayırma verimine bağlıdır. Numunenin ortalama kaynama noktasının biraz üstünde bir sıcaklıktaki kolonda, maddelerin elüsyon zamanı 2-30 dakika arasında değişmektedir. Çok geniş kaynama noktası aralığına sahip numuneler için kademeli bir sıcaklık programı yapılmalıdır. Sıcaklık programı, kromatografik ayırım devam ederken kolon sıcaklığının basamaklar halinde yükseltilmesi veya azaltılması ile yapılmaktadır (7).

2.18.5 Gaz Kromatografisi Dedektörleri

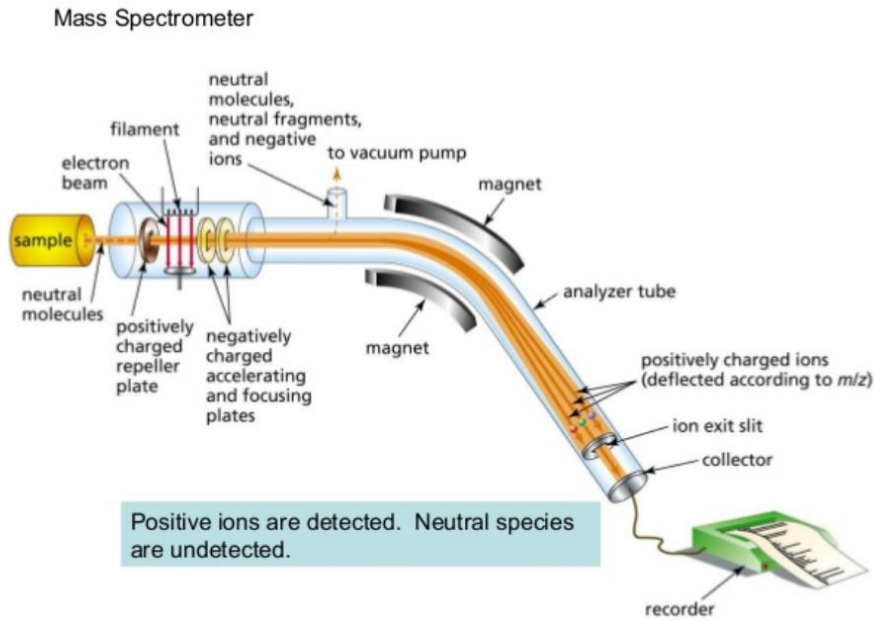
Gaz kromatografisinin gelişimi esnasında birçok dedektör sistemi incelenmiş ve kullanılmıştır. Gaz kromatografisinde kullanılan ideal dedektörler; yeterli duyarlık ve kararlılıkta, iyi bir

tekrarlanabilirliğe sahip, 400°C'a kadar varan sıcaklık aralıklarında çalışabilmeli, güvenilir ve kullanım kolaylığına sahip olmalı, az hata vermeli, belirli sınıf maddelere karşı seçici cevap verme özelliği iyi olmalı, numuneyi parçalamamalıdır. GC'de kullanılan dedektörler: elektron yakalama dedektörü (ECD), alev iyonlaştırma dedektörü (FID), termal iletkenlik dedektörü (TCD), Azot-Fosfor dedektörü (NPD), alev fotometrik dedektör (FPD), foto iyonlaştırma dedektörü (PID). 1970'li yıllarda özellikle gaz kromatografide kullanılmak üzere farklı kütle spektrometreleri üretilmiştir. Gaz kromatografi tekniği genellikle ikili yöntemler adı verilen seçici spektroskopik ve elektrokimyasal tekniklerle bağlantılı olarak, kompleks karışımların analizinde kullanılmaktadır.

2.18.6 Kütle Spektrometresi

1905'de Thomson kararlı izotopların bulunduğunu göstermek için yapmış olduğu deneyde farklı pozitif iyonların kütle/yük (m/z) oranlarının farklılık gösterdiğini ispatlamıştır. Kütle Spektrometresi, analit kütlesinin parçalanması esasına dayanan bir dedektördür. Kütle spektrometreleri manyetik veya elektriksel bir alanda hareket eden yüklü parçacıkları kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayırmaktadır. Böylelikle yüklü parçacıkların ayırt edilip, bunlar üzerinden kantitatif sonuçlar elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Bir kütle spektrumu analitin kimyasal yapısı hakkında önemli bilgiler verir. Kütle spektrometresi tüm analitik yöntemler içerisinde en çok uygulama alanı bulan yöntem olmuştur. Kütle spektrometresi inorganik, organik ve kimyasal moleküllerin yapılarının, maddelerin elementel bileşimlerinin belirlenmesinde, karmaşık (kimyasal, biyolojik, tıbbi vb.) karışımların kalitatif ve kantitatif analizlerinde ve bir numunedeki atomların izotopik oranlarının bulunmasında oldukça yaygın kullanılan bir yöntemdir.

Kütle spektrometresi numune enjeksiyon sistemi, iyon kaynağı, kütle analizörü, dedektör, sinyal işleyici ve bilgisayar ana kısımlarından oluşur (7).



[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Map%3A_Organic_Chemistry_\(Bruice\)/13%3A_Mass_Spectrometry%2C_Infrared_Spectroscopy%2C_and_Ultraviolet%2FVisible_Spectroscopy/13.03%3A_Isotopes_in_Mass_Spectrometry_\(16.07.2019\)](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Map%3A_Organic_Chemistry_(Bruice)/13%3A_Mass_Spectrometry%2C_Infrared_Spectroscopy%2C_and_Ultraviolet%2FVisible_Spectroscopy/13.03%3A_Isotopes_in_Mass_Spectrometry_(16.07.2019))

Şekil 15: Kütle Spektrometresi Kısımları

2.18.6.1 Yüksek vakum sistemi

Kütle spektrometresi çalışmalarında sistemin vakum altına tutulması gerekmektedir. Vakum; iki kademeli vakum sistemiyle sağlanır: birincisi bir rotary pompadır; bu kaba veya ön pompadır ve 10^{-2} - 10^{-4} torr vakum sağlar. İkinci pompa ise bir turbomoleküler/difüzyon difüzyon pompasıdır. Bu pompalar sayesinde vakum 10^{-5} torr değere ulaşabilmektedir. Ancak yüksek vakum altında iyonlar, iyon kaynağından dedektöre doğru hareket etme imkânı bulurlar. Turbomoleküler pompada bir dizi bıçak veya kanat bulunur; bunlar 30.000- 90.000 rpm hızla dönerken etraftaki gaz moleküllerini aşağı ve dışarı atmaktadır. İyi bir turbo pompa birkaç saat içinde yüksek vakum ortamı sağlayabilir.

2.18.6.2 İyon kaynağı

Moleküllerin iyonlaştığı bölümdür. Bir molekül, atom veya iyondan bir elektron uzaklaşması işlemine iyonizasyon denir. İyonlaştırma teknikleri; maddenin fiziksel durumuna(gaz, sıvı ve katı) ve maddenin ısıl kararlılığına bağlı olarak değişmektedir. İyonlaştırma kaynakları; gaz faz iyon kaynakları ve desorpsiyon iyon kaynakları olmak üzere iki grupta incelemek mümkündür (7).

Tablo 12: Kütle Dedektörlerinde kullanılan İyon Kaynakları ve İyonlaştırıcılar(7)

Temel tip	İyon kaynağı	İyonlaştırıcı
Gaz fazı	Elektron impact (EI) Kimyasal iyonlaştırma (CI) Alan iyonlaştırma (FI)	Enerjik elektronlar Reaktif gaz iyonları Yüksek potansiyelli elektrot
Desorpsiyon	Elektrosprey iyonlaştırma (ESI) Alan desorpsiyonu (FD) Matriks yardımcı desorpsiyon iyonlaştırma (MALDI) Plazma desorpsiyonu (PD) Hızlı atom bombardımanı (FAB) İkincil iyon kütle spektrometri (SIMS) Termosprey iyonlaştırma (TS)	Yüksek elektrik akımı Yüksek potansiyelli elektrot Lazer demeti Cl'nin fasyon ürünleri Enerjik atom demeti Enerjik iyon demeti Yüksek sıcaklık

2.19 GC-MS-MS Cihazı Çalışma Prensibi

Gaz kromatografi ve kütle spektrofotometresi sistemlerinin bir araya getirilmesi ile oluşturulan GC-MS/MS, nicel ve nitel analizler için başvurulan en hassas cihazlardan biridir. İyon Kaynağı; moleküllerin iyonlaşması ve parçalanmasının gerçekleştiği bölümdür. Enjeksiyon bloğuna gelen numune gaz halinde kolondan MS/MS kısmına geçer. Gaz fazındaki örnek, filamentlerde ile elektron bombardımanına uğratılır. Yüksek enerjili elektronlardan birinin moleküle çarpmasıyla molekülden bir elektron kopar ve oldukça kararsız iyonlar meydana gelir. Birinci quadropolde iyonlar (Q1) m/z (kütle/yük) oranına göre ayrılır. Analizi yapılacak iyon quadropolden geçer, diğer iyonlar kalır. Örneğin karakteristik ana iyonu böylelikle seçilmiş ve tanımlanmış olur. Filtreden geçen iyon, CID, çarpışma hücresi denilen ikinci quadropolde (Q2)

yüksek saflıkta argon ya da azot gazı ile ikinci parçalanmaya uğrar. Q2, radyofrekanslı bir çarpışma odacığı olup, seçilen ana iyondan parçalanmış bir dizi farklı kütleli iyonlar elde edilmesini sağlar. Ayrılmış olan iyon ikinci MS analizörüne gönderilir. Üçüncü quadropole (Q3) sadece ikinci iyonları filtreler. Herhangi bir RF/DC potansiyel ayarında sadece belirli kütle/yük oranına sahip iyonlar, sabit salınım yaparak dedektöre ulaşır sinyal halinde bilgisayara aktarılır (7).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Kimyasallar

- Potasyum Hidrojen Fosfat, Merck
- Di Sodyum Hidrojen Fosfat, Merck
- Bütirik Asit, Aldrich
- Etil Asetat, Baker Resi-Analyzed
- Superclean ENVI-Carb 120/400 (GCB), Supelco
- Susuz Sodyum Sülfat, Merck
- Bondesil-PSA 40 µm, Varian
- Toluen, Lab-Scan Pestiscan,
- Ethylene Glikol, Merck
- Asetik Asit, Merck
- Dietatil Etil, Chem Service (Internal Std)
- Bromopropylate, Dr. Ehrenstorfer
- Endosulfan, Dr. Ehrenstorfer
- Cypermethrin, Dr. Ehrenstorfer
- Chlorpyrifos, Dr. Ehrenstorfer
- Deltamethrin, Dr. Ehrenstorfer

3.2 Çözeltiler

- **0.1% Asetik Asit:** 1 mL 100% asetik asit alınır 1L'ye milli-Q-water ile tamamlanır ve karıştırılır.
- **%10'luk Etilen Glikol:** 10 mL etilen glikol 100 mL'lik balon jöjeye alınır. Metanol ile tamamlanıp karıştırılır.

- **Fosfat Tamponu (4 mol/l, pH: 7):** 432 g disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) ve 220g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) 600 mL ultra saf suda çözülür. 1 litreye tamamlanır ve karıştırılır.
- **Vat Çözeltisi:** 10 şişe (herbiri 2.5 litre) etil asetat stok tankına boşaltılır. 440 µL diethatyl-ethyl çözeltisi ve 500 µl butirik asit stok tankına eklenir. Kalan 10 şişe (herbiri 2.5 litre) etil asetatta stok çözeltisine eklenir. Ağzı sıkıca kapatılır ve ekstraksiyon sıvısı kullanım öncesi 16 saat dinlenmeye bırakılır.

3.3 Kullanılan Meyve-Sebze Örnekleri

Bu çalışmada kullanılan domates ve limon örnekleri organik tarım üreticilerinden temin edilmiş olup, hiç bir pestisit kalıntısı içermemektedir. Çalışmalar için üreticilerden alınan domates ve limon örneklerinden 2'şer kg homojenize edildikten sonra porsiyonlanarak kullanılmıştır.

3.4 Kullanılan Laboratuvar Gereçleri

Hassas Terazi, Sartorius ED2245

Vial, cam, 2 mL'lik vidalı kapaklı

Ekstraksiyon tüpü 250 mL

Dispanser, Vitlab, 1-50 mL

Erlenmeyer, 100 mL cam kapaklı

Eppendorf tüpü

Gaz kromatografi cihazı, Thermo TSQ Quantum, full otomatik enjeksiyon sistemi, PTV veya split/splitless enjektör ve çift kütle dedektörü GC-MS/MS, Thermo, TSQ Quantum

Meyve-sebze öğütücü

Micropipet, Brand, 10 μ L, 100 μ L, 200 μ L ve 1000 μ L

Vakum pompası, Edwards

Turrax, IKA, Yellow Line DI 25 Basic

Vortex, IKA, Yellow Line TTS 2

Santrifüj, Nüve, NF 1200

Santrifüj, Nüve, NF48

3.5 Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

Stok standartlar etil asetat içerisinde hazırlanır. Standart çözeltileri hazırlanırken internal standart kullanılmaz (internal standard ekstraksiyon sıvısı içerisine konulur) matriks bazlı kalibrasyon için domates ve limon ekstraktları kullanılmıştır. Stok standart karışım çözeltisinin matriks ekstraktı ile seyreltilme oranı %10'dan fazla olmamalıdır. 5,10,20,50,100,200 ng/mL seviyelerinde kalibrasyon standartları matriks ekstraktı kullanılarak hazırlanmıştır. Chlorpyrifos için ise ilk seviye 1 ng/mL olarak hazırlanmıştır(19).

3.6 Örneklerin Hazırlanması

2'şer kg limon ve domates örneği öğütülerek tamamen homojen hale getirildikten sonra, 25 ± 0.25 g örnek tartılıp, 2 ml pH 7 fosfat tamponu (4 mol/L) eklendikten sonra pestisit standart karışımından eklenir ve bunun üzerine de 40 ml ekstraksiyon sıvısı VAT10V ve 25 g Na_2SO_4 eklenir, karışım 1 dakika özütlenir (her örnek ekstraksiyonundan sonra turrax sırasıyla su, etil asetat ve su ile temizlenir) ve 1 dakika 1000 devir/dak hızla santrifüj edilir. 200 μ L toluene ve 25mg GCB+25mg PSA üzerine 800 μ L örnek eppendorf tüpüne eklenerek vortekslenir daha sonra 1 dakika 10000 devir/dak hızla santrifüj edilir. Örnek ekstraktı santrifüj işleminin ardından bir mikropipet yardımıyla amber vialle alınır. Domates ve limon örneklerinin farklı

konsantrasyonlardaki LOD/LOQ, tekrarlanabilirlik ve tekrarüretilebilirlik çalışmaları için fosfat tampon eklendikten sonra her seviye için farklı miktarda pestisit standart karışımı eklenerek ekstraksiyon işlemine devam edilmiştir (19).

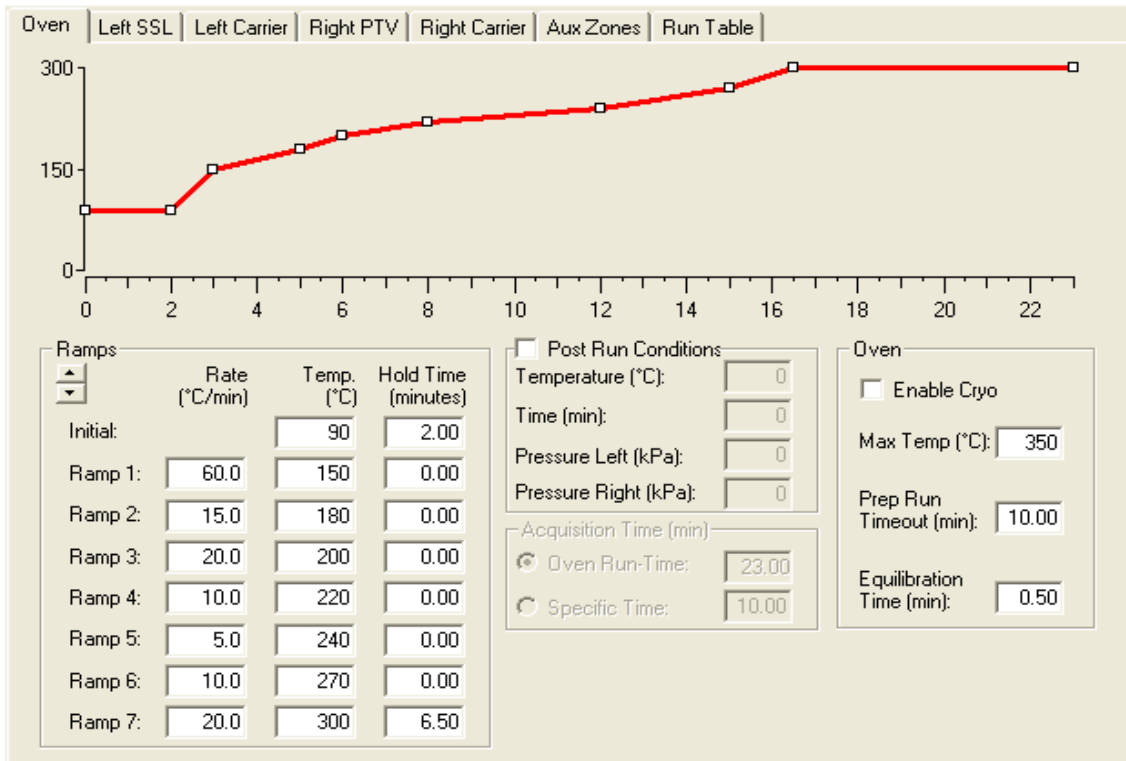
Çalışmada geri kazanım uygulamaları 3 farklı seviye üzerinden gerçekleştirilmiştir. 20'şer g örnek üzerine cihazda 5, 10 ve 100 ng/mL görülecek şekilde spike yapılmıştır. Chlorpyrifos için ilk konsantrasyon diğerlerinden farklı olarak 1 ng/mL olacak şekilde spike yapılmıştır.

3.7 GC-MS-MS Cihaz Koşulları

Ekstraksiyon işleminin ardından vialden alınan örnek ekstraktları PTV enjeksiyon yöntemi kullanılarak GC-MS/MS cihazında analiz edilir. Cihaz parametreleri aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Injection Phases	Pressure (kPa)	Rate (°C/sec)	Temp. (°C)	Time (min)	Flow (ml/min)
Injection:	70			0.67	100
Evap.:	140	14.5	200	1.00	
Transfer:	210	10.0	300	21.00	
Cleaning:		14.5	350	12.00	50

Şekil 16: PTV parametreleri



Şekil 17: GC-MS-MS fırın parametreleri

Tablo 13: GC-MS-MS kolon, inlet, sıcaklık, enjeksiyon hacmi ve gaz akışı parametreleri

GC Ayarları

Injector	PTV with glass liner
Injection Volume	20 µL
Injection Rate	5 µL/s
Injection Temperature	50 °C
Vent Flow	100 mL/min
PTV Injection Time	0.67 minutes
Splitless Transfer Temperature	10 °C/s to 300 °C
Splitless Time	0.5 minutes
Carrier Gas	Helium, constant flow approx. 1.5 mL/min
Analytical Column	30 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm HP-5MS

Tablo 14: MS-MS Parametreleri**MS/MS Ayarları**

Interface Temperature	260°C
Source Temperature	250°C
Ionisation Mode	Electron Impact (EI)
Acquisition	SRM, 13 Segment, 23 min
Scan Time and Delay	0.3 and 0.1 s
Solvent Delay	Approx. 5.6 minutes
Detector Voltage	450 V

Scan Editor | EI/CI | Method Summary

Calibration Correction Method

Run Settings
 MS Acquire Time (min): 23.00 Segments: 13 Current Segment: 1

To display a chromatogram here, use Quantum/Open Raw File...

0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22

Segment 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 Segment 13

Retention Time (min)

Segment 1 Settings
 Segment Time (min): 7.05 Tune Method: C:\xcalibur\methods\autotune.TSQTune
 Scan Events: 1 Chrom Filter Peak Width (s): 3.0 Collision Gas Pressure (mTorr): 1.5
 Current Scan Event: 1 Scan Event 1

Scan Event 1
 Scan Type: SRM
 Same value for all SRMs
 Scan Width (m/z): 0.010
 Scan Time (s): 0.008
 Coll. Energy (V): 10
 Peak Width
 Q1 (FWHM): 0.70

	Parent Mass	Product Mass	Collision
1	124.000	89.000	10
2	127.000	95.000	15
3	127.000	109.000	15
4	147.000	103.000	8
5	147.000	104.000	8
6	151.000	80.000	10
7	151.000	122.000	10
8	154.000	115.000	25
9	154.000	128.000	25
10	161.000	90.000	25
11	161.000	99.000	25
12	170.000	115.000	25
13	170.000	141.000	25

Polarity:
 Positive Negative

Data Type:
 Centroid Profile

Micro Scans: 1

Copy ScanEvent Paste ScanEvent

Help Tune

Şekil 18: MS-MS İyon ve tarama parametreleri

Tablo 15: Çalışmada kullanılan pestisitlerin MS-MS parametreleri

Pestisit	Segment	Ana Kütle	1.Parçalanma İyonu	2.Parçalanma İyonu	Parçalama Enerjisi (eV)
Bromopropylate	10	341	182.8	184.6	25
Chlorpyrifos	5	314	258	286	10
Cypermethrin-1	13	181	151.5	126.3	25
Cypermethrin-2	13	181	151	137	15
Cypermethrin-3	13	181	151.9	165.2	20
Cypermethrin-4	13	181	152	165.2	20
Deltamethrin	13	181	151.9	126.8	25
Endosulfan-Alpha	7,8	195	125	158	25
Endosulfan-Beta	9	195	158.6	124.9	15
Endosulfan-Sulfate	9	272	236.8	234.9	15

4. BULGULAR

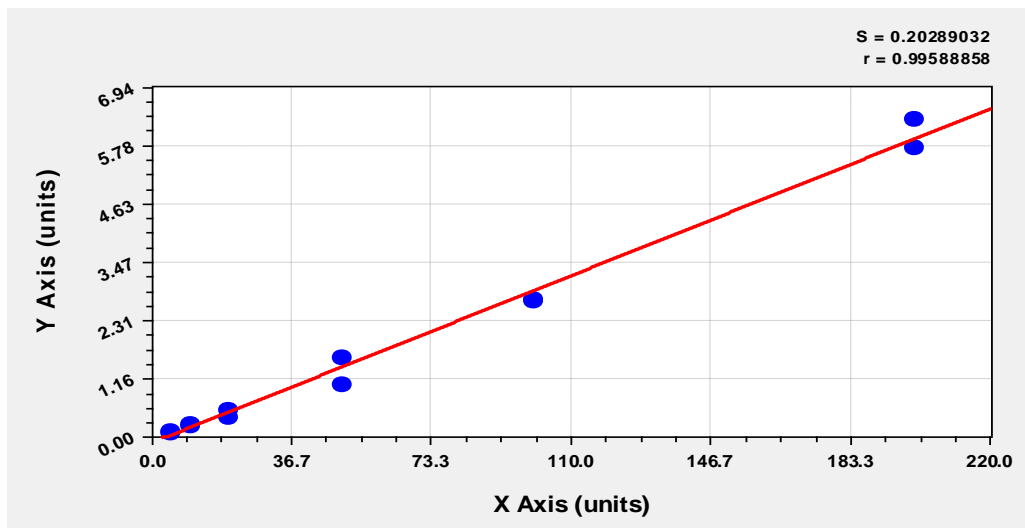
4.1 Doğrusallık ve Lineer Ölçüm Aralığı Çalışmaları

5, 10, 20, 50, 100 ve 200 ng/mL (ppb) konsantrasyonlarında yapılan çalışmalar sonucu elde edilen veriler aşağıdaki gibidir. Pestisitler için oluşturulan grafiklerde regresyon sabiti en az 0.99 u sağlamaktadır.

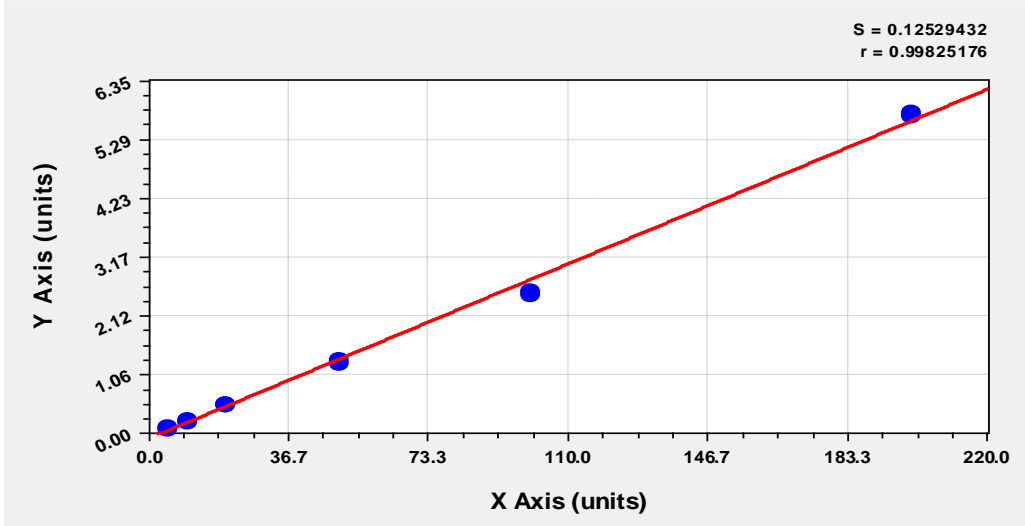
Tablo 16: Pestisit etken maddelerine ait kalibrasyon verileri

Analit	Alan/ISTD												Eğri Denklemi
	5	5	10	10	20	20	50	50	100	100	200	200	
Bromopropylate	0,14	0,11	0,27	0,23	0,42	0,54	1,59	1,04	2,71	2,75	6,31	5,74	$y=-0,102+0,030x$
Chlorpyrifos	0,12	0,09	0,25	0,21	0,53	0,53	1,33	1,26	2,51	2,54	5,73	5,77	$y=-0,086+0,029x$
Cypermethrin-1	0,05	0,04	0,1	0,08	0,2	0,19	0,56	0,65	1,34	1,14	2,57	2,35	$y=-0,023+0,012x$
Cypermethrin-2	0,04	0,05	0,09	0,11	0,14	0,13	0,42	0,39	0,81	0,82	1,84	1,62	$y=-0,013+0,09x$
Cypermethrin-3	0,05	0,05	0,1	0,1	0,18	0,19	0,39	0,37	0,78	0,78	1,46	1,59	$y=0,018+0,008x$
Cypermethrin-4	0,02	0,03	0,05	0,06	0,12	0,13	0,22	0,25	0,44	0,52	1,08	1,17	$y=-0,013+0,006x$
Deltamethrin	0,1	0,11	0,19	0,22	0,44	0,43	1,05	0,99	2,13	2,15	4,46	4,27	$y=-0,020+0,022x$
Endosulfan-Alpha	0,06	0,05	0,12	0,11	0,25	0,24	0,67	0,56	1,33	1,21	2,31	2,57	$y=0,002+0,012x$
Endosulfan-Beta	0,01	0,01	0,02	0,02	0,05	0,04	0,14	0,12	0,26	0,22	0,52	0,47	$y=-0,001+0,002x$
Endosulfan-Sulfate	0,43	0,41	0,86	0,82	1,53	1,68	4,85	3,76	8,38	8,5	17,44	16,37	$y=0,005+0,085x$

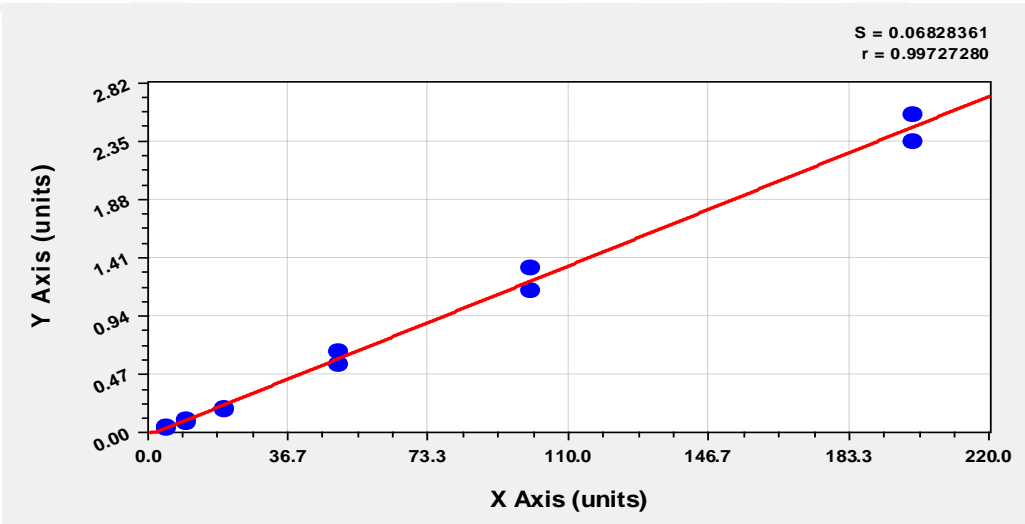
Kalibrasyon Eğrilerine ait veriler



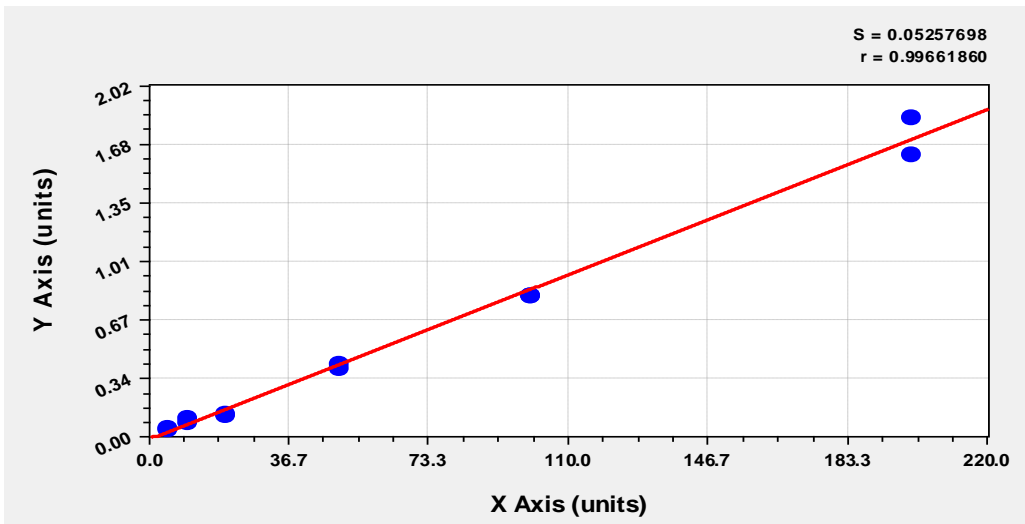
Şekil 19: Bromopropylate Kalibrasyon Eğrisi



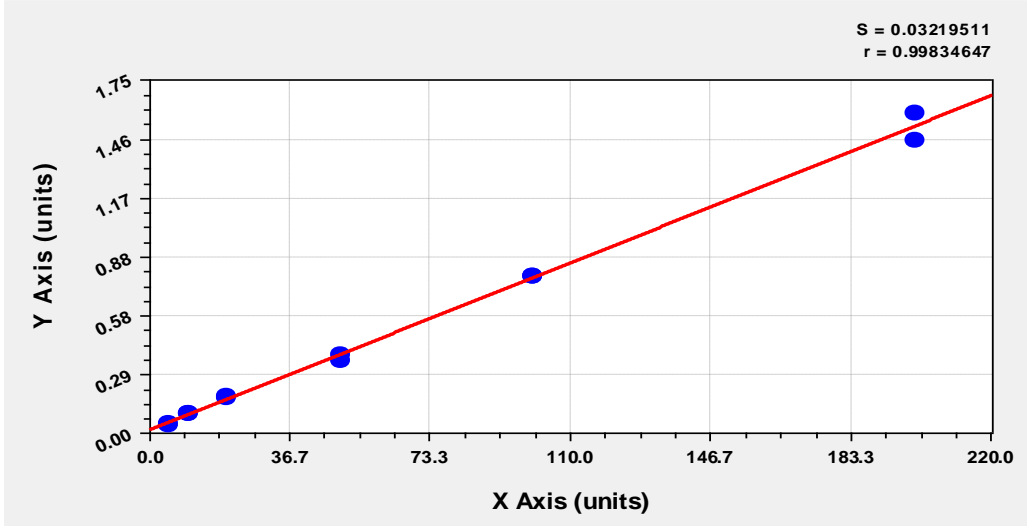
Şekil 20: Chlorpyrifos Kalibrasyon Eğrisi



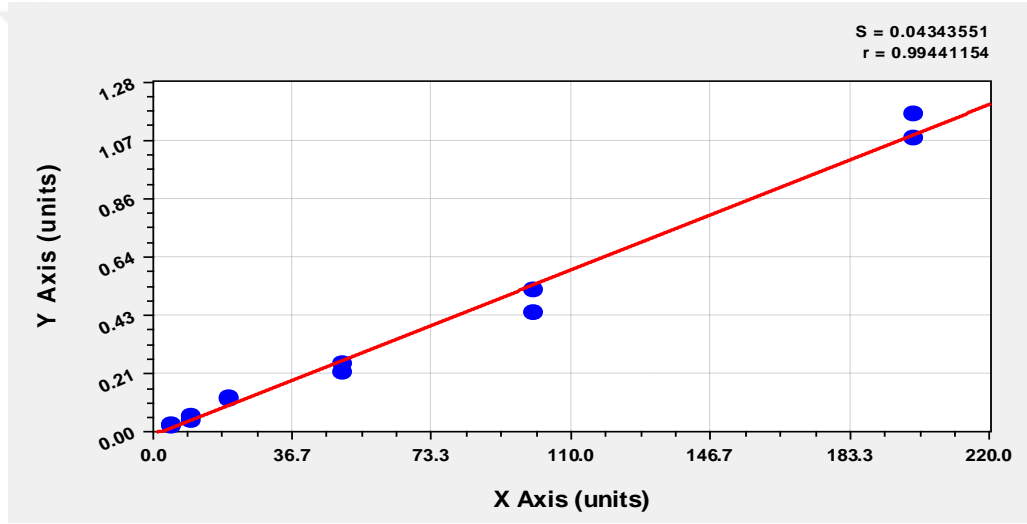
Şekil 21: Cypermethrin-I Kalibrasyon Eğrisi



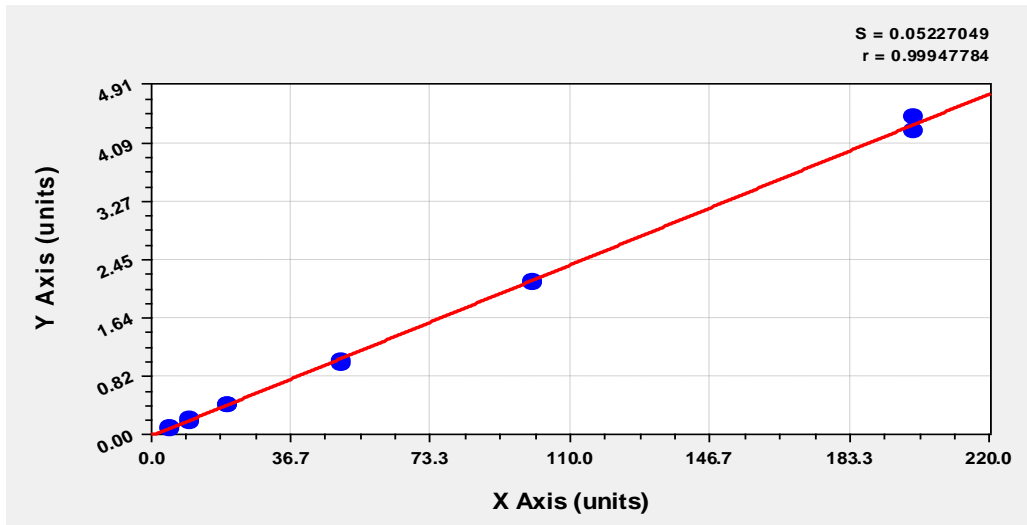
Şekil 22: Cypermethrin-II Kalibrasyon Eğrisi



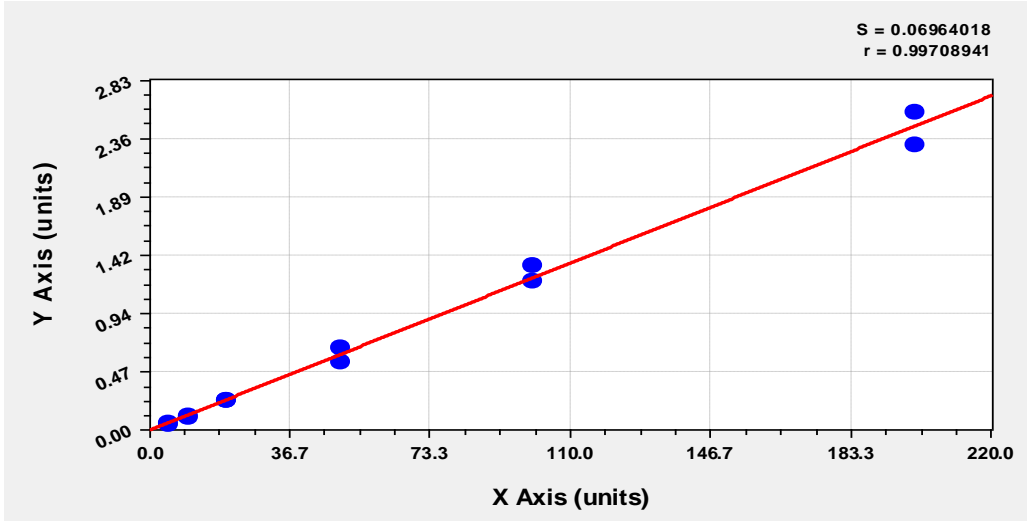
Şekil 23: Cypermethrin-III Kalibrasyon Eğrisi



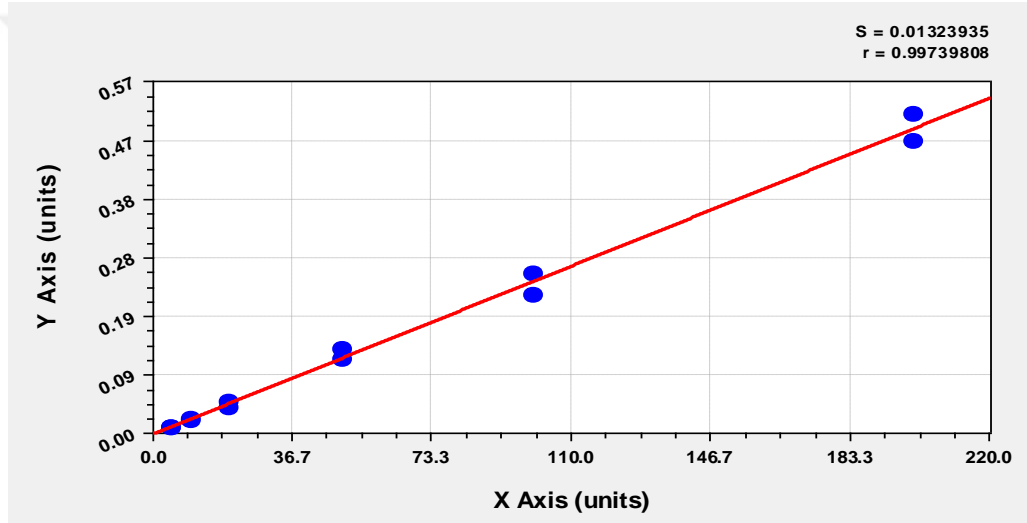
Şekil 24: Cypermethrin-IV Kalibrasyon Eğrisi



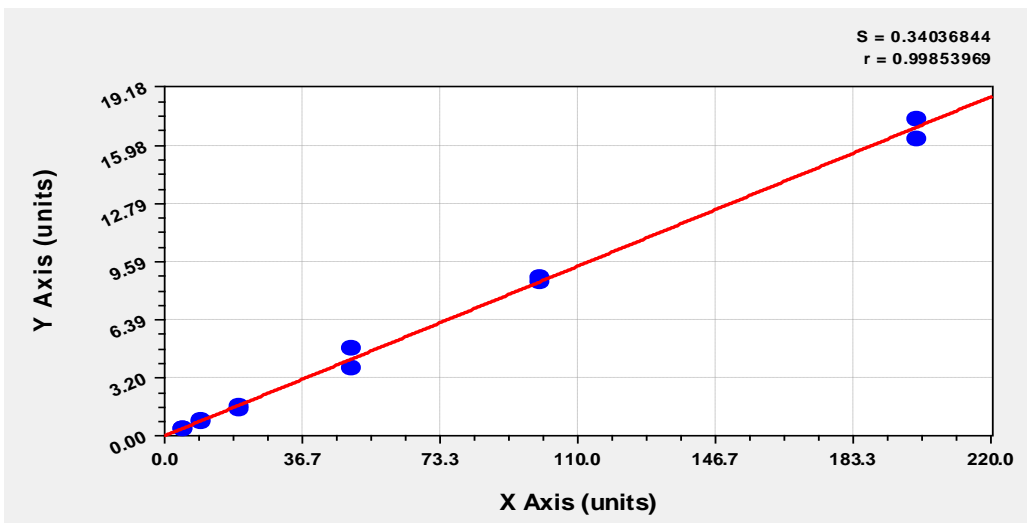
Şekil 25: Deltamethrin Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 26: Endosulphan Alpha Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 27: Endosulphan Beta Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 28: Endosulphan Sulphate Kalibrasyon Eğrisi

4.2 LOD-LOQ Çalışmaları

LOD-LOQ çalışmaları 5 ng/mL seviyesinde spike yapılmıştır. Chlorpyrifos etken maddesi için MRL değeri düşük olduğundan ihtiyacı karşılayabilmek için 1 ppb seviyesinde spike yapılmış olup, bu çalışmalar için 0,5-1-2-5-10 ppb seviyelerinden oluşan farklı bir kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. LOD-LOQ değerleri aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 17: Domateste yapılan LOD-LOQ çalışması sonuçları

Analit	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ort	SD	LOD	LOQ
Bromopropylate	5,95	5,7	5,27	5,66	5,16	5,91	5,66	5,5	5,47	5,03	5,53	0,31	6,45	8,59
Chlorpyrifos	0,79	0,92	1,02	1,04	1,10	1,11	1,13	1,25	1,26	1,28	1,09	0,16	1,56	2,65
Cypermethrin-1	4,51	3,99	3,67	3,92	3,99	4,06	4,51	4,57	4,44	4,31	4,2	0,31	5,12	7,28
Cypermethrin-2	4,93	5,01	5,08	4,45	4,21	5,28	4,48	4,62	4,14	5,24	4,75	0,42	6,00	8,94
Cypermethrin-3	3,68	4,13	4,01	3,65	3,98	3,95	3,92	3,87	4,36	4,23	3,98	0,22	4,64	6,19
Cypermethrin-4	4,22	5,08	4,37	4,02	4,47	4,88	5,01	4,75	4,68	5,11	4,66	0,38	5,79	8,43
Deltamethrin	5,22	5,36	5,44	4,46	4,93	4,71	5,54	5,29	5,26	5,02	5,12	0,34	6,14	8,51
Endosulfan-Alpha	4,18	4,62	4,4	4,51	4,07	4,55	4,25	4,29	4,51	4,63	4,4	0,2	4,99	6,36
Endosulfan-Beta	4,49	4,5	4,71	4,74	4,59	4,99	4,19	4,74	4,49	4,51	4,59	0,21	5,24	6,74
Endosulfan-Sulfate	3,76	3,92	4,12	3,94	3,95	3,60	4,37	3,93	3,69	3,95	3,92	0,22	4,57	6,10

Tablo 18: Limonda yapılan LOD-LOQ çalışması sonuçları

Analit	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ort	SD	LOD	LOQ
Bromopropylate	5,18	5,3	5,15	5,17	4,89	4,74	4,95	4,87	5,16	5,06	5,05	0,18	5,58	7,35
Chlorpyrifos	0,89	1,18	1,05	1,13	0,95	1,14	1,05	1,17	1,2	0,85	1,06	0,13	1,44	2,69
Cypermethrin-1	5,21	5,02	5,25	4,94	5,1	4,62	5,11	5,25	5,16	4,99	5,07	0,19	5,64	7,54
Cypermethrin-2	5,26	4,52	5,36	4,88	5,5	4,77	4,76	5,34	5,41	5,12	5,09	0,34	6,1	9,47
Cypermethrin-3	4,96	5,36	5,51	5,28	4,84	4,61	5,43	4,98	4,58	5,28	5,08	0,34	6,09	9,46
Cypermethrin-4	5,02	5,29	4,67	4,71	5,03	4,56	5,1	5,43	4,75	4,43	4,9	0,32	5,87	9,11
Deltamethrin	4,93	4,77	4,94	4,45	4,32	4,15	4,31	4,52	4,32	4,81	4,55	0,29	5,42	8,30
Endosulfan-alpha	5,58	5,22	5,48	5,29	5,39	5,47	5,17	5,49	5,3	5,22	5,36	0,14	5,78	7,20
Endosulfan-beta	4,72	4,73	4,94	4,72	4,99	5,31	4,67	5,48	4,97	5,02	4,95	0,27	5,76	8,45
Endosulfan-sulfate	5,1	5,39	5,16	5,17	5,14	5,12	5,08	5,48	4,97	4,87	5,15	0,18	5,68	7,47

4.3 Kesinlik

4.3.1 Tekrarlanabilirlik Çalışmaları

Tekrarlanabilirlik çalışmaları için 2 analist tarafından, aynı gün içerisinde temiz domates ve limon örneklerinde 10 ve 100 ppb seviyelerinde 10'ar çalışma yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar ve % RSD değerleri aşağıdaki tablolarda da verilmiştir.

Tablo 19: Domates 10 ppb tekrarlanabilirlik çalışmaları

10 ppb	1. Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları								
Analit	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	Ort.	SD	%RSD
Bromopropylate	11,9	11,41	10,55	11,33	10,33	10,72	11,82	11,32	10,99	10,94	10,05	11,94	11,11	0,62	5,58
Chlorpyrifos	10,71	10,99	9,72	8,78	10,11	10,38	9,87	9,9	10,71	10,42	10,21	9,82	10,14	0,59	5,78
Cypermethrin-1	9,01	7,97	7,34	7,84	7,99	7,82	8,11	9,01	9,13	8,87	8,62	8,48	8,35	0,58	6,98
Cypermethrin-2	9,86	10,02	10,17	8,9	8,42	8,99	10,57	8,97	9,24	8,28	10,49	7,85	9,31	0,9	9,66
Cypermethrin-3	7,36	8,26	8,02	7,31	7,95	7,26	7,89	7,85	7,74	8,71	8,46	8,56	7,95	0,49	6,12
Cypermethrin-4	8,45	10,17	8,74	8,05	8,95	9,84	9,75	10,03	9,5	9,36	10,23	8,9	9,33	0,71	7,63
Deltamethrin	10,44	10,73	10,87	8,93	9,86	9,35	9,42	11,07	10,57	10,52	10,03	9,25	10,09	0,72	7,1
Endosulfan Alpha	8,36	9,25	8,79	9,03	8,14	9,24	9,1	8,5	8,57	9,03	9,26	9,95	8,93	0,49	5,53
Endosulfan Beta	8,98	9	9,43	9,47	9,17	9,81	9,97	8,37	9,48	8,98	9,03	9,03	9,23	0,43	4,68
Endosulfan Sulfate	7,51	7,84	8,23	7,87	7,89	8,67	7,2	8,74	7,87	7,37	7,89	7,48	7,88	0,48	6,07

Tablo 20: Domates 100 ppb tekrarlanabilirlik çalışmaları

100 ppb	1. Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları								
Analit	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	Ort.	SD	%RSD
Bromopropylate	104,8	104,9	104,7	106,8	106,1	104	97,52	106,3	104,5	104	103,1	102,9	104,1	2,41	2,31
Chlorpyrifos	105,8	108,8	106,7	104,5	104	106,2	104,4	107,4	102,9	104,9	103,4	104,2	105,3	1,74	1,66
Cypermethrin-1	111,2	106,3	106,6	108,4	111,8	110,3	101,9	103,5	104,2	102,4	108,4	104,8	106,6	3,38	3,17
Cypermethrin-2	105,1	107,4	106,6	106,6	110,8	108,4	104,6	107	109,1	97,39	104,7	106,5	106,2	3,32	3,12
Cypermethrin-3	103,5	108,7	110,7	106,7	112,6	107,4	99,84	105,4	105,5	97,13	107,1	106,3	105,9	4,26	4,02
Cypermethrin-4	113,3	110,3	108,5	103,4	110,9	109,9	101	101,8	106,4	102,6	107,1	101,2	106,4	4,26	4,01
Deltamethrin	86,99	86,13	88,43	88,31	86,18	85,87	85,52	86,86	83,71	87,24	88,9	86,84	86,75	1,43	1,65
Endosulfan Alpha	84,34	79,91	82,76	80,57	83,3	83,1	83,16	85,18	85,5	84,8	79,45	82,17	82,85	2,01	2,43
Endosulfan Beta	90,98	96,67	92,41	91,8	95,92	91,89	96,32	98,07	91,51	91,54	92,37	93,89	93,61	2,46	2,63
Endosulfan Sulfate	105,1	107,3	108,1	104,8	112,4	109,4	108,7	105	104	100,9	106,1	107,5	106,6	2,97	2,79

Tablo 21: Limon 10 ppb tekrarlanabilirlik çalışmaları

10 ppb	1.Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları								
Analit	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	Ort.	SD	%RSD
Bromopropylate	10,36	10,6	10,29	10,34	9,78	10,27	9,47	9,9	9,75	10,33	10,12	9,89	10,09	0,33	3,28
Chlorpyrifos	9,57	9,33	9,83	10,08	10,23	9,81	10,13	9,66	10,77	9,79	9,58	9,82	9,88	0,38	3,82
Cypermethrin-1	10,41	10,04	10,51	9,89	10,2	10,49	9,23	10,23	10,5	10,33	9,99	9,78	10,13	0,38	3,71
Cypermethrin-2	10,51	9,04	10,73	9,77	11,01	10,71	9,54	8,52	10,68	10,83	10,24	10,05	10,13	0,78	7,69
Cypermethrin-3	9,91	10,72	11,03	10,56	9,69	11,01	9,22	10,85	9,96	9,15	10,55	10,26	10,24	0,66	6,4
Cypermethrin-4	10,03	10,57	9,34	9,42	10,05	9,32	9,12	10,2	10,86	9,5	8,86	10,03	9,78	0,61	6,21
Deltamethrin	9,86	9,55	9,88	8,9	8,64	9,86	8,31	8,63	9,04	8,63	9,63	9,82	9,23	0,59	6,44
Endosulfan Alpha	11,17	10,44	10,96	10,58	10,78	10,94	10,94	10,34	10,97	10,59	10,44	10,39	10,71	0,28	2,63
Endosulfan Beta	9,43	9,45	9,88	9,43	9,98	9,86	10,61	9,33	10,96	9,93	10,04	10,27	9,93	0,5	5,02
Endosulfan Sulfate	10,2	10,79	10,33	10,33	10,27	10,31	10,25	10,16	10,96	9,93	9,74	10,12	10,28	0,33	3,19

Tablo 22: Limon 100 ppb tekrarlanabilirlik çalışmaları

100 ppb	1.Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları								
Analit	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	Ort.	SD	%RSD
Bromopropylate	106,2	106,7	101,8	105,2	106,3	106,2	108,6	108,6	109,7	106,6	110,9	108,5	107,1	2,35	2,2
Chlorpyrifos	100,1	101,7	95,76	99,11	97,82	100,1	102,8	100,8	100,7	98,19	99,56	102,7	99,94	2,04	2,04
Cypermethrin-1	106,8	103,5	103	100,4	106,7	106,8	107,2	109,1	97,11	102,8	101,3	107,1	104,3	3,54	3,39
Cypermethrin-2	97,98	99,85	98,7	102,7	103,2	97,96	96,63	96,73	98,81	101,1	101,3	96,53	99,29	2,33	2,35
Cypermethrin-3	101,7	91,37	96,57	100,8	98,55	101,7	97,52	100,7	90,26	98,25	99,29	97,42	97,85	3,71	3,79
Cypermethrin-4	97,35	101,7	102,8	95,32	97,49	97,33	105,5	101,8	99,97	94,11	99,12	105,4	99,82	3,69	3,7
Deltamethrin	102,9	104,1	96,66	97,31	101,2	102,9	101,7	100,1	96,28	98,85	101,7	101,6	100,4	2,61	2,6
Endosulfan Alpha	105,6	104,6	99,9	101,5	95,24	105,6	104	105,4	99	96,39	96,99	103,9	101,5	3,86	3,8
Endosulfan Beta	104,7	104,9	98,88	103,1	89,4	104,6	104,7	102,8	102,1	100,1	104	104,6	102	4,42	4,33
Endosulfan Sulfate	104,9	97,76	99,44	105,1	107,1	104,8	108,8	102,9	112,4	99,25	97,43	108,7	104	4,8	4,62

4.3.2 Tekrarüretilebilirlik Çalışmaları

Tekrarüretilebilirlik çalışmaları için temiz domates ve limon örneklerinde 6 farklı günde, iki ayrı analist tarafından 10 ve 100 ppb seviyelerinde çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar ve % RSD değerleri aşağıdaki tablolarda da verilmiştir.

Tablo 23: Domates 10 ppb tekrarüretilebilirlik çalışmaları

10 ppb	1. Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları								
Analit	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	Ort.	SD	%RSD
Bromopropylate	11,67	11,18	10,32	11,1	10,1	10,48	11,59	11,09	10,76	10,71	9,82	9,9	10,73	0,62	5,78
Chlorpyrifos	10,48	10,76	9,49	8,55	9,88	10,12	9,64	9,67	10,48	10,19	9,98	10,11	9,95	0,58	5,82
Cypermethrin-1	8,78	7,74	7,11	7,61	7,76	7,84	7,88	8,78	8,9	8,64	8,39	8,42	8,16	0,57	7
Cypermethrin-2	9,63	9,79	9,94	8,67	8,19	8,97	10,34	8,74	9,01	8,05	10,26	9,78	9,28	0,78	8,4
Cypermethrin-3	7,13	8,03	7,79	7,08	7,72	7,46	7,66	7,62	7,51	8,48	8,23	8,16	7,74	0,43	5,53
Cypermethrin-4	8,22	9,94	8,51	7,82	8,72	8,91	9,52	9,8	9,27	9,13	10	9,89	9,14	0,72	7,92
Deltamethrin	10,21	10,5	10,64	8,7	9,63	9,28	9,19	10,84	10,34	10,29	9,8	9,96	9,95	0,65	6,52
Endosulfan Alpha	8,13	9,02	8,56	8,8	7,91	8,93	8,87	8,27	8,34	8,8	9,03	9,36	8,67	0,43	4,95
Endosulfan Beta	8,75	8,77	9,2	9,24	8,94	8,87	9,74	8,14	9,25	8,75	8,8	8,97	8,95	0,39	4,34
Endosulfan Sulfate	7,28	7,61	8	7,64	7,66	7,86	6,97	8,51	7,64	7,14	7,66	7,82	7,65	0,4	5,29

Tablo 24: Domates 100 ppb tekrarüretilebilirlik çalışmaları

100 ppb	1. Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları								
Analit	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	Ort.	SD	%RSD
Bromopropylate	104,8	104,8	104,7	106,8	106,1	107,0	97,5	106,3	104,5	104,0	103,1	102,8	104,4	2,5	2,44
Chlorpyrifos	105,8	108,8	106,6	104,5	104,0	105,7	104,4	107,4	102,8	104,9	103,4	105,3	105,3	1,7	1,61
Cypermethrin-1	111,2	106,3	106,5	108,3	111,8	112,3	101,9	103,5	104,2	102,4	108,4	106,6	106,9	3,6	3,35
Cypermethrin-2	105,0	107,4	106,5	106,6	110,8	109,3	104,5	107,0	109,1	97,4	104,7	102,0	105,9	3,6	3,39
Cypermethrin-3	103,4	108,7	110,6	106,6	112,6	111,5	99,8	105,4	105,5	97,1	107,1	105,4	106,1	4,6	4,29
Cypermethrin-4	113,3	110,3	108,4	103,4	110,9	109,5	101,0	101,8	106,4	102,6	107,0	106,2	106,7	3,9	3,67
Deltamethrin	87,0	86,1	88,4	88,3	86,2	85,9	85,5	86,9	83,7	87,2	88,9	86,8	86,8	1,4	1,65
Endosulfan Alpha	84,3	79,9	82,7	80,5	83,3	85,7	83,1	85,2	85,5	84,8	79,4	82,0	83,0	2,2	2,63
Endosulfan Beta	91,0	96,7	92,4	91,8	95,9	96,1	96,3	98,0	91,5	91,5	92,3	94,6	94,0	2,5	2,66
Endosulfan Sulfate	105,1	107,3	108,0	104,8	112,4	109,2	108,7	105,0	104,0	100,9	106,0	104,5	106,3	3,0	2,82

Tablo 25: Limon 10 ppb tekrarüretilebilirlik çalışmaları

10 ppb	1. Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları								
Analit	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	Ort.	SD	%RSD
Bromopropylate	11,67	11,18	10,32	11,10	10,10	10,48	11,59	11,09	10,76	10,71	9,82	9,90	10,73	0,62	5,78
Chlorpyrifos	10,48	10,76	9,49	8,55	9,88	10,12	9,64	9,67	10,48	10,19	9,98	10,11	9,95	0,58	5,82
Cypermethrin-1	8,78	7,74	7,11	7,61	7,76	7,84	7,88	8,78	8,90	8,64	8,39	8,42	8,16	0,57	7,00
Cypermethrin-2	9,63	9,79	9,94	8,67	8,19	8,97	10,34	8,74	9,01	8,05	10,26	9,78	9,28	0,78	8,40
Cypermethrin-3	7,13	8,03	7,79	7,08	7,72	7,46	7,66	7,62	7,51	8,48	8,23	8,16	7,74	0,43	5,53
Cypermethrin-4	8,22	9,94	8,51	7,82	8,72	8,91	9,52	9,80	9,27	9,13	10,00	9,89	9,14	0,72	7,92
Deltamethrin	9,90	9,57	9,88	8,92	8,66	9,90	8,33	8,65	9,06	8,65	9,65	9,82	9,25	0,59	6,42
Endosulfan Alpha	8,13	9,02	8,56	8,80	7,91	8,93	8,87	8,27	8,34	8,80	9,03	9,36	8,67	0,43	4,95
Endosulfan Beta	8,75	8,77	9,20	9,24	8,94	8,87	9,74	8,14	9,25	8,75	8,80	8,97	8,95	0,39	4,34
Endosulfan Sulfate	7,28	7,61	8,00	7,64	7,66	7,86	6,97	8,51	7,64	7,14	7,66	7,82	7,65	0,40	5,29

Tablo 26: Limon 100 ppb tekrarüretilebilirlik çalışmaları

100 ppb	1. Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları								
Analit	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	Ort.	S D	%RSD
Bromopropylate	106,1	97,5	106,3	104,5	104,0	103,1	104,8	104,9	104,7	106,8	106,1	104,0	104,4	2,4	2,33
Chlorpyrifos	83,2	89,3	85,4	82,6	81,1	89,4	89,0	84,5	88,3	82,7	83,2	83,0	85,2	3,0	3,55
Cypermethrin-1	111,8	101,9	103,5	104,2	102,4	108,4	111,2	106,3	106,6	108,4	111,8	110,3	107,2	3,6	3,38
Cypermethrin-2	110,8	104,6	107,0	109,1	97,4	104,7	105,1	107,4	106,6	106,6	110,8	108,4	106,6	3,6	3,36
Cypermethrin-3	112,6	99,8	105,4	105,5	97,1	107,1	103,5	108,7	110,7	106,7	112,6	107,4	106,4	4,7	4,39
Cypermethrin-4	110,9	101,0	101,8	106,4	102,6	107,1	113,3	110,3	108,5	103,4	110,9	109,9	107,2	4,1	3,84
Deltamethrin	86,2	85,5	86,9	83,7	87,2	88,9	87,0	86,1	88,4	88,3	86,2	85,9	86,7	1,4	1,66
Endosulfan Alpha	83,3	83,2	85,2	85,5	84,8	79,5	84,3	79,9	82,8	80,6	83,3	83,1	83,0	2,0	2,42
Endosulfan Beta	95,9	96,3	98,1	91,5	91,5	92,4	91,0	96,7	92,4	91,8	95,9	91,9	93,8	2,6	2,72
Endosulfan Sulfate	112,4	108,7	105,0	104,0	100,9	106,1	105,1	107,3	108,1	104,8	112,4	109,4	107,0	3,4	3,19

4.3.3 Geri Kazanım Çalışmaları

Geri kazanım hesaplamaları 2 analist tarafından, aynı gün içerisinde temiz domates ve limon örneklerinde 10 ve 100 ppb seviyelerinde yapılan 10 tekrarlı çalışma (tekrarlanabilirlik çalışmaları) üzerinden yapılmıştır. Hesaplanan geri kazanım oranları aşağıda verilmiştir. Elde edilen geri kazanım oranları SANTE dökümanında verilen %70-120 aralığına uygundur.

Tablo 27: Domates 10 ppb geri kazanım çalışmaları

10 ppb	1.Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları							
Analit	1.GK	2.GK	3.GK	4.GK	5.GK	6.GK	1.GK	2.GK	3.GK	4.GK	5.GK	6.GK	Ort.	%GK
Bromopropylate	11,90	11,41	10,55	11,33	10,33	10,72	11,82	11,32	10,99	10,94	10,05	11,94	11,1	111
Chlorpyrifos	10,71	10,99	9,72	8,78	10,11	10,38	9,87	9,9	10,71	10,42	10,21	9,82	10,1	101
Cypermethrin-1	9,01	7,97	7,34	7,84	7,99	7,82	8,11	9,01	9,13	8,87	8,62	8,48	8,4	84
Cypermethrin-2	9,86	10,02	10,17	8,90	8,42	8,99	10,57	8,97	9,24	8,28	10,49	7,85	9,3	93
Cypermethrin-3	7,36	8,26	8,02	7,31	7,95	7,26	7,89	7,85	7,74	8,71	8,46	8,56	8,0	80
Cypermethrin-4	8,45	10,17	8,74	8,05	8,95	9,84	9,75	10,03	9,50	9,36	10,23	8,90	9,3	93
Deltamethrin	10,44	10,73	10,87	8,93	9,86	9,35	9,42	11,07	10,57	10,52	10,03	9,25	10,1	101
Endosulfan Alpha	8,36	9,25	8,79	9,03	8,14	9,24	9,10	8,50	8,57	9,03	9,26	9,95	8,9	89
Endosulfan Beta	8,98	9,00	9,43	9,47	9,17	9,81	9,97	8,37	9,48	8,98	9,03	9,03	9,2	92
Endosulfan Sulfate	7,51	7,84	8,23	7,87	7,89	8,67	7,20	8,74	7,87	7,37	7,89	7,48	7,9	79

Tablo 28: Domates 100 ppb geri kazanım çalışmaları

100 ppb	1.Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları							
Analit	1.GK	2.GK	3.GK	4.GK	5.GK	6.GK	1.GK	2.GK	3.GK	4.GK	5.GK	6.GK	Ort.	%GK
Bromopropylate	104,8	104,9	104,7	106,8	106,1	104	97,5	106,3	104,5	104	103,1	102,9	104	104
Chlorpyrifos	105,8	108,8	106,7	104,5	104	106,2	104,4	107,4	102,9	104,9	103,4	104,2	105	105
Cypermethrin-1	111,2	106,3	106,6	108,4	111,8	110,3	101,9	103,5	104,2	102,4	108,4	104,8	107	107
Cypermethrin-2	105,1	107,4	106,6	106,6	110,8	108,4	104,6	107	109,1	97,4	104,7	106,5	106	106
Cypermethrin-3	103,5	108,7	110,7	106,7	112,6	107,4	99,8	105,4	105,5	97,1	107,1	106,3	106	106
Cypermethrin-4	113,3	110,3	108,5	103,4	110,9	109,9	101	101,8	106,4	102,6	107,1	101,2	106	106
Deltamethrin	87,0	86,1	88,4	88,3	86,2	85,9	85,5	86,9	83,7	87,2	88,9	86,8	87	87
Endosulfan Alpha	84,3	79,9	82,7	80,57	83,3	83,1	83,2	85,2	85,5	84,8	79,5	82,2	83	83
Endosulfan Beta	91,0	96,7	92,4	91,8	95,9	91,9	96,3	98,1	91,5	91,5	92,4	93,9	94	94
Endosulfan Sulfate	105,1	107,3	108,1	104,8	112,4	109,4	108,7	105	104	100,9	106,1	107,5	107	107

Tablo 29: Limon 10 ppb geri kazanım çalışmaları

10 ppb	1.Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları							
Analit	1.GK	2.GK	3.GK	4.GK	5.GK	6.GK	1.GK	2.GK	3.GK	4.GK	5.GK	6.GK	Ort.	%GK
Bromopropylate	10,36	10,60	10,29	10,34	9,78	10,27	9,47	9,90	9,75	10,33	10,12	9,89	10,09	100,92
Chlorpyrifos	9,57	9,33	9,83	10,08	10,23	9,81	10,13	9,66	10,77	9,79	9,58	9,82	9,88	98,82
Cypermethrin-1	10,41	10,04	10,51	9,89	10,20	10,49	9,23	10,23	10,50	10,33	9,99	9,78	10,13	101,33
Cypermethrin-2	10,51	9,04	10,73	9,77	11,01	10,71	9,54	8,52	10,68	10,83	10,24	10,05	10,13	101,34
Cypermethrin-3	9,91	10,72	11,03	10,56	9,69	11,01	9,22	10,85	9,96	9,15	10,55	10,26	10,24	102,42
Cypermethrin-4	10,03	10,57	9,34	9,42	10,05	9,32	9,12	10,20	10,86	9,50	8,86	10,03	9,78	97,76
Deltamethrin	9,86	9,55	9,88	8,90	8,64	9,86	8,31	8,63	9,04	8,63	9,63	9,82	9,23	92,28
Endosulfan Alpha	11,17	10,44	10,96	10,58	10,78	10,94	10,94	10,34	10,97	10,59	10,44	10,39	10,71	107,12
Endosulfan Beta	9,43	9,45	9,88	9,43	9,98	9,86	10,61	9,33	10,96	9,93	10,04	10,27	9,93	99,32
Endosulfan Sulfate	10,20	10,79	10,33	10,33	10,27	10,31	10,25	10,16	10,96	9,93	9,74	10,12	10,28	102,82

Tablo 30: Limon 100 ppb geri kazanım çalışmaları

100 ppb	1. Analist Çalışmaları						2. Analist Çalışmaları							
Analit	1.GK	2.GK	3.GK	4.GK	5.GK	6.GK	1.GK	2.GK	3.GK	4.GK	5.GK	6.GK	Ort.	%GK
Bromopropylate	106,23	106,72	101,83	105,20	106,32	106,21	108,59	108,57	109,65	106,57	110,85	108,49	107,10	107,10
Chlorpyrifos	100,13	101,74	95,76	99,11	97,82	100,11	102,76	100,76	100,66	98,19	99,56	102,66	99,94	99,94
Cypermethrin-1	106,81	103,46	103,01	100,38	106,73	106,79	107,20	109,05	97,11	102,83	101,29	107,10	104,31	104,31
Cypermethrin-2	97,98	99,85	98,70	102,71	103,20	97,96	96,63	96,73	98,81	101,11	101,26	96,53	99,29	99,29
Cypermethrin-3	101,74	91,37	96,57	100,84	98,55	101,72	97,52	100,68	90,26	98,25	99,29	97,42	97,85	97,85
Cypermethrin-4	97,35	101,71	102,83	95,32	97,49	97,33	105,47	101,79	99,97	94,11	99,12	105,37	99,82	99,82
Deltamethrin	102,94	104,11	96,66	97,31	101,17	102,92	101,66	100,12	96,28	98,85	101,69	101,56	100,44	100,44
Endosulfan Alpha	105,57	104,58	99,90	101,53	95,24	105,55	103,95	105,40	99,00	96,39	96,99	103,85	101,50	101,50
Endosulfan Beta	104,65	104,90	98,88	103,10	89,40	104,63	104,74	102,82	102,06	100,12	104,03	104,64	102,00	102,00
Endosulfan Sulfate	104,86	97,76	99,44	105,09	107,10	104,84	108,77	102,91	112,39	99,25	97,43	108,67	104,04	104,04

4.4 Ölçüm Belirsizliği Hesaplamaları

Tablo 31: Standart hazırlamadan gelen belirsizliğin hesaplanması

Standart Hazırlama

Bileşen	Değer	Standart Bel	Rel. Std. Bel ²
100 ml balon joje	100	0,1514	0,000
Tartım(mg)	25000	0,0063	0,000
Standartın saflığı	1	0,2500	0,063
		Toplam Bel.	0,250

Tablo 32: Numune Hazırlamadan gelen belirsizliğin hesaplanması

Bileşen	Değer	Standart Bel	Rel. Std. Bel ²	Rel. Belirsizlik
Dispanser	40	0,0002	0,00000	0,000
1000 µl pipet	1	0,0088	0,00008	0,009
200 µl pipet	0,2	0,0003	0,00000	0,001
Tartım(mg)	50000	0,0031	0,00000	0,000
		Toplam Belirsizlik	0,009	

Tablo 33: Bromopropylate Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Bromopropylate	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,045	0,045
Tekrarüretilebilirlik	1	0,060	0,060
Linearite	50	0,098	0,002
		Toplam Belirsizlik	0,076

Tablo 34: Chlorpyrifos Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Chlorpyrifos	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,049	0,049
Tekrarüretilebilirlik	1	0,060	0,060
Linearite	50	0,072	0,001
		Toplam Belirsizlik	0,078

Tablo 35: Cypermethrin-I Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Cypermethrin-1	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,044	0,044
Tekrarüretilebilirlik	1	0,098	0,098
Linearite	50	0,096	0,002
		Toplam Belirsizlik	0,108

Tablo 36: Cypermethrin-II Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Cypermethrin-2	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,088	0,088
Tekrarüretilebilirlik	1	0,098	0,098
Linearite	50	0,139	0,003
		Toplam Belirsizlik	0,132

Tablo 37: Cypermethrin-III Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Cypermethrin-3	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,054	0,054
Tekrarüretilebilirlik	1	0,095	0,095
Linearite	50	0,070	0,001
		Toplam Belirsizlik	0,109

Tablo 38: Cypermethrin-IV Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Cypermethrin-4	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,063	0,063
Tekrarüretilebilirlik	1	0,106	0,106
Linearite	50	0,153	0,003
		Toplam Belirsizlik	0,124

Tablo 39: Deltamethrin Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Deltamethrin	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,066	0,066
Tekrarüretilebilirlik	1	0,082	0,082
Linearite	50	0,040	0,001
		Toplam Belirsizlik	0,106

Tablo 40: Endosulfan -Alpha Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Endosulfan-alpha	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,043	0,043
Tekrarüretilebilirlik	1	0,066	0,066
Linearite	50	0,085	0,002
		Toplam Belirsizlik	0,079

Tablo 41: Endosulfan -Beta Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Endosulfan-beta	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,039	0,039
Tekrarüretilebilirlik	1	0,046	0,046
Linearite	50	0,079	0,002
		Toplam Belirsizlik	0,061

Tablo 42: Endosulfan-Sulfate Ölçüm Belirsizliği Tablosu

Endosulfan-sulfate	Değer	Standart Belirsizlik	Relatif Standart Belirsizlik
Standart hazırlama	100,5	0,250	0,002
Örnek hazırlama	1	0,009	0,009
Tekrarlanabilirlik	1	0,046	0,046
Tekrarüretilebilirlik	1	0,052	0,052
Linearite	50	0,057	0,001
		Toplam Belirsizlik	0,070

Raporlama aşağıda gösterildiği biçimde hesaplanarak yapılmaktadır.

Genişletilmiş Belirsizlik: Bromopropylate Konsantrasyonu x Toplam Belirsizlik

Raporlama: Bromopropylate Konsantrasyonu \pm Genişletilmiş Belirsizlik

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Pestisitlerin sağlık etkileri, akut (bir defada tek bir dozdan) ve kronik (uzun sürede birikim sonucu) etkiler olmak üzere iki başlık altında incelemek mümkündür. Pestisitlerin akut toksik etkilerini fark etmek kolaydır. Fakat kronik etkiyi fark etmek oldukça zordur. Pestisit kalıntılarını ihtiva eden bitkisel veya hayvansal ürünleri yemek suretiyle meydana gelen zehirlenmeler “Sekonder Toksik Etkiler” olarak bilinmektedir. Bunlara genelde “ kronik zehirlenmeler” adı da verilmektedir. Kronik etkide belirli bir sürede düşük dozdaki ilacın çevreden, gıdada ve sudan alınmasıyla kronik etki yıllar sonra ortaya çıkabilmektedir. Pestisitlerin akut etkileriyle baş ağrısı, mide bulantısı, irritasyon, dermatite, sistemik emilime bağlı olarak ölüm görülmektedir. Kronik zehirlenmeyle, değişik kanser tipleri, akciğer hastalıkları, üreme bozukluklar, beyinde hasar, karaciğer ve böbrekte nefrozlar oluşmaktadır. Allerjik sinir, kalp, damar, solunum, mide, bağırsak ve dolaşım sistemlerinde, iç salgı bezlerinde, deri ve gözlerde çeşitli hasarlar meydana geldiği belirtilmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde pestisitlerin canlılar üzerindeki etkisi fetal yaşamdan itibaren başladığı gözlemlenmiştir. Radyoaktif olarak işaretlenip anneye verilen pestisitın 5 saat sonra plasentadan fetüse geçtiği ve fetüsün göz, sinir sistemi ve karaciğerine yerleştii gözlenmiştir. Pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde birçok genetik hasarın yanı sıra karaciğer, böbrek ve kaslarda bozukluklar görülmüştür. Pestisitlerin insan sağlığına olan etkilerini, kanser, tumor, deride tahrişlerin ve yaraların oluşması. Yaraların iyileşmesini ve hucre yenilenmesini engelleme. Bağışıklık sisteminin bozulması, sinir sisteminin bozulması, hücrelerde DNA hatalarına neden olarak mutasyona sebep olma, canlı organizmanın ölümü olarak sıralamak mümkündür. WHO'nün 2004 yılı verilerine göre her yıl üç milyon kişinin pestisit kaynaklı zehirlendiği ve yaklaşık 250 000 kişinin yaşamını kaybettiği belirtilmektedir (7)

Gıdalardaki pestisit kalıntılarının uzun süre alınmasıyla uzun vadede akciğer hastalıkları, kanser, beyinde ve periferal sinir sisteminde harabiyet, karaciğer, kalp, endokrin, üreme sistemi ve böbrek hastalıkları oluşmaktadır. Bunların yanı sıra teratojenik, mutajenik, hematolojik, metabolik ve allerjik etkileri olan pestisitler de vardır. Pestisitlerin insanlarda yaptıkları bu etkilerin yanı sıra

hayvanlar üzerinde de olumsuz etkileri mevcuttur. Pestisitlerin bu olumsuz etkileri kimyasal yapı, uygulama ve kullanma sıklığı gibi faktörlere bağlıdır. In vivo ve in vitro deneysel çalışmalar, akut, subakut, subkronik ve kronik organofosfat uygulamalarının sonucu ortaya çıkan hepatotoksisite, nörotoksisite, genotoksisite, embriyotoksisite, immünotoksisite gibi etkenlerin organofosfatlı insektisitlerinin yol açtığı artmış reaktif oksijen türleri (ROS)'nin neden olduğu oksidatif doku hasarının rol oynadığını ortaya koymuştur. Bu noktada çocuklar yetişkinlerden daha yüksek risk sınıfında yer almaktadır (15).

Tarımda yaygın olarak kullanılan pestisitler, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^- \bullet$) ve hidroksil ($\bullet OH$) radikali gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açarlar. Bu radikaller, biyolojik makromoleküllerle reaksiyona girebilirler, enzim inaktivasyonuna ve DNA hasarına neden olabilirler. Pestisitler, yağlı dokularda birikerek çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olurlar. Bu oksidanlar, antioksidan savunma sistemi tarafından uzaklaştırılmazlarsa oksidatif strese neden olurlar. Oksidatif stres sonucu, DNA hasarı ve kanser oluşumları gibi patolojik durumlar gözlenir. Bunun yanı sıra OPlar, Merkezi Sinir Sistemi'nde öğrenme ve hafıza fonksiyonlarını da içeren birçok nöropatolojik oluşumlara da yol açmaktadırlar. Çünkü bu kimyasalların hedefi, korteks ve hipokampüsteki sinirsel uyarılabilirliğin ana düzenleyicisi olan GABAerjik ve kolinerjik sistemlerdir. Nörotoksisite birçok pestisitinin ortak karakteristiğidir (26).

Pestisitler özellikle birinci trimesterde maruz kalındığında embriyotoksisite veya fetotoksisite gösterebilir. Normal popülasyona göre; tarım çalışanı olan kadınlarda doğum defekti ve ekstremiter eksikliği olan çocuk doğurma sıklığı daha yüksektir (24).

Organofosfatlı pestisitler gecikmiş nöropati, demiyelinizasyona bağlı kas zayıflığı, alt ekstremitelerde felce neden olabilmektedir. Bunun yanında, ağır psikotik bozukluklar, bellek zayıflığı, düşünme yeteneğinde azalmalar, depresyon ve yüksek oranda intiharlara neden olabilirler(24).

Yapılan çalışmalarda, düşük doz kronik pestisit maruziyetinin nöro-gelişimsel bozukluklar için kesin risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Pestisit türüyle ilişki olarak, dikkat eksikliği-hiperaktivite bozukluğu, otizm, zeka gelişimi, nöro-motor ve psikolojik gelişim ile pestisit etkilenimi arasında ilişki bulunmuştur. Pestisit maruziyeti erkeklerde ve kadınlarda fertilitiyi ciddi şekilde etkileyebilir (24).

SANTE/11945/2015 dökümanına göre tekrarlanabilirlik çalışmalarında her bir kişinin gerçekleştirdiği geri kazanım çalışmaları sonuçlarının ortalamasının % 70-120 aralığında olması; laboratuvar-ıçi tekrarüretilebilirlik çalışmalarında ise tüm kişilerin tüm zamanlarda yaptıkları geri kazanım çalışmalarının sonuçları üzerinden hesaplanan ortalama geri kazanım değerinin % 70-120 aralığında olması gerekir. Yaptığımız çalışmalarda en düşük geri kazanım düzeyi %79, en yüksek geri kazanım düzeyi ise % 111 olarak hesaplanmış olup yasal gereklilikleri sağlamaktadır. Belirlenen MRL düzeyleri arasında en düşük düzey 0.01 mg/kg olup, hesaplanan LOQ değerlerinin hepsi MRL düzeylerinin altında kalmaktadır ve SANTE dökümanında belirtilen Raporlama limiti (RL), ölçüm limitinden (LOQ) küçük olamaz; dolayısıyla LCL (Lowest Calibrated Level) değeri LOQ seviyesine denk gelen konsantrasyon seviyesine eşit ya da bu seviyeden düşük olmalıdır. ($LCL \leq LOQ \leq RL \leq MRL$) koşulunu sağlamaktadır. Yine aynı dökümanda belirtilen kurallara göre her bir pestisit etken maddesi için hesaplanmış genişletilmiş ölçüm belirsizliği değerinin % 50' nin altında olduğu durumda; belirsizlik sonuçları %50 değeri kullanılarak hesaplanır. Bu çalışmada pestisit etken maddeleri için hesaplanan ölçüm belirsizliği değerlerinin hepsi %50'nin altında bulunmuştur.

Pestisit etken maddelerinin özellikle kronik maruziyetle sebep olduğu sağlık problemleri göz önünde bulundurulduğunda gıdalarla birlikte vücuda alınan miktarın oldukça önemli olduğu görülmektedir. Bu sebeple gıdalardaki pestisit kalıntısı miktarlarının gerçeğe en yakın biçimde tespit edilmesi son derece önemlidir. Pestisit analiz yöntemleri bu noktada önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada sıklıkla tüketilen sebze ve meyvelerden olan domates ve limonu

kullanarak daha önce ülkemizde uygulanmamış olan Etil Asetat Metodu ile GC-MS-MS'te Meyve ve Sebzelerde Pestisit Analizi Metodunu valide ederek Chlorpyrifos, Bromopropylate, Cypermethrin ve Endosulfan pestisit etken maddelerinin ölçüm belirsizliklerini hesapladık. Ülkemizde pestisit analizleri ile ilgili yaşanan en büyük problem metot hassasiyeti ve düşük dedeksiyon limitleridir. Yapılan çalışmalarda hedeflenen dedeksiyon limitlerinde beklenen performans karşılanmıştır. Hesaplanan ölçüm belirsizlikleri %15'in altında bulunmuş olup, metodun hassasiyetinin bu analiz için yeterli olduğunu göstermektedir. Hesaplanan ölçüm belirsizliklerinin düşük seviyelerde olması ve metodun hassasiyetinin yüksek olması gıdalarda bulunan pestisit kalıntısı miktarlarının dar bir ölçüm aralığı içerisinde verilmesine imkan sağlamaktadır. Analiz sonuçlarının dar bir ölçüm aralığı içerisinde verilmesi gıdaların piyasaya sunulmadan önce uygulanan limitlere göre değerlendirildiğinde limitlerin üzerinde bulunan sonuçların ölçüm belirsizliği uygulandığında sonucun limit altında kalması ve uygun olarak sonuçlandırılarak halk sağlığını tehdit etmesinin bir nebze de olsa önüne geçmemizi sağlamaktadır. Verilen sonuçların belirsizliğinin düşük olması vesilesiyle kronik toksisiteyi de uzun vadede azaltabilmemizi sağlamaktadır.

Aynı zamanda pestisit analizlerinde ölçüm belirsizliğinin hesaplanması gerekliliği herhangi bir adli vaka durumunda iki laboratuvar sonucunun karşılaştırılması durumunda da laboratuvar verilerinin birbirlerini doğrulaması bakımından da büyük önem taşımaktadır.

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde valide edilen metodun hassas, seçici ve spesifik olduğu görülmüştür. Metodun bu özelliklere sahip olması gıdalar vasıtası ile vücuda giren pestisit miktarının azaltılabilmesi açısından olumlu sonuçlar getirmesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Tatlı Ö, Ege Bölgesine Özgü Bazı Yaş Meyve, Sebze Ve Kurutulmuş Gıda Ürünlerinde Pestisit Kalıntı Düzeylerinin Tespiti, Yüksek Lisans Tezi, Adana 2006
- 2-Haktanır, K., Arcak, S. 1998, A.Ü.Z.F. Çevre Kirliliği Ders Kitabı (457), yayın no:1503
- 3- Yüce T. Y, Gıdalarda Organoklorlu Ve Organofosforlu Pestisitlerin Miktar Tayini Metot Validasyonu, Yüksek Lisans Tezi, 2006, İstanbul
- 4- Aksu P, Meyve Ve Sebzelerdeki Pestisit Kalıntılarının Tayininde Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) İle Çoklu Kalıntı Analiz Yönteminin Geliştirilmesi , Doktora Tezi, 2007, İzmir
- 5- 25.11.2016 tarih ve 29899 Sayılı Resmi Gazete’de Yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği Ankara. Tarım Gıda Hayvancılık Bakanlığı
- 6- Evcil E, Ege Bölgesinde İhraç Edilen Bazı Sebze Ve Meyvelerin Pestisit Düzeylerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 2009
- 7- Elmastaş A, Yaş Meyve Sebze Ürünlerinin Çeşitli Koşullarda Pestisit Kalıntılarının LC-MS/MS Ve GC-MS/MS İle Analizlerinin Kantitatif Tayini, Doktora Tezi, 2018, Diyarbakır
- 8- Tavşan Z, The Effect Of Bromopropylate Organophosphate Pesticide On The Some Metabolites And Mitochondrial Electron Transport Enzymes In Trichoderma Harzianum, Doktora Tezi, 2011, İzmir
- 9- Dinç N, Klorprifosun Rat (Wistar albino) Kalp Kasında Oluşturduğu Hasar Üzerine Curcuminin Antioksidan ve Olası Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, 2015, Samsun

- 10-** Uzun F. G, Ratlarda Klorprifos'un Hepatotoksik Etkisi Ve Kuersetin Ve Kateşinin Koruyucu Rolü, Doktora Tezi, 2012, Ankara
- 11-** Şemen S, Cypermethrinin Toprak Örneklerinden Hptlc Yöntemi İle Tayini, Yüksek Lisans Tezi, 2009, İstanbul
- 12-**The European Agency For The Evaluation Of Medicinal Products Veterinary Medicines And Inspectons, Commitee For Veterinary Medicinal Proucts, Cypermethrin Summary Report (1) EMEA/MRL/403/98-FINAL April 1998
- 13-**Separation of Chiral Pyrethroid Pesticides and Application in Pharmacokinetics Research and Human Exposure Assessment, Yongning Wu, Hong Miao and Sai Fan, Key Lab of Chemical Safety and Health & WHO Collaborating Center for Food Contamination Monitoring National Institute of Nutrition and Food Safety Chinese Center for Disease Control and Prevention, China
- 14-** Cerit Ö, Sipermetrin İle Akut Toksisite Oluşturulan Gökkuşığı Alabalıkları (Oncorhynchus Mykiss)'nda Krisinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, 2017, Kayseri
- 15-** Palüzar H, Pestisitlerin Vücut Savunma Sistemi Enzimleri Üzerine Etkilerinin İn Vitro İncelenmesi, Doktora Tezi, 2013, Edirne
- 16-** Uluca H, Katalaz Aktivitesi Üzerine Alpha Cypermethrin Ve Deltamethrin Pestisitlerin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, 2014, Adıyaman
- 17-** Piretrin ve Piretroid Grubu Pestisitler- Doç. Dr. Ataman Köse Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Prof. Dr. Arzu Denizbaşı Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, Türkiye Acil Tıp Derneği Toksikoloji Çalışma Grubu
- 18-**Gündoğan E. G, Hidrojene Dayalı Membran Biyofilm Reaktörlerinde Denitrifikasyona Endosülfanın Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, 2012, Kahramanmaraş

19- Modification and re-validation of the ethyl acetate-based multi-residue method for pesticides in produce. *Anal Bioanal Chem* (2007) 389:1715-1754 DOI 10.1007/s00216-007-1357-1, Hans G. J. Mol & Astrid Rooseboom & Ruud van Dam & Marleen Roding & Karin Arondeus & Suryati Sunarto, Received: 23 March 2007 / Revised: 4 May 2007 / Accepted: 8 May 2007 / Published online: 12 June 2007

20- Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu ve Verifikasyonu Rehberi- Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü Nisan 2018

21- Olpak H. Y, Soya Ununda Aflatoksin Tayini, Metot Validasyonu Ve Ölçüm Belirsizliğinin Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, 2012, İstanbul

22- Enver Sadıkov, Rifat Kangı, Sevilay Uğur, Kasım 1995 Ölçüm Belirsizliği, Ulusal Metroloji Enstitüsü, UME-95-014, **23-** Metroloji Kitabı, Tübitak Ulusal Metroloji Enstitüsü, Ölçüm Belirsizliği, Şubat 2013, s:64

24- Çelik S, Adana İli Ceyhan İlçesi Tarım Çalışanlarında Pestisit Kalıntısı Ve Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesinin Araştırılması, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2018, Adana

25- Pestisit Analizleri İçin Metot Validasyonu ve Ölçüm Belirsizliği Hesaplanması Açıklamalı Uygulama Rehberi -T.C. Gıda Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Kalıntı/Pestisit Birimi Haziran 2018_rev4

26- C.G. Castillo, M. Montante, L. Dufour, M.L. Martinez, M.E. Jimenez-Capdeville, Behavioral effects of exposure to endosulfan and methyl parathion in adult rats, *Neurotoxicology and Teratology*, 24, 797–804, 2002

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Tolga Şahin

Doğum Tarihi: 06/041987

E-posta: tolga.sahin.64@gmail.com

Adres : Siyavuşpaşa Mh. Yonca Sk. No:15 Gürbüz Apt. D:14

Bahçelievler/İSTANBUL

Eğitim Bilgileri

İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü, 2009

Seyhan Danişment Gazi Anadolu Lisesi, 2005

İş Deneyimleri

İntertek Test Hizmetleri İstanbul Özel Gıda Kontrol Laboratuvarı, Yaş Kimya Laboratuvar Sorumlusu (2017-)

GTS Test Laboratuvarları, Enstrümental Analiz Laboratuvarı Sorumlusu (2015-2017)

SGS Gıda Laboratuvarları, Enstrümental Analiz Laboratuvarı, Analist (2013-2015)

Çevre Laboratuvarları, Enstrümental Laboratuvarı, Analist (2012-2013)

AgriQLabEN Gıda Laboratuvarı, Pestisit Kalıntı Uzmanı (2011-2012)

Çalışma Alanları

Gıdalarda katkı, kalıntı, toksin ve pestisit analizleri

Bitkisel ve Hayvansal Yağ analizleri

Alkol Analizleri

Besin Ögesi Analizleri

Gıdalarda ve gübrelerde aminoasit analizleri

Kromatografik ve Spektroskopik yöntemler (UV-VIS, HPLC, GC, LC-MS-MS, GC-MS, GC-MS-MS)

TSE EN ISO 17025 Deney Ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Akreditasyonu

Metot Validasyonu

Ölçüm Belirsizliği Hesaplamaları