

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GIDA ÖRNEKLERİNDE İNORGANİK VE ORGANİK
ANALİTLERİN ICP-MS ve LC-MS/QTOF İLE ESER
SEVİYELERDE EŞZAMANLI TAYİNLERİ**

Sabriye SEL

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Programı

Danışman
Prof. Dr. İkbal KOYUNCU

Aralık, 2023

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA ÖRNEKLERİNDE İNORGANİK VE ORGANİK
ANALİTLERİN ICP-MS ve LC-MS/QTOF İLE ESER
SEVİYELERDE EŞZAMANLI TAYİNLERİ

Sabriye SEL tarafından hazırlanan tez çalışması 20.12.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İkbâl KOYUNCU, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Abdürrezzak Emin BOZDOĞAN, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Sevgi KOCAOBA, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK, Üye

İstanbul Teknik Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Gülçin GÜMÜŞ YILMAZ, Üye

İstanbul Teknik Üniversitesi

.....

Danışmanım Prof. Dr. İkbal KOYUNCU sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Gıda Örneklerinde İnorganik ve Organik Analitlerin ICP-MS ve LC-MS/QTOF ile Eser Seviyelerde Eşzamanlı Tayinleri” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Sabriye SEL

İmza



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FDK-2020-4076 numaralı DOP projesi ile desteklenmiştir.



Aileme
ve
Kendime

TEŞEKKÜR

Kimya Bölümünde yapmış olduğum doktora öğrenimim boyunca ve hazırlamış olduğum tez sürecimde maddi manevi yardımlarını esirgemeyen, değerli danışmanım Prof. Dr. İkbâl Koyuncu'ya, Tez İzleme Komitesi üyelerim Prof. Dr. Abdürrezzak Emin Bozdoğan ve Birsen Demirata Öztürk'e değerli emeklerinden dolayı,

Tez çalışmalarım ve sonraki süreçlerde bana bilgisini aktarmaktan kaçınmayan Doç. Dr. Tolga Mert'e, manevi desteğini her an hissettiren Sevgi Varlı'ya, Sayın Prof. Dr. Nelisa Türkoğlu'na, benden hiçbir desteğini esirgemeyen çok kıymetli arkadaşım Dr. Dotse Selali Chormey'e, YTÜ merkez laboratuvar personellerine, laboratuvar çalışmalarım katkıları olan Bedir Altuncan'a ve bu günlere gelmemi sağlayan, her koşulda yanımda olan her türlü fedakârlığı gösteren sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Sabriye SEL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	vi
SİMGE LİSTESİ	x
KISALTMA LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
TABLO LİSTESİ	xv
ÖZET	xix
ABSTRACT	xxi
1 GİRİŞ	23
1.1 Literatür Özeti	23
1.2 Tezin Amacı	26
1.3 Hipotez	27
2 PESTİSİTLER	29
2.1 Pestisitlerin Tanımı ve Tarihçesi	29
2.2 Pestisitlerin Sınıflandırılması	32
2.3 Pestisitler ve Çevre	35
2.4 Toprakta Pestisit Kalıntısı	36
2.5 Sularda Pestisit Kalıntısı	36
2.6 Gıdalarda Pestisit Kalıntısı	37
2.7 Pestisit Tayin Yöntemleri	38
3 MİKROEKSTRAKSİYON VE ÖRNEK HAZIRLAMA YÖNTEMLERİ	43
3.1 Homojenizasyon	43
3.2 Ekstraksiyon	43
3.3 Mikroekstraksiyon	43
3.4 QuEChERS Metodu Avantajları	47
4 SIVI KROMATOĞRAFI-UÇUŞ ZAMANLI KÜTLE SPEKTROMETRESİ	50
4.1 Kromatografi	50
4.2 Kromatografiye ait terimler	50
4.3 Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması	51
4.4 Kütle Spektrometrisine Genel Bakış	51
4.5 Kütle Spektrometre Cihazının Yapısı	53
4.6 Elektrosprey İyonizasyon (ESI)	54
4.7 Kuadrupol Kütle Analizörü	54

4.8	Dedektör.....	55
4.9	Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometreleri	55
4.10	LC-QTOF-MS/MS ile Yapılan Pestisit Tayinleri.....	57
5	DENEYSEL ÇALIŞMALAR	58
5.1	Kullanılan Cihazlar	58
5.2	Optimizasyon Çalışmaları.....	60
5.3	Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon öncesi Sistem Analitik Performans Değerlerinin Belirlenmesi	73
5.4	Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu	75
5.5	Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon sonrası LC-QTOF-MS/MS’de Sistem Analitik Performans Değerlerinin Belirlenmesi	82
5.6	Kivi, Mango, Ananas Örneklerinin LC-QTOF-MS/MS sisteminde Kantitatif Analizleri ve Geri Kazanım Çalışmaları.....	87
6	VEGAN GIDALARDAKİ ESER ELEMENTLERİN İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA KÜTLE SPEKTROMETRESİ (ICP-MS) İLE EŞZAMANLI TAYİNİ İÇİN MİKRODALGA DESTEKLİ NUMUNE HAZIRLAMA	95
6.1	Metal, ağır metallerin Tanımı ve Tarihçesi.....	95
6.2	Ağır metallerin sağlık üzerine etkileri	95
6.3	Toksik Etki Gösteren Ağır Metaller.....	96
6.4	Ağır metallerin çevresel etkileri.....	101
6.5	Literatürde ICP-MS ile yapılan çalışmalar	106
7	METAL, AĞIR METAL TAYİN YÖNTEMLERİ	109
7.1	Spektroskopik Yöntemler	109
7.2	Elektroanalitik Yöntemler.....	112
7.3	Kromatografik Yöntemler.....	113
8	İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA KÜTLE SPEKTROMETRESİ(ICP-MS)	115
8.1	Genel bilgiler.....	115
8.2	Çalışma Prensibi	115
8.3	ICP-MS ekipmanları	116
8.4	Girişimler	120
8.5	ICP-MS sistemiyle tayin edilen bazı elementler ve özellikleri.....	121
9	KULLANILAN CİHAZLAR	123
9.1	ICP-MS ve Mikrodalga Yakma Sistemi Donanımı	123
9.2	Kullanılan Kimyasal Malzemeler	123

9.3 Diğer Ekipmanlar	124
9.4 Cihaz Çalışma Koşulları	124
9.5 ICP-MS sistem Analitik Performansının Tespiti.....	125
9.6 Örnek hazırlama (çözündürme) basamağı	130
10	141
SONUÇ	141
KAYNAKÇA	143
A EK	156
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	157



SİMGE LİSTESİ

nm	Nanometre
µg	Mikrogram
ng	Nanogram
mmol	Milimol
mL	Mililitre
mg	Miligram
min	Dakika
L	Litre
°C	Derece Celsius

KISALTMA LİSTESİ

ACN	Asetonitril
AAS	Atomik Absorbsiyon Spektrometresi
ICP-MS	Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
ICP-OES	Optik Emisyon Kütle Spektrometresi
LC-MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Sepektrometresi
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantitation
LC-QTOF-MS/MS	Kuadropole Uçuş Zamanlı- Kütle Spektrometresi
RSD	Relative Standard Deviation
DDT	Diklordifenil triklor etan
BHC	Benzen heksaklorür
QuEChERS	Quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe
tMSMS	Target Kütle Spektroskopisi
ESI-MS	Elektrosprey İyonlaştırmalı Kütle Sepektrometresi
GC	Gaz Kromatografisi
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
CRM	Certified Reference Material (Sertifikalı Referans Malzeme)
DLLME	Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon
SPME	Katı Faz Mikroekstraksiyonu

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	1990-2014 yılları arasındaki pestisit kullanımı	30
Şekil 2.2	1990-2014 yılları arasında ülkelere pestisit kullanımı	30
Şekil 2.3	Türkiyedeki pestisit kullanımının yıllara göre değişimi	31
Şekil 2.4	Bazı pestisitler ve açık yapıları aşağıda verilmiştir.....	33
Şekil 3.1	Katı faz mikroekstraksiyon (SPME) sistemi	45
Şekil 3.2	Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) sistemi.....	46
Şekil 3.3	Uluslararası standartlarca kabul edilen QuEChERS metodunun uygulama şekilleri.....	48
Şekil 4.1	Kütle Spektrometresine ait genel şema	53
Şekil 4.2	Elektrosprey iyonlaştırma düzeneği	54
Şekil 4.3	Kutuplu kuadropole yapısının şematik gösterimi.....	55
Şekil 5.1	LC-QTOF-MS/MS cihazı.....	58
Şekil 5.2	Metot 1 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC) ..	62
Şekil 5.3	Metot 3 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC) ..	63
Şekil 5.4	Metot 4 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC) ..	64
Şekil 5.5	Metot 7 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC) ..	65
Şekil 5.6	Metot 8 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC) ..	66
Şekil 5.7	Metot 9 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC) ..	67
Şekil 5.8	Metot 10 sonucu 1.0 µg/mL derişimindeki standart çözeltinin LC/QTOF/MS-MS sistemine gönderilmesi sonucu elde edilen EIC kromatogramı.....	68
Şekil 5.9	1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle farklı kurutma gazı sıcaklıklarına ait EIC kromatogram	70
Şekil 5.10	1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle kurutma gazı akış hızının belirlenmesine ait EIC kromatogram.....	71
Şekil 5.11	1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle nebulizer basıncına (psig) ait EIC kromatogram	71
Şekil 5.12	1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle kapiler voltaja (V _{kap}) ait EIC kromatogram	72

Şekil 5.13	1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle kolon sıcaklığına ait EIC kromatogram ...	73
Şekil 5.14	Ekstraksiyonun pH'sının belirlenmesine ait optimizasyon.....	77
Şekil 5.15	Elüsyon türünün belirlenmesi.....	77
Şekil 5.16	Ekstraksiyon solventi çeşidinin belirlenmesi	78
Şekil 5.17	Ekstraksiyon solvent miktarı	79
Şekil 5.18	Dağıtıcı Solvent Çeşidinin Belirlenmesi	80
Şekil 5.19	Dağıtıcı Solvent Miktarının Belirlenmesi	81
Şekil 5.20	Tuz Türünün Belirlenmesi.....	82
Şekil 5.21	Ekstraksiyon sonrası toplam iyon (TIC) kromatogramı.....	84
Şekil 5.22	Dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon sonrası tMSMS modda çalışılan 2.0 ng/mL konsantrasyonuna ait EIC kromatogramı	84
Şekil 5.23	Dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon sonrası tMSMS modda çalışılan 5.0 ng/mL konsantrasyonundaki parçalanma iyonlarına ait EIC kromatogramı.....	85
Şekil 5.24	QuEChERS ekstraksiyonuna ait örnek hazırlama kiti	88
Şekil 5.25	A. Metiyokarb sülfoksitin 250 µg/L mix standart çözeltisi ve kivi numunesinde ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı. B. 250 µg/L mix standart çözeltisi ve ananas numunesinde metiyokarb sülfoksitin ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı. C. 250 µg/L mix standart çözeltisi ve mango numunesinde metiyokarb sülfoksitin ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı	90
Şekil 5.26	Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine göre hazırlanan Ananas örneğindeki Sulfentrazone (m/z 386.9891) R.t (6.52) ve IS olarak kullanılan Phenytoin (m/z 253.0971)' e ait EIC kromatogram.....	91
Şekil 5.27	Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine göre hazırlanan Ananas örneğindeki Chloridazon (m/z 222.0429) R.t (4.922) ve IS olarak kullanılan Phenytoin (m/z 253.0971)' e ait EIC kromatogram.....	91
Şekil 5.28	Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine ait kalibrasyon noktalarının üst üste çakıştırılmasıyla elde edilen kalibrasyon.....	92
Şekil 5.29	Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine göre hazırlanan Ananas örneğindeki Chloridazon (222.0429) iyonuna ait kalibrasyon doğrusu.....	92
Şekil 5.30	Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine göre hazırlanan Ananas örneğindeki Sulfentrazone (386.9891) iyonuna ait kalibrasyon doğrusu	93
Şekil 6.1	Arsenik türleri ve kimyasal yapıları	98
Şekil 7.1	Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi.....	110
Şekil 8.1	A: Konsantrik Nebulizör, B: Çapraz Akış Nebulizör, C: Yüksek Katılar Nebulizörü.....	117
Şekil 8.2	İndüktif Eşleşmiş Plazma	118

Şekil 9.1 ICP-MS donanımı.....	124
---------------------------------------	------------



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 2020 yılında Tük verilerine göre kullanılan pestisit miktarları	31
Tablo 4.1 Kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması	51
Tablo 5.1 LC-QTOF-MS/MS ile tayin edilen analitler.....	59
Tablo 5.2 Eclipse plus C ₁₈ RHD 1.8 µm 2.1x 50 kolonu ile uygulanan mobil faz optimizasyonu	61
Tablo 5.3 Metot 1 için uygulanan gradient programı	61
Tablo 5.4 Metot 3 için uygulanan gradient programı	62
Tablo 5.5 Agilent Poroshell 120 EC-C18 kolonu ile uygulanan metotlara ait veriler	63
Tablo 5.6 Metot 4 için uygulanan gradient programı	64
Tablo 5.7 Metot 7 için uygulanan gradient programı	65
Tablo 5.8 Metot 8 için uygulanan gradient programı	65
Tablo 5.9 Metot 9 için uygulanan gradient programı	66
Tablo 5.10 Metot 9 sonucu elde edilen kromatogramdaki piklerin karşılığı	67
Tablo 5.11 Metot 10 sonucu uygulanan gradient programı	68
Tablo 5.12 Metot 10 sonucu elde edilen kromatogramdaki piklerin karşılığı	68
Tablo 5.13 LC/QTOF/MS-MS sistemi için optimum cihaz parametreleri	73
Tablo 5.14 Her bir analitin optimum koşullar altındaki sistem performans değerleri	74
Tablo 5.15 Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminin optimum parametreleri	82
Tablo 5.16 DLLME sonucu Analitlerin Dedeksiyon Limitlerindeki (LOD) iyileştirme miktarı	86
Tablo 5.17 Kivi, mango ve ananas numuneleri için matris eşleştirme yüzde geri kazanımları.....	93
Tablo 6.1 Sektör bazında ağır metal kaynakları.....	101
Tablo 9.1 ICP-MS sistemi çalışma koşulları.....	124
Tablo 9.2 Cihaz Optimum Koşulları	126
Tablo 9.3 Tayini gerçekleştirilecek analitler ve kullanılan iç standart çözeltiler	127
Tablo 9.4 Analizi gerçekleştirilen analitlere ait kalibrasyon doğruları	127
Tablo 9.5 Her bir analit için optimum koşullar altında elde edilen sistem performans değerleri	129
Tablo 9.6 Örnek Hazırlama Basamağında kullanılan asit çözeltileri ve oranları	130
Tablo 9.7 Mikrodalga sisteminde uygulanan sıcaklık programı	131

Tablo 9.8 % 65'lik HNO_3 çözeltisi kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar	131
Tablo 9.9 3.0 M HNO_3 (%13'lük) ve % 35'lik H_2O_2 kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar.....	133
Tablo 9.10 % 65'lik HNO_3 (14.5 M HNO_3) ve % 35'lik H_2O_2 (4:1) oranında kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar.	135
Tablo 9.11 Nist 1515 Elma yaprağı CRM'i için elde edilen sonuçlar	138
Tablo 9.12 NIST 1573A Domates yaprağı CRM'i için elde edilen sonuçlar	139
Tablo 9.13 Soya granülünün eser element konsantrasyonunun farklı digestion yöntemleri kullanılarak karşılaştırılması.....	140



Tablo 2.1 2020 yılında Tük verilerine göre kullanılan pestisit miktarları	31
Tablo 4.1 Kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması	51
Tablo 5.1 LC-QTOF-MS/MS ile tayin edilen analitler.....	59
Tablo 5.2 Eclipse plus C ₁₈ RHD 1.8 µm 2.1x 50 kolonu ile uygulanan mobil faz optimizasyonu	61
Tablo 5.3 Metot 1 için uygulanan gradient programı	61
Tablo 5.4 Metot 3 için uygulanan gradient programı	62
Tablo 5.5 Agilent Poroshell 120 EC-C ₁₈ kolonu ile uygulanan metotlara ait veriler	63
Tablo 5.6 Metot 4 için uygulanan gradient programı	64
Tablo 5.7 Metot 7 için uygulanan gradient programı	65
Tablo 5.8 Metot 8 için uygulanan gradient programı	65
Tablo 5.9 Metot 9 için uygulanan gradient programı	66
Tablo 5.10 Metot 9 sonucu elde edilen kromatogramdaki piklerin karşılığı	67
Tablo 5.11 Metot 10 sonucu uygulanan gradient programı	68
Tablo 5.12 Metot 10 sonucu elde edilen kromatogramdaki piklerin karşılığı	68
Tablo 5.13 LC/QTOF/MS-MS sistemi için optimum cihaz parametreleri	73
Tablo 5.14 Her bir analitin optimum koşullar altındaki sistem performans değerleri	74
Tablo 5.15 Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminin optimum parametreleri	82
Tablo 5.16 DLLME sonucu Analitlerin Dedeksiyon Limitlerindeki (LOD) iyileştirme miktarı	86
Tablo 5.17 Kivi, mango ve ananas numuneleri için matris eşleştirme yüzde geri kazanımları.....	93
Tablo 6.1 Sektör bazında ağır metal kaynakları.....	101
Tablo 9.1 ICP-MS sistemi çalışma koşulları.....	124
Tablo 9.2 Cihaz Optimum Koşulları	126
Tablo 9.3 Tayini gerçekleştirilecek analitler ve kullanılan iç standart çözeltiler	127
Tablo 9.4 Analizi gerçekleştirilen analitlere ait kalibrasyon doğruları.....	127
Tablo 9.5 Her bir analit için optimum koşullar altında elde edilen sistem performans değerleri	129
Tablo 9.6 Örnek Hazırlama Basamağında kullanılan asit çözeltileri ve oranları	130
Tablo 9.7 Mikrodalga sisteminde uygulanan sıcaklık programı	131
Tablo 9.8 % 65'lik HNO ₃ çözeltisi kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar	131
Tablo 9.9 3.0 M HNO ₃ (%13'lük) ve % 35'lik H ₂ O ₂ kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar	133

Tablo 9.10 % 65'lik HNO_3 (14.5 M HNO_3) ve % 35'lik H_2O_2 (4:1) oranında kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar.	135
Tablo 9.11 Nist 1515 Elma yaprağı CRM'i için elde edilen sonuçlar	138
Tablo 9.12 NIST 1573A Domates yaprağı CRM'i için elde edilen sonuçlar	139
Tablo 9.13 Soya granülünün eser element konsantrasyonunun farklı digestion yöntemleri kullanılarak karşılaştırılması.....	140



Gıda örneklerinde inorganik ve organik analitlerin ICP-MS ve LC-MS/QTOF ile eser seviyelerde eşzamanlı tayinleri

Sabriye SEL

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. İkbâl KOYUNCU

Bu tez kapsamında toksik olduğu bilinen pestisitlerin eser seviyelerde eş zamanlı tespit edilmesine yönelik Sıvı Kromatografi-Kuadrupol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (LC-QTOF-MS/MS) sisteminde yöntem geliştirilmiştir. Sisteme ait olan değişken tüm parametreler optimize edildikten sonra, farklı polaritelere sahip analitler A: 25 mM amonyum format tamponu (pH 3.0)- asetonytril (9:1, v/v), B: 25 mM amonyum format tamponu (pH 3.0)- asetonytril (1:9, v/v) mobil fazı kullanılarak 0.40 mL/min akış hızında gönderilerek kromatografik olarak ayrılmışlardır. Yine bu çalışmada pestisitlerin belirlenmesini kolaylaştırmak için LC-QTOF-MS/MS sisteminde QuEChERS yönteminin etkili matriks temizliğini artırmak için yüksek zenginleştirme faktörüne sahip dağıtıcı sıvı- sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) yöntemi kullanılmış ve bu yöntemin tüm parametreleri optimize edilmiştir. Tüm parametreler optimize edildikten sonra dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon öncesi ve sonrası internal standart kullanılarak ve internal standart kullanılmadan sistem analitik performans değerleri LC-QTOF-MS/MS sisteminde belirlenmiştir. Uygulanan dağıtıcı mikroekstraksiyon sonrası

dedeksiyon limitlerinde 10-260 kat iyileştirme oranları elde edilmiştir. Geliştirilen yöntemin doğruluğunu ve uygulanabilirliğini değerlendirmek için tropikal meyveler üzerinde geri kazanım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Matris eşleştirmeli kalibrasyon yöntemi, kivi, ananas ve mango matrislerindeki analitlerin miktar belirleme doğruluğunu artırmak için kullanılmış ve geri kazanım yüzdesi %89 ile %117 arasında değişmiştir.

Tezin ikinci bölümünde ise, vegan gıdalarda bulunan metal ve ağır metallerin nitrik asit ve hidrojen peroksit çözeltilerinin farklı kombinasyonları kullanılarak ağır metal derişimi üzerine etkileri değerlendirilmiş ve ICP-MS gibi hassasiyeti ve duyarlılığı yüksek bir sistemde kantitatif analizleri yapılmıştır. Optimum koşullar altında V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Zn, As, Cd, Ba, Pb, Cu elementleri için sistem analitik performans değerleri hesaplanmıştır. LOD/LOQ değerleri sırasıyla, 0.012/0.040 ng/mL, 0.027/0.091 ng/mL, 0.035/0.117 ng/mL, 0.200/0.660 ng/mL, 0.013/0.044 ng/mL, 0.266/0.887 ng/mL, 0.169/0.564 ng/mL, 0.012/0.038 ng/mL, 0.015/0.050 ng/mL, 0.042/0.140, 0.010/0.030 ng/mL, 0.036/0.119 ng/mL olarak bulunmuştur. Örneklerin hazırlanmasında kullanılan mikrodalga yöntemi Nist 1515 (Elma Yaprağı) ve 1573A (Domates Yaprağı) sertifikalı referans maddeler kullanılarak doğrulanmıştır. Sertifikalı referans maddeleri ile doğrulanan yöntemlerde yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Dağıtıcı Sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu (DLLME), QuEChERS, LC-QTOF-MS/MS, Pestisit kalıntısı, ICP-MS, Vegan gıdalar, Mikrodalga çözündürme

Simultaneous determination of inorganic and organic analytes at trace levels in food samples by ICP-MS and LC-MS/QTOF

Sabriye SEL

Department of Chemistry

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. İkbâl KOYUNCU

In this thesis, a method was developed for the simultaneous determination of known toxic pesticides at trace levels in a Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry (LC-QTOF-MS/MS) system. After optimizing all variable parameters of the system, the analytes with different polarities A: 25 mM ammonium formate buffer (pH 3.0) - acetonitrile (9:1, v/v), B: 25 mM ammonium formate buffer (pH 3.0)- acetonitrile (1:9, v/v) were separated using mobile phase at a flow rate of 0.40 mL/min. In this study, dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) method with high enrichment factor was used to increase the effective matrix cleanliness of QuEChERS method in LC-QTOF-MS/MS system to facilitate the determination of pesticides and all the parameters of DLLME were optimized. After optimization of the DLLME method, the analytical performance values of the system before and after dispersive liquid-liquid microextraction with and without internal standard were determined in LC-QTOF-MS/MS system. Recovery tests were carried out on tropical fruits to evaluate the suggested method's accuracy and

applicability. Analyte quantification accuracy in mango, pineapple, and kiwi matrices was improved by using the matrix-matched calibration approach; percent recoveries ranged from 89 to 117%.

In the second part of the thesis, the effects of metals and heavy metals in vegan foods on heavy metal concentrations using different combinations of nitric acid and hydrogen peroxide solutions were evaluated and quantitatively analyzed in a system with high sensitivity and sensitivity such as ICP-MS. System analytical performance values were calculated for the elements V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Zn, As, Cd, Ba, Pb, Cu under optimum conditions. LOD/LOQ values were 0.012/0.040 ng/mL, 0.027/0.091 ng/mL, 0.035/0.117 ng/mL, 0.200/0.660 ng/mL, 0.013/0.044 ng/mL, 0.266/0.887 ng/mL, 0.169/0.564 ng/mL, 0.012/0.038 ng/mL, 0.015/0.050 ng/mL, 0.042/0.140, 0.010/0.030 ng/mL, 0.036/0.119 ng/mL. The microwave method used in the preparation of the samples was validated using certified reference materials Nist 1515 (Apple Leaves) and 1573A (Tomato Leaves). High recovery values were obtained for the methods validated with certified reference materials.

Keywords: Dispersive Liquid-liquid microextraction (DLLME), QuEChERS, LC-QTOF-MS/MS, Pesticide residue, ICP-MS, Vegan foods, Microwave digestion.

1.1 Literatür Özeti

Gıda maddelerinin üretimleri, tüketimleri, depolanmaları esnasında gıdalara zarar veren mikroorganizma ve haşere ve diğer zararlıları azaltmak, uzaklaştırmak veya yok etmek ve bunlarla birlikte bitkilerin büyümesini düzenlemek, gıdalara veya doğrudan insan ve hayvanlara hastalık etmeni taşıyan halk sağlığı zararlılarını kontrol etmek amacıyla kullanılan, kimyasal ya da kimyasal madde karışımları pestisit olarak adlandırılmaktadır [1]. Gıdalarda bulunan inorganik ve organik toksik kimyasallar, günümüzde insan sağlığını tehdit eden en önemli faktörler haline gelmeye başlamıştır. Geçmişten günümüze kadar çevresel kirleticiler arasında çok geniş bir kullanım alanına sahip olan pestisitlerin insan, hayvan ve çevre sağlığına zararlı etkilerinin tespit edilmesi, maruziyet boyutunun belirlenmesi ve zararlı etkilerin azaltılması için ve sürekli izlenmesi son derece önem arz etmektedir. Bu bileşiklerin kalıntıları insan sağlığına ve çevreye zararlı olabilir [2], [3]. Pestisitler; insektisit (böcek öldürücü), herbisit (yabani ot öldürücü), fungusit (küf öldürücü), rodentisit (kemirgen öldürücü) vb. şeklinde sınıflandırılan kimyasal maddelerin tümünden oluşmaktadır [4]. Dünya nüfusunun çok hızlı bir şekilde artmasına bağlı olarak gıda gereksinimi de artmaktadır. Bunun giderilmesi için birim alanda verimi ve kalitesi yüksek ürünler hedeflenirken, çevre kirliliğine neden olmayacak önlemlerin alınması gerekmektedir. Bu bağlamda ülkemizde ve dünyada çeşitli zararlılarla mücadele için pestisit adı verilen kimyasallar kullanılmaktadır. Bu kimyasallar ürün miktarında artışı sağlarken suda, toprakta, meyve ve sebzeler üzerinde uzun süre bozunmadan kalarak çevre kirliliğine neden olmakta ve insan ve evcil hayvanlar gibi hedef dışı canlılar için de maruziyete neden olmaktadır [5].

Günümüzde pestisitlerin tayininde çok farklı metotlar kullanılabilmektedir ve kullanılan yöntemlerin güvenilir, sağlam, hızlı, hassas ve maliyetinin düşük olması önem arz etmektedir. Pestisitlerin tayininde; volumetrik, elektroforetik, spektroskopik, kromaotografik, voltametrik yöntemler kullanılabilmektedir [6], [7], [8]. Özellikle kromatografik yöntemler birbirine benzer yapıdaki bileşiklerin ayrılmasında çok güçlü teknikler olarak yer alırken, hava örnekleri, yüzey suları, toprak, sediment, gıda ve gıda ürünleri gibi çok farklı matrislerde bulunan maddelerin tayininde başarılı bir şekilde uygulanabilmektedir[9]. 1960'lı yılların sonlarına doğru gaz kromatografisi (GC) tekniğinin geliştirilmesi ve dolgu kolonların çoklu kalıntı analizlerinde kullanılabileceğinin anlaşılmasıyla pestisitlerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde bir tayin yöntemi olarak yerini almıştır. Daha sonraki süreçte ise, yüksek ayırma gücüne sahip kapiler kolonlar ile hassas ve seçici dedektörlerin geliştirilmesi, tek seferde analiz edilebilen analit sayısının öneminin anlaşılmasıyla GC tekniği, pestisit kalıntı analizlerinde en sık kullanılan yöntemler arasında yerini almıştır. Polar, uçuculuğu düşük veya ısıya karşı duyarlı pestisitlerin tayin yöntemlerinde karşılaşılan zorluklar uygun bir UV yada floresans dedektörle birleştirilen ters faz sıvı kromatografisi sistemiyle giderilmiştir.

Çeşitli dedektörlerle birleştirilmiş kromatografik ayırma yöntemleri, seçicilik ve hassasiyetin yüksek olması nedeniyle uygulamaların çoğunda tercih edilen yöntemlerdir. Kütle spektrometrisi (MS) ile sıvı kromatografisi (LC), günümüzde hem yüzlerce pestisit hem de dönüşüm ürünlerinin çoklu kalıntılarının belirlemesinde [10] ve enantiyomerlerin yüksek seçicilik ile miktar tayininin belirlenmesinde kullanılabilmektedir[11].

Yıllar içerisinde Sıvı Kromatografisi (LC) sistemleriyle birleştirilen kütle spektrometreleri (MS) pestisit tayinlerinde en yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında yerini almıştır. Gelişen MS teknolojileriyle tandem kütle (MS-MS) spektrometreleri farklı yapılarıdaki pestisitlerin eş zamanlı tayinlerinde en önemli yöntemler arasında yer almaktadır. Bununla birlikte triple quadrupole (TQ), ion trap (IT) ve TOF (Time of flight) sistemleri yüksek hassasiyet ve düşük dedeksiyon

limitlerinin elde edilmesi gibi avantajlar sağlamasıyla son yıllarda dikkat çekmektedir.

Gupta ve ark.yeni nesil oldukça aktif bir insektisit olan Asetamiprid'in tarla koşullarında bulunan çay örneklerinde iki farklı sezonda incelenmesine yönelik RP-HPLC metodu geliştirmişlerdir. Çay örneklerinde infüzyona geçen kalıntılar kantitatif olarak tespit edilmiş ve kalıntıların yüzdesi %36.8- %50.0 aralığında bulunmuştur. Optimizasyonlar sonucunda Asetamiprid'in tespit edilmesi için mobil faz olarak asetonitril-su (30:70 v/v), 0.6 mL/min akış hızı ve 270nm dalga boyunun optimum koşul olduğu sonucuna varılmıştır [12].

Tezin ikinci kısmında gıda numunelerinde bulunan metal/ağır metallerin belirlenmesi ve belirlenen analitlerin kantitatif tayinlerine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Metaller yüksek elektrik iletkenliğine, parlaklığa sahip, basınçla birlikte şekil değiştirebilme özelliğine sahip Al, Ag, Ba, Cd, Pb, Fe, Mn, Co, Hg, As, Zn gibi elementlerdir [13]. Hepimizin bildiği gibi ağır metaller yaşamsal faaliyete katılan ve katılmayanlar olarak gruplandırılır. Yaşamsal olarak tanımlanan metaller, oraganizma yapısında belirli bir derişimde bulunması ve biyolojik süreçlere katılmalarından dolayı sürekli olarak vücutta bulunması gereklidir Bakır insanlarda ve hayvanlarda kırmızı kan hücrelerinin üretilmesinde ve birçok yükseltgenme indirgenme tepkimesinin gerçeklemede rol almaktadır. Çinko, demir, magnezyum gibi elementler de yaşamsal döngü içerisinde rol alırken toksik etki gösteren ağır metaller çok düşük derişimlerde dahi insan sağlığını olumsuz etkilemektedir [14]. Örneğin kurşun çocuklarda zeka problemlerine yetişkinlerde kalp ve damar hastalıklarına neden olur [15].

Ağır metallerin toksik etkilerinin uzun ömürlü olması ve birikme eğilimi göstermesi nedeniyle gün geçtikçe ağır metallerin tayini büyük önem arz etmektedir [16]. Artan sanayileşmeye bağlı olarak, maden endüstrisi, enerji ve yakıt üretimi, gübre ve pestisit sanayi, metalurji, demir ve çelik sanayi, deri işleme gibi birçok alanda ağır metal içeren atıklar direkt veya dolaylı olarak doğaya karışmakta ve gün geçtikçe toprakta bulunan ağır metal miktarı artmaktadır.

Özellikle atık yönetim süreciyle alakalı bir planı olmayan ve gelişmekte olan ülkeler ciddi çevresel kirlenmeyle karşı karşıyadır. Buna bağlı olarak ağır metal kirliliği canlı hayatını tehlikeye sokmaktadır. Doğaya bırakılan ağır metaller

toprağa, suya, havaya karışır ve bir şekilde besin zincirine dahil olarak insan sağlığını olumsuz etkileyebilmektedir. Vücutta birikim özelliği gösteren ağır metal sorunu tüm dünyada sorun önemli hale gelmektedir [17]. Toksik ağır metaller, çevresel besin döngüleri ve gıda maddelerinin kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir [18]. Tüm bu nedenlere bağlı olarak ağır metallerin daha düşük seviyelerde, hassas ve duyarlılığı yüksek bir şekilde tayin edilmesine yönelik çalışmalar ilgi duymaktadır.

Ağır metallerin tayininde kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları ince tabaka kromatografisi, UV-Vis, atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), optik emisyon spektrometresi (ICP-OES), eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS), soğuk buhar atomik floresans spektrometresi [19] gibi pek çok yöntem kullanılmaktadır [20]. Bununla birlikte yüksek seçicilik, kısa sürede analiz, yüksek hassasiyet gibi avantajlardan dolayı elektrokimyasal yöntemler de kullanılmaktadır.

1.2 Tezin Amacı

Pestisitlerin tayininde, genellikle içinde bulundukları matrikslerin karmaşık olması ve analit sinyali üzerine matriks etkisinin görülmesi üzerine ayırma/önderiştirme işlemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada farklı fonksiyonel gruplara sahip pestisitler arasında yer alan sekiz pestisit LC-QTOF-MS/MS sisteminde yüksek duyarlılık ve hassasiyette tayin edilmesi için analitik bir yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda tropikal meyvelerde bu pestisitlerin kalitatif ve kantitatif analizleri yapılmak istenmiştir. Gıda numunelerinden özellikle meyve gruplarının yüksek su içeriği ve şeker oranına sahip olması nedeniyle matriks etkisinin elimine edilmesi/azaltılması sonucu yüksek geri kazanım sonuçlarının elde edilmesi için QuEChERS metodunun uygulanmıştır.

QuEChERS metodu ile matriks temizliği (clean up) hedeflenirken dağıtıcı sıvı-sıvı mikroeitraksiyonu ile ilgili analitlerin önderiştirmesi sonucu düşük tayin limitlerine inilmesi hedeflenmiştir. Literatürde ilk defa Chloridazon, Methiocarb sulfoxide, Fenamiphos, Fluridone, Bitertanol, Pyridaphenthion, Thiophanate methyl, Sulfentrazone analitleri için QuEChERS metodu ile dağıtıcı sıvı-sıvı

mikroekstraksiyonu birleştirilerek LC-QTOF-MS/MS ile tayini için matris eşleme kalibrasyon stratejisinin kullanıldığı ilk çalışmadır.

Son yıllarda artan sanayileşmeye bağlı olarak çevre kirliliğine neden olan ve insan sağlığını olumsuz etkileyen çalışmalar son yıllarda ilgi çekmektedir. İnsanların sağlığı, biyokimyasal ve fizyolojik süreçler için de gerekli olan kalsiyum, bakır, demir, potasyum, magnezyum, manganez ve çinko gibi minerallerin varlığına bağlıdır. Bu maddeler aşırı miktarda bulunduklarında son derece toksik hale gelebilir ve sağlık üzerinde olumsuz etkileri olabilir. Gıda maddeleri hem insanlar hem de hayvanlar için önemli bir metal alım kaynağıdır, bu nedenle bu tür metallerin özellikle gıda maddelerindeki konsantrasyonlarının izlenmesi hayati önem taşımaktadır. Bu tez kapsamında da vegan gıda numunelerinde bulunan inorganik analitlerin ICP-MS ile tayin edilmesi için çeşitli mikrodalga yakma yöntemleri denenmiştir. Elde edilen sonuçların birbiri ile ve uluslararası standartlara göre izin verilen limit değerlerle kıyaslanması bu çalışmanın diğer amaçlarından biridir.

1.3 Hipotez

İnsan yaşamının devam etmesi için beslenme çok önemli bir rol oynamaktadır. Gıda kaynaklı hastalıklar bilindiği üzere insan sağlığı üzerinde özellikle de bağışıklık sistemi zayıf olan çocuk, yaşlı ve hamile gruplarında ciddi bir tehlike oluşturmaktadır. Öyle ki dünyada her yıl büyük çoğunluğunu çocukların oluşturduğu yaklaşık 2.2 milyon kişinin gıda kaynaklı hastalıklar nedeniyle yaşamını yitirdiği bilinmektedir. Diğer yandan da gelişmiş ülkelerde her yıl nüfusun yaklaşık %30'unun gıda kaynaklı hastalıklara yakalandığı bilinmektedir. Pestisitlerin tayininde düşük tayin limitlerinin elde edilmesi amacıyla birçok ekstraksiyon/önderiştirme yöntemleri kullanıldığı bilinmektedir. Buna rağmen laboratuvar işletim ücretlerinin fazla olması ve analiz ücretlerini yüksek olması nedeniyle matris etkilerinin ortadan kaldırılması/azaltılması amacıyla kromatografik yöntemlere ilgi artmıştır.

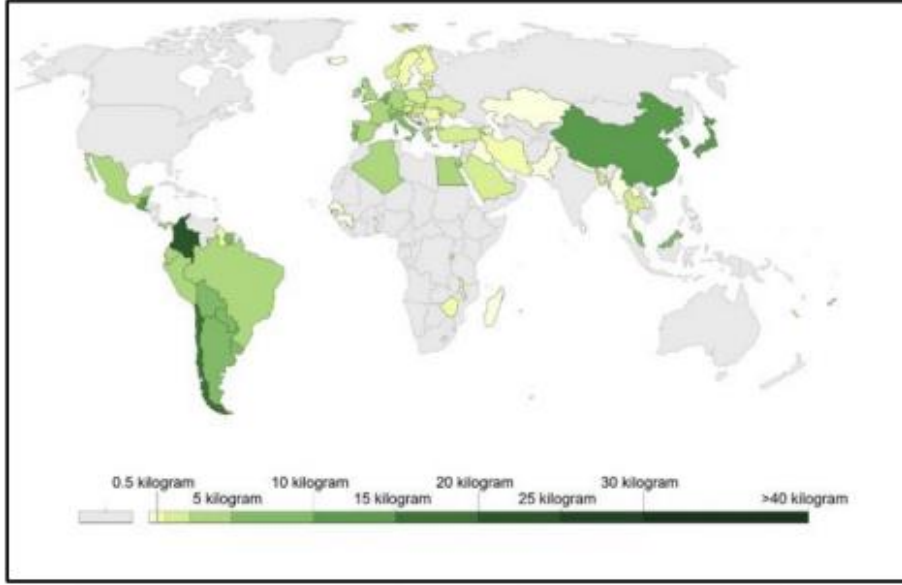
Pestisitlerin eser seviyelerde LC-QTOF-MS/MS sisteminde eş zamanlı tayininin yapılması için geliştirilecek analitik yöntem rutin analiz gerçekleştiren laboratuvarlar için kullanım kolaylığı sağlamasının yanında analiz süresinin kısa olmasıyla hem zamandan hem de maddi olarak tasarruf yapılmasına katkıda

bulunacaktır. Pestisitlerin LC-QTOF-MS/MS ile tayini için matriks eşleme kalibrasyon stratejisi kullanılarak dağıtıcı sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon ve QuEChERS yönteminin kullanılması sonucu gıdalarda daha düşük seviyelerde tayin edilebilir olması yine literatüre katkı sağlayacaktır.

Yine son yıllarda özellikle gençler arasında Türkiyede ve Avrupada hayvan hakları, iklim değişikliği ve sağlık gibi nedenlerle beslenme alışkanlıklarının değiştiği bilinmektedir. Bu nedenle artan bu trende bağlı olarak vegan gıda numunelerinde bulunabilecek metal ve ağır metallerin belirli bir seviyenin üzerinde bulunması ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. İnsan vücudu için bu kadar önemli bir etkiye sahip olan bu inorganik analitlerin eser seviyelerde yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayinleri de bu kapsamda önem arz etmektedir. Bu amaçla birden fazla teknik kullanılsa da ICP-MS ile yapılan çalışmaların duyarlılığının, hassasiyetinin ve doğruluğunun yüksek olması, geniş lineer aralıkta ve matriks etkilerinden uzak çalışma imkanı sağlaması nedeniyle diğer yöntemlerden daha çok tercih edilmektedir. Bu amaç doğrultusunda ICP-MS sisteminde analiz öncesi mikrodalga yakma sisteminde farklı kombinasyonlarda çözündürme metotlarının uygulanması ile literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

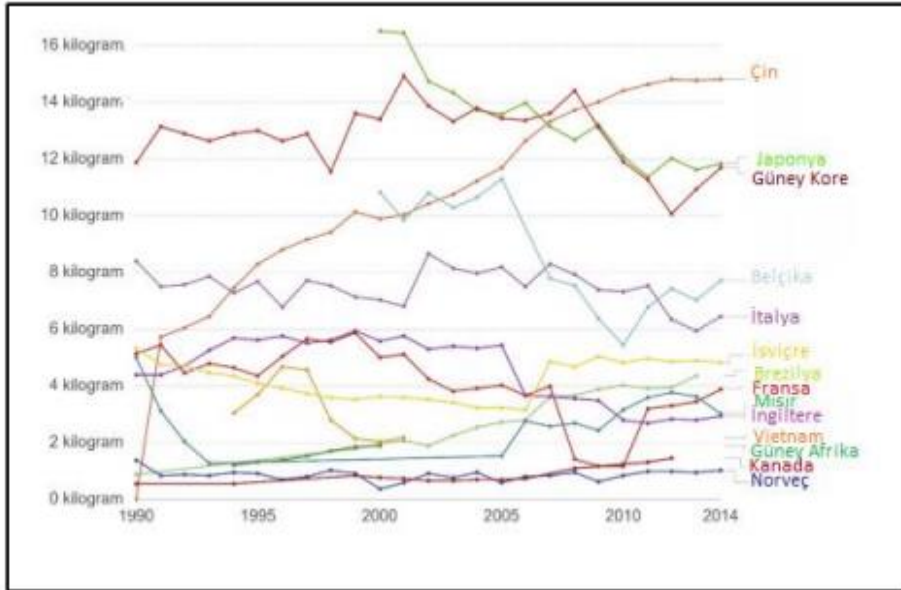
2.1 Pestisitlerin Tanımı ve Tarihçesi

Besinlerin üretimi, tüketimi ve depolanmaları esnasında, besin değerlerini azaltan yada bozucu etki gösteren veya yok eden zarar veren mikroorganizmaların yıkıcı etkilerini yok etmek ve azaltmak için kullanılan kimyasal maddelere pestisitler denir. Bu amaçla dünyada her yıl farklı kimyasal formülasyona sahip 1.5 milyon ton madde üretilmekte ve 30 milyon dolarlık ticari hacim oluşturulmaktadır. Tarım alanlarından daha yüksek verim elde etmek amacıyla pestisitlerin denetimsiz kullanılması insan sağlığını çok ciddi boyutlarda olumsuz etkilemektedir [21]. Bunun dışında tarım ve tarım dışı sektörlerde mikrokirleticiler arasında yer alan pestisitlerin aşırı kullanımı, başta su olmak üzere topraktaki pestisit derişiminde de artışa neden olduğu bilinmektedir [22]. Bununla birlikte birçok pestisitlerin uzun yıllar boyunca doğada kaldığı bilinmekte ve suda ve havada taşınarak bulundukları konumdan farklı bölgeleri de kirlettiği bilinmektedir [23]. Dünyanın birçok farklı yerinde ortaya çıkan kirleticiler arasında ilaçlar, hormonlar, antibiyotikler, kozmetikler, sentetik boyalar ve pestisitler bulunur [24]. Bu kirleticilerin her yıl dünyadaki üretiminin 500 milyon/yıl oluğu bilinmektedir [25]. Türkiye ve tüm dünyada pestisit kullanımı son yıllarda artış göstermektedir. Dünyaya bakıldığında 1990-2014 yılları arasında yıllık ortalama pestisit kullanımı gösteren grafik aşağıda verilmiştir. Birleşmiş milletler Dünya ve Sağlık Örgütünü'ne (FAO) göre 2019 yılında 4,16 milyon ton pestisit kullanılmıştır.



Şekil 2.1 1990-2014 yılları arasındaki pestisit kullanımı [26].

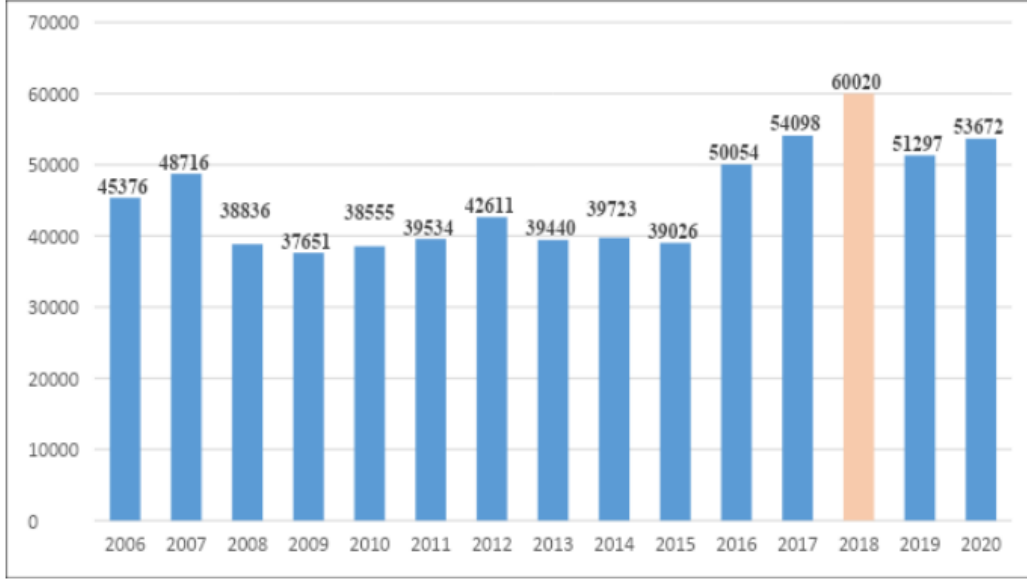
Yine son yıllarda özellikle Çin, Güney Kore, Japonya gibi ülkelerde pestisitler yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2.2 1990-2014 yılları arasında ülkelere pestisit kullanımı [26]

Ülkelere göre sıralamanın yanında kullanılan pestisit gruplarına bakıldığında ise toplam pestisit miktarınının %53.3'nü herbisitler, %23.2'sini fungusit ve bakterisitler ve

%16.7'sini insektisitler oluşturmaktadır. Türkiye ise pestisit kullanımında dünyada 12.sırada yer alırken toplam pestisit tüketiminin %1.23'nü kullanmaktadır.



Şekil 2.3 Türkiye'deki pestisit kullanımının yıllara göre değişimi [27].

TÜİK tarafından elde edilen veriler incelendiğinde 2020 yılında toplam kullanılan pestisitlerin % 38.4'nü fungusitler oluştururken, % 24.7'sini herbisitler, %23.0'nü insektisitler oluşturmaktadır.

Tablo 2.1 2020 yılında Tük verilerine göre kullanılan pestisit miktarları

Pestisit Grupları	Kullanım Miktarı (kg-L)	%
Fungisit	20.600.000	38.4
Herbisit	13.250.000	24.7
İnsektisit	12.347.000	23.0
Akarisit	2.200.000	4.1
Rodentisit	280.000	0.5
Diğerleri	4.995.000	9.3
Toplam	53.672.000	100.0

2.1.1 Pestisitlerin Faydaları

- ✓ Pestisitler, kemiriciler, böcekler ve diğer pestleri yok etmesinin yanında pestlerle taşınan vektör hastalıklara karşı savaştığı da bilinmektedir. Yılda iki milyon kişinin ölümüne neden olan sıtma, veba, tifo gibi hastalıkların daha az karşılanmasına katkı sağlamaktadır.
- ✓ İnsan nüfusunun giderek artmasına bağlı olarak artan gıda ihtiyacı için tarımda kullanılmaları tarım ürünlerinin zararlılardan korunmasını sağlayarak verimin ve ürün kalitesinin artmasına katkıda bulunur.
- ✓ Pestisitler, evlerde ve diğer yaşam alanlarında bulunabilecek sivrisinek, kemiriciler ve böceklerle karşı kullanılarak insanın yaşam kalitesine de katkı sağlar.

2.1.2 Pestisitlerin Zararları

- ✓ Akut ve kronik zehirlenmelere neden olabilir.
- ✓ Kronik maruziyet olması durumunda kansorejenik, mutajenik, teratojenik, infertilite gibi rahatsızlıklara neden olabilir.

2.2 Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitlerin sınıflandırılmasında kullanılan en yaygın ve faydalı sınıflandırma kimyasal yapılarına ve aktif maddelerinin doğasına göre yapılmaktadır [4].

2.2.1 Etkiledikleri parazit çeşidine göre;

- ✓ İnsektisitler,
- ✓ Akarisitler,
- ✓ Avisitler,
- ✓ Rodentisitler,
- ✓ Molluskisitler,
- ✓ Fungusitler,
- ✓ Herbisit,
- ✓ Nematositler,

✓ Algisitler

2.2.2 Zehirliliklerine Göre;

Pestisitler, katı veya sıvı halde bulunmaları da göz önünde bulundurularak, ratlarda ağızdan ve deri yoluyla LD50 miktarlarına göre Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 4 gruba ayrılmıştır:

Sınıf 1a; Çok zehirli- zararlı

Sınıf 1b; Zehirli- zararlı

Sınıf II; Orta derecede zehirli- zararlı

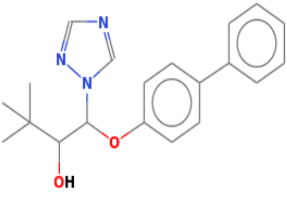
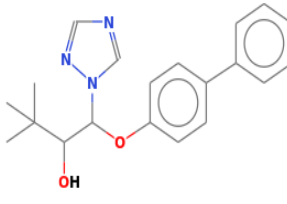
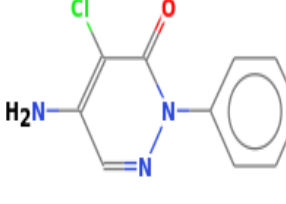
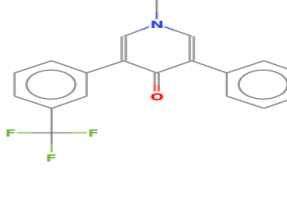
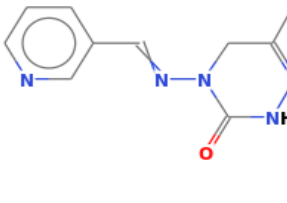
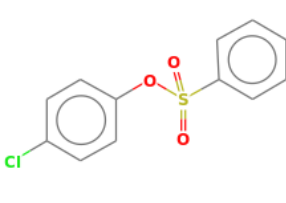
Sınıf III; Az zehirli- zararlı

2.2.3 İçerdikleri etkili maddenin yapısına göre;

Organik klorlu bileşikler; DDT (Diklordifenil triklor etan), BHC (Benzen heksaklorür), Siklodien grubu bileşikler (aldrin, dieldrin, endrin, endosülfan, toksafen.

- ✓ Organik fosforlu
- ✓ Karbamatlar
- ✓ Sentetik pyrethroidler

Bazı pestisitler ve açık yapıları aşağıda verilmiştir. (Nist webbook, SRD 69)

 Diuron	 Bitertanol	 Chloridazon
 Fluridone	 Pymetrozine	 Chlorfenson

Şekil 2.4 Bazı pestisitler ve açık yapıları aşağıda verilmiştir

2.2.4 Organik Fosforlu Bileşikler

Organik fosforlu bileşikler; genel olarak trister yapısında olup fosforik asit türevleridir ve etken maddelerinin yapısında fosfor bulunur. Günümüzde en çok kullanılan pestisit gruplarından biridir. Organik fosforlu insektisitlerin toksik olmasının nedeni asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmesindendir [28]. Organik fosforlu pestisitlerin sağlığa olumsuz etkileri arasında en yaygın görülen semptomlar arasında öksürük, bulantı, aşırı terleme, uykusuzluk, koma, dolaşımın çökmesi ve reflekslerin kaybolması gibi belirtilerdir. Bu grupta yer alan pestisitlere Chlorpyrifos, coumaphos, diazinon, dichlorvos, malathion, trichlorfon, parathion, mevinphos örnek gösterilebilir. Triester yapıda olan bu pestisitler ester yapılarına göre gaz kromatografisi veya sıvı kromatografisi yöntemleri ile tayin edilebilmektedir.

2.2.5 Karbamatlı pestisitler

Karbamat grubunda yer alan pestisitler sucul ortamlarda uzun süre kalıcı olmaları da sucul durumlarda çok stabil olmaları nedeniyle bu toksik bileşiklerin uygulanması hedef olmayan organizmalarda büyük bir azalmalara neden olabilir. Karbamatlar böceklerin ve nematodların kontrolünde aktif olarak kullanılan pestisit grubudur [29]. Bu grupta yer alan karbamat pestisitleri kimyasal yapıları ve biyolojik etkilerine göre N-metil-karbamat insektisitleri ve N-alil-karbamat herbisitleri olmak üzere iki grupta toplanmıştır [30]. Yüksek polarite ve suda çözünme özelliklerinin yanında termal olarak stabil değildirler. Canlılar için akut toksik etki göstermesi nedeniyle zehirlidirler [31], [32]. Aldikarb gibi bazı karbamat grubu pestisitleri son derece zehirlidir ve ağızdan fazla miktarda alındığında (1600 mg/kg) cvcivlerin bacaklarını felç ettiği bilinmektedir [28].

2.2.6 Organik Klorlu pestisitler

Genellikle ektoparazitlerin kontrolü için kullanılan pestisitlerdir. Siklodien organoklorlu insektisitler, GABA'nın reseptörüne bağlanmasının yarışmalı inhibisyonu ile etki eder ve nöronun uyarılmasını kontrol etmektedir. Bu grupta yer alan pestisitlerden endosülfan dışındakiler yasaklanmıştır. Yine bu grupta yer alan DDT fazla miktarda alındığında yumurta ve döl veriminde azalmalara, karaciğer yağlanması, horozlarda sperm miktarında düşmelere neden olmaktadır. Diğer

organik klorlu bileşiklerin de (aldrin, heksaklorosikloheksan, dieldrin gibi) benzeri etkiler gösterdiği bilinmektedir.

2.2.7 Fungusitler

Herbisitler ve insektisitlerden sonra en çok kullanılan pestisit grubudur. Mantar öldürücüler, bitkilerden veya tohumlardan kaynaklanan mantar enfeksiyonlarını önlemek veya ortadan kaldırmak için kimyasallardır. Tarımda daha çok depolama sırasında yumru kökleri, meyve ve sebzeleri korumak amacıyla kullanılır. Ayrıca doğrudan süs bitkilerine, ağaçlara, tarla bitkilerine, tahıllara ve çimlere de uygulanabilir olduğunu biliyoruz. Tetrametilthiuram disülfürün (thiram) öldürücü etkisinin kümes hayvanlarındaki öldürücü etkisinin 1.0 g/kg civarındadır. Cıvcıvlerde 40 ppm thiramın bacaklarda güçsüzlüğe neden olduğu, 150 ppm'i ise bacaklarda bacaklarda şekil bozukluğuna neden olmaktadır. Azole (penkonazol, mayklobutanil ve triadimenol vb.) bileşikler fungusitlerin en geniş kimyasal grubudur [33]. Bu grupta yer alan pestisitler özellikle şarap yapımında kullanılan üzümlerde kullanılmaktadır. Kimyasal fungusitler zararlı organizmalarla mücadele konusunda başarılı olsa da doğal olarak oluşmuş hedef olmayan organizmaların da yok olmasına neden olmaktadır. Diğer pestisit grupları gibi bu yer alan pestisitlerin de parçalanmaları zordur ve toksik etki gösterirler. Pestisitlerin kimyasal kalıntıları suda, toprakta ortaya çıkabilir ve bir şekilde besin zincirine katılarak insan ve hayvanların sağlığına olumsuz etkiler de bulunabilir. Bu nedenle son yıllarda pestisitlerin biliçli olarak kullanılması kavramı özen kazanmıştır [34].

2.3 Pestisitler ve Çevre

Pestisitlerin uygulama şekillere göre ya bitkinin üzerinde yada toprağın yüzeyinde kalır. Havaya karışan pestisitler rüzgarlar vasıtasıyla başka bir yere taşınabilir ve yağmur, sis veya kar yağışıyla tekrar yeryüzüne dönebilir. Bu şekilde bir dağılma sonucunda hedef olmayan canlı organizmalar ve diğer bitkiler bu pestisit kalıntılarından etkilenir ve bu bitkiler üzerinde oluşan kalıntılar toksik etki gösterir [35], [36]. Pestisitlerin yoğun ve bilinçsizce kullanılması sonucu ıdalarda, toprakta ve suda pesitisit kendisine veya parçalanma ürünlerine rastlanmaktadır. Bu durumdan hedef olmayan canlılar da etkilenebilmektedir. Pesitisit kalıntılarının önemli olduğu düşüncesi 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda pestisite rastlanmasıyla anlaşılmıştır. Bazı pestisitler toksit etki göstermexken bazı

pestisitlerin kanserojen ve mutajenik etkiler gösterdiği bilinmektedir. Günümüzde ise pestisitlerin en önemli kaynaklarından biri olarak gıdalar gösterilmektedir.

Bu sorunun çözülmesi yada kontrol altına alınması için FAO (Gıda ve Tarım Örgütü) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü)'nun yaptığı çalışmalar neticesinde 'Pestisit Kalıntı Kodeks Komitesi' kurulmuştur. Bu komitenin kararlarına göre gıdalarda izin verilen maksimum pestisit kalıntı miktarları belirlenmiştir. Türkiye'de de 'Türk Gıda Kodeksi' pestisitlerin maksimum kalıntı limitleri yönetmeliğini yayınlamıştır. Bu yönetmeliğe göre pestisit kullanım sonlandırma tarihinden sonra üretilmiş gıdalar LOD değerine, LOD yoksa 0,01* mg/kg değerine göre değerlendirilir [37].

2.4 Toprakta Pestisit Kalıntısı

Bilinçsizce kullanılan tarım ilaçları toprağın ve yeraltı su kaynaklarının kirlenmesinde en önemli çevre sorunları arasında yer almaktadır. Tarım toprakları üzerinde biriken organik kirleticilerin, pestisitlerin (insektisit, herbisit, fungusit gibi) artışı, toprakta pestisit çalışmalarının önemli olduğu görüşünü doğrulamaktadır. Toprakta bulunan pestisitler adsorpsiyon, buharlaşma, uçma gibi fiziksel mekanizmlarla birlikte biyolojik ve kimyasal yıkıma da uğrayabilmektedir. Bu nedenle toprakta pestisitlerin dönüşümleri üzerindeki çalışmalar önem kazanmıştır. Sediment yada toprakta bulunan pestisitlerin tutulması biyoyararlılığını azalttığını göstermiştir. Toprağın pestisitlerle ve metallerle kirlenmesi toprağın kalitesini düşürmekle birlikte toksik etkiler göstererek çevresel bir sorun haline gelmektedir [38]. Pestisit analitik yöntemlerine ilişkin AB kılavuzu (SANTE 2020/12830), eko toksikolojik olarak ilgili konsantrasyona bağlı olarak topraktaki miktar belirleme sınırlarını 0,005 mg kg⁻¹ veya daha düşük olarak belirlemektedir [8].

2.5 Sularda Pestisit Kalıntısı

İnsanlık için hayati bir öneme sahip olan su kaynaklarını oluşturan yeraltı ve yüzey sularına karışarak her geçen gün su kalitesini tüm dünyada olumsuz etkilemektedir [39]. Pestisitlerin sayısız faydasının olmasının yanında çevremizi kirlüten zararlı maddeler arasında yer almaktadır. Sadece toksik olmakla kalmazlar; aynı zamanda hareketlidirler ve biyoakümülyasyon yeteneğine sahiptirler [40]. Pestisitlerin sucul

ortama geilerinin birçok kaynağı bulunmaktadır. Pestisitler sucul çevrede olduklarında çeşitli proseslere uğarlar.

Fiziksel (birikme, seyrelme, tortu ve difüzyon), kimyasal (hidroliz ve oksitlenme) ve biyokimyasal (biyolojik bozunma, biyolojik taşınma ve biyolojik birikme) proseslere uğrayarak, oldukça büyük toksisiteye sahip bu maddelerin artışına nedenolduları görülür. Pestisitlerin sucul organizmalarda birikmesi durumunda geri dönüştürülemeyen değişiklikler ile çok büyük tehlikelere neden olabilirler [40].

2.6 Gıdalarda Pestisit Kalıntısı

Pestisit kalıntı analizlerinin zorluğu birbirinden farklı fizikokimyasal özelliklere sahip yüzlerce aktif maddenin farklı matrikslerde, aynı anda analiz edilmesi gereksiniminden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle sağlam, hızlı, güvenilir, maliyeti düşük metotların geliştirilmesi önem arz etmektedir. Gaz kromatografisi tekniğinin 1960'lı yılları itibariyle gelişmesiyle birlikte dolgulu kolonların çoklu kalıntı analizlerinde kullanılabileceği anlaşılmıştır. Daha sonraki süreçlerde ise daha yüksek ayırma gücüne sahip olan kapiler kolonlar ile hassasiyeti ve seçiciliği yüksek dedektörlerin geliştirilmesi birden çok analitin eş zamanlı olarak tayin edilebilmesi gerçeği kapiler kolona sahip GC tekniğine olan ilgiyi arttırmıştır. 1970'li yıllarda rutin pestisit analizleri GC sistemi ile birleştirilen elektron yakalama dedektörü (ECD), alev fotometrik dedektörlerle gerçekleştirilmekteydi [41]. Diğer yandan GC analizi mümkün olmayan polar, uçuculuğu düşük ve/veya ısıya karşı duyarlı pestisitlerin analizlerinde yaşanan problemler; 1980 yıllarından itibaren uygun bir ters faz sıvı kromatografisi (HPLC) sistemine entegre edilen UV veya floresans dedektörle birleştirilmesiyle çok büyük oranda aşılabılmıştır. Bu alanda hem kolonlarla hem de dedektörler ile ilgili gelişmeler LC (sıvı kromatografisi) analizlerine olan ilgiyi arttırmıştır. Kütle spektrometreleri ile birleştirilen LC (sıvı kromatografisi) ile birleştirilen LC-MS sistemleri zaman içerisinde pestisit kalıntı analizlerinin tayininde en yaygın kullanılan analitik yöntemler arasında yerini almıştır. Sıralı kütle spektrometre sistemleri (MS/MS), triple quadrupole (TQ), ion trap ve TOF (time of flight) gibi yüksek hassasiyete sahip sistemlerin gelişmesiyle birlikte bu alanda yapılan çalışmaların katma değeri artmıştır.

Kromatografi ve spektroskopi alanındaki gelişmeler; aynı anda çok sayıda pestisitlerin tayin edilmesi, farklı yapılarıdaki birçok pestisitlerin eş zamanlı tayini ve tayin limitlerinin oldukça düşük seviyelere inmesine olanak sağlamıştır. Geleneksel dedektörlerle karşılaştırıldığında, elektrosprey (ESI) veya atmosferik basınçlı kimyasal iyonizasyon (APCI) ile MS cihazlarının kombinasyonu, LC tespitinin hassasiyetini birkaç büyüklük mertebesinde artırmıştır. Ayrıca, tandem kütle spektrometreleri kullanıldığında ve seçilen reaksiyon modunda çalıştırıldığında HPLC kolon değiştirme teknikleri ve kapsamlı numune temizleme prosedürleri gereksiz hale gelir [42]. Toksik kimyasal alımında pestisitlerin diyet almında ülkeler arası kıyaslama yapılması için bu maddelerin tayin edilmesi gerekmektedir. Bu kalıntı miktarları kabul edilebilir günlük miktar (ADI-acceptable daily amount) yada maksimum kalıntı limit değerleri (MRL-maximum residue limit) ile karşılaştırılmaktadır. ADI toksisitenin bir ölçüsü olarak kabul edilirken, MRM ise ulusal ve uluslararası otoriteler tarafından dünya ticaretinin sağlıklı bir şekilde yapılması için oluşturulmuş bir standart değerdir [43], [36].

2.7 Pestisit Tayin Yöntemleri

Pestisitlerin zararlı organizmalara karşı etkinliğinin yüksek olması, hızlı sonuç vererek ürünü toksin salgılayan organizmalardan koruması, bilinçli ve kontrollü bir şekilde kullanıldığında ekonomik katkı sağlaması yaygın kullanılmalarını beraberinde getirmiştir. Pestisitlerin bu kadar yaygın olarak kullanılmalarına bağlı olarak tayinleri de oldukça önem arz etmektedir. Pestisitlerin tayininde volumetrik, elektroforetik, spektroskopik, kromatografik, elektroanalitik yöntemler gibi pekçok yöntem kullanılabilmektedir [44].

2.7.1 Pestisitlerin Volumetrik Tayini

Ditiyokarbamat grubu pestisitlerin tayinine yönelik çalışmalar, pestisitlerin asidik ortamda hidrolize olması sonucu oluşan karbondisülfürün (CS_2) tayinine dayanmaktadır. Clarke ve ark.(1951) patates örneklerindeki ditiyokarbamat (DC) grubu pestisitlerden oluşan CS_2 'in tayin edilmesi için iyotla titrasyonuna dayanan bir yöntem geliştirmişlerdir. Geliştirilen bu yöntemle düşük geri kazanım sonuçları elde etmişlerdir.

Lowen, Clarke ve ark. CS₂'I bakır asetat-dietilamin ile muamele ederek oluşan CS₂'i kolorimetrik olarak tayin etmişlerdir. Bu yöntemi çeşitli matrislere uygulamışlar ve Zineb ve Nabam analitleri için %75 civarı geri kazanım sonuçları elde etmişlerdir [45].

2.7.2 Pestisitlerin Spektroskopik Yöntemlerle Tayini

Genellikle bilinmeyen bir yapının aydınlatılmasında FT-IR, NMR ve Kütle verilerinin kombinasyonu yeterli olmaktadır. Pestisitlerin spektroskopik yöntemlerle tayininde ultra viyole-görünür bölge spektrofotometresi (UV-VİS), kemilüminesans ve Fourier Transform İnfrared (FTIR) teknikleri de kullanılabilir. Pestisitler alanında UV-Vis. spektroskopi, metal iyonlarının organik ligandlarla, yani pestisitlerle, özellikle geçiş metal iyonlarıyla tespitinde ve etkileşiminde hayati bir rol oynar. Kumar ve ark. (2013) Cu(II)-Glifosat kompleksi çayda pH 5'te 250 nm'de absorbansla incelenmişlerdir. UV-Vis spektrofotometre ile 490 nm'de monokrotofosun tespiti için sıcaklık optimizasyonu ve farklı ajanların (2, 4, dinitrofenilhidrazin ve NaOH) farklı pH noktaları için belirlenmesine yönelik optimizasyonlar yapılmıştır [7].

Yoloğlu (2015) toprak solucanları üzerine tebukonazol (fungisit) ve thiramın (fungisit) toksik etkilerinin araştırılmasına yönelik bir çalışma yapmıştır. Bunun için fungusitlerin toprak solucanları üzerine etkisini biyokimyasal belirteçler kullanarak belirlemiştir. Fraksiyonlama sonucu elde edilen GST, AChE ve CaE enzimleri spektrofotometrik yöntem kullanılarak UV/Vis ile ölçülmüştür [46]. Mathew ve ark. (1995) su, sebze ve tahıllardaki ziram'ın (ditiyokarbamat fungusit) tiyosiyanat ve rodamin 6G yöntemiyle spektrofotometrik tayini için bir analitik yöntem geliştirmişlerdir. Yöntem, ditiokarbamat çinko kompleksinin tiyosiyanat ve rodamin 6G ile pH 4'te jelatin ile stabilize edilmiş pembe renkli bir kompleks oluşturmak üzere ayrışmasına dayanır. Bu yöntem, Mn²⁺ ve Fe³⁺ iyonları içeren benzer ditiokarbamat fungusitlerin girişim etkisinden uzaktır. Su, patates, salatalık ve tahıl örnekleri için geri kazanım değerleri % 95.2-%98.8 aralığında elde edilmiştir [47].

2.7.3 Pestisitlerin Kromatografik Yöntemlerle Tayini

Pestisit kalıntılarının izlenmesi, tarımda dünya çapında artan talep nedeniyle önemlidir. Pestisitlerin olumsuz etkileri, ekosistem ve insan sağlığı için büyük

ölçüde tanımlanmış olup, bu maddelerin birleştirildiğinde izole edilenden daha toksik olabileceğini de göstermektedir. Bu kalıntıları çok düşük konsantrasyonlarda ölçmek için, analitik yöntemlerin yüksek seçicilik ve doğruluğa sahip olması gerekmektedir. Bu nedenle analitik yöntemin çoklu kalıntı yöntemi olarak bilinen tek seferde çok sayıda bileşiği analiz edebilir özellikte olması beklenmektedir [48], [49]. Belmonte ve ark.(2022) kuaterner amonyum pestisitlerinin su örneklerinde kromatografik ve non-kromatografik yöntemlerle tayin edilmesi için analitik bir yöntem geliştirmişlerdir. Çok polar yapıda olan bu kuaterner pestisitlerin tayini için HILIC kolon kullanmışlardır [50]. Pestisit kalıntılarının tayini için kullanılan en fazla metodolojinin kromatografik metotlar olduğu bilinmektedir. Özellikle çok polar olan (kuat gibi) pestisitlerin tayininde kromatografik gerekliliklerin tamamlanması için iyon eşleştirme ters faz kromatografisi ve yeni kolon dolgu malzemesi uygulamaları gelişmektedir. Kolon dolgu malzemesi olarak hidrofilik özelliklere sahip, zwitter iyon ve karışım halindeki kimyasallar kullanılmaktadır. Özellikle bu alanda HILIC kolonların kullanılmasıyla polar pestisitlerin tayini için aşama kaydedilmiştir. HILIC kolon, geleneksel C18 kolonlara göre polar pestisitlerin kolonda alıkonması için anyonik iyon çifti reaktifine ihtiyaç duymaması ve MS sinyalinde azaltıcı etki gösteren kimyasallar olmaması yönüyle avantajlıdır. Yine düşük derişimlerdeki pestisitlerin tayini önem kazanmıştır. Pestisitlerin içinde bulundukları matrikslerin karmaşık olması nedeniyle ekstraksiyon/prekonsantrasyon yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Çoklu kalıntı analizlerinin miktar tayininde örnek hazırlama basamağında özellikle katı faz ekstraksiyonu (SPE), katı faz miktoekstraksiyonu tercih edilmektedir (SPME). Hem katı faz ekstraksiyonu (SPE) hem de katı faz miktoekstraksiyonu (SPME)'da kullanılan sorbentlerdeki kaplama materyali çeşitliliği farklı matrikslerde bulunan özellikle polar pestisitlerin tayininde avantaj sağlamaktadır. Bununla birlikte kullanılan cihazlardaki yüksek çözünürlük teknolojileri (HR-MS) Orbitrap ve Time-of-flight (uçuş zamanlı) kütle analizörlerine olan ilgiyi artırmıştır [50]. Yüksek çözünürlüklü kütle analizörüne sahip cihazların kullanımının artmasıyla birlikte çok sayıda organik bileşiğin yapısının aydınlatılması mümkün hale gelmiştir [51].

Kmellar ve ark. (2011) sebze örneklerindeki 150 adet pestisit tayininde kullanılan LC-MS/MS sistemi üzerindeki birkaç operasyonel parametrenin etkisi incelenmiştir. Farklı modifiye edicilerin analitlerin hem alkonma zamanları hem de

analitik cevapları üzerine etkisine ve kolon sıcaklığının alkonma süresine ve analit cevabına etkisi incelenmiştir [52].

Carvalho ve ark. (2008) sudaki 14 farklı kimyasal pestisit grubunu değerlendirmek için LC-MS/MS sistemini kullanmıştır. Analitler Atlantis dC18 (2.1 mm i.d. × 100 mm, 3 µm) kolonda, amonyum asetat tamponu kullanılarak ayrılmıştır. ISO/IEC 17025:2005 karedistasyon metodolojisine uygun olarak kalıntı analizi için metod geliştirilmiştir. Örnek hazırlama basamağında katı faz mikroekstraksiyon yöntemi kullanılmış olup sonuçların doğruluğu laboratuvarlar arası yapılan karşılaştırmada z- skor < 2 bulunmuştur. Analitler için miktarlandırma limit değeri (0.050 µg/L) (LOQ) pestisitler için belirlenen zorunlu eşik değerin (0.10µg/L) altında bulunmuştur [53].

Choi ve ark. (2015) yumurta ve yumurta ürünlerinde bulunan pestisitlerin tayini için QuEChERS yöntemi uygulanmış ve valide edilmiştir. Yöntem tamponlanmış asetonitril ile ekstraksiyon basamağı, dağıtıcı sorbentler ile temizleme aşamalarından sonra analitlerin LC-MS/MS analizlerinden oluşmaktadır. Yumurta ve yumurta ürünlerinde geri kazanım değerleri %78 ile %108 aralığında elde edilirken bağıl standart sapmalar %2-13 aralığında hesaplanmıştır. Hedef analitler için miktarlandırma limit değeri 0.30-6.0 ng/g aralığında bulunmuştur. Gerçek örneklerde adaptasyonu doğrulamak için 100 yerli yumurta ve 50 ithal yumurta ürününün izlenmesi gerçekleştirilmiştir. Hiçbir numune, maksimum kalıntı limitini (MRL) aşan kalıntı içermediği görülmüştür. Carbendazim, dimethoate ve pirimicarb'ın her biri yumurta sarısında 2 ng/g seviyesinde, aynı numunede, MRL'leri olan 50-100 ng/g'nin çok altında bulunmuştur [54].

Galani ve ark. (2018) Kamerun'un batı dağlık bölgesinde başlıca tarım ürünlerinde bulunan 99 pestisit kalıntısının QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effect, Rugged, and Safe) yöntemiyle ekstrakte edildikten sonra ve LC-MS/MS ve GC-ECD sistemleri kullanılarak değerlendirilmesine yönelik bir çalışma yapmışlardır.

81 pestisit analiti için LC-MS/MS sisteminde LOQ değerleri 0.0004-0.0537 mg/kg arasında bulunurken, 18 halojenli pestisit GC-ECD sistemindeki analizleri sonucu LOQ değerleri 0.0012-0.2180 mg/kg aralığında bulunmuştur. Alınan örneklerde 12'si yasaklı pestisit olmak üzere 62 pestisit kalıntısına rastlanmıştır.

İnsektisitler (%39.7) en yaygın grup olarak tespit edilirken tüm numunelerde en az 1 pestisit tespit edilmiştir [55].



3

MİKROEKTSRAKSİYON VE ÖRNEK HAZIRLAMA YÖNTEMLERİ

3.1 Homojenizasyon

Katı örneklerde, örnek büyüklüğünün aynı olması çok önemli olduğundan ve homojenizasyon genellikle mikser, parçalayıcı veya sonikatör yardımıyla gerçekleştirilebilir. Homojenizasyon işleminden sonra örneklerin doğal su içeriklerinin değiştirilmemesi tercih edilir. İçerisinde çok fazla su içeren örnekler suyun bağlanması için sodyum sülfat gibi kurutucu ajanlarla muamele edilebilir, fakat bu durumda kullanılacak ajanın da aranan pestisitlerden saf olması için yüksek ısıya maruz bırakılması gibi ek işlemlere ihtiyaç duyulmaktadır [5] [56].

3.2 Ekstraksiyon

Pestisitlerin analizinin doğru bir şekilde yapılması için en önemli basamaklardan biridir. Geçmişten günümüze kadar uygulanan klasik ekstraksiyon yönteminde, organik çözücüler kullanılarak pestisitlerin polar olmayan örneklerden ayrılır. Yüksek su içeriğine sahip örnekler genellikle asetronitril, aseton, etil asetat ve metanol gibi organik çözücülerle ekstrakte edilirken, hayvansal kaynaklı örneklerden pestisitlerin ekstraksiyonunda diklorometan ve hegzan gibi organik çözücüler kullanılabilmektedir [57].

3.3 Mikroekstraksiyon

Ayırma ve zenginleştirme işlemleri sayesinde karmaşık örnekler analize uygun hale getirilir. Örnek hazırlarken genellikle sıvı-sıvı ekstraksiyon, katı-sıvı ekstraksiyon ve katı faz ekstraksiyon gibi yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat bu yöntemlerin uygulanabilirliğinde otomasyon zorluklarının olması, örnek ve organik çözücü tüketiminin fazla olması gibi dezavantajları vardır. Zararlı kimyasalların büyük miktarlarda kullanılması çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bu nedenle

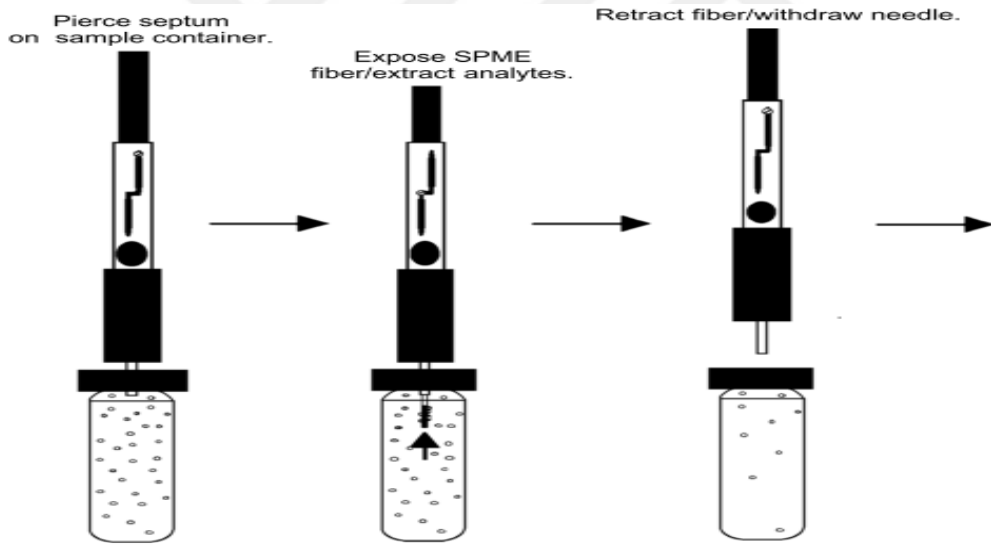
örnek hazırlarken kullanılan çözücü tüketiminin az olması, örnek hazırlama basamağının basit olması gibi parametreler önem kazanmıştır [58] [59].

3.3.1 Katı Faz Mikroekstraksiyonu (SPME)

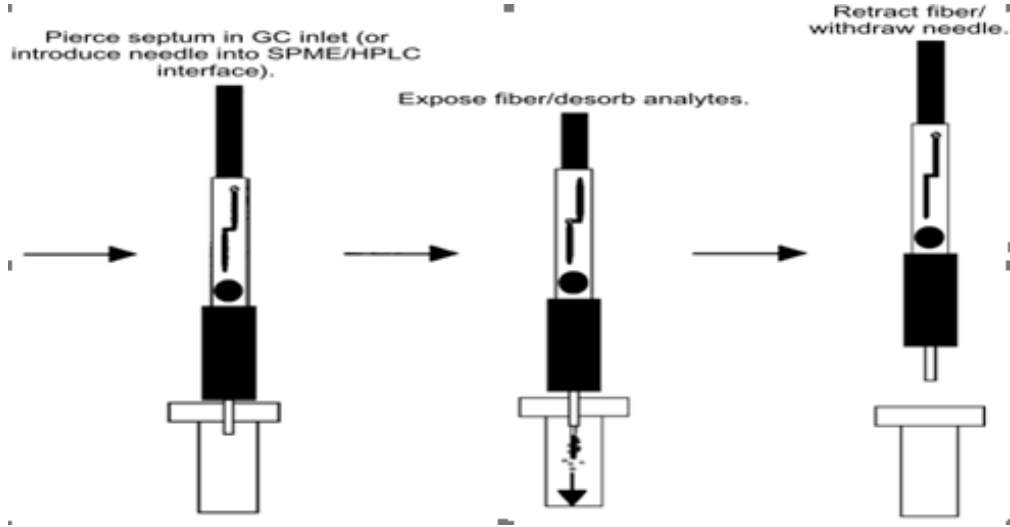
SPME yöntemi ergitilmiş silika üzerine polimer kaplı fibere farklı matrislerdeki maddelerin ekstrakte edilmesi prensibine dayanan basit, hızlı, duyarlı ve organik çözücüden bağımsız bir örnek hazırlama tekniklerinden biridir. SPME sistemine ait enjektör sistemi aşağıda görülmektedir. Polimerik adsorban ile kaplanmış ergitilmiş silika SPME enjektörünün içine yerleştirildikten sonra enjektör analiz edilecek örnek çözeltisine yerleştirilir. Piston aşağı doğru itirilerek ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesi beklenir. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra fiber tekrar geri çekilir.

Katı faz ekstraksiyon prosedürü aşağıda verilmiştir [60].

Ekstraksiyon Prosedürü;



Desorpsiyon prosedürü;



Şekil 3.1 Katı faz mikroekstraksiyon (SPME) sistemi

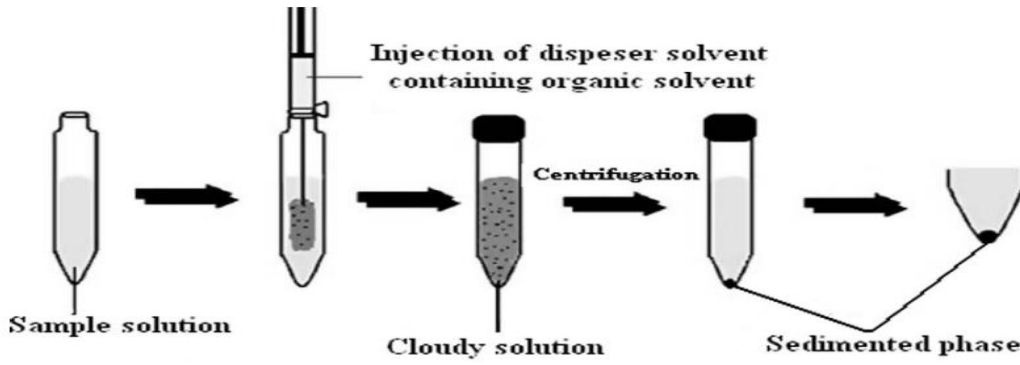
Gaz kromatografisi (GC) ile katı faz mikroekstraksiyon (SPME) kombine edildiğinde uçucu kalıntıların tayin edilmesinde kullanılan kolay, ucuz ve hızlı bir yöntemdir [61]. SPME tarama yöntemi kalitatif bilgi verme konusunda yardımcı olur [62]. Pestisit analizlerinde SPME 33 uygulaması ön bir ekstraksiyon aşaması gerektirmektedir. Meyve ve meyve sularındaki organofosforlu pestisit analizlerinin tespit edilmesi ve validasyonunun gerçekleştirilmesi için pestisitlerin analizleri öncesinde, örnek hazırlama basamağında katı faz mikroekstraksiyonundan yararlanılmıştır [63].

3.3.2 Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (DLLME)

Dağıtıcı ve ekstraksiyon çözelti karışımının küçük miktarlarının hedef maddeleri içeren sulu örnek içerisine enjekte edilmesiyle uygulanmaktadır. Enjeksiyon sonucu çözelti içerisinde bulutlanma oluşmakta ve ekstraksiyon çözücüsü küçük damlacık formuna dönüşmektedir. Bu ekstraksiyonda iyi damlacıkların oluşması kullanılan ekstraksiyon çözeltisine göre değişmektedir.

Hedef analitleri de içeren sulu örnek ile ekstraksiyon çözeltisi arasında oluşan denge sonucu ekstraksiyon çözeltisinde bir zenginleştirme gerçekleştirilmiş olur. Karışımın santrifüjlenmesi sonucu örnek tüpünün dibinde toplanan küçük damlacıklar enjektörle alınarak analiz edilir.

Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) sistemi aşağıda verilmiştir [58].



Şekil 3.2 Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) sistemi

Ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılacak çözücünün yoğunluğu sudan daha fazla olmalı ve suyla karışmaması gerekmektedir (kloroform, klorobenzen, karbontetra klorür gibi). Dağıtıcı çözücü olarak su ile karışabilen polar çözücülerin kullanılması gerekmektedir (metanol, etanol, aseton, asetonitril gibi) [58], [59], [64].

3.3.3 QuEChERS Metodu

Gıda, çevre, organik kirleticiler ile pestisit kalıntı analizlerinde son yıllarda en fazla kullanılan yöntemlerden biri olan QuEChERS (Hızlı, Kolay, Ucuz, Etkili, Sağlam ve Güvenli) oldukça ilgi görmüş ve yaygın olarak kullanılan bir numune hazırlama tekniği haline gelmiştir. Karmaşık numune matrislerinden analitlerin ekstrakte edilmesi için bir dizi adım içerirken, girişim yapan bileşiklerin birlikte ekstraksiyonunu en aza indirir. Anastassiades ve ark. 2003’de, çoklu pestisitlerin farklı yapıya sahip örnek matrislerinde analizini sağlayan hızlı, zor, pahalı olmayan, etkili, sağlam ve güvenilir bir metot olarak tanımlamıştır [65].

2003 yılında yayınlanan orijinal metodun ardından iki versiyonu (AOAC Official Method 2007.01 ve EN Method 15662) daha yayınlanmıştır. Pestisit kalıntı analizleri için pekçok analitik metot geliştirilmiştir. Pestisit kalıntı analizlerinde elektron yakalama dedektörü (ECD-electron capture dedector), azot-fosfor dedektörü (NPD- nitrogen phosphorus dedector), alev fotometrik dedektör (flame photometric dedector) gibi farklı dedektör içeren gaz kromatografisi ve diyet dizini dedektör, floresans dedektör (FD-flouresans dedector) gibi dedektörler içeren sıvı kromatografi cihazları ile yapılabilmektedir. Bunların dışında kütle spektrometresi ile birleştirilmiş gaz veya sıvı kromatografisi cihazlarının kullanıldığı metotlar (GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS, LC-MS/MS) hassasiyet ve seçiciliklerinin yüksek

olması nedeniyle pestisit analizlerinde yaygın olarak kullanılan teknikler arasında yerini almıştır [66], [67], [68].

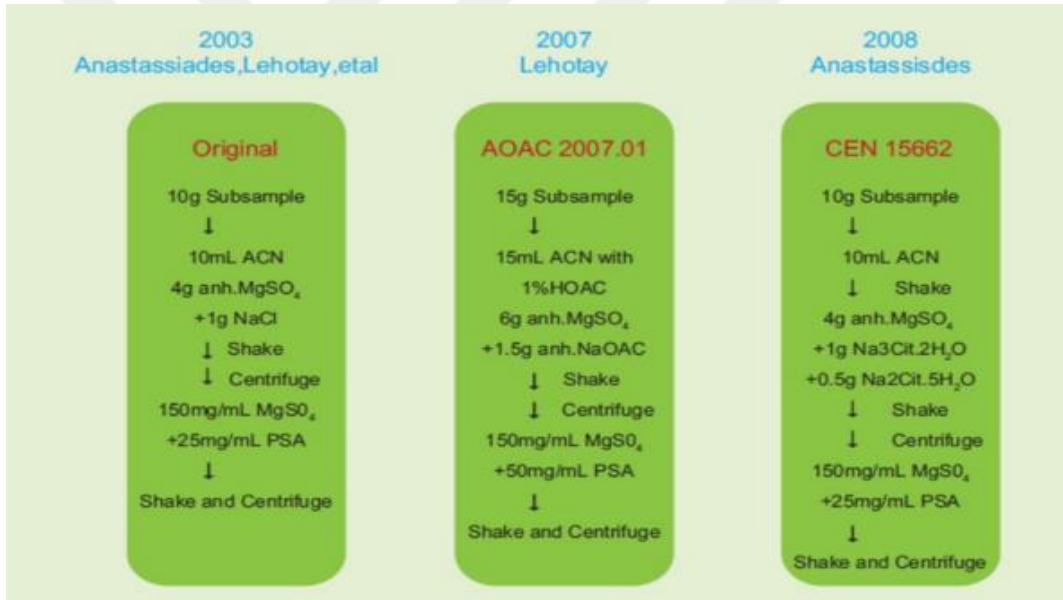
- ✓ **Örnek Toplama:** Meyve, sebze veya çevresel numuneler gibi hedef matrisin temsili bir örneğini toplayın.
- ✓ **Numune Hazırlama:** Analitlerin eşit dağılımını sağlamak için numuneyi gerektiği gibi homojenize edin ve hazırlayın (örn. öğütme, kesme).
- ✓ **Ekstraksiyon:** Organik bir çözücü (genellikle asetonitril) kullanarak analitleri numuneden ekstrakte edin ve analitlerin organik faza bölünmesini artırmak için bir tuz karışımı (örneğin magnezyum sülfat ve sodyum klorür) ekleyin.
- ✓ **Bölümleme:** Karışımı iki faza ayırmak için santrifüjleyin: analitleri içeren organik bir faz ve birlikte ekstrakte edilmiş matris bileşenlerini içeren sulu bir faz.
- ✓ **Temizleme:** Birlikte ekstrakte edilen matris girişimlerini daha da azaltmak için dispersif katı faz ekstraksiyonu (d-SPE) kullanarak bir temizleme adımı gerçekleştirin. Bu, organik faza bir sorbent (örneğin grafitleştirilmiş karbon siyahı) eklenmesini ve ardından sorbenti çözücüden ayırmak için santrifüjlemeyi içerir.
- ✓ **Analiz:** Temizlenmiş ekstraktı gaz kromatografisi (GC) veya sıvı kromatografisi (LC) gibi uygun bir analitik teknik kullanarak analiz edin ve kantitatif belirleme için bir dedektörle (örn. kütle spektrometrisi) birleştirin.

3.4 QuEChERS Metodu Avantajları

- ✓ Yüksek Verimlilik: QuEChERS, karmaşık matrislerden çok çeşitli analitlerin ekstraksiyonunda verimli ve etkilidir.
- ✓ Basitlik: Yöntem nispeten basit ve hızlıdır, bu da onu rutin analizler için uygun hale getirir.
- ✓ Uygun Maliyetli: QuEChERS, diğer numune hazırlama tekniklerine kıyasla uygun maliyetlidir.
- ✓ Geniş Uygulanabilirlik: Meyve, sebze, tahıl ve çevresel numuneler dahil olmak üzere çeşitli numune türlerine uygulanabilir.

- ✓ Minimize Edilmiş Solvent Kullanımı: Yöntem minimum organik solvent kullanarak çevresel etkiyi azaltır.
- ✓ Tespit limitleri 1 ppb seviyelerine kadar inmiştir.
- ✓ Analiz süreleri oldukça kısalmıştır (~10-50 dak).
- ✓ Geliştirilen yeni teknoloji cihazlar artık uygun maliyetlerle üretilbildiğinden, bu cihazlar birçok laboratuvarı yer almaya başlamıştır
- ✓ Henüz pestisit analizlerinde yaygın kullanım alanı bulmamakla birlikte, time of flight (TOF) sistemleri sağladıkları yüksek hassasiyet ile dikkat çekmektedir.

Şekil 3.3’de QuEChERS metoduna ait farklı yıllarda revize edilmiş uluslararası standartlarca kabul edilen uygulamaları gösterilmiştir.



Şekil 3.3 Uluslararası standartlarca kabul edilen QuEChERS metodunun uygulama şekilleri

Asensio-Ramos ve ark. QuEChERS yönteminin modifiye edilmiş bir versiyonunu, üç farklı toprak türünde (orman, süs ve tarım) on organofosforlu pestisit (yani etoprofos, dimetoat, diazinon, malaoxon, klorpirifos-metil, fenitrothion, malathion, klorpirifos, fenamiphos ve phosmet) ve bir tiyadiazin pestisit (buprofezin) grubunun belirlenmesi için geliştirmişlerdir. Yöntem doğrusalılık, geri kazanım, kesinlik ve doğruluk çalışmalarıyla ve ayrıca güçlü bir matris etkisinin görülmesi nedeniyle üç toprak için matris eşleştirmeli bir kalibrasyon gerçekleştirilerek

doğrulanmıştır. Kantitatif olarak ekstrakte edilemedikleri orman ve süs topraklarındaki malathion ve malaoxon hariç tüm pestisitler ve topraklar için kabul edilebilir geri kazanım değerleri (% 45 ila 96 arasında) elde edilmiştir. Tüm yöntemin tespit limitlerini 0.48 ile 7.78 ng/g arasında elde etmişlerdir. Yöntem son olarak patates yetiştiriciliği için işlenmiş bir topraktaki klorpirifos konsantrasyonunun belirlenmesi için uygulanmıştır [69].

Farajzadeh ve ark. çeşitli sebze, meyve ve nektar örneklerinden farklı pestisitlerin (diazinon, penconazole, oxadiazon, diniconazole ve fenazaquin) ekstraksiyonu ve ön deriştirilmesi için QuEChERS ekstraksiyonu-manyetik katı faz ekstraksiyonu-dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon kombinasyonu ve ardından gaz kromatografisi-alev iyonizasyon tespitine yönelik bir yöntem geliştirmişlerdir. QuEChERS ekstraksiyon yöntemi, numunedeki analitlerin safsızlıklardan ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Birkaç mg manyetik nanopartikül ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{ph}$) çözünmüş analitlerin örneklerden ekstrakte edilmesi için kullanılmıştır. Yüksek zenginleştirme faktörleri elde etmek için bir mikroekstraksiyon prosedürü olan dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyonunu uygulamışlardır. Sentezlenen nanopartiküller taramalı elektron mikroskobu, X-ışını kırınımı ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometre ile karakterize edilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşulları altında, tespit ve miktar belirleme sınırları sırasıyla 0.21-0.34 ve 0.69-1.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ aralığında elde edilmiştir. Kalibrasyon grafiklerine ait R^2 değeri ≥ 0.9930 olarak elde edilmiştir. Analitlerin tayini için yüksek zenginleştirme faktörleri (245-351) ve ekstraksiyon geri kazanımları (%49-70) elde edilmiştir. Bağlı standart sapma, gün içi ($n = 6$) ve günler arası ($n = 4$) kesinlikler için $\leq \%9$ elde etmişlerdir [70].

SIVI KROMATOĞRAFI-UÇUŞ ZAMANLI KÜTLE SPEKTROMETRESİ

4.1 Kromatografi

Kromatografik ayırma ilk olarak 1906'da Mikhail Tswett tarafından klorofil pigmentinin ayrılmasında kullanılmasıyla birlikte biyokimyasal moleküllerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde ve hatta tanımlanmasında kullanılarak önemli bir ölçüm tekniği olarak yerini almıştır [71]. Kromatografi, uygun bir çözücü ortamına konan karışım içerisindeki analitlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre çözünerek ayrılması prensibine dayanır [72], [71].

4.2 Kromatografiye ait terimler

4.2.1 Mobil Faz

Numunenin sabit (kolon) bir faz üzerinde taşınmasını sağlayan belli fiziksel ve kimyasal özelliklere göre oluşturulan karışımlardır. Mobil fazın bileşimi ve pH değeri analitlerin birbirinden ayrılmasını etkileyen en önemli parametlerden biridir. Kullanılacak mobil faz seçiminde analitin/analitlerin özellikleri, kullanılacak sabit faz (kolon) ve dedektör özellikleri göz önünde bulundurularak karar verilir.

4.2.2 Sabit Faz

Analitlerin düzgün olarak ayrılmasında kolonun önemi çoktur. Mobil fazla birlikte taşınan analitlerin, etkileşime girdikleri ve alıkonuldukları fazdır. Bir kromatografik sistemin performansını, kolonda gerçekleştirilen ayırma ile yani, kolon dolgu maddesinin seçilmesi belirler. Sıvı kromatografide kullanılan kolonlar genellikle fonksiyonel grup eklenmiş silika veya polimer bazlıdır. Dolgu maddelerinin tanecik büyüklüklerinin 1.5-10 mikrometre aralığında olması tercih edilir [73].

4.2.3 Alıkonma Zamanı

Mobil fazın sürüklediği, analizi yapılacak numuneye ait bileşenlerin sabit faz ile etkileşime girerek, belirli oranda tutulması, yavaşlatılması ve böylece daha geç olarak sabit fazı terk etmesi olayına ‘alıkonma süresi’ denir ve t_r olarak ifade edilir. Diğer bir ifade ile sabit fazın hidrokarbon zincirleri ile analitin hidrokarbon zincirleri arasındaki hidrofobik etkileşime dayanır [74]. Belirlenmiş optimum koşullar altında her maddenin parmak izi olarak tanımlanan alıkonma süresi elde edilebilmektedir. Sabit faz, mobil faz ve numunede yer alan analitler arasındaki etkileşimin türü: “Yüzey tutunması veya adsorpsiyon” ile “çözünürlük” esasına dayanmaktadır [71].

4.3 Kromatografik Yöntemlerin Sınıflandırılması

Kromatografik yöntemler ayrılma mekanizmalarına, uygulama biçimine, faz tiplerine göre gurplara ayrılmaktadır [75], [74], [76]. Tablo 4.1’de verilmiştir [77].

Tablo 4.1 Kromatografik yöntemlerin sınıflandırılması

Ayrılma Mekanizmalarına göre	Uygulama Biçimine Göre	Faz Tiplerine göre
Adsorpsiyon Kromatografisi	Düzlemsel kromatografi -Kağıt kromatografisi	Sıvı kromatografisi
Partisyon Kromatografisi	-İnce tabaka kromatografisi (TLC)	Sıvı-Katı kromatografisi
İyon Değiştirme Kromatografisi	Kolon kromatografisi -Gaz kromatografisi (GC)	Sıvı-Sıvı kromatografisi
Jel filtrasyon (Moleküler eleme) kromatografisi	-Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)	Gaz kromatografisi

4.4 Kütle Spektrometrisine Genel Bakış

Yüksek performanslı sıvı kromatografisinden türemiştir ve günümüzde birçok alanda bilim insanları tarafından oldukça yaygın bir kullanıma sahiptir [78], [79]. Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi yada sıralı kütle spektrometresi (LC-MS/MS), sıvı kromatografisinin (HPLC) fiziksel ayırma, kütle spektrometrisinin (MS) kütle analizi yeteneklerini yeteneklerini birleştiren ileri analitik kimya

tekniklerinden biridir. Sıvı kromatografisi, çoklu bileşen içeren karışımları ayırırken, kütle spektrometresi, yüksek moleküler özgüllük ve algılama duyarlılığı ile bileşenlerin yapısal kimliğinin elde edilmesini çok büyük oranda sağlar. LC ünitesinde analitik bir kolon kullanılarak birbirinden ayrılmış olan analitler iyonlaştırılarak MS/MS ünitesine gönderilirler. MS/MS ünitesinde; iyonlar ilk quadropolde kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılırlar ve collision cell (çarpiştirma hücresi) olarak bilinen girişim hücresine yönlendirilirler. Çarpiştirma hücresinde kullanılan yüksek saflıktaki azot gazı sayesinde moleküller parçalanarak ikinci quadropole iletilirler. İkinci quadropolde bu ikincil iyonlar da kütle/yük (m/z) oranlarına ayrılarak kütleli olarak tayin edilirler. Aynı m/z oranına sahip pek çok molekül bulunabilirken, aynı parçalanma iyonlarına sahip moleküllerin doğada bulunma oranı 1/10000'e düşmektedir. Bu sıralı MS tekniği (tandem), çevre ve biyolojik matriksler gibi karmaşık örneklerde yaygın olarak analize ihtiyaç duyulan biyokimyasal, organik ve inorganik bileşikler hassas ve duyarlılığı yüksek bir şekilde analiz etmek için tercih edilmektedir. Bu nedenle, LC-MS yada LC-MS/MS, biyoteknoloji, çevresel atıklar, gıda, ilaç, eczacılık, zirai ilaç ve kozmetik endüstrileri gibi çok farklı alanda kullanım bulmuştur. Sıvı kromatografi kütle spektrometreleri yada tandem kütle spektrometreleri ile analitler kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilir. Karmaşık matrikslerde bulunan tekli yada çoklu analitlerin analizinde, eser seviyelerdeki bileşenlerin analizinde, ilaç etken madde ve safsızlık analizleri gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Yine bu analizlere ilave olarak son yıllarda metabolitlerin tayininde yaygın olarak kullanılmaktadır. Toprak, su ve gıda numulerindeki katkı maddelerinin veya pestisitlerin tespit edilmesinde, kan, idrar, doku gibi biyolojik numunelerin hassasiyeti ve doğruluğu yüksek bir şekilde tayin edilmesi noktasında tercih edilmektedir.

Kütle spektrometrisi, analiz edilecek örneğin buharlaştırılması, iyonlaştırılması ve oluşan iyonların kütle/yük değerlerine göre ayrılarak kaydedilmesi işlemleri için kullanılan ileri teknoloji cihazlardır. Burada elektronların enerjisi bileşiğin iyonizasyon potansiyeline kadar ulaşmasırsa, molekülden $1e^-$ ayrılarak pozitif yüklü katyonlar oluşur. Bu oluşan radikal katyona 'moleküler iyon' denir ve M^+ ile gösterilir. Madde moleküllerini bombardıman eden e^- ların enerjisi artırılması durumunda, moleküler iyon daha ileri parçalanımlara uğrar ve (fragmentasyon) oluşan bu küçük molekül ağırlıklı parçalara 'fragman' denir. İyonlaşma ve

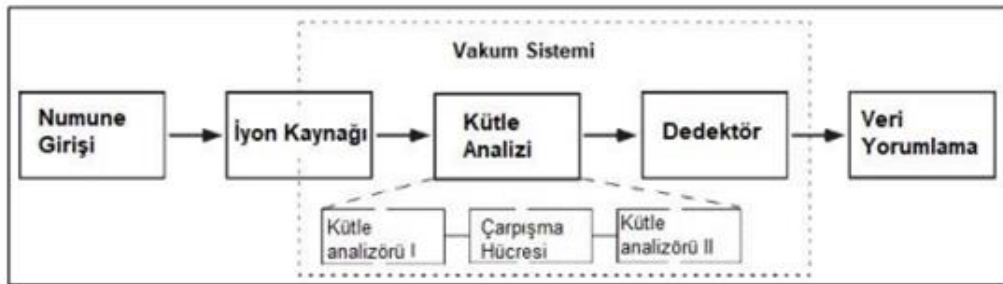
parçalanma sonucunda radikal katyonlar, katyonlar, nötr veya radikal parçacıklar oluşur. Oluşan bu + yüklü parçacıkların yükü her zaman +1 olması sebebiyle m/e değeri molekülün kütlesini verir. Kütle spektrometrisinde hedef; elektron bombardımanı ile oluşan + yüklü parçacıkların kütle/yük (m/e) değerinin bağlı bolluklarına göre grafiğe geçirilmesiyle Kütle Spektrumu'nu elde edilmesidir. Bu spektrumlar molekülün yapısının tayininde kullanılmaktadır.

4.5 Kütle Spektrometre Cihazının Yapısı

Bir sıvı kromatografi sisteminin ekipmanları degasser, pompa, autosampler, dedektör ve görüntüleme sisteminden meydana gelir.

- ✓ Pompa - mobil fazı gerekli akış hızında iletir,
- ✓ Otomatik Örnekleyici - örnekleri enjekte eder,
- ✓ Kolon - bileşenlerin ayrılmasını sağlar,
- ✓ Dedektör - bir numunedeki ayrılmış bileşenlerin analizini sağlar,

Kütle spektrometre, yapısal aydınlatma ve nicelik için analitlerin m/z oranını inceleyen ileri teknik bir sistemdir. Bir kütle spektrometresi; LC ve MS arasında bir arayüz, numuneleri iyonize eden bir iyon kaynağı (örneğin API birimi, ESI), iyon yönlendirici (oluşturulan iyonları MS'ye verimli bir şekilde sokan bir elektrostatik lens), iyonları kütle/yüklerine (m/z) göre ayıran bir kütle analiz cihaz kısmı, ayrılan iyonları tespit eden bir dedektör ünitesinden oluşur. Giriş sistemi aracılığıyla numuneler iyon kaynağına ulaşan numuneler iyonize edilerek buharlaştırılır. Kütle analizörü tarafından ayrıştırılan gaz fazındaki iyonlar veri işleme sistemi tarafından işlendikten sonra iyon yoğunluğuna karşı m/z grafiği olan kütle spektrumuna dönüştürülür. Kütle spektrometresine ait şema Şekil 4.1'de verilmiştir.

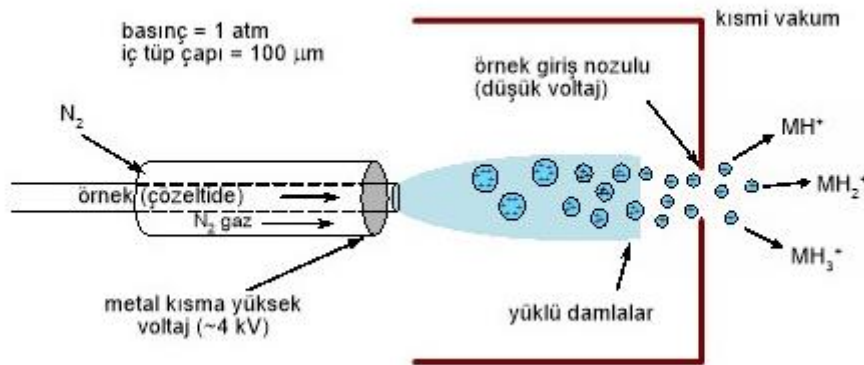


Şekil 4.1 Kütle Spektrometresine ait genel şema

4.6 Elektrosprey İyonizasyon (ESI)

İlk defa 1984 yılında elektrosprey iyonlaştırma proteinler, polipeptitler gibi mol kütlesi 100,000 daltondan büyük oligonükleotitler gibi biyo moleküllerin analizinde kullanılmıştır [80]. Elektrosprey iyonlaştırma; polar ve uçucu olmayan moleküllerin gaz fazına ait iyonlarının oluşturulması için kullanılabilir. Bugün ise kimyasal ve biyokimyasal analizlerde yaygın olarak kullanımı devam etmektedir. Elektrosprey iyonlaştırma ile çok çeşitli maddelerin iyonlaştırılması mümkündür. Büyük kovalent olmayan protein komplekslerinin bile araştırılmasını sağlayan kütle sınırlaması yoktur [81]. MALDI için, analitler katı bir matris içine gömülür ve bir lazer darbesine maruz bırakılarak gaz halindeki iyonlar oluşturulur [82]. Bunun aksine, ESI çözelti fazındaki analitleri gaz fazındaki iyonlara dönüştürür [83]. ESI ve MALDI “yumuşak” iyonlaştırma teknikleridir; yani çok az veya hiç parçalanmaya neden olmazlar. Bu yaklaşım, kovalent bağların kopmasının yaygın olduğu elektron çarpması (EI) ve diğer geleneksel yaklaşımların tersidir. Hem ESI hem de MALDI, $[M + zH]^{z+}$ iyonları üretebilir. MALDI tek başına yüklü türler ($z=1$) oluştururken, ESI iyonlaştırma çoklu yüklemeye sahip ($z \gg 1$) türler oluşturabilir. Çoklu yüklü türlerin oluşturulması sınırlı m/z aralığına sahip kütle spektrometrelerinde büyük analitlerin tayin edilmesine olanak sağlar [84].

Elektrosprey iyonlaştırma düzeneğine ait genel gösterim aşağıda verilmiştir [85].



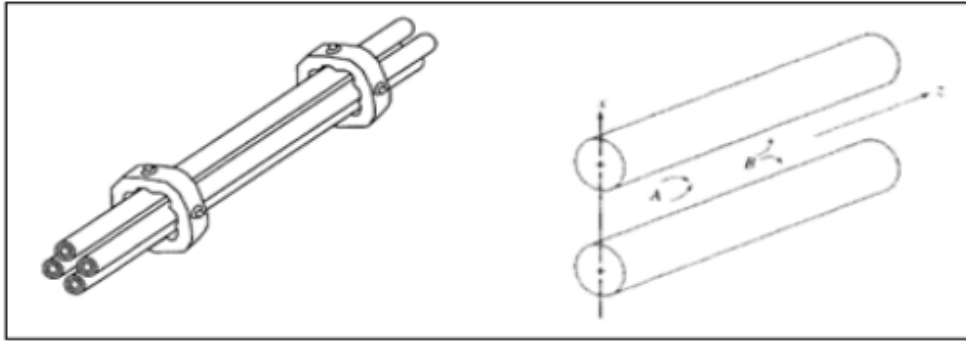
Şekil 4.2 Elektrosprey iyonlaştırma düzeneği

4.7 Kuadrupol Kütle Analizörü

Kütle analizörünün görevi iyonların m/z oranlarına göre ayrılmasıdır. Kütle analizörlerinin magnetik sektörlü, kuadrupol, uçuş zamanlı, iyon tuzaklı gibi çok

çeşitli çalışma prensipleri ve türleri vardır. Kütle analizörü yüksek vakum altında (10^{-6} ile 10^{-9} arasında) çalışır [86]. Dört kutuplu kütle analizörü (quadrupole mass analyzer-QMS), veya Kuadrupol kütle analizörü, kütle spektrometresinde kullanılan bir tür kütle analizörüdür. Bu tip kütle analizörlerinde birbirine paralel 4 silindirik ya da hiperbolik çubuk elektrotlara bir radyo frekansı ve doğru akım alanı uygulanır.

Kutuplu kuadrupole yapısının şematik gösterimi aşağıda verilmiştir [87].



Şekil 4.3 Kutuplu kuadrupole yapısının şematik gösterimi

Uçuş zamanlı (TOF) cihazlarda pozitif yüklü iyonlar numunenin periyodik olarak kısa süreli elektron, ikincil iyon veya lazer pulsaları ile bombardımanı sonucu oluşur.

4.8 Dedektör

Dedektör, her bir analitin mutlak veya bağıl konsantrasyonu olan kütle geçişlerinden veya gelen iyonlardan üretilen sinyali ölçer. İdeal bir dedektörden beklenenler; hızlı tepki, düşük gürültü, yüksek toplama verimliliği, düşük maliyetli, tepkilere dar aralıklarda keskin cevap vermesi, geniş lineer aralık, uzun süreli kararlı ve uzun ömürlü olmalıdır.

4.9 Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometreleri

1946'da W. E. Stephens tarafından yapılmış uçuş zamanlı (TOF) analizörünün görevi farklı m/z oranlarına sahip iyonların uçuşları sırasında belirli uzunlukta, alandan bağımsız bir sürüklenme boyunca zaman içinde dağılmasıdır [88]. Uçuş zamanlı kütle spektrometresi temelde yüklü moleküllerin, yüksek bir elektrik alan içerisinde gücü bilinen bir elektrik alanı tarafından hızlandırılarak bütün kütlelerin aynı ilk enerjiye sahip olmaları sağlandıktan sonra, tüm iyonların 1-1.5 m

uzunluğundaki uçuş tüpü içerisinde uçuşması istenir. İlk enerjileri aynı olmasına rağmen moleküllerin hızları kütleleri ile ters orantılı olduğu için hafif moleküller daha hızlı uçarken, ağır moleküller ise yavaş ilerlemektedir. Bu şekilde tüm moleküllerin kütlelerinin dedektöre ulaşma zamanlarına göre tespit edilmesine dayanan ölçüm tekniği “Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi” olarak adlandırılmaktadır. İyonun hızı, kütle-yük oranına bağlıdır ve aynı yükse sahip iyonlardan ağır olan daha yavaş hızlanır. Böylece moleküler kütlenin tespit edilebildiği, iyon bolluğuna (abundance) karşı m/z oranını gösteren kütle spektrumları elde edilir [89]. Kütle spektrometreleri uzun yıllardır kullanılmasına rağmen teknolojinin gelişmesine bağlı olarak bilgisayar kontrollü son derece hassas kütle spektrometreleri üretilmiştir. Araştırma ve geliştirme çalışmalarında (AR-GE), ve rutin analiz laboratuvarlarında son derece yagın olarak kullanılmaktadır. 1918 yılında Arthur J Dempster’in yaptığı çalışmalar neticesinde elektronların iyonlaşması ve termal iyonlaşma konularındaki ilerlemeler ve 1920’li yıllarda Francis Aston’un izotopların ve kütlelerinin belirlenmesine yönelik yapmış olduğu çalışmalar neticesinde kütle spektrometresi alanında çok önemli bir noktaya gelinmiştir. 1940’lı yıllarda petrol ve kimya endüstrisi gibi ticari alanlarda kütle spektrometrelerinin kullanılmaya başlanmasıyla bu alana ilgi artmıştır. Fenn ve ark. ise 1980’li yıllarda ESI başlıklarını kütle spektrometreleri ile uyumlu çalışır hale getirerek, ESI-MS yöntemini geliştirmişlerdir [90]. Son yıllarda ise kütle spektrometrelerinin hassasiyetlerinin yüksek olması sebebiyle tıp, kimya fizik gibi birçok alanda analiz ve AR-GE laboratuvarlarında çok önemli bir yer edinmiştir [91], [92]. Kütle spektrometresinin temel bileşenleri iyonlaştırıcı kaynak, analizör, detektör, veri işlemcisi ve vakum pompasıdır. Etkili bir ayırmanın gerçekleşmesi için iyonların hava molekülleriyle çarpışması engellenmeli, yani analizör ve dedektör vakumlu ortamda bulunmalıdır. İyon üretimi ise iyonlaştırma kaynağının türüne göre atmosferik basınç ya da vakum altında gerçekleştirilebilir. Elektromanyetik alanlarda iyonlaşmanın gerçekleşmesi için nötral moleküllerin iyonlara dönüşmesi ve ihtiyaç olması durumunda gaz fazı haline geçmesi gereklidir. Kütle spektrometrelerinde iyon kaynağı olarak iki yumuşak teknik olan elektrosprey (ESI) ve matriks destekli lazer iyonizasyon (MALDI) kullanımı yaygındır [93].

4.10 LC-QTOF-MS/MS ile Yapılan Pestisit Tayinleri

LC-QTOF-MS/MS cihazı yapılan farklı çalışmalar literatürde rapor edilmiştir. LC-QTOF-MS/MS cihazı hem prekürsor hem de parçalanma ürünü için yüksek hassasiyet, yüksek çözünürlük, yüksek kütle doğruluğu sebebiyle trend haline gelmiş analitik sistemler arasında yerini almıştır [94].

Choi ve arkadaşları yumurta ve yumurta ürünlerindeki pestisitlerin tayini için QuEChERS ekstraksiyonu sonrası LC-MS/MS sisteminde yöntem geliştirmişlerdir. Yumurta ve yumurta ürünlerindeki pestisit kalıntı analizi için asetonitril ile ekstrakte edildikten sonra, dağıtıcı sorbentler ile temizlenmesi aşamalarını içermektedir. Çalışmaya ait validasyon parametreleri SANCO/12495/2011 takip edilerek gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar neticesinde 3 tekrarlı geri kazanım değerleri % 71-108 aralığında elde edilirken, bağıl standart sapma %2-13 aralığında bulunmuştur [54].

Niell ve arkadaşları çevre kirliliğinin izlenmesi için ilginç bir matris olan bal mumundaki pestisit kalıntılarının belirlenmesine yönelik analitik bir prosedür doğrulamışlardır. Çalışmada QuEChERS ekstraksiyonu kullanılarak, mum partikül boyutunun, numune miktarının ve temizleme prosedürünün (su ilavesi, dispersif katı faz ekstraksiyonu, dondurma ve bunların kombinasyonları) ekstraksiyon verimi ve koekstrüktif yük üzerindeki etkileri incelenmiştir. 51 adet analiti içeren kalıntı analizleri LC-MS/MS ve GC×GC-TOF kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon çalışmaları neticesinde LC-MS/MS sisteminde LOQ değerleri 0.01 - 0.1 mg/kg aralığında elde edilirken, GC×GC-TOF sistemindeki LOQ değerleri 0.1–0.2 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Matris etkileri değerlendirilerek %70 ile %120 aralığında geri kazanım sonuçları elde etmişlerdir [95].

5

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

5.1 Kullanılan Cihazlar

Bu tez çalışmasında farklı polaritelere sahip pestisitlerin eşzamanlı tayini için sıvı kromatografisi- quadrupol uçuş zamanlı kütle spektrometresinde analitlerin yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayin edilmesi için analitik bir yöntem geliştirilmiştir.



Şekil 5.1 LC-QTOF-MS/MS cihazı

5.1.1 LC- Q/TOF- MS/MS Donanımı

Tüm deneysel çalışmalarda LC-QTOF-MS/MS Agilent Technologies 1260 oto örnekleyici, Degazer ve pompa bulunduran HPLC ünitesine bağlı Agilent 6530 markalı QTOF-MS sistemi kullanılmıştır. LC-QTOF-MS/MS analizlerinde ve sistem analitik performans değerlerinin belirlenmesinde Poroshell 3x150 x 2.7 EC C18 ve Eclipse plus C18 RHD 1.8 μ m 2.1x 50 mm kolon kullanılmıştır.

- ✓ **Pompa:** 1260 Infinity, Binary pump
- ✓ **Otomatik örnekleyici:** 1260 Infinity, HiP ALS (Otomatik Örnekleyici)
- ✓ **Dedektör:** 6530B model kütle dedektörü
- ✓ **Degasser:** 1260 HiP Degasser

5.1.1.1 Deneyisel ve optimizasyon çalışmalarında kullanılan kolonlar

- ✓ Poroshell 3x150 x 2.7 EC C18
- ✓ Eclipse plus C18 RHD 1.8 µm 2.1x 50 mm

5.1.1.2 Diğer Ekipmanlar

- ✓ Mikro pipet: Eppendorf Research Plus (100-1000 µl; 0.5-5 ml; 20-100 µl; 1-20 µl)
- ✓ Hassas terazi: Ohaus explorer
- ✓ pH metre: Metler Toledo, seven compact pH/ion
- ✓ Isıtıcılı Manyetik karıştırıcı: Velp Scientifica, Arec
- ✓ Derin dondurucu: Arçelik Derin Dondurucu, -20C°
- ✓ Vial/insert vial: Agilent
- ✓ Cam malzemeler: Balon joje, beher, erlen, mezü
- ✓ Ultrasonik banyo: Bandelin, sonorex digiplus

5.1.1.3 Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Tüm deneylerde ve optimizasyon çalışmalarında kullanılan kimyasallar yüksek saflıktadır. Ultra saf su/saf su Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarından Milli-Q® Reference System cihazından temin edilmiştir. Pestisit çözeltilerinin herbiri için, 1000 mg/L lik stok standart çözeltiler hazırlanmış olup diğer konsantrasyon değerleri stok çözeltiden analiz günü seyreltilerek hazırlanmıştır. Deneyisel çalışmalarda aşağıdaki kimyasal ve solventler kullanılmıştır;

- ✓ Metanol (>%99): Merck
- ✓ Asetonitril (>%99): Merck
- ✓ Aseton: Merck
- ✓ Hegzan: Merck
- ✓ Amonyum format: Merck
- ✓ Formik asit: Merck
- ✓ Kloroform: Merck
- ✓ Dikloro metan: Merck
- ✓ Dikloroetan: Merck

Tablo 5.1 LC-QTOF-MS/MS ile tayin edilen analitler

1	$C_{10}H_8ClN_3O$	Chloridazon
2	$C_{11}H_{15}NO_3S$	Methiocarb sulfoxide
3	$C_{13}H_{22}NO_3PS$	Fenamiphos
4	$C_{19}H_{14}F_3NO$	Fluridone
5	$C_{20}H_{23}N_3O_2$	Bitertanol
6	$C_{14}H_{17}N_2O_4PS$	Pyridaphenthion
7	$C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$	Thiophanate methyl
8	$C_{11}H_{10}Cl_2F_2N_4O_3S$	Sulfentrazone
9	$C_{15}H_{12}N_2O_2$	Phenytoin (IS olarak)

5.2 Optimizasyon Çalışmaları

Pestisitlerin LC-QTOF-MS/MS sisteminde eser seviyelerde tayinleri için değişken olan tüm parametreler optimize edilmiştir. LC-QTOF-MS/MS sisteminde analitlerin alıkonmalarına yönelik birçok hareketli faz denenmiştir. Deneysel çalışmalar yapılırken, yukarıdaki tabloda verilen analitlerin kalitatif olarak elde edilebileceği ve böylelikle her bir analitin, diğer analitlerden optimum şekilde ayrılmasının sağlanabileceği uygun metotun belirlenmesi amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla, tayin edilecek her bir analiti içeren mix standart çözelti hazırlanmıştır. Mix çözeltisi hazırlanırken her bir analit için toplam matrikse uygun farklı çözücüler kullanılmıştır. Bu doğrultuda, LC-QTOF-MS/MS sisteminde farklı gradient programları denenmiş, denen bu programlar arasından tüm analitler için kalitatif ayrılmanın optimum olduğu gradient programı seçilmeye istenmiştir. Uygulanan tüm gradient programları boyunca iki farklı kolon kullanılmış olup, kolon boyunca mobil faz geçişi için farklı akış hızları da denenmiştir. Ayrıca, koruyucu kolon (guard) da sisteme dahil edilerek asıl kolonda meydana gelebilecek kirlilik sorunlarının önüne geçilmeye çalışılmıştır.

Poroshell 3x150 x 2.7 EC C_{18} ve Eclipse plus C_{18} RHD 1.8 μm 2.1x 50 mm kolonu kullanılarak çok fazla sayıda denemeler yapılmıştır.

Tablo 5.2 Eclipse plus C₁₈ RHD 1.8 µm 2.1x 50 kolonu ile uygulanan mobil faz optimizasyonu

Metot No	Analiz Süresi (min)	Akış Hızı (mL/min)	Kolon Sıcaklığı (°C)	Enjeksiyon Hacmi (µL)	Mobil Faz (A; B)
1	10	0.40	30	10	Amonyum format-Asetonitril
2	10	0.40	30	10	Amonyum format-Asetonitril
3	10	0.40	30	10	Amonyum format-Asetonitril

Mobil faz A: (9:1) Amonyum format: Asetonitril

Mobil faz B: (1:9) Amonyum format: Asetonitril

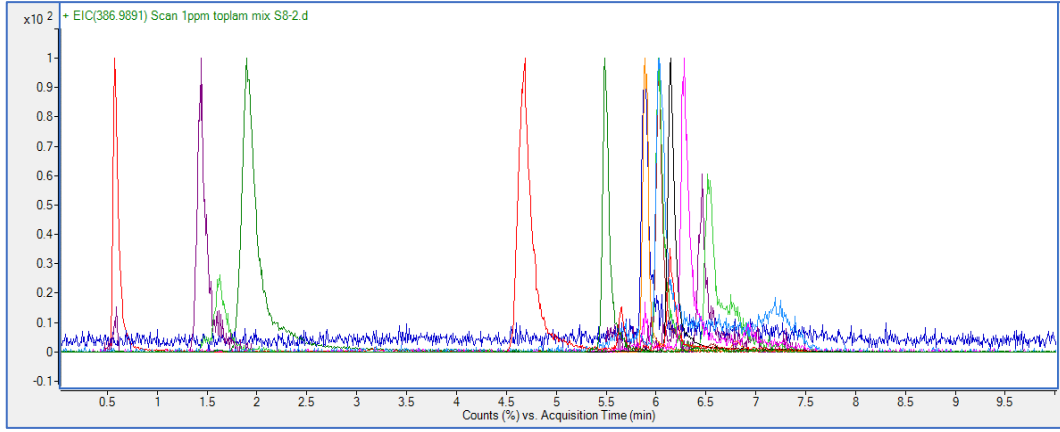
Uygun gradient programı belirlenirken maksimum ayrılma ve minimum analiz süresi hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda, her bir metot için analiz sonucunda elde edilen kromatogramlar çizelge ve şekillerle aşağıda gösterilmiştir.

Tablo 5.3 Metot 1 için uygulanan gradient programı

Gradient Basamakları	Zaman (dakika)	Solvent Bileşimi (A,B)*
1	0.3 min	A= %90 ; B= %10
2	2.50	A= %75 ; B= %25
3	4.00	A= %70 ; B= %30
4	4.01	A= %30 ; B= %70
5	6.00	A= %70 ; B= %30
6	6.01	A= %90 ; B= %10
7	7.00	A= %90 ; B= %10

A= (9:1 - 25 mM Amonyum format : Asetonitril)

B= (1:9 - 25 mM Amonyum format : Asetonitril)



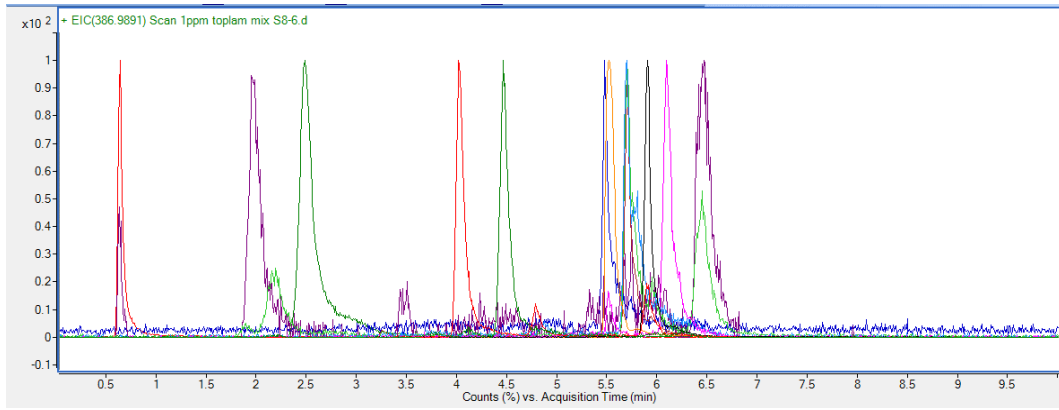
Şekil 5.2 Metot 1 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC)

Metot 2 ile elde edilen kromatogram incelendiğinde, metot 1'e göre daha düzgün pikler elde edilmiştir.

2.5 min'den sonra başlangıçtaki asetonitril miktarının artırılması metot 1 ile elde edilen analit piklerinin alıkonma zamanlarını öne çekmiştir fakat bu koşullar ile değerlendirildiğinde, metot 1'e göre üst üste çakışma görülen pestisitler açısından gerekli ayrılma sağlanamamıştır.

Tablo 5.4 Metot 3 için uygulanan gradient programı

Gradient Basamakları	Zaman (dakika)	Solvent Bileşimi (A,B)*
1	0.6 min	A= %93 ; B= %7
2	2.50	A= %60 ; B= %40
3	4.00	A= %55 ; B= %45
4	4.01	A= %20 ; B= %80
5	5.00	A= %20 ; B= %80
6	5.01	A= %50 ; B= %45
7	7.00	A= %80 ; B= %20
8	7.01	A= %93 ; B= %7



Şekil 5.3 Metot 3 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC)

Eclipse plus C₁₈ RHD 1.8 µm 2.1x 50 ile denenen tüm metotlar incelendiğinde, birçok gradient programı denenmesine rağmen analitler için optimum ayrılma sağlanamadığından başka bir kolon ile çalışmalara devam edilmiştir. Eclipse plus C₁₈ RHD 1.8 µm 2.1x 50 ile elde edilen kromatogramlarda kullanılan değerlendirme kriterleri Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ için elde edilen kromatogramlar için de kullanılmıştır.

Tablo 5.5 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ kolonu ile uygulanan metotlara ait veriler

Metot No	Analiz Süresi (min)	Akış Hızı (mL/min)	Kolon Sıcaklığı (°C)	Enjeksiyon Hacmi (µL)	Mobil Faz (A; B)- (C;D)
4	15	0.25	30	20	A=Formik asit-B=Asetonitril
5	15	0.25	30	20	A=Formik asit-B=Asetonitril
6	15	0.25	30	20	A=Formik asit-B=Asetonitril
7	15	0.4	30	10	C=(9:1)Amonyum format-Asetonitril) D=(1:9) Amonyum format - Asetonitril)
8	15	0.4	30	10	C=(9:1)Amonyum format-Asetonitril) D=(1:9) Amonyum format - Asetonitril)
9	15	0.4	30	10	C=(9:1)Amonyum format-Asetonitril)

					D=(1:9) Amonyum format - Asetonitril)
--	--	--	--	--	---------------------------------------

A= % 0.1 Formik asit – H₂O

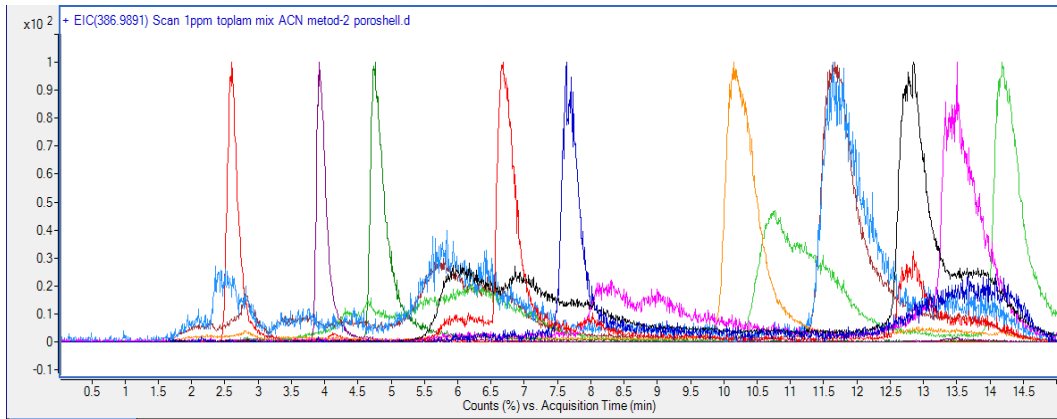
B= (%0.1 Formik asit- Asetonitril)

C= (9:1 - 25 mM Amonyum format : Asetonitril)

D= (1:9 - 25 mM Amonyum format : Asetonitril)

Tablo 5.6 Metot 4 için uygulanan gradient programı

Gradient Basamakları	Zaman (dakika)	Solvent Bileşimi (A,B)*
1	0.6 min	A= %60 ; B= %40
2	1.00	A= %45 ; B= %55
3	8.00	A= %45 ; B= %55
4	9.00	A= %20 ; B= %80
5	10.0	A= %20 ; B= %80
6	10.01	A= %60 ; B= %40



Şekil 5.4 Metot 4 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC)

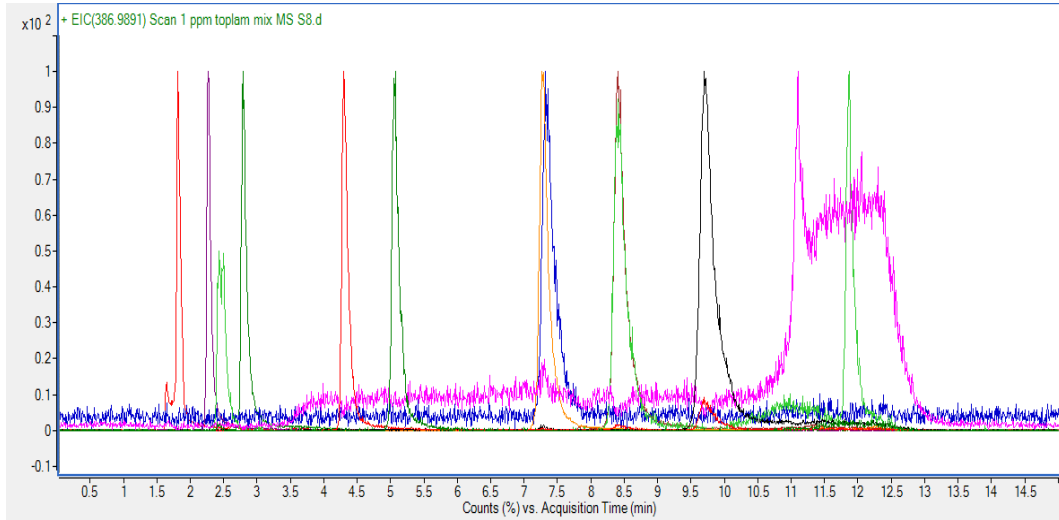
Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ ile denenen formik asit-Asetonitril mobil fazında farklı gradient programları ile asıl hedef olan maksimum ayırma, minimum analiz süresi sağlanamamış olup aynı kolonda farklı mobil fazlar denenmiştir. Çalışmalara metot 7’den itibaren C, D olarak belirtilen mobil fazlar ile devam edilmiştir.

C= (9:1 - 25 mM Amonyum format : Asetonitril)

D= (1:9 - 25 mM Amonyum format : Asetonitril)

Tablo 5.7 Metot 7 için uygulanan gradient programı

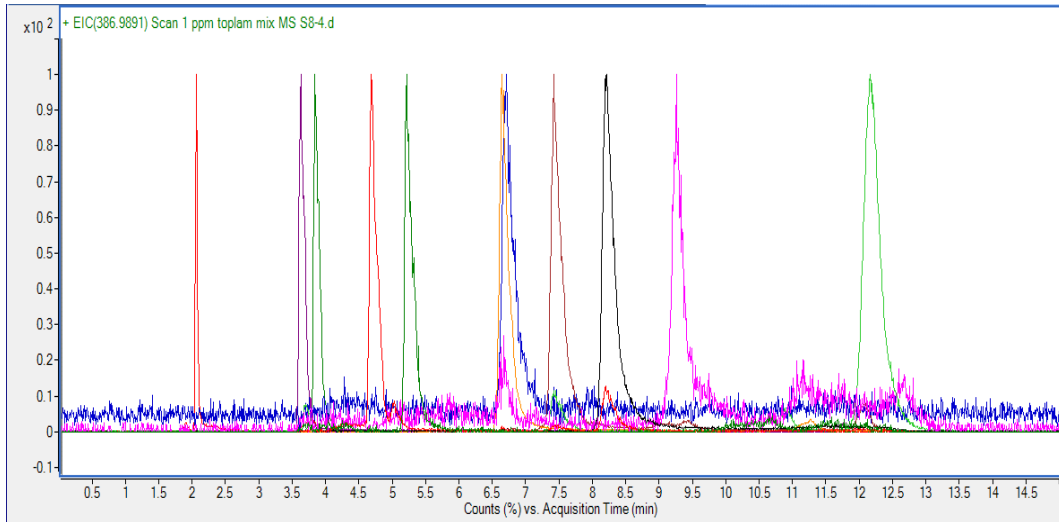
Gradient Basamakları	Zaman (dakika)	Solvent Bileşimi (A,B)*
1	0.6 min	C= %60 ; D= %40
2	1.00	C= %45 ; D= %55
3	8.00	C= %45 ; D= %55
4	9.00	C= %20 ; D= %80
5	10.0	C= %20 ; D= %80
6	10.01	C= %60 ; D= %40



Şekil 5.5 Metot 7 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC)

Tablo 5.8 Metot 8 için uygulanan gradient programı

Gradient Basamakları	Zaman (dakika)	Solvent Bileşimi (A,B)*
1	0.5 min	C= %80 ; D= %20
2	1.00	C= %40 ; D= %60
3	8.00	C= %45 ; D= %60
4	9.00	C= %20 ; D= %80
5	10.0	C= %20 ; D= %80
6	10.01	C= %60 ; D= %20

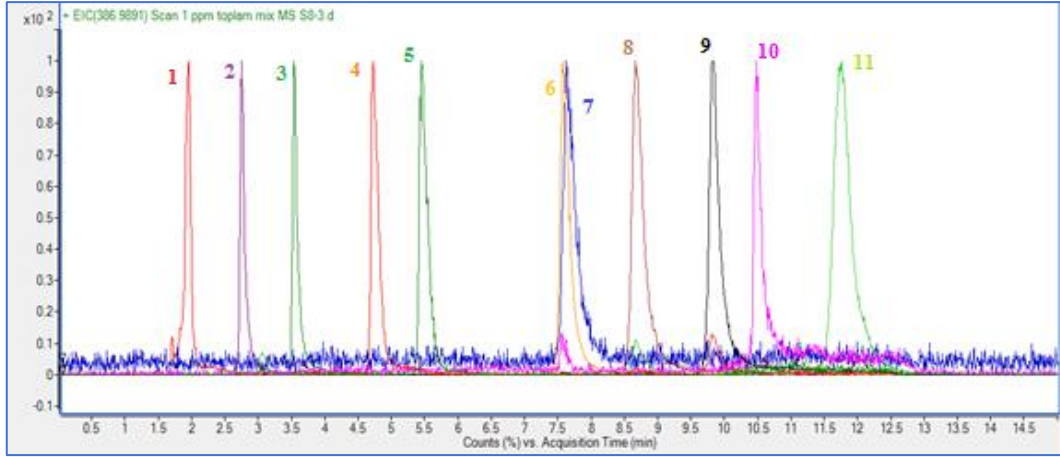


Şekil 5.6 Metot 8 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC)

Metot 8 ile uygulanan gradient programıyla piklerin büyük çoğunluğunda ayırım görülmüştür. 1.min'den itibaren sisteme gönderilen %60'lık ACN oranının yüksek olduğu görülmüş ve ilk pikin kolonda yeteri kadar alıkonmadan kolon ölü zamanda çıktığı görülmüştür.

Tablo 5.9 Metot 9 için uygulanan gradient programı

Gradient Basamakları	Zaman (dakika)	Solvent Bileşimi (A,B)*
1	0.5 min	C= %70 ; D= %30
2	1.00	C= %45 ; D= %55
3	7.00	C= %45 ; D= %55
4	8.00	C= %20 ; D= %80
5	10.00	C= %20 ; D= %80
6	10.01	C= %70 ; D= %30



Şekil 5.7 Metot 9 sonucunda elde edilen ekstrakte edilmiş kromatogram (EIC)

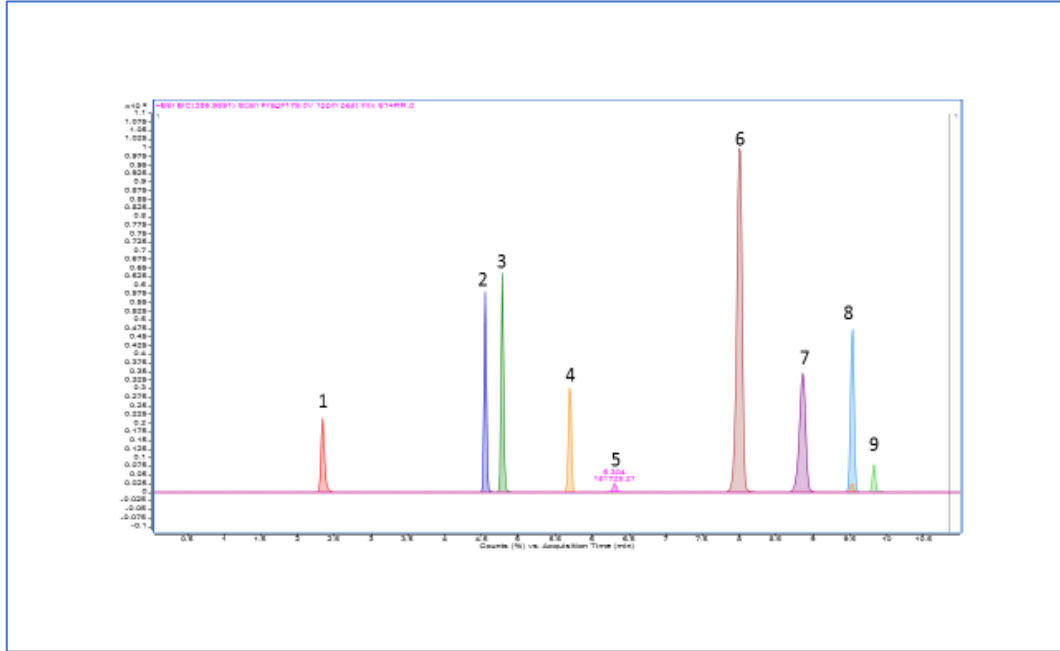
Yapılan tüm denemeler sonucunda değerlendirmeler yapılmış ve elde edilen kromatogramlar incelendiğinde, maksimum ayrılma ve minimum analiz süresi açısından denenen tüm metotlar içerisinde en iyi olarak metot 9 olarak belirlenmiştir. Çalışmanın bu noktasından sonra metot 9' un iyileştirilmesi için mobil fazın oranları üzerinde değişiklik yapılarak ayırmanın en iyi olması amaçlanmıştır. En iyi ayırmanın elde edildiği gradient programı Tablo 5.11 'de gösterilmiştir.

Tablo 5.10 Metot 9 sonucu elde edilen kromatogramdaki piklerin karşılığı

Analit No	Analit	Öncü İyon	Alıkonma zamanı
1	Pymetrozine	218.1064	1.91
2	Methiocarb-sulfoxide	242.0845	2.75
3	Chloridazon	222.0429	3.50
4	Thiophanate methyl	343.0529	4.73
5	Sulfentrazone	386.9891	5.45
6	Fluridone	330.1100	7.58
7	Fenpiclonil	236.9981	7.65
8	Fenamiphos	304.1131	8.69
9	Pyridaphenthion	341.0719	9.83
10	Bitertanol	338.1863	10.48
11	Buprofezin	306.1635	11.73

Tablo 5.11 Metot 10 sonucu uygulanan gradient programı

Gradient Basamakları	Zaman (dakika)	Solvent Bileşimi (A,B)*
1	1.00 min	C= %95 ; D= %5
2	2.00	C= %45 ; D= %55
3	7.00	C= %45 ; D= %55
4	7.01	C= %5 ; D= %95
5	8.50	C= %5 ; D= %95
6	8.51	C= %95 ; D= %5



Şekil 5.8 Metot 10 sonucu 1.0 µg/mL derişimindeki standart çözeltinin LC/QTOF/MS-MS sistemine gönderilmesi sonucu elde edilen EIC kromatogramı

Tablo 5.12 Metot 10 sonucu elde edilen kromatogramdaki piklerin karşılığı

Analit No	Analit	Öncü İyon, m/z
1	Pymetrozine	218.1064
2	Methiocarb- sulfoxide	242.0845
3	Chloridazon	222.0429
4	Thiophanate methyl	343.0529
5	Sulfentrazone	386.9891

6	Fluridone	330.1100
7	Fenamiphos	304.1131
8	Pyridaphenthion	341.0719
9	Bitertanol	338.1863

Metot 9 sonucu elde edilen analitlere daha sonraki süreçlerde dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon denemeleri uygulanmıştır. Metot 9 sonucu çok yüksek oranda piklerin birbirinden ayrılması sağlanmasına rağmen DLLME uygulaması sonucunda LC/QTOF/MS-MS sisteminde Fenpiclonil (m/z, 236.9981) ve fenamiphos (m/z, 334.1131) pikleri elde edilememiştir. Bundan sonraki çalışmalarda optimizasyon basamaklarının belirlenmesinde Tablo 5.12’de gösterilen analitler ile devam edilmiştir. Maksimum ayrılma ve minimum analiz süresi açısından denenen tüm metotlar içerisinde en iyi metoda ait kromatogram verilmiştir. Ayrılmanın optimum olduğu gradient programı bulunduktan sonra, cihaz parametrelerinin optimize edilmesi için çalışılmıştır. Optimize edilmeye çalışılan cihaz parametreleri aşağıda sıralanmıştır. Toplam analiz süresi 15 min olarak belirlenmiştir.

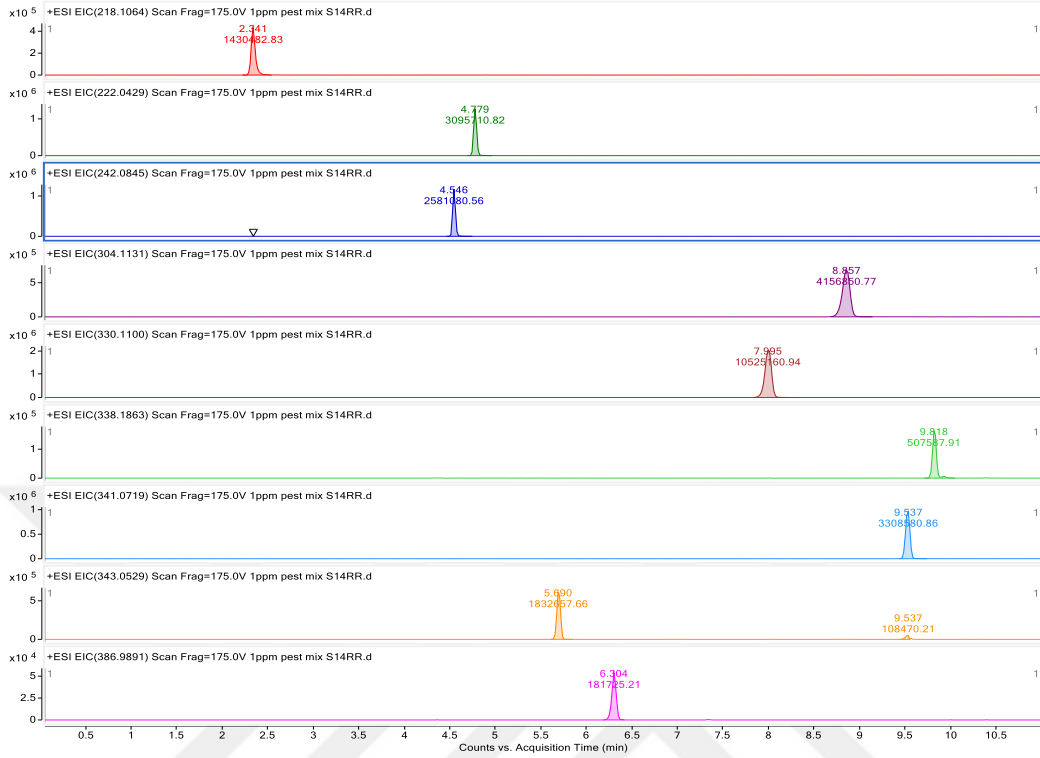
- ✓ Akış Hızı (mL/min)
- ✓ Kolon Sıcaklığı (°C)
- ✓ Enjeksiyon Hacmi (µL)
- ✓ Kurutma Gaz Sıcaklığı (°C)
- ✓ Kurutma Gaz Akış Hızı (L/min)
- ✓ Nebulizer Basıncı (psig)
- ✓ Fragmentor Voltajı (V)
- ✓ Kapiler Voltajı, VCap (V)

5.2.1 LC- QTOF-MS/MS sistemine ait optimizasyon çalışmaları

5.2.1.1 Kurutma Gazı Sıcaklığı

LC-QTOF-MS/MS sisteminde analitlerin maksimum performansla en kısa analiz süresinde birbirinden ayrılması için çeşitli optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Kurutma gaz sıcaklığı olarak 250-300-350 C° ’de 1.0 µg/mL derişimindeki mix

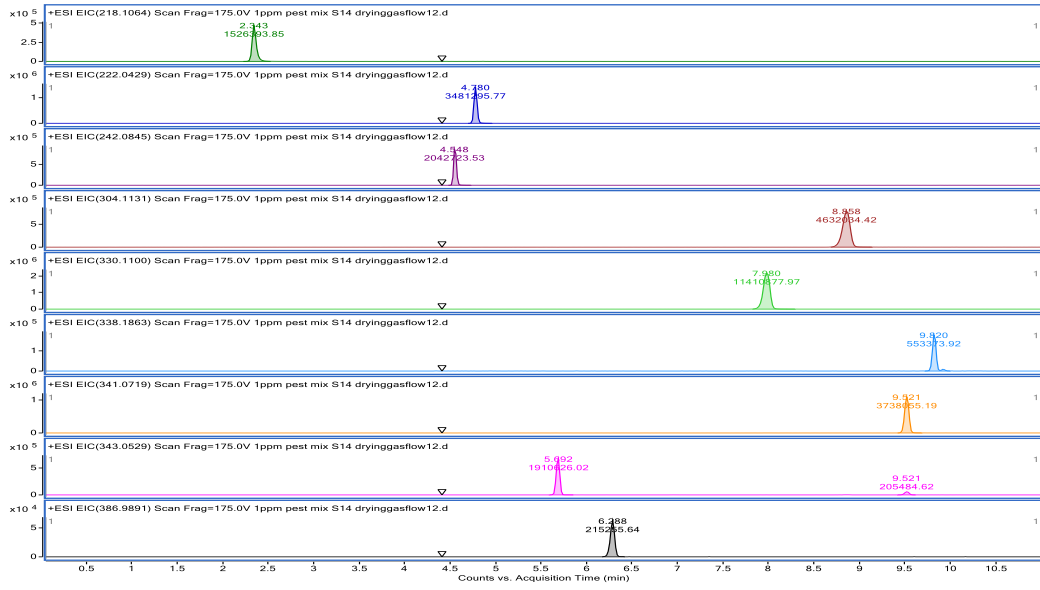
standart çözelti kullanılarak denenmeler yapılmış ve maksimum pik alanı 300C° de edilmiştir. Şekilde 5.9’da EIC kromatogram verilmiştir.



Şekil 5.9 1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle farklı kurutma gazı sıcaklıklarına ait EIC kromatogram

5.2.1.2 Kurutma Gazı Akış Hızı

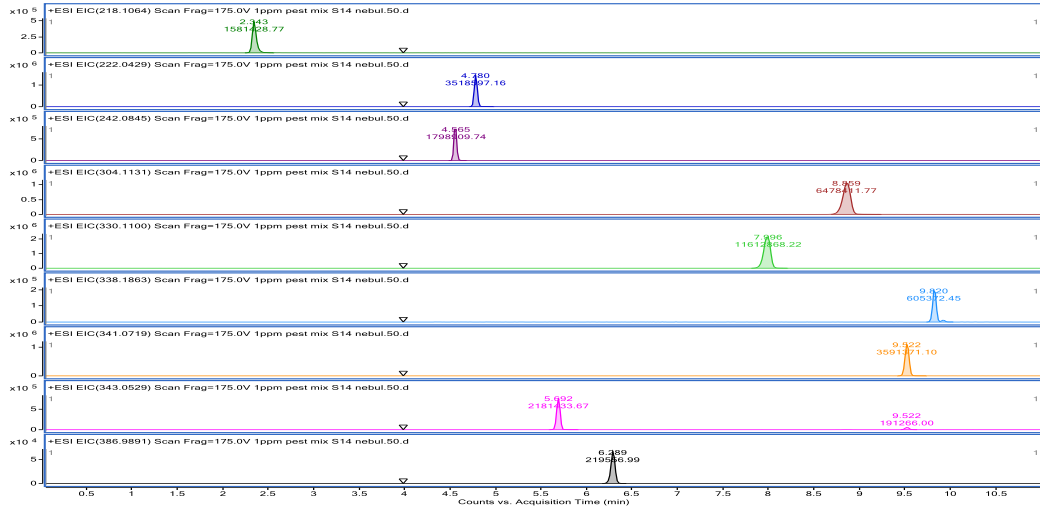
Kurutma gazı olarak kullanılan azot gazının akış hızının belirlenmesi için 8.0 -10 -12 L/min akış hızları denenmiş olup maksimum pik alanının elde edildiği akış hızı 12 L/min optimum olarak belirlenmiştir. Kurutma gazı akış hızına ait EIC kromatogram Şekil 5.10’da verilmiştir



Şekil 5.10 1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle kurutma gazı akış hızının belirlenmesine ait EIC kromatogram

5.2.1.3 Nebulizer Basıncı (psig)

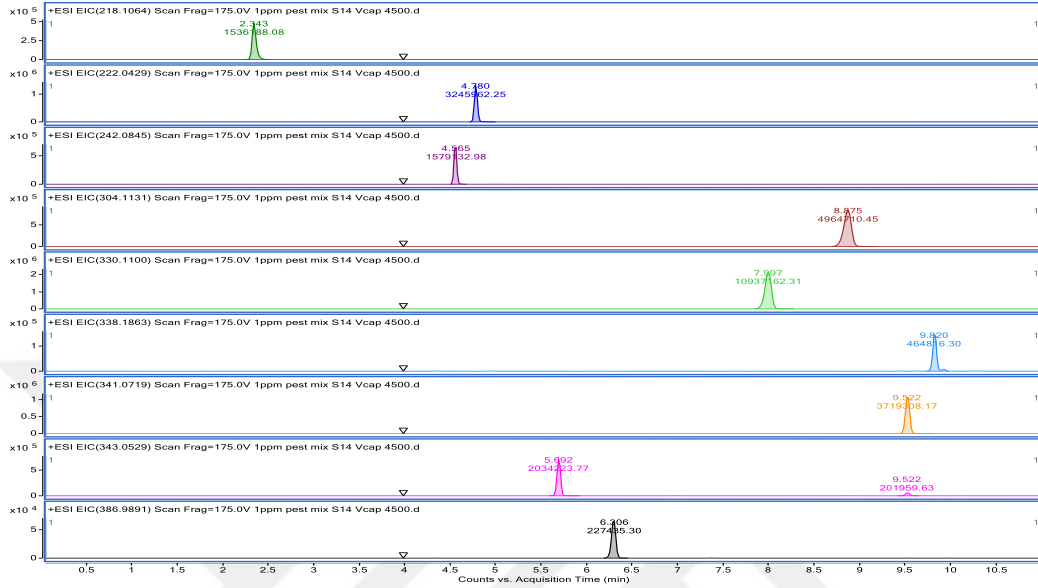
Nebulizer basıncının belirlenmesi için 35-40-50 psig basınç uygulanarak denemeler yapılmıştır. Maksimum pik alanının elde edildiği basınç 50 psig olarak belirlenmiştir. Şekil 5.11 deki EIC kromatogramında verilmiştir.



Şekil 5.11 1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle nebulizer basıncına (psig) ait EIC kromatogram

5.2.1.4 Kapiler Voltaj, V

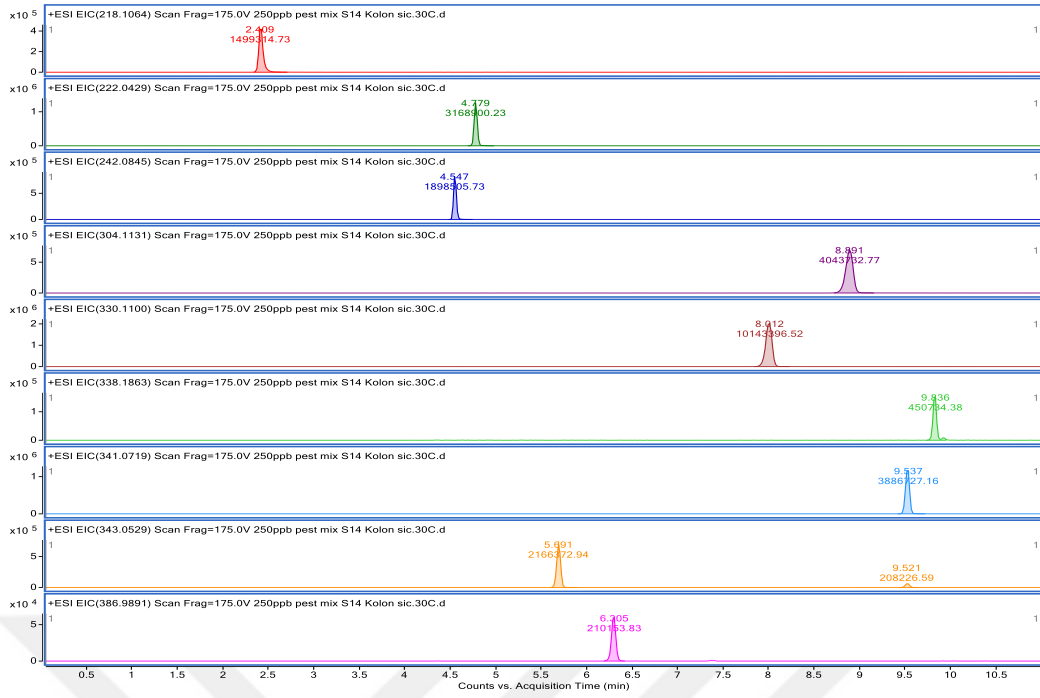
LC-QTOF-MS/MS sisteminde 3000-4000-4500-5000 V uygulanarak tüm analitler için maksimum pik alanının elde edildiği voltaj değeri (4500 V) belirlenmiştir. Buna ait EIC kromatogramı Şekil 5.12’de verilmiştir.



Şekil 5.12 1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle kapiler voltaja (V_{kap}) ait EIC kromatogram

5.2.1.5 Enjeksiyon Hacmi, Akış Hızı, Kolon Sıcaklığı

- ✓ Enjeksiyon hacminin belirlenmesi için 5-10-15-20 µL denenmiş optimum 20 µL olarak belirlenmiştir.
- ✓ Akış hızının belirlenmesi için 0.3 -0.4 0.5 -0.6 mL/ min denenmiş 0.4 mL/ min optimum akış hızı olarak belirlenmiştir.
- ✓ Kolon sıcaklığının belirlenmesi için 20-30-40 C° denenmiş olup 30C° optimum olarak belirlenmiştir. Şekil 5.13’ de kolon sıcaklığına ait EIC kromatogram verilmiştir.



Şekil 5.13 1.0 µg/mL derişimindeki mix standart çözeltinin LC-QTOF-MS/MS sistemine gönderilmesiyle kolon sıcaklığına ait EIC kromatogram

Yapılan tüm deneysel çalışmalar sonucunda belirlenen optimum cihaz parametreleri Tablo 5.13’de verilmiştir.

Tablo 5.13 LC-QTOF-MS/MS sistemi için optimum cihaz parametreleri

Parametre	Değer
Akış Hızı (mL/min)	0.400 mL/min
Kolon Sıcaklığı (°C)	30 °C
Enjeksiyon Hacmi (µL)	20 µL
Kurutma Gaz Sıcaklığı (°C)	300 °C
Kurutma Gaz Akış Hızı (L/min)	12 L/min
Nebulizer Basıncı (psig)	50 psig
Kapiler Voltajı, VCap (V)	4500 V

5.3 Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon öncesi Sistem Analitik Performans Değerlerinin Belirlenmesi

Sistem parametreleri optimizasyonunun tamamlanmasıyla birlikte, analitlerin tayin performanslarının belirlenmesi amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Her bir

analitin gözlenebilme limiti (LOD, Limit of Detection) ve tayin limiti (LOQ, Limit of Quantitation) hesaplamaları için 25.0 mg/L' lik (25000 µg/L) mix çözeltisinden belirli konsantrasyon aralığında bir seri standart çözelti hazırlanmıştır. Standart çözeltiler hazırlanırken tüm analitleri içeren 25.0 mg/L derişimindeki mix çözeltisi asetonitril-su karışımı ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Hazırlanan standart çözeltiler LC-QTOF-MS/MS sisteminde optimum şartlar altında analiz edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, her bir analit için sistem analitik performansının tespit edilmesi amacı ile LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. Gözlenebilme ve tayin limitlerinin hesaplanmasında aşağıdaki formüllerden yararlanılmıştır.

$$LOD = \frac{3x \text{ Standart Sapma (en düşük konsantrasyon)}}{Eğim}$$

$$LOQ = \frac{10x \text{ Standart Sapma(en düşük konsantrasyon)}}{Eğim}$$

Sistem analitik performansının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar boyunca, her bir analit için elde edilen sinyallerde meydana gelebilecek, cihazdan kaynaklı performans değişikliklerini elimine etmek amacıyla iç standart tekniği kullanılmış ve iç standart olarak da, çalışılan matrikste bulunma olasılığı olmayan “Phenytoin” tercih edilmiştir. İç standart tekniği ile yapılan çalışmalar sonucunda çoğu analit için bu teknik ile gözlenebilme ve tayin edilebilme limitlerinin geliştirilebildiği görülmüştür.

Tablo 5.14 Her bir analitin optimum koşullar altındaki sistem performans değerleri

	Chloridazon	Methiocarb Sulfoxide	Fenamiphos	Fluridone
LOD	0.50 µg/L	0.32 µg/L	0.17 µg/L	0.19 µg/L
LOQ	1.67 µg/L	1.04 µg/L	0.56 µg/L	0.63 µg/L
Eşitlik	y = 0,0451x + 0,0367	y = 0,0653x - 0,258	y = 0,0578x - 0,4625	y = 0,1744x - 0,335
R²	0.9999	0.9997	0,9996	0.9995
Doğrusal Aralık	2.0-1000 µg/L	2.0-500 µg/L	2.0-1000 µg/L	1.0-1000 µg/L

%BSS	9.41	11.89	5.06	6.95
	Bitertanol	Pyridaphenthion	Thiophanate Methyl	Sulfentrazone
LOD	2.41 µg/L	0.74 µg/L	1.04 µg/L	5.07 µg/L
LOQ	8.03 µg/L	2.45 µg/L	3.47 µg/L	16.88 µg/L
Eşitlik	$y = 0,0018x - 0,0091$	$y = 0,0559x - 0,1602$	$y = 0,0362x + 0,2207$	$y = 0,0011x - 0,0014$
R²	0.9998	0.9993	0.9996	0.9996
Doğrusal Aralık	10-2500 µg/L	5-1000 µg/L	5.0-1000 µg/L	20-2500 µg/L
%BSS	6.07	6.61	9.29	7.12

5.4 Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu

Mix çözeltisi içerisinde yer alan iç (internal) standart dahil olmak üzere 9 farklı analitin, LC- QTOF-MS/MS sisteminde, eser seviyelerde eşzamanlı tayinlerine yönelik yöntem geliştirilmesi amaçlanmış ve bu amaç doğrultusunda deneysel çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu deneysel çalışmalarda, farklı konsantrasyonlardaki mix çözeltisinin 10 mL' si ultra saf su ile hazırlandıktan sonra başka bir tüpte hazırlanan dağıtıcı ve ekstraksiyon solventi karışımı, mix çözeltisine şırınga yardımı ile enjekte edilmiş ve bulutlanma görülmüştür.

Elde edilen karışım 15 saniye vorteks ile karıştırıldıktan sonra, karışım 2 dakika boyunca (dakikada 6000 rpm) santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında elde edilen iki ayrı faz içerisinde, su fazı olan üst faz atılarak alttaki ekstraksiyon fazı alınmıştır. Ekstraksiyon fazı uçurularak 200 µL H₂O-ACN ile elüe edilmiştir. Elüsyon aşamasında 1 mg/L Phenytoin 1:1 oranında H₂O-ACN içerisinde hazırlanarak 200 µL olarak optimize edilmiştir. Alınan bu faz LC- QTOF-MS/MS sisteminde optimum koşullar altında analiz edilmiştir.

Dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yönteminin tüm parametreleri optimize edilmiştir. Bu amaçla sırasıyla ekstraksiyon solvent seçimi, ekstraksiyon solvent miktarının belirlenmesi, dağıtıcı solvent seçimi, dağıtıcı solvent miktarının belirlenmesi, tuz seçimi ve tuz miktarının belirlenmesine yönelik çalışmalar

yapılmıştır. Optimizasyon basamakları belirlenirken deneyler 10 µg/L standart derişimi kullanılarak belirlenmiştir.

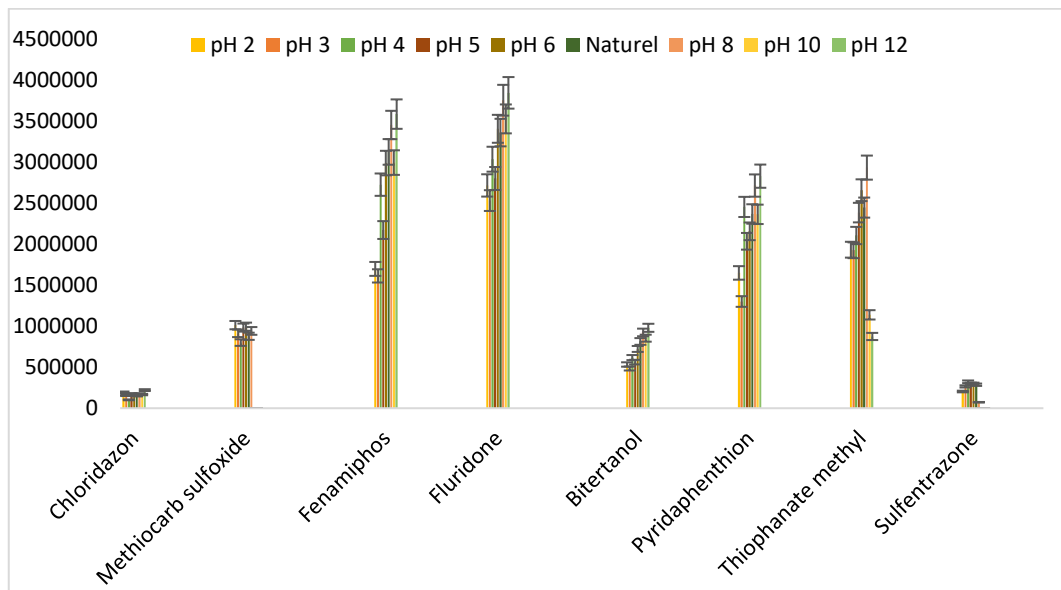
5.4.1 Dağıtıcı Sıvı- Sıvı Mikroekstraksiyon Optimizasyon Basamakları

Dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemine ait tüm parametreler, tayin limitini düşürmek amacıyla optimize edilmiştir. Tüm optimizasyon basamaklarında, optimum değer, mix içerisinde yer alan her bir analit için ayrı ayrı belirlenmekle birlikte, mix çözeltisi için kullanılacak optimum değer ise çoğunluğun verdiği cevap esas alınarak belirlenmiştir.

5.4.1.1 Ekstraksiyon pH'ı

Bir çözeltinin pH'ı, analit ile etkileşimi belirlediği için ekstraksiyon çalışmalarında önemli parametrelerden biridir. Analitlerin konsantrasyonunda herhangi bir farklılaşmayı önlemek için tampon ilavesinden sonraki son hacim dikkate alındı. Ekstraksiyon veriminin artması veya maksimum düzeyde olması için pH 2-12 aralığında denemeler yapılmıştır. Çözeltinin doğal pH'ının (6.95) ekstraksiyon performansını görmek için tamponlanmamış bir numune de test edilmiştir. Optimizasyonlarda pH 2.0, pH 3.0, pH 4.0, pH 5.0, pH 6, pH 8, pH 10, pH 12 tamponları hazırlanmıştır.

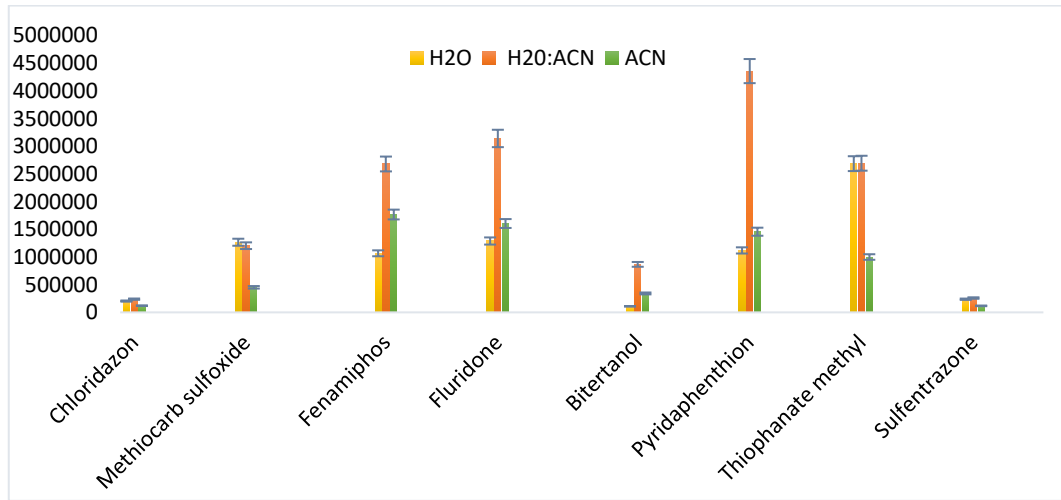
Optimizasyonlarda, optimize edilen parametre hariç diğer parametreler sabit tutularak yapılmış ve ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Optimum pH değeri olarak naturel değer seçilmiştir. pH 10 ve pH 12'de 242.0845 ve 386.9891 iyonlarına ait pik görülmemiştir.



Şekil 5.14 Ekstraksiyonun pH'sının belirlenmesine ait optimizasyon

5.4.1.2 Elüsyon Türü

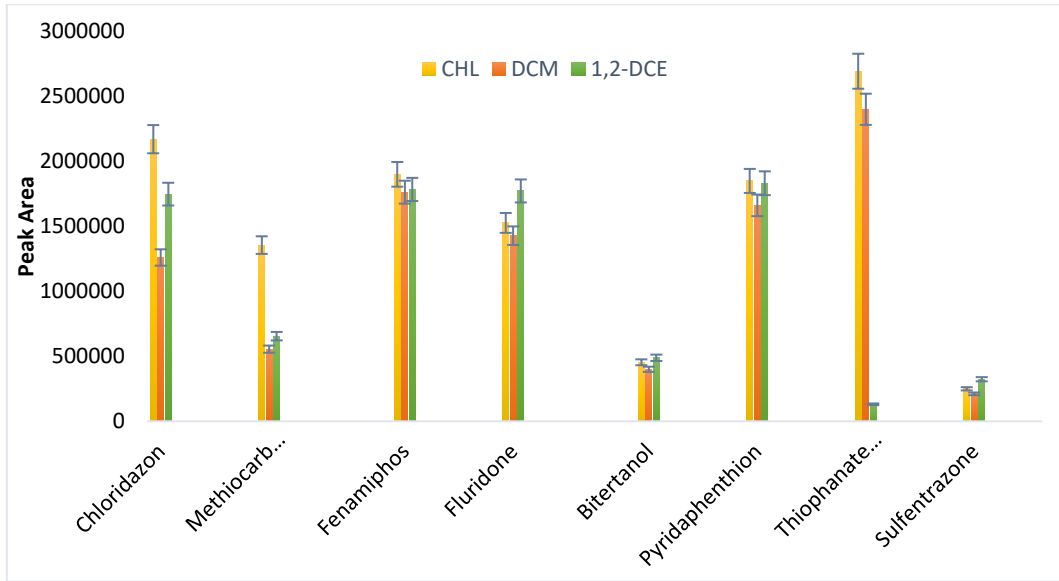
Ekstraksiyonda kullanılan elüent türünün belirlenmesi için % 0.10 formik asit içeren H₂O, 1:1 (% 0.10 formik asit içeren) H₂O : ACN ve (% 0.10 formik asit içeren) asetonitril (ACN) ile denemeler yapılmıştır. Tüm elüent türleri için ekstraksiyon yöntemi aynı şekilde uygulanmış ve pik alanı en yüksek çıkan 1:1 oranda H₂O : ACN elüent olarak seçilmiştir. Elüentin kullanılan mobil faza yakın olmasına dikkat edilmiştir.



Şekil 5.15 Elüsyon türünün belirlenmesi

5.4.1.3 Ekstraksiyon Solvent Çeşidinin Belirlenmesi

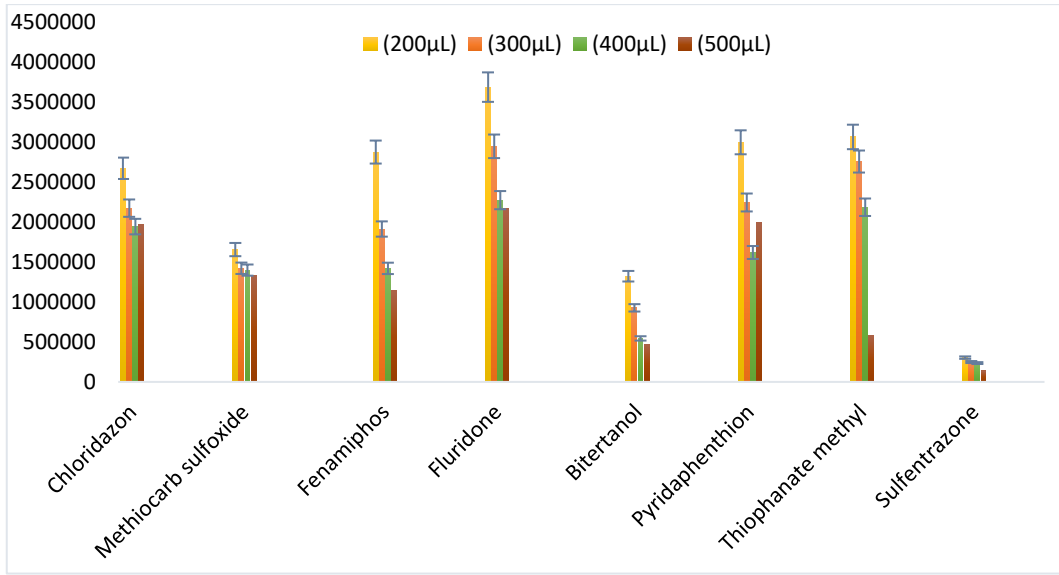
Ekstraksiyonda kullanılacak ekstraksiyon solventi çeşidinin belirlenmesi amacıyla deneysel çalışmalar yapılmış olup ekstraksiyon solventinin belirlenmesi için, 200 µL kloroform (CHCl₃), 1,2-dikloroetan (1,2-DE), diklorometan (DCM) çözücülerini denemiştir. Ekstraksiyon solventi çeşidinin belirlenmesi sırasında kullanılan dağıtıcı solvent olarak metanol kullanılmıştır. Optimum ekstraksiyon çözücüsü olarak kloroform belirlenmiştir. Etil asetat ile faz oluşumu gözlenmemiştir. Denenen solventlerden diklorometan (DCM) bazı analitlerin alıkonma zamanlarında kaymalara neden olduğundan bu analitler için tekrarlanabilir pik alanları elde edilememiştir. Mix içerisindeki analitlerin daha önceden elde edilmiş alıkonma zamanlarında kaymalar yaratmıştır. Bu sebepten ötürü, analitler için yüksek ve tekrarlanabilir alan değerleri elde edilememiştir.



Şekil 5.16 Ekstraksiyon solventi çeşidinin belirlenmesi

5.4.1.4 Ekstraksiyon solventi çeşidinin belirlenmesi

Ekstraksiyon solvent çeşidi olarak kloroform (CHCl_3) belirlendikten sonra ekstraksiyonda kullanılacak optimum miktarının belirlenmesi amacıyla da farklı miktarlar için denemeler gerçekleştirilmiştir. 200, 300, 400 ve 500 μL kloroformdan oluşan ekstraksiyon ve dağıtıcı solventi karışımları ayrı ayrı hazırlanmış ve sulu fazdaki analit çözeltisi içerisine enjekte edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, kloroformun, ekstraksiyon için gerekli optimum toplam miktarının 200 μL olduğu görülmüştür. Yapılan analizlerde ekstraksiyon solvent miktarı arttıkça analit derişimlerini seyrelttiği için analitlerin pik alanlarına ait değerler düşmüştür. 200 μL ekstraksiyon çözeltisi standart içerisindeki analitlerin organik faza alınması için yeterli olmuştur.

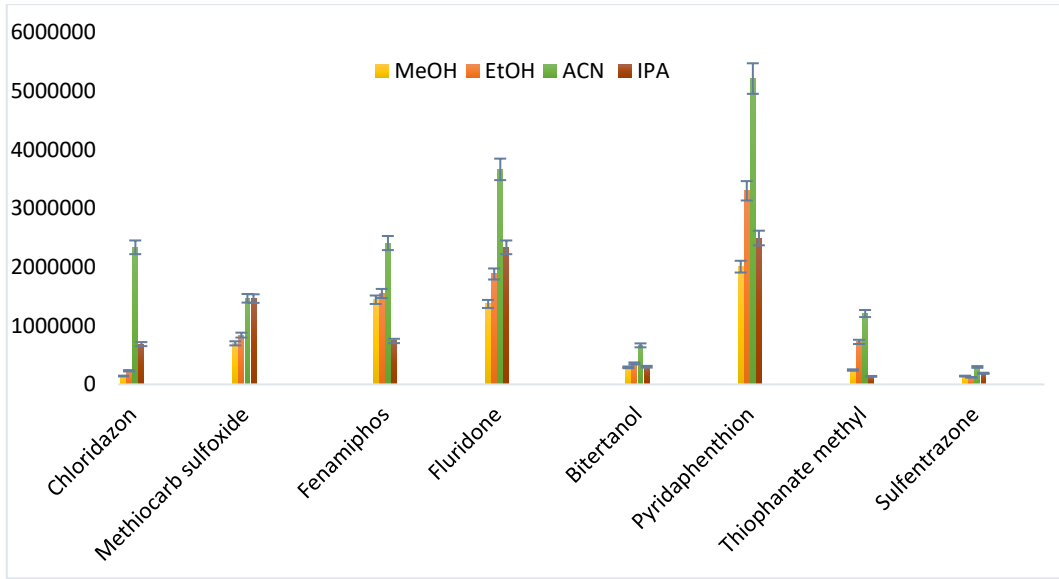


Şekil 5.17 Ekstraksiyon solvent miktarı

5.4.1.5 Dağıtıcı Solvent Çeşidinin Belirlenmesi

Dağıtıcı çözücü ekstraksiyon çözücüsü ile analit arasındaki yüzey alanını arttırdığından ekstraksiyon veriminin artması açısından önem taşımaktadır. Bir dağıtıcı çözücü, ekstraksiyon çözücüsü, dağıtıcı çözücü ve ilgilenilen analitleri içeren sulu numuneden oluşan üç çözücü sistemini karşılamak için hem ekstraksiyon çözücüsü hem de su ile karışabilir olmalıdır.

Ekstraksiyonda kullanılacak dağıtıcı solvent çeşidinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda, çözücü olarak, asetonitril (ACN), izopropil alkol (IPA), etanol (EtOH) ve metanol (MeOH) çözücüleri denenmiş ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda dağıtıcı sıvı mikroeekstraksiyon için optimum dağıtıcı solventin asetonitril olmasına karar verilmiştir. Dağıtıcı solvent türü belirlenirken çözücü miktarları 2.0 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda dağıtıcı solventler için elde edilen kıyaslama grafiği Şekil 5.18’de verilmiştir.

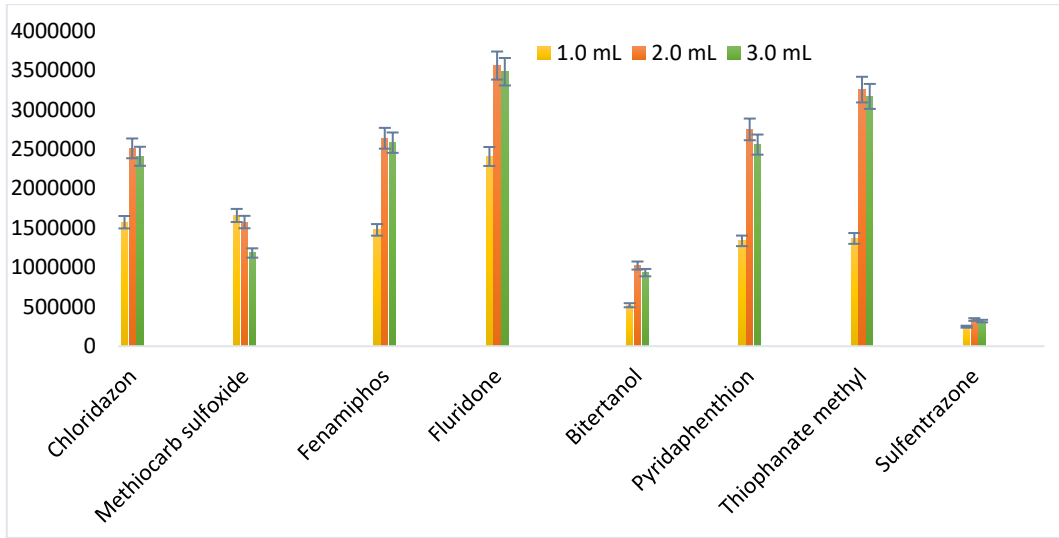


Şekil 5.18 Dağıtıcı Solvent Çeşidinin Belirlenmesi

Fluridone sinyali çok yüksek olduğu için grafiğe dökülürken pik alanı/5 olacak şekilde, Fenamiphos sinyali ise pik alanı/3 olacak grafiğe geçirilmiştir.

5.4.1.6 Dağıtıcı Solvent Miktarının Belirlenmesi

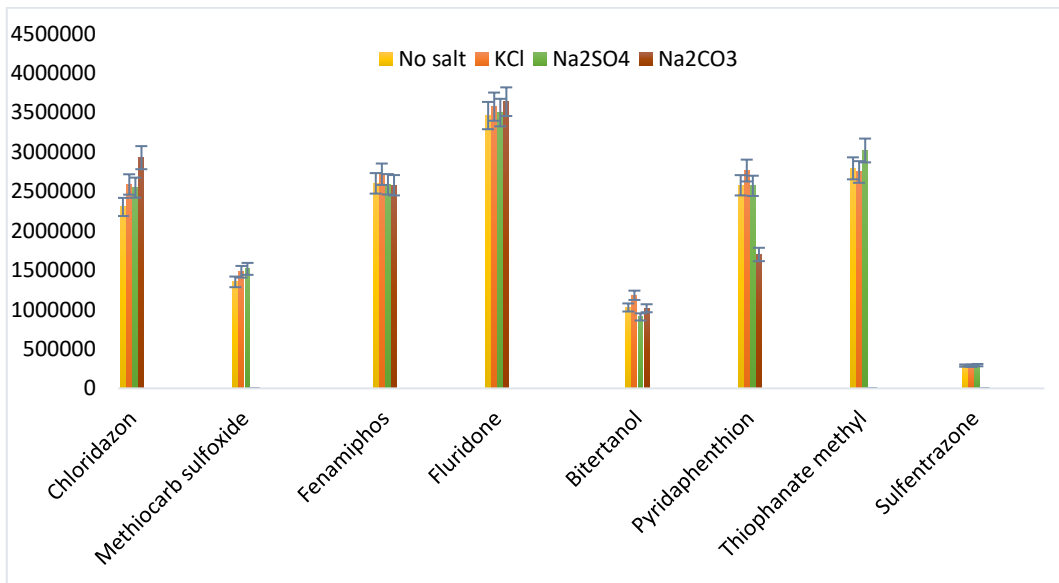
Ekstraksiyonda kullanılacak dağıtıcı solvent çeşidi asetonitril olarak belirlendikten sonra, bu solventin ekstraksiyon için optimum miktarının belirlenmesi amacıyla 1.0, 2.0, 3.0 ve 4.0 mL asetonitril içeren dağıtıcı ve ekstraksiyon solventi karışımları ayrı ayrı hazırlanmış ve sulu fazdaki analit çözeltisi içerisine enjekte edilmiştir. Buradan, 4,0 mL hacmin sulu çözeltinin polaritesini önemli ölçüde değiştirerek ekstraksiyon çözücüsü ile tam karışabilirlik sağladığı sonucuna varılabilir ve 4mL kullanılan asetonitril için faz oluşumu gözlenmemiştir. 3,0 mL ACN için çok düşük bir hacim için gözlenmiş ancak bu hacim enstrümantal ölçüm için yeterli olmamıştır. Analizler sonucunda asetonitrilin ekstraksiyon için gerekli optimum miktarının 2.0 mL olduğu görülmüştür. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda, dağıtıcı solvent (asetonitril) miktarı için elde edilen kıyaslama grafiği Şekil 5.19’da verilmiştir.



Şekil 5.19 Dağıtıcı Solvent Miktarının Belirlenmesi

5.4.1.7 Tuz çeşidinin Belirlenmesi

Dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyonda tuzun, sulu faz içerisindeki analit çözeltisini doygunluğa ulaştırdığı ve sulu faz içerisinde çözünmüş olarak bulunan analitlerin su fazından ekstraksiyon fazına geçişini sağladığı bilinmektedir. Tuz çeşidinin belirlenmesi amacıyla KCl, Na₂SO₄, Na₂CO₃ içeren ve tuz içermeyen analit çözeltileri hazırlanarak, ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada tuz türleri 0.10 g tartılarak gerçekleştirilmiştir. Pik alanlarından elde edilen veriler doğrultusunda tuz etkisinin analit sinyalleri üzerinde çok büyük bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda tuzsuz olarak devam edilmiştir. Tuz türüne ait grafik Şekil 5.20’de verilmiştir.



Şekil 5.20 Tuz Türünün Belirlenmesi

Tablo 5.15 Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yönteminin optimum parametreleri

Parametre	Optimum değer
Ekstraksiyon solventi türü ve miktarı	Kloroform, 200 µL
Dağıtıcı solvent türü ve miktarı	Asetonitril, 2.0 mL
Karıştırma türü ve süresi	Vortex, 15 s
Tuz etkisi	Tuzsuz

5.5 Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyon sonrası LC-QTOF-MS/MS’de Sistem Analitik Performans Değerlerinin Belirlenmesi

Optimum ekstraksiyon parametreleri (Tablo 5.15 ‘de), 0.05 µg/L - 100 µg/L konsantrasyon aralığında hazırlanan sekiz analitin sulu standart çözeltilerine uygulanmıştır. Seçicilik, doğrusallık, geri kazanım, doğruluk, kesinlik, tespit limiti (LOD) ve miktar belirleme limiti (LOQ) metod doğrulama parametreleri olarak incelenmiştir. Yöntemin hassasiyetini belirlemek için LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır.

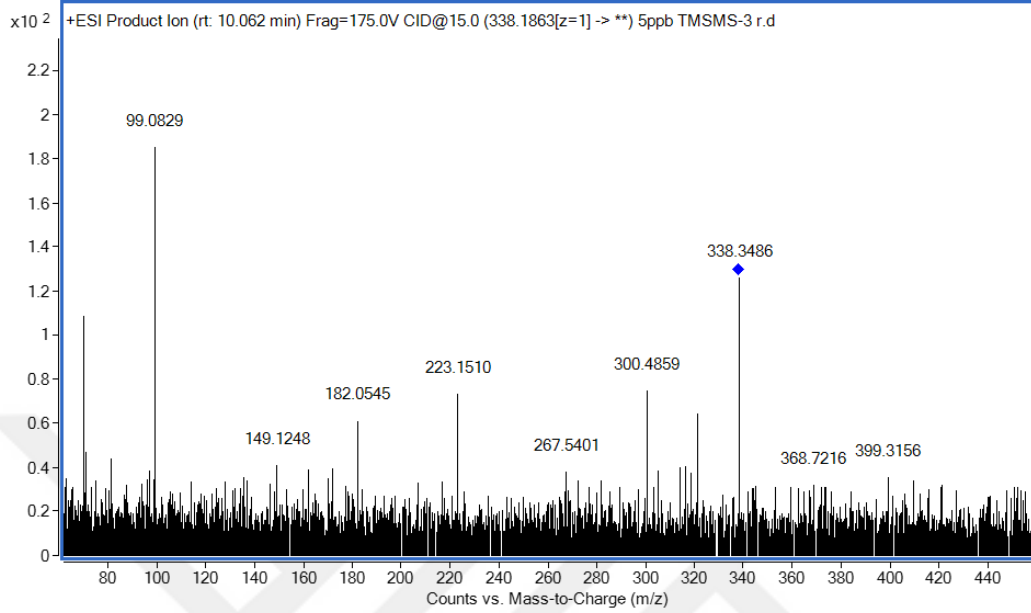
Tüm analitin gözlenebilme limiti (LOD, Limit of Detection) ve tayin edilebilme limiti (LOQ, Limit of Quantitation) hesaplamaları için hazırlanan ve içerisinde tüm pestisit analitlerinin bulunduğu 25.0 mg/L’ lik (25000 µg/L) mix çözelti belirli oranlarda seyreltilerek istenen derişim aralığına getirilmiştir. Ara stok olarak kullanılan 25.0 mg/L’ lik mix çözeltisi asetonitril-su ile seyreltilmiştir. Hazırlanan standart çözeltiler 0.05 µg/L ile 100 µg/L arasında olup, LC-QTOF-MS/MS sisteminde optimum şartlar altında analiz edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, her bir analit için sistem analitik performansının tespit edilmesi amacı ile LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanmasında aşağıda yer alan formüller kullanılmıştır.

$$LOD = \frac{3 \times \text{Standart Sapma (en düşük konsantrasyon)}}{Eğim}$$

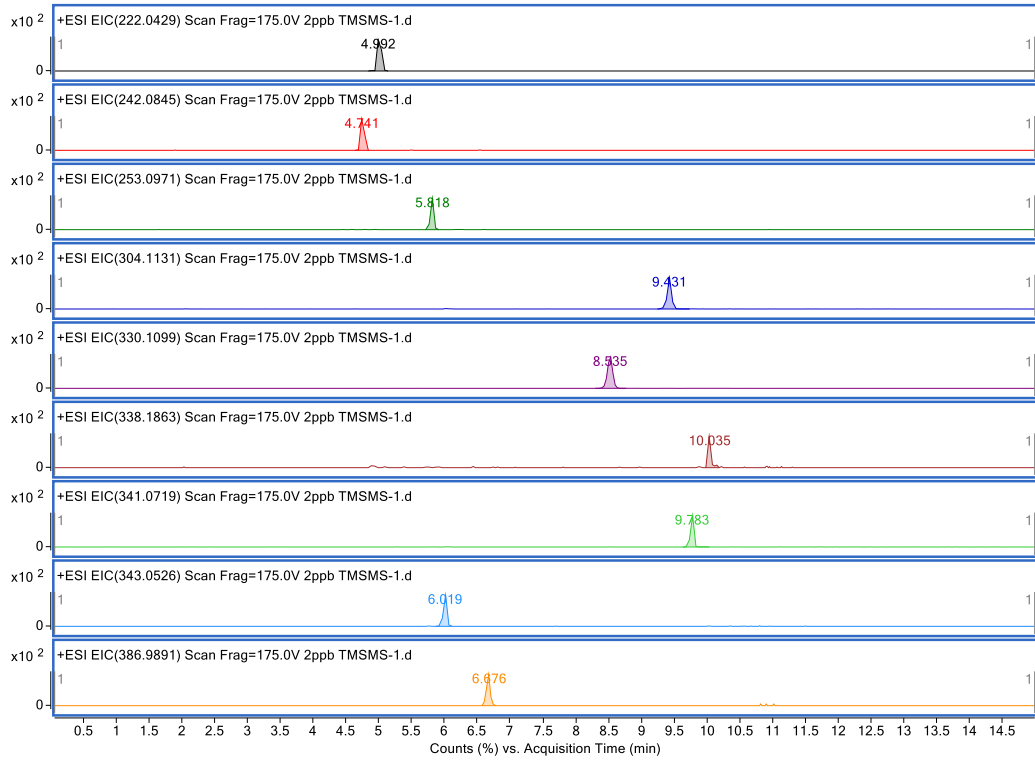
$$LOQ = \frac{10 \times \text{Standart Sapma(en düşük konsantrasyon)}}{Eğim}$$

Dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon sonrası, sistem analitik performans değerlerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda, analitler için elde edilen sinyallerde meydana gelebilecek, cihazdan kaynaklı performans değişikliklerini elimine etmek amacıyla dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemi öncesinde olduğu gibi, iç standart tekniği kullanılmıştır. Çalışılan matrikste bulunma olasılığı olmadığından, iç standart olarak, Phenytoin tercih edilmiştir. İç standart tekniği ile yapılan çalışmalar sonucunda çoğu analit için bu teknik ile gözlenebilme ve tayin edilebilme limitlerinin geliştirilebildiği, doğru denkleme ait R^2 değerlerinin iyileştirilebildiği ve sistemin tekrarlanabilirliğinin artırabildiği görülmüştür. Her bir analit için optimum koşullarda, iç standart tekniği olmadan ve iç standart tekniği ile yapılan hesaplamalar sonucu elde edilen sistem analitik performans değerleri çizelge 5.1 ve 5.2’de verilmiştir. Seçicilik, analit içermeyen (boş) numune ve spike edilmiş numune enjeksiyonları ile elde edilen kromatogramlar karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Analitlerin ve iç standardın alıkonma sürelerinde herhangi bir girişim gözlenmemiştir, bu da geliştirilen yöntemin kivi, mango ve ananas örneklerinde bu pestisitlerin belirlenmesi için seçici olduğunu göstermiştir. Her analit için kalibrasyon grafikleri, standart pik alanının iç standart pik alanına oranının konsantrasyona karşı karşılaştırılmasıyla oluşturulmuştur. Kalibrasyon grafiklerinin doğrusallığının, iç standart olarak fenitoin kullanıldığında arttığı ve analitler için hesaplanan yüzde bağıl standart sapmaların (%RSD) %10’dan az olduğu görülmüştür. QuEChERS ve DLLME kombinasyonu, 0.004 – 0.30 µg/L düşük konsantrasyon aralığına düşen LOD değerleri vermiştir. Hedef analitlerin LDR’si ortalama olarak ppt seviyesinden ppb seviyesine kadar çok geniş bir aralıktaydı. Analitlerin belirleme katsayısı (R^2), geniş konsantrasyon aralıklarında ve iyi doğrusallığın güçlü bir göstergesi olan 0,9993’ten yüksekti. DLLME-LC-QTOF-MS/MS için hesaplanan tüm LOD değerleri 0,30 µg/L’nin altına düşmüştür. Doğrudan LC-QTOF-MS/MS analizi ve DLLME-LC-QTOF-MS/MS analizinin LOD değerleri karşılaştırıldığında,

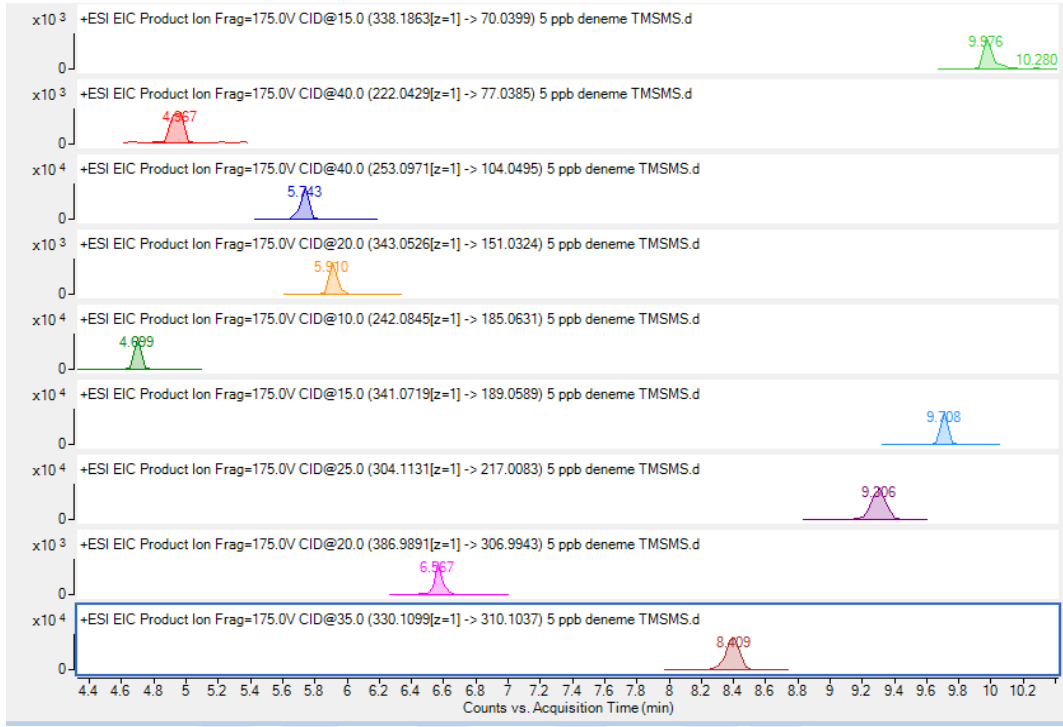
analitlerin LOD değerlerinde (IMP-LOD) 10 - 260 kat aralığında iyileşmeler kaydedilmiştir.



Şekil 5.21 Ekstraksiyon sonrası toplam iyon (TIC) kromatogramı



Şekil 5.22 Dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon sonrası tMSMS modda çalışılan 2.0 ng/mL konsantrasyonuna ait EIC kromatogramı



Şekil 5.23 Dağıtıcı sıvı sıvı mikroeekstraksiyon sonrası tMSMS modda çalışılan 5.0 ng/mL konsantrasyonundaki parçalanma iyonlarına ait EIC kromatogramı

Çizelge 5.1 Dağıtıcı sıvı sıvı mikroeekstraksiyon yöntemi sonrası iç standart tekniki kullanılmadan her bir analit için optimum koşullarda elde edilen sistem analitik performans değerler

	Chloridazon	Methiocarb Sulfoxide	Fenamiphos	Fluridone
LOD	0.038 µg/L	0.034 µg/L	0.13 µg/L	0.023 µg/L
LOQ	0.126 µg/L	0.114 µg/L	0.044 µg/L	0.077 µg/L
Eşitlik	$y = 18539x + 2659.6$	$y = 15325x + 4934$	$y = 250399x + 709,9$	$y = 248236x - 18163$
R²	0.9996	0.9998	0,9990	0.9992
Doğrusal Aralık	0.10-10 µg/L	0.10-50 µg/L	0.05-5 µg/L	0.10-20 µg/L
%BSS	6.96	7.75	8.28	7.91
	Bitertanol	Pyridaphenthion	Thiophanate Methyl	Sulfentrazone

LOD	0.115 µg/L	0.026 µg/L	0.007 µg/L	0.31µg/L
LOQ	0.384 µg/L	0.086 µg/L	0.022 µg/L	1.03 µg/L
Eşitlik	$y = 2280x + 634,14$	$y = 39050x + 3276,7$	$y = 26908x - 2283$	$y = 1086,8x + 1746,3$
R²	0.9993	0.9993	0.9972	0.9990
Doğrusal Aralık	0.50 -50 µg/L	0.10-5.0 µg/L	0.05-5.0 µg/L	1.0-50 µg/L
%BSS	6.19	7.97	7.74	5.36

Çizelge 5.2 Dağıtıcı sıvı sıvı mikroekstraksiyon yöntemi sonrası iç standart tekniği ile her bir analit için optimum koşullarda elde edilen sistem analitik performans değerleri.

Parametre	LOD, µg/L	LOQ, µg/L	Denklem	Lineer Dinamik Aralık	%RSD	R ²	LOD'de iyileştirme oranı
Chloridazon	0.035	0.118	$y = 0.3692x + 0.0344$	0.10-50 µg/L	5.6	1.000	14
Methiocarb sulfoxide	0.017	0.057	$y = 0,5764x - 0,1098$	0.05-50 µg/L	7.5	0.9998	19
Fenamiphos	0.016	0.052	$y = 1,454x + 0,0368$	0.05-5 µg/L	6.8	0.9997	11
Fluridone	0.019	0.064	$y = 2,9505x + 0,9157$	0.05-20 µg/L	4.9	0.9993	10
Bitertanol	0.062	0.207	$y = 0,0918x - 0,0605$	0.50-50 µg/L	7.3	0.9994	39
Pyridaphenthion	0.015	0.051	$y = 0,7437x + 0,094$	0.05-50 µg/L	4.6	1.000	49
Thiophanate methyl	0.004	0.013	$y = 0,7112x - 0,0116$	0.05-5.0µg/L	6.4	0.9999	260
Sulfentrazone	0.266	0.613	$y = 0,0289x + 0,0228$	0.50-100µg/L	7.6	0.9997	19

Tablo 5.16 DLLME sonucu Analitlerin Dedeksiyon Limitlerindeki (LOD) iyileştirme miktarı

Analit	m/z	DLLME- LOD
Chloridazon (C ₁₀ H ₈ ClN ₃ O)	222,0429	14

Methiocarb sulfoxide (C ₁₁ H ₁₅ NO ₃ S)	242,0845	19
Fenamiphos (C ₁₃ H ₂₂ NO ₃ PS)	304,1131	11
Fluridone (C ₁₉ H ₁₄ F ₃ NO)	330,1099	10
Bitertanol (C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₂)	338,1863	39
Pyridaphenthion (C ₁₄ H ₁₇ N ₂ O ₄ PS)	341,0719	49
Thiophanate methyl (C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂)	343,0526	260
Sulfentrazone (C ₁₁ H ₁₀ Cl ₂ F ₂ N ₄ O ₃ S)	386,9891	19

5.6 Kivi, Mango, Ananas Örneklerinin LC-QTOF-MS/MS sisteminde Kantitatif Analizleri ve Geri Kazanım Çalışmaları

Geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilirken QuEChERS yöntemi ile Dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu kombine edilerek örnekler matriks eşleme (matrix matching) kalibrasyon yöntemine göre hazırlanmıştır. Bu yöntem hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam ve güvenli kısaltma adı ile bilinen ve minimum adım sayısı ile yüksek kaliteli sonuçların elde edilmesini sağlayan bir ekstraksiyon çeşitidir. Pestisitlerin gıda, çevre ve biyolojik örneklerden ekstraksiyonunda ve temizlik aşamasında uygulanan birçok yöntem bulunmaktadır ve uygulanan bu yöntemlerin genellikle uzun, zahmetli, pahalı olmaları ya da yeterince etkili sonuçlar alınamaması gibi dezavantajları vardır. QuEChERS yönteminin solvent ve sarf malzeme tüketimini azaltması, zaman tasarrufu sağlaması, çok sayıda pestisit ekstraksiyonunu mümkün kılması ve çok farklı matrikslerde kullanılabilir olması gibi avantajları bulunmaktadır.

Literatürde de QuEChERS yöntemi ile hazırlanan örneklerin yüksek geri kazanım sonuçları elde edildiği bilinmektedir. Geri kazanım çalışması tropikal meyvelerde yapılmıştır. Çalışmada ananas, kivi ve mango örnekleri kullanılmıştır.

5.6.1 QuEChERS Yöntemi ile örneğin Hazırlanması

Belli bir miktarda homojenize edilen örnekten 15g 50 mL'lik falkon tüp içerisine alınmıştır. Üzerine 15 mL % 1.0 HAc (Asetik asit) içeren ACN (asetonitril) ilave edilmiştir. Üzerine 6.0 g susuz MgSO₄ ve 1.50 g NaAc (sodyum asetat) ilave edildikten sonra 60 saniye el ile karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler 4500 rpm de 5.0 min santrifüj edilmiştir. Üstte elde edilen ekstraktan 8.0 mL alınarak temizleme (clean up) aşamasına geçilmiştir. 1200mg MgSO₄ ve 400 mg PSA (primer sekonder amin) içeren temizleme kitinin üzerine 8.0 mL bu ekstraktan ilave edilerek 30 s vokteks ile karıştırılmıştır. Örnekler 4 min, 6000 rpm de santrifüj edilmiştir. Buradan elde edilen ekstraktan 5.0 mL alınarak 100 mL'ye ultra saf su ile tamamlanmıştır.



Şekil 5.24 QuEChERS ekstraksiyonuna ait örnek hazırlama kiti

5.6.2 Matriks Eşleme Kalibrasyon Tekniği

Geliştirilen yöntemin doğruluğunu ve gerçek örneklerle uygulanabilirliğini değerlendirmek için ananas, kivi ve mango test örnekleri olarak kullanılmıştır. Meyvelerin, analitlerin sinyalini engelleyebilecek veya artırabilecek çeşitli organik ve inorganik bileşikler içerdiği bilinmektedir. Bir analitin standart bir çözeltideki ve bir numune matrisindeki yanıtı arasındaki fark "matris etkisi" olarak bilinir [96]. Matriks etkileri, özellikle elektrosprey iyonizasyon kullanıldığında, karmaşık numunelerdeki hedef analit sinyalleri üzerinde etkili olabilir.

Matris faktörü değeri analitler üzerindeki matris etkisini değerlendirmek için kullanılmış ve aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır:

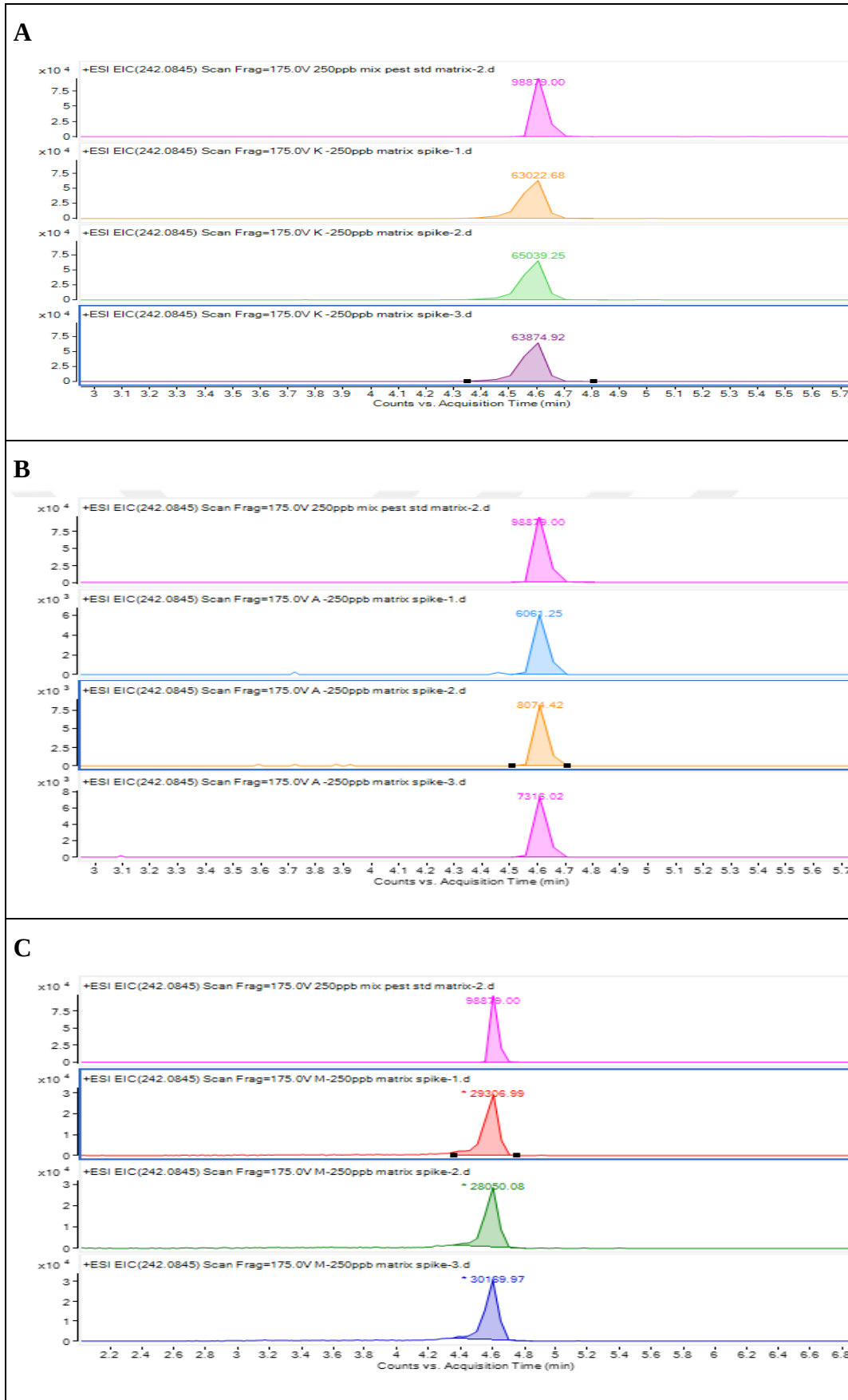
$$\text{Matriks Faktör (MF)} = \frac{\text{Matris iyonu varlığında pik cevabı}}{\text{Mobil fazda pik cevabı}}$$

MF=1 matris etkilerinin olmadığını, $MF > 1$ iyon artışını ve $MF < 1$ iyon baskılanmasını ifade eder. Bu çalışmada, matris faktörü ananas, kivi ve mango örnekleri için sırasıyla 0.067-0.072, 0.64-1.71, 0.29-1.90 aralığında bulunmuştur. Bu, MF değerleri 1,0'dan düşük olan analitlerin eksik tahmin edileceği ve MF değerleri 1.0'dan yüksek olanların ise fazla tahmin edileceği anlamına gelmektedir.

Üç tekrarlı analizi yapılan mango, ananas, kivi numuneleri ile mix standart çözeltinin karşılaştırmalı pik alanlarını gösteren ekstrakte edilmiş kromatogram Şekil 5.25'te verilmiştir. Karmaşık numune matrislerinin etkilerini azaltmak amacıyla, üç numune matrisindeki analitlerin miktarını belirlemek için matris eşleştirme kalibrasyonu kullanılmıştır. Matris uyumlu kalibrasyon standartlarını hazırlamak için meyve numunelerinin özütlerini kullanmadan önce, analitlerin mevcut olmadığından emin olmak veya tespit edildiğinde boş düzeltme yapmak için boş analizler yapılmıştır. Analitlerin alıkonma sürelerinde analitik sinyaller gözlenmemiştir, bu da analitlerin yokluğunu veya yöntem limitlerinin altındaki konsantrasyonları gösterir.

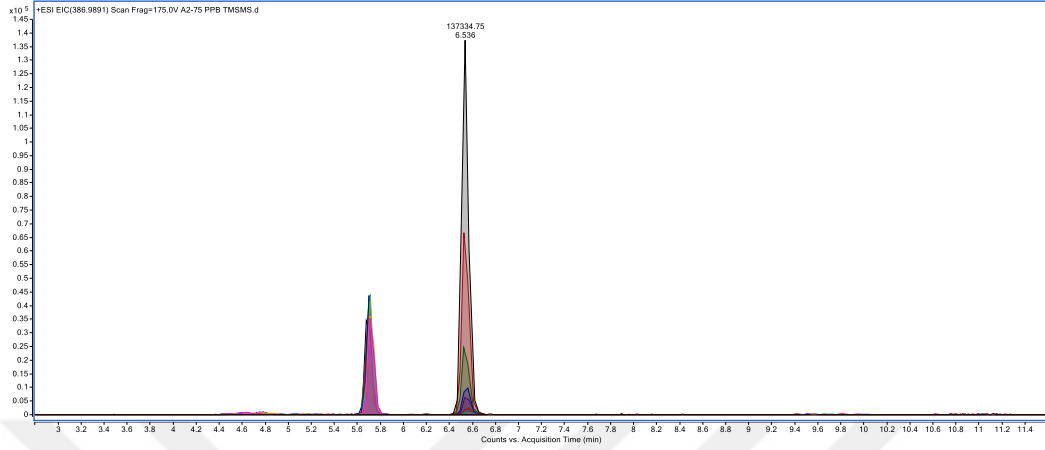
QuEChERS Yöntemi ile elde edilen ekstraktlar 100 mL ' ye tamamlanmıştır. Her bir örneğin matriksi kullanılarak 0.15-75 µg/L aralığında kalibrasyon hazırlanmıştır. Hazırlanan kalibrasyon çözeltilerinin son hacmi 10 mL olacak şekilde 9.70 mL örnek matriksinden 0.30 mL standart kullanılmıştır.

DeneySEL çalışmaların her biri 3 tekrarlı olacak şekilde hazırlanmıştır. Ananas, kivi ve mango örneklerine ait matriksler kullanılarak hazırlanan bu çözeltilere diğer aşamalarındaki (bölüm 5.4) gibi dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu uygulanmıştır. Tablo 5.17'de özetlendiği gibi, her numune için iki farklı spike seviyesinde tüm analitler için kabul edilebilir yüzde geri kazanım değerleri (% 89 - 117) elde edilmiştir.

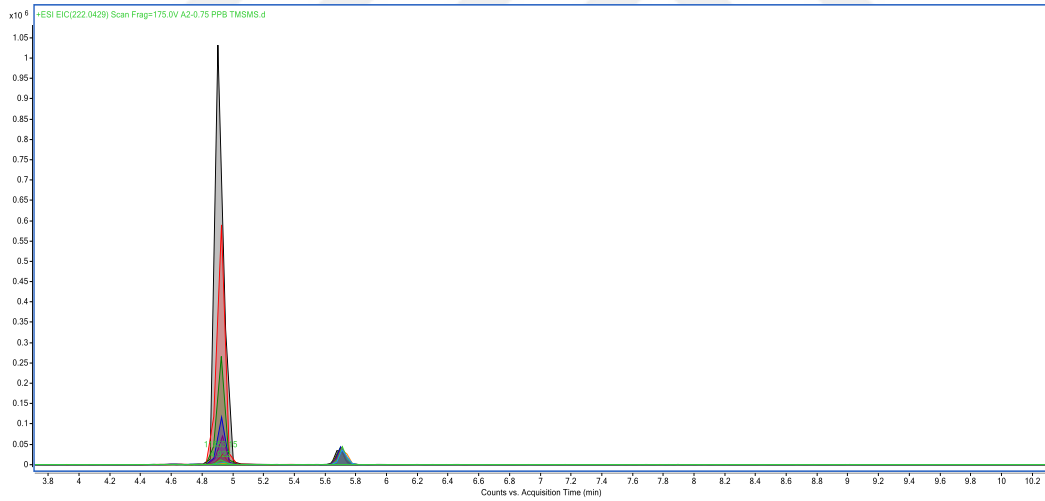


Şekil 5.25 A. Metiyokarb sülfoksitin 250 µg/L mix standart çözeltisi ve kivi numunesinde ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı. **B.** 250 µg/L mix standart

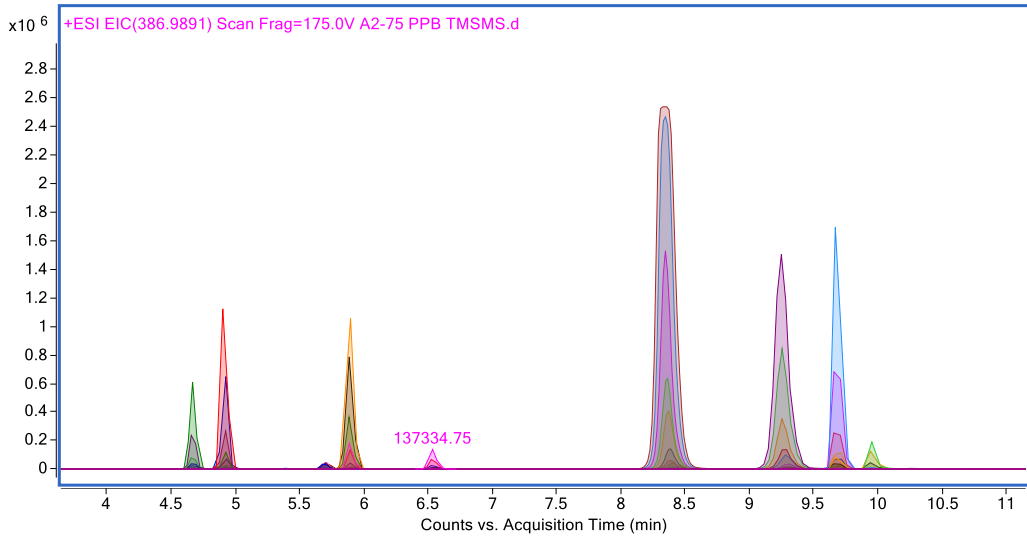
çözeltisi ve ananas numunesinde metiokarb sülfoksitin ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı. C. 250 µg/L mix standart çözeltisi ve mango numunesinde metiyokarb sülfoksitin ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı



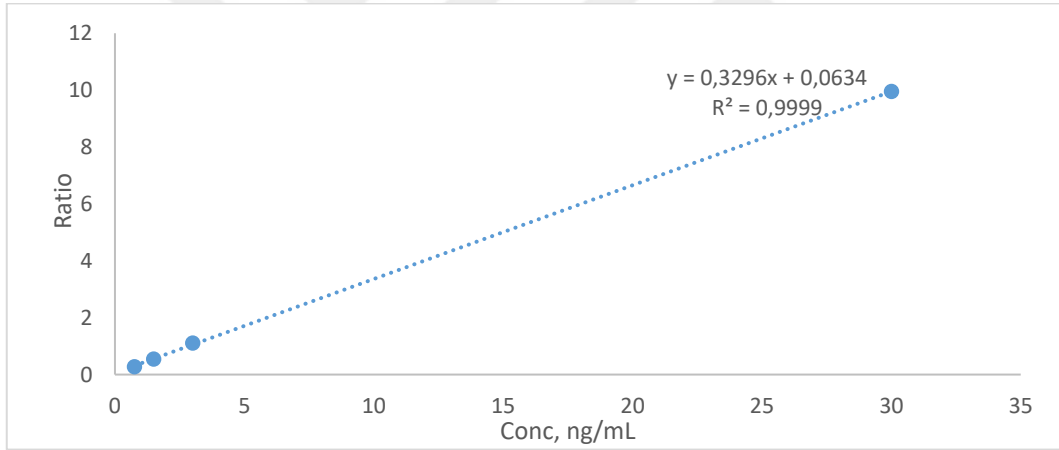
Şekil 5.26 Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine göre hazırlanan Ananas örneğindeki Sulfentrazone (m/z 386.9891) R.t (6.52) ve IS olarak kullanılan Phenytoin (m/z 253.0971)' e ait EIC kromatogram



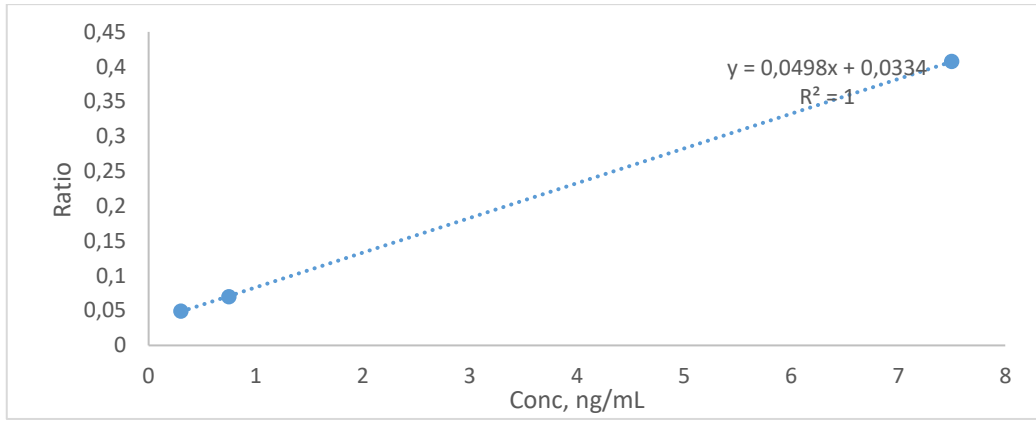
Şekil 5.27 Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine göre hazırlanan Ananas örneğindeki Chloridazon (m/z 222.0429) R.t (4.922) ve IS olarak kullanılan Phenytoin (m/z 253.0971)' e ait EIC kromatogram



Şekil 5.28 Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine ait kalibrasyon noktalarının üst üste çakıştırılmasıyla elde edilen kalibrasyon



Şekil 5.29 Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine göre hazırlanan Ananas örneğindeki Chloridazon (222.0429) iyonuna ait kalibrasyon doğrusu



Şekil 5.30 Matriks eşleme kalibrasyon yöntemine göre hazırlanan Ananas örneğindeki Sulfentrazone (386.9891) iyonuna ait kalibrasyon doğrusu

Tablo 5.17 Kivi, mango ve ananas numuneleri için matris eşleştirme yüzde geri kazanımları

Numune Adı	Chloridazon		Methiocarb sulfoxide		Fenamiphos		Fluridone	
	0.75 ng/mL	15 ng/mL	1.5 ng/mL	30 ng/mL	0.75 ng/mL	1.5 ng/mL	0.75 ng/mL	1.5 ng/mL
Mango	94.19 ± 7.02	93.98 ± 5.90	96.50 ± 7.21	89.19 ± 6.66	97.50 ± 7.20	102.3 ± 2.1	97.50 ± 4.85	102.3 ± 5.1
Ananas	91.31 ± 2.26	92.83 ± 4.42	93.27 ± 2.75	94.90 ± 0.36	93.16 ± 2.87	102.0 ± 5.2	90.91 ± 4.52	102.1 ± 5.1
Kivi	96.58 ± 7.21	106.43 ± 7.95	94.89 ± 4.10	106.4 ± 7.9	98.81 ± 6.75	106.4 ± 7.3	94.57 ± 4.70	105.9 ± 5.3

Tablo 5.17 devamı

Numune Adı	Bitertanol		Pyridaphenthion		Thiophanate methyl		Sulfentrazone	
	1.5 ng/mL	15 ng/mL	0.75 ng/mL	15 ng/mL	1.5 ng/mL	3 ng/mL	1.5 ng/mL	15 ng/mL
Mango	89.65 ± 6.57	96.93 ± 7.10	95.72 ± 8.69	104.3 ± 3.1	116.1 ± 7.4	90.77 ± 5.80	105.8 ± 8.1	90.00 ± 6.88

Ananas	1.5 ng/mL	15 ng/mL	0.75 ng/mL	15 ng/mL	0.75 ng/mL	1.5 ng/mL	1.5 ng/mL	15 ng/mL
	102.3 ± 2.8	92.00 ± 3.48	97.68 ± 3.04	99.53 ± 6.04	92.03 ± 2.04	101.9 ± 0.6	97.32 ± 7.44	94.15 ± 7.19
Kivi	1.5 ng/mL	15 ng/mL	0.75 ng/mL	15 ng/mL	0.75 ng/mL	3 ng/mL	1.5 ng/mL	15 ng/mL
	94.49 ± 2.09	107.7 ± 0.9	105.8 ± 1.5	106.6 ± 0.2	113.2 ± 7.2	100.7 ± 6.4	97.32 ± 7.44	94.15 ± 7.19



VEGAN GIDALARDAKİ ESER ELEMENTLERİN İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA KÜTLE SPEKTROMETRESİ (ICP- MS) İLE EŞZAMANLI TAYİNİ İÇİN MİKRODALGA DESTEKLİ NUMUNE HAZIRLAMA

6.1 Metal, ağır metallerin Tanımı ve Tarihçesi

“Ağır metal” terimi son yıllarda oldukça fazla kullanılmaktadır. Genellikle metaller/yarı metaller (metalloidler) kontaminasyon yada toksisite veya ekotoksisite gibi kavramlarla ilişkilendirilmektedir. Ağır metaller için farklı tanımlar yapılsa da genellikle, yoğunluk, atomik ağırlığı, kimyasal özellikler ya da toksisite gibi kavramlar göz önünde bulundurularak farklı tanımlamalar yapılabilmektedir. Yoğunluğu 5g/cm^3 'den daha büyük olan metaller “Ağır metal” olarak tanımlanmaktadır. Ağır metal grubunda 60'dan fazla metal yer almasa da mangan (Mn), civa (Hg), krom (Cr), demir (Fe), kobalt (Co), nikel (Ni), çinko (Zn), kadmiyum (Cd), arsenik (As), kurşun (Pb), gümüş (Ag), selenyum (Se) gibi elementler örnek verilebilir [97], [98],[99].

6.2 Ağır metallerin sağlık üzerine etkileri

Ağır metaller katıldıkları biyolojik süreçlere göre yaşamsal ve yaşamsal olmayan olarak sınıflandırılmaktadır. Enzimatik tepkimelerde yer alan, organizmada belli bir derişimde bulunması gereken vitamin ve hormonların yapısında bulunan metaller (Fe, Se, Zn, Cu, Ni) yaşamsal olarak adlandırılırken, eser seviyelerde bulunması durumunda dahi toksik etki gösteren metaller (Hg, Cd, Pb) ise yaşamsal olmayan elementler olarak adlandırılır. Özellikle Hg ve Cd elementler 0,001-0,10 ppm seviyelerinde bulunsada dahi psikolojik yapıyı etkileyerek sağlık problemlerine yol açabilmektedir [100]. Organizma ağız, solunum ve deri yoluyla ağır metale maruz kalabilmektedir. Ağır metallerin canlı organizmaya düşük seviyelerde alınması

durumunda bile metabolizmadan atılmalarının zor olması vucutta birikmelere neden olmaktadır.

Ağır metallerin canlı vücudunda oluşturacağı etkiler, alınan metalin derişimine bağılı olmakla birlikte, metal iyonunun yapısına, çözünürlüğüne, kimyasal yapısına, kompleks oluşturma eğilimine, vücuda alınış şekline ve çevrede bulunma sıklığına göre değişmektedir [99]. Ağır metaller genellikle; DNA hasarı, mitokondri hasarı, otoimmün rahatsızlıkları, böbrek hastalıkları, kanser, nörolojik rahatsızlıklar gibi pekçok hastalığa neden olabilmektedir. Bu tip geri dönüşümü çok zor olan hastalıklara neden olan ağır metaller arasında civa, kurşun, kadmiyum, arsenik gibi elementler yer almaktadır [101], [102].

6.3 Toksik Etki Gösteren Ağır Metaller

6.3.1 Kurşun

Kurşun periyodik tabloda 4A grubunda yer alan en matalik özelliğe sahip ağır elemler arasında yer almaktadır. Atom numarası 82, atom kütlesi 207.19 g/mol, özgül ağırlığı 11.34 g/cm³ olan kurşun elementinin erime noktası 327.4 C°, kaynama noktası ise 1740 C°'dir. Bu element yaygın birçok maddeden daha toksik etkilere sahiptir [103]. Doğal kurşun, kütle numaraları 204,206,207 ve 208 olan dört kararlı izotoptan ve kısa ömürlü radyo izotop izlerinden oluşur. Doğada en çok bulunan kurşun bileşikleri ise PbS, PbCO₃ ve PbSO₄ bileşikleridir [104], [105]. Endüstriyel süreçlerde yaygın bir kullanıma sahip olan kurşun inorganik ve organik formlarda bulunabilmektedir. Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı, kurşun ve inorganik kurşun bileşiklerinin insanlardaki kanserojenliğine ilişkin kanıtların yetersiz olduğu sonucuna varmıştır [106]. İnsan sağlığı üzerinde çok ciddi toksik etkilere sahip olan kurşun inorganik formda atmosferde partiküller halinde bulunurken, organik formdaki kurşun uçucu özelliğe sahip olması nedeniyle içme suyuna ve gıdalara karışarak canlı yaşamını tehdit etmektedir. Bu durum kurşunu önemli bir maruziyet kaynağı haline getirir [107], [99]. İnsanlarda günlük kurşun alımı 20-400 mg arasında değişse de Birleşmiş Miller Gıda ve Tarım Örgütü ile Dünya Sağlık Örgütü'nün ortak kararı neticesinde için tolere edilebilir haftalık kurşun miktarını 3000 mg olarak belirlemişlerdir.

6.3.2 Civa

Civa oda sıcaklığında sıvı halde bulunan bir metaldir. Periyodik tabloda 2B gurubunda yer alan civa elementinin atom numarası 80 olup atom ağırlığı 200.59 g/mol'dür. Donma noktası -38.84 C°, kaynama noktası 356.95 C° olan civa suda çözünmez, sudan 13.55 kat daha ağır havadan ise yedi kat daha yoğundur [108].

- ✓ **Kimyasal Özellikleri:** Civa, dönen bir elektron çiftine sahip olduğu için diğer metallerden farklı bir davranış sergiler. Kimyasal olarak kararlıdır ve oda sıcaklığında sıvı bir halde bulunur. Bu özelliği, cıvanın bazı endüstriyel uygulamalarda kullanılmasına neden olur.
- ✓ **Elektriksel Özellikleri:** Civa iyi bir elektrik iletkenidir, bu nedenle bazı elektriksel cihazlarda kullanılır.
- ✓ **Toksikliği:** Civa, doğrudan temas veya solunum yoluyla insan sağlığına zarar verebilecek bir elementtir. Maruz kalma miktarına bağlı olarak civa zehirlenmesi (civa toksisitesi) olabilir.

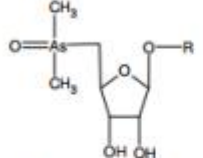
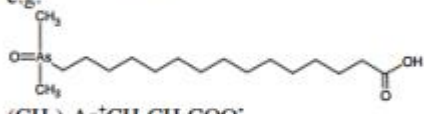
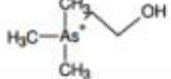
Civaya eser seviyelerde bile maruz kalındığında sağlık üzerine çok ciddi etkilere sahiptir. Civa buharlarının veya civa bileşiklerinin solunması veya ciltle teması, akut civa zehirlenmesine neden olabilir [109]. Düşük düzeyde uzun süreli civa maruziyeti, kronik civa zehirlenmesine yol açabilir. Bu, sinir sistemi, böbrekler ve diğer organlarda hasara neden olabilir [110]. Hamile kadınlar üzerinde yapılan çalışmalarda, yüksek düzeyde civa maruziyeti fetal gelişimi etkileyebildiği ortaya çıkmıştır [111]. Civa, çevreye salındığında su ve toprak kirliliği yaratabilir ve balık gibi su ürünlerinin civa birikimine neden olabilir. Bu, insanlar için gıda zinciri yoluyla civa maruziyetini artırabilir [112].

6.3.3 Arsenik

Arsenik sembolü As atom numarası 33 olan 4. Periyotta yer alan elementtir. Yoğunluğu 5.72 gram/cm³, erime noktası 817 C°, kaynama noktası 613 C° 'dır. Arsenik, çoğu mineralde, genellikle kükürt ve metallerle bir arada veya saf bir element kristali olarak bulunur ve bir metaloiddir. Çeşitli allotroplara sahiptir, ancak yalnızca metalik bir görünüme sahip gri formu endüstri için önemlidir. Arsenik, inorganik (arsenit ve arsenat) ve organik (monometilarsenik asit (MMA) ile dimetilarsinik asit (DMA) olmak üzere farklı kimyasal formlarda bulunur [113]. İnorganik formları (özellikle As⁺³), organik formlarına göre daha toksik özellik gösterir [114]. Arseniğe maruz kalma durumlarında akut arsenik zehirlenmeleri,

kanser, deri lezyonları, kardiyovasküler ve nörolojik rahatsızlıklar gibi pekçok sağlık sorunlarına neden olabilir [115]. Arsenik, çevre ve insan sağlığı için ciddi bir tehlike oluşturan bir kirlenici maddedir. Bu nedenle, arsenik kirliliği kontrolü ve azaltılması için çeşitli düzenlemeler ve tedbirler alınmalıdır. Bu kaynaklar, arsenik kirliliği konusundaki bilimsel araştırmaları ve önlemleri desteklemektedir. Ağızdan alınan arsenik 1 mg'dan itibaren insanda toksik etkilere neden olur. İnsanda toksik dozu 10-50 mg, öldürücü doz (LD50: lethal doz) 60-200 mg civarındadır [116], [99].

Bazı arsenik türlerinin kimyasal yapısı aşağıda verilmiştir [117].

Arsenik Türü	Kısaltma	Kimyasal Yapı
Arsenit	As(III)	$\text{As(O}^-\text{)}_3$
Arsenat	As(V)	$\text{AsO(O}^-\text{)}_3$
Arsenobetain	AB	$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$
Arsenoşeker		
Arsenolipit		c.g. 
Trimetilarseno proponat	TMAP	$(\text{CH}_3)_3\text{As}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$
Metilarsenat	MA	$\text{CH}_3\text{AsO(O}^-\text{)}_2$
Metilarsenit	MA(III)	$\text{CH}_3\text{As(O}^-\text{)}_2$
Dimetilarsenat	DMA	$(\text{CH}_3)_2\text{AsO(O}^-\text{)}$
Dimetilarsenit	DMA(III)	$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}^-$
Trimetilarsin oksit	TMAO	$(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$
Tetrametil arsonyum iyonu	TETRA	$(\text{CH}_3)_4\text{As}^+$
Arsenokolin	AC	

Şekil 6.1 Arsenik türleri ve kimyasal yapıları

6.3.4 Kadmiyum

Kadmiyum, kimyasal sembolü Cd olan bir geçiş metalidir. Oda sıcaklığında katı bir element olan kadmiyumun saf haldeki rengi, gümüş. Yoğunluğu yaklaşık olarak 8.65 g/cm³'tür. Erime noktası yaklaşık olarak 321°C, kaynama noktası yaklaşık olarak 767°C olan kadmiyum çoğunlukla diğer metallerle karışım halinde bulunur ve kimyasal olarak kararlıdır. Kadmiyum oksit (CdO) ve kadmiyum sülfat (CdSO₄) gibi bileşikler oluşturabilir.

✓ Sağlık Üzerindeki Etkileri:

Yirminci yüzyıldan beri artan dünya nüfusuna bağlı olarak çevre kirliliği önemli bir sorun haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün halk sağlığı açısından endişe duymasına neden olan 10 kimyasal arasında yer alan ağır metallerden biri olan kadmiyum, çinko cevheri içerisinde 12 değişik yapıda bulunabilen yumuşak yapıda ve elektropozitif bir metal olma özelliğine sahiptir. Kadmiyumun korozyon direncinin yüksek olması sebebiyle kaplama endüstrisinde yaygın bir kullanıma sahiptir [118].

Akut Maruziyet: Yüksek seviyelerde kadmiyum inhalasyonu veya yutulması akut zehirlenmelere yol açabilir. Bu da, mide bulantısı, kusma, ishal, karın ağrısı gibi semptomlarla neden olabilir.

Kronik Maruziyet: Düşük seviyelerde uzun süreli kadmiyum maruziyeti, böbrek hasarı, kemik erimesi (osteoporoz), akciğer hasarı ve kanser riskini artırabilir. Kadmiyumun vücuda birikmesi özellikle böbreklerde ve karaciğerde gerçekleşir ve uzun süreli düşük düzeyde maruziyetin insan sağlığına zarar verebileceği bilinmektedir [100]. Kadmiyumun kanserojen özelliklere sahip olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır, özellikle akciğer kanseri ile ilişkilendirilmiştir [119].

6.3.5 Bakır

Bakır; Cu^0 , Cu^{+1} ve Cu^{+2} değerlikli üç oksidasyon basamağına sahip bir geçiş metalidir. Ayrıca 5 g/cm^3 'den daha ağır bir yoğunluğa sahip olmasından dolayı ağır metal olarak sınıflandırılmıştır. Bakır elektrik ve boya sanayinde, yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Bakır elementi vücudun normal fonksiyonlarının işleyişi açısından önemli bir metal olması nedeniyle özellikle saç, deri esnek kısımları, kemik ve bazı iç organların temel bileşenlerinden biridir. Erişkin insanlarda ortalama 50-120 mg bulunan bakır, aminoasitler, yağ asitleri ve vitaminlerin metabolizmadaki tepkimelerin vazgeçilmez unsurlarından biridir. Bakırla ilgili en ciddi zehirlenmeler oral yolla olmakla birlikte memelilerin dokularında birikebilen ve dokulardaki derişimi kritik değerlere ulaştığında toksik etkiler göstermektedir. Bu metale maruz kalındığında başta karaciğer ve böbrek olmak üzere, pek çok dokuda patolojik değişiklikler geliştiği bildirilmektedir.

Hayati mikro besinlerden biri olan bakır, yaşamın sürdürülmesi için gereklidir ve biyolojik işlevlerde de rol oynar. Bununla birlikte, aşırı miktarda kullanıldığında,

en belirgin uzun vadeli etkisi karaciğer hasarı olması nedeniyle tehlikeli olabilir [120]. Tavsiye edilen günlük bakır miktarı sağlıklı yetişkinler için günde 2.0 mg'dır. Dünya Sağlık Örgütü insanların her gün 2 ila 9 miligram bakır tüketmesini önermektedir. Ağız yoluyla alındığında akut zehirlenme insanlarda, LD50, (Lethal Dose: Öldürücü Doz) 100 mg/kg'dır, ancak 600 mg/kg'a kadar emilim olduğunda dahi tedavi edilebilmektedir [121]. Bakırın insan sağlığı üzerine etkilerininin büyük olması nedeniyle düşük seviyelerde tespiti oldukça önemli hale gelmektedir. Bu nedenle bakırın kantitatif tayinininde absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS), İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Salınımı (ICP-AES), İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrofotometresi (ICP-MS) ve voltametrik yöntemler gibi duyarlılığı yüksek pek çok yöntem kullanılmaktadır [122], [99].

6.3.6 Krom

Krom oda sıcaklığında katı olan saf krom, rengi gümüşü beyaz renkte bir metaldir. Atom numarası 24 olup, atom ağırlığı 51.99 olan krom elementinin sembolü Cr'dir. 6B grubunda yer alan bir geçiş metalidir. Yoğunluğu yaklaşık olarak 7.19 g/cm³, erime noktası yaklaşık olarak 1,907°C'dir. Kimyasal olarak kararlı bir element olan krom, oksijen ile temas ettiğinde paslanmaz ve kendini bir koruyucu oksit tabakası ile kaplar. Bu özelliği, kromun korozyona karşı dayanıklılığını artırır.

Krom, vücut için esansiyel bir microelement olup bazı önemli biyokimyasal işlevlere katılır. İki temel oksidasyon durumu vardır: trivalent krom (Cr(III)) ve heksavalant krom (Cr(VI)). Farklı oksidasyon basamaklarına sahip olan kromun her birinin farklı sağlık etkileri vardır:

6.3.6.1 Trivalent krom (Cr⁺³):

Bu forma sahip krom, insan vücudu için gerekli bir besin elementidir ve glikoz metabolizmasında rol oynar. Bu nedenle, yetersiz trivalent krom alımı, diyabet riskini artırabilir [123].

6.3.6.2 Heksavalent krom (Cr⁺⁶):

Heksavalent krom, eser seviyelerde maruz kalınması durumunda dahi toksik etkilere sahiptir ve solunum yoluyla veya deri temasıyla insan sağlığına zarar verebilir [124]. Kronik maruziyet, akciğer kanseri riskini artırabilir ve solunum yolu irritasyonuna yol açabilir. Cr(VI) bileşiklerinin çevreye en büyük salınımı endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanmaktadır. Cr(VI) içeren malzemeler arasında

çeşitli boya ve astar pigmentleri, grafik sanat malzemeleri, mantar ilaçları, korozyon önleyiciler ve ahşap koruyucular bulunmaktadır. Kromatlar, boyalarda kullanımlarını daha da kısıtlayan AB'de de yetkilendirilmiştir. Cr(VI) yakın zamanda bağlayıcı bir mesleki sınır değeri ile AB Kanserojen ve Mutajen direktifine (CMD) eklenmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) içme suyu için sağlık temelli kılavuz değer olarak 50 mg/L Cr önermektedir. Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) Cr(VI) ve Cr(III)'ü sırasıyla Grup 1 kanserojen (insanlar için kanserojen) ve Grup 3 kanserojen (insanlar için kanserojenliği açısından sınıflandırılmaz) olarak kategorize etmiştir [125]. ABD'de ACGIH, 2018 yılında kanser dışı (akciğer) etkilere dayanan 0,2µg/m³'lük bir TLV önermiştir [126].

6.4 Ağır metallerin çevresel etkileri

Çevresel kirlenme metal korozyonu, atmosferik birikim, metal iyonlarının toprak erozyonu ve ağır metallerin süzülmesi, tortunun yeniden süspansiyonu ve su kaynaklarından toprağa ve yeraltı suyuna metal buharlaşması yoluyla meydana gelebilir [127]. Ağır metallerin ekolojik sistemde yayılımının doğal çevrimlerden daha çok insan faktörünün neden olduğu bilinmektedir. Yıllık doğal çevrimler sonucu 7600 ton kadmiyum, yaklaşık 19 bin ton arsen, 3600 ton civa, 332 bin ton kurşun atmosfere atılırken insan faaliyetleri sonucu çevreye atılan ağır metaller incelendiğinde selen 19 kat, kadmiyum 8 kat, civa, kurşun, kalay 6 kat, arsen, nikel, krom 3 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Ağır metallerin toksisite derecesi; metalin konsantrasyonuna, bulunuş formuna (metal, iyon, organik bileşik, vs.), fertlere, türlere, etki süresine, bulunduğu yere vb. Gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterir [128].

Endüstriyel kaynaklar arasında rafinerilerde metal işleme, enerji santrallerinde kömür yakma, petrol yakma, nükleer enerji santralleri ve yüksek gerilim hatları, plastik, tekstil, mikroelektronik, ahşap koruma ve kağıt işleme tesisleri yer almaktadır [129].

Tablo 6.1 Sektör bazında ağır metal kaynakları

Endüstri	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Kağıt Endüstrisi	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokimya	+	+	-	+	+	-	+	+
Klor- alkali Üretimi	+	+	-	+	+	-	+	+
Gübre Sanayi	+	+	+	+	+	+	-	+
Demir- Çelik San	+	+	+	+	+	+	+	+
Enerji Üretimi (Termik)	+	+	+	+	+	+	+	+

6.4.1 Toprakta ağır metal kirliliği

Ağır metaller toprağın kirliliğine neden olan kirleticiler arasında en üst sıralardadır. Toprağa karışan ağır metaller mikrobiyal aktiviteye, toprak verimliliği, biyolojik çeşitlilik ve ürünlerdeki verim kayıplarına ve hatta besin zinciri yoluyla insan ve hayvanlarda zehirlenmelere kadar giden problemlere neden olmaktadır. Ağır metaller, toprağın oluşumu sırasında meydana gelebileceği gibi, atmosferik taşınım, biyolojik arıtım çamurlarının boşaltımı ve hayvan dışkıları ve evsel atıkların uzaklaştırılması gibi süreçlerden kaynaklanabilir [130]. Örneğin kadmiyum elementi yer kabuğunda ortalama 0.1 mg/kg derişiminde bulunur. Çevredeki kadmiyum bileşiklerinin en yüksek seviyesi tortul kayalarda birikir ve deniz fosfatları yaklaşık 15 mg kadmiyum/kg içerir. Toprakta bulunan bu metaller tüm biyosfer için risk oluşturmakta ve doğrudan sindirim yoluyla alınmakta, bitkiler tarafından emilerek hem bitki hem de bitkiyi yiyen besin zinciri için tehlikeli olabilmekte, toprağın pH, renk, gözeneklilik ve doğal kimya gibi özelliklerini değiştirerek toprağın kalitesini etkilemekte ve ayrıca suyu kirletmektedir [131], [132].

6.4.2 Suda ağır metal kirliliği

Su kirliliğinin başlıca iki kaynağı vardır: kentleşme ve sanayileşme. Metaller köylerden, kasabalardan, şehirlerden ve endüstrilerden gelen akıntılarla taşınır ve su kütlelerinin tortularında birikir. İzleri su kütlelerine taşınmış olsa bile, insanlar ve diğer ekosistemler için çok zehirli olabilirler. Ağır metaller içme suyundaki başlıca kirleticiler ve risk unsurlarıdır [133]. Biyolojik birikim ve biyolojik büyütme potansiyeli ve çevrede kalıcılıkları nedeniyle toksik ağır elementlere daha fazla dikkat edilmelidir. Bu nedenle su kirlili bilim insanların son yıllarda odak noktası haline gelmiştir [134]. Ağır metallerin toksisitesi, hangi metalin mevcut olduğu, metalin doğası, metalin biyolojik rolü, maruz kalan organizma ve

organizmanın maruz kaldığı yaşam dönemi gibi birçok faktöre bağlıdır. Sulardaki ağır metal kirliliğinin pek çok kaynağı olmakla birlikte, bu kaynaklardan bazıları;

- Endüstriyel atıklar; madenler, metal işleme tesisleri ve kimya sanayii gibi kaynaklar, sulara ağır metallerin sızmasına neden olabilir.
- Tarım Faaliyetleri; Pestisitler, gübreler ve sulama suları aracılığıyla topraktaki ağır metallerin sularda birikmesine neden olabilir.
- Atık su arıtma tesisleri; Atık su arıtma tesislerinden gelen deşarjlar, sulardaki ağır metal konsantrasyonlarını artırabilir.
- Doğal kaynaklar; Bazı bölgelerde yeraltı suyunda veya doğal kaynaklarda bulunan ağır metaller sulara karışabilir [135].

Çevredeki ağır metallerin pek çok kaynağı olmakla birlikte giderimi de son yıllarda önem arz eden konular arasında yer almaktadır. Ağır metallerin giderimi için, aşağıdaki yöntemler kullanılabilir.

Koagülasyon ve Flokülasyon: Kimyasal koagülanlar ve flokülanlar kullanarak ağır metalleri sudan çöktürmek ve çökelti oluşturmak için bu prosesler uygulanır.

İyon Değiştirme Reçineleri: İyon değiştirme reçineleri, ağır metalleri sudan tutmak ve çıkarmak için kullanılır.

Adsorpsiyon: Aktif karbon, zeolitler ve diğer adsorbentler ağır metalleri sudan adsorbe ederek gidermek için kullanılır.

Elektrokimyasal Yöntemler: Elektrokoagülasyon ve elektroflotasyon gibi elektrokimyasal yöntemler, ağır metallerin sudan çöktürülmesi ve çıkarılması için etkili olabilir.

6.4.3 Havada ağır metal kirliliği

Havada ağır metal kirliliği, atmosferdeki havada bulunan çeşitli ağır metallerin, insan sağlığına ve çevreye zarar verebilecek düzeylerde artış gösterdiği bir durumu ifade eder. Bu metaller, doğal kaynaklar ve insan faaliyetleri nedeniyle atmosfere karışır. Havada ağır metal kirliliğinin kaynakları arasında sanayi ve trafik emisyonları, kömür yakılması gibi faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir. Havada bulunan ağır metaller, insanlar için birinci derecede toksik maddeler olabilir ve çevre ekosistemlerine zarar verebilir. Havada bulunabilecek ağır metaller;

Kurşun; Kurşun, benzinin tetraetil kurşun katkısı gibi endüstriyel ve otomotiv kaynaklardan havaya karışabilir. Kurşun, zeka kaybı, öğrenme güçlüğü ve sinir sistemi sorunlarına neden olabilir.

Civa (Hg): Civa, termal enerji üretimi ve altın madenciliği gibi endüstriyel süreçlerle havaya salınabilir. Metilciva gibi civa formları, sucul ekosistemlerde biyobirikime yol açabilir ve insanlar tarafından gıda zinciri yoluyla alınabilir.

Kadmiyum (Cd): Kadmiyum, metal ürünlerin üretimi ve yanma ürünleri gibi kaynaklardan havaya salınabilir. Kadmiyum maruziyeti, böbrek hasarı, kemik erimesi ve kanser riski gibi sağlık sorunlarına neden olabilir.

Arsenik (As): Arsenik, madencilik ve tarım ilaçları gibi kaynaklardan havada bulunabilir. Arsenik maruziyeti cilt lezyonları, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar gibi sağlık sorunlarına yol açabilir.

6.4.4 Gıdalarda ağır metal kirliliği

Metal kontaminasyonuna uğramış olan bir besinin tüketilmesiyle vücuda alınan ağır metaller, maruz kalınan konsantrasyona, yağ dokusu, kemik vb. dokularda tutulma miktarına bağlı olarak vücutta çeşitli düzensizliklere neden olmakla birlikte kanser, organ yetmezlikleri, kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik boyutlarda önemli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir [100]. Gıdalardaki metalik kirlilikler insan sağlığını doğrudan etkilediği için ağır metallerin düşük seviyelerde hassas ve duyarlılığı yüksek metotlarla tayin edilmesi ilgi odağı konular arasında yerini almıştır. Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı (IAEA)' nca 12 farklı ülkede çeşitli besinler üzerinde yapılan çalışmada, sağlık ve kontamine olma riski açısından üzerinde hassasiyetle durulması gereken elementlerin arsenik, kadmiyum, kurşun ve civa olduğunu açıklamıştır [136]. Ağır metaller ve metaloidler doğada biyolojik olarak parçalanamaz ve insan sağlığını doğrudan ve dolaylı olarak etkileyebilir [137]. Ağır metallere ve metaloidlere kronik olarak maruz kalmak karaciğer, akciğer, beyin ve kemikler gibi çeşitli organlara zarar verebilir [127],[138].

Bir besinde çevre kirleticilerinin analizinde sadece kirleticinin ana formunun tayin edilmesi yanıltıcı olabilmektedir. Oysa ki çevre kirleticiler çeşitli dış etmenlerle parçanabilmekte ve metabolitleri dediğimiz daha toksik özellikteki parçalanma (ana veya yan ürün) ürünlerini oluşturabilmektedirler. Bu nedenle ülkemizde de tarım

ürünlerinin yetiştirildiği topraklarda ve sulama sularında ağır metaller ve sınırlı sayıda kalıcı organik kirleticiler için limit değerler belirlenmiştir [139].

Bakır (Cu), kobalt (Co) ve çinko (Zn) gibi bazı metaller normal vücut büyümesi ve canlı organizmaların işlevleri için gereklidir ve temel elementler olarak adlandırılır. Kadmiyum (Cd), krom (Cr), manganez (Mn) ve kurşun (Pb) gibi diğer elementler esansiyel olmayan elementler olarak adlandırılır ve bu metallerin yüksek konsantrasyonları insan ve su yaşamı için oldukça toksik kabul edilir. Örneğin vücuda bir şekilde alınan kurşun 100 µg/dL'yi aşması durumunda sinir sistemi bozuklukları, kansızlık, böbrek yetmezliği, körlük, kolik, D vitamini metabolizmasında bozukluk gibi çeşitli rahatsızlıklara neden olur [107]. Ülkemizde üretilen gıda ürünlerine bakıldığında yaklaşık olarak % 65'ni tahıl ve tahıl ürünleri oluşturmaktadır. Gıda alışkanlıklarına bakıldığında temel öğünlerin önemli bir kısmını unlu mamüllerin oluşturulduğu görülmektedir. Artan genç nüfusa bağlı olarak beslenme tercihleri noktasında da değişiklikler olduğu bilinmektedir. Tüm dünyada olduğu bizim ülkemizde de artan vejetaryenlik ilgi odağı haline gelmiştir. Vejetaryen bireylerin %10'nu ise vegan bireyler oluşturmaktadır. Günümüzde ise vegan diyetler gençler ve gençler arasında, özellikle de kadınlar arasında daha yaygın hale gelmektedir [140]. Birçok vejetaryen diyet kararlarını çevre ve dünya kaynaklarıyla ilgili endişelere, hayvanların bakımıyla ilgili etik konulara ve hayvansal üretim sırasında antibiyotik ve büyüme hormonlarının kullanımına dayandırmaktadır. Süt ürünlerinin kullanımından kaynaklanan alerji ve laktoz intoleransı olasılığı, bitki bazlı bir diyet olan soya bazlı süt ürünlerinin kullanımını artırmıştır. Sebze, meyve, baklagiller ve tahıllardan oluşan bir vegan diyetinde yetersiz ve dengesiz beslenme, yüksek lif alımının neden olduğu protein dengesizlikleri görülebilir. Ayrıca veganlar kalsiyum, çinko ve B₁₂ vitamini, demir gibi önemli vitamin ve minerallerin yetersiz tüketimi gibi sorunlarla da karşılaşabilmektedir [141],[142],[143]. İnsan yaşamının devam edebilmesi için beslenme ihtiyacının karşılanması gerekmektedir. Bu nedenle tüketilen gıdaların içeriğinin temiz olması veya içeriklerinin belirlenmesi yönündeki çalışmalar çok önemlidir. Gıdaların elementel olarak incelenmesi için çeşitli analitik yöntemler kullanılabilir. Bu amaç doğrultusunda eser element analizlerinde indüktif eşleşmiş plazma- kütle spektrometresi (ICP-MS) [144], optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) [145] tercih edilmektedir. Bunun yanında eser element

analizleri daha ucuz yöntemler olan atomik absorpsiyon spektrofotometresi (FAAS) yada HG-AAS gibi yöntemlerle de yapılabilir [146]. Her yöntemin hedef analitlere bağlı olarak belirli avantajları/dezavantajları veya sınırlamaları olmasına rağmen, kütle spektrometrisine dayalı yöntemlerde ppb seviyelerinde tespit limitleri elde edilebilmektedir. Ayrıca ICP-MS, aynı numune enjeksiyonunda hem eser hem de ana elementlerin ölçülmesini sağlayan daha geniş bir doğrusal dinamik aralık sağlar [147]. Düşük tespit limitleri, daha geniş doğrusal aralık, çoklu element tespiti ve element ve izotopa özgü tespit yetenekleri, ICP-MS'nin bir tespit yöntemi olarak kullanılmasının diğer avantajlarından biridir. Gıda ürünleri, yağlar, petrol ürünleri, farmasötikler ve endüstriyel organik numuneler gibi karmaşık matrislere sahip numunelerin analizi, numune girişindeki zorluklar ve organik içerikli numunelerin yüksek karbon içeriği ve fiziksel özelliklerinden kaynaklanan spektral girişimler nedeniyle daha zordur. Bu nedenle karmaşık matrislere sahip numunelerde ön işlem tekniklerinin kullanılması tavsiye edilir [144], [148].

6.5 Literatürde ICP-MS ile yapılan çalışmalar

Şahan ve ark. Bursa yöresine ait 22 adet siyah ve yeşil zeytin numunelerinde Mg, Cr, Co, Ni, Fe, Cu, Zn, Sn, Cd ve Pb elementlerinin analizini ICP-MS sisteminde gerçekleştirmişlerdir. Örnekler mikrodalga yakma sisteminde 5.0 mL % 65 'lik HNO₃ ve 1.0 mL %30 H₂O₂ kullanılarak hazırlanmıştır. Derişimi en yüksek element Mg ($125,11 \pm 5.02$ mg/kg) iken, Co (0.09 ± 0.01 mg/kg) test edilen zeytin örneklerinde en düşük konsantrasyona sahip olmuştur. Çalışılan 10 elementin kantitatif sonuçlarının güvenli sınırlar içerisinde olduğu sonucuna varmışlardır [149].

Jackson ve ark. Elma suyundaki inorganik As ve pirinç örneklerindeki As miktarının yüksek çıkması nedeniyle sınırlamalar getirilmesine yönelik çalışmaları göz önünde bulundurarak çalışmalar yapmıştır. Analiz esasında As ve Se elementlerine interferans (girişim) etkisi yapabilecek nadir toprak elementlerini de göz önünde bulundurmışlardır. Bütün örnekler CEM marka mikrodalga yakma sisteminde organik maddelerden arındırılmıştır. Girişimlerin elimine edilmesine farklı çarpıştırma hücresi gazlarının etkisine bakılmıştır. Bu çalışmalar için sertifikalı referans malzemeler (NIST 1547 ve NIST 1515 kullanılmıştır [150].

Maione ve ark. Organik ve geleneksel yollarla üretilen 37 adet üzüm suyundaki 44 adet element için kompozisyonun belirlenmesi için indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresini (ICP-MS) kullanmışlardır. Analitik kontrollerin sağlanması amacıyla NIST SRM 8415, NIST 1577c, NIST SRM 1515 sertifikalı referans malzemelerini kullanmışlardır. Çalışmada organik üzüm suyuna ilişkin bir veri madenciliği çalışması sunulmuştur. Organik üzüm suyunu kimyasal bileşenlerine dayanarak geleneksel üzüm suyundan ayırt edebilen tahmin modellerin gelişmesine katkı sağlamışlardır [151].

Millour ve ark. gıda maddelerindeki 21 elementin eşleşmiş plazma kütle spektrometresinde mikrodalga yakma işlemi sonrası analizlerinin yapılması ve metod validasyonuna yönelik çalışmalar yapmışlardır. Validasyon, Fransız Gıda Güvenliği Ajansı'nın (AFSSA) Ulusal Referans Laboratuvarı (NRL) tarafından ikinci Fransız Toplam Diyet Çalışması'nın (TDS) 1322 gıda örneğinin analizine paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Doğrusallık, miktar belirleme sınırları (LOQ), özgüllük, tekrarlanabilirlik koşulları altında hassasiyet ve ara hassasiyet tekrarlanabilirliği gibi çeşitli kriterler değerlendirilmiştir. Ayrıca, yöntem çeşitli dahili ve harici kalite kontrolleri (IQC ve EQC) tarafından denetlenmiştir. Sonuçlar, bu yöntemin kabul edilebilir analitik performans ile gıda maddelerinde bu 21 temel ve temel olmayan elementin rutin tayini için laboratuvarında kullanılabileceğini göstermiştir [152].

Szok ve ark. Çin tıbbında kullanılan seçilmiş bitkilerde (*Angelica sinensis*, *Bacopa monnieri*, *Bupleurum sinensis*, *Curcuma longa*, *Cola accuminata*, *Emblica officinalis*, *Garcinia cambogia*, *Mucuna pruriens*) potansiyel toksik metal içeriği belirlenmesi için ICP-MS sisteminde analiz gerçekleştirmişlerdir. Örnekler kapalı bir sistemde HNO_3 kullanılarak analize hazır hale getirilmişlerdir. Metalik elementlerin ve bileşiklerinin potansiyel toksisitesinin bazı ilgili yönlerini de tartışmışlardır. Polonya piyasasında bulunan ve incelenen bitkileri içeren diyet takviyelerindeki metal içeriği analizinin sonuçlarını da sunmuşlardır. Sonuçlar şöyledir temel bileşen analizi (PCA) ve küme analizi ile analiz edilmiştir [153].

Waechter ve ark. indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometresi ile kandaki Br, Cl ve I'nin daha ileri tayini için yanma ve ultraviyole sindirime dayalı iki mikrodalga destekli numune hazırlama yöntemi önermişlerdir. Mikrodalga kaynaklı yakma (MIC) için, kan Munktell TFN kağıdının kare parçaları üzerine

lekelenmiştir ve su ile seyreltilmiş NH_4OH emici çözeltiler olarak değerlendirilmiştir. Benekli kandaki analitlerin stabilitesi de değerlendirilmiştir. 90 gün boyunca, 20 ± 5 °C'de desikatörde saklanan kağıt üzerindeki örneklerin (antikoagülanlı ve antikoagülansız) halojen içeriğinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Halojen tayininde C ve K'nın neden olduğu girişimler göz önünde bulundurulmuştur. Her iki yöntem için de geri kazanımlar Br için; %94 ve 108, Cl için; %96 ve 103 ve I için; %104 ve 97 olarak elde edilmiştir [154].

Zhang ve ark. otomatik odaklanmış kızılötesi külleme ve soğuk tuzak ile birlikte ICP-MS ile bitkisel gıdalarda arsenik, kadmiyum ve kurşunun eşzamanlı tayinini gerçekleştirmişlerdir. Tayinin gerçekleştirilmesi için ICP-MS analizi öncesi 40 dk'lık külleme işlemi uygulanmış, uçucu arsenik ve kurşunun yakalanması için soğuk tuzaklama işlemi yapılmıştır. Yapılan analizler neticesinde %90-107 aralığında geri kazanım değerleri elde edilmiştir [155].

Khan ve ark. Güney Kore'deki mevcut bebek mamalarında bulunan krom (Cr), molibden (Mo) ve selenyumun (Se) eşzamanlı tayini için analitik bir yöntem geliştirmişlerdir. Numunelerin hazırlanması için kuru külleme, yaş yakma ve mikrodalga yakma sistemleri kullanılarak farklı örnek hazırlama prosedürleri denenmiştir. Örneklerin analizinde hem ICP-OES hem de ICP-MS sistemleri kullanılmıştır. Analitik teknikler tespit limitleri, hassasiyet, doğruluk ve geri kazanım deneyleri ile doğrulanmış ve ICP-MS ile yapılan analizlerde sonuçların daha hassas olduğu sonucuna varılmıştır. Se, Mo ve Cr'nin ICP-OES ile geri kazanımı (%) 40.9, 109.4 ve 0 iken ICP-MS ile sırasıyla 99.1, 98.7 ve 98.4 olarak elde edilmiştir. ICP-MS ile bebek formüllerindeki Cr, Mo ve Se içerikleri, CODEX bebek formülleri için besin standartlarına uygun olarak iyi besin değerlerinde bulunmuştur [156].

7

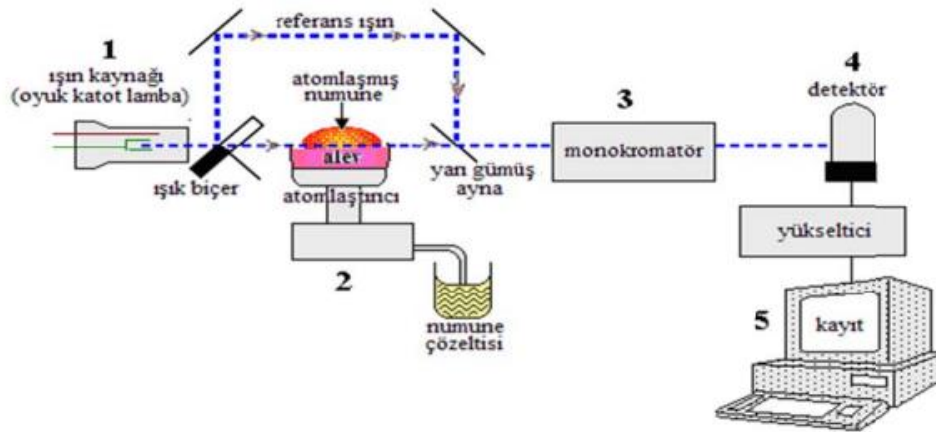
METAL, AĞIR METAL TAYİN YÖNTEMLERİ

7.1 Spektroskopik Yöntemler

Spektroskopi (tayf bilimi) en çok tanınan hâli ile maddenin özelliklerinin, soğrulan ve salınan parçacıklar, ışık, veya ses aracılığı ile incelenmesidir. Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımanın ölçülmesidir. Ultraviyole ve Görünür Bölge Spektroskopisi, Kütle Spektroskopisi, Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi, Floresans ve Fosforesans Spektroskopisi, Atomik Emisyon ve Atomik Floresans Spektroskopisi, İnfrared Spektroskopisi, Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi, Floresans ve Fosforesans Spektroskopisi gibi birçok yöntem spektroskopinin alt dallarını oluşturur [157]. Literatürde metal ve ağır metal tayinlerinde yüksek seçicilik sağlayan atomik spektroskopik teknikler arasında yer alan alevli atomik absorbsiyon spektrometrisi (FAAS), elektrotermal atomik absorbsiyon spektrometrisi (ETAAS) ve eşleşmiş plazma- atomik emisyon spektrometri (ICP-AES) gibi yöntemler kullanılabilmektedir.

7.1.1 Atomik Absorbsiyon Spektrometresi

Numune içerisindeki belli elementlerin konsantrasyonunun ölçülmesi için karakteristik dalga boylarında ışığın emiliminin ölçülmesi prensibine dayanan analitik bir tekniktir. AAS, çevresel analiz, klinik kimya ve metalürji gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. AAS, bir numunedeki temel hal atomlarının her bir elemente özgü belirli dalga boylarında ışığı absorbe etmesi prensibine dayanır. Bu dalga boyları tipik olarak elektromanyetik spektrumun ultraviyole (UV) veya görünür (VIS) bölgelerindedir. Işıma şiddetindeki azalma maddenin derşimiyle doğru orantılıdır. Elemente özgü oyuk katot lambaları seçilir ve ilgilenilen elementi içeren oyuk katot lambasından (HCL) akım geçtiğinde, elementin rezonans çizgisinde ışık yayar. Numune, alevli AAS gibi bir atomizasyon kaynağına verilir. Alevde numune buharlaştırılır ve atomize edilerek temel hal atomları oluşturulur. Şekil 7.1’de atomik absorpsiyon spektroskopisi gösterilmiştir.



Şekil 7.1 Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi

Soylak ve ark. ayçiçek yağı, bebek yağı, alabalık, atık kızartma yağı ve şurupla ıslatılmış pasta yağı gibi yenilebilir yağ örneklerinden kurşun, kobalt, nikel ve manganezin ayrılması ve ön konsantrasyonu için derin ötektik çözücü mikroekstraksiyonuna dayalı yeni bir sıvı faz mikroekstraksiyon yöntemi geliştirmişlerdir. Mikroekstraksiyon için bir kolin klorür derin ötektik çözücü kullanmışlardır. Ekstraksiyondan sonra, analitik konsantrasyonlar alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile belirlenmiştir. Derin ötektik çözücünün türü ve hacmi, numune hacmi ve sıcaklık gibi analitik parametrelerin kurşun, kobalt, nikel ve manganezin ekstraksiyon verimliliği üzerindeki etkileri optimize edilmiştir. Geri kazanımlar genellikle $>95\%$ elde etmişlerdir. $50 \mu\text{g/L}$ derişimindeki analit elementler için bağıl standart sapması (RSD, %, $n = 7$) $0.9-4.3$ aralığında bulunmuştur [158].

7.1.2 Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrometresi

Elektrotermal atomlaştırıcılar olarak bilinen grafit fırın elektriksel dirençle 3000°C ' ye kadar istenirse kademeli olarak ısıtılabilir. Alevli sistemlere göre daha pahalı fakat daha avantajlıdır. Ağır metal analizlerinde düşük seviyelerde analiz imkanı tanınması nedeniyle tercih edilir. Grafit fırın 2-3 cm uzunluğunda 1 cm iç çapındaki tüptür. Bu tüpün her iki yanında bulunan elektrik akımı ile ısıtılması sağlanır. Çözelti halindeki numune 20- 45 s 110°C de kurutma yapılarak suyu giderilirken, $350-1200^\circ\text{C}$ 'de ise 20-45 s de ısıtılarak organik maddeler uzaklaştırılır. $2000-3000^\circ\text{C}$ ' de, 3-10 s de ısıtılarak atomlaştırma işlemi

gerçekleştirilir. Elektrotermal atomlaştırıcılar düşük miktardaki numunelerde bile yüksek duyarlılığa sahip olduğundan alevli atomlaştırıcılara göre daha çok tercih edilir [159].

Labusov ve ark. eşzamanlı çoklu element tayini için elektrotermal atomlaştırıcı ve sürekli ışık kaynağına sahip bir prototip atomik absorpsiyon spektrometresi inşa etmişlerdir. Kullandıkları spektral cihaz, sırasıyla 190-350 ve 350-780 nm dalga boyu aralıklarında 10 ve 30 pm çözünürlüğe sahip iki paralel çalışan Paschen-Runge polikromatörden oluşmaktadır. Cihaz, her biri 14 doğrusal CCD dizisinden oluşan iki düzenden oluşan ve her diziden emisyon spektrumlarının eşzamanlı olarak elde edilmesi için bir analizöre bağlı bir kayıt sistemi ile donatılmıştır. Sürekli spektrum ışık kaynağı olarak, lazer tahrikli bir ksenon ark lambası, atomlaştırıcı olarak ise, programlanabilir bir güç kaynağına sahip uzunlamasına ısıtılmış bir grafit fırın kullanmışlardır [160].

7.1.3 İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES)

Alev testleri, aleve püskürtülen elementlerin yaydığı ışıktan kalitatif analiz yapmaya dayanan alev testleriyle başlamıştır. Daha sonra metallerin ark ve kıvılcım atomlaştırma teknikleri kullanılarak analiz edilmesi yapıldı. Günümüzde, plazma atomlaştırması en yaygın yöntemdir. Doğru akım plazma (DCP) ve mikrodalga-ile-oluşmuş plazma (MIP) kaynakları çeşitli analizlerde kullanılır. Ancak indüktif eşleşmiş plazma (ICP), plazma kaynaklarının en önemli türüdür. ICP-OES, 70 civarında elementin eser, minör ve majör konsantrasyon düzeylerinde analizine imkan tanıyan hızlı bir analitik tekniktir. Numunedeki element atomları yüksek sıcaklık ortamında uyarılır ve üst enerji seviyesine çıkarlar. Üst enerji seviyesinde kararlı olmayan bu atomlar temel hale dönmek isteyeceklerdir. Temel hale dönerken yaydıkları ışınların ölçülür. Her element enerji düzeyine bağlı olarak kendine özgü emisyon yapabileceği dalga boyuna sahiptir ve dalga boyundaki ve emisyon şiddeti ölçülerek bir örnekte bulunan elementler ve miktarları hesaplanabilmektedir.

Konanç ve ark. saf su örneklerine ilave edilen belli derişimdeki Co(II), Cu(II), Fe(III) ve Ni(II) iyonlarının sulu ortamdan giderimine yönelik çalışmalar yapmışlardır. Bu amaç doğrultusunda 4-metoksisalisilaldehit ve 4-aminoantipirin bileşiklerinin tepkimesi sonucu 4-1,5-dimetil-2-fenil-1-H-pirazol-3(2H)-on (Schiff

bazı) sentezlenmişlerdir. Sentezlenen Schiff bazı ile metal kompleksleri oluşturulmuş ve UV-vis ile görünür bölgedeki absorpsiyon değişimleri incelenmiştir. Daha sonra bu komplekslerin sulu fazdan absorpladığı metal iyonu derişimini bulmak için katı faz ekstraksiyonu uygulanmış ve ekstraksiyon işleminden sonra sulu fazda kalan metal iyonu derişimleri ICP-OES tayin edilmiştir. Bu sonuçlara göre; dört metal iyon için komplekse ait optimum şartlar; metal-ligant bağlanma oranı (Job's metodu): 1/2, reaksiyon süresi: 15 dakika, pH: 6.5, reaksiyon sıcaklığı: 25 °C olarak elde edilmiştir. Ekstraksiyon yöntemi için geri kazanım değerleri 0.25, 1.0 ve 10 mg/L konsantrasyonda Co(II), Cu(II), Fe(III) ve Ni(II) iyonları için ayrı ayrı uygulanmıştır ve 0.25 mg/L konsantrasyondaki çözeltiler için en düşük %85.2 olarak elde edilirken en yüksek % 96.8 bulunmuştur.

7.2 Elektroanalitik Yöntemler

Elektrokimyasal yöntemler kullanılarak ağır metallerin belirlenmesi, çevre ve analitik kimyada yaygın bir analitik tekniktir. Bu yöntemler yüksek hassasiyetleri, seçicilikleri ve nispeten düşük maliyetleri nedeniyle avantajlıdır.

7.2.1 Anodik Sıyırma Voltametrisi (ASV):

Anodik Sıyırma Voltametrisi, ağır metal tayini için kullanılan popüler bir elektrokimyasal tekniktir. İki adımdan oluşur: metal iyonlarının çalışma elektrodu üzerinde elektrodpoze edildiği bir biriktirme adımı ve biriken iyonların elektrottan sıyrıldığı ve miktarının belirlendiği bir sıyırma adımından oluşmaktadır.

7.2.2 Döngüsel Voltametrisi (CV):

Döngüsel voltametri, ağır metal iyonlarının elektrokimyasal davranışını incelemek için kullanılan çok yönlü bir elektrokimyasal yöntemdir. Döngüsel voltammogramın şekli ve konumu analiz edilerek ağır metallerin varlığı ve konsantrasyonu belirleyebilir. Sabit bir hızda potansiyel taraması uygulayarak, metal iyonlarının redoks reaksiyonları gözlemleyebilir ve pik potansiyelleri ve pik akımları gibi davranışları hakkında bilgi edinmek mümkündür.

7.2.3 Kare Dalga Voltametrisi (CV):

Kare dalga voltametrisi, çalışma elektroduna bir dizi kare dalga darbesi uygulayan bir tekniktir. Yüksek hassasiyeti nedeniyle eser miktardaki ağır metallerin belirlenmesi için özellikle kullanışlıdır.

7.2.4 Elektrokimyasal Sensörler ve Biyosensörler:

Ağır metal tayini için çeşitli elektrokimyasal sensörler ve biyosensörler geliştirilmiştir. Bu sensörler genellikle seçiciliği artırmak için spesifik tanıma elemanlarına sahip modifiye elektrotlar kullanır.

7.3 Kromatografik Yöntemler

Kromatografi, bir karışımdaki iki ya da daha fazla maddenin, hareketli (taşıyıcı) bir faz yardımıyla, sabit (durgun) bir fazda değişik hızlarda hareket etmeleri prensibine dayanır. Kromatografik yöntemlerle, kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından birbirine çok yakın analitlerden oluşan oluşan karışımların bile kolayca ve kısa sürede birbirinden ayrılması mümkündür. Kromatografik tekniklerin hepsinin prensibi gereği analitler, gaz, sıvı veya süperkritik akışkan bir hareketli faz sayesinde yürütülür. Numune içerisindeki analitler durgun faza (sabit) yada hareketli faza (mobil) olan ilgilerine göre birbirlerinden ayrılırlar. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu analitler birbirlerinden kalitatif ve kantitatif olarak farklı bantlar ve bölgeler oluştururlar [161]. Yaygın bir kromatografik yöntem olan HPLC tekniği ile metal tayini yaygın olarak kullanılmaktadır.

Vachirapatama ve ark. 4-(2-piridilazo) resorsinol (PAR) ve hidrojen peroksit ile oluşturulan vanadyum(V) üçlü kompleksinin bir C₁₈ kolonu üzerinde iyon etkileşimli ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılarak ayrılmasına yönelik çalışmalar yapmışlardır. Analitin ayrılması için optimum mobil faz olarak, pH 7'de 3 mM tetrabütilamonyum bromür, 5 mM asetik asit ve 5 mM sitrat tamponu içeren bir metanol-su karışımını (32:68,v/v) kullanmışlardır. Ayırma işlemini 540 nm'de gerçekleştirmişlerdir. Optimizasyon çalışmaları neticesinde yöntem, üçlü kompleks için alıkonma süresi, pik alanı ve pik yüksekliğinde sırasıyla % 0.187, 0.45 ve 0.57'lik bağıl standart sapmalar vermiştir. HPLC yöntemiyle elde edilen vanadyum sonuçları, manyetik sektör indüktif eşleşmiş plazma MS analizinden elde edilen sonuçlarla iyi bir uyum göstermiştir [162].

Moreno-Andrade ve ark. farklı antimon (Sb) türlerinin analizi için sıvı kromatografisi ile indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (LC-ICP-OES) sistemini birleştiren bir yöntem sunmuşlardır. Kalibrasyon eğrileri test

edilen üç dalga boyunda yüksek doğrusallık göstermiştir. Tespit sınırları, değerlendirilen üç dalga boyunda Sb(III) için 24.9 ile 32.3 µg/L ve Sb(V) için 36.2 ila 46.0 µg/L arasında değişmektedir. Bu yöntemde tespit limitlerinin kullanılan dalga boyuna bağlı olarak değiştiğini görmüşlerdir. Sistem analitik performans değerlerine göre miktarlandırma limit değerini (LOQ) 217,582 nm dalga boyunda Sb (V) için 49.9 µg/L, Sb (III) için 80.7 µg/L olarak elde etmişlerdir. Sb(III) ve Sb(V) geri kazanım değerlerini, analiz edilen matriksten ve analizde kullanılan dalga boyundan bağımsız olarak %90'dan yüksek elde etmişlerdir [163].



İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA KÜTLE SPEKTROMETRESİ(ICP-MS)

8.1 Genel bilgiler

ICP-MS bir numunedeki birden fazla elementin eşzamanlı tespiti ve miktar tayini için kullanılan güçlü bir analitik tekniktir. İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi, çok çeşitli örneklerin element bileşiminin hassas ve duyarlı ölçümü için kullanılan analitik bir tekniktir. İyonizasyon kaynağı olarak endüktif eşleşmiş plazmanın (ICP) yeteneklerini, kütle bazlı element tanımlama ve miktar belirleme için kütle spektrometrisi ile birleştirir. ICP-MS sistemleri türlendirme, çoklu izotop oranlarının belirlenmesi, geniş doğrusal aralıkta yüksek hassasiyet ve oldukça düşük tayin sınırlarında çalışma imkanı tanınması nedeniyle diğer tekniklerden daha tercih edilir hale gelmiştir [164], [165]. ICP- MS aynı zamanda kovalent bağlı elementler, koordine metaller, metaloidler ve organometalik metabolitlerden oluşan geniş bir alanı kapsayan element tür tayininde de tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir [166]. ICP-MS rutin analizlerde gıda, çevre, polimer, sağlık, biyoteknoloji, jeoloji, adli bilimler gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Piyasada bulunan ilk cihazın 1983 yılında piyasaya sürülmesinden sonra, teknik sürekli olarak gelişmiştir. Son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte birçok üretici, çok elementli izotop tespiti için çok düşük tespit limitlerine (ppt) ve yüksek spektral çözünürlüğe (10 000) sahip güvenilir ve sağlam cihazlar üretmektedir [167]. ICP iyon kaynağı ile diğer iyon kaynaklarına oranla çok daha yüksek analit iyon yoğunlukları ve daha yüksek hassasiyet elde edilir. Ayrıca ICP iyon kaynağı numunede bulunan tuz ve solvent yüklerine karşı çok daha az hassastır ve örneğin 100 mmol/L tuz konsantrasyonlarını tolere edebilmektedir [168].

8.2 Çalışma Prensibi

ICP-MS, bir numunedeki birden fazla elementin eşzamanlı tespiti ve miktar tayini için kullanılan güçlü bir analitik tekniktir. Tayin edilmek istenen elementler kütle spektrometresine gönderilir m/z oranlarına göre ayrılıp dedektör tarafından tayin

edilirler. Argon gazı nebulizör ve plazma gazı olarak kullanılır. Argon, inert özellikleri, yüksek sıcaklık kararlılığı ve kararlı bir plazma oluşturmak ve verimli iyonizasyonu kolaylaştırmak için çok uygun olan iyonizasyon özellikleri nedeniyle seçilir. Diğer bir tercih edilme nedeni periyodik tablodaki birçok elementin 1. iyonlaşma enerjisinin argonun iyonlaşma enerjisi olan 15.76 eV değerinden küçük olmasıdır. Periyodik tablodaki C, N, H, O, F elementleri ile soygazların (He, Ne, Ar, Xe, Kr, Rn) 1. iyonlaşma enerjisinin argona yakın olması ya da argondan büyük olması nedeniyle ICP-MS ile ölçümleri yapılamamaktadır. Sıvı formdaki örnek peristaltik pompa vasıtasıyla nebulizöre iletilir. Nebulizör tarafından sisleştirildikten sonra aerosol halinde spray odacığına taşınır. Aerosol karışımı argon gazı vasıtasıyla yaklaşık 10000 C°'deki plazmaya taşınır kurutulur atomlaştırılır ve son olarak iyonlaştırılır. Oluşan +1 yüklü iyonlar ara yüzde bulunan iki adet koniden geçerek atmosfer basıncından yüksek vakum ortamına çekilir. İyon lens sistemi tarafından odaklanan iyonlar kütle analizörü tarafında belirli bir zamanda belirli m/z oranına sahip iyonların geçişine izin verilerek elektron çoğaltıcı dedektör tarafından sayılarak ölçülür ve sayılan iyonların miktarı bilgisayara aktarılır [169].

8.3 ICP-MS ekipmanları

Uzun yıllardan beri yaygın olarak kullanılan ICP-MS cihazı beş bölümden oluşur. Örnek enjeksiyon parçası, ICP parçası, arayüz, iyon lens sistemi, quadropol ve dedektör bunlardır.

8.3.1 Örnek Giriş Sistemi

Numunenin iyonizasyon ve ardından analiz için plazmaya verilmesinden sorumludur. Uygun numune girişi, doğru ve hassas sonuçlar elde edilmesini sağlar. Numuneler en yaygın olarak sıvı formda verilir. Bir sıvı giriş sistemi seçilirken göz önünde bulundurulan hususlar arasında çözünmüş katı madde içeriği, askıda katı madde varlığı, hidroflorik asit veya kostik varlığı, tespit limiti gereksinimleri, hassasiyet gereksinimleri, numune yükü gereksinimleri, numune boyutu sınırlamaları ve işletme bütçesi yer alır. Sıvı örnekler aerosol haline getirildikten sonra küçük damlacıklar halinde plazmaya örnek giriş sistemiyle ulaşır. Bununla birlikte, büyük damlacıklar sistemden aynı anda çıkarılır. Sisleştirici yardımıyla sıvı örnekler sisleştirilir ve küçük damlacıklar halinde plazmaya gönderilir [170].

ICP-MS cihazında, numuneler sıklıkla sıvı olarak gönderilir. Katı halde olan numuneleri doğrudan Lazer aşındırma sistemleri ile çalışmak mümkündür.

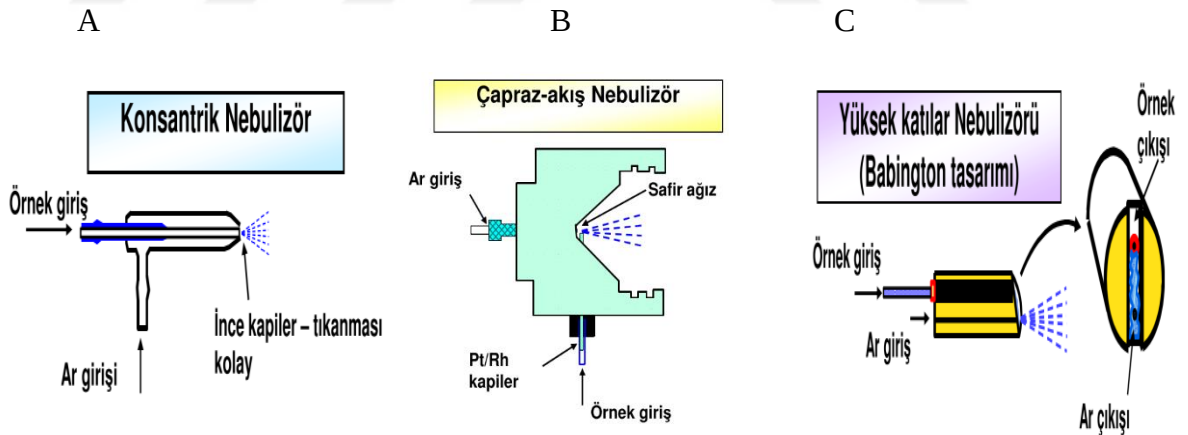
Nebulizasyon; Numune tipik olarak bir nebulizör kullanılarak sıvı formda verilir. Nebulizör sıvı numuneyi ince aerosol damlacıklarına dönüştürür ve bunlar daha sonra ICP'ye verilir.

Desolvasyon ve Buharlaştırma; ICP içinde, yüksek sıcaklıktaki plazma numuneyi çözer ve buharlaştırır, çözücü ve matris bileşenlerini uzaklaştırır ve analit iyonlarını geride bırakır.

Giriş Teknikleri; Numune girişi için pnömatik nebulizasyon, ultrasonik nebulizasyon, lazer ablasyon (katı numuneler için) ve doğrudan enjeksiyon (gaz numuneler için) dahil olmak üzere çeşitli teknikler kullanılabilir [171].

Verimlilik ve Hassasiyet; ICP-MS analizinde yüksek hassasiyet ve kesinlik elde etmek için verimli numune girişi çok önemlidir. Nebulizör tipi, numune akış hızı ve püskürtme odası tasarımı gibi faktörler numune girişinin verimliliğini etkileyebilir.

Aşağıda nebulizer çeşitleri verilmiştir [172].



Şekil 8.1 A: Konsantrik Nebulizör, B: Çapraz Akış Nebulizör, C: Yüksek Katılar Nebulizörü

8.3.2 ICP Kısım

Plazma (ICP) kaynağı, elektriksel iletkenliği olan katyonların ve elektronların birarada olduğu bölümdür. ICP kaynağı, numunenin iyonize edilmesinden ve sonraki kütle spektrometrik analiz için iyonlar üreten yüksek sıcaklıkta bir plazma üretilmesinden sorumludur. Plazma torchu, iç içe geçmiş üç kuvarz borudan oluşur.

Bu borunun en dış bölümü ile orta bölümü arasında 12 ila 17 litre/dakika hızında argon soğutucu gaz olarak hareket eder. Yardımcı gaz ve nebulizör gazı sistemden 1.0 L/ml hızla geçer. Serbest elektronların hızlı salınan manyetik alan (27 MHz) ile endüktif birleşmesi, plazmayı oluşturur. Çarpışmanın etkisi ile argon moleküllerine enerji geçer[170], [173]. Bir tüp olan torch'un içerisinden geçen gaz akışında plazma kuvartz tutulur. Aerosol halinde bir örnek, plazmada 6000-8000 K sıcaklığa ulaşır. Bu aşamada plazma atomizasyon, iyonizasyon ve ayrışmaya uğrar.

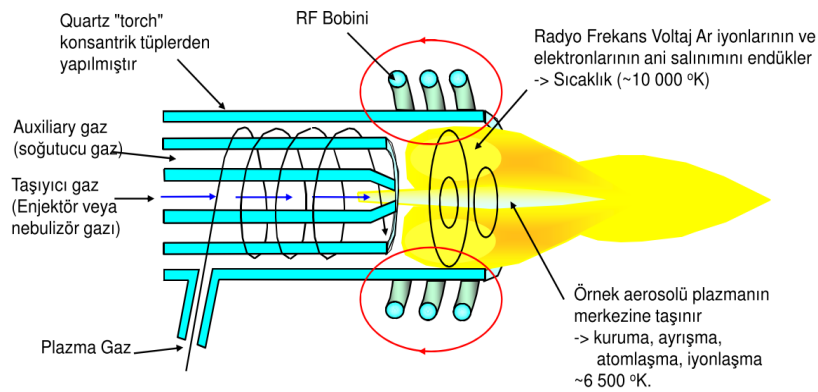
Plazma Üretimi: ICP kaynağı, bir radyofrekans (RF) bobini aracılığıyla argon gazı akışı sağlayarak yüksek sıcaklıkta plazma üreten bir torçtan oluşur. Bu bobin, argon gazı ile endüktif olarak çiftleşen yüksek frekanslı bir elektromanyetik alan oluşturarak iyonize olmasına ve 6.000°C'yi aşan sıcaklıklara ulaşmasına neden olur.

Numunenin İyonizasyonu: Tipik olarak bir nebulizör aracılığıyla aerosol formunda verilen numune plazmaya enjekte edilir. Plazmanın yüksek sıcaklığı numuneyi atomize ve iyonize ederek pozitif yüklü iyonlara dönüştürür.

Desolvasyon ve Buharlaştırma: Plazma içinde, numunenin çözücü ve matris bileşenleri çözülür ve buharlaştırılır, geride ilgilenilen analit iyonları kalır.

Kararlı Plazma Koşulları: Kararlı plazma koşullarının korunması, tekrarlanabilir ve doğru sonuçlar için çok önemlidir. Bu, gaz akışlarının, RF gücünün ve diğer operasyonel parametrelerin hassas kontrolü ile elde edilir.

İndüktif Eşleşmiş Plazmaya ait şekil aşağıda verilmiştir[174].



Şekil 8.2 İndüktif Eşleşmiş Plazma

8.3.3 Ara yüzey

İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresinde (ICP-MS) arayüz, iyonların ICP torcundan analiz için kütle spektrometresine aktarılmasında kritik bir rol oynar. Arayüz yüzeyi bu arayüzün önemli bir bileşenidir ve kayıpları veya girişimleri en aza indirirken iyonların verimli bir şekilde iletilmesinden sorumludur. Arayüz yüzeyi tipik olarak sıyırıcı koni ve örnekleyici koniden oluşur. Bu bileşenler ICP torcu ile kütle spektrometresi arasında yer alır. Sıyırıcı koni, ICP'de üretilen iyonları odaklamaya ve çarpıştırmaya hizmet ederek iyonların yalnızca seçilen bir kısmının geçmesine izin verir. Örnekleyici koni, iyon demetini daha da odaklar ve kütle spektrometresine yönlendirir. ICP'den kütle spektrometresine iyon iletiminin verimliliği arayüz yüzeyinin kritik bir özelliğidir. Verimli iyon iletimi, analizde yüksek hassasiyet ve kesinlik sağlar [175].

8.3.4 Kütle Analizörü

Kütle analizörü sistemi, İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresinin (ICP-MS) önemli bir bileşenidir ve iyonları kütle-yük oranlarına (m/z) göre ayırarak hassas element analizi yapılmasını sağlar. ICP-MS'de kullanılan, her birinin avantajları ve uygulamaları olan çeşitli kütle analizörleri vardır. Kütle analizöründe pozitif yüke (+1) sahip iyonlar m/z (kütle/yük) oranlarına göre hızlı bir şekilde ayrılır. Kuadrupol, manyetik sektör ve uçuş zamanlı kütle spektrometreleri ICP-MS teknolojilerinde kullanılsa da kullanım kolaylığı sağlamsı nedeniyle kuadrupol kütle spektrometreleri daha çok tercih edilmektedir. 200 mm boyunda ve 12-18 mm çapında birbirine paralel dört çubuktan oluşur ve 0.5 atomik kütle biriminin altında kütle rezolüsyonuna sahiptir. Karşılıklı çubuklar doğru akım kaynağına bağlanır ve 5-10 V potansiyeli uygulandığında pozitif yüke sahip iyonları detektöre doğru hızlandırır. Yeterli çözünürlük, doğru RF ve DC voltajları seçildiğinde yalnızca istenen kütle ve yük oranına sahip iyonlar ilerleyeceğinden elde edilebilir [176].

8.3.5 Dedektör

İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi'ndeki (ICP-MS) kütle dedektörü sistemi, iyonları kütle-yük oranlarına (m/z) göre ayırmak ve ölçmekten sorumlu kritik bir bileşendir. Kütle dedektörü, elementlerin nicel ve nitel analizinde merkezi bir rol oynar. ICP-MS cihazlarında genellikle elektron çoğaltıcı dedektörler kullanılır. Bu nedenle, kullanılan dedektörlerin yüksek doğruluk, düşük gürültü seviyeleri ve geniş bir doğrusal aralıkta hassas sonuçlar vermesi beklenir [177].

Birbirine paralel dört çubuktan oluşan kütle sistemini terk eden iyonlar, uygulanan voltajla dedektörün iç yüzeyine doğru hareket ederler. Bu iyonlar dinotlara çarptıktan sonra ikincil elektronlar oluşur. İkincil iyonların sayısı, iyon sayısı arttıkça artar. Bir iyondan milyonlarca elektron elde etmek için elektron demetleri elektrik sinyallarına dönüştürülür. Bunun sonucunda, detektöre çarpan sinyal miktarı bulunur [175].

8.4 Girişimler

İndüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi kullanılarak birden fazla elementin aynı anda hızlı bir şekilde ve düşük dedeksiyon limitlerinde analiz edilmesi mümkün olsa da, analiz sırasında meydana gelebilecek girişim etkilerini de göz önünde bulundurulmalıdır. Spektral ve spektral olmayan girişimler vardır. Spektral girişimler, analit iyonunun plazmada bulunan iyonik türlerle (Ar^+ , O_2^+ vb.) aynı kütle/yük oranına sahip olduğunda meydana gelir. Numunenin matriksi, spektral olmayan girişimlerin kaynağıdır. Moleküler ve izobarik girişimler spektral girişimleri oluşturur.

8.4.1 Spektral Girişimler

Spektral girişimler, analitin kütle-yük oranı (m/z) plazmadaki diğer iyonların veya izotopları ile çakıştığında meydana gelir. Bu durum yanlış tanımlamaya ve hatalı miktar tayinine yol açabilir.

8.4.2 İzobarik Girişimler

İzobarik girişimler, farklı elementlerin iyonları aynı nominal kütleyle sahip olduğunda meydana gelir ve bu da onları ayırt etmeyi zorlaştırır. Örneğin, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ ve $^{56}\text{Fe}^+$ aynı nominal kütleyle sahiptir.

8.4.3 Poliatomik Girişimler

Poliatomik girişimler, plazmada analit sinyalleriyle etkileşime girebilecek moleküler iyonların oluşumunu içerir. Yaygın poliatomik iyonlar arasında oksit, hidroksit ve hidrit iyonları bulunur.

8.4.4 ICP-MS'de Girişimleri Ortadan Kaldırma Yöntemleri

- ✓ Çarpışma/Reaksiyon Hücreleri: Girişimleri azaltmak için ICP-MS cihazlarına çarpışma veya reaksiyon hücreleri eklenir. Çarpışma hücreleri,

girişim yapan iyonlarla çarpışmak ve onları uzaklaştırmak için inert gazlar (örn. helyum) kullanır [178].

- ✓ Yüksek Çözünürlüklü ICP-MS (HR-ICP-MS): HR-ICP-MS cihazları, analit ve girişim yapan iyonlar arasında daha iyi ayırım yapılmasını sağlayan gelişmiş kütle çözünürlüğü sunar .
- ✓ Kimyasal Ayırma Teknikleri: Kromatografi ve solvent ekstraksiyonu gibi ön konsantrasyon ve ayırma yöntemleri, ICP-MS'ye girmeden önce analiti girişim yapan türlerden izole etmek için kullanılabilir [179].
- ✓ Zaman Çözümlemeli Analiz: Zaman çözümlemeli analiz, analit sinyallerini girişimlerden ayırmak için plazmadaki iyonların zamana bağlı davranışının ölçülmesini içerir [180].
- ✓ Standart Ekleme ve İzotop Seyreltme: Bu kalibrasyon yöntemleri, girişimleri telafi etmek ve analiti doğru bir şekilde ölçmek için bilinen miktarlarda standart çözeltilerin veya izotopik olarak zenginleştirilmiş spike'ların eklenmesini içerir.

8.5 ICP-MS sistemiyle tayin edilen bazı elementler ve özellikleri

8.5.1 Arsenik

Doğal olarak oluşan bir metaloid olan arsenik havada, suda, toprakta, gıdada ve çevrede önemli miktarlarda bulunmaktadır. Arseniğe maruz kalma önemli bir küresel endişe haline gelmiştir. Bunun nedeni arseniğin son derece tehlikeli özellikleri ve insan sağlığı üzerindeki zararlı etkisidir [181]. Bu çalışmada, vegan gıdalardaki arsenik konsantrasyonu farklı $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ kombinasyonları için tespit limitinin altında belirlenmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve İran Standartlar ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü (ISIRI) gibi uluslararası kuruluşlar tarafından izin verilen maksimum arsenik seviyesi 10 $\mu\text{g/L}$ 'dir [182].

8.5.2 Çinko

Çinko, bakır, demir ve manganez gibi elementler, eser seviyelerde belirli biyolojik süreçler sırasında kullanılan kritik eser elementlerdir. Vücutta çinko nötrofil oluşumunda ve vücudun bağışıklık sisteminin devamlılığı için gereklidir. Sağlıklı yetişkinlerin ihtiyaçlarını karşılamak için yeterli olduğu düşünülen besinlerin önerilen günlük izin değerleri (RDA) çinko için 15 mg iken, 25 mg'dan fazla

miktarlar anemi ve bakır eksikliğine neden olmaktadır [183]. WHO tarafından önerilen maksimum günlük çinko tüketimi 0.3 ile 1.0 mg/kg arasındadır [184].

8.5.3 Kadmiyum

Arsenik, kurşun ve krom gibi kadmiyum (Cd) da fizyolojik bir amacı olmayan ve genellikle zehirli olarak kabul edilen bir ağır metaldir [185]. Kadmiyumun vücutta uzun süreli alımı böbrekte birikime neden olur ve bunun sonucunda fosfor ve kalsiyum metabolizması bozulur [186].

8.5.4 Kurşun

Kurşun insanlar için oldukça zehirli bir elementtir. Kurşunun yalnızca çok küçük konsantrasyonları tolere edilebilir. Yüksek konsantrasyonda alınması durumunda böbrek, karaciğer ve üreme fonksiyonlarında bozulma, hipertansiyon ve tümörler gibi semptomlara neden olabilir. Bununla birlikte, beyin fonksiyonlarını bozarak düşük IQ, öğrenme güçlüğü ve yavaş büyümeye yol açabilir [187].

8.5.5 Demir

Demir, DNA replikasyonu, demir-sülfür sentezi ve enerji metabolizmasının düzenlenmesine katkıda bulunan temel bir kimyasal elementtir. Aneminin başlıca nedeni demir eksikliğidir [188]. Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda, farklı $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ kombinasyonlarında hazırlanan vegan gıdalarda 0.26- 42.99 $\mu\text{g/g}$ aralığında demir tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksine göre gıdalarda bulunabilecek maksimum demir miktarı 15 mg /kg olarak bildirilmiştir [189].

8.5.6 Nikel

Yer kabuğu nikel de dahil olmak üzere çeşitli elementler içerir. Nikel, bazı hayvan türleri, mikroorganizmalar ve bitkilerin beslenmesi için gerekli bir eser elementtir. Yetersiz miktarı eksikliğe neden olabilir, aşırı miktarda Ni tüketmek tehlikeli etkilere neden olabilir ve solunan nikel maruziyeti bağışıklık sistemi üzerinde toksik etkilere neden olabilir[190]. Tolere Edilebilir Günlük Alım Miktarı (TDI), Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından vücut ağırlığının kilogramı ($\mu\text{g/kg}$) başına 13 mikrogram olarak belirlemiştir [191], [192].

KULLANILAN CİHAZLAR

Bu tez çalışmasında vegan gıda numunelerinde bulunan ağır metallerin eş zamanlı olarak tespit edilmesi ve tespit edilen metallerin kantitatif olarak tayin edilmesi için hassas ve doğruluğu yüksek bir analitik yöntem geliştirilmiştir. Bu kapsamda Agilent 7700 ICP-MS sistemi kullanılmış olup vegan numunelerin analiz öncesi numune hazırlama basamağında mikrodalga yakma sistemi kullanılmış ve birbirinden farklı metotlar denenerek sonuçlar kıyaslanmıştır. Birbirinden farklı olan bu metotlar tümü sertifikalı referans malzemelere (CRM) de uygulanarak geri kazanım sonuçları hesaplanmıştır. Çalışmalar kullanılan mix standart çözeltiler 10 µg/mL stok çözeltiden seyreltilerek hazırlanmıştır.

9.1 ICP-MS ve Mikrodalga Yakma Sistemi Donanımı

ICP-MS sistemi; 7700e serisi ICP-MS, ASX-520 otosampler ve otomasyon kısımlarından oluşmaktadır. Örnek hazırlama aşamasında Mileston Start D mikrodalga yakma sistemi kullanılmış olup 15 adet Teflon kaplardan oluşmaktadır.

9.2 Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Çalışmalardaki tüm kimyasallar yüksek saflıkta kullanılmıştır. Ultra saf su/saf su Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarlarındaki Milli-Q® Reference System cihazından temin edilmiştir. Tayini gerçekleştirilen elementler için 10 mg/L lik stok çözeltisi kullanılmış olup kalibrasyon çözeltileri ise bu stok çözeltiden uygun seyreltme oranlarında seyreltilerek hazırlanmıştır.

- ✓ % 65 HNO₃: Merck, Suprapur
- ✓ Mix standart çözeltisi: 10mg/L (Agilent, %99.9 saflıkta)
- ✓ Saf Argon: % 99.9 saflıkta
- ✓ Yüksek saflıkta He gazı: %99.99 saflıkta
- ✓ ICP-MS ayar solüsyon: 1.0 ng/mL Ce, Co, Li, Mg, Tl and Y

- ✓ İç standart: 100 mg/L Sc, Y, In, Rh, Ru, Li, Ge, Bi



Şekil 9.1 ICP-MS donanımı

9.3 Diğer Ekipmanlar

- ✓ Mikro pipet: Eppendorf Research Plus (100-1000 µl; 0.5-5 ml; 20-100 µl; 1-20 µl)
- ✓ Hassas terazi: Ohaus explorer
- ✓ pH metre: Metler Toledo, seven compact pH/ion
- ✓ Isıticılı Manyetik karıştırıcı: Velp Scientifica, Arec
- ✓ Derin dondurucu: Arçelik Derin Dondurucu, -20C°
- ✓ Vial/insert vial: Agilent
- ✓ Ultrasonik banyo: Bandelin, sonorex digiplus

9.4 Cihaz Çalışma Koşulları

Vegan gıda numunelerinde Al, V, Mn, Fe, Co, Ni, Ba, Pb, Cu, Zn elementlerinin eser seviyelerde eş zamanlı olarak tayin edilmesi için her analiz öncesi ICP-MS sistemi performans testlerine tabi tutularak optimum cihaz çalışma koşulları elde edilmiştir.

Tablo 9.1 ICP-MS sistemi çalışma koşulları

RF güç	1550 W
Reflect güç	< 30
Taşıyıcı gaz akış hızı	1.0 mL/min
Plazma gaz akışı	15 mL/min
Yardımcı gaz akış hızı	0.9 mL/min
Spray odacığı sıcaklığı	2 °C
Kütle aralığı	5-250 amu
P/A faktör	7-89-205

9.5 ICP-MS sistem Analitik Performansının Tespiti

Çalışmalara vegan gıdalardan oluşan yumurta, et, sucuk, çikolata, yulaf, gofret, tereyağ, hindistan cevizi sütü, soya sütü, yulaf sütü, badem sütü, peynir, soya gibi çeşitli örnekler içerisindeki metal ve ağır metallerin tespit edilmesi amacıyla cihazın optimizasyonu ile başlanmıştır. Tayin edilmek istenen elementler ve analit sinyallerindeki sapmaların elimine edilmesi için kullanılan iç standartlar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Her bir analitin gözlenebilme limiti (LOD, Limit of Detection) ve tayin edilebilme limiti (LOQ, Limit of Quantitation) hesaplamaları için 10.0 mg/L' lik stok mix çözeltisinden belirli konsantrasyon aralığında standart çözeltiler hazırlanmış ve bu standart çözeltilerin hazırlanmasında % 2.5 luk HNO₃ kullanılmıştır. 0.10-1000 ng/mL aralığında hazırlanan standart çözeltiler ICP-MS sistemine gönderildikten sonra her element için farklı doğrusal aralıklar üzerinden çalışmalara devam edilmiştir.

Elde edilen veriler doğrultusunda, her bir analit için sistem analitik performansının tespit edilmesi amacı ile LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. Gözlenebilme ve tayin edilebilme limitlerinin hesaplanmasında aşağıdaki formülasyonlardan yararlanılmıştır.

$$LOD = \frac{3 \times \text{Standart Sapma (en düşük konsantrasyon)}}{Eğim}$$

$$LOQ = \frac{10 \times \text{Standart Sapma}(\text{en düşük konsantrasyon})}{\text{Eğim}}$$

Her bir analit için elde edilen sinyallerde meydana gelebilecek, cihazdan kaynaklı performans değişikliklerini elimine etmek amacıyla iç standart tekniği kullanılmıştır. Çalışılan matrikste bulunma olasılığı düşük olan ve çalışılan kütlelere yakın kütlelerdeki elementler iç standart olarak olarak kullanılmıştır.

Sistem analitik performans değerlerinin tespit edilmesi amacıyla cihazda gerçekleştirilen performans testleri sonucu elde edilen optimum değerler Tablo 49 ve 50’de verilmiştir.

Tablo 9.2 Cihaz Optimum Koşulları

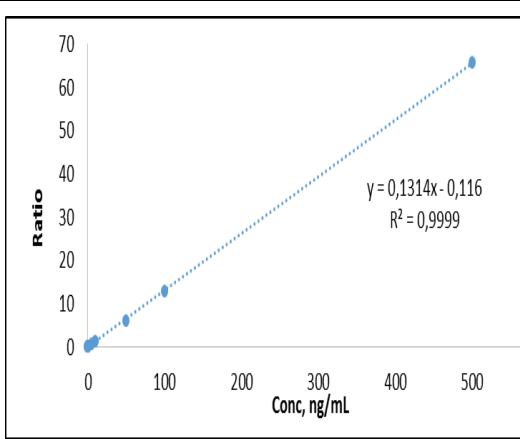
Cihaz parameteri	Optimize Değer
ICP-MS	Agilent 7700e model
RF gücü	1550 W
Plasma Gas akış hızı	15 L/min
Çarpıştırma gazı akış, He	4.3 mL/min
Data modu	Spektrum
Tarama sayısı/Tekrar	3
Nebulizer gazı akış hızı	1.0 L /min
Sprey odacığı sıcaklığı	2.0 °C
Taşıyıcı gazı akış hızı	1.08 L/min
Nebulizer	Micromist
Örnekleyici kon	Nikel, 1mm orifice
Sıyırıcı kon	Nikel, 0.75 mm orifice
Kütle aralığı	2-260 amu
Yansıtılan güç	< 10 W
Çarpıştırma gazı	He
İzotoplar	⁵¹ V, ⁵² Cr, ⁵⁵ Mn, ⁵⁶ Fe, ⁵⁹ Co, ⁶⁰ Ni, ⁶³ Cu, ⁶⁶ Zn, ⁷⁵ As, ⁷⁸ Se, ¹¹¹ Cd, ¹³⁷ Ba, ²⁰⁸ Pb

Tablo 9.3 Tayini gerçekleştirilecek analitler ve kullanılan iç standart çözeltiler

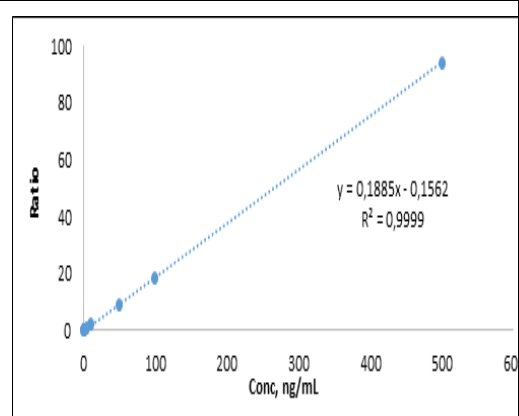
Ayar modu	Kütle	Analit	Analit/IST D	ISTD (iç standart)	İntegrasyon süresi/kütle(sec)
1: He	51	V	Analit	45	1
1: He	52	Cr	Analit	45	1
1: He	55	Mn	Analit	45	0,1
1: He	59	Fe	Analit	45	0,1
1: He	59	Co	Analit	45	0,1
1: He	60	Ni	Analit	45	1
1: He	63	Cu	Analit	45	0,1
1: He	66	Zn	Analit	72	0,1
1: He	75	As	Analit	72	1
1: No gas	111	Cd	Analit	115	1
1: No gas	137	Ba	Analit	115	0,1
1: No gas	208	Pb	Analit	209	0,1

İnorganik analitlerin eşzamanlı kantitatif tayini amacıyla cihazın sistem analitik performansının belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Cihazın LOD ve LOQ değerlerinin belirlenmesi amacıyla bir seri standart çözelti % 2.5 HNO₃ içerisinde hazırlanmıştır. 0.10 - 1000 ng/mL aralığında hazırlanan standart çözeltiler sisteme gönderilmiş ve her elemente ait kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur.

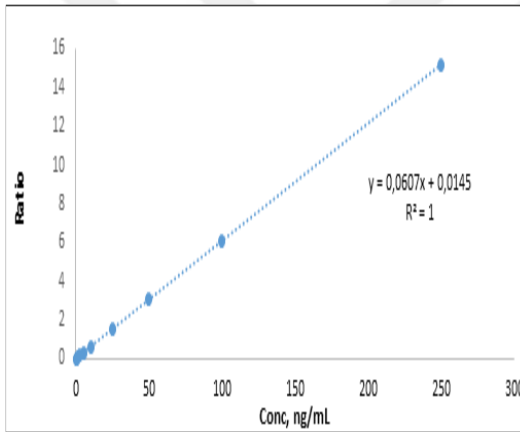
Tablo 9.4 Analizi gerçekleştirilen analitlere ait kalibrasyon doğruları



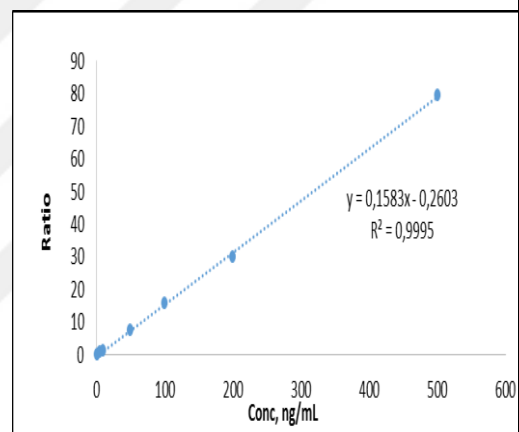
Optimum analiz koşullarında ICP-MS sisteminde ^{51}V 'a ait kalibrasyon doğrusu



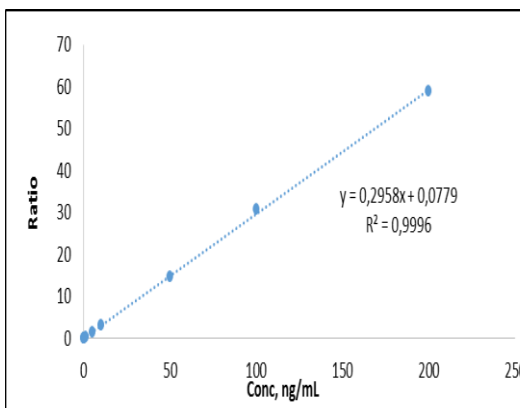
Optimum analiz koşullarında ICP-MS sisteminde ^{52}Cr 'ye ait kalibrasyon doğrusu



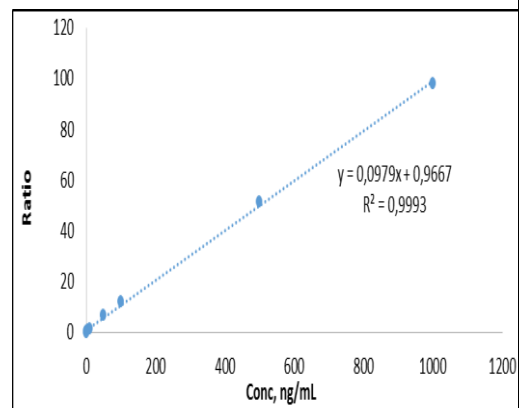
Optimum analiz koşullarında ICP-MS sisteminde ^{55}Mn 'e ait kalibrasyon doğrusu



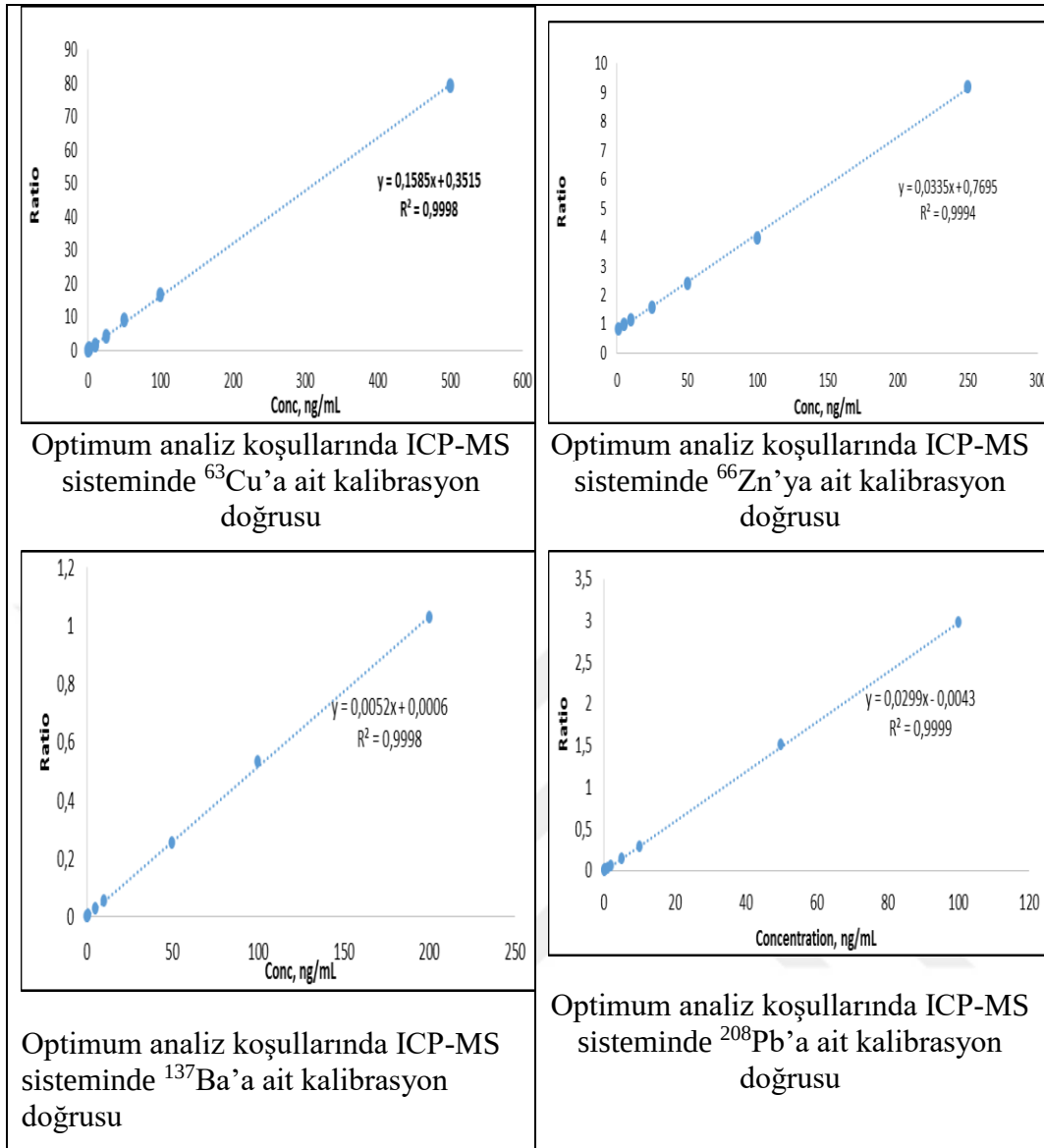
Optimum analiz koşullarında ICP-MS sisteminde ^{56}Fe 'ya ait kalibrasyon doğrusu



Optimum analiz koşullarında ICP-MS sisteminde ^{59}Co 'a ait kalibrasyon doğrusu



Optimum analiz koşullarında ICP-MS sisteminde ^{60}Ni 'a ait kalibrasyon doğrusu



Tablo 9.5 Her bir analit için optimum koşullar altında elde edilen sistem performans değerleri

	V	Cr	Mn	Fe	Co
LOD, ng/mL	0.010	0.027	0.035	0.20	0.013
LOQ, ng/mL	0.030	0.091	0.117	0.66	0.044
Eşitlik	y = 0,1314x - 0,116	y = 0,1885x - 0,1562	y = 0,0607x + 0,0145	y = 0,1583x - 0,2603	y = 0,2958x + 0,0779
R²	0.9999	0.9999	1.000	0.9995	0.9996

Doğrusal Aralık	0.05-500 ng/mL	0.10-500 ng/mL	0.10-250 ng/mL	1.0-500 ng/mL	0.10-200 ng/mL
%BSS	5.39	3.53	3.45	1.90	3.43

	Zn	As	Ba	Pb	Ni
LOD, ng/mL	0.169	0.012	0.042	0.003	0.266
LOQ, ng/mL	0.564	0.038	0.140	0.011	0.887
Eşitlik	$y = 0,0335x + 0,7695$	$y = 0,0196x + 0,0057$	$y = 0,0052x + 0,0005$	$y = 0,0299x - 0,0043$	$y = 0,0979x + 0,9667$
R²	0.9994	0.9999	0.9998	0.9999	0.9993
Doğrusal Aralık	1.0-250 ng/mL	0.10-500 ng/mL	0.10-200 ng/mL	0.10-100 ng/mL	0.5-1000 ng/mL
%BSS	1.76	1.58	3.30	1.13	1.64

Gerçek örneklerin ICP-MS cihazıyla analizlerinin gerçekleştirilmesi için örneklerde mikrodalga destekli 3 farklı yöntem için çalışmalar yapılmıştır.

9.6 Örnek hazırlama (çözündürme) basamağı

Örnek hazırlama basamağında mikrodalga sisteminde kullanılan 3 farklı çözündürme yöntemine ait detaylar sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Tablo 9.6 Örnek Hazırlama Basamağında kullanılan asit çözeltileri ve oranları

Metot	HNO₃, Molarite	H₂O₂, %35	Oran	Kullanılan Miktar
1	14.5 M HNO ₃	-		8.0 mL
2	3.0 M HNO ₃	% 35 H ₂ O ₂	3:1	8.0 mL
3	14.5M HNO ₃	%35 H ₂ O ₂	4:1	8.0 mL

Tablo 9.7 Mikrodalga sisteminde uygulanan sıcaklık programı

Süre, min	Sıcaklık, C°	Güç, watt
0-5	100	1200
5-10	100	1200
10-15	150	1200
15-20	150	1200
20-25	200	1200
25-35	200	1200

9.6.1 Metot 1

ICP-MS sisteminde analitlerin tayin edilmesi için maksimum çözünürlüğün elde edildiği çözündürme programının kullanılması için optimize edilmiştir. Bu amaçla bir miktarda (yaklaşık 0.50 g) tartılan örnekler PTFA örnek kaplarına alınmıştır. Üzerine 8.0 mL HNO₃ eklenmiştir. Örnekler aşağıdaki sıcaklık programına göre çözündürülmüştür. Kapalı teflon kap içerisindeki örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra 25 mL hacme ultra saf su ile tamamlanmıştır. Örnek analizleri yapılırken gerekli seyreltmeler son derişim % 2.5 matriks ortamı göz önünde bulundurularak yapılmıştır.

Tablo 9.8 % 65’lik HNO₃ çözeltisi kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar

	V, ng/g	Cr, ng/g	Mn, µg/g	Fe, µg/g	Co, µg/g	Ni, µg/g
Soya granül	802.2 ± 33.4	1806 ± 63	34.20 ± 1.17	194.8 ± 3.7	0.99 ± 0.05	2.21 ± 0,04
Yumurta ikamesi	< 3.77	47.79 ± 1.68	48.88 ± 1.69ng/g	2.37 ± 0.04	< 3.26 ng/g	< 13.52 ng/g
Pirinç patlaklı çikolata	98.55 ± 4.10	957.6 ± 33.8	12.21 ± 0.42	84.53 ± 1.60	0.20 ± 0.01	< 13.26 ng/g
Yulaflı fındıklı çikolata	111.1 ± 4.6	1527 ± 54	13.39 ± 0.46	73.77 ± 1.40	0.19 ± 0.01	< 13.98 ng/g
Vegan Köfte	76.71 ± 3.19	28.12 ± 0.99	12.17 ± 0.42	68.86 ± 1.30	< 3.33 ng/g	< 13.83 ng/g
Peynir	< 3.78	< 7.55	1.28 ± 0.04	12.38 ± 0.23	< 3.27 ng/g	< 13.60 ng/g
Et	236.9 ± 9.9	207.9 ± 7.3	11.10 ± 0.38	67.74 ± 1.29	0.028 ± 0.009	< 14.15 ng/g

Çikolatalı vegan gofret Cips	49.97 ± 2.07	453.5 ± 16.0	3.06 ± 0.10 14.90 ±	52.08 ± 0.99	< 3.44 ng/g	< 14.29 ng/g
Sosis	36.61 ± 1.52	< 7.22	0.51	29.35 ± 0.55	< 3.13 ng/g	< 13.01 ng/g
Terayağ	52.79 ± 2.19	46.17 ± 1.63	7.44 ± 0.26 < 11.04	35.38 ± 0.67	< 3.31 ng/g	< 13.76 ng/g
Badem sütü	< 3.76	< 7.53	ng/g	< 50.22 ng/g	< 3.26 ng/g	< 13.56 ng/g
Soya sütü	< 1.75	< 3.51	0.61 ± 0.02	0.65 ± 0.01	< 1.52 ng/g	< 6.31 ng/g
Hindistan cevizli sütü	< 1.94	< 3.88	0.48 ± 0.02	< 25.87 ng/g	< 1.68 ng/g	< 6.99 ng/g
Yulaf sütü	< 1.92	43.32 ± 1.52	0.68 ± 0.02	1.98 ± 0.04	< 1.67 ng/g	< 6.93 ng/g
	< 1.85	< 3.72	0.13 ± 0.01	< 24.79 ng/g	< 1.61 ng/g	< 6.69 ng/g

	Cu, µg/g	Zn, µg/g	As, ng/g	Ba, µg/g	Pb, ng/g
Soya granül	15.14 ± 0.43	41.22 ± 0.72	< 3.03	5.20 ± 0.17	< 3.29
Yumurta ikamesi	< 10.01 ng/g	< 42.33 ng/g	< 3.00	< 10.52 ng/g	< 3.26
Pirinç patlaklı çikolata	7.86 ± 0.22	17.41 ± 0.31	< 2.95	2.54 ± 0.08	< 3.19
Yulafli fındıklı çikolata	6.94 ± 0.19	17.18 ± 0.30	< 3.11	3.16 ± 0.10	< 3.37
Vegan Köfte	4.68 ± 0.13	52.52 ± 0.92	< 3.07	0.87 ± 0.03	< 3.33
Peynir	1.50 ± 0.04	6.93 ± 0.12	< 3.02	< 10.58 ng/g	< 3.27
Et	3.47 ± 0.10	15.75 ± 0.28	< 3.14	1.53 ± 0.05	< 3.40
Çikolatalı vegan gofret	1.93 ± 0.06	2.39 ± 0.04	< 3.18	1.30 ± 0.04	< 3.44
Cips	3.06 ± 0.09	19.76 ± 0.35	< 2.89	0.36 ± 0.01	< 3.13
Sosis	2.64 ± 0.07	13.86 ± 0.24	< 3.06	0.86 ± 0.03	< 3.31
Terayağ	< 10.04 ng/g	< 42.43 ng/g	< 3.01	< 10.54 ng/g	< 3.26
Badem sütü	0.274 ± 0.008	0.318 ± 0.005	< 1.40	< 4.91 ng/g	< 1.52
Soya sütü	0.178 ± 0.005	0.484 ± 0.009	< 1.55	0.23 ± 0.01	< 1.68
Hindistan cevizli sütü	0.940 ± 0.027	1.354 ± 0.024	< 1.54	0.11 ± 0.01	< 1.67
Yulaf sütü	0.056 ± 0.002	0.131 ± 0.002	< 1.49	< 5.20 ng/g	< 1.61

9.6.2 Metot 2

ICP-MS sisteminde analitlerin tayin edilmesi için maksimum çözünürlüğün elde edildiği çözündürme programının kullanılması için optimize edilmiştir. Bu amaçla bir miktarda (yaklaşık 0.50 g) tartılan örnekler PTFA örnek kaplarına alınmıştır. Üzerine (%13'lük) 3.0 M HNO₃ ve H₂O₂ karışımından (3:1) 8.0 mL eklenmiştir. Örnekler aşağıdaki sıcaklık programına göre çözündürülmüştür. Kapalı teflon kap içerisindeki örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra 25 mL hacme ultra saf su ile tamamlanmıştır. Örnek analizleri yapılırken gerekli seyreltmeler son derişim % 2.5 matriks ortamı göz önünde bulundurularak yapılmıştır.

Tablo 9.9 3.0 M HNO₃ (%13'lük) ve % 35'lik H₂O₂ kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar

	V, ng/g	Cr, ng/g	Mn, µg/g	Fe, µg/g	Co, µg/g	Ni, µg/g
Soya granül	770.3 ± 32.1	1668 ± 59	34.19 ± 1.18	185.7 ± 3.5	1.08 ± 0.06	3.94 ± 0,07
Yumurta ikamesi	< LOD	36.97 ± 1.31	0.17 ± 0.01	< 50.03 ng/g	0.043 ± 0.002	< LOD
Pirinç patlaklı çikolata	95.49 ± 3.97	663.3 ± 23.4	11.96 ± 0.41	74.07 ± 1.40	0.300 ± 0.016	1.36 ± 0,03
Yulaflı fındıklı çikolata	137.6 ± 5.7	1543 ± 54	16.00 ± 0.55	77.35 ± 1.46	0.373 ± 0.019	5.13 ± 0,10
Vegan Köfte	74.18 ± 3.08	147.6 ± 5.2	15.96 ± 0.55	66.02 ± 1.25	0.093 ± 0.005	1.17 ± 0,02
Peynir	< LOD	44.66 ± 1.58	1.39 ± 0.05	11.18 ± 0.21	< 3.32 ng/g	0.62 ± 0,01
Et	245.3 ± 10.2	179.2 ± 6.3	11.40 ± 0.39	65.36 ± 1.24	0.179 ± 0.009	0.32 ± 0,01
Çikolatalı vegan gofret	41.31 ± 1.71	407.6 ± 14.4	2.12 ± 0.07	37.62 ± 0.71	0.060 ± 0.003	4.09 ± 0,07
Cips	46.94 ± 1.95	141.7 ± 5.0	15.07 ± 0.52	29.69 ± 0.56	0.025 ± 0.001	0.85 ± 0,02
Sosis	59.04 ± 2.45	93.42 ± 3.30	8.07 ± 0.28	33.62 ± 0.63	0.013± 0.001	0.41 ± 0,01
Terayağ	< LOD	< LOD	< LOD	< 51.37 ng/g	< 3.34 ng/g	< 5.55 ng/g
Badem sütü	< LOD	< LOD	< LOD	< 25.67 ng/g	< 1.67 ng/g	< 2.77 ng/g
Soya sütü	< 1.84	< 3.69	< 5.40	< 24.58 ng/g	< 1.60 ng/g	< 2.65 ng/g
Hindistan cevizi sütü	< 1.78	< 3.57	< 5.24	< 23.82 ng/g	< 1.55 ng/g	< 2.57 ng/g
Yulaf sütü	< 1.99	< 3.79	< 5.83	< 26.53 ng/g	< 1.72 ng/g	< 2.87 ng/g

Tablo 9.9 3.0 M HNO₃ (%13'lük) ve % 35'lik H₂O₂ kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçların devamı

	Cu, µg/g	Zn, µg/g	As, ng/g	Ba, µg/g	Pb, ng/g
Soya granül	14.73 ± 0.42	28.92 ± 0.82	< 2.98	4.34 ± 0.14	< 3.23
Yumurta ikamesi	< 10.00 ng/g	< 8.05 ng/g	< 3.00	< 10.57	< 3.25
Pirinç patlaklı çikolata	7.53 ± 0.21	12.79 ± 0.36	< 3.22	2.28 ± 0.08	< 3.49
Yulaflı fındıklı çikolata	8.25 ± 0.23	12.63 ± 0.39	< 3.04	3.61 ± 0.12	< 3.29
Vegan Köfte	5.18 ± 0.15	45.30 ± 1.28	< 3.00	0.69 ± 0.02	< 3.25
Peynir	1.49 ± 0.04	< 8.21 ng/g	< 3.06	< 10.78	< 3.32
Et	3.74 ± 0.09	11.06 ± 0.31	< 3.00	1.13 ± 0.04	< 3.25
Çikolatalı vegan gofret	1.17 ± 0.03	< 8.26 ng/g	< 2.97	1.02 ± 0.03	< 3.21
Cips	3.18 ± 0.09	14.33 ± 0.41	< 3.02	0.023 ± 0.001	< 3.28
Sosis	2.67 ± 0.08	8.87 ± 0.25	< 2.92	0.74 ± 0.02	< 3.15

Terayağ	< 10.27 ng/g	< 8.09 ng/g	< 3.08	< 10.61	< 3.34
Badem sütü	0.289 ± 0.008	< 3.86 ng/g	< 1.54	0.051 ± 0.002	< 1.67
Soya sütü	0.133 ± 0.004	< 4.13 ng/g	< 1.47	0.071 ± 0.003	< 1.59
Hindistan cevizi sütü	1.11 ± 0.03	< 3.49 ng/g	< 1.43	0.025 ± 0.001	< 1.54
Yulaf sütü	< 5.31 ng/g	1.32 ± 0.04	< 1.59	0.047 ± 0.002	< 1.72

9.6.3 Metot 3

ICP-MS sisteminde analitlerin tayin edilmesi için maksimum çözünürlüğün elde edildiği çözündürme programının kullanılması için optimize edilmiştir. Bu amaçla bir miktarda (yaklaşık 0.50 g) tartılan örnekler PTFA örnek kaplarına alınmıştır. Üzerine % 65'lik HNO₃ ve H₂O₂ karışımından (4:1) 8 mL eklenmiştir. Örnekler Tablo 9.7' deki sıcaklık programına göre çözündürülmüştür. Kapalı teflon kap içerisindeki örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra 25 mL hacme ultra saf su ile tamamlanmıştır. Örnek analizleri yapılırken gerekli seyreltmeler son derişim % 2.5 matriks ortamı göz önünde bulundurularak yapılmıştır

Tablo 9.10 14.5 M HNO₃ HNO₃ (% 65’lik) ve % 35’lik H₂O₂ (4:1) oranında kullanılarak hazırlanan gıda numunelerine ait sonuçlar.

Sample	V, µg/g	Cr, µg/g	Mn, µg/g	Fe, µg/g	Co, µg/g	Ni, µg/g	Cu, µg/g	Zn, µg/g	As, ng/g	Cd, ng/g	Ba, µg/g	Pb, ng/g
Soya granül	0.735 ± 0.031	1.61 ± 0.03	7.19 ± 0.24	42.99 ± 0.65	0.997 ± 0.052	4.91 ± 0.09	17.58 ± 0.50	9.66 ± 0.27	< LOD	< LOD	4.37 ± 0.22	< LOD
Yumurta ikamesi	< LOD	< LOD	0.050 ± 0.002	< LOD	< LOD	1.31 ± 0.03	0.040 ± 0.001	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Pirinç patlaklı çikolata	0.098 ± 0.004	0.698 ± 0.011	2.60 ± 0.09	18.06 ± 0.27	0.245 ± 0.013	2.35 ± 0.05	9.55 ± 0.27	3.57 ± 0.10	< LOD	< LOD	2.28 ± 0.12	< LOD
Yulaflı fındıklı çikolata	0.135 ± 0.006	1.703 ± 0.027	3.43 ± 0.11	19.49 ± 0.30	0.174 ± 0.009	2.56 ± 0.05	10.40 ± 0.30	3.90 ± 0.11	< LOD	< LOD	3.61 ± 0.19	< LOD
Vegan Köfte	0.079 ± 0.003	< LOD	3.06 ± 0.10	18.08 ± 0.27	0.042 ± 0.002	1.73 ± 0.03	6.28 ± 0.18	11.66 ± 0.33	< LOD	< LOD	0.69 ± 0.04	< LOD
Peynir	< LOD	< LOD	0.27 ± 0.01	1.81 ± 0.03	< LOD	0.85 ± 0.02	2.19 ± 0.06	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Et	0.209 ± 0.008	< LOD	2.44 ± 0.08	14.21 ± 0.22	0.119 ± 0.006	0.91 ± 0.02	4.19 ± 0.12	3.09 ± 0.09	< LOD	< LOD	1.13 ± 0.06	< LOD
Çikolatalı vegan gofret	0.040 ± 0.002	0.276 ± 0.004	0.62 ± 0.02	12.12 ± 0.18	0.029 ± 0.001	1.11 ± 0.02	2.62 ± 0.07	< 0.083	< LOD	< LOD	1.02 ± 0.05	< LOD
Cips	0.032 ± 0.001	< LOD	3.34 ± 0.11	5.69 ± 0.09	0.089 ± 0.005	1.46 ± 0.03	3.79 ± 0.11	3.37 ± 0.10	< LOD	< LOD	0.023 ± 0.001	< LOD

Sosis	0.055 ± 0.002	0.276 ± 0.004	1.90 ± 0.06	7.96 ± 0.12	< LOD	0.40 ± 0.01	3.25 ± 0.09	2.30 ± 0.07	< LOD	< LOD	0.74 ± 0.04	< LOD
Terayağ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0.12 ± 0.001	< 0.081	< LOD	< LOD	< 0.011	< LOD
Badem sütü	0.046 ± 0.002	< LOD	0.57 ± 0.02	0.34 ± 0.01	< LOD	< LOD	0.22 ± 0.01	< 0.039	< LOD	< LOD	0.051 ± 0.003	< LOD
Soya sütü	0.055 ± 0.002	< LOD	0.87 ± 0.03	0.42 ± 0.01	0.054 ± 0.002	0.275 ± 0.005	1.36 ± 0.01	< 0.041	< LOD	< LOD	0.071 ± 0.004	< LOD
Hindistan cevizi sütü	0.051 ± 0.002	< LOD	0.20 ± 0.01	0.40 ± 0.01	< LOD	0.054 ± 0.001	0.08 ± 0.01	< 0.035	< LOD	< LOD	0.025 ± 0.001	< LOD
Yulaf sütü	0.049 ± 0.002	< LOD	0.31 ± 0.01	0.26 ± 0.01	< LOD	0.132 ± 0.002	0.17 ± 0.01	0.249 ± 0.007	< LOD	< LOD	0.047 ± 0.002	< LOD

Numunelere uygulanan metotlar sertifikalı referans malzelere de uygulanmıştır. Bu amaçla Nist 1515 Elma yaprağı ve 1573a Domates yaprağı CRM'i kullanılmıştır. CRM numunelerine ait sonuçlar aşağıdaki tablolarda verilmiştir.



Tablo 9.11 Nist 1515 Elma yaprağı CRM'i için elde edilen sonuçlar

V													Mn			Fe			Co		
Metot	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg									
3M HNO ₃ + H ₂ O ₂	0.218 ± 0.009	85.91		46.8 ± 1.5	86.58		77.7 ± 1.2	94.01		0.097 ±0.005	108.3										
14.5 M HNO ₃	0.240 ± 0.010	94.62	0.254 ± 0.027	48.0 ± 1.6	88.69	54.1 ± 1.1	84.9 ± 1.3	102.7	82.7 ± 2.6	0.091 ±0.005	101.4	0.09									
14.5 M HNO ₃ +H ₂ O ₂	0.208 ± 0.009	81.74		50.8 ± 1.8	93.94		82.1 ± 1.2	99.30		0.010 ±0.051	108.1										

Ba			Pb			Cu			Zn			
Metot	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg
3M HNO ₃ + H ₂ O ₂	49.90 ± 1.42	102.2		0.549 ± 0.006	116.8		5.09 ± 0.14	89.45		15.88 ± 0.45	127.6	
14.5 M HNO ₃	49.60 ± 1.41	101.6	48.80 ± 2.3	0.463 ± 0.005	98.58	0.470 ± 0.024	5.46 ± 0.16	95.93	5.69 ± 0.13	13.46 ± 0.38	108.1	12.45 ± 0.43
14.5 M HNO ₃ +H ₂ O ₂	50.28 ± 1.43	103.0		0.511 ± 0.006	108.9		5.64 ± 0.16	99.05		12.56 ± 0.36	100.9	

Tablo 9.12 NIST 1573A Domates yaprağı CRM'i için elde edilen sonuçlar

	V			Mn			Cr			Fe		
	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg
3M HNO ₃ + H ₂ O ₂	0.724 ±0.030	80.99	0.835 ±0.034	248.2 ± 8.2	100.8	246.3 ± 7.1	2.096 ± 0.034	105.4	1.988 ± 0.034	343.9 ± 5.2	93.60	367.5 ± 4.3
14.5 M HNO ₃	0.750 ±0.031	89.79		261.9 ± 8.6	106.4		1.954 ± 0.031	98.27		395.5 ± 6.0	107.6	
14.5 M HNO ₃ +H ₂ O ₂	0.727 ±0.030	87.09		247.6 ± 8.2	100.5		2.090 ± 0.034	105.6		385.5 ± 5.9	104.9	

	Co			Ni			Cu			Zn		
	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg	Deneysel sonuç, mg/kg	%Geri kazanım	Sertifika değeri, mg/kg
3M HNO ₃ + H ₂ O ₂	0.497 ±0.026	86.09	0.577 ± 0.008	1.391 ± 0.026	87.90	1.582 ± 0.041	4.31 ± 0.13	91.76	4.70 ± 0.14	32.43 ± 1.07	104.8	30.94 ± 0.55
14.5 M HNO ₃	0.553 ±0.029	95.80		1.356 ± 0.026	85.74		4.48 ± 0.14	95.39		35.41 ± 1.17	114.4	
14.5 M HNO ₃ +H ₂ O ₂	0.503 ±0.026	87.24		1.541 ± 0.029	97.41		4.41 ± 0.13	93.82		30.24 ± 1.00	97.72	

Tablo 9.13 Soya granülünün eser element konsantrasyonunun farklı digestion yöntemleri kullanılarak karşılaştırılması

Metot	V, µg/g	Cr, µg/g	Mn, µg/g	Fe, µg/g	Co, µg/g	Ni, µg/g	Cu, µg/g	Zn, µg/g	As, ng/g	Cd, ng/g	Ba, µg/g	Pb, ng/g
14.5 M HNO ₃	0.80 ± 0.03	1.81 ± 0.06	6.93 ± 0.24	38.59 ± 0.73	1.13 ± 0.04	4.66 ± 0.07	15.14 ± 0.43	8.17 ± 0.14	< LOD	< LOD	5.20 ± 0.17	< LOD
3.0M HNO ₃	0.77 ± 0.03	1.67 ± 0.06	6.88 ± 0.24	37.14 ± 0.71	1.07 ± 0.06	3.94 ± 0.07	14.73 ± 0.42	8.98 ± 0.16	< LOD	< LOD	4.83 ± 0.16	< LOD
14.5M HNO ₃ -H ₂ O ₂	0.74 ± 0.03	1.80 ± 0.03	7.19 ± 0.24	42.99 ± 0.65	1.10 ± 0.05	4.91 ± 0.09	17.58 ± 0.50	9.66 ± 0.27	< LOD	< LOD	4.34 ± 0.22	< LOD

Bu tez kapsamında genellikle karmaşık matrisler içerisinde bulunan farklı polaritelere sahip pestisitlerden pymetrozine, chloridazon, methiocarb sulfoxide, thiophanate methyl, sulfentrazone, fluridone, fenamiphos, pyridaphenthion ve bitertanol'ün yüksek doğruluk ve duyarlılıkta kantitatif tayinlerine yönelik LC-QTOF-MS/MS sisteminde analitik bir yöntem geliştirilmiştir. Analitlerin yüksek doğruluk ve duyarlılıkta tayin edilmesi için sistemin değişken tüm parametreleri optimize edilmiştir. İnsan sağlığını etkileyen pestisitlerin toksik etki göstermesi sebebiyle tayinlerinin eser seviyelerde olması çok önemlidir. Bu nedenle yüksek duyarlılığa sahip olan LC-QTOF-MS/MS sisteminde analizleri öncesi mikroekstraksiyon yöntemlerinden yararlanılmıştır. Pestisitlerin genellikle karmaşık matrislerde bulunması nedeniyle içinde bulundukları matristen analitler dışındaki matris etkisi oluşturabilecek safsızlıkların giderilmesi için QuEChErs ekstraksiyonu kullanılırken, düşük seviyelerde tayin edilme gereksiniminden dolayı da bu çalışmada dağıtıcı sıvı-sıvı mikroekstraksiyonu (DLLME) kullanılmıştır. Dağıtıcı sıvı-sıvı ekstraksiyonuna ait pH, elüsyon türü, dağıtıcı solvent türü ve miktarı, ekstraksiyon solventi türü ve miktarı ve tuz etkisi gibi tüm parametreler incelenmiştir. Optimum mikroekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Ekstraksiyon öncesi ve sonrası sistem analitik performans değerleri (LOD, LOQ, % RSD, R^2) belirlenmiş ve analitlerin dedeksiyon limitlerinde 10-260 kat arasında iyileştirme elde edilmiştir. LC-QTOF-MS/MS ile yapılan çalışmalarda tüm analitlerin kalitatif ve kantitatif tayinleri için Poroshell 3x150x2.7 EC C18 kolon kullanılmıştır. Chloridazon, methiocarb sulfoksit, fenamiphos, fluridone, bitertanol, pyridaphenthion, thiophanate methyl, sulfentrazone analitleri için LOD/LOQ değerleri sırasıyla 0.035/0.118 µg/L, 0.017/0.057 µg/L, 0.016/0.052 µg/L, 0.019/0.064 µg/L, 0.062/0.207 µg/L, 0.015/0.051 µg/L, 0.004/0.013 µg/L, 0.27/0.61 µg/L olarak bulunmuştur.

Çalışmanın ikinci aşamasında son yıllarda özellikle gençler arasında tercih edilmeye başlayan vegan beslenmeye vurgu yapılmıştır. Özellikle veganizmde kullanılan bazı gıdalardaki metal/ağır metal içeriklerinin belirlenmesi ve beslenmeye olan katkılarının ne düzeyde olduğunun tespit edilmesi için ICP-MS sisteminde tayinlerine yönelik yöntem

geliştirilmiştir. Örneklerin analizleri öncesi mikrodalga yakma sisteminde $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ karışımının farklı kombinasyonlarının örnek hazırlamaya ve sonuçlara olan etkisi incelenmiş olup bu veriler literatür verileriyle karşılaştırılmıştır. Bu amaç için farklı vegan gıdalarda V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Zn, As, Cd, Ba, Pb, Cu elementlerinin eser düzeylerinin yüksek doğruluk ve hassasiyetle basit ve hızlı bir şekilde belirlenmesi için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullar altında V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Zn, As, Cd, Ba, Pb, Cu elementleri için LOD/LOQ değerleri sırasıyla, 0.012/0.040 ng/mL, 0.027/0.091 ng/mL, 0.035/0.117 ng/mL, 0.200/0.660 ng/mL, 0.013/0.044 ng/mL, 0.266/0.887 ng/mL, 0.169/0.564 ng/mL, 0.012/0.038 ng/mL, 0.015/0.050 ng/mL, 0.042/0.140, 0.010/0.030 ng/mL, 0.036/0.119 ng/mL olarak hesaplanmıştır. Mikrodalga yakma yöntemi, Nist 1515 (Elma Yaprağı) ve 1573A (Domates Yaprağı) sertifikalı referans maddeleri kullanılarak doğrulanmıştır. Soya granül numunesi için ICP-MS ile üç farklı mikrodalga parçalama yönteminin performans karşılaştırması yapılmış ve sonuçların birbirine yakın olmasıyla birlikte, 4:1 oranında 8.0 mL $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ karışımı ile mikrodalga yakma metodunda daha yüksek eser element seviyeleri elde edilmiştir. Bu gıdalar, nispeten yüksek metal içerikleri ve yüksek tüketim oranları nedeniyle benzer beslenme alışkanlıklarına sahip kişiler için özellikle önemli bir mikro besin kaynağıdır.

1. KARA, A. and D.N. GENÇER, *PESTİSİTLER VE ENZİMLER ÜZERİNE ETKİSİ*.
2. Pareja, L., et al., *Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC–MS/MS*. Talanta, 2011. **83**(5): p. 1613-1622.
3. Picó, Y., C. Blasco, and G. Font, *Environmental and food applications of LC–tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: An overview*. Mass spectrometry reviews, 2004. **23**(1): p. 45-85.
4. Kaur, R., et al., *Pesticides classification and its impact on environment*. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci, 2019. **8**(3): p. 1889-1897.
5. YAVUZ, O. and A. AKSOY, *Pestisit Analizlerinde Kullanılan Metotlar*. Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics, 2016. **2**(2): p. 89-100.
6. Chang, P.-L., M.-M. Hsieh, and T.-C. Chiu, *Recent advances in the determination of pesticides in environmental samples by capillary electrophoresis*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2016. **13**(4): p. 409.
7. Kumar, V., et al., *Spectroscopic methods for the detection of organophosphate pesticides—A preview*. Current World Environment, 2013. **8**(2): p. 313.
8. Orazbayeva, D., et al., *Chromatographic determination of pesticides in soil: current trends in analysis and sample preparation*. Trends in Environmental Analytical Chemistry, 2022: p. e00174.
9. Cserháti, T. and M. Szogyi, *Chromatographic determination of pesticides in foods and food products*. Eur. Chem. Bull, 2012. **1**(3-4): p. 58-68.
10. Acosta-Dacal, A., et al., *Optimization and validation of a QuEChERS-based method for the simultaneous environmental monitoring of 218 pesticide residues in clay loam soil*. Science of the Total Environment, 2021. **753**: p. 142015.
11. Zhao, P., et al., *Multi-residue enantiomeric analysis of 18 chiral pesticides in water, soil and river sediment using magnetic solid-phase extraction based on amino modified multiwalled carbon nanotubes and chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A, 2018. **1568**: p. 8-21.
12. Gupta, M. and A. Shanker, *Persistence of acetamiprid in tea and its transfer from made tea to infusion*. Food Chemistry, 2008. **111**(4): p. 805-810.
13. Mortimer, C., *Modern üniversite kimyası (Cilt-1)*. İstanbul: Çağlayan Kitabevi, 1999.

14. Uysal, E., N. Tokman, and O. Cankur, *Yüksek Çözünürlüklü ICP-MS ile Salçada Metal Tayini Metot Validasyonu ve Belirsizlik Hesaplamaları*.
15. Anklam, E., H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle: *Food Chemistry*. 2005, Springer.
16. Barlas, N., N. Akbulut, and M. Aydoğan, *Assessment of heavy metal residues in the sediment and water samples of Uluabat Lake, Turkey*. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 2005. **74**(2): p. 286-293.
17. Kouba, A., M. Buřič, and P. Kozák, *Bioaccumulation and effects of heavy metals in crayfish: a review*. Water, Air, & Soil Pollution, 2010. **211**: p. 5-16.
18. Tokalioğlu, Ş., Ş. Kartal, and A. Gültekin, *Investigation of heavy-metal uptake by vegetables growing in contaminated soils using the modified BCR sequential extraction method*. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 2006. **86**(06): p. 417-430.
19. Malik, L.A., et al., *Detection and removal of heavy metal ions: a review*. Environmental Chemistry Letters, 2019. **17**: p. 1495-1521.
20. Zeiner, M., I. Rezić, and I. Steffan, *Analytical methods for the determination of heavy metals in the textile industry*. Kem. Ind, 2007. **56**(11): p. 587-59.
21. Sataloğlu, N., B. Aydın, and A. Turla, *Pestisit zehirlenmeleri*. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, 2007. **6**(3): p. 169-74.
22. Rana, A.K., et al., *Sustainable materials in the removal of pesticides from contaminated water: Perspective on macro to nanoscale cellulose*. Science of The Total Environment, 2021. **797**: p. 149129.
23. Saleh, I.A., N. Zouari, and M.A. Al-Ghouti, *Removal of pesticides from water and wastewater: Chemical, physical and biological treatment approaches*. Environmental Technology & Innovation, 2020. **19**: p. 101026.
24. Khan, N.A., et al., *Recent trends in disposal and treatment technologies of emerging-pollutants-A critical review*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2020. **122**: p. 115744.
25. Thomaidis, N.S., A.G. Asimakopoulos, and A. Bletsou, *Emerging contaminants: a tutorial mini-review*. Global NEST Journal, 2012. **14**(1): p. 72-79.
26. Havrandere, Ü., *İçme sularından adsorpsiyon ile pestisit giderimi*. 2023.
27. ÖZERCAN, B. and R. TAŞCI, *Türkiye’de Pestisit Kullanımının İller, Bölgeler ve Pestisit Grupları Açısından İncelenmesi*. Ziraat Mühendisliği, (375): p. 75-88.
28. Aslan, C., *Pestisitler ve çevre kirleticilerinden kaynaklanan olumsuzluk faktörleri*. 2022.
29. Mustapha, M.U., et al., *An overview on biodegradation of carbamate pesticides by soil bacteria*. Pertanika Journal of Science & Technology, 2019. **27**(2).

30. Öztürk, B., et al., *Expanded insecticide catabolic activity gained by a single nucleotide substitution in a bacterial carbamate hydrolase gene*. Environmental Microbiology, 2016. **18**(12): p. 4878-4887.
31. Alvarez, A., et al., *Actinobacteria: current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals*. Chemosphere, 2017. **166**: p. 41-62.
32. KOÇAK, A.G.D.B., *CARBOFURAN'IN TOPRAKTAKİ ETKİLERİNE GENEL BİR BAKIŞ*.
33. Hamilton, D. and S. Crossley, *Pesticide residues in food and drinking water: human exposure and risks*. 2004: John Wiley & Sons.
34. Calhelha, R.C., et al., *Toxicity effects of fungicide residues on the wine-producing process*. Food microbiology, 2006. **23**(4): p. 393-398.
35. Kiziewicz, B. and B. Czeżuga, *Bioaccumulation of organochlorine pesticides in the trophic chain alga-freshwater fish*. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 2002. **1**(32).
36. Akdoğan, A., Ü. Divrikli, and E. Latif, *Pestisitlerin önemi ve ekosisteme etkileri*. Akademik Gıda, 2012. **10**(1): p. 125-132.
37. European Parliament, C.o.t.E.U., <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eupesticidesdatabase/mrls/?event=search.pr>.
38. Yu, Y.L., et al., *An exploration of the relationship between adsorption and bioavailability of pesticides in soil to earthworm*. Environmental pollution, 2006. **141**(3): p. 428-433.
39. AYDINALP, C. and M.M. PORCA, *The effects of pesticides in water resources*. Journal of Central European Agriculture, 2004. **5**(1): p. 5-12.
40. Tankiewicz, M., J. Fenik, and M. Biziuk, *Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2010. **29**(9): p. 1050-1063.
41. Alder, L., et al., *Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC-MS or LC-MS/MS?* Mass spectrometry reviews, 2006. **25**(6): p. 838-865.
42. Hernandez, F., J. Sancho, and O. Pozo, *Critical review of the application of liquid chromatography/mass spectrometry to the determination of pesticide residues in biological samples*. Analytical and bioanalytical chemistry, 2005. **382**: p. 934-946.
43. Watson, D., *Food chemical safety: Volume 1: Contaminants*. Vol. 1. 2001: Woodhead Publishing.
44. Karakoç, Ö. and N. Nakiboğlu, *Ditiyokarbamat pestisitleri ve tayin yöntemleri*. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2010. **12**(1): p. 112-135.
45. Clarke, D., et al., *Determination of dithiocarbamates*. Analytical Chemistry, 1951. **23**(12): p. 1842-1846.

46. Yoloğlu, E., *Toprak solucanları üzerine tebukonazol ve thiramın toksik etkilerinin alan çalışması ile değerlendirilmesi*. Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 2015. **5**(1): p. 24-35.
47. Mathew, L., et al., *Spectrophotometric determination of ziram (dithiocarbamate fungicide) by thiocyanate and rhodamine 6G method*. Talanta, 1995. **42**(1): p. 41-43.
48. Rizzati, V., et al., *Effects of pesticide mixtures in human and animal models: An update of the recent literature*. Chemico-biological interactions, 2016. **254**: p. 231-246.
49. Relyea, R.A., *A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities*. Oecologia, 2009. **159**(2): p. 363-376.
50. Belmonte, I.d.S., T.M. Pizzolato, and M.R. Gama, *Quaternary ammonium pesticides: A review of chromatography and non-chromatography methods for determination of pesticide residues in water samples*. Trends in Environmental Analytical Chemistry, 2022: p. e00171.
51. Anastassiades, M., et al., *Quick method for the analysis of numerous highly polar pesticides in food involving extraction with acidified methanol and LC-MS/MS measurement*. Food of Animal Origin (QuPPE-AO-Method), Version, 2019. **3**.
52. Kmellár, B., et al., *Study of the effects of operational parameters on multiresidue pesticide analysis by LC–MS/MS*. Talanta, 2011. **84**(2): p. 262-273.
53. Carvalho, J., et al., *Evaluation of a multiresidue method for measuring fourteen chemical groups of pesticides in water by use of LC-MS-MS*. Analytical and bioanalytical chemistry, 2008. **392**: p. 955-968.
54. Choi, S., et al., *Development and verification for analysis of pesticides in eggs and egg products using QuEChERS and LC–MS/MS*. Food Chemistry, 2015. **173**: p. 1236-1242.
55. Galani, J.H., et al., *Evaluation of 99 pesticide residues in major agricultural products from the Western Highlands Zone of Cameroon using QuEChERS method extraction and LC-MS/MS and GC-ECD analyses*. Foods, 2018. **7**(11): p. 184.
56. Villaverde, J.J., et al., *Trends in analysis of pesticide residues to fulfil the European Regulation (EC) No. 1107/2009*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016. **80**: p. 568-580.
57. Liu, S. and J.D. Pleil, *Human blood and environmental media screening method for pesticides and polychlorinated biphenyl compounds using liquid extraction and gas chromatography–mass spectrometry analysis*. Journal of Chromatography B, 2002. **769**(1): p. 155-167.
58. Sarafraz-Yazdi, A. and A. Amiri, *Liquid-phase microextraction*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2010. **29**(1): p. 1-14.
59. Dadfarnia, S. and A.M.H. Shabani, *Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals—A review*. Analytica Chimica Acta, 2010. **658**(2): p. 107-119.

60. Microextraction, F.A.S.P., *Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of Conditions*.
61. Hercegová, A., M. Dömötörövá, and E. Matisova, *Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination*. Journal of Chromatography A, 2007. **1153**(1-2): p. 54-73.
62. Lehotay, S.J. and J. Hajšlová, *Application of gas chromatography in food analysis*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2002. **21**(9-10): p. 686-697.
63. Simplício, A.L.s. and L.s.V. Boas, *Validation of a solid-phase microextraction method for the determination of organophosphorus pesticides in fruits and fruit juice*. Journal of Chromatography A, 1999. **833**(1): p. 35-42.
64. Alver, E., A. Demirci, and M. ÖZCİMDER, *Microextraction methods*. J Eng Nat Sci, 2012. **30**: p. 75-90.
65. Anastassiades, M., et al., *Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce*. Journal of AOAC international, 2003. **86**(2): p. 412-431.
66. Vidal, J.M., F. Arrebola, and M. Mateu-Sánchez, *Application of gas chromatography–tandem mass spectrometry to the analysis of pesticides in fruits and vegetables*. Journal of Chromatography A, 2002. **959**(1-2): p. 203-213.
67. Húšková, R., et al., *Analysis of pesticide residues by fast gas chromatography in combination with negative chemical ionization mass spectrometry*. Journal of chromatography A, 2009. **1216**(35): p. 6326-6334.
68. Zrostlíková, J., J. Hajšlová, and T. Čajka, *Evaluation of two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry for the determination of multiple pesticide residues in fruit*. Journal of Chromatography A, 2003. **1019**(1-2): p. 173-186.
69. Asensio-Ramos, M., et al., *Evaluation of a modified QuEChERS method for the extraction of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010. **396**: p. 2307-2319.
70. Farajzadeh, M.A., R. Safi, and A. Yadeghari, *Combination of QuEChERS extraction with magnetic solid phase extraction followed by dispersive liquid–liquid microextraction as an efficient procedure for the extraction of pesticides from vegetable, fruit, and nectar samples having high content of solids*. Microchemical Journal, 2019. **147**: p. 571-581.
71. Burcu, E. and A.S. DİNÇEL, *Kromatografiye giriş, yüksek performanslı sıvı kromatografi kullanımında basit ipuçları*. Sağlık Hizmetleri ve Eğitimi Dergisi, 2018. **2**(2): p. 51-57.
72. Yıldız, A., Ö. Genç, and S. Bektaş, *Enstrümental Analiz Yöntemleri, Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, 2. Baskı, Ankara, 1997*.
73. Neşetoğlu, N., *Parasetamol Ve Flurbiprofenin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Yöntemi İle Yanyana Analizi*. Yüksek lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2015.

74. Douglas A. Skoog, F.J.H., Timoty A. Nieman, *Enstrümantel Analiz İlkeleri* Bilim Yayıncılık, s; 498-531, 702-716, Ankara, .
75. Burtis, C. and E. Ashwood, *Klinik Kimyada Temel İlkeler*, 5. baskı. D., Aslan, Palme Yayıncılık, Ankara, 2007: p. 159-160.
76. Aguilar, M.-I., *HPLC of Peptides and Proteins: Methods and Protocols*. 2004, Wiley Online Library.
77. Şenol, Y., *Alkole Bağlı Olmayan Karaciğer Yağlanması Tedavisinde Nano-Enkapsüle İlaçların Etkinliğinin Lc/Q-ToF Ms ile Gerçekleştirilen Metabolomik ve Lipidomik Çalışmalarla İn Vitro Değerlendirilmesi*. 2022.
78. Mandal, S.M., et al., *Rapid determination of vitamin B 2 and B 12 in human urine by isocratic liquid chromatography*. *Analytica chimica acta*, 2009. **640**(1): p. 110-113.
79. Gupta, V., et al., *Development and validation of HPLC method-a review*. *Int. Res J Pharm. App Sci*, 2012. **2**(4): p. 17-25.
80. Kirpekar, F., et al., *DNA sequence analysis by MALDI mass spectrometry*. *Nucleic acids research*, 1998. **26**(11): p. 2554-2559.
81. Wilm, M., *Principles of electrospray ionization*. *Molecular & cellular proteomics*, 2011. **10**(7).
82. Knochenmuss, R., *Ion formation mechanisms in UV-MALDI*. *Analyst*, 2006. **131**(9): p. 966-986.
83. Kebarle, P. and U.H. Verkerk, *Electrospray: from ions in solution to ions in the gas phase, what we know now*. *Mass spectrometry reviews*, 2009. **28**(6): p. 898-917.
84. Konermann, L., et al., *Unraveling the mechanism of electrospray ionization*. 2013, ACS Publications.
85. ANILANMERT, D.E.B., *GHB, Ketamin, Norketamin, Fenobarbital, Tiyopental, Zolpidem, Zopiklon Ve Fenitoin'in LC-MS/MS Yöntemi İle İdrardan Eşzamanlı Tayini*. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, 2014.
86. Çavuş, F., *Yumuşak şekerlemelerde kullanılan yenilebilir jelatin orjininin LC Q-TOF ile belirlenmesi*. 2018, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
87. Sparkman, O.D., *GC/MS: A practical user's guide*, Marvin McMaster. 2011, ACS Publications.
88. Stephens, W.E., *A pulsed mass spectrometer with time disaersion*. *Phys. Rev.*, 1946. **69**: p. 691.
89. Cooks, R., K. Busch, and G.L. Glish, *Mass spectrometry: analytical capabilities and potentials*. *Science*, 1983. **222**: p. 273-282.
90. Yamashita, M. and J.B. Fenn, *Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme*. *The Journal of Physical Chemistry*, 1984. **88**(20): p. 4451-4459.

91. Clayton, P., *Applications of mass spectrometry in the study of inborn errors of metabolism*. Journal of inherited metabolic disease, 2001. **24**(2): p. 139-150.
92. Andersen, B. and B. Wise, *Textbook of clinical chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1986: p. 197-208.
93. Şahar, U., *Denizkestanesi Paracentrotus Lividus'un Yumurta Jel Kılıfı Glikoproteinlerinin İzolasyonu Ve Glikan Profilinin MALDI-TOF-MS Ve LC-MS/MS Sisteminde Glikomik Yaklaşımla Belirlenmesi*. DOKTORA TEZİ, Biyoloji Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2015.
94. Lacorte, S. and A.R. Fernandez-Alba, *Time of flight mass spectrometry applied to the liquid chromatographic analysis of pesticides in water and food*. Mass spectrometry reviews, 2006. **25**(6): p. 866-880.
95. Niell, S., et al., *QuEChERS-based method for the multiresidue analysis of pesticides in beeswax by LC-MS/MS and GC× GC-TOF*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014. **62**(17): p. 3675-3683.
96. Patel, D., *Matrix effect in a view of LC-MS/MS: an overview*. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 2011. **2**(1): p. 559-564.
97. Aslam, B., I. Javed, and F.H. Khan, *Uptake of Heavy Metal Residues from Sewerage Sludge in the Milk of Goat and Cattle during Summer Season*. Pakistan Veterinary Journal, 2011. **31**(1).
98. Kahvecioğlu, Ö., et al., *Metallerin Çevresel Etkileri-I, Metalurji, 136. Sayı*. 2009.
99. Özbolat, G. and T. Abdullah, *Ağır metal toksisitesinin insan sağlığına etkileri*. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 2016. **25**(4): p. 502-521.
100. Järup, L., *Hazards of heavy metal contamination*. British medical bulletin, 2003. **68**(1): p. 167-182.
101. İstanbulluoğlu, H., *Piyasada satılan süt ve süt ürünlerinde ağır metal kirliliği*. GATA Halk Sağlığı Anabilim Dalı Başkanlığı, Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2011.
102. Kayhan, F.E., M.N. Muşlu, and N.D. Koç, *Bazı Ağır Metallerin Sucul Organizmalar Üzerinde Yarattığı Stres Ve Biyolojik Yanıtlar*. Journal of FisheriesSciences. com, 2009. **3**(2): p. 153-162.
103. Boldyrev, M., *Lead: Properties, history, and applications*. WikiJournal of Science, 2018. **1**(2): p. 1-23.
104. NG, D.K.K., et al., *Low-level chronic mercury exposure in children and adolescents: Meta-analysis*. Pediatrics International, 2007. **49**(1): p. 80-87.
105. Dundar, Y. and R. Aslan, *Effects of lead as a life surrounding heavy metal*. The Journal of Medical Kocatepe, 2005. **6**(2): p. 1-5.
106. Gidlow, D., *Lead toxicity*. Occupational medicine, 2004. **54**(2): p. 76-81.
107. Piomelli, S., *Childhood lead poisoning*. Pediatric Clinics, 2002. **49**(6): p. 1285-1304.

108. Clarkson, T.W., L. Magos, and G.J. Myers, *The toxicology of mercury—current exposures and clinical manifestations*. New England Journal of Medicine, 2003. **349**(18): p. 1731-1737.
109. ATSDR, T., *ATSDR (Agency for toxic substances and disease registry)*. Prepared by clement international corp., under contract, 2000. **205**: p. 88-0608.
110. Guideline, N.-O., *Health-Based Air Concentrations for Mercury Vapor*.
111. Grandjean, P. and P.J. Landrigan, *Developmental neurotoxicity of industrial chemicals*. The Lancet, 2006. **368**(9553): p. 2167-2178.
112. Assessment, U.G.M., *Sources, emissions, releases and environmental transport*. UNEP Chemicals Branch, Geneva, Switzerland, 2013. **42**.
113. Mandal, B.K. and K.T. Suzuki, *Arsenic round the world: a review*. Talanta, 2002. **58**(1): p. 201-235.
114. Hughes, M.F., *Arsenic toxicity and potential mechanisms of action*. Toxicology letters, 2002. **133**(1): p. 1-16.
115. Smith, A.H., et al., *Increased mortality from lung cancer and bronchiectasis in young adults after exposure to arsenic in utero and in early childhood*. Environmental health perspectives, 2006. **114**(8): p. 1293-1296.
116. Dousova, B., et al., *Sorption of As (V) species from aqueous systems*. Water, air and soil pollution, 2003. **149**(1-4): p. 251.
117. Pétursdóttir, Á.H.E., *Determination of toxic and non-toxic arsenic species in Icelandic fish meal*. 2010.
118. METİN, Z.G. and C.I. YAVUZ, *Çevresel ve Mesleki Kadmiyum Etkilenimi ve Sağlık Etkileri*.
119. Cancer, I.A.f.R.o. and I.A.f.R.o. Cancer, *Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry*. Vol. 58. 1993: IARC, World Health Organization.
120. de Romaña, D.L., et al., *Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2011. **25**(1): p. 3-13.
121. ALKİŞ, İ.M.Y. and R.E. ANLI, *Türk şaraplarında ağır metallerin belirlenmesi*. 2011, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.
122. Kara, H., et al., *Kadmiyum klorürün sıçan böbrek dokusunda oluşturduğu yapısal değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine metallothioneinin etkileri: Işık mikroskopik çalışma*. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 2004.
123. Vincent, J., *The nutritional biochemistry of chromium (III)*. 2018: Elsevier.
124. Seragadam, P., et al., *Bioremediation of hexavalent chromium from wastewater using bacteria-a green technology*. Biodegradation, 2021. **32**(4): p. 449-466.
125. Yoshinaga, M., et al., *A comprehensive study including monitoring, assessment of health effects and development of a remediation method for chromium pollution*. Chemosphere, 2018. **201**: p. 667-675.

126. Hessel, E.V., et al., *Occupational exposure to hexavalent chromium. Part I. Hazard assessment of non-cancer health effects*. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2021. **126**: p. 105048.
127. Tchounwou, P.B., et al., *Heavy metal toxicity and the environment*. Molecular, clinical and environmental toxicology: volume 3: environmental toxicology, 2012: p. 133-164.
128. Seven, T., et al., *Hava ve toprakta ağır metal kirliliği*. Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi, 2018. **1**(2): p. 91-103.
129. Arruti, A., I. Fernández-Olmo, and Á. Irabien, *Evaluation of the contribution of local sources to trace metals levels in urban PM_{2.5} and PM₁₀ in the Cantabria region (Northern Spain)*. Journal of environmental monitoring, 2010. **12**(7): p. 1451-1458.
130. Cennet, Ö. and R. Mammadov, *Ağır metaller ve süs bitkilerinin fitoremediasyonda kullanılabilirliği*. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2013. **15**(1): p. 68-77.
131. Briffa, J., E. Sinagra, and R. Blundell, *Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans*. Heliyon, 2020. **6**(9).
132. Walker, C.H., et al., *Principles of ecotoxicology*. 2012: CRC press.
133. Koki, I.B., et al., *Health risk assessment of heavy metals in water, air, soil and fish*. African journal of pure and applied chemistry, 2015. **9**(11): p. 204-210.
134. Fu, F. and Q. Wang, *Removal of heavy metal ions from wastewaters: a review*. Journal of environmental management, 2011. **92**(3): p. 407-418.
135. Tchounwou, P., et al., *Heavy metal toxicity and the environment*. EXS 101, 133e164. 2012.
136. Tayar, M., *Gıda Güvenliği, TC Marmara Belediyeler Birliği Yayını*. 2010, İstanbul.
137. Wang, S. and X. Shi, *Molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenesis*. Molecular and cellular biochemistry, 2001. **222**: p. 3-9.
138. Council, N.R., *Arsenic in drinking water*. 1999.
139. Kodeksi, T.G., *Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği*. Resmi Gazete, 2011. **28157**(3): p. 3-4.
140. Craig, W.J., *Health effects of vegan diets*. The American journal of clinical nutrition, 2009. **89**(5): p. S1627-S1633.
141. Leitzmann, C., *Vegetarian nutrition: past, present, future*. The American journal of clinical nutrition, 2014. **100**(suppl_1): p. 496S-502S.
142. Kopru, S., M. Cadir, and M. Soylak, *Investigation of trace elements in vegan foods by ICP-MS after microwave digestion*. Biological trace element research, 2022. **200**(12): p. 5298-5306.
143. Gökçen, M., Y.Ç. Aksoy, and B.A. Özcan, *Vegan beslenme tarzına genel bakış*. Sağlık ve Yaşam Bilimleri Dergisi, 2019. **1**(2): p. 50-54.

144. Shariff, R., et al., *Analytical method validation and determination of iron and phosphorus in vegetable oil by inductively coupled plasma–mass spectrometry with microwave assisted digestion*. Analytical Letters, 2018. **51**(11): p. 1774-1788.
145. Karasakal, A., *Determination of trace and major elements in vegan milk and oils by ICP-OES after microwave digestion*. Biological trace element research, 2020. **197**(2): p. 683-693.
146. Hannon, A.Y., et al., *Heavy metals content in some chips products in Iraqi markets*. Iraqi Journal of Science, 2016. **57**(4C): p. 2818-2828.
147. Nardi, E.P., et al., *The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples*. Food Chemistry, 2009. **112**(3): p. 727-732.
148. Manjusha, R., R. Shekhar, and S.J. Kumar, *Ultrasound-assisted extraction of Pb, Cd, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn from edible oils with tetramethylammonium hydroxide and EDTA followed by determination using graphite furnace atomic absorption spectrometer*. Food chemistry, 2019. **294**: p. 384-389.
149. Şahan, Y., F. Basoglu, and S. Gücer, *ICP-MS analysis of a series of metals (Namely: Mg, Cr, Co, Ni, Fe, Cu, Zn, Sn, Cd and Pb) in black and green olive samples from Bursa, Turkey*. Food Chemistry, 2007. **105**(1): p. 395-399.
150. Jackson, B.P., A. Liba, and J. Nelson, *Advantages of reaction cell ICP-MS on doubly charged interferences for arsenic and selenium analysis in foods*. Journal of analytical atomic spectrometry, 2015. **30**(5): p. 1179-1183.
151. Maione, C., et al., *Comparative study of data mining techniques for the authentication of organic grape juice based on ICP-MS analysis*. Expert Systems with Applications, 2016. **49**: p. 60-73.
152. Millour, S., et al., *Simultaneous analysis of 21 elements in foodstuffs by ICP-MS after closed-vessel microwave digestion: Method validation*. Journal of Food Composition and Analysis, 2011. **24**(1): p. 111-120.
153. Filipiak-Szok, A., M. Kurzawa, and E. Szłyk, *Determination of toxic metals by ICP-MS in Asiatic and European medicinal plants and dietary supplements*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2015. **30**: p. 54-58.
154. Waechter, S.R., et al., *Microwave-based strategies for sample preparation and halogen determination in blood using ICP-MS*. Talanta, 2021. **226**: p. 122157.
155. Zhang, N., et al., *Simultaneous determination of arsenic, cadmium and lead in plant foods by ICP-MS combined with automated focused infrared ashing and cold trap*. Food chemistry, 2018. **264**: p. 462-470.
156. Khan, N., et al., *Method validation for simultaneous determination of chromium, molybdenum and selenium in infant formulas by ICP-OES and ICP-MS*. Food chemistry, 2013. **141**(4): p. 3566-3570.
157. Andreas, H., *Spectroscopic Techniques: I Spectrophotometric Techniques*. K. Wilson, J. Walker, 2010.

158. Soylak, M. and M. Koksak, *Deep eutectic solvent microextraction of lead (II), cobalt (II), nickel (II) and manganese (II) ions for the separation and preconcentration in some oil samples from Turkey prior to their microsampling flame atomic absorption spectrometric determination*. Microchemical Journal, 2019. **147**: p. 832-837.
159. Welz, B. and M. Sperling, *Atomic absorption spectrometry*. 2008: John Wiley & Sons.
160. Labusov, V., et al., *High-resolution continuum-source electrothermal atomic absorption spectrometer for simultaneous multi-element determination in the spectral range of 190–780 nm*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2019. **34**(5): p. 1005-1010.
161. Skoog, D.A., F.J. Holler, and T.A. Nieman, *Principles of instrumental analysis 5th edition*. Saunders College Pub. Co.: Philadelphia, 1998.
162. Vachirapatama, N., et al., *Determination of vanadium as 4-(2-pyridylazo) resorcinol–hydrogen peroxide ternary complexes by ion-interaction reversed-phase liquid chromatography*. Journal of Chromatography A, 2002. **956**(1-2): p. 221-227.
163. Moreno-Andrade, I., et al., *LC-ICP-OES method for antimony speciation analysis in liquid samples*. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2020. **55**(4): p. 457-463.
164. Tomlinson, M.J., L. Lin, and J.A. Caruso, *Plasma mass spectrometry as a detector for chemical speciation studies*. Analyst, 1995. **120**(3): p. 583-589.
165. Caruso, J.A. and M. Montes-Bayon, *Elemental speciation studies—new directions for trace metal analysis*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003. **56**(1): p. 148-163.
166. Hirner, A.V. and H. Emons, *Organic metal and metalloid species in the environment: analysis, distribution, processes and toxicological evaluation*. 2004: Springer Science & Business Media.
167. Nelms, S.M., *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook*.
168. Ammann, A.A., *Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool*. Journal of mass spectrometry, 2007. **42**(4): p. 419-427.
169. Rao, R.N. and M.K. Talluri, *An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2007. **43**(1): p. 1-13.
170. Xing, L., *Ion Exchange Chromatography Coupled To Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: A Powerful Technique For Stability Constant Determination, Speciation Analysis And Kinetic Studies*. Queen's University, Department of Chemistry, Canada, 2010.
171. Gaines, P., *Sample Introduction for ICP-MS and ICP-OES*. Spectroscopy, 2005. **20**(1): p. 20-23.
172. Thomas, R., *Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners*. 2008: CRC press.

173. Mahesh Batsala, B.C., Bhargavi Sakala, Sreekanth Nama and Sreenu Domatoti, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS)*. International Journal Of Research In Pharmacy And Chemistry, 2012. **IJRPC 2012, 2(3)**
174. Technologies, A., *7500_ Introduction_TR_Kisa.pdf*.
175. Thomas, R., *Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners*. 2013: CRC press.
176. Roos, P., et al., *The NKS-NORCMAS guide to beginners in ICP-MS*. 2006.
177. Rehkämper, M., M. Schönbächler, and C.H. Stirling, *Multiple Collector ICP-MS: Introduction to Instrumentation, Measurement Techniques and Analytical Capabilities*. Geostandards and Geoanalytical Research, 2001. **25(1)**: p. 23-40.
178. Tanner, S.D., V.I. Baranov, and D.R. Bandura, *Reaction cells and collision cells for ICP-MS: a tutorial review*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2002. **57(9)**: p. 1361-1452.
179. Delafiori, J., G. Ring, and A. Furey, *Clinical applications of HPLC–ICP-MS element speciation: A review*. Talanta, 2016. **153**: p. 306-331.
180. Lum, T.-S. and K.S.-Y. Leung, *Strategies to overcome spectral interference in ICP-MS detection*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2016. **31(5)**: p. 1078-1088.
181. Fatoki, J.O. and J.A. Badmus, *Arsenic as an environmental and human health antagonist: A review of its toxicity and disease initiation*. Journal of Hazardous Materials Advances, 2022: p. 100052.
182. Mehder, A., et al., *Assessment of Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Cd, and Pb concentrations in gluten-free foods from Saudi Arabia by inductively coupled plasma mass spectrometry*. Atom. Spectrosc, 2015. **36(6)**: p. 254-260.
183. Accessed 17 November 2019, <https://www.lenntech.com/recommended-daily-intake.htm>
184. Meeting, J.F.W.E.C.o.F.A., J.F.W.E.C.o.F. Additives, and W.H. Organization, *Evaluation of certain food additives and contaminants: sixty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Vol. 61. 2004: World Health Organization.
185. Genchi, G., et al., *The effects of cadmium toxicity*. International journal of environmental research and public health, 2020. **17(11)**: p. 3782.
186. Godt, J., et al., *The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health*. Journal of occupational medicine and toxicology, 2006. **1(1)**: p. 1-6.
187. Hosseini, S.V., et al., *Determination of toxic (Pb, Cd) and essential (Zn, Mn) metals in canned tuna fish produced in Iran*. Journal of Environmental Health Science and Engineering, 2015. **13**: p. 1-6.
188. Torti, S.V. and F.M. Torti, *Iron and cancer: more ore to be mined*. Nature Reviews Cancer, 2013. **13(5)**: p. 342-355.

189. Gazette, T.O., *Regulation of setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs*. Iss, 2002. **24885**: p. 63.
190. Cempel, M. and G. Nickel, *Nickel: A review of its sources and environmental toxicology*. Polish journal of environmental studies, 2006. **15**(3).
191. Chain, E.P.o.C.i.t.F., et al., *Update of the risk assessment of nickel in food and drinking water*. EFSA Journal, 2020. **18**(11): p. e06268.
192. *Nickel: estimate of long-term intake via food based on the BfR MEAL Study*, in *German Federal Institute for Risk Assessment*. 22 November 2022.



A
EK



TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

- 1) Sabriye Sel, İkbal Koyuncu “Çeşitli Vegan Gıda Numulerindeki İnorganik Analitlerin Mikrodalga Çözündürme sonrası ICP-MS Sisteminde Eser seviyelerde Eşzamanlı Tayin Edilmesi”. 7-9 Ekim 2021, 33.Ulusal Kimya Kongresi, Tekirdağ, TÜRKİYE
- 2) Sabriye Sel, İkbal Koyuncu, “Tropikal Meyvelerdeki Pestisitlerin QuEChERS Yöntemi Ve Dağıtıcı Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu (DLLME) Sonrası Sıvı Kromatografi-Kuadropol Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi LC-QTOF-MS/MS İle Yüksek Doğruluk Ve Duyarlıkta Tayin Edilmesi”. 1-6 Eylül 2022, 34.Ulusal Kimya Kongresi, Yalova, TÜRKİYE.

Makaleler

- 1) Sabriye Sel, Elif Öztürk Er and İkbal Koyuncu, “Development of an analytical method for the determination of pesticides in tropical fruits by LC-QTOF-MS/MS after QuEChERS extraction sample cleanup and DLLME preconcentration” Methods Appl. Fluoresc. 12 (2024) 015008, DOI 10.1088/2050-6120/ad0bfe

Projeler

- 1) Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü’nün FDK-2020-4076 numaralı DOP projesi