



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KATI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE PESTİSİTLERİN GAZ KROMATOĞRAFİSİNDE TAYİNİ

ZEYNEP YURTMAN GÜNDÜZ

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Adnan AYDIN

İSTANBUL, 2013

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Öğrencisi Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ'ün "Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi ile Pestisidlerin Gaz Kromatografisinde Tayini" başlıklı tez çalışması, 24/08/2013 tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Prof.Dr. Adnan AYDIN (Danışman)

Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi (İMZA)

Prof.Dr. Hikmet SAVCI (Üye)

Sabahattin Zaim Üniversitesi (İMZA)

Doç.Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU (Üye)

Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi (İMZA)

Yrd.Doç.Dr. Serap KARADERİ (Üye)

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (İMZA)

Yrd.Doç.Dr. Gülbin ERDOĞAN (Üye)

Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (İMZA)

ONAY

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 23/08/2013 tarih ve 2013/21-02 sayılı kararı ile Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ'ün Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında Doktora derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Abdülkerim KAR




ÖNSÖZ

“Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi ile Pestisidlerin Gaz Kromatografisinde Tayini” isimli proje kapsamında, vermiş olduğu destekten dolayı Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı’na,

Doktora çalışmam boyunca aktarmış oldukları birikimler, göstermiş olduğu ilgi, destek ve anlayışında dolayı tez danışmanım, Sayın Prof. Dr. Adnan AYDIN’a,

Başta Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU olmak üzere, yardımları ve destekleriyle her zaman yanımda olan hocalarıma,

Her konuda desteklerini eksik etmeyen sevgili çalışma arkadaşlarım Dr. Oya AYDIN URUCU, Dr. Soner ÇUBUK ve Yrd.Doç.Dr. Sabahattin DENİZ’e

İlgi ve anlayışlarından dolayı başta Enstitü Müdürü Prof.Dr. Abdülkerim KAR ve Enstitü Sekreteri Nebahat ARSLAN AVCI olmak üzere tüm Fen Bilimleri Enstitüsü Personeline,

Bilimsel tecrübesiyle bana her zaman yol gösteren ve manevi varlığını hissettiren sevgili eşim Dr. Cihan GÜNDÜZ’e ve eğitim hayatımın bütün sıkıntılarına katlanan biricik kızım Deniz’e,

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini gördüğüm canlarım annem, babam ve kardeşlerime,

İçtenlikle teşekkür ederim.

Ağustos, 2013

Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
YENİLİK BEYANI.....	viii
SEMBOLLER.....	ix
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
TABLO LİSTESİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tezin Amacı.....	2
1.2. Literatür Araştırması.....	2
1.3. Genel Bilgiler.....	5
1.3.1. Pestisitler.....	5
1.3.1.1. Pestisitlerin kullanımı.....	5
1.3.1.2. Pestisitlerin tarihçesi.....	5
1.3.1.3. Dünyada pestisit kullanımı.....	6
1.3.1.4. Türkiye’de pestisit kullanımı.....	7
1.3.1.5. Pestisitlerin çevredeki davranışları.....	7
1.3.1.6. Toprakta pestisit kalıntıları.....	12
1.3.1.7. Tutulma katsayısı (Kd).....	12
1.3.1.8. Yüzey sularında pestisit kalıntıları.....	13
1.3.1.9. Hava ortamındaki pestisit kalıntıları.....	13
1.3.1.10. Gıdalarda pestisit kalıntıları.....	14
1.3.1.11. Pestisitlerin ürün üzerindeki kalıcılık durumları.....	15
1.3.1.12. Pestisitlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	16
1.3.1.13. Buhar basıncı ve Henry kanunu sabiti.....	16

1.3.1.14. Oktanol-Su ayrılma katsayısı (K_{ow}).....	17
1.3.1.15. Adsorpsiyon ve desorpsiyon.....	18
1.3.1.16. Organoklorlu pestisitler	19
1.3.1.17. Organofosforlu pestisitler	21
1.3.1.18. Karbamatlar	21
1.3.1.19. Bu çalışma için seçilen pestisitler	22
1.3.2. Gaz kromatografisi ile meyve ve sebzeler pestisit kalıntılarının tayinleri	
ile ilgili çalışmalar	31
1.3.3. Kromatografi kullanılan hareketli ve sabit fazlar	32
1.3.3.1. Kromatografi metotları	33
1.3.3.2. Kromatogramlar.....	33
1.3.3.3. Bant genişlemesi ve kolon etkinliği.....	34
1.3.3.4. Dağılma katsayısı.....	34
1.3.3.5. Alıkonma zamanı.....	35
1.3.3.6. Kapasite faktörü.....	36
1.3.3.7. Seçicilik faktörü.....	37
1.3.3.8. Kromatografik kolon etkinliği	37
1.3.3.9. Kolon ayırma gücü (Resolusyon)	38
1.3.4. Gaz kromatografisi	39
1.3.4.1. Taşıyıcı gaz yâda hareketli faz.....	39
1.3.4.2. Örnek enjeksiyon bölümü.....	40
1.3.4.3. GC kolonları	40
1.3.4.4. GC dedektörleri	41
1.3.4.5. Elektron yakalama detektörü (GC-ECD).....	42
1.3.5. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS).....	42
1.3.6. Meyve ve sebzelerdeki pestisit kalıntı analiz çalışmalarının incelenmesi	43
1.3.6.1. Meyve ve sebzelerdeki pestisit kalıntı analiz için analitik teknikler	43
1.3.6.2. Örnek hazırlama.....	43
1.3.6.3. Ekstraksiyon	43
1.3.6.4. Örnek temizlenmesi	44
1.3.7. Örnek ekstraksiyon teknikleri.....	44
1.3.7.1. Süper kritik akışkan ekstraksiyonu (SFE)	44

1.3.7.2. Basınçlı akışkan ekstraksiyonu (PFE)	44
1.3.7.3. Sıvı-Sıvı ekstraksiyon (LLE)	44
1.3.7.4. Jel geçirgenlik kromatografisi	45
1.3.7.5. Katı faz ekstraksiyon (SPE).....	45
1.3.7.6. Katı-Faz mikroekstraksiyon (SPME)	45
1.3.7.7. SPME'nin basit ekstraksiyon teorisi	46
1.3.7.8. Ekstraksiyon tipleri	48
1.3.8. SPME optimizasyonu	50
1.3.8.1. Fiber tipi.....	50
1.3.8.2. Ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı.....	54
1.3.8.3. pH	54
1.3.8.4. Tuz etkisi	55
1.3.8.5. Çalkalama	55
1.3.8.6. Örnek hacmi.....	55
1.3.8.7. Desorpsiyon süresi ve sıcaklığı	55
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	57
2.1. Materyal	57
2.1.1. Kimyasallar	57
2.1.2. Standartlar	57
2.1.3. Cihazlar	57
2.1.4. Enstrümental.....	57
2.1.4.1. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS)	57
2.2. Yöntem	58
2.2.1. Standart stok çözeltisi.....	58
2.2.2. Örnekler.....	58
2.2.3. Örnek hazırlama	59
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	60
3.1. Kromatografik Şartların Optimizasyonu	60
3.1.1. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS).....	60
3.1.1.1. Kromatografik koşulların belirlenmesi ve pestisidlerin alıkonma zamanlarının tespiti.....	60
3.1.1.2. Enjeksiyon bölümünün sıcaklığı.....	61

3.1.1.3. Gaz kromatografik ayırma	62
3.2. Meyve Ve Sebzelerdeki Pestisit Kalıntılarının Çoklu Kalıntı Analizleri-	
Kıatı-Faz Mikroekstraksiyon (SPME)	64
3.2.1. Çözücü oranı etkisi	64
3.2.2. Direkt batırma yöntemi	64
3.2.3. Ekstraksiyon süresinin etkisi	66
3.2.4. Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi	68
3.2.5. Karıştırma oranının etkisi	69
3.3. Pestisit Ekstraksiyon Analiz Metotlarının Geçerli Kılınması (Validasyonu)	69
3.3.1. Kalibrasyon eğrisi (Lineerlik)	69
3.3.2. % Geri kazanım	70
4. SONUÇLAR	71
KAYNAKLAR	73
EKLER	75

ÖZET

KATI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE PESTİSİTLERİN GAZ KROMATOĞRAFİSİNDE TAYİNİ

Katı faz mikroekstraksiyon, organik faz kaplama üzerine maddelerin adsorpsiyonuna ve gaz kromatografi cihazına enjeksiyon ile desorpsiyonuna dayanan yeni bir analitik tekniktir.

Sebze ve meyvelerdeki pestisid kalıntı düzeylerinin belirlenmesi, pestisidlerin canlı sağlığına ve çevreye olan zararlı etkileri nedeniyle oldukça önemlidir. Bu amaçla, çilek ve salatalık örneklerinde yaygın olarak kullanılan organoklorlu pestisid kalıntı düzeylerinin saptanmasına yönelik yeni bir katı faz mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Geliştirilen metotta, örnekler metanol:su (%20:%80) karışımı ile muamele edildikten sonra PDMS/DVB fiber kaplama ile ekstrakte edilmektedir. Elde edilen ekstraktlar, Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS)'ne enjekte edilerek, Split/Splitless modunda analiz edilmektedir. GC/MS HP-5MS kolon kullanılarak, geliştirilen programla, 18 pestisid içeren karışım analiz edildi.

Metodun geçerli validasyonu yapılmış ve sonuçlar kabul edilir aralıklarda bulunmuştur. Pestisidlerin matrikste hazırlanan kalibrasyonlardan elde edilen korelasyon katsayıları (r^2) 0.92-0.99 arasındadır, geri kazanımlar % 63-99 arasında, LOD değerleri 0.245-0.493 µg/L ve relatif standart sapmaları (% RSD) %20'den düşük bulunmuştur.

Ağustos, 2013

Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ

ABSTRACT

DETERMINATION OF PESTICIDES IN GAS CHROMATOGRAPHY WITH SOLID PHASE MICROEXTRACTION METHOD

Solid Phase Micro-Extraction (SPME) is a new analytical technique, based on capturing the analytes by adsorption onto an organic phase coating a glass fibre, and subsequent direct desorption into the injector of a gas chromatograph.

Determination of pesticide levels is quite important due to their effect on health and environment in fruit and vegetables. In this research, a new method of solid-phase microextraction has been established for organochlorine pesticide residues in strawberry and cucumber.

In developed method, samples were treated with methanol:water (20%:80%) mixture and extracted with PDMS/DVB fiber coating. The extracts were then injected to Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) and analysed in Split/Splitless. HP5-MS column was used in GC/MS and 18 pesticide mix. were formed with developed run programme.

Method was validated and validation parameters were in acceptable range. Pesticides, correlation coefficients were found between (R^2) were 0.92-0.99 with matrix matched calibration, recoveries were found between 63-99%, LOD were found between 0.245-0.493 $\mu\text{g/L}$ and relative standard deviations (RSD%) were lower than 20%.

August, 2013

Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ

YENİLİK BEYANI

KATI FAZ MİKROEKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE PESTİSİTLERİN GAZ KROMATOĞRAFİSİNDE TAYİNİ

Her ne kadar dünyada yayınlanmış ve geçerlilik kazanmış çoklu kalıntı analiz metotları varsa da; bu metotların ülkesel olarak, ürün ve kullanılan pestisidler açısından değerlendirilmesi ve işlerlik kazandırılması gerekmektedir. Ülkemizde bugüne kadar birçok kalıntı analiz çalışması yapılmasına rağmen, çok sayıda pestisid ve ürünü içeren Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS)'nde çoklu kalıntı analiz yöntemleri geliştirilmemiş, GC/MS'e nazaran doğruluğu daha düşük olan yöntemler (ince tabaka kromatografisi, kolon Kromatografisi) kullanılmıştır.

Çalışmamızda, katı faz mikroekstraksiyon yöntemi ile organoklorlu pestisid karışımının çilek ve salatalık ortamında tayin edilebildiği doğru, güvenilir ve kolay uygulanabilir bir analitik metot uygulanmıştır. γ -BHC, α -BHC, β -BHC, δ -BHC, Heptaklor, Aldrin, Heptaklor-endo-epoksit, α - β -Endosulfan, 4,4'-DDE, Dieldrin, Endrin, 4,4'-DDD, 4,4'-DDT, Endrin aldehit, Endosulfan sülfat, Endrin keton ve Metoksiklorun çoklu kalıntı analizi olarak çilek ve salatalık tayinine dair GC-MS ile ilgili literatüre rastlanmadı.

Geliştirilen analitik metodun validasyonu yapıldı, γ -BHC için tespit alt sınırı 0,0005 ppm; α -BHC için 0,0005 ppm; β -BHC için 0,0005 ppm; δ -BHC için 0,0005 ppm; Heptaklor için 0,0025 ppm; Aldrin için 0,001 ppm; Heptaklor-endo-epoksit için 0,0025 ppm; α - β -Endosulfan için 0,001 ppm; 4,4'-DDE için 0,00005 ppm; Dieldrin için 0,00005 ppm; Endrin için 0,00001 ppm; 4,4'-DDD için 0,0005 ppm; 4,4'-DDT için 0,0005 ppm; Endrin aldehit için 0,00001 ppm; Endosulfan sülfat için 0,001 ppm; Endrin keton için 0,00025 ppm ve Metoksiklor için 0,0025 ppm bulundu.

Haziran, 2013

Prof.Dr. Adnan AYDIN

Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ

SEMBOLLER

DT_{50}	: Yarılanma Ömrü
K_d	: Dağılma Katsayısı
K_{oc}	: Organik Karbon Sorpsiyon Katsayısı
K_{ow}	: Oktanol/Su Ayrılma Katsayısı
mPa	: Millipaskal

KISALTMALAR

AED	: Atomik Emisyon Dedektörü
BHC	: Hekzaklorosikloheksan
CAC	: Kodeks Alimentarius Komisyonu
CW	: Karbovaks
DDT	: Diklor Difenik Trikloroetan
DDD	: 1,1-dikloro-2,2bis(p-klorofenil)etan
DDE	: 1,1-dikloro2,2-bis(p-klorofenil) etilen
DDV	: Divinil Benzen
EPA	: ABD Çevre Koruma Ajansı
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
FID	: Alev İyonizasyon Dedektörü
FSOT	: Eritilmiş Silikadan Yapılan Kolonlar
GAP	: İyi Tarım Uygulamaları
GC/ECD	: Gaz Kromatografisi/Elektron Yakalama Dedektörü
GC/NPD	: Gaz Kromatografisi/ Azot Fosfor Dedektörü
LLE	: Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon
LOD	: En Düşük Tespit Limiti
MCPA	: 4-Kloro-2-metilfenoksi)asetik asit
MRL	: Maksimum Kalıntı Limiti
NPD	: Nitrojen Fosfor Dedektörü
PDMS	: Polidimetil Siloksan
PFE	: Basıncılı Akışkan Ekstraksiyonu
PID	: Fotoiyonizasyon Dedektörü
SCOT	: Dolgulu Açık Tüplü Kolonlar
SFE	: Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyonu
SPE	: Katı Faz Ekstraksiyon

SPME	: Katı Faz Mikroekstraksiyon
TCD	:Termal İletkenlik Dedektörü
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
WCOT	: Açık Tüplü Kolonlar
2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksiasetik asit

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>SAYFA</u>
Şekil 1.1 Pestisit Gruplarına Göre Dünyada Tarım İlacı Kullanımı.....	6
Şekil 1.2 Pestisit Gruplarına Göre Türkiye’de Tarım İlacı Kullanımı	7
Şekil 1.3 Pestisitlerin Topraktaki Davranışı	8
Şekil 1.4 Kuadrupol İyon Kapanı İçin İki Şematik Diyagram	43
Şekil 1.5 Supelco Tarafından Geliştirilen Ticari SPME Aygıtı	46
Şekil 1.6 Direkt Daldırma ve Tepe Boşluğu Metodu, Örneklerin Fibere Ekstraksiyonu.....	49
Şekil 1.7 Tepe Boşluğu-SPME ve Direkt Batırma-SPME yoluyla ekstraksiyon prosesi ve GC ve HPLC analizleri için desorpsiyon sistemi	50
Şekil 1.8 SPME’de Kullanılan Polimerik Sabit Faz.....	52
Şekil 2.1 Agilent 5975C İnert GC-MS Genel Görünümü	58
Şekil 2.2 SPME Yöntemi Kullanarak Pestisitlerin Meyve ve Sebzelerdeki Analiz Akış Şeması.....	59
Şekil 3.1 Desorpsiyon Sıcaklığının Etkisi	62
Şekil 3.2 Organoklorlu Pestisit mix.2’nin Optimum Şartlar Altında GC-MS’deki Kromatogramı.....	62
Şekil 3.3 Metanol:Su Oranının Etkisi.....	64
Şekil 3.4 83.3 ng/mL Organoklorlu Pestisit mix.2 İçeren Çilek Örneğinin Optimum Şartlar Altında GC-MS’deki Kromatogramı.....	65
Şekil 3.5 416 ng/mL Organoklorlu Pestisit mix.2 İçeren Çilek Örneğinin Optimum Şartlar Altında GC-MS’deki Kromatogramı.....	65
Şekil 3.6 83.3 ng/mL Organoklorlu Pestisit mix.2 İçeren Salatalık Örneğinin Optimum Şartlar Altında GC-MS’deki Kromatogramı.....	66
Şekil 3.7 416 ng/mL Organoklorlu Pestisit mix.2 İçeren Salatalık Örneğinin Optimum Şartlar Altında GC-MS’deki Kromatogramı	66

Şekil 3.8 Ekstraksiyon Süresinin Etkisi.....	67
Şekil 3.9 Ekstraksiyon Sıcaklığının Etkisi	68
Şekil 3.10 Karıştırma Hızının (rpm) Etkisi	69

TABLO LİSTESİ

	<u>SAYFA</u>
Tablo 1. 1 Diğer Çalışmalarla Karşılaştırma	4
Tablo 1. 2 Organik Kimyasalların Çevrede Hareketleri Ve Davranışları	10
Tablo 1. 3 Pestisitlerin Farklı Ortamlarda Dağılım Yüzdesi	11
Tablo 1. 4 Pestisitlerin Su Ortamına Taşınma Yolları.....	13
Tablo 1. 5 Pestisitler Olarak Kullanılan Bileşiklerin Ana Türleri	16
Tablo 1. 6 Uçuculuk Ve Henry Kanunu Sabiti İçin Değerlendirme Ölçeği.....	17
Tablo 1. 7 Organoklorların Yapısal Sınıflandırması	20
Tablo 1. 8 Aldrin'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	22
Tablo 1. 9 Dieldrin'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	23
Tablo 1. 10 α -BHC'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	2323
Tablo 1. 11 β -BHC'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	24
Tablo 1. 12 γ -BHC'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	24
Tablo 1. 13 δ -BHC'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	25
Tablo 1. 14 p,p'-DDT Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	25
Tablo 1. 15 p,p'-DDE Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	2626
Tablo 1. 16 p,p'-DDD Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	26
Tablo 1. 17 α -Endosulfan Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	27
Tablo 1. 18 β -Endosulfan Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	27
Tablo 1. 19 Endosulfan Sülfat Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	28
Tablo 1. 20 Endrin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	2828
Tablo 1. 21 Endrin Aldehit Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	29
Tablo 1. 22 Endrin Keton Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	29
Tablo 1. 23 Heptaklor Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	30
Tablo 1. 24 Heptaklor Endo-Epoksit (İzomer A) Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .	30
Tablo 1. 25 Metoksiklor Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	31
Tablo 1. 26 Kromatografide Kolonun Ayırma Gücünü Artıran Faktörler	38
Tablo 1. 27 Tipik Bazı Gaz Kromatografisi Dedektörleri ve Algılama Limitleri	41

Tablo 1. 28 SPME’de Kullanılan Fiberlerin Genel Özellikleri	51
Tablo 1. 29 Ticari SPME Fiberlerin Özellikleri	53
Tablo 3.1 GC-MS’de Lineer Aralık, Regresyon Katsayısı ve %RSD	63
Tablo 3.2 Çilek ve Salatalık örneklerinde Geri Kazanım % ve LOD	70

1. GİRİŞ

Sebze ve meyvelerdeki hastalık ve zararlılarla mücadele amacıyla kullanılan pestisidlerin insan sağığına olan zararlı etkileri bilinmektedir. Bu nedenle birçok ülke gıda maddelerinde müsaade edilebilen maksimum kalıntı limitleri (MRL) oluşturma çalışması içindedirler. Bu kapsamda, pestisid kalıntı analizleri üzerinde yoğun metot geliştirme ve uygulama da olan denetim çalışmaları sürdürülmektedir.

Günümüzde bitki koruma ürünleri, tarımsal üretimde sağladığı artışla önemli bir girdi oluştururken, aynı zamanda bilinçsiz kullanım nedeniyle, meydana getirdiği kalıntı sorunu ile giderek sağlığımızı etkilemektedir. Bu nedenle de zaman zaman bazı ilaçlar yasaklanmaktadır. Genellikle bitkiler ve bitkisel ürünler üzerinde az ya da çok pestisid kalıntısı bulunmaktadır.  r n üzerinde veya içinde bulunan pestisid ve/veya pestisid türevlerine “pestisid kalıntısı” denmektedir. Pestisid kalıntıları, kendi kimyasal yapıları veya metabolitleri halinde bulunabilmektedir.  nemli olan kalıntının miktarıdır.

İyi tarım uygulamaları (GAP- Good Agricultural Practices) sonucu gıdalarda, tarımsal ürünlerde veya hayvansal yemlerde yasal olarak bulunmasına izin verilen en yüksek pestisid kalıntı miktarı MRL olarak tanımlanmakta ve 1 kg üründe bulunmasına izin verilen mg aktif madde (mg a.m./kg ürün, ppm) olarak ifade edilmektedir. Dünya Sağlık  rg t  (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO)’nun bünyesinde bulunan Kodeks Alimentarius Komisyonu (CAC), ABD  evre Koruma Ajansı (EPA), AB Komisyonu gibi kurumlar tarafından limitler belirlenmekte ve yönetmelikler düzenlenmektedir. Ülkemizde TKB pestisid kalıntı limitleri, Türk Gıda Kodeksi (TGK) ile ortaya konmuş, özellikle AB uyum çalışmaları gereği uyumlu hale getirmekle yükümlü olduğumuz konulardan biri olan limitlerin uyumlu hale getirilmesi gereği, AB pestisid kalıntı limitlerinin büyük bir kısmı alınarak, 11.01.2005 tarih ve 25657 Sayılı Resmi Gazete ’de yasal limitlerimizin en son hali yayınlandı.

Kalıntı miktarları milyonda kısım (ppm), milyarda kısım (ppb) gibi oldukça düşük düzeylerde bulunduğu için kalıntı analizleri, zahmetli, pahalı, bilgi ve deneyim gerektiren analizlerdir. Tarımsal  r nlerin üretiminden tüketime kadar geçen her safhada pestisid kalıntılarının kontrol ve denetimlerinin yapılması gerekmekte, bunun

için de güvenilirliği yüksek, kolay ve hızlı analiz metotlarının kullanılmasına acilen ihtiyaç duyulmaktadır.

1.1. Tezin Amacı

Ülkemizde meyve ve sebzelerde kullanımı olan pestisid kalıntılarının Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS)'nde tespit edilebilmesi için kolay, hızlı, ucuz ve güvenilir bir örnek hazırlama yöntemi oluşturmak çalışmanın amaçlarından birini oluşturmaktadır. Elde edilen örnek ekstraktlarındaki pestisid kalıntılarının Katı Faz Mikroekstraksiyon (SPME) ile alınması ve nicel analizi için oklu Kalıntı Analiz Yöntemi geliştirilmesi çalışmanın diğer bir amacı olup, böylece ülkemiz için önemli bir eksiklik olan kalıntı izleme programlarının uygulanabilirliğinde, bu çalışma önemli olacaktır. Çalışmanın sonucunda elde edilecek veriler, hassas kalıntı analizi tayininde önemli yer tutacaktır.

1.2. Literatür Araştırması

Çalışmada SPME metodu ile GC/ECD (Gaz Kromatografi/Elektron Yakalama Dedektörü) kullanılarak sebzelerdeki pestisid kalıntılarının analizi yapıldı. Salatalık ve domates örneklerinde 9 tür (karbaril, diazinon, klorotalonil, malation, klorpirofos, quinalfos, profenofos, α -endosulfan, β -endosulfan) pestisidin analizi yapıldı. Çalışmada 100 μ m kalınlığında PDMS fiber kullanıldı. Ekstraksiyon 15 dk. oda sıcaklığında yapıldı. Desorpsiyon 240 $^{\circ}$ C 7 dk. yapıldı. Çalışmanın r^2 si ($r^2>0.9900$) aralığındadır [1].

Çalışmada, suda farklı tiplerdeki pestisidlerin SPME metodu ile GC-MS'de optimizasyonu ve validasyonu incelendi. 46 çeşit pestisid (organoklorlu, organofosforlu, trizain, piretroid ve diğerleri) analiz edildi. Çalışmada 60 μ m PDMS/DVB (Polidimetiksiloksan/Divinilbenzen) fiber kullanıldı. Ekstraksiyon 60 $^{\circ}$ C de 45 dk. yapıldı. Cihaza 250 $^{\circ}$ C de 5 dk. desorbe edildi. Çalışmanın r^2 si ($r^2>0.9900$) aralığındadır [2].

Çalışmada, sebze örneklerinde piretroid kalıntısı SPME yöntemi ile GC-MS de tayin edildi. 7 tip piretroid (bifentrin, lambda-sihalotrin, permetrin, siflutrin, sipermetrin, fenvelerat ve tau-fluvalinat) insektisit incelenmiştir. Çalışmada direkt batırma yöntemi ile 65 μ PDMS/DVB kullanıldı. Ekstraksiyon 30 dk. 40 $^{\circ}$ C de 120

rpm’de yapıldı. Cihaza 270 °C de 5 dk. desorbe edildi. r^2 değerleri 0.97-0.99 arasındadır [3].

Çalışmada, sebze örneklerinde 6 tip pestisid karışım çözeltisinin GC/NPD, GC/ECD ve GC-MS’de analizi yapıldı. Çalışmada 2 farklı tip fiber (100 µm PDMS ve 65 µm CW/DVB) kullanıldı. Ekstraksiyon 50 dk. oda sıcaklığında yapıldı. Desorpsiyon 250 °C de 3 dk. yapıldı. Çalışmanın r^2 si ($r^2>0.9900$) aralığındadır [4].

Çalışmada, su örneklerinde α -endosulfan, β -endosulfan, esfenvalerat, bromopropilat, tetradifon, bifetrin, dikofol, fluvalinat, trifluralin, ofurace, kuinoksfen, λ -sihalotrin, γ -klordan, klozolinat, heptaklor, akrinatri, δ -HCH pestisidleri GC-ECD’de analizlendi. Çalışmada 100 µm PDMS fiber kullanıldı. Ekstraksiyon 960 rpm’de, oda sıcaklığında 60 dk. yapıldı. Desorpsiyon 250 °C de 5 dk. yapıldı [5].

Çalışmada, 8 fungusid (vinklozolin, prosmidon, iprodion, penkonazol, fenarimol, folpet, nuarimol ve kesakonazol), 1 insektisit (klorpirofos) ve 2 akarısıd (bromoprofilat ve tetradifon) üzüm suyu ve şarap örneklerinde çalışıldı. Çalışmada 100 µm PDMS fiber kullanıldı. Ekstraksiyon 45 °C de 30 dk. yapıldı. Desorpsiyon 250 °C de 3 dk. yapıldı [6].

Çalışmada, Atrazin, asetoklor, klomazon, pendimethalin ve oksifluorfen’in topraktan SPME metodu ile analizi çalışıldı. Çalışmada 100 µm PDMS fiber kullanıldı. Ekstraksiyon oda sıcaklığında 30 dk. yapıldı. Desorpsiyon 270 °C de 7 dk. yapıldı. Çalışmanın r^2 si ($r^2>0.9900$) aralığındadır [7].

Çalışmada, bazı insektisitlerin (Diazinon, fenitrotrion, fenthion, parathion etil, bromofos metil, bromofos etil, ethion) tepe boşluğu SPME yöntemi ile çilek ve kiraz suyunda analizi yapıldı. Çalışmada 100 µm PDMS fiber, 85 µm PA, 65 µm PDMS/DVB, 65 µm CW/DVB bir arada çalışıldı. Ekstraksiyon 75 °C de 45 dk. yapıldı. Desorpsiyon 240 °C de 2 dk. yapıldı. Çalışmanın r^2 si 0.986-0.999 arasındadır [8].

Çalışmada, SPME tekniği ile çilekteki pestisid (methiokarb, napropamid, fenoksikarb, bupirimat) kalıntılarının analizi hem HPLC hem de GC ile yapıldı. Çalışmada 60 µm PDMS/DVB fiber kullanıldı. Ekstraksiyon oda sıcaklığında de 45 dk. 1000 rpm de yapıldı. Çalışmanın r^2 si ($r^2>0.9900$) aralığındadır [9].

Tablo 1.1 Diğer çalışmalarla karşılaştırma

Pestisid Sınıfı	Matriks	SPME Modu	Fiber Tipi	Eks. Süresi (dk.)	Eks. Sıcaklığı (°C)	Karıştırma Hızı (rpm)	Desorp. Süresi (dk.)	Desorp Sıcaklığı (°C)	LOQ	LOD	Recovery (%)	Lineerlik	R ²	Dedektör	Kaynak
OCP, OPP ve CP	Domates ve Salatalık	Direkt Daldırma	100 µm PDMS	15	25	r.e.	7	270	r.e.	1-10 ng/g	53-82	0.011-200 µg/g	>0.992	ECD	16
OPP ve OCP	Çilek, Domates ve Salatalık	Tepe boşluğu	100 µm PDMS	30	60	800	10	240	7-297 µg/L	0.01-1 µ/L	77.3-93.3	0.1-5000 µg/L	>0.996	ECD	17
OPP ve OCP	Salatalık, Çilek ve Domates	Tepe boşluğu	100 µm PDMS	60	30	r.e.	15	240	r.e.	r.e.	70-99	1-400 mg/kg	>0.990	ECD	18
OPP ve OCP	Salatalık ve Çilek	Direkt Daldırma	100 µm PDMS	30	60	800	10	240	0.05-0.5 µg/L	0.01-0.1 µg/L	90.7-93.3	r.e.	0.9974-0.9960	ECD	19
OCP	Salatalık ve Çilek	Direkt Daldırma	60 µm PDMS/ DVB	60	25	450	10	250	-	0.245 - 0.493 µg/L	% 63-99	0.00001-1 mg/L	0.92-0.99	ECD	Bu Çalışma

r.e.: Rapor edilmemiş

OPP: Organofosforlu pestisidler

OCP: Organoklorlu pestisidler

1.3. Genel Bilgiler

1.3.1. Pestisidler

1.3.1.1. Pestisidlerin kullanımı

Artan nüfus ile üreticiler, doğal yollardan daha az ürün elde etmekten çok, çeşitli kimyasal maddeler (katkı maddeleri, pestisidler) kullanarak daha fazla ürün elde ederek daha çok kazanmak gayesine düşmüştür. Gıdaların üretimi sırasında onların raf ömrünü uzatmak, mikroorganizmaların zararlarından korumak, oksitlenmesini engellemek vb. sebepler için katkı maddeleri kullanılırken, tarımsal sorun olan hastalık, zararlı ve yabancı otların olumsuz etkilerinden ekonomik olarak korunabilmek için pestisidler ya da diğer bir deyişle bitki koruma ürünleri kullanılmaktadır.

Kimyasal savaşında kullanılan bitki koruma ürünlerinin, doğru, bilinçli, güvenli ve tavsiye edildiği gibi kullanılması gerekmektedir. Bu şekilde kullanım ile ilaçlar sadece hedef etmene etki göstermekte, çevre ve insan sağlığı açısından da herhangi olumsuz bir duruma sebep olmamaktadır. Ancak üreticilerin, bitki koruma ürünlerini, bilinçsizce ve aşırı kullanımları sonucunda, dirençli popülasyonlar oluşmakta, doğal düşmanlar olumsuz etkilenmekte ve çevre ve insan sağlığı açısından da zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır.

1.3.1.2. Pestisidlerin tarihçesi

Pestisidlerin kullanımı çok eski tarihlere dayanmaktadır. Kutsal sayılan bazı tuzların, fethedilen yerlerin küllerinin “non-selective” herbisit olarak M.Ö. 1200 yılında kullanıldığı, kükürdün insektisit ve fungusit özelliğinin M.Ö. 1000 yılında keşfedildiği “Hellebore” adlı bitkilerin fare, sıçan ve böceklerin kontrolü için M.Ö. 100 yılında kullanıldığı bilinmektedir. “Arsenik” M.S. 900 yılında Çinliler tarafından böceklere karşı; “Mineral yağ” M.S. 1300 yılında develere “Uyuz hastalığına” karşı kullanıldı. Tütün ekstraktlarının M.S. 1690’da kontak insektisit olarak, dumanlarının ise M.S. 1773’de fumigant olarak kullanıldığı literatürde yer almaktadır.

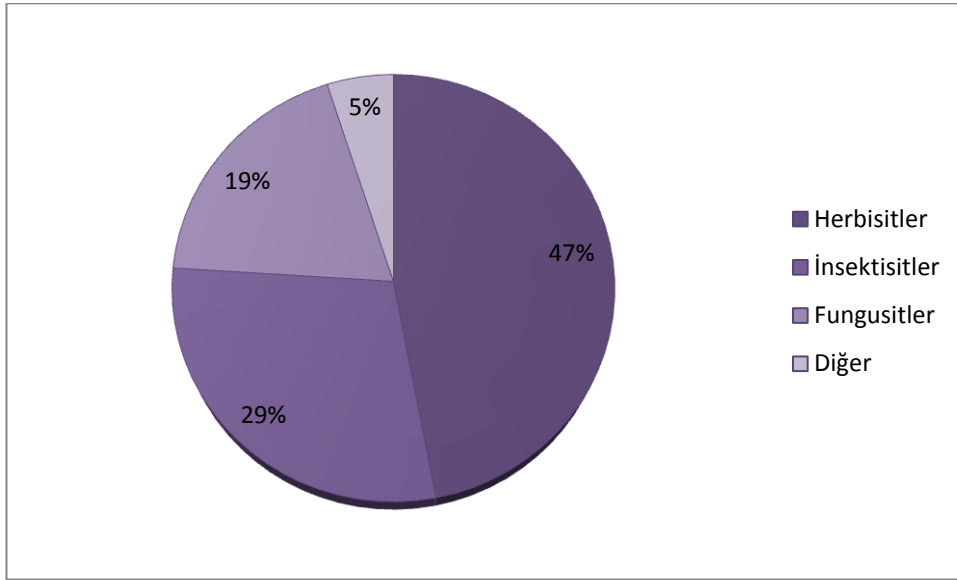
İlk pestisidler fungusit olarak kullanılan kükürt ve yine fungusit ve insektisit olarak kullanılan arsenik, bakır ve demirin basit tuzları gibi inorganik maddelerdir.

Organik bileşikler olarak ilk olarak bitki ekstraktları olan derris, nikotine ve piretrum kullanıldı. Bu pestisidlerden birçoğu yüksek düzeyde toksiktirler ve kullanımları tehlikelidir.

Pestisidlerin sayısı ve kompleksliği yıllar boyunca hızla arttı. İnsektisit olan DDT ve HCH ile hormon karakterli olan herbisitlerden 2,4-D ve 4-Kloro-2-metilfenoksiasetik asit (MCPA) 1940 yılların sonunda kullanılmaya başlandı. Bunları 1950’li yıllarda dieldrin ve aldrin gibi insektisitler takip etti [10].

1.3.1.3. Dünyada pestisid kullanımı

Dünyada tarım ilacı üretimi 3 milyon ton civarındadır (Delen, 2008). Herbisitler tarım ilaçları içinde %47’lik bir pay ile birinci sırayı almaktadır. Bunu %29 ile insektisitler izlemekte, fungusidler ise %19’luk bir payı bulunmaktadır (Şekil 1.1).

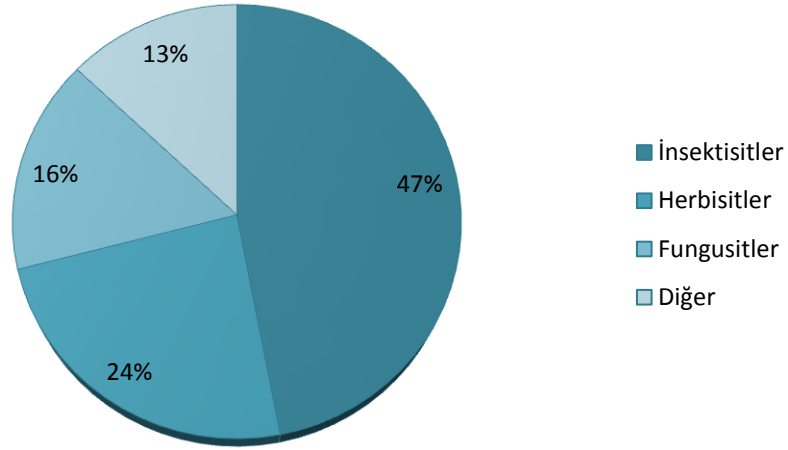


Şekil 1. 1 Pestisid gruplarına göre dünyada tarım ilacı kullanımı

Dünya pestisid pazarının değeri yaklaşık 30 milyon Euro’luk bir pazardır (CPA, 2000a). Herbisitler ve insektisitler en yaygın kullanılan formülasyonlardır. Kullanılan pestisidlerin % 60’dan fazlası sebzeler, hububat ekiliş alanlarında kullanılmaktadır. Global kullanımın %55 i Kuzey Amerika ve Batı Avrupa da kullanılmaktadır, ancak Doğu Avrupa’da da dikkate değer bir artış gözlenmektedir.

1.3.1.4. Türkiye’de pestisid kullanımı

Türkiye’de tarım ilacı tüketimi ortalama 33.000 tondur. Bu miktarın %47’sini insektisitler, %24’ünü herbisitler, %16’sını fungusidler, %13’ünü de diğer gruplar oluşturmaktadır (Şekil 1.2).



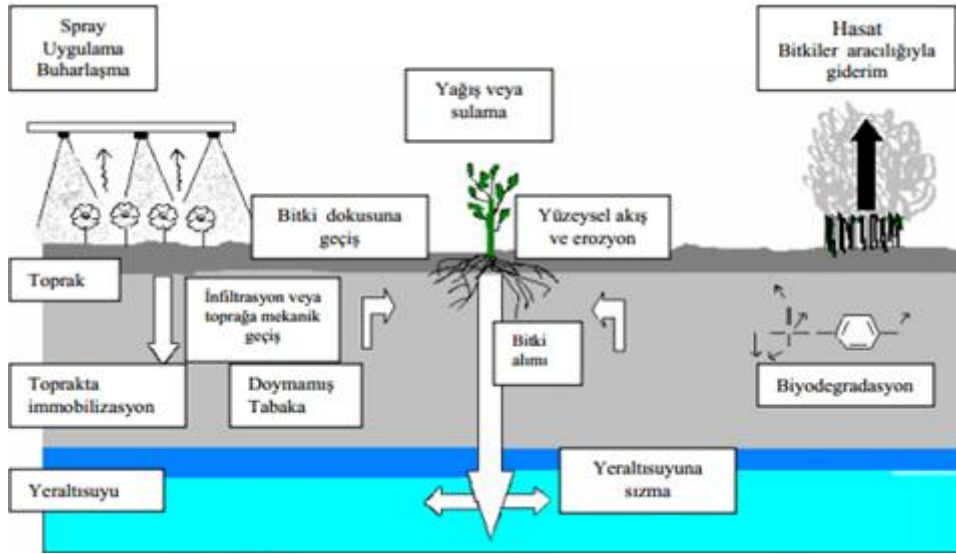
Şekil 1.2 Pestisid gruplarına göre Türkiye’de tarım ilacı kullanımı

Ülkemizde pestisid tüketimi, AB ülkeleri ile kıyaslandığında, hektara düşen pestisid miktarı olarak AB ülkelerinin oldukça gerisinde olduğu görülmektedir. Hektara kullanılan pestisid miktarımız 1990’larda 400-500 g iken, 2006 yılında 705 g’a ulaştı [10].

1.3.1.5. Pestisidlerin çevredeki davranışları

Pestisidler bir bölgeye uygulandıktan sonra çok farklı davranışlar sergileyebilir (Şekil 1.3). Bir kısmı buharlaşarak atmosfere geçebilir, bir kısmı akış ve erozyonla yüzeysel sulara taşınabilir veya güneş ışığı ile fotodegradasyona uğrayabilir. Toprağa geçen pestisid bitkiler tarafından alınabilir, diğer kimyasal formlarına biyolojik olarak ayrışabilir ya da bitki kök bölgesinin altındaki su ile birlikte derinlere sızabilir. Buharlaşan, sızan, degrade olan veya yüzeysel akış içerisinde yer alan belirli kimyasal madde miktarları, bölge şartlarına, iklime, yönetim yaklaşımlarına, toprak ve pestisid özelliklerine bağlıdır. Fizikokimyasal özelliklerine, kullanım biçimlerine, bölgesel şartlara bağlı olarak bazı pestisidler, kök bölgesi doğrultusunda sızabilmekte ve belirli

alanlarda yer altı sularını kirletebilmektedirler. Bir pestisidin yer altı suları için tehdit oluşturabilme durumunu etkileyen en önemli 2 özelliği, topraktaki kalıcılığı ve hareketliliğidir. Bir pestisidin kalıcılığı onun kimyasal veya biyolojik degradasyona uğrayıp uğramamasına bağlıdır. Pestisidlerin yer altı sularını kirletme potansiyelini etkileyen diğer ana faktör, pestisidin hareketliliğidir. Hareketliliği etkileyen şartlar; toprağın hacimsel yoğunluğu, su ve organik karbon içerikleri, fazla sulama ve yağış miktarı ve pestisidin tutulma derecesi gibi özellikleridir.



Şekil 1.3 Pestisidlerin topraktaki davranışı

Pestisidlerin çevredeki davranışlarını ve sonlarını belirleyen birçok faktör vardır. Pestisidler çevrede değişik düzeylerde biyolojik ve kimyasal parçalanmaya maruz kalmaktadır. Genel olarak doğal orjinli pestisidler güneş ışığında hızla parçalanmaktadır. Bunun aksine birçok sentetik pestisid yüksek düzeyde kalıcıdır. Bazı pestisidler parçalandıklarında ana bileşikten çok daha tehlikeli ürünlere dönüşebilmektedirler. Pestisidlerin çevredeki davranışlarını tahmininde kullanılabilecek pratik bir indikatör, onların suda çözünübilirlikleri ve dağılım katsayıları (K_{ow}) dır. Eğer K_{ow} değerinin logaritması yüksekse bu o kimyasalın hidrofobik olduğunu ve organik moleküllere kolayca bağlanabileceğini gösterir. Dağılım katsayısı değeri 7 den büyük olan bileşikler agroekosistemde çok fazla hareketli değildirler ve organik moleküllere kolayca bağlanarak toprak veya sediment tabakasında birikebilmektedir. Buna karşılık dağılım katsayısı 4-7 arasında olan kimyasallar lipofilik özelliktedir ve bu bileşikler yağlı dokularda kolaylıkla birikmektedir. Eğer biyolojik birikim olursa bunun sonucu olarak besin zincirine taşınma ve bu yolla yüksek canlıların bu kimyasallardan

etkilenmesi kolaylaşmaktadır. İnorganik pestisidler çevrede uzun süre kalıcı özelliktedirler. Mesela bakırlı fungusitlerin sık kullanmasıyla agroekosistemdeki birikimler sonucunda ürünlerde toksisite, faydalı toprak organizmalarında azalma ve ürün kayıpları ortaya çıkabilmektedir.

Bu nedenle genelde K_{ow} değeri büyüdükçe biyokonsantrasyon riski artmasına, suda çözünürlük arttıkça biyokonsantrasyon riski azalmasına rağmen diğer faktörleri de dikkate almak gerekmektedir. Bunlar arasında ilacın degradasyonu ile kullanım sıklığı son derece önemli iki faktördür.

Organik kimyasalların davranışını ve hareketini kontrol eden transfer ve bozunma olayları Tablo 1.2’de sıralandı. Fiziksel sürüklenme genellikle pestisidin uygulanması sürecinde söz konusudur. Ancak şiddetli rüzgârlarda veya yağışlarla pestisidlerin bitkilerden yıkanması durumlarında da görülebilir. Trifluralin gibi bazı kimyasallar toprak partiküllerine çok sıkı adsorbe olduğundan, aşırı sulama işlemi dahi degrade olmadan önce bunları toprak kök bölgesinin altından hareket ettirememektedir. Ters olarak triazin herbisitleri gibi birçok kimyasal madde toprağa kuvvetli adsorbe olamaz ve toprağa aşırı sulama uygulandığı taktirde degrade olmadan önce kök bölgesinin altında sızma özelliği gösterebilir. Vischetti ve ark. (2002), iki ayçiçeği herbisitinin (metobromuron ve aklonifen) topraktaki davranışı üzerinde laboratuvar ve arazi çalışması yapmışlardır. Bu araştırmada farklı inkübasyon şartlarında metobromuron ve aklonifen yarılanma ömürlerinin sırasıyla 19 ila 44 ve 40 ila 49 gün aralığında değiştiği ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, test edilen deneysel şartlarda, her iki ayçiçeği herbisitinin de yer altı suyu kirliliği için gerçek bir tehlike arz etmediği vurgulanmıştır.

Tablo 1.2 Organik kimyasalların çevrede hareketleri ve davranışları

PROSES	SONUÇ	FAKTÖRLER
TRANSFER (YAPILARI DEĞİŞMEYEN ORGANİK KİMYASALLARIN TAŞINIM PROSESLERİ)		
Fiziksel Sürüklenme	Rüzgâr sebebiyle organik kimyasalın hareketi	Rüzgar hızı, püskürtme ucu büyüklüğü, fiziksel objelere uzaklığı
Buharlaştırma	Toprak, bitki ve sucul ekosistemlerden buharlaşma ile organik madde kaybı	Buhar basıncı, rüzgar hızı, sıcaklık
Adsorpsiyon	Bitki, toprak ve sedimentlerin birbirleriyle etkileşimi sonucu kimyasal maddenin kaybı	Kil ve organik madde içeriği, kil tipi, nem
Absorpsiyon	Organik kimyasalın bitki kökleri ve hayvanlar tarafından alınması	Hücre membran geçişi, etki süresi
Sızma	Organik kimyasalın toprak içerisinde yatay veya dikey yönde yer değiştirmesi	Su içeriği, makroporlar, toprak tekstürü, kil ve organik madde içeriği
Erozyon	Organik kimyasalın su veya rüzgârla taşınımı	Yağış, rüzgâr hızı, kil ve üzerlerine absorbe olan organik kimyasallarla birlikte organik madde parçacıklarının boyutu
DEGRADASYON (KİMYASAL YAPISI DEĞİŞTİREN PROSESLER)		
Fotokimyasal	Güneş ışığı (Ultraviyole ışık) ile organik kimyasalların ayrışması	Organik kimyasalın yapısı, güneş ışığının şiddet ve sürekliliği, maruz kalma
Mikrobiyal	Organik kimyasalların mikroorganizmalar aracılığıyla parçalanması	Çevresel faktörler (pH, nem, sıcaklık) besin maddesi durumu, organik madde içeriği
Kimyasal	Organik maddenin hidroliz, redoks reaksiyonları gibi kimyasal reaksiyonlarla değişimi	Yüksek ve düşük pH, mikrobiyal degradasyon ile aynı faktörler
Metabolizma	Organik kimyasalın bitkiler ve hayvanlar tarafından absorbe edilmesi sonrası kimyasal geçişi	Absorbe edilebilme durumu, organizma metabolizması, organizmadaki etkileşimler

Genellikle kullanılan pestisid miktarının %0,015 - %6'sı hedef canlıya ulaşırken diğer kısmı ekosisteme karışmaktadır. Pestisidlerin bazıları toksikolojik açıdan bir zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturunca etkileri saptandı. Dünyada da pestisidlerin yararlı fauna üzerindeki olumsuz etkilerini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunun sonucu olarak zararlılar kontrolsüz olarak çoğalmakta ve bu da ekstra savaşıma ve savaşım maliyeti artışına neden olmaktadır. Yine yoğun kullanılan ilaçlar ortamda bulunan diğer türleri de öldürdüğü için doğada denge bozulmaktadır. Pestisidlerin farklı ortamlardaki dağılım yüzdesi Tablo 1.3. 'de verildi.

Tablo 1. 3 Pestisidlerin farklı ortamlarda dağılım yüzdesi

		Pestisid Birikim Yüzdesi (%)	Toplam (%)
ORTAM	Karasal ve Kıyusal Su Ortamları	Hava	0.13
		Akarsu	0.94
		Deniz suyu	0.64
		Toprak	0.64
		Sediment	34.73
		Biyota	1.15
	Okyanuslar	Hava	0.21
		Deniz suyu	61.45
		Sediment	0.03
		Biyota	0.07

Tarımsal alanlara, orman veya bahçelere uygulanan pestisidler havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşüme uğramaktadır. Bir pestisidin çevredeki hareketlerini onun kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon tipi, uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir. Pestisidlerin çevresel etkilerini değerlendirirken kimyasal maddelerin dayanıklılık süresine göre yapılan sınıflandırma daha önemli olmaktadır. Pestisidlerin dayanıklılık sürelerine göre yapılan bu sınıflandırmaya göre dayanıklı olanlar (2-5 yıl), orta dayanıklı olanlar (1-18 ay), dayanıksız olanlar (1-2 hafta) çevrede bozulmadan kalabilmektedir. Ekosisteme geçen pestisidlerin çevresel etkileri aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

1.3.1.6. Toprakta pestisid kalıntıları

Toprak ekosistemin her parçasında yer almakta olup, canlı doğal kaynakların varlıklarını sürdürebilmesi için, hava ve su ile birlikte vazgeçilmez cansız doğal bir kaynaktır. Toprak ayrıca, su kaynaklarının potansiyelini koruma, flora ve faunayı barındırma ve ekolojik dengenin sağlanması açılarından temel çevre ögesidir. Pestisidler doğrudan bitki üzerine, toprağa ve tohumluğa uygulanır. Her nereye uygulanırsa uygulansınlar sonuçta önemli bir bölümü toprakta kalır. Eğer uygulanan pestisid kalıcı ise çevre yönünden çok büyük sakıncalara yol açar. Pestisidler, mikroorganizmaların biyokimyasal etkileri sonucunda, hidroliz ve oksidasyonla bozulup, çözünebilir bileşikler oluşturarak, karbon gazı ve amonyak (NH_3) çıkartıp basit bir mineral yapıya dönüşmek suretiyle toprakta yayılırlar.

Pestisidlerin fizikokimyasal özelliklerinden tutulma katsayısı ile dağılma katsayısı (K_d) topraktaki davranışını etkileyen önemli özelliklerdir. Özellikle bu husus toprak kökenli zararlılar ile sistematik olan ve bitki kökleri vasıtasıyla alınıp emici böceklerle karşı etkili olan ilaçlarda önem kazanır.

K_d değeri 40'a kadar olan ilaçlar toprak uygulamaları için ideal kabul edilmektedir. Hava/su dağılma katsayısı düşük olan pestisidler özellikle kurak koşullarda daha düşük etki gösterme eğilimindedirler. Fumigant etki için dağılma katsayısının >0.01 olması ve toprakta tutulma katsayısının ise kısıtlı olması gereklidir.

Toprağa atılan veya toprağa ulaşan etkili maddenin topraktaki davranışını bilmek çok önemlidir. Çalışmalar genel olarak DT_{50} ve K_d olmak üzere iki aşamalı olarak yürütülmektedir [11].

1.3.1.7. Tutulma katsayısı (K_d)

Öncelikle etkili maddenin ve metabolitlerin tutulma katsayısı (K_d) belirlenir. Bu katsayı, toprak yüzeyindeki tutunmanın, tutulan miktarın salınışına oranlanması (adsorpsiyon/desorpsiyon) ile saptanır. Bu çalışmalar laboratuvar koşullarında 3 veya 4 farklı toprak tipinde, organik madde içeriği ve pH'sı farklı olan topraklarda yapılır. Bu katsayının önemi topraktaki mineral maddelerle, organik madde arasındaki moleküler düzeydeki etkileşimdir.

1.3.1.8. Yüzey sularında pestisid kalıntıları

Pestisidler su ekosistemine; doğrudan suya uygulama, drenaj veya yüzey sularından, ilaç atık ve artıklarının doğaya atılmalarından, ambalaj malzemelerinin su kaynaklarında yıkanmasından, ilaç kalıntıları içeren bitki ve toprakların su kaynakları ile temasından ve hava sirkülasyonu gibi yollarla taşınmaktadır. Sızan sularla toprağın alt katmanlarına, oradan yeraltı sularına ulaşan pestisid kalıntıları içme suları yoluyla insan sağlığını tehdit eder duruma gelirler. Özellikle toprak tarafından tutulan bu pestisidlerin yağmur suları ve yüzey akışı şeklinde veya toprak içerisinde aşağıya doğru yıkanmak suretiyle taban suyu ve diğer su kaynaklarına ulaşabilmesi birinci sırayı almaktadır. Pestisidlerin su ortamına taşınma yolları aşağıda Tablo 1.4’de özetlendi.

Tablo 1.4 Pestisidlerin su ortamına taşınma yolları

Su Ortamı	Erozyon	Atmosfer	Atıksu
Nehir	++	+	+++
Delta	+	+	++
Göl	++	+	+
Deniz	+	+++	+

Pestisidlerin su ekosisteminde yayılması ortam koşulları, ilacın fiziksel, kimyasal ve formülasyon yapısına bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca, toprak tipi, eğim, bitki örtüsü ve yağış miktarı da pestisidlerin suları kirletmesinde rol oynamaktadır. Bu kirlenme, sularda bulunan canlılar üzerinde akut veya kronik zehir etkisi yapabilir, üreme yeteneklerini olumsuz etkileyerek popülasyonlarında azalmaya neden olabilir.

Uygulama sonrası sürüklenme nedeniyle yüzey sularına ulaşan konsantrasyon “Tahmini Çevre Konsantrasyonu (TÇK)” aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır.

$$TÇK_{SW}(\frac{\mu g}{l}) = \frac{Rxf_d \times 0.01}{10^3 \times h \times 10000} \quad (1.1)$$

f_d = Sürüklenen miktar

h = Su derinliği (m) , R = Uygulama dozu (μg ai/ha)

1.3.1.9. Hava ortamındaki pestisid kalıntıları

Pestisidlerin püskürtülerek uygulanması sırasında bir kısmı evaporasyon ve dağılma nedeniyle kaybolurken, diğer kısmı bitki üzerinde ve toprak yüzeyinde kalmaktadır. Havaya karışan pestisid rüzgârlarla taşınabilir; yağmur, sis veya kar

yağışıyla tekrar yeryüzüne dönebilir. Bu yolla hedef olmayan diğer organizma ve bitkilere ulaşan pestisid, bunlarda kalıntı ve toksisiteye neden olabilir.

Pestisidler, buharlaşarak atmosfere karışırlar. Atmosfer kirliliğine neden olan DDT, aldrin ve metil bromid gibi maddeler geniş alanlarda etkili olmaktadır. Örneğin kutup ayılarında bile DDT kalıntısına rastlandı. Ayrıca ozon deliğinin büyümesinde metil bromidin önemli rolü bulunmaktadır. Pestisidler atmosferden yağmurla tekrar toprağa ve sulara, su canlıları ve balıklara, gıda zinciri ile insanlara ulaşan bir etkileşim döngüsü ortaya çıkarmaktadırlar. Ayrıca her yıl pek çok kuş ve hayvan türü ve bunların yaşam alanları tarım ilaçları nedeniyle yok olmaktadır.

1.3.1.10. Gıdalarda pestisid kalıntıları

Günümüzde bitki koruma ürünleri, tarımsal üretimde sağladığı artışla önemli bir girdi oluştururken, aynı zamanda bilinçsiz kullanım nedeniyle, meydana getirdiği kalıntı sorunu ile giderek sağlığımızı etkilemektedir. Ayrıca tarımsal kimyasalların çevre kirliliğine de neden olması tüm dünya ülkelerinde bunlara karşı bir tedirginlik oluşmuş, daha seçici davranmaya başlamışlardır. Bu nedenle de zaman zaman bazı ilaçlar yasaklanmaktadır. Genellikle bitkiler ve bitkisel ürünler üzerinde az ya da çok pestisid kalıntısı bulunmaktadır. Ürün üzerinde veya içinde bulunan pestisid ve/veya pestisid türevlerine “**pestisid kalıntısı**” denmektedir. Pestisid kalıntıları, kendi kimyasal yapıları veya metabolitleri halinde bulunabilmektedir. Önemli olan kalıntının miktarıdır.

Bu yeni yaklaşımlardan beklenen ise doğruluk, hassasiyet, geniş kullanılabilirlik, ucuz, kesin, hızlı, kolay uygulanabilir olmasıdır. Her ne kadar dünyada yayınlanmış ve geçerlilik kazanmış çoklu kalıntı analiz metotları varsa da; bu metotların ülkesel olarak, ürün ve kullanılan pestisidler açısından değerlendirilmesi ve işlerlik kazandırılması gerekmektedir. Ülkemizde bugüne kadar birçok kalıntı analiz çalışması yapılmasına rağmen, çok sayıda pestisid ve ürünü içeren Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS)’nde çoklu kalıntı analiz yöntemleri geliştirilmemiş, GC/MS’e nazaran doğruluğu daha düşük olan yöntemler (ince tabaka kromatografisi (Tiryaki ve Aysal, 2003), kolon Kromatografisi) kullanılmıştır. Gaz kromatografisi (Burçak, 1998; Cönger, 2001a, Karakaş ve ark, 2005), Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile de çalışmalar yapılmıştır [11].

1.3.1.11. Pestisidlerin ürün üzerindeki kalıcılık durumları

Pestisidlerin kayboluş hızı genel olarak; içyapılarına mekaniksel, fiziksel ve kimyasal ortam şartlarına bağlıdır. Buhar basıncı yüksek olan pestisidler, özellikle sıcak havalarda yaprak yüzeylerinden kolayca kaybolurlar. Kimyasal bozunmalar ya bitki yüzeyinde ya da bitki içinde meydana gelir. Bozunmanın önemi ve çabukluğu öncelikle ilacın kimyasal yapısına, kararlılığına, bozunabilirliğine ve formülasyon şekline bağlıdır. Güneş ışınları, çok sayıda kimyasal reaksiyonlara yol açarak önemli bir rol oynar. Bu ışımsal bozunma, solüsyon ve süspansiyonlarda hızlı bir şekilde olabilir. UV ışınları etkisine 15 saat tutulan “azinfos”, kimyasal olarak % 50’den daha fazla bozunmuştur. Kimyasal reaksiyonlar; oksitlenme, indirgenme, dekarboksilasyon, izomerizasyon, vs. olarak tespit edildi.

Kalıcılık bakımından pestisidler şu dört başlık altında sınıflandırılabilir:

- 1) Kalıcı olmayanlar (non-persistent) : Organik fosforlu ilaçlar,
- 2) Orta derecede kalıcı (moderately) olanlar: Herbisitler,
- 3) Kalıcı olanlar (persistent) : Klorlu hidrokarbonlar,
- 4) Sürekli kalıcı olanlar (permanent) : Pb, As, Hg’lı pestisidler.

İlaçların bitki üzerinden azalması veya kaybolması şu yollarla olmaktadır:

- a) İlacın yaprak ve meyveden sızması,
- b) Yaprak ve meyvelerin üzerinden rüzgâr veya birbirine sürtünme ile uzaklaşması,
- c) Yağmurla yıkanmak suretiyle,
- d) Hava sıcaklığı ile buharlaşması ve bozunması,
- e) Güneş ışığında oksitlenerek bozunması,
- f) Yüksek rutubetle hidrolize olarak bozunması,
- g) İlacın uygulama zamanına bağlı olarak; bitki gelişiminin çabuk olduğu dönemde ilaç atılmışsa, yüzey ve hacmin artması nedeniyle ilaç kalıntı miktarının azalması.

1.3.1.12. Pestisidlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Pestisidler farklı ortamlarda farklı davranışlar gösterebilirler ve bozunmaları üç şekilde olabilir;

- a) **Biyolojik Bozunma:** Mikroorganizmalar tarafından dağılımları
- b) **Kimyasal Bozunma:** Hidroliz ve redoks gibi kimyasal reaksiyonlar sonucu dağılımları
- c) **Fotokimyasal Bozunma:** UV veya görünür alanda dağılımları

Bazı pestisidler bozunmaya karşı dirençlidir ve çevrede uzun süre varlığını sürdürebilir. Pestisidlerin bozunma oranları kimyasına çevresel faktörlere; örneğin sıcaklık, yağış ve toprak pH'ına bağlıdır. Pestisidlerin taşınimleri suda çözünürlüğü, yağdaki çözünürlüğü, toprağa adsorpsiyonu ve buharlaşma eğilimine bağlıdır.

Pestisidler özellikle insektisitler, herbisitler, mantar ilaçları ve kullanılmakta olan bileşiklerin başlıca türlerinden bazıları Tablo 1.5.'de verilmiştir [12].

Tablo 1.5 Pestisidler olarak kullanılan bileşiklerin ana türleri

İnsektisitler	Herbisitler	Fungusitler
Organoklorin	Fenoksiasetik asitlerin	Anorganik ve ağır metal bileşikleri
Organofosfor	Toluidinler	Ditiyokarbamatlar
Karbamatlar	Triazinler	Fitalimidler
Anorganik bileşikler	Fenilürelerin	Antibiyotikler
Biyopestisidler	Bipiridil	Benzimidazoller
piretroitler	Glisinler	Primidinler
	Fenilpropionat	
	Transloke karbamatlar	
	Hidroksiarilnitriller	

1.3.1.13. Buhar basıncı ve henry kanunu sabiti

Buhar basıncı pestisidlerin buharlaşma eğilimi ölçümüdür. Genel olarak, düşük buhar basıncı, kimyasal maddenin buharlaşma eğiliminin düşük olmasına neden olur

(Tablo 1.6.). Ölçü birimi mm Hg'dır. MPa dönüştürmek için, 1 mPa (millipaskal) = 7,5 x 10⁻⁶ mm Hg.

Tablo 1.6 Uçuculuk ve henry kanunu sabiti için değerlendirme ölçeği

Buharlaşıma Oranı	Buhar Basıncı (20-30 °C) (mmHg)	Henry Kanunu Sabiti (atm m ³ /mol)
Uçucu olmayan	< 1 x 10 ⁻⁷	< 3.0 x 10 ⁻⁷
Az uçucu	1 x 10 ⁻⁷ - 1 x 10 ⁻⁴	3 x 10 ⁻⁷ - 1 x 10 ⁻⁵
Uçucu	1 x 10 ⁻⁴ - 1 x 10 ⁻²	1 x 10 ⁻⁵ - 1 x 10 ⁻³
Çok uçucu	> 1 x 10 ⁻²	> 1 x 10 ⁻³

(Jenkins and Thomson, 1999)

Henry Kanunu Sabiti su yada ıslak topraktan bir pestisidin buharlaşma eğilimini açıklar. Bu değer, pestisidin buharlaşma basıncı, sudaki çözünürlüğü ve molekül ağırlığı ile hesaplanır (Jenkins and Thomson, 1999). Henry Kanunu Sabitinin yüksek bir değerde olması nemli topraklardan pestisidlerin uçuculaşma potansiyelinin yüksek olduğunu, daha düşük olması ise toprakta çözünme oranının yüksek olduğunu gösterir [12].

1.3.1.14. Oktanol-Su ayrılma katsayısı (K_{ow})

Oktanol-Su Ayrılma Katsayısı, organik (polar olmayan çözücü) ve sulu (polar çözücü) fazın bir kimyasalda nasıl dengeli biçimde dağıldığını göstermektedir. Bu katsayı esas olarak pestisid gibi organik kimyasalların çevredeki akıbetinin tahmininde kullanılır. Katsayının yüksek olması, organik faz içine kimyasalların dağılım eğiliminin büyük olması demektir. Bu, topraktaki organik maddelere kimyasal maddenin yapışma eğiliminde olduğu anlamına gelir. Ancak bu davranış, vücudun diğer biyolojik faktörlerine bağlıdır, ancak, aynı zamanda, yağda birikme eğilimi gösterebilir (Jenkins and Thomson, 1999).

$$K_{ow} = C_{oktanol} / C_{su}, C = \text{molar konsantrasyon} \quad (1.2)$$

$$pK_{ow} = -\log_{10} K_{ow} \quad (1.3)$$

1.3.1.15. Adsorpsiyon ve desorpsiyon

Ara yüzeylerde kimyasal maddenin birikmesi olayına adsorpsiyon denir. Bu, toprak kolloidlerinin yüzey kimyasına bağlı olan reaksiyonlardan birisidir. Yüzey enerjisini azaltan maddeler sıvı-gaz ara yüzeyinde yoğunlaşırken, ara yüzey enerjisini azaltan maddeler sıvı-katı ara yüzeyinde birikecektir. Topraklardaki adsorpsiyon daha çok katı-sıvı ara yüzeyinde biriken madde tipindedir (Tan, 1998). Organik kimyasalların kil ve organik maddelerle olan adsorpsiyon mekanizması bir veya birkaç etkileşim ile gerçekleşir. Bunlar, Van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı, dipol-dipol etkileşimi, iyon değişimi, kovalent bağ, protonlaşma, ligand değişimi, katyon köprüsü, su köprüsü ve/veya hidrofobik bölünme gibi olaylardır. Birçok kirleticinin toprak veya sediment tarafından adsorpsiyonu bunların hareketliliğinin azalmasındaki en etkili açıklama olarak kabul edilmiştir. Adsorpsiyon, organik kimyasalların biyolojik faaliyetini, kalıcılığını, biyolojik ayrışmasını, sızma ve buharlaşmasını da etkileyebilmektedir. Bir organik kimyasal üzerindeki fonksiyonel grupların tipi ve yapısı geniş ölçüde onun adsorbe olabilme kabiliyetini etkiler. Topraklardaki kil, metal oksit yüzeyler ve organik madde, organik kirleticilerin adsorpsiyonundan sorumlu olan baskın materyallerdir (Pierzynski, 1994).

Adsorpsiyon reaksiyonları toprak kolloidlerinin yüzeyinde meydana gelir. Humik maddeler gibi organik kolloidlerde meydana gelen adsorpsiyon olayı, bunların karboksil grupları veya fenolik hidroksil grupları gibi fonksiyonel gruplarıyla olan reaksiyonları ile ilgilidir. İnorganik toprak kolloidleri ile oluşan adsorpsiyon reaksiyonları ise, yüklü yüzeylere bağlı olan yüzeysel reaksiyonlardır. Siloksan, oksihidroksi, silanol, aluminol ve ferrol yüzeyleri gibi değişik yüzey tipleri düşünülebilir. Bu grupların her biri pH'ya bağlı olarak farklı yüklere sahiptir (Tan, 1998). Pestisid adsorpsiyonu önemlidir. Çünkü sulara kirletici unsurun ulaşmasını geciktirir (Tao ve Tang, 2004). Pestisidlerin yüzeysel sularda ve yer altı sularında sık araştırılması, toprakta pestisid adsorpsiyonu üzerindeki deneysel çalışmaların sayısındaki büyük artışla bağlantılıdır. Adsorpsiyon pestisidlerin topraktaki biyoaktivitelerini, hareketliliklerini, kalıcılıklarını, toksisitelerini ve yararlarını etkileyen en önemli prosestir (Iraqi ve Iraqi, 2000). Bir bileşiğin toprakta alıkonması veya adsorpsiyonu, onun adsorpsiyon katsayısını kullanarak ampirik olarak ölçülebilir. Bununla birlikte birçok pestisid organik bileşikler olduğu için “organik karbon

sorpsiyon katsayısı (K_{oc}) ifadesi bileşiğin toprak içerisinde tutulmasını tarif etmek için daha sık kullanılır.

$$K_{oc} = K/C_{oc} \quad (1.4)$$

Eşitlik 1.4.'de K (K_d) belirli topraklar için bileşiğin sorpsiyon katsayısı ve C_{oc} toprağın organik karbon içeriğidir (g_{oc}/g_{toprak}). Bu terim inorganik veya yüksek polar özellik gösteren organik pestisidler için uygun olmamasına rağmen, birçok organik pestisid için çok faydalıdır. Bir pestisidin toprakta alıkonmasının hesabında toprağın hacimsel yoğunluğu ve hacimsel su içeriği de önemli faktörlerdir. Bir pestisidin yarı ömrü, onun kirlilik potansiyelinin hesaplanmasında önemli bir varsayımdır. Adsorpsiyon katsayılarının ve yarı ömürlerin kullanımı bazı genel durumlar için sadece yaklaşımlar elde etmemize izin verir.

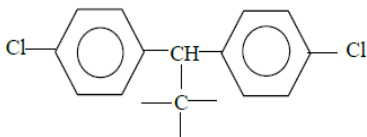
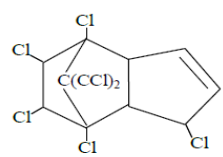
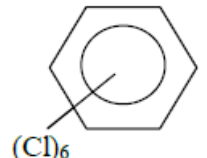
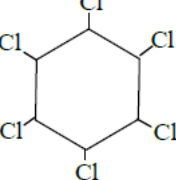
Belirli pestisidlerin kirlilik potansiyellerinin değerlendirilmesinde adsorpsiyon katsayısının ve yarılanma ömrünün birlikte belirlenmesi esastır. Mesela, düşük organik karbon adsorpsiyon katsayısı ($<1\ 000\ mL/g$) ve uzun yarılanma ömrüne (100 günden fazla) sahip bir pestisid, özellikle düşük organik madde içeren topraklarda yer altı sularına sızarak önemli bir tehlike yaratır. Diğer taraftan büyük organik karbon adsorpsiyon katsayısı ($>1\ 000\ mL/g$) ve uzun yarılanma ömrüne sahip bir pestisid orta derecede organik karbon içerikli toprak yüzeyinde veya yakınında muhtemelen kalacak ve böylece yüzeysel akış ile göl veya nehirlerle taşınma şansı artacaktır. Kısa yarı ömürlü pestisidlerin yüzeysel veya yer altı sularını kirlileme olasılığı esasen hemen uygulama sonrası şiddetli bir yağışın oluşmasına veya sulama yapılmasına bağlıdır. Bunların su olmadan taşınması durumunda, kısa yarı ömürlü pestisidler, toprağın aktif kök bölgesinde biyolojik olarak kalır ve hızlıca degrade bozunabilirler [13].

1.3.1.16. Organoklorlu pestisidler

Organoklorlu pestisidler karbon, hidrojen, klorürün bileşimi olan böcek ilaçlarıdır. En bilinen organoklorlu böcek ilacı DDT (diklor difenik trikloroetan)'dır. DDT yaban hayata verdiği zararlardan dolayı 1970'den beri birçok ülkede yasaklandı. Aldrin, dieldrin, toksafen, klordan ve heptaklor yasaklanmış olduğu bilinen diğer pestisidlerdir. Günümüzde de kullanılanlar ise lindane, klorotalonil, endosulfan, dikofol, metoksiklor ve pentaklorofenol (Krieger ve ark., 2001)'dır [12].

Bir klorürlü pestisid, en az bir kovalent bağ ile bağlı klorür atomu içeren organik bir bileşiktir. Geniş yapısal çeşitliliği ve farklı kimyasal özellikleri bakımından geniş bir kullanım alanına sahiptir. Organoklorlu pestisidler üç ana sınıfa ayrılır. Tablo 1.7 da organoklorlu bileşiklerin yapısal sınıflandırılması yer almaktadır. Organoklorlu pestisidler klor atomlarına bağlı olan 25 halka yapısı içeren organik bileşiklerdir.

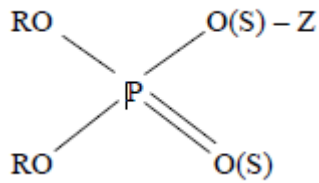
Tablo 1.7 Organoklorların Yapısal Sınıflandırması

Sınıfı/Yapısı	Örnek
Diklorodifenil Etanlar 	DDT, DDD Dikofol Perthane Metoksiklor Metiloklor
Siklodinler 	Aldrin, Dieldrin Heptaklor Klordane Endosülfan
Klorlu Benzen  Sikloheksan 	HCB, HCH Lindane (α-BHC)

(Krieger et al., 2001)

1.3.1.17. Organofosforlu pestisidler

Organofosforlu pestisidler ilk olarak 1854 yılında keşfedildi. Tetraetilpirofosfat ilk kullanılan organofosforlu pestisiddir. İkinci Dünya savaşı sırasında Almanya’da geliştirilen sinir gazının bir yan ürünü olarak bulunmuştur. OPs fosforik asitten yapıldı. Bütün omurgalı hayvanlar arasında en toksik olanıdır. Oldukça karasız bileşiklerdir çevrede oldukça yıkıcı etkileri vardır. 1970’lerden sonra DDT’nin kullanımına başlandı. OPs’ler oldukça toksiktir. Organofosforlu bileşikler aynı genel yapısal formül ile tarif edilebilirler.



R= CH₃C₂H₅

Z= Alifatik, aromatik yada heterosiklik yapı

Bu formülde R, metil yada etil grubu ve oksijen sülfür atomlarının fosfora bağlandığı tüm kombinasyonları olabilir. Z kısmı ilave süstitüent ile, aromatik ve heterosiklik yapılar için, alifatik bir çeşitlilik göstermektedir.

Organofosforlu bileşikler kimyasal bileşimleri (S, O, N, Cl ve Br) ve farklı yapıları nedeniyle çeşitli fiziksel özelliklere sahiptir. Pestisid bileşiklerinin molekül ağırlıkları 144-466 arasındadır. Pestisidlerin buhar basınçları 0.001 ile 1.600 (25 °C) mPa arasındadır. Pestisidlerin suda ki çözünürlükleri 0.14 mg/L ile 4x10⁶ (Krieger, 2001) [12].

1.3.1.18. Karbamatlar

Karbamatlar Batı Afrika’da doğal olarak yetişen Kabala Fasulyesinden ekstrakte edilmiştir. Bu fasulyenin ekstraktları metil karbamat esteri içerir. Karbamatlar karbonik asit türevleridir ve organofosforlu pestisidlere benzer şekilde çevre üzerinde kalıcılığı yoktur. Karbamik asidin alifatik esterleri 1930’lu yılların başında herbisit ve fungusid özellik göstermeleri sebebiyle sentezlendi.

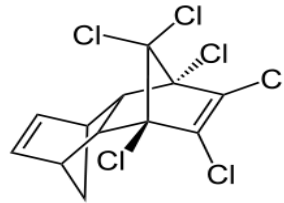
Karbaril belki de en iyi bilinen ve en yaygın kullanılan karbamatlı pestisidlerdendir.

Karbamatlar 3 sınıfa ayrılırlar (Yeoh, 2000)

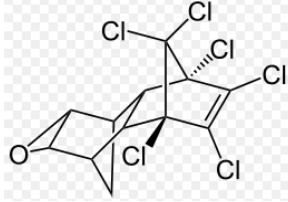
1. Bir fenil halka yapısıyla metil karbamatlar
2. Metil karbamatlar ve heterosiklik yapıya sahip dimetil karbamatlar (örneğin karbofuran)
3. Bir zincir yapısına sahip metil karbamatların oksimleri (örneğin aldikarb)

1.3.1.19. Bu çalışma için seçilen pestisidler

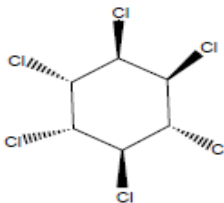
Tablo 1.8 Aldrin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	Aldrin
Kimyasal İsmi	1,2,3,4,10,10-Hekzakloro-1,4,4α 5,8,8α-hekzahidro-ekzo-1,4-endo5,8-dimetano-naftalin
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₂ H ₈ Cl ₆
Molekül Ağırlığı (g/mol)	364.91
Yoğunluk (g/cm ³) (20 °C)	1.6
Erime Noktası (°C)	104-105.5
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.011
Buhar Basıncı (mmHg)	1.2x10 ⁻⁴
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	6.50
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	7.67
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	4.9x10 ⁻⁵

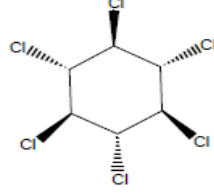
Tablo 1.9 Dieldrin'in fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	Dieldrin
Kimyasal İsmi	1,2,3,4,10,10-Hekzakloro-6,7epoksi-1,4,4 α ,5,6,7,8,8 α -oktahidro-1,4-endo,ekzo-5,8dimetanonaftalin
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Molekül Ağırlığı (g/mol)	380.91
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	1.75
Erime Noktası (°C)	176-177
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.110
Buhar Basıncı (mmHg)	5.89x10 ⁻⁶
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	6.2
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	6.67
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	5.2x10 ⁻⁶

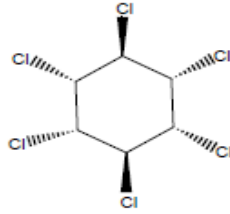
Tablo 1.10 α -BHC'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	α -BHC
Kimyasal İsmi	α -hekzaklorosikloheksan
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₆ H ₆ Cl ₆
Molekül Ağırlığı (g/mol)	290.83
Yoğunluk (g/cm ³) (20 °C)	1.87
Erime Noktası (°C)	159-160
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	69.5
Buhar Basıncı (mmHg)	4.5x10 ⁻⁵
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	3.8
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	3.57
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	6.86x10 ⁻⁶

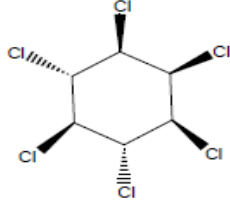
Tablo 1.11 β -BHC'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	β -BHC
Kimyasal İsmi	β -hekzaklorosikloheksan
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	$C_6H_6Cl_6$
Molekül Ağırlığı (g/mol)	290.83
Yoğunluk (g/cm ³) (19 °C)	1.89
Erime Noktası (°C)	314-315
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	5
Buhar Basıncı (mmHg)	3.6×10^{-7}
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	3.78
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	3.57
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	4.5×10^{-7}

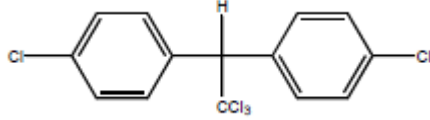
Tablo 1.12 γ -BHC'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	γ -BHC
Kimyasal İsmi	γ -hekzaklorosikloheksan
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	$C_6H_6Cl_6$
Molekül Ağırlığı (g/mol)	290.83
Yoğunluk (g/cm ³) (19 °C)	1.89
Erime Noktası (°C)	112.5
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	17
Buhar Basıncı (mmHg)	4.2×10^{-5}
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	3.72
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	3.0
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	3.5×10^{-6}

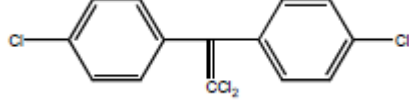
Tablo 1.13 δ -BHC'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	δ -BHC
Kimyasal İsmi	δ -hekzaklorosikloheksan
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	$C_6H_6Cl_6$
Molekül Ağırlığı (g/mol)	290.83
Yoğunluk (g/cm ³) (19 °C)	-
Erime Noktası (°C)	141-142
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	10
Buhar Basıncı (mmHg)	3.5×10^{-5}
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	4.14
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	3.8
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	2.1×10^{-7}

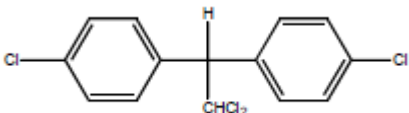
Tablo 1.14 p,p'-DDT fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	p,p'-DDT
Kimyasal İsmi	1,1,1-trikloro-2,2-bis(p-klorofenil)etan
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	$C_{14}H_9Cl_5$
Molekül Ağırlığı (g/mol)	354.49
Yoğunluk (g/cm ³) (19 °C)	0.98-0.99
Erime Noktası (°C)	109
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.025
Buhar Basıncı (mmHg)	1.60×10^{-7}
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	6.91
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	5.18
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	8.3×10^{-6}

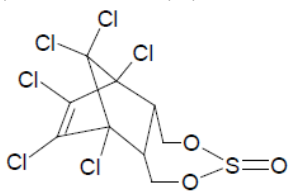
Tablo 1.15 p,p'-DDE fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	p,p'-DDE
Kimyasal İsmi	1,1-dikloro2,2-bis(p-klorofenil) etilen
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₄ H ₈ Cl ₂
Molekül Ağırlığı (g/mol)	318.03
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	89
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.12
Buhar Basıncı (mmHg)	6.0x10 ⁻⁶
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	6.51
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	4.70
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	2.1x10 ⁻⁵

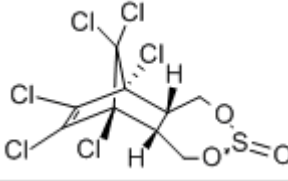
Tablo 1.16 p,p'-DDD fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	p,p'-DDD
Kimyasal İsmi	1,1-dikloro-2,2bis(p-klorofenil)etan
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂
Molekül Ağırlığı (g/mol)	320.05
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	1.385
Erime Noktası (°C)	109-110
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.090
Buhar Basıncı (mmHg)	1.35x10 ⁻⁶
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	6.02
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	5.18
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	4.0x10 ⁻⁶

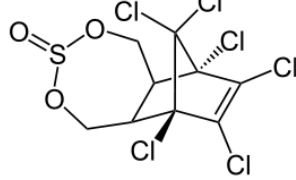
Tablo 1.17 α -Endosulfan fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	α -Endosulfan
Kimyasal İsmi	6,9-Methano2,4,3-benzodioksanthiepin
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	$C_9H_6Cl_6O_3S$
Molekül Ağırlığı (g/mol)	406.93
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	108-110
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.53
Buhar Basıncı (mmHg)	1×10^{-5}
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	3.83
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	3.55
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	1×10^{-5}

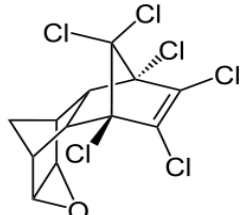
Tablo 1.18 β -Endosulfan fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	β -Endosulfan
Kimyasal İsmi	6,7,9,10,10-Hekzakloro1,5,5a,6,9,9a-hekzahidro-6,9-metano-2,4,3-benzodioxathiepin3-oksit, (3 α , 5 α , 6 β , 9 β , 9 α)-
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	$C_9H_6Cl_6O_3S$
Molekül Ağırlığı (g/mol)	406.93
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	208-210
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.28
Buhar Basıncı (mmHg)	1×10^{-5}
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	3.62
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	4.1
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	1.91×10^{-5}

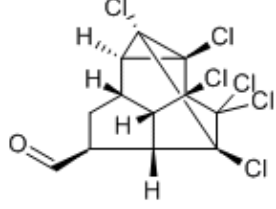
Tablo 1.19 Endosulfan Sülfat fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	Endosulfan Sülfat
Kimyasal İsmi	6,7,8,9,10,10-Hekzakloro-1,5,5a,6,9,9a-hekzahidro6,9-metano-2,4,3-benzodioxathiepin-3,3-dioksit
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₄ S
Molekül Ağırlığı (g/mol)	422.95
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	181-182
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.117
Buhar Basıncı (mmHg)	1.0x10 ⁻¹¹
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	3.66
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	-
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	2.61x10 ⁻⁵

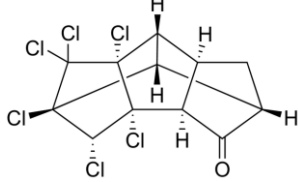
Tablo 1.20 Endrin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	Endrin
Kimyasal İsmi	2,7:3,6-dimetanonaf(2,3-b)oksiren
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Molekül Ağırlığı (g/mol)	380.9
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	235
Sudaki Çözünürlük (µg/L)	200
Buhar Basıncı (mmHg)	2x10 ⁻⁷
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	5.6
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	4.532
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	4x10 ⁻⁷

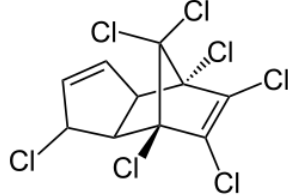
Tablo 1.21 Endrin Aldehit fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	Endrin Aldehit
Kimyasal İsmi	1,2,4-metenosiklopenta-pentalen-5-karboksialdehit
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Molekül Ağırlığı (g/mol)	381.9
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	145-149
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	50
Buhar Basıncı (mmHg)	2x10 ⁻⁷
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	3.146
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	4.80
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	2x10 ⁻⁹

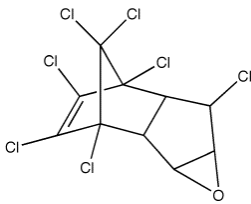
Tablo 1.22 Endrin Keton fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	Endrin Keton
Kimyasal İsmi	2,5,7-Meteno-3H-siklo-penta(a)pentalon-3-one
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Molekül Ağırlığı (g/mol)	380.9
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	-
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	-
Buhar Basıncı (mmHg)	-
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	4.99
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	-
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	2.02x10 ⁻⁸

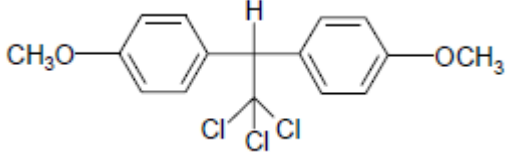
Tablo 1.23 Heptaklor fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	Heptaklor
Kimyasal İsmi	3-Kloroklorden; 1,4,5,6,7,8,8a-heptakloro-3a,4,7,7a-tetrahidro-4,7-methanoindene
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₀ H ₅ Cl ₇
Molekül Ağırlığı (g/mol)	373.32
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	95-96
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.05
Buhar Basıncı (mmHg)	3x10 ⁻⁴
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	6.10
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	4.34
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	2.94x10 ⁻⁴

Tablo 1.24 Heptaklor Endo-Epoksit (İzomer A) fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	Heptaklor Endo-Epoksit
Kimyasal İsmi	1,4,5,6,7,8,8a-heptakloro-2,3-epoksi-3a,4,7,7a-tetrahidro-4,7-methanoindene
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₀ H ₅ Cl ₇ O
Molekül Ağırlığı (g/mol)	389.40
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	-
Erime Noktası (°C)	160-161.5
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.275
Buhar Basıncı (mmHg)	1.95x10 ⁻⁵
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	5.40
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	3.34-4.37
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	3.2x10 ⁻⁵

Tablo 1.25 Metoksiklor fiziksel ve kimyasal özellikleri

Genel İsmi	
Kimyasal İsmi	2,2-bis(p-metoksifenil)1,1,1-trikloroetan; 1,1,1-triklor-2,2bis(4-metoksifenil) etan
Yapısal Formülü	
Deneysel Formül	C ₁₆ H ₁₅ Cl ₃ O ₂
Molekül Ağırlığı (g/mol)	345.65
Yoğunluk (g/cm ³) (25 °C)	1.41
Erime Noktası (°C)	89
Sudaki Çözünürlük (mg/L)	0.045
Buhar Basıncı (mmHg)	1.4x10 ⁻⁶
Oktanöl/Su Dağılımı (Log ₁₀ K _{ow})	4.68–5.08
Dağılım Katsayısı (Log ₁₀ K _{oc})	4.9
Henry Kanunu Sabiti (atm-m ³ /mol)	1.6x10 ⁻⁵

1.3.2. Gaz kromatografisi ile meyve ve sebzeler pestisid kalıntılarının tayinleri ile ilgili çalışmalar

Kromatografik ayırmaların bulucusu Rus bilim adamı botanikçi Michael Tswett'dir. Tswett yeşil yapraklardan elde ettiği çözeltiyi toz haline getirilmiş kalsiyum karbonatla doldurulmuş cam bir kolondan geçirerek çözeltide bulunan klorofil, ksantofil gibi renkli maddeleri kolonda ayrı tabakalar halinde ayırmayı başardı. Bu renkli tabakalardan esinlenerek yaptığı ayırmaya kromatografi adını verdi.

Ayırma işlemiyle genel olarak bir madde bulunduğu ortamdan niceleyici olarak bir başka ortama alınır. Ancak, maddenin niceleyici olarak bir başka ortama alınması yetmez; buna ek olarak maddenin saf olarak da başka ortama alınması gerekir. Bu şartları yerine getiren bir ayırmaya seçici ayırma denir.

Kromatografik ayırmalar, biri sabit öteki hareketli olan iki faz arasında gerçekleştirilir. Ayrılması istenen madde veya maddeler çözünmüş halde hareketli faza ilave edilir. Hareketli faz sıvı, gaz veya süperkritik bir akışkan olabilir. Hareketli faz bir kolon içinde, ya normal yer çekimi kuvvetiyle veya basınçla kolondaki sabit faz içinden aşağıya doğru indirilir. Bu indirme esnasında hareketli fazda çözünmüş halde bulunan maddelerle sabit faz arasında fiziksel ve kimyasal bazı çekim kuvvetleri meydana gelir. Bu çekim kuvvetleri her madde için ayrıdır. Bundan dolayı hareketli faz, sabit faz

içinden veya yüzeyinden aşağıya doğru inerken içinde bulunan maddelerin kolon içindeki hızları farklı farklı olur. Sabit fazla arasındaki çekim kuvveti en az olan kolon içinde en hızlı yol alırken, sabit fazla arasındaki çekim kuvveti en çok olan, en yavaş yol alır. Kolona aynı anda enjekte edilen maddeler kolonun sonuna farklı zamanlarda ulaşırlar. İşte bu esnada her maddenin tanecikleri kendi aralarında kümeler meydana getirerek kolondan aşağıya doğru bantlar halinde yol alırlar.

1.3.3. Kromatografi kullanılan hareketli ve sabit fazlar

Kromatografi hareketli sivil faz olarak, su dâhil bütün organik çözücüler ve bu çözücülerin çeşitli oranlardaki karışımları kullanılabilir.

Kromatografi de sabit faz olarak da oldukça çeşitli maddeler kullanılır. Bunlar arasında:

1. Silikajel
2. Alumina
3. Kömür
4. Florisil (magnezya-silika karışımı)
5. Kalsiyum karbonat ve kalsiyum oksit
6. Magnezyum karbonat ve magnezyum oksit
7. Kizelgurlar (Fullerler)
8. Diatome toprakları
9. Polamitler
10. Nişasta
11. Toz şeker
12. Talk

sayılabilir. Bunlardan bazılarının yüzeyi asidik, bazılarınıniki bazik, bazılarınıniki de nötraldir. Asidik olanlar silika, bazik olanlara alümina, nötral olanlara da kömür örnek verilebilir. Sabit faz olarak en çok silika jel kullanılır.

Sabit faz olarak kullanılan maddeler gözeneklidir. Gözenek bazılarında büyük bazılarındaysa yüzeyde ve küçüktür [13-14].

1.3.3.1. Kromatografi metotları

Kromatografi metotları fiziksel olarak,

1. Kolon,
 2. Düzlem (Kâğıt ve ince tabaka)
- olmak üzere ikiye ayrılır.

Kolon üzerinde kurulan kromatografilerde hareketli faz, kolondaki sabit faz içinden geçerek kolonun altına iner.

Düzlem üzerinde kurulan kromatografi hareketli faz, ya kapiler olaylarla veya yer çekimi kuvvetiyle hareket eder. Bu tür kromatografilerde sabit faz, ya düz bir levha üzerine muntazam olarak yayılmış özel bir madde (silika jel, alüminyum oksit gibi) veya kâğıt gibi lifli bir maddedir.

Daha temel bir bakımdan kromatografi üçe ayrılır. Bunlar;

1. Sıvı kromatografisi
2. Gaz kromatografisi
3. Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC)
4. Süperkritik akışkan kromatografisi

dir.

Sıvı Kromatografisi ve Teorisi

Sıvı kromatografisi çeşitli alt dallara ayrılır. Bu alt dallar başlıca:

1. Adsorpsiyon
2. Dağılma
3. Kâğıt ve ince tabaka
4. İyon değiştirme kromatografileri

dir [13-14].

1.3.3.2. Kromatogramlar

Kolondan çıkan madde çözeltideki moleküllere duyarlı bir detektöre gönderilirse, sinyaller elde edilir. Sinyaller, zamana karşı grafiğe geçirilirse, her madde için bir pik elde edilir, bu şekilde elde edilen pikler serisine kromatogramlar denir.

Bir kromatogramdaki pik sayısı, numunedeki bileşen sayısı kadardır. Başka bir deyişle her pik ayrı bir bileşen veya madde demektir. Bir kromatogramdaki zaman

ekseni üzerindeki pikin yeri, onun hangi maddeye ait olduğunu, o pikin alanı da, o bileşenin kantitatif miktarını verir [13-14].

1.3.3.3. Bant genişlemesi ve kolon etkinliği

Kromatografik kinetik teori veya hız teorisi, piklerin şekil üzerinde etkili olan çeşitli faktörleri açıklamakta çok yararlı bir rol oynar. Bu teoriyle aşağıya doğru indikçe bantlar neden genişler, bunun da kalitatif bir açıklaması yapılabilir.

Bir kromatogramlar elde edilen piklerin, dolayısıyla kolondaki bantların incelenmesi, bunların normal dağılım eğrileriyle çok yakın benzerliklerinin olduğunu ortaya koymuştur. Normal dağılım eğrileri, tekrar deneyleri sonuçlarının, tekrarlanma yüzdelere karşı bir grafiğe geçirilmesiyle elde edilir.

Bir turun bir taneciği, kolonda aşağıya doğru inerken, yüzlerce, binlerce defa hareketli ve sabit faz arasında mekik dokur. Taneciğin bir fazda kalacağı süre her defasında farklı olabilir. Bu tamamen çevresinden alacağı termal enerjiye bağlıdır. Taneciğin bir defasında bir fazda kalacağı süre kısa, bir defasında uzun olabilir. Bir taneciğin hareketi çözücü moleküllerine göre değişir.

Bir turun meydana getirdiği bantın genişlemesi aşağıya doğru indikçe artar. Buna göre bant genişliği, taneciğin kolonda kalma süresiyle doğru, hareketli fazın kalma süresiyle ters orantılıdır.

1.3.3.4. Dağılma katsayısı

Bir kolonun A ve B türlerini ayırma gücü onların ele edilebilme bağlı hızlarına bağlıdır. Bu hızlar türlerin, hareketli ve sabit fazlar arasında meydana getirdikleri dengenin sabitinden hesaplanabilir. Bunun için bir turun hareketli ve sabit fazdaki dağılma oranlarına bakılır. Buna göre, A turunun hareketli ve sabit fazdaki konsantrasyonları arasında, bir denge kurulur. Bu dengenin sabiti, K'ye dağılma kat sayısı veya dağılma oranı denir ve

$$K = C_s / C_h \quad (1.5.)$$

şeklinde gösterilir. Burada C_s , A turunun sabit fazdaki, C_h da bunun hareketli fazdaki konsantrasyonudur. Genel olarak bir maddenin iki faz arasındaki dağılma katsayısı (K) geniş bir konsantrasyon aralığında sabittir. Buna göre sabit fazdaki C_s konsantrasyonu,

doğrudan hareketli fazdaki C_h konsantrasyonuna bağlıdır. Bu Sartlarda yapılan bir kromatografi lineer kromatografi denir [14].

1.3.3.5. Alıkonma zamanı

Bir maddenin kolona enjekte edilmesinden, detektördeki pik noktasına kadar gecen zamana, o turun alıkonma zamanı denir. Bu zaman t_r ile gösterilir. Şekilde solda görülen pik, sabit faz tarafından hiç alıkonulmayan bir bileşiğe aittir. Bu bileşiğin kolondaki hizip, hareketli faz olarak kullanılan çözücü moleküllerinin ortalama hizip olarak kabul edilir. Bu zaman da t_0 ile gösterilir. Bu zamanı tespit etmek için çözeltiye bilinen bir madde ilave edilir. Böyle kolonda hiç alıkonulmayan turun detektöre kadar ulaşma suresine, oluşma zamanı denir.

Analizi yapılan bir turun ortalama hızına,

$$v=l/t_r \quad (1.6.)$$

şeklinde verilir. Burada l kolonun dolgulu kısmının veya sabit fazının uzunluğudur. Benzer şekilde çözücü moleküllerinin ortalama hızına u denecek olursa, bu da,

$$U=l/t_0 \quad (1.7.)$$

olur. Burada t_0 daha önce de söylendiği gibi moleküllerinin kolondan geçip detektöre ulaşması için gecen ortalama zamandır.

Bir turun ortalama alıkonma zamancık önemlidir. Dağılma katsayısıyla birlikte birçok yerlerde kullanılır. Turun alıkonma zamanıyla, dağılma katsayısı arasında bir bağıntı vardır. Bağıntı turun alıkonulma zamanının yüzde kaçını hareketli fazda geçirdiğini gösterir. Bu yüzde aynı zamanda söz konusu turun herhangi bir anda yüzde kaçının hareketli fazda bulunduğunu ifade eder. Bu yüzde turun hareketli fazdaki mol sayesinin, toplam mol sayısına oranı olur ve,

$$V=\text{hareketli fazdaki mol sayısı/Toplam mol sayısı} \quad (1.8.)$$

şeklinde formüle edilir.

Turun hareketli fazdaki mol sayısı, turun hareketli fazdaki konsantrasyonuyla (C_h) hareketli fazın hacminin (V_h) çarpımına eşittir. Aynı turun sabit fazdaki mol sayısı

da, turun sabit fazdaki konsantrasyonu (C_s) ile sabit fazın hacminin (V_s) çarpımına eşittir. V için,

$$V = u \cdot \frac{C_h V_h}{C_h V_h + C_s V_s} = u \cdot \frac{1}{1 + C_s V_s / C_h V_h} \quad (1.9)$$

Bağıntıları yazılabilir. Eşitlik 1.5.'deki C_s değeri bu bağıntıda yerine konursa,

$$V = u \cdot \frac{1}{1 + K V_s / V_h} \quad (1.10)$$

elde edilir [14].

1.3.3.6. Kapasite faktörü

Kapasite faktörü kromatografi çok kullanılan bir parametredir. Bu faktörle analizi yapılan türlerin kolon içinde göç etme hızları tayin edilir. Kapasite faktörü

$$K_A = K_A V_s / V_h \quad (1.11)$$

şeklinde verilir.

K_A , V_s ve V_h den K_A hesaplanır. Ayrıca, Eşitlik 1.10 ve 1.11.'den

$$V = u \cdot \frac{1}{1 + k_A} \quad (1.12)$$

elde edilir. Bağıntıda k_A kromatogramlar da bulunabilir. Eşitlikler 1.6. ve 1.7. son eşitlikte yerlerine konursa,

$$l / t_r = l / t_0 \cdot \frac{1}{1 + k_A} \quad (1.13)$$

bulunur. Bu eşitlik kısaltılırsa,

$$k_A = t_R - t_0 / t_0 \quad (1.14)$$

elde edilir. Bu t_r ve t_0 değerleri bir kromatogramlar kolaylıkla bulunabilir. Bir tur için kapasite faktörü (k) birden küçükse, losyon suresi çok kısa olur ve dolayısıyla turun alıkonulma zamanı (t_r 'yi) doğru olarak ölçmek mümkün olmaz. Buna karşılık, 10-15 olursa, elusyon suresi çok uzun olur. İyi bir kromatografik ayırmada, türler için kapasite faktörlerinin 2-5 olması iyi sonuç verir [14].

1.3.3.7. Seçicilik faktörü

Seçicilik faktörü α ile gösterilir. İki bileşenli bir numunenin α seçicilik faktörü,

$$\alpha = K_B / K_A \quad (1.15)$$

dir. Burada K_B sabit faz tarafından daha kuvvetle tutulan B türünün dağılma katsayısı, K_A ise sabit faz tarafından daha zayıf tutulan ve daha hızlı elue edilen A türünün dağılma katsayısıdır. Buna göre α daima birden büyük olur.

Daha önce verilen eşitlik 1.11 eşitliğinden yararlanarak seçicilik faktörü α için,

$$\alpha = k_B / k_A \quad (1.16)$$

elde edilir. Bilindiği gibi k_B ve k_A değerleri, B ve A türlerinin kapasite faktörleridir. Bundan sonra eşitlik 29-10 daki kapasite faktörü A ve B türleri için Eşitlik 1.16 yerlerine konursa, seçicilik faktörü için,

$$\alpha = (t_R)_B - t_0 / (t_R)_A - t_0 \quad (1.17)$$

elde edilir [14].

1.3.3.8. Kromatografik kolon etkinliği

Kromatografik kolon etkinliği kantitatif olarak ifade etmek için genel olarak iki terim kullanılır. Bunlar:

- 1) Tabaka Yüksekliği
 - 2) Teorik tabaka sayısı (N),
- dir. Bu iki terim arasında,

$$N = l / H \quad (1.18)$$

şeklinde bir bağıntı vardır. Burada, l kolon dolgu maddesinin veya sabit fazın cm olarak, H da teorik tabakanın gene cm olarak yüksekliğidir. Bir kromatografi kolonunun etkinliği tabaka sayısı ile artar. Tabaka sayısının artması da, tabaka yüksekliğinin azalmasına bağlıdır.

Kromatografik bir kolunun etkinliği kolunun tipine, hareketli ve hareketsiz fazlara göre çok büyük değişiklikler gösterir. Bir kolunun tabaka sayısı birkaç yüzden birkaç yüz bine, tabaka kalınlığı da bir milimetrenin onda birinden, on binde birine kadar değişebilir [14].

1.3.3.9. Kolunun ayırma gücünü etkileyen diğer faktörler

Kolonun ayırma gücünü etkileyen faktörlerden birisi de sıcaklıktır. Sıcaklığın yükselmesi çoğu zaman kolunun ayırma gücünü azaltır. Çünkü alıkonulma zamanları (tR) arasındaki fark, maddenin iki faz arasındaki dağılma sabiti K ye, K de sıcaklığa bağlıdır. Gaz kromatografisinde, bağlı alıkonulma zamanı, sıcaklığın düşmesiyle artmaya baslar. Bu nedenle kolunun düşük sıcaklıklarda çalıştırılması ayırma gücünü artırır. Ancak sıvı kromatografisinde cihazın ayırma gücü sıcaklığa çok az bağımlıdır. Sıvı kromatografilerin büyük çoğunluğu oda sıcaklığında yapılır. Ayırma gücünü artırmak için ya hareketli veya sabit faz değiştirilir. Bilindiği gibi hareketli veya sabit fazı değişirme de K'yı değiştirir (Tablo 1.26) [14].

Tablo 1.26 Kromatografide kolunun ayırma gücünü artıran faktörler

1) Kolunun çalıştırılmasıyla ilgili faktörler
a) zeltinin akis hızını optimum hale getirme
b) Numune miktarını azaltma
c) Kolon sıcaklığını düşürme
2) Kolunun yapımıyla ilgili faktörler
a) Kolunun çapını küçültme
b) Kolunun boyutunu artırma
c) Dolgu maddesinin taneciklerini küçültme
d) Dolguyu iyi yapma
e) Farklı hareketli faz çözücüsü kullanma
f) Farklı sabit faz maddesi kullanma

1.3.4. Gaz kromatografisi

Gaz kromatografide (GC), numune buharlaştırılır ve kromatografik kolonun girişine enjekte edilir. İnert bir hareketli gaz fazı ile elüsyon yapılır. Diğer kromatografik yöntemlerin aksine gaz fazı maddenin molekülleri ile etkileşmez; gazın tek işlevi, maddeyi kolon boyunca taşımaktır. İki tür gaz kromatografisi vardır: Gaz-Katı kromatografisi, Gaz-Sıvı kromatografisi. Gaz-Sıvı kromatografisi birçok alanda yaygın olarak kullanıldığı için adı genelde kısaltılır ve Gaz kromatografisi terimi kullanılır.

Gaz-Sıvı kromatografisi maddenin gaz halindeki hareketli faz ile bir katının yüzeyine tutturulmuş durgun sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur.

1.3.4.1. Taşıyıcı gaz yâda hareketli faz

İnert olması gereken taşıyıcı gaz, genellikle helyum, hidrojen, azottur. Gaz seçimi, kullanılan detektör tipine göre yapılır. Taşıyıcı gaz tüpüne bağlı halde, basınç ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bulunur. Bunlara ek olarak, su ve diğer safsızlıkları gidermek için gaz sisteminde çoğu zaman moleküler elek bulunur.

Akış hızı kontrolü, normal olarak gaz silindirine bağlı iki basamaklı basınç regülâtörleri ile yapılır. Giriş basınçları, genelde 10-50 psi (oda basıncının üstünde) arasında değişir ve dolgulu kolonlarda 25-150 mL/dk., açık boru tipi kılcal kolonlarda ise 1-25 mL/dk. Akış hızlarına ulaşılabilir. Genel olarak, giriş basıncının sabit kalması halinde akış hızının değişmeyeceği varsayılır. Akış hızı kolon başına monte edilen bir rotametre ile ayarlanabilir. Ancak bu cihaz basit, kolon sonuna bağlanan sabun-köpüklü hacim sayacı kadar doğru sonuçlar vermez. Bu alet, içi sabunlu suyla dolu bir ampulün üstünde de dereceli bir tüpten oluşur. Tüpün altında gelen basınçlı gaz, tüpte bir sabun köpüğü zarı meydana getirir. Bu zarın tüp içinde bir çizgiden ötekine geçmesi için geçen süreden yararlanılarak gazın hacimsel akış hızı hesaplanır.

Taşıyıcı gazın içinde bulunan yabancı maddeler, sonucu büyük ölçüde etkilediklerinden, gazın yoluna moleküler büyüklükte bir elek konur. Böyle bir elek, su buharının ve hidrokarbonların geçmelerini önler. Çok daha büyük hassasiyet isteyen çalışmalarda gazın yoluna -180 °C'a kadar soğutulan (sıvı hava) bir tuzak konur.

1.3.4.2. Örnek enjeksiyon bölümü

Kolon verimi, numunenin uygun miktarda ve buhar halinde “bir defada” verilmesini gerektirir. Yavaş enjeksiyon veya fazla miktarda numune verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayırma gücüne neden olur. Sıvı veya gaz numune enjeksiyonunda, en yaygın yöntem sızmaz enjektörlerin kullanımıdır. Enjeksiyon, bir silikon lastik diyaframdan veya bir septumdan yapılır. Septumun hemen arkasında, kolonun giriş ucunda hızlı buharlaştırıcı bölme bulunur. Enjeksiyonun yapıldığı bu kısım numune içinde kaynama noktası en büyük maddenin kaynama noktasından 50 °C kadar yüksek sıcaklığa kadar ısıtılır. Norma analitik amaçlar için enjeksiyon hacmi, 0,1-20 µL arasında olabilir. Kılcal kolonlarda daha küçük miktarlar (10^{-3} µL) enjekte edilir. Bunun için kolon girişine bir bölücü yerleştirilir. Bölücü enjekte edilen numunenin bir kısmının kolona gitmesini sağlarken, diğer kısım dışarı atılır.

1.3.4.3. GC kolonları

Gaz-sıvı kromatografisinde genelde iki tür kolon kullanılır. Bunlar **a)** dolgu maddesi (gözenekli katı madde) özel bir sıvı ile kaplanmış olan açık tüplü kolonlar (SCOT) **b)** iç yüzeyi özel sıvı ile kaplanmış (WCOT) kolonlardır. Kolonların uzunlukları genel olarak 2-50 m arasında değişir. Bunların yapıldığı maddeler başlıca:

- 1) Paslanmaz çelik
- 2) Saf bakır
- 3) Alüminyum
- 4) Teflon
- 5) Cam
- 6) Eritilmiş silika

dır. Kolonlar termostatlı bir hücreye yerleştirilir. Bunun içinde kolonlar genel olarak çapları 10-30 cm arasında değişen spiraller haline getirilir. Bir cihaza farklı kolonlar monte edilebilir. Kolon içinde kalan numune gazları, kolonda uzun süre taşıyıcı gaz geçirilerek temizlenir. Kolon sıcaklığı çok önemlidir. Bu nedenle kolon sıcaklığı $\pm 0,1$ °C mertebesinde sabit tutulur. Bunu sağlamak içinde kolon sıcaklığı kontrol edilebilen bir bölmeye yerleştirilir. Optimum kolon sıcaklığı numunenin kaynama sıcaklığına ve istenen ayırma verimine bağlıdır. Kabaca, numunenin ortalama kaynama sıcaklığının

biraz üstünde bir sıcaklıktaki kolonda maddelerin elüsyon zamanı 3-30 dk. arasında değişebilir. Çok geniş bir kaynama noktası aralığındaki numuneler için sıcaklık programlaması yapmak gerekir.

Taşıyıcı olarak hangi gazın kullanılacağı imkânlarla ve cihazdaki dedektöre bağlıdır. Örneğin cihazın dedektörü ısı iletkenliği üzerine kuruluysa, helyum gazı kullanılır. Çünkü helyum gazının ısı iletkenliği çok yüksektir [14].

1.3.4.4. GC dedektörleri

Bir gaz kromatografisi dedektörü kromatografik işlem uygulanan bir karışımdaki bileşenleri süratle ve hassasiyetle algılayabilen bir aygıttır; sisteme uzamsal ve zamansal boyutla da yerleştirilebilir. Herhangi bir anda, taşıyıcı gazdaki madde konsantrasyonu sadece binde birkaç seviyesindedir ve dedektör bunun çok altındaki değerleri algılayabilecek kapasitede olmalıdır. Ayrıca bir pikin dedektörü geçtiği süre 1 sn. veya daha kısa bir zaman aralığı olduğundan, dedektör kısa bir periyot içinde tüm algılama gücünü gösterebilmelidir. Dedektörün doğrusal ve muntazam algılamalar yapabilmesi ve uzun süre kararlılığını koruyabilmesi istenir. Yirmi yıl öncesinde olduğu gibi hala çok popüler olan ve tüm gaz kromatografik çalışmaların, yaklaşık %95’inde kullanılan dört dedektör tipi vardır; termal iletkenlik (TCD), alev iyonizasyon (FID), nitrojen fosfor (NPD), ve elektron yakalama (ECD) Algılanması istenen komponentlere bağlı olarak geliştirilmiş çok çeşitli gaz kromatografisi dedektörü vardır. Kullanım alanı yaygın olan bazı dedektörler, uygulama alanları ve hassasiyetleri aşağıdaki Tablo 1.27’de verildi.

Tablo 1.27 Tipik bazı gaz kromatografisi dedektörleri ve algılama limitleri

Dedektör Tipi	Uygulanabilir Örnekler	Algılama
Termal iletkenlik (TCD)	evrensel	500 pg/ml
Alev iyonizasyon (FID)	hidrokarbonlar	1 pg/s
Nitrojen fosfor (NPD)	N, P içeren örnekler	P: 10^{-12} , N: 10^{-11} (g/ml)
Elektron yakalama (ECD)	halojenli hidrokarbonlar	5 fg/s
Atomik emisyon (AED)	element seçici	1 pg
Fotoiyonizasyon (PID)	gaz ve buhar bileşikler	0.002-02 µg/L
Kütle spektrometre (MSD)	ayarlanabilir örnek	0.25-100 pg

1.3.4.5. Elektron yakalama detektörü (GC-ECD)

Elektron-yakalama detektörleri, X-ışınları ölçümüne benzer şekilde çalışırlar. Detektörde düşük enerjili β ışını ile elektronlar ve iyonlar üretilir. İlk kullanılan kaynak bir gümüş sarım içinde absorblanmış trityumdu; ancak bu maddenin yüksek sıcaklıklarda kararsız olması nedeniyle çok daha kararlı olan ^{63}Ni kaynak kullanılmaya başlandı.

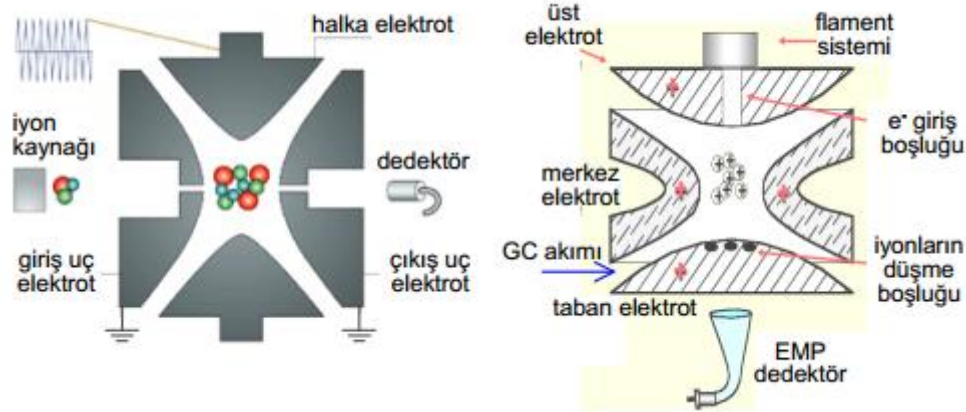
Kolondan çıkan akım, bir beta-vericiden geçirilir. Vericiden gelen bir elektron, taşıyıcı gazı (çoğunlukla azot) iyonlaştırır ve bir elektron çıkarır. Ortamda organik madde yoksa bu iyonizasyon sonunda sabit bir akım görülür. Organik madde bulunması durumunda ise elektronlar madde tarafından yakalanacağından akım düşer; Akım kaybı ölçülür ve sinyal meydana gelir.

Daha çok halojenli bileşiklerin analizlerinde kullanılır. Peroksitler, kinonlar, ve nitro grupları gibi elektronegatif fonksiyonel gruplara karşı çok hassastır. Aminler, alkoller, ve hidrokarbonlara karşı hassasiyetleri düşüktür. Bu detektörler en çok klorlu tarım ilaçlarının analizlerinde kullanılır.

1.3.5. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS)

Kütle spektrometre detektörler, tüm gaz kromatografisi detektörleri arasında en güçlü olanlarıdır. Bir GC/MS sisteminde ayırma boyunca, kütle spektrometresi sürekli olarak kütleleri tarar. Örnek kromatografi kolonundan çıktığında bir transfer hattından geçerek kütle spektrometrenin girişine gelir; burada bir elektron-darbe iyon kaynağı tarafından iyonlaştırılır ve fragmanlara ayrılır. Bu işlem sırasında örnek enerjili elektronlarla bombardıman edilir ve elektrostatik kuvvetler molekülün elektron kaybederek iyonlaşmasını sağlar. Bombardımanın iletilmesi iyonların fragmanlara dönüşmesine neden olur. Kütle analizörüne giren iyonlar burada m/z (kütle-yük oranı) değerlerine göre sıralanırlar. İyonların çoğu tek değerlidir.

Sistemde, kromatogram alıkonma zamanlarını belirler, kütle analizörü de piklerden, karışımda ne tür moleküllerin bulunduğunu saptar. Kullanımı en yaygın olan kütle analizörü, gaz anyon ve katyonların elektrik ve manyetik alan vasıtasıyla uzun süre tutulmasını sağlayan kuadropol iyon-kapanı analizördür (Şekil 1.4).



Şekil 1.4 Kuadrupol iyon kapağı için iki şematik diyagram

1.3.6. Meyve ve sebzelerdeki pestisid kalıntı analiz çalışmalarının incelenmesi

1.3.6.1. Meyve ve sebzelerdeki pestisid kalıntı analiz için analitik teknikler

Pestisid kalıntıları eser miktarda meyve ve sebzelerde bulunabilir. Eser miktarlar genelde ppm, ppb veya daha az miktarda olabilir. Doğal gıdalarda pestisid gibi az miktarda bulunan pestisidleri ölçmek zordur. Çünkü yabancı iyonlar bu ölçümü zorlaştırabilir. Pestisidleri tespit etmek için analitik yöntemler kullanılır ve bunları uygulamada bazı temel adımlar vardır.

1.3.6.2. Örnek hazırlama

İlk olarak meyve ve sebze örnekleri kesilip blenderden geçirilir. Pestisid kalıntılarının kaybını ve diğer pestisidler ile örneğin kirlenmesini önlemek için önlemler alınır. Kesme ve karıştırmayı takiben homojen bir şekilde örnek alınır.

1.3.6.3. Ekstraksiyon

Ekstraksiyon numunenin diğer bileşenlerinden pestisid kalıntılarını almak için bir çözücü kullanılmasıdır. Çoğu analitik laboratuvarında, aseton ve asetonitril gibi çözücüler kullanılır. Çözücü, örnek ile karıştırılır ve ultrasonik banyo kullanarak homojenize edilir.

1.3.6.4. Örnek temizlenmesi

Örnek hazırlama başlıca iki amaç için yapılmaktadır. Bunlar sırasıyla, örneklerin istenmeyen bileşenlerden temizlenmesi (clean-up) ve yoğunlaştırılmasıdır. Temizleme işlemi ile ortamdan analizin yanlış sonuçlanmasına neden olabilecek, aranan maddenin tespit edilmesini engelleyebilecek veya analiz cihazlarının kirlenmesine neden olabilecek kirliliklerin uzaklaştırılması sağlanır.

1.3.7. Örnek ekstraksiyon teknikleri

1.3.7.1. Süper kritik akışkan ekstraksiyonu (SFE)

Süperkritik ekstraksiyon prosesi, bir maddenin süperkritik koşullardaki bir akışkan içinde çözünmesi ve daha sonra basınç azaltılarak ürünün akışkandan ayrılması olarak tanımlanabilir. Basıncın azaltılması ile çözünen maddenin süperkritik fazdaki çözünürlüğü de azalmakta ve ayırım gerçekleşmektedir. Basınç düşürerek CO₂ ve ekstraktı ayırma yönteminin dışında farklı ayırma yöntemleri de vardır; sıcaklık değiştirilebilir, isobarik veya izotermal koşullarda absorpsiyon veya adsorpsiyon yapılabilir [14].

1.3.7.2. Basınçlı akışkan ekstraksiyonu (PFE)

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu Sokslet ekstraksiyonuna benzer, ama ondan farkı yüksek ekstraksiyon özelliklerine sahip olan çözücüler süper kritik bölgeleri yakınında kullanılır.

1.3.7.3. Sıvı-Sıvı ekstraksiyon (LLE)

Yıllardan beri LLE ve bunu takiben çözücülerin çeşitli şekillerde uzaklaştırılması, örnek hazırlamada en çok kullanılan yöntem olmuştur. Fakat geleneksel sıvı-sıvı ekstraksiyon uygulamalarının fazla miktarda çözücü harcaması, çok zaman alması ve yüksek maliyetli olması gibi dezavantajları vardır. Ayrıca bu yöntemler, ekstraksiyon sırasında emülsiyon faz oluşması, gerekli saflığa sahip olmayan ekstraktları elde edilmesi, çözücülerin yeterince uzaklaştırılamaması ve duyarlı kantitatif sonuçlar elde edilememesi gibi istenmeyen durumlara da neden

olabilmektedir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu dışında santrifüj etme, süzme, destilasyon, liyofilizasyon gibi diğer önemli ekstraksiyon metodları da benzer sakıncalara sahiptir.

1.3.7.4. Jel geçirgenlik kromatografisi

Sabit faz gözenekli bir reçinedir. Hareketli faz ise gazdır. Ayrım molekül büyüklüğüne göre yapılır. Doğal ve yapay polimerlerin ayrılmasında kullanılır. Gözeneklere girebilecek büyüklükteki maddeler sistemi geç terk ederler.

1.3.7.5. Katı faz ekstraksiyon (SPE)

Bu metot, çeşitli tutucu maddelerin (adsorban) küçük, tek kullanımlık ekstraksiyon kolonlarına doldurularak pratik bir örnek hazırlama düzeneği tasarlanması esasına dayanmaktadır. Katı-faz ekstraksiyonu, günümüzde etkili bir örnek hazırlama yöntemi olarak birçok laboratuvarında kullanılmaktadır. Katı-faz ekstraksiyon metodu, klasik sıvı-sıvı ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında daha hızlı, az çözücüye ihtiyaç duyan ve çok daha ucuz bir tekniktir. Bunun yanında katı-faz ekstraksiyonu ile daha temiz ekstraktı ve yüksek geri kazanım oranları elde edilebilmektedir (Yavuz ve Aksoy 2006). SPE yöntemi, sıvı örneklerinin istenmeyen bileşenlerden ayrılması ve örnek ortam yapısının değiştirilmesi amaçlarıyla hazırlanmış olan küçük tek kullanımlık kolon veya disklerden geçirilmesi esasına dayanmaktadır.

1.3.7.6. Katı-Faz mikroekstraksiyon (SPME)

SPME, 1990 yılında Pawliszyn ve arkadaşları tarafından geliştirildi. Bu yeni teknikte, dışı erimiş silika ile kaplanmış bir duran faz kullanıldı. Örnekteki madde doğrudan fiber kaplama üzerin ekstrakte edilir (Şekil 1.5). Yöntemin hazırlık süresi, çözücü kullanımı ve atık miktarı azdır. Bu yöntem çevre, gıda ve biyolojik örneklerde uçucu ve yarı uçucu maddelerin analizinde GC ve HPLC’de rutin olarak analizleri yapılmaktadır. SPME fiberin kendisi erimiş silika optik fiberdir. İnce film polimer ile kaplıdır ve bu kromatografide kullanılan geleneksel kaplama materyalidir. İki tip SPME uygulaması vardır; gaz örneklemeleri (Tepe boşluğu) yada çözelti örneklemeleri (Direkt batırma). Her iki durumda da SPME’nin iğnesi uygun konuma sokulur korunmuş olan fiberin iğnesi içeri çekilir ve fiber çevrenin etkisine maruz bırakılır. Polimer kaplama, maddelerin absorpsiyon/desorpsiyon yoluyla konsantre olması işlemleri sırasında bir

sünger gibi davranır. Ekstraksiyon gaz-sıvı yada sıvı-sıvı kromatografiye benzer prensiplere dayanmaktadır. Numune alındıktan sonra, metal iğne içeri geri çekilir ve bir sonraki adım olan maddenin fiberden kromatografi cihazına transferidir. Bu durumda, GC enjeksiyon kısmına maddenin termal desorpsiyonu gerçekleşir. Enjeksiyonun içine iğne geri çekildikten sonra fiber metal iğne dışına itilir. Fiber, mobil faz yoluyla elue edilen maddelerin etkisine maruz kalır. Kromatografi ve dedeksiyon limitleri geleneksel yollarla bulunur. SPME ekstraksiyonunun ana avantajı çözücü kullanımını azaltmasıdır.



Şekil 1.5 Supelco tarafından geliştirilen ticari SPME aygıtı

1.3.7.7. SPME'nin basit ekstraksiyon teorisi

SPME, bir adsorpsiyon ve desorpsiyon tekniğidir. Bu teknik, belirli organik bileşenlerin sıvı ya da katı örneklerden doğrudan veya kapalı bir ortamdaki katı-yarıkatı-sıvı örneklerin tepe boşluğundan sabit faz ile kaplı bir erimiş silika fiber üzerine adsorpsiyonu dayanmaktadır. Genellikle 2-30 dk.lık bir süre sonunda dengeye ulaşıldığında absorbe veya adsorbe edilen bileşenleri içeren fiber örnekten uzaklaştırılır. Bu bileşenler bir GC-enjektör portunda termal desorpsiyon işlemi ile geri alınarak uygun kolon ve dedektör ile analiz edilir.

Ekstraksiyon sırasında maddenin toplam kütlesi aşağıdaki eşitlikteki kütle dengesi ile ifade edilir,

$$C_o V_s = C_c V_c + C_h V_h + C_s V_s \quad (1.24)$$

C_o ortamda ki maddenin ilk konsantrasyonu;

C_c, C_h, C_s tepe boşluğu ve örnek kaplamanın içindeki maddenin denge yada son konsantrasyonu, V_c, V_h, V_s sırasıyla tepe boşluğu ve örnek kaplamanın hacmi.

Kaplama/tepe boşluğu dağılım katsayısı olarak tanımlarsak;

$$K_{ch} = C_c / C_h \quad (1.25)$$

Tepe boşluğu/örnek dağılım katsayısı olarak tanımlarsak;

$$K_{hs} = C_h / C_s \quad (1.26)$$

Maddenin absorbe olan kütlesi,

$$N = C_c V_c \quad (1.27)$$

Eşitlik 1.24. ve Eşitlik 1.27. kullanılarak daha açık bir şekilde ifade edersek,

$$\frac{K_{ch} K_{hs} V_c C_o V_s}{K_{ch} K_{hs} V_c + K_{hs} V_h + V_s} \quad (1.28)$$

$$K_{cs} = K_{ch} K_{hs} \quad (1.29)$$

Eşitlik 1.28.'in basitleştirilmiş hali;

$$n = \frac{K_{cs} V_c C_o V_s}{K_{cs} V_c + K_{hs} V_h + V_s} \quad (1.30)$$

*Eşitlik 1.30. ekstrete edilen madde miktarı bakımından önemlidir. Örnek ortamından direkt batırma yada tepe boşluğu kısmından direkt yerleştirilir ve tepe boşluğu yada çözelti içinde sabit tutulur. Eşitlik 1.30.'nin paydasındaki 3 terim madde için üç aşamadan her birinin kapasitelerini gösterir. Fiber kaplama ($K_{cs} V_c$), tepe boşluğu ($K_{hs} V_h$) ve örnek ortamı (V_s). Sistem içinde tepe boşluğu yoksa (örneğin tamamen dolu bir vialdeki sıvı faz örnekleme) gibi, $K_{hs} V_h$ terimi *Eşitlik 1.30.'den kaldırılabilir.**

$$n = \frac{K_{cs} V_c C_o V_s}{K_{cs} V_c + V_s} \quad (1.31)$$

Birçok durumda, fiber kaplama / numune ortamı dağılımı katsayısı (K_{cs}) kaplama hacmi, örnek ortam fazı oranından ($V_c \ll V_s$) nispeten daha küçüktür. Bu durumda, örnek ortamının kapasitesi fiber kaplamanın kapasitesinden önemli derecede büyüktür ve *Eşitlik 1.31*. meydana gelir:

$$n = K_{cs} V_c C_o \quad (1.32)$$

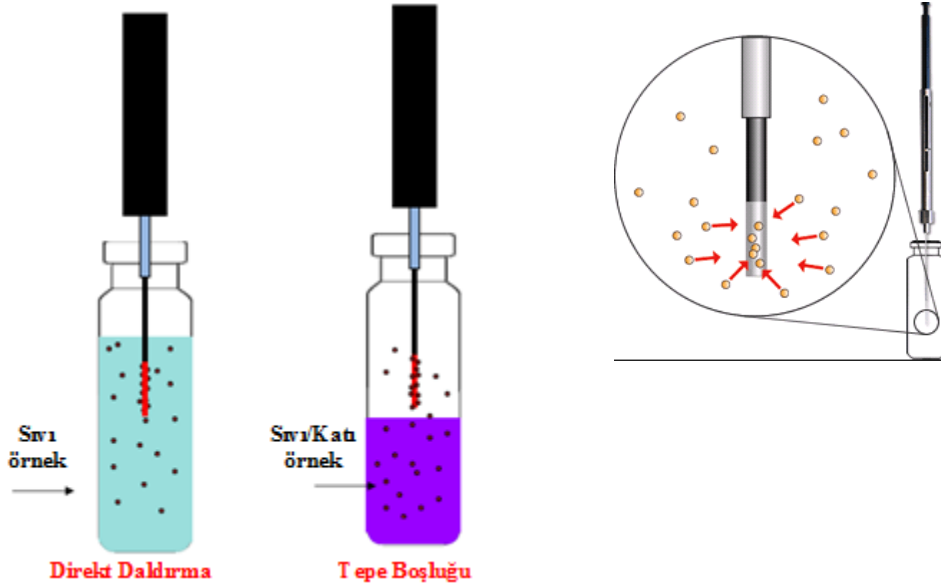
Fiber kaplama yoluyla ekstrakte edilen madde miktarı örnek hacminin bağımsız olması koşulların sağlanması,

$$K_{cs} V_c \ll V_s \text{ yada } \frac{C_c}{C_s} V_c \ll V_s \quad (1.33)$$

yerine getirilmesine bağlıdır. Örnek ve fiber kaplama ile madde konsantrasyonu oranı, iki faz arasındaki hacmin içinde büyüklük farkını dengelemek gerekir. Bu nedenle, SPME örnekleme, alan uygulamaları için kolaylıkla adapte olabilir ve bilinmeyen numunelerin direkt ölçümlerinde kullanılabilir. Ekstrakte edilen madde miktarı, örnek hacmine bağlı olmadan ortam içindeki konsantrasyonuna doğrudan karşılık gelir. Yukarıdaki eşitlikler, ekstraksiyon absorpsiyonuna dayanan ve güçlü bir ekstraksiyon faz hacmi ile ilgili sıvı polimer kaplamalar ile sınırlıdır. Yabancı bileşiklerin yüksek konsantrasyonları adsorbanın yüzeyinden hedef maddenin yerini alabilir. Yüksek konsantrasyon etkileri, fiber kaplamanın hacmine göre değişmektedir, yukarıdaki eşitlikte V_c , orijinal kaplama hacminin bir bölümü vasıtasıyla toplam yüzey alanının ölçümü, adsorpsiyon için uygun bir serbest yüzey alanına karşılık gelmektedir.

1.3.7.8. Ekstraksiyon tipleri

SPME aygıtı, dış yüzeyi polimerik sabit faz ile kaplı erimiş silika fiber ve fiberin içinde bulunduğu paslanmaz çelik bir tüp içeren mikro şırınga görünümünde bir alettir. Bu tüp örneğin bulunduğu vialin septumuna daldırılır ve daha sonra şırınga yardımıyla 1cm uzunluğundaki fiber uç tepe boşluğuna ya da doğrudan örnek içine itilir. Belli bir süre sonunda örnek içinde, tepe boşluğunda ve fiber üzerinde bulunan uçucu bileşenlerin konsantrasyonları arasında bir denge kurulur (Şekil 1.6).



Şekil 1.6 Direkt daldırma ve tepe boşluğu metodu, örneklerin fibere ekstraksiyonu

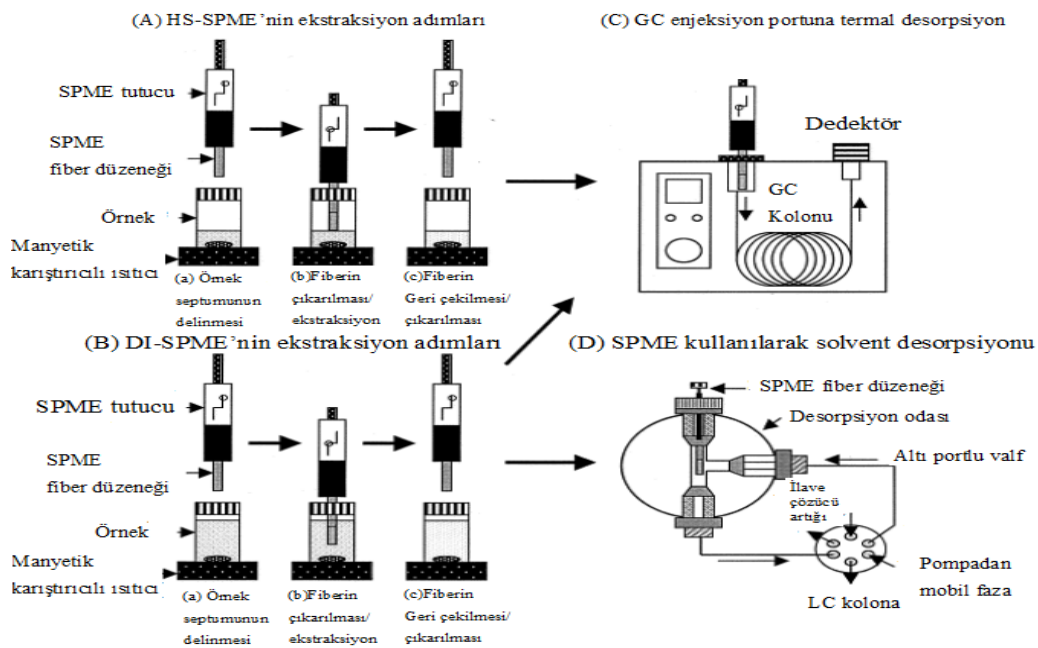
Uçucu bileşenlerin örnek/tepe boşluğu/fiber arasındaki dağılımı örnek ortamı, örneğin yağ içeriği, tuz konsantrasyonu, pH sı, istenmeyen bazı bileşenlerin bulunması, uçucu bileşenin polaritesi ve uçuculuğu, örnek ve tepe boşluğu hacimleri, örneğin çalkalanması ya da karıştırılması, örneğin sıcaklığı ve fiber seçiciliği gibi pek çok faktöre bağlıdır. Fiber sabit fazının küçük hacminden dolayı (yaklaşık 1 μ l), uçucu bileşenler pek çok durumda sadece kısmi olarak ekstrakte edilebilmektedir. Fiber tarafından ekstrakte edilen uçucu bileşen miktarı fiber üzerine kaplanan polimerin kalınlığına ve uçucu bileşenin denge sabitine bağlıdır. Ekstraksiyon süresi, en yüksek denge sabitlerine sahip uçucu bileşenlerin kesin ekstraksiyon için gerekli olan süre tarafından belirlenmektedir. Denge sabiti genellikle bir uçucu bileşenin molekül ağırlığı ve kaynama noktası yükseldikçe artmaktadır (Anon., 1999).

Direkt batırma yönteminde, fiber örnek ortamına yerleştirilir ve maddeler ekstraksiyon fazına direkt transfer olur. Sulu ortamlar için, hızlı örnek akışı, hızlı fiber yada vialin hareketi, karıştırma yada ultrasonik karıştırma gibi teknikler gereklidir. Karıştırma olmasa sıvı ortamdaki maddelerin fibere difüzyonu çok yavaş olur. Direkt batırma yönteminde pestisid analizi için en uygun yöntemdir ve doğrudan numune ortamı içine fiberin batırılması ile yapılır (Şekil 1.7. (B)).

Tepe boşluğundan numune alma metodunda, madde fiber kaplamaya ulaşmadan önce bir gaz tabakası boyunca taşınır. Yüksek molekül tartılı maddeler ve uçucu

olmayan eşlikçileri fiber kaplamaya zarar verir. Direkt batırma ve tepe boşluğu yöntemlerinde kullanılan hacimdeki dengede ekstrakte edilen madde miktarı aynıdır (Şekil 1.7. (A)).

Örnek yönteminin seçiminin ekstraksiyon kinetiği üzerinde büyük etkisi vardır. Fiber kaplama tepe boşluğu olduğunda dolaylı olarak tepe boşluğu ile ekstrakte olarak alınır. Sıcaklık maddelerin buhar basıncını belirleyerek prosesin kinetiği üzerine önemli bir etkiye sahiptir. Tepe boşluğu yönteminde uçucu maddelerin denge süresi direkt batırma yöntemine göre daha kısadır.



Şekil 1.7 Tepe boşluğu-SPME ve direkt batırma-SPME yoluyla ekstraksiyon prosesi ve GC ve HPLC analizleri için desorpsiyon sistemi

1.3.8. SPME optimizasyonu

1.3.8.1. Fiber tipi

SPME tekniğinde polimerik sabit faz ile kaplı 1 cm uzunluğunda erimiş silika fiber kullanılmaktadır (Şekil 1.8). Erimiş silika kimyasal olarak inert ve çok stabil bir madde olmasından dolayı tercih edilmektedir. Fiber üzerindeki sabit faz uçucu, yarı uçucu veya uçucu olmayan bileşenleri farklı örnek ortamlarından ekstrakte edebilir. SPME'nin başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için öncelikle hedef bileşenin kimyasal doğasına uygun bir fiber sabit fazının seçilmesi gerekmektedir. Fiber sabit fazının

etkinliği hedef bileşenin molekül ağırlığı, büyüklüğü, kaynama noktası ve buhar basıncı, hedef bileşenin ve fiberin polaritesi, hedef bileşen ve fiber üzerindeki fonksiyonel gruplar, fiberin ekstraksiyon mekanizması gibi faktörlere bağlıdır. Örneğin apolar fiberler hidrokarbonlar gibi apolar bileşenlerin, polar fiberler ise asitler, alkoller, fenoller ve aldehitler gibi polar bileşenlerin ekstraksiyonunda daha etkindirler. Ticari olarak bulunan farklı tipteki polimerik fazlarla kaplanmış fiberler polaritelerine göre apolar, bipolar veya polar olarak ve ayrıca adsorbent ya da absorbent tip fiber olup olmadıklarına göre sınıflandırılabilirler (Tablo 1.28 ve Tablo 1.29).

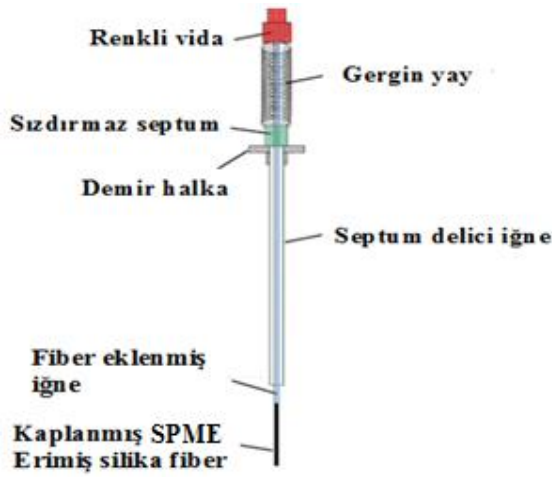
Tablo 1.28 SPME’de kullanılan fiberlerin genel özellikleri

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

PDMS: Polidimetilsiloksan,
DVB: Divinilbenzen,
PA: poliakrilat

Absorbent tip fiberler hedef bileşenlerin sıvı-benzeri bir faza taşınması ile ekstraksiyonu gerçekleştirirler. Hedef bileşenler sabit fazın içine ya da dışına (ya da yüzeyine) göç ederler. Sabit faz tarafından hedef bileşenlerin alıkonması ve serbest bırakılması başlıca sabit fazın kalınlığına ve hedef bileşenlerin miktarına bağlıdır. Daha kalın film kaplamalar yüksek örnek kapasitesine sahiptir. Adsorbent tip fiberler ise hedef bileşenler ile fiziksel etkileşime girerek ya da hedef bileşenleri kimyasal bağlarla yakalayarak ekstraksiyonu gerçekleştirirler. Adsorbent tip fiber kaplama materyalleri genellikle katıdır ve aynı sünger gibi mikro-, meso- veya makro-gözenekler içerirler. Ekstraksiyon hedef bileşenlerin gözenekler içinde yakalanması ile gerçekleşmektedir. Adsorbent tip fiberlerin kapasitesi sınırlıdır.

Fiberin tipik uzunluğu 1 cm ve kaplanmış silikanın çapı 0.95 mm'dir. Erimiş silika yüksek saflıkta sentetik amorf silikon dioksitten oluşur. Bu nanokristal, renkli, silika cam ile kombinlenmiş geniş bir spektral aralığında mükemmel optik özellikleri ve olağanüstü geçirgenliğı ile termal genleşme katsayısı çok düşüktür. Erimiş silika için birtakım farklı uygulamalar mevcuttur. Önemli uygulamalardan biri de yüksek enerjili laser optiktir. Erimiş silika pencereler, lensler ve 3mm için transmisyon oranı 0.16mm içinde prizma için kullanılır. Onun kırılma indeksi transmisyon aralığı boyunca 1.55 den 1.40 değişir [16].



Şekil 1.8 SPME’de kullanılan polimerik sabit faz

Tablo 1.29 Ticari SPME fiberlerin özellikleri [12]

Fiber Kaplama	Erimiş Silika Çapı (mm)	Erimiş Silika Yarıçapı (mm)	Çekirdek Hacmi (mm ³)	Toplam Çap (mm)	Toplam Hacim (mm ³)	Faz Hacmi (mm ³)	Polarlığı	Kaplama Stabilliği	Maksimum sıcaklık °C
7 µm PDMS	0.110	0.055	0.095	0.124	0.121	0.026	apolar	Zincirli	340
30 µm PDMS	0.110	0.055	0.095	0.170	0.227	0.132	apolar	Zincirsiz	280
100 µm PDMS	0.110	0.055	0.095	0.300	0.707	0.612	apolar	Zincirsiz	280
85µm Poliakrilat	0.110	0.055	0.095	0.280	0.616	0.521	polar	Çapraz bağlı	320
65µm PDMS/DVB	0.110	0.055	0.095	0.240	0.452	0.357	bipolar	Çapraz bağlı	270
75µm Karboksen/PDMS	0.110	0.055	0.095	0.260	0.531	0.436	bipolar	Çapraz bağlı	340
65µm Karbovaks/DVB	0.110	0.055	0.095	0.240	0.452	0.357	polar	Çapraz bağlı	260
60µm PDMS/DVB*	0.160	0.080	0.201	0.280	0.616	0.415	polar	Çapraz bağlı	270
50µm Karbovaks/TPR*	0.160	0.080	0.201	0.260	0.531	0.330	polar	Çapraz bağlı	240

* Fiber SPME/HPLC uygulamaları için tasarlandı

Not: Fiber kalınlığı ±10 µm civarında değişir.

1.3.8.2. Ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı

SPME yönteminde fiber, fiber üzerine ekstrakte edilen madde miktarı sabit fazın polaritesi ve kalınlığına bağlıdır ama aynı zamanda örnekteki madde miktarı ve ekstraksiyon süresine de bağlıdır. Denge süresi, deneysel hata sınırları içinde, ekstrakte edilen madde miktarı bittiğinde buna karşı gelen süre olarak tanımlanır. Denge süresi belirlenirken dikkat edilmelidir, bazı durumlarda çalışma eğrisinin eğiminde önemli bir azalma olursa denge aşamasına ulaşıldığında yanlış bir sonuçmuş gibi yorumlanabilir. Dengede ekstrakte edilen madde miktarının belirlenmesi dağılım katsayısının hesaplanması ile sağlanır. Denge çok uzun süre olduğunda kısa ekstraksiyon süreleri kullanılır. Bununla birlikte, bu tür durumlarda ekstraksiyon süresi ve kütle transferi koşullarında iyi bir hassasiyet sağlamak için kontrol edilmesi gerekir. Dengede, ekstraksiyon süresi içinde küçük değişimlere fiber tarafından ekstrakte edilen madde miktarını etkilemez. Diğer yandan, ekstraksiyon süresi-tepki eğrisi kısmında ekstraksiyon süresindeki küçük değişimler bile ekstrakte edilen madde miktarında önemli farklılıklar yaratabilir. Ekstraksiyon sıcaklığı özellikle yarı uçucu bileşiklerin analizinde oldukça önemlidir. Sıcaklığın maddelerin buhar basınçları üzerine büyük bir etkisi vardır. Yüksek sıcaklık aynı zamanda örnek ortamından maddelerin bırakılmasını kolaylaştırır. Yüksek sıcaklığın olumsuz bir etkisi ise ekstrakte edilen madde miktarında azalma olur. Fiber kaplama ve tepe boşluğu arasında ki dağılım katsayısındaki azalma, sıcaklık yükseldiğinde Absorpsiyon sürecinin ekzotermik yapısı nedeniyle açıklanabilir. Böylece, ekstraksiyon sıcaklığının optimize edilmesi yüksek hassasiyet seviyesine ulaşılmasını ve verimli ekstraksiyon oranını sağlar [17].

1.3.8.3. pH

Ortam pH'sı asidik ve bazik pestisidlerin optimize etmek için ayarlanabilir. Asidik pestisidler için ekstraksiyon verimi pH azaldıkça artar. Düşük pH, asidik pestisidlerin asit-baz dengesi sabit faz içinde maddelerin bölünmesi ve nötral forma doğru kaymasına sebep olur. Tersine, temel pestisidler ekstraksiyon veriminin azalması ve pH azalması ile iyonize olur. Genel olarak, bileşikler ayrışmamış olarak tutuluyorsa ekstraksiyon daha etkili olur. Direkt batırma-SPME'de yüksek ve düşük pH çözeltisi ile fiber kaplamanın zarar görmesi artacaktır [18].

1.3.8.4. Tuz etkisi

Prensip olarak, örneğin tuz ile aşırı doyması tuz etkisi nedeniyle fiber üzerinden maddelerin Ekstraksiyonu için çok etkilidir. Direkt batırma metodunda tuz etkisi fibere zarar vereceğinden tuz ilavesi tepe boşluğu yönteminde tercih edilir [19].

1.3.8.5. Çalkalama

Ekstraksiyon verimi numune ortamı ve sabit faz arasındaki madde ile ilişkilidir. Maddenin denge süresi sulu fazda ki maddelerin kütle transfer oranına bağlıdır. Yani çalkalama fiber ve sulu örneğin arasındaki kütle transferini kolaylaştırmak için gereklidir. Ekstraksiyona hızlı karıştırma uygulandığında ekstraksiyon verimi üzerine etkilidir [19].

1.3.8.6. Örnek hacmi

Verilen dedeksiyon sistemi için SPME yöntemi ile elde edilen hassasiyet sadece numuneden ekstrakte edilen maddenin mol sayısına bağlıdır. Örnek hacmi büyük ölçüde kaplama hacmini aşarsa ($V_s \gg V_c$), ekstrakte edilen madde miktarı örnek hacminden bağımsızdır ve denge dağılımı sağlanır. Mevcut örnek hacmi kaplama hacmine göre daha fazla değilse, o zaman örnek hacmini ölçmek gereklidir. Buharlaşma, Adsorpsiyon veya mikrobiyolojik aktivite nedeniyle madde kaybı minimize edilmelidir. Tepe boşluğu SPME’de hacim ve örnek/gaz temas alanı kinetik prosesi etkiler. Küçük gaz fazı örnek ile ilgili olup, örnek ortamından fiber kaplamaya daha hızlı madde taşınmasını sağlar. Statik SPME olarak, vialin kesiti, numune ve tepe boşluğu arasındaki kütle transfer hızını belirler. Aynı karıştırma tekniği ile üretilen taşınım büyüklüğü şişenin şekline bağlıdır [20].

1.3.8.7. Desorpsiyon süresi ve sıcaklığı

Bir maddenin uçuculuğu, fiber kaplamanın kalınlığı, enjeksiyon sıcaklığı ve etki süresi bir GC enjeksiyon portunda bir maddenin termal desorpsiyonuna bağlıdır. Bir split/splitless enjektör içinde düzenli bir sıvı numune enjeksiyon için, büyük bir hacime (3-5 mm) sahip olması gerekir. Enjeksiyon duyarlılığını arttırmak, maddenin tam olarak transferini sağlamak için analiz splitless modunda gerçekleştirilir. Genel olarak,

desorpsiyon sıcaklığı en az uçucu maddelerin kaynama noktasına yaklaşık olarak eşit olduğu zaman optimaldir. Piklerin genişlemesini önlemek için ilk olarak GC kolon sıcaklığını düşük tutmak gerekir yada soğutulmalıdır. Maddelerin önkonsantrasyonu kolonun başındayken elde edilir. Enjeksiyon sıcaklığı ve fiber çevresinde oluşan doğrusal akış hızı desorpsiyon süresine bağlıdır. Apolar, uçucu bileşikler için neredeyse birkaç sn. içinde tamamlanır ama desorpsiyona bir yada 2 dk. devam edilmelidir [20].

2. MATERİYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kimyasallar

Analizlerde kullanılan çözücüler GC saflıkta merck, Darmstadt, Germany markadır. Milipore 0.45 µm membran filtreden geçirilmiş saf su kullanıldı.

2.1.2. Standartlar

Meyve ve sebze yetiştiriciliğinde kullanılan on sekiz pestisid (Aldrin, dieldrin, α-BHC, β-BHC, γ-BHC, δ-BHC, p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD, α-endosulfan, β-endosulfan, endosulfan sülfat, endrin, endrin aldehit, endrin keton, heptaklor, heptaklor-epoksit (izomer A), metoksiklor) içeren organoklorlu pestisid mix.2 (YA08080100TH) karışımı Dr. Ehrenstorfer GmbH'den satın alındı.

2.1.3. Cihazlar

1. Ultrasonik banyo
2. Manyetik karıştırıcılı ısıtıcı
3. GC-MS cihazı- Agilent teknoloji 5975C

2.1.4. Enstrümental

2.1.4.1. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS)

Agilent 5975C inert GC-MS cihazı kullanıldı. Gaz kromatografi / Kütle Spektrometresi: Agilent 5975C, Otomatik örnekleme ünitesi ile komple bir sistemdir. Kolon: HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Agilent 5975C inert GC-MS genel görünümü

2.2. Yöntem

2.2.1. Standart stok çözeltisi

2000 ppm’lik Organoklorlu pestisid mix.2 (Dr. Ehrenstorfer GmbH) çözeltisi stok çözeltisi hekzan/toluen karışımında hazırlanmış standart referans kullanıldı. Bu çözeltiden 50 ppm ara çözelti metanolde hazırlandı. Daha sonra bu ara çözeltiden 0.1, 0.5, 1, 5, 10 ppm’lik ikinci ara çözeltiler metanolde hazırlandı. Çalışma çözeltileri olarak 0.1 ppm’lik ara çözeltiden 0.00001, 0.00005, 0.0001 ppm’lik çalışma çözeltileri %80 su %20 metanolde, 0.5 ppm’lik ara çözeltiden 0.00025 ppm’lik çalışma çözeltisi %80 su/%20 metanolde, 1 ppm’lik ara çözeltiden 0.0005, 0.001 ppm’lik çalışma çözeltileri %80 su %20 metanolde, 5 ppm’lik ara çözeltiden 0.0025, 0.005 ppm’lik çalışma çözeltileri %80 su %20 metanolde ve 10 ppm’lik ara çözeltiden 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 ve 1 ppm’lik çalışma çözeltileri metanol:su (1:4) karışımında hazırlandı. Çalışma çözeltileri metanol:su oranı sabit tutulacak şekilde ayarlandı.

2.2.2. Örnekler

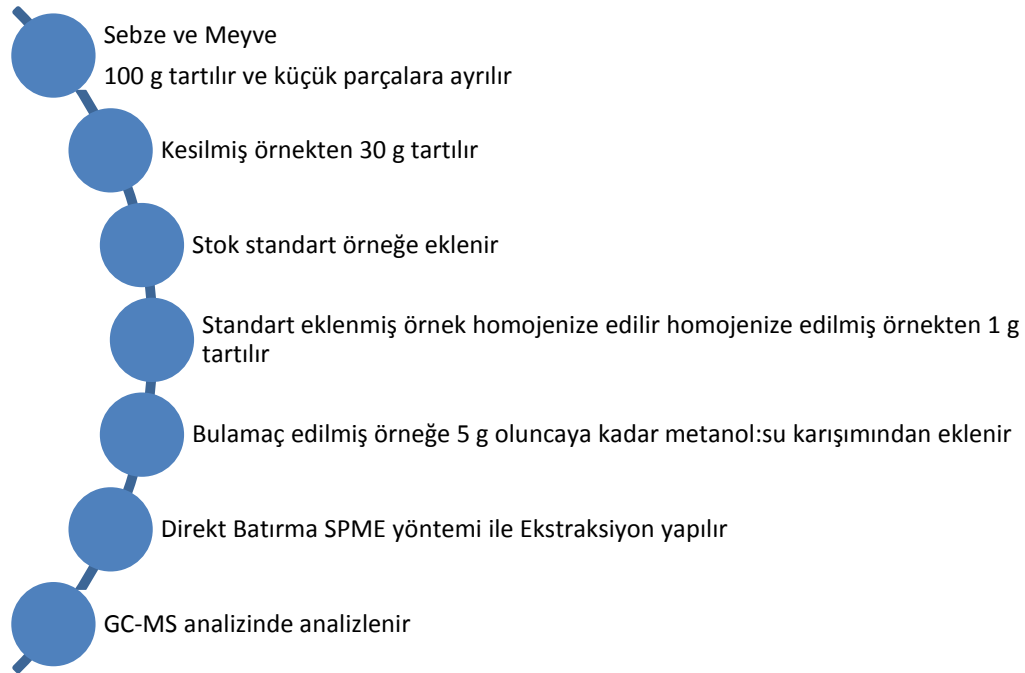
Meyve ve sebzelerdeki pestisid kalıntı analizi 1 çeşit meyve ve 1 çeşit sebze üzerinde yapıldı. Çilek ve salatalık örnekleri Kadıköy bölgesi semt pazarından alındı. Her bir standardın belirli hacimleri boş örneğe eklendi. Pestisidlerin geri kazanımı,

standart kalibrasyon çözeltileri ile örneğe eklenen standarda karşı maddenin oranının karşılaştırılmasıdır.

2.2.3. Örnek hazırlama

Meyve ve sebze örnekleri 100 g tartılır ve küçük parçalar halinde kesildi. Bunun içinden 30 g tartılıp 150 mL'lik behere alındı. 0.16 ppm (düşük), 5 ppm (yüksek) standart stok çözeltiden alınarak örneklere eklendi ve baget ile karıştırıldı. Örnekler oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Daha sonra örneklere 30 g metanol:su (1:4) karışımı eklendi ve blenderden geçirildi. Blenderden geçirilmiş örnekten 1 g tartılıp üzerine 5 g oluncaya kadar metanol:su (1:4) karışımı eklendi ve Ultrasonik banyoda 10 dk. bekletildi. Daha sonra Ekstraksiyon yapılacak olan viallere konuldu (Şekil 2.2).

SPME aygıtı bir Hamilton şırınga (model, 7005) bir piston içine yerleştirilen 15 cm uzunlukta paslanmaz çelik iğne ucuna takılı 7,5 cm'lik bir fiberden ibarettir. Supelco, Bellefonte, PA, ABD'den satın alındı. 65 µm PDMS/DVB fiber kaplama kullanıldı. SPME analizini etkileyen ana parametreler optimize edildi. Bunlar, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı, karıştırma hızı, desorpsiyon sıcaklığı ve çözücü: su oranıdır. Bu çalışmada çözücü olarak metanol kullanıldı.



Şekil 2.2 SPME yöntemi kullanarak pestisidlerin meyve ve sebzelerdeki analiz akış şeması [12]

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Kromatografik Şartların Optimizasyonu

3.1.1. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS)

GC-MS analizinde beklenen hassasiyeti elde etmek için iyi optimize edilmiş GC parametreleri gerekir. Çok sayıda Splitless parametresi GC-MS'nin performansını etkileyebilir. Bu yüzden enjeksiyon portu sıcaklığı ve denge süresinin optimize edilmesi gerekir. 0.01-50 µg/L konsantrasyonlarında 18 pestisid standart karışımı GC-MS'nin performansını optimize etmek için kullanıldı. Standart karışım çözeltisi her bir parametre için üç kez tekrarlandı ve ortalaması alındı. Ortalama pik alan değerleri tablo haline getirildi ve grafik çizildi. Optimum parametreler grafikten belirlendi.

3.1.1.1. Kromatografik koşulların belirlenmesi ve pestisidlerin alıkonma zamanlarının tespiti

Analizlerde Agilent marka 5975C marka GC-MS kullanıldı. Analizler 30x0.25mmx0.25µm HP-5MS %5 fenilmetilsiloksan kapiler kolonu kullanılarak yapıldı. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyum 1 mL/dakika akış hızına, kolon giriş basıncı 1.7 psi'ye ve enjeksiyon bloğu 1:30 splitless olarak ayarlandı. Programlı kolon sıcaklığı kullanıldı. Başlangıç sıcaklığı 120 °C'ye ayarlandı ve bu sıcaklığın 0.5 dk. sabit kalması sağlandıktan sonra 29 °C/dk. sıcaklık artışı ile 260 °C'ye çıkartıldı ve bu sıcaklıkta 2.5 dk. tutuldu. Daha sonra 28 °C/dk. son sıcaklık olan 320 °C'ye çıkartıldı ve burada 3 dk. sabit kalması sağlandı.

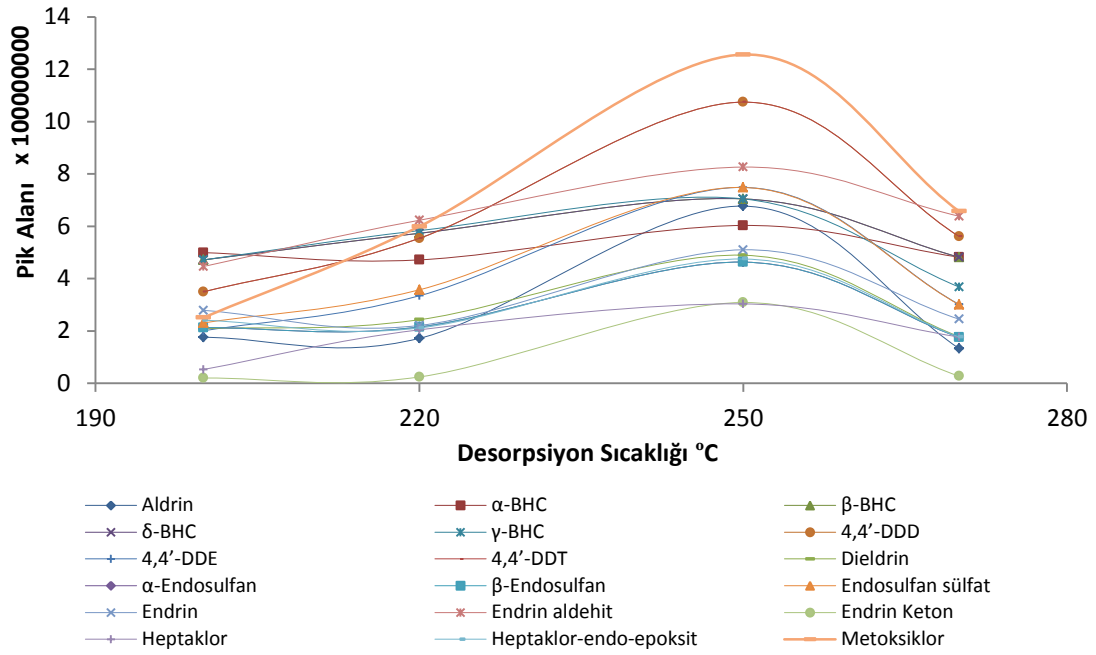
Uygun konsantrasyonlarda hazırlanmış pestisid çözeltileri aşağıda verilen GC-MS şartlarında analizlendi.

- Kolon: HP-5-MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm)
- Hareketli faz: 1mL/ dakika akış hızında Helyum gazı
- Enjeksiyon sıcaklığı: 250°C
- Enjeksiyon hacmi: 1 µL

- Scan Parameters: 50-550
- Mode: Splitless
- Kolon Basıncı: 10.468 psi
- Toplam akış: 1 mL/dk.
- Ortalama Hız: 37 cm/sn.

3.1.1.2. Enjeksiyon bölümünün sıcaklığı

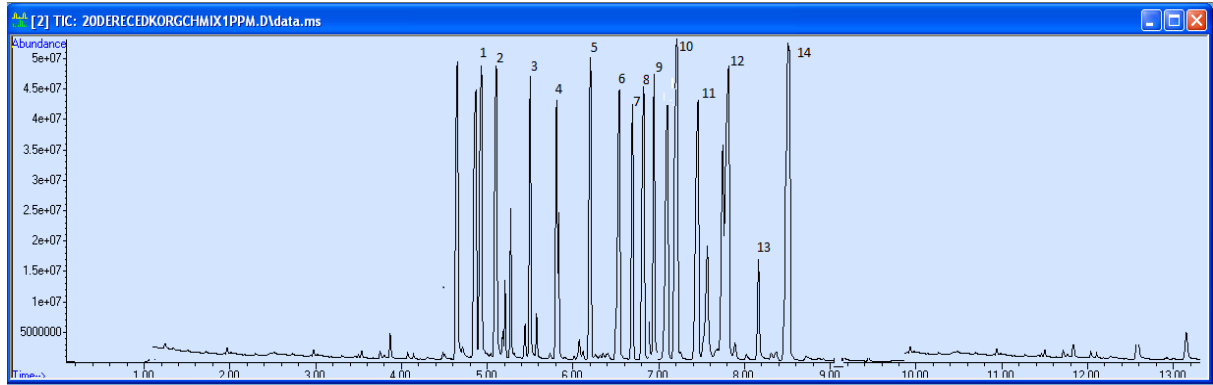
Enjeksiyon portu sıcaklığı, buharlaşma hızının en yüksek olması için nispeten yüksek olmalıdır. Yüksek enjeksiyon noktası sıcaklığı kullanıldığında pikler dar bantta yüksek çözünürlükte elde edilir. Bununla birlikte, yüksek enjeksiyon portu sıcaklığı uygulanırsa kauçuk septum düşebilir ve bu nedenle enjeksiyon portu kirlenebilir. Diğer parametreler sabit tutulurken enjeksiyon portu sıcaklığı 18 standart pestisid ile 200-270 °C arasında belirlendi. Şekil 3.1 enjeksiyon portu sıcaklığının optimizasyonu ile elde edilen sonuçları göstermektedir. Aldrin, dieldrin, α -BHC, β -BHC, γ -BHC, δ -BHC, p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD, α -endosulfan, β -endosulfan, endosulfan sülfat, endrin, endrin aldehit, endrin keton, heptaklor, heptaklor-epoksit (izomer A), metoksiklor gibi düşük buhar basıncına sahip pestisidler için en yüksek hassasiyet 250 °C de görülmüştür. Böylece bu çalışma için ideal enjeksiyon portu sıcaklığı 250 °C olarak seçildi.



Şekil 3.1 Desorpsiyon sıcaklığının etkisi

3.1.1.3. Gaz kromatografik ayırma

18 pestisid GC-ECD cihazında optimize edildi. Aşağıdaki Şekil 3.2 uygun koşullar altında 18 pestisidin standart karışımının kromatogramını göstermektedir. pestisid



Şekil 3.2 Organoklorlu pestisid mix.2'nin optimum şartlar altında GC-MS'deki kromatogramı. 1. γ -BHC, 4.934 dk.; α -BHC, 4.934 dk.; β -BHC, 4.934 dk.; 2. δ -BHC, 5.112 dk.; 3. Heptaklor, 5.506 dk.; 4. Aldrin, 5.810 dk.; 5. Heptaklor-endo-epoksit, 6.204 dk.; 6. α - β -Endosulfan, 6.542 dk.; 7. 4,4'-DDE, 6.697 dk.; 8. Dieldrin, 6.822 dk.; 9. Endrin, 7.103 dk.; 10. 4,4'-DDD, 4,4'-DDT, 7.212 dk.; 11. Endrin aldehit, 7.458 dk.; 12. Endosulfan sülfat, 7.812 dk.; 13. Endrin keton, 8.253 dk.; 14. Metoksiklor, 8.516 dk.

18 pestisid standardının karışımları için lineeritesi elektron yakalama detektörünün hassasiyetine bağlı olarak 0.00001-1 mg/L arasında çalışıldı. Regresyon katsayısı (r^2) 0.922565-0.998114 arasında lineerdir. %RSD sonuçları %20'nin altında bulunmuştur. Elde edilen değerler Tablo 3.1'de gösterildi.

Tablo 3.1 GC-MS'de lineer aralık, regresyon katsayısı ve %RSD

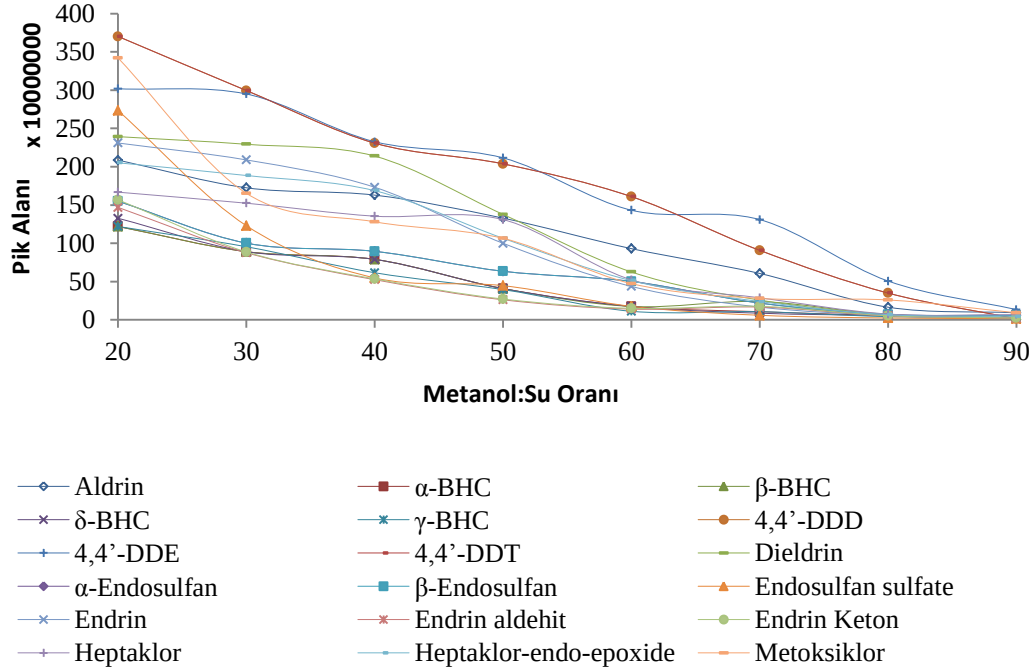
Pestisid	Retensiyon zamanı (dk.)	Lineer aralık (mg/L)	r^2	%RSD (n=5)
γ -BHC	4.934	0.0005-1	0.988211	9.7
α -BHC	4.934	0.0005-1	0.984245	9.5
β -BHC	4.934	0.0005-1	0.984245	9.5
δ -BHC	5.112	0.0005-1	0.984245	9.1
Heptaklor	5.506	0.0025-1	0.982709	10.3
Aldrin	5.810	0.001-1	0.998114	8.5
Heptaklor-endo-epoksit	6.204	0.0025-1	0.931304	14.6
α -Endosulfan	6.542	0.001-1	0.959523	10.7
β - Endosulfan	6.542	0.001-1	0.956331	10.7
4,4'-DDE	6.697	0.00005-1	0.960097	13.6
Dieldrin	6.822	0.00005-1	0.937598	8.3
Endrin	7.103	0.00001-1	0.922565	8.7
4,4'-DDD	7.212	0.0005-1	0.989866	12.8
4,4'-DDT	7.212	0.0005-1	0.989866	12.8
Endrin aldehit	7.458	0.00001-1	0.972534	16.9
Endosülfan sülfat	7.812	0.001-1	0.923921	10.5
Endrin keton	8.253	0.00025-1	0.988277	17.4
Metoksiklor	8.516	0.0025-1	0.956890	9.3

3.2. Meyve ve Sebzelerdeki Pestisid Kalıntılarının Çoklu Kalıntı Analizleri-Katı-Faz Mikroekstraksiyon (SPME)

Kantitatif analizde SPME'yi etkileyen birçok etki vardır. Tüm bu etkilerin metot validasyonu öncesi optimize edilmesi gerekir.

3.2.1. Çözücü oranı etkisi

SPME yöntemiyle çilek ve salatalıktan organoklorlu pestisid karışımının ekstraksiyonu amacıyla metanol:su (20:80) (h/h), (30:70) (h/h), (40:60) (h/h), (50:50) (h/h), (60:40) (h/h), (70:30) (h/h), (80:20) (h/h) ve (90:10) (h/h) çözücü oranları kullanılarak en yüksek geri kazanım oranını ve en az karışık kromatogramı sağlayan çözücü karışım oranı belirlendi. En iyi pik alanı % 20 Metanol: %80 Su karışımı vermiş olup çalışmanın devam eden aşamalarında bu oran kullanıldı.



Şekil 3.3: Metanol:su oranının etkisi

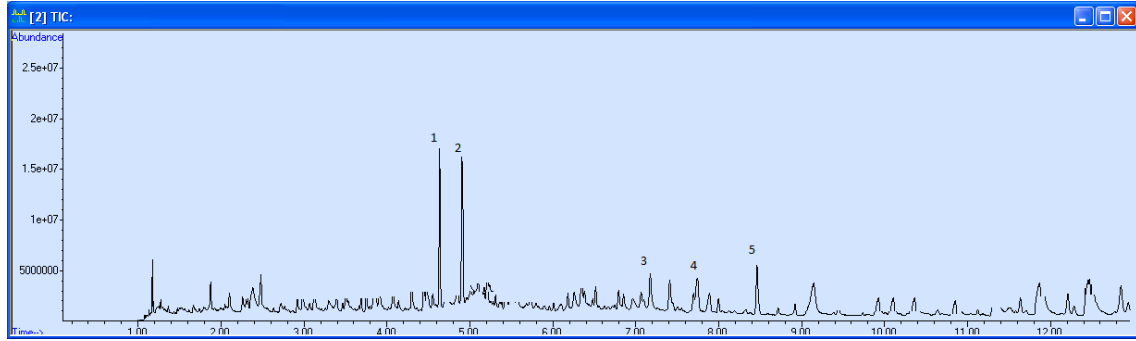
3.2.2. Direkt batırma yöntemi

SPME prosedüründe direkt daldırma yöntemi kullanıldı. Denemelerde, çilek ve salatalık örneklerine 18 pestisid karışımını içeren standart örnekten 1-5 mg/L konsantrasyonlarında pestisid eklendi. Sulu örneğin son hacmi 5 mL'dir. Ekstraksiyon

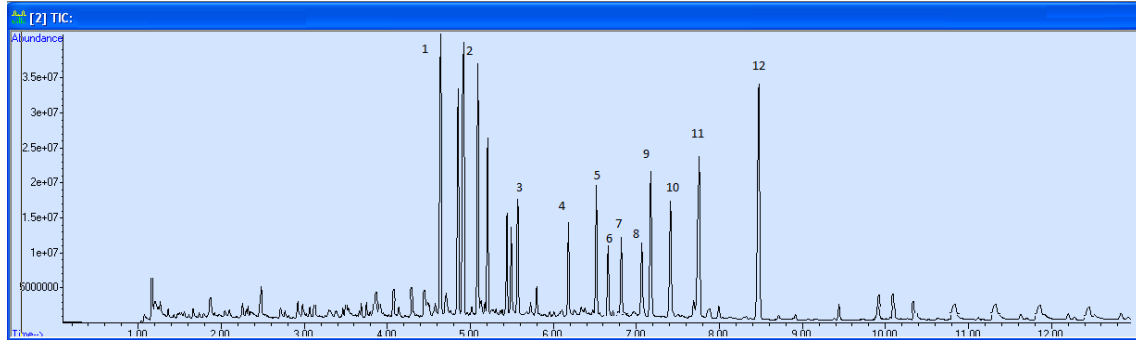
oda sıcaklığında 450 rpm'de 60 dk. boyunca 60µm'lik PDMS/DVB ile yapıldı. Her deneme 3 kez yapılmış ve üç denemenin ortalaması alındı.

Sonuçlarda SPME yöntemi ile 18 pestisidinde tespit edildi.

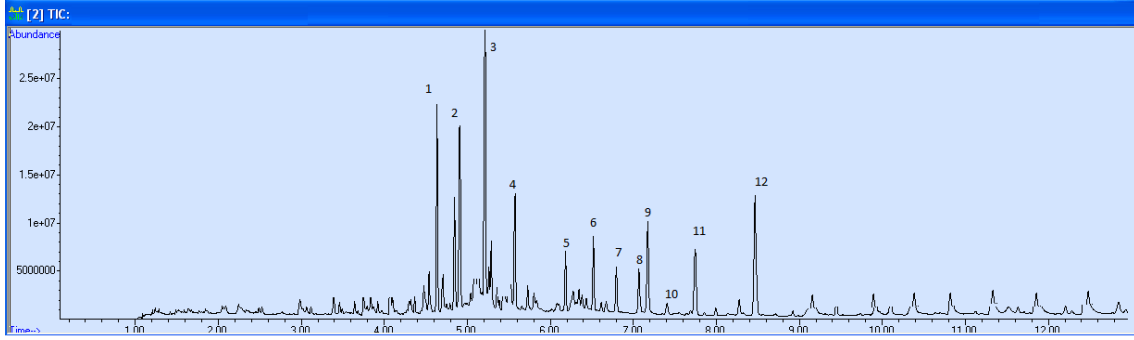
Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6 ve Şekil 3.7 salatalık ve çilek için direkt batırma yöntemi ile ekstrakte edilen pestisidlerin (83.3 ng/mL ve 416 ng/mL) kromatogramını göstermektedir.



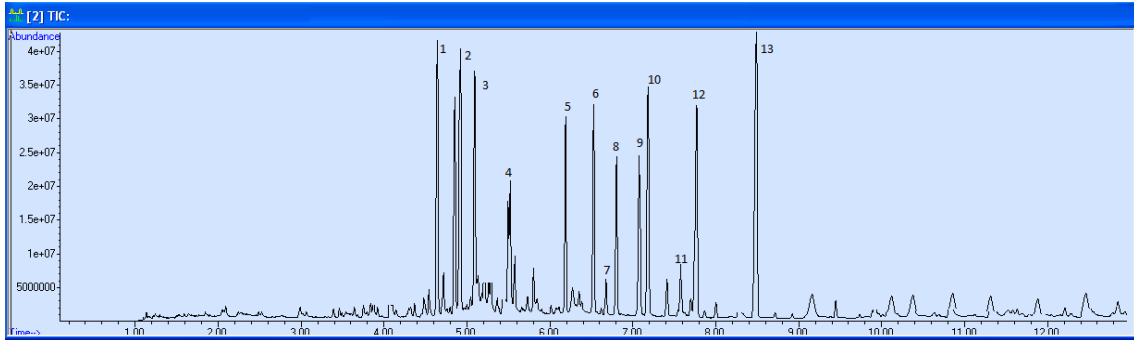
Şekil 3.4 83.3 ng/mL Organoklorlu pestisid mix.2 içeren çilek örneğinin optimum şartlar altında GC-MS'deki kromatogramı. 1. δ -BHC, 4.637 dk.; α -BHC, 4.637 dk.; β -BHC, 4.637 dk.; 2. γ -BHC, 4.906 dk.; 3. 4,4'-DDD, 7.171 dk.; 4. Endosulfan Sulfat, 7.744.; 5. Endrin keton, 8.459 dk.



Şekil 3.5 416 ng/mL Organoklorlu pestisid mix.2 içeren çilek örneğinin optimum şartlar altında GC-MS'deki kromatogramı. 1. δ -BHC, 4.648 dk.; α -BHC, 4.648 dk.; γ -BHC, 4.648 dk. 2. β -BHC, 4.917 dk.; 3. Heptaklor, 5.494 dk.; Aldrin, 5.494 dk.; 4. Heptaklor-endo-epoksit, 6.181 dk.; 5. α - β -Endosulfan, 6.519.; 6. 4,4'-DDE, 6.667 dk.; 7. Dieldrin, 7.171 dk.; 8. Endrin, 7.068 dk.; 9. 4,4'-DDD, 4,4'-DDT, 7.171 dk.; 10. Endrin Aldehit, 7.411 dk.; 11. Endosulfan sulfat, 7.755 dk.; 12. Endrin, 8.476 dk.; Endrin keton, 8.476 dk.; Metoksiklor, 8.476 dk.



Şekil 3.6 83.3 ng/mL Organoklorlu pestisid mix.2 içeren salatalık örneğinin optimum şartlar altında GC-MS'deki kromatogramı. 1. δ -BHC, 4.637 dk.; α -BHC, 4.637 dk.; β -BHC, 4.637 dk. 2. γ -BHC, 4.911 dk.; 3. Heptaklor, 5.494 dk.; 4. Aldrin, 5.798 dk.; 5. Heptaklor-endo-epoksit, 6.187 dk.; 6. α - β -Endosulfan, 6.519.; 7. Dieldrin, 6.794 dk.; 8. Endrin, 7.069 dk.; 9. 4,4'-DDD, 4,4'-DDT, 6.667 dk; 10. Endrin Aldehit, 7.406 dk.; 11. Endosulfan sülfat, 7.744 dk.; 12. Endrin, 8.465 dk.; Endrin keton, 8.465 dk.; Metoksiklor, 8.476 dk.

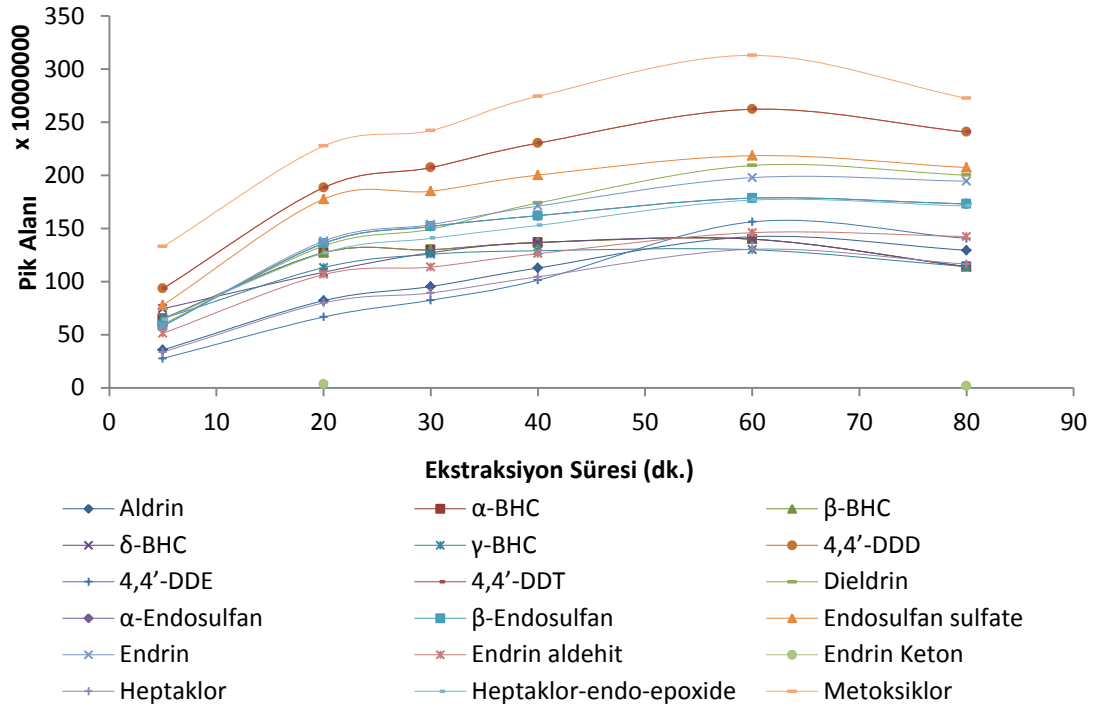


Şekil 3.7 416 ng/mL Organoklorlu pestisid mix.2 içeren salatalık örneğinin optimum şartlar altında GC-MS'deki kromatogramı. 1. δ -BHC, 4.648 dk.; α -BHC, 4.637 dk.; β -BHC, 4.637 dk. 2. γ -BHC, 4.923 dk.; 3. Heptaklor, 5.494 dk.; 4. Aldrin, 5.798 dk.; 5. Heptaklor-endo-epoksit, 6.193 dk.; 6. α - β -Endosulfan, 6.530.; 7. 4,4'-DDE 8. Dieldrin, 6.805 dk.; 9. Endrin, 7.080 dk.; 10. 4,4'-DDD, 4,4'-DDT, 7.183 dk; 11. Endrin Aldehit, 7.412 dk.; 12. Endosulfan sülfat, 7.766 dk.; 13. Metoksiklor, 8.493 dk.

3.2.3. Ekstraksiyon süresinin etkisi

Düşük denge süresi difüzyon katsayısı ile ters orantılı olduğundan yüksek moleküllü maddeler için daha uzun denge süresi beklenir. Ekstraksiyon verimine ekstraksiyon süresinin etkisi 5-80 dk. arasında değişen sürelerde incelendi (Şekil 3.8).

PDMS/DVB fiber ile optimum şartlar altında ekstraksiyon süresinin herbir pestisid üzerine etkisi grafikte gösterilmiştir.

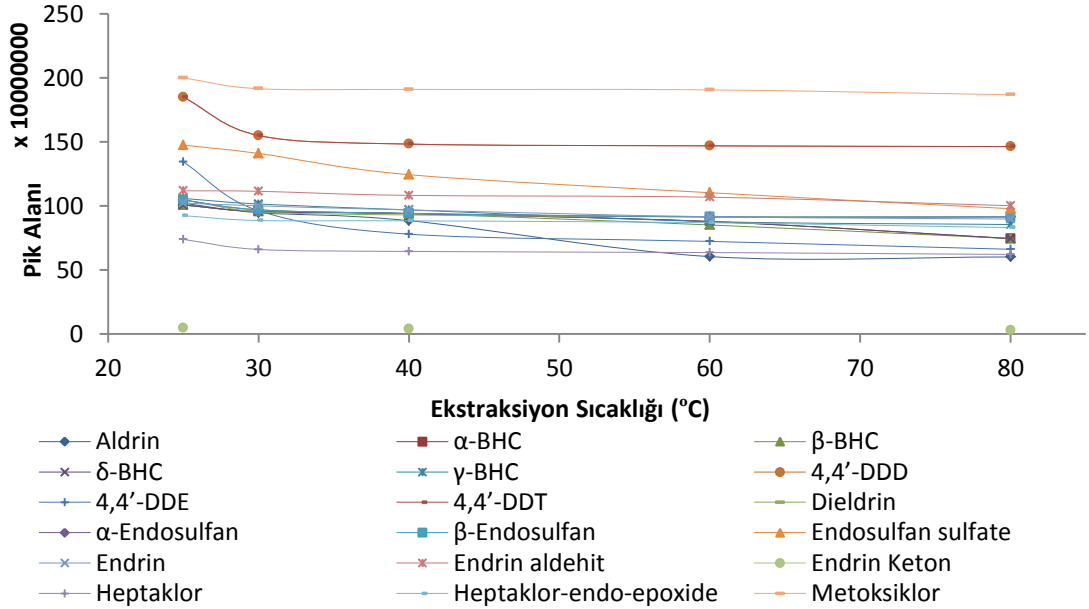


Şekil 3.8 Ekstraksiyon süresinin etkisi

PDMS/DVB fiber için, maddelerin çoğu 60 dk. da dengeye ulaşıldı. Sonuçlar dengenin bileşenlere bağlı olduğunu ve farklı bileşikler ile önemli ölçüde değişebileceğini göstermektedir. İyi karıştırılan bir çözelti içinde kütle transferi dinamikleri kaplamada maddenin difüzyon katsayısı tarafından kontrol edilir. Bir sıvı polimer kaplama ile gereken ekstraksiyon süresi bir katı faz polimer için gerekenden çok daha az olacaktır. Yüksek hidrofobiklik ve ekstraksiyon sırasında oluşabilecek madde kaybı nedeniyle son ekstraksiyon süresi önemlidir.

3.2.4. Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi

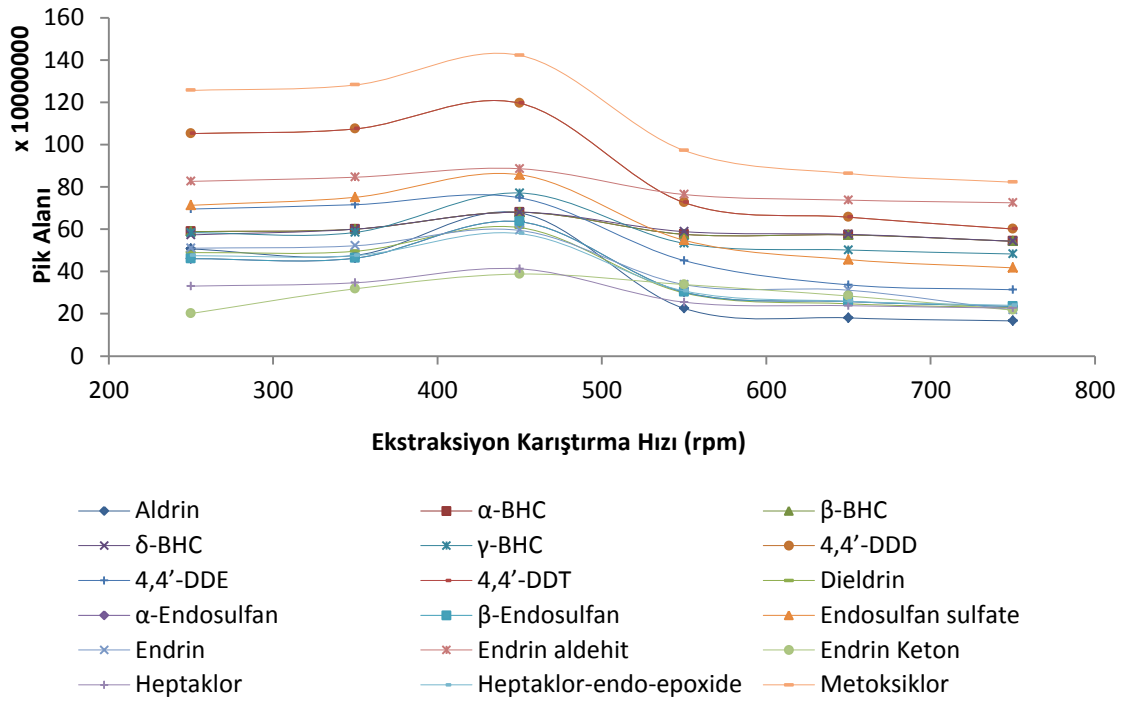
Ekstraksiyon sıcaklığı kaplama içinde maddelerin difüzyon oranının kontrol ederek ekstraksiyon prosesinde önemli bir rol oynar. Ekstraksiyon verimine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi 20-80 °C arasında değişen sıcaklıklarda araştırıldı. Teorik olarak sıcaklıktan direkt olarak etkilenen absorpsiyon verimini etkileyen 3 parametre vardır. İlk parametre örneklerin tepe boşluğu içine maddelerin buhar basıncıdır. İkinci parametre SPME fiber kaplama üzerine absorpsiyon prosesleridir. Maddelerin difüzyon oranı yüksek sıcaklıkta artar böylece fiber üzerine absorbe olan maddeler artar. Aynı zamanda, sıcaklık arttıkça SPME fiber kaplamanın organik maddeleri absorbe edebilme yeteneği azalır. Optimum sıcaklığın üzerine çıkıldıkça Ekstraksiyon verimi üzerine olumsuz etkisi vardır. Son parametre yüksek sıcaklık koşulları altında bileşiklerin stabilitesidir. Hidrolize olan pestisidlerin bozunması yüksek sıcaklıklarda hızlanır ve böylece ekstraksiyon verimi düşer. Bu nedenle, kararsız bileşiklerin termal analizi için düşük sıcaklıklarda kullanılması tavsiye edilir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, en uygun ekstraksiyon sıcaklığının 25 °C (Şekil 3.9) olduğunu gösterdi.



Şekil 3.9 Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi

3.2.5. Karıştırma oranının etkisi

Karıştırma şiddeti zaman profilini etkileyen önemli parametrelerden biridir. Örnek ortamında karıştırma ile yeni bir yüzey oluşarak sulu numuneden fibere maddelerin adsorpsiyonu hızlandırır. Maddeler hızla hava konveksiyonu ile fibere taşınır. Karıştırma hızının kuvvetli olması ve tüm deneylerde sabit tutulması gerekir. Gereken karıştırma hızı vialin (4 mL) ve manyetik balığın boyutlarına bağlıdır. Optimum karıştırma hızını bulabilmek için 250-750 rpm arasında farklı karıştırma hızlarında denemeler yapıldı. Karıştırma hızı arttıkça denge süresi kısalmıştır. Ekstrakte edilen madde miktarı 750 rpm'den daha büyük hızlarda azalır. Çok hızlı karışırtmalarda manyetik balık kontrol edilemez ve dönüş hızı etkilenir ve fiberin üzerinde damlacıklar oluşturur. Ekstraksiyon verimi açısından 450 rpm en uygun karıştırma hızı olarak bulundu (Şekil 3.10).



Şekil 3.10 Karıştırma hızının (rpm) etkisi

3.3. Pestisid Ekstraksiyon Analiz Metotlarının Geçerli Kılınması (Validasyonu)

3.3.1. Kalibrasyon eğrisi (Lineerlik) pestisid

0.00001-1 ppm arasında yapılan çalışmada tayini yapılan 18 organoklorlu pestisite ait kalibrasyon grafikleri Ek16-Ek33 arasında verilmiştir.

3.3.2. % Geri kazanım ve En Düşük Tespit Sınırı (LOD)

Pestisid karışım çözeltisi için yaptığımız ekstraksiyonun verimini hesaplamak için pestisidin metanol:su (1:4) içine 83,3 ng/mL ve 416 ng/mL konsantrasyonlarında 2 tane standart çözeltisi hazırlandı. Standartlar numune hazırlama metoduna göre ekstrakte edildikten sonra GC/MS'e verildi. Bu çalışmaya paralel olarak pestisid katılmamış örnek hazırlandı ve yine numune hazırlama metoduna göre ekstrakte edilip GC/MS'e verildi. Bu her iki uygulama arasındaki farktan faydalanarak ekstraksiyonun % verimi hesaplandı. Hesaplamalar 5 uygulamanın ortalaması alınarak yapıldı. 416 ng/mL pestisid karışımından eklenen örneklerin geri kazanım sonuçları (%95 güven aralığı esas alınarak) ve tespit sınırlarının hesaplanması için 0.00025 mg/L organoklorlu pestisit karışımı içeren örneklerde yapılan çalışmaların sonuçları Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2 Çilek ve Salatalık örneklerinde Geri Kazanım % ve LOD

Pestisid	Retensiyon zamanı (dk.)	Çilek Geri Kazanım (%)	Salatalık Geri Kazanım (%)	LOD (µg/L) (n=7)
γ-BHC	4.648	73.32	80.72	0.267
α-BHC	4.648	65.09	69.62	0.245
β-BHC	4.917	65.09	69.62	0.245
δ-BHC	4.648	63.48	69.62	0.280
Heptaklor	5.494	91.07	93.97	0.387
Aldrin	5.494	76.02	86.43	0.446
Heptaklor-endo-epoksit	6.181	80.43	75.90	0.319
α-Endosulfan	6.519	98.05	99.45	0.362
β- Endosulfan	6.519	98.05	99.45	0.362
4,4'-DDE	6.667	75.69	75.90	0.426
Dieldrin	7.171	97.42	94.56	0.392
Endrin	7.068	98.03	96.73	0.399
4,4'-DDD	7.171	68.02	72.29	0.291
4,4'-DDT	7.171	68.02	72.29	0.291
Endrin aldehit	7.411	93.44	98.02	0.493
Endosülfan sülfat	7.755	84.67	83.42	0.461
Endrin keton	8.476	70.45	74.69	0.434
Metoksiklor	8.476	99.3	97.21	0.288

4. SONUÇLAR

Çalışmamız çilek ve salatalıkta pestisit kalıntı sorununu gündeme getirmekle beraber, ülkemizde yoğun ve bilinçsiz şekilde tüketilen bir organoklorlu pestisitlerin sulu çözeltilerdeki ve meyve ve sebze ortamındaki davranışının belirlenmesi bakımından önem taşımaktadır. Uygulanan katı faz mikroekstraksiyon yöntemi çözücü kullanımını en aza indiren, çevreye duyarlı, hassas, uygulanması kolay, hızlı ve oldukça basit bir metottur. Yaptığımız çalışma kullanımı yüksek olduğu bilinen organoklorlu pestisit karışımlarının gıda örneklerinde kalıntı bırakması sonucu bu ürünleri tüketen insanlardaki durumunun değerlendirilmesi açısından önemli bir bilgi sağlayacaktır. Bu sebeple yapmış olduğumuz çalışmaların sonuçlarını maddeler halinde sıralayıp değerlendirecek olursak;

- Organoklorlu 18 pestisit türü için GC-MS cihazı ile kantitatif tayinleri için cihazın şartları denenerek bulunmuştur. Kolon: HP-5-MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm), Hareketli faz: 1mL/ dakika akış hızında Helyum gazı, Enjeksiyon sıcaklığı: 250°C, Enjeksiyon hacmi: 1 µL, Scan Parameters: 50-550, Mode: Split/Splitless, Kolon Basıncı: 10.468 psi, Toplam akış: 1 mL/dk., Ortalama Hız: 37 cm/sn. olarak belirlendi.
- Örnek hazırlama tekniklerinin belirlenmesi amacıyla meyve ve sebze örneklerinin kromatografik metotlarla tayininde kullanılan farklı çözücülerle (aseton, su, diklorometan) denendi. Katı faz mikroekstraksiyonunda iyi sonuçlar elde edilememiş olup bu çözücüler tercih edilmedi. Verimin en yüksek elde edildiği ve uygulama açısından oldukça pratik olan metanol:su ile ekstraksiyon çalışma için tercih edildi.
- Katı faz mikroekstraksiyondan önce yapılan önderişiklendirme metodu belirlendikten sonra, organoklorlu pestisit karışımına ait referans standartların temiz çilek ve salatalığa eklenmesi ile hazırlanan kalibrasyon çözeltileriyle metot validasyonu yapıldı. Aldrin, dieldrin, α -BHC, β -BHC, γ -BHC, δ -BHC,

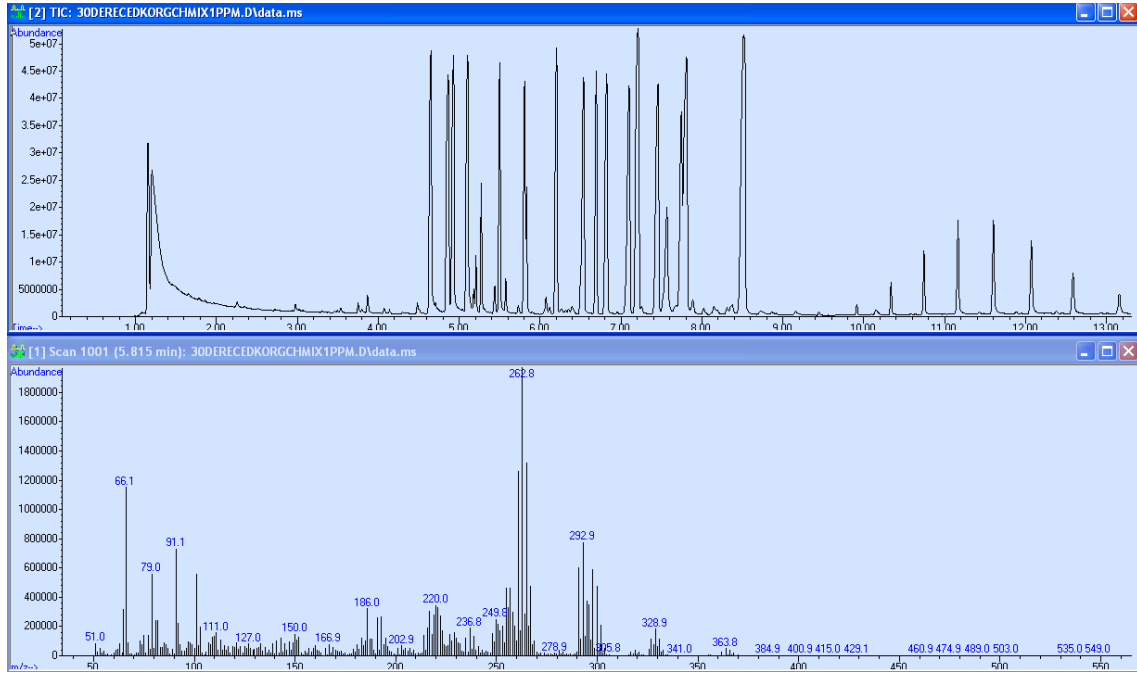
- p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD, α -endosulfan, β -endosulfan, endosulfan sülfat, endrin, endrin aldehit, endrin keton, heptaklor, heptaklor-epoksit (izomer A), metoksiklor için validasyon parametreleri, β -kloro ve salatalık ortamı 83 ng/mL ve 416 ng/mL düzeyinde ayrı ayrı çalışıldı. Sonuçta; tespit sınırları ve geri kazanım değerleri gibi parametreler istatistiksel olarak da test edilerek çalışmamız için doğru, güvenilir, hassas ve kesin bir metot sağlandı.
- Katı faz mikroekstraksiyon parametreleri optimize edildi. Yapılan çalışmalarda optimum ekstraksiyon sıcaklığı oda sıcaklığı olarak, optimum ekstraksiyon süresi 60 dk. olarak, optimum karıştırma hızı 450 rpm olarak, desorpsiyon sıcaklığı 250 °C olarak belirlendi.
- Sonuç olarak ülkemizde yetiştirilen sebze ve meyvelerde ciddi bir pestisit kalıntı sorunu yaşanmaktadır. Yapılması gerekenlerden, denetimsiz pestisit kullanımının kontrol altına alınması, kalıntı sorununun azaltılması, aynı zamanda doğru, hassas ve güvenilir kalıntı analizleri için uygun analitik metotların geliştirilmesidir.

KAYNAKLAR

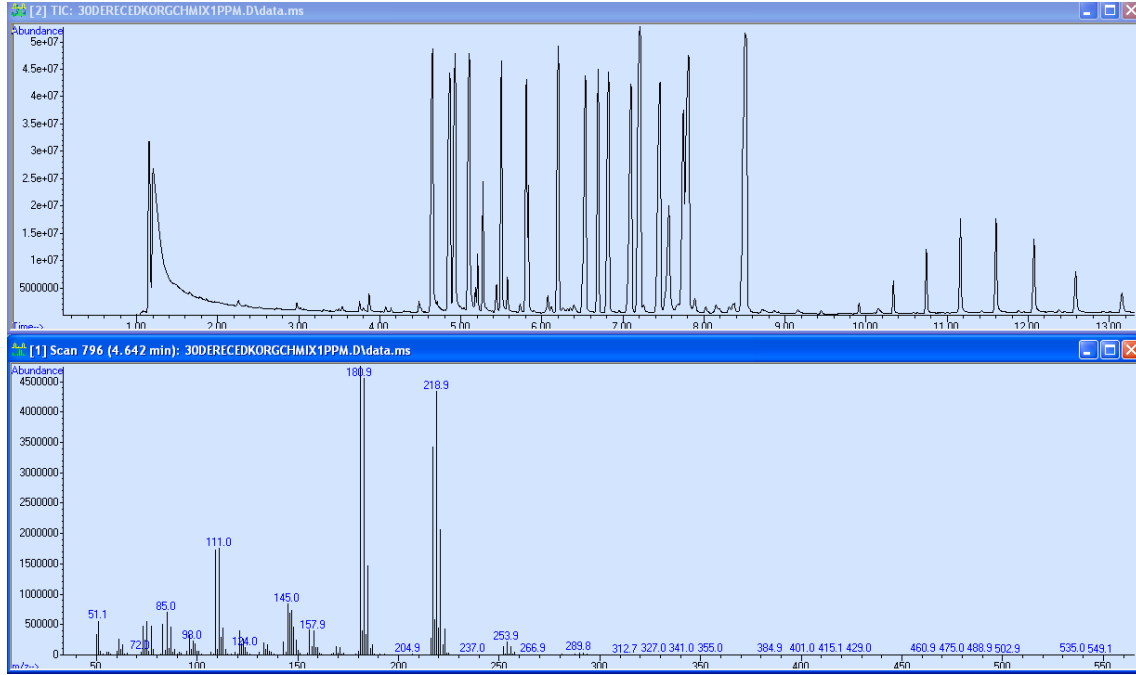
- [1] Kin, C.M., Huat, T.G., Kumari, A. (2008) Application of Solid-Phase Microextraction For The Determination of Pesticides in Vegetable Samples by Gas Chromatography with an Electron Capture Detector, *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 12(1), 1-9.
- [2] Gonzalez, E.B., Grana, E.C., Guimaraes, A., Gonçalves, C., Lorenzo, S.M., Alpendurada, M.F. (2007) Optimisation and Validation of a Solid-Phase Microextraction Method for Simultaneous Determination of Different Types of Pesticides in Water by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1141, 165-173.
- [3] Beltran, J., Peruga, A., Pitarch, E., Lopez, F.J. (2003) Application of Solid-Phase Microextraction for the Determination of Pyrethroid Residues in Vegetable Samples by GC-MS, *Anal. Bioanal. Chem.* 376, 502-511.
- [4] Volante, M., Pontello, M., Valoti, L., Cattaneo, M., Bianchi, M., Colzani, L. (2000) Application of Solid Phase Microextraction (SPME) to the Analysis of Pesticide Residues in Vegetables, *Pest. Manag. Sci.* 56, 618-636.
- [5] Karametsi, K.V., Lambropoulou, D.A., Albanis, T.A. (2007) Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography with Electron Capture Detection for Multiresidue Determination of Pesticides in Waters, *Proceedings of the 10th international conference on Environmental Science and Technology Kos island, Greece*, 346-350.
- [6] Correia, m., Delerue, C.M., Alves, A. (2001) Development of a SPME-GC-ECD Methodology for Selected Pesticides in Must and Wine Samples, *Fresenius J Anal Chem*, 369, 647-651.
- [7] Durovic, R., Umiljendic, J.G., Dordevic, T. (2008) Determination of Atrazine, Acetochlor, Clomazone, Pendimethalin and Oxyfluorfen in Soil by a Solid Phase Microextraction Method, *Pestic. Phytomed (Belgrade)*, 23, 265-271.

- [8] Lambropoulou, D.A., Albanis, T.A. (2002) Headspace Solid Phase Microextraction Applied to the Analysis of Organophosphorus Insecticides in Strawberry and Cherry Juices, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3359-3365.
- [9] Wang, Z., Hennion, B., Urruty, L., Montury, M. (2010) Solid-Phase Microextraction with High Performance Liquid Chromatography: a Complementary Technique to Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography for the Analysis of Pesticide Residues in Strawberries, *Food Additives and Contaminants*, 17 (11), 915-923.
- [10] Ağar, S., Aydınoglu, H., Temel, O., İkizunal, K., Ece, H. (1991) Pestisid Kullanım Tarihçesi, Bugünü ve Geleceği, *Türk Entomol. Dergisi*, 15(4), 247-256.
- [11] Aksu, P. (2007) Meyve ve Sebzelerdeki Pestisid Kalıntılarının Tayininde Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile Çoklu Kalıntı Analiz Yönteminin Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye 77-81.
- [12] Kın, C.M. (2008) Development and Validation of a Solid Phase Microextraction Method for Simultaneous Determination of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables Gas Chromatography, PhD Thesis, University of Malaya, Kuala Lumpur, 181-193.
- [13] Atasoy, D. (2007) Harran Toprak Serisinde Endosulfanın Adsorpsiyon ve Desorpsiyonu, Doktora Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye, 34-45.
- [14] Gündüz, T., (2005) Enstrümental Analiz, 9. Baskı, Gazi Kitabevi, Ankara.
- [15] Çolak, N., Tülek Y. (2003) Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu, *Gıda*, 28(3), 313-320.
- [16] Moldoveanu, S.C., David, V. (2004) Fused Silica (FS), *journal of chromatography library*, Amsterdam, Netherlands, 65.
- [17] Chai, M.K., Tan, G.H., Asha, K. (2008), *Malay. J. Anal. Sci.*, 12, 1-9.
- [18] Chai, M.K., Tan, G.H., (2009), Validation of a Headspace Solid-Phase Microextraction Procedure with Gas Chromatography Electron Capture Detection of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables, *Food Chem.*, 117, 561-567.
- [19] Chai, M.K., Tan, G.H., Asha, K. (2006), *Malay. J. Anal. Sci.*, 8, 67-71.
- [20] Chai, M.K., Tan, G.H., (2010), *Food Chem.*, 123, 760-764.

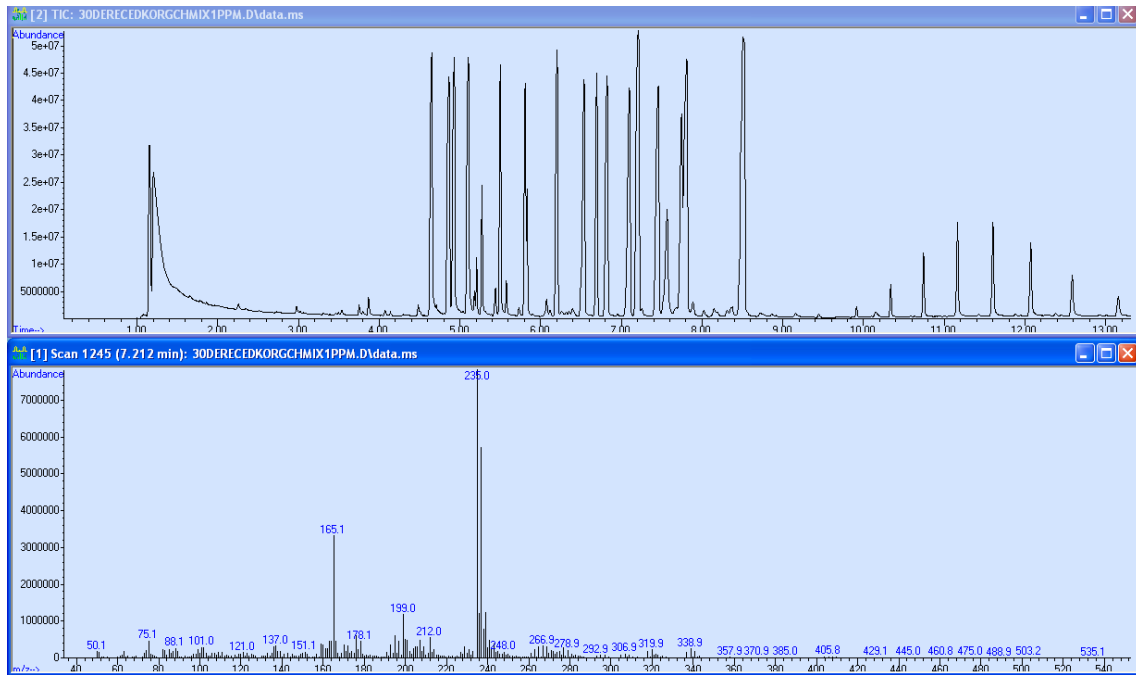
EKLER



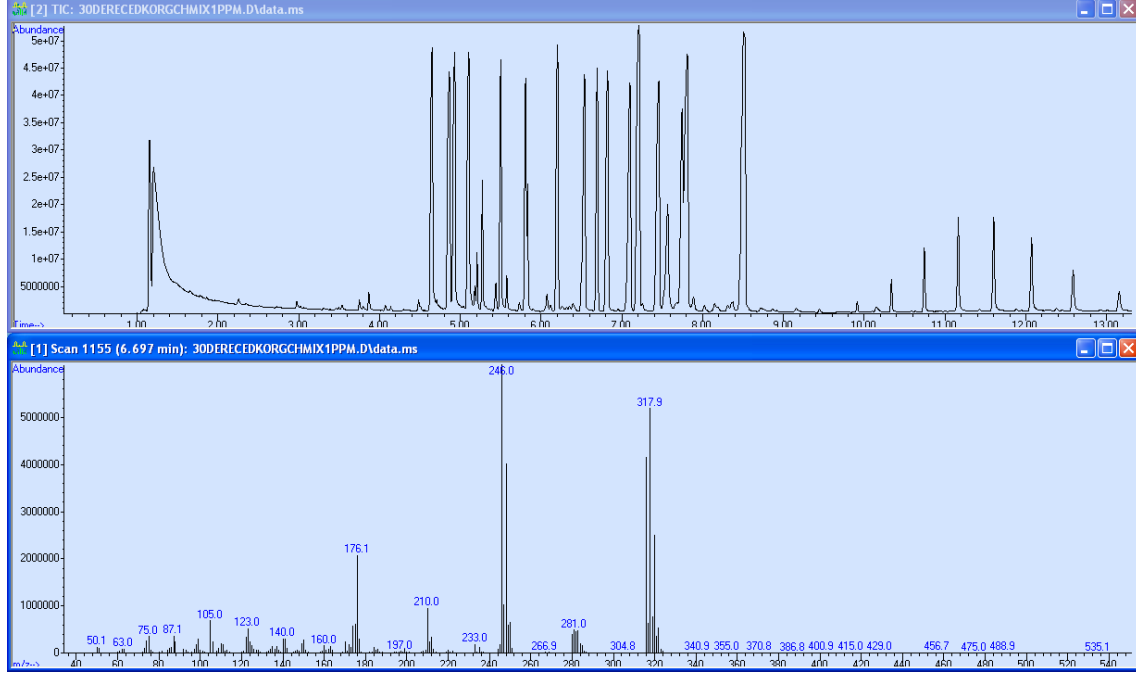
Ek.1: Aldrin'in Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



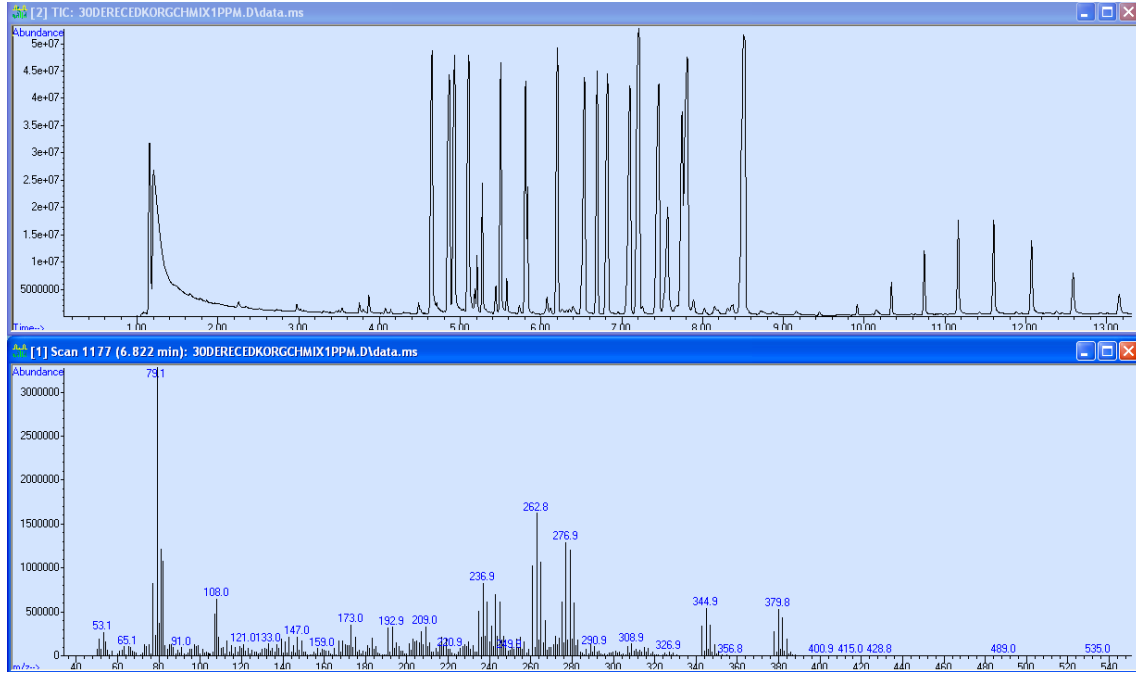
Ek.2: α -BHC, β -BHC ve δ -BHC'nin Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



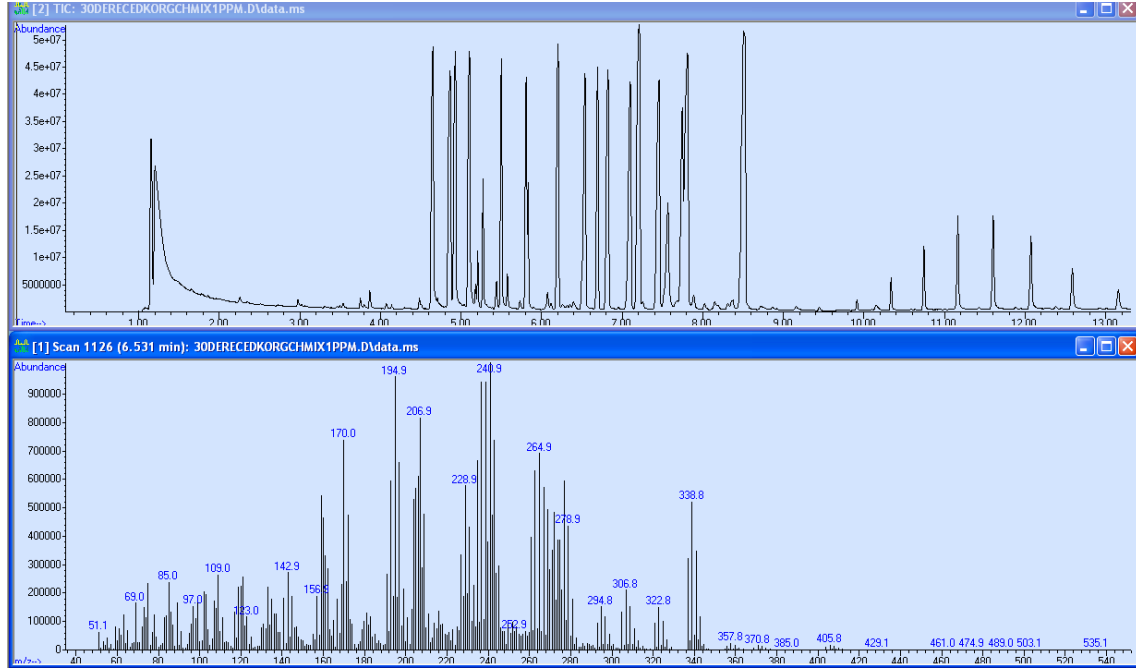
Ek.3: p,p-DDD ve p,p-DDT'nin Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



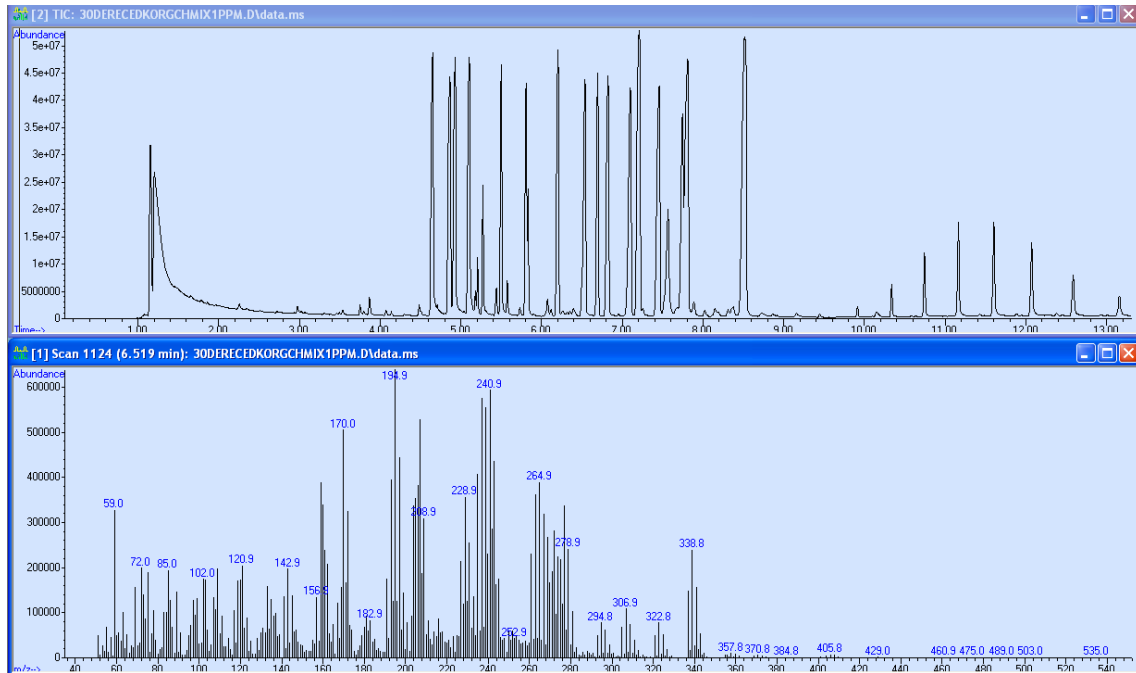
Ek.4: p,p-DDE'nin Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



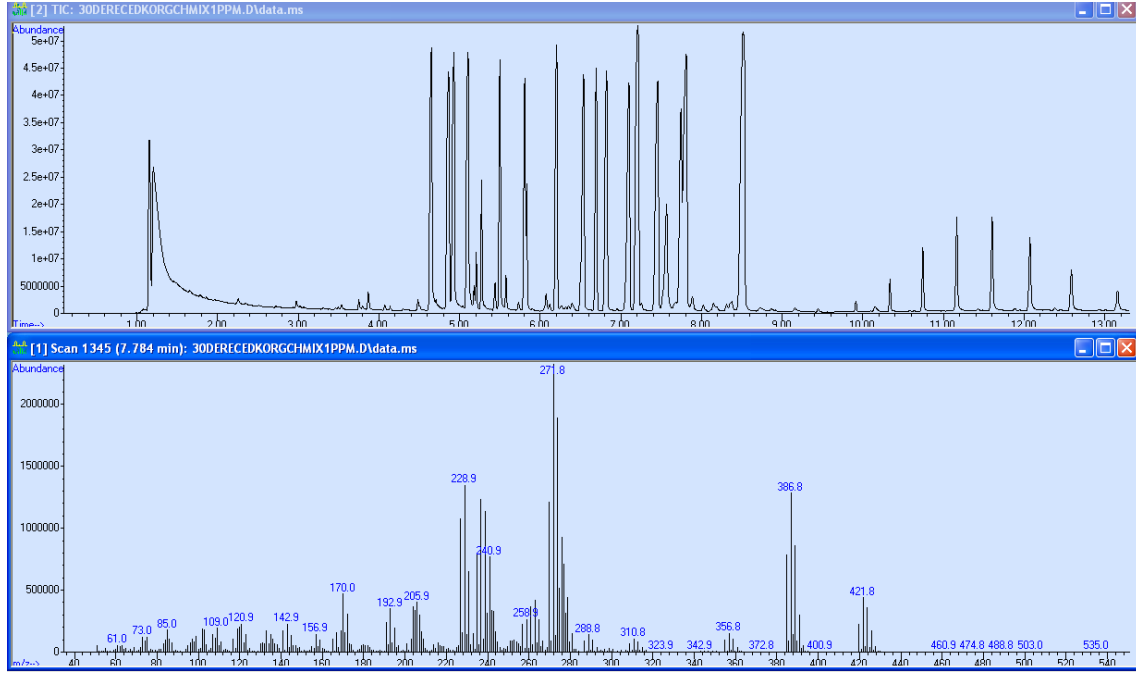
Ek.5: Dieldrin'nin Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



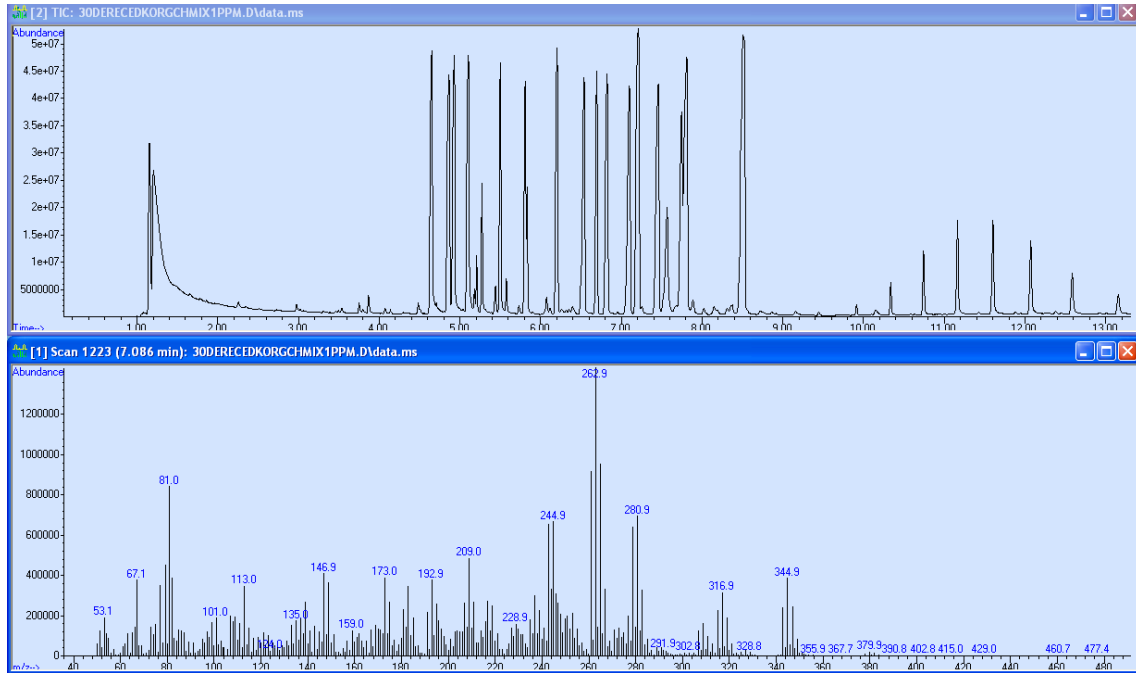
Ek.6: Endosulfan'nın Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



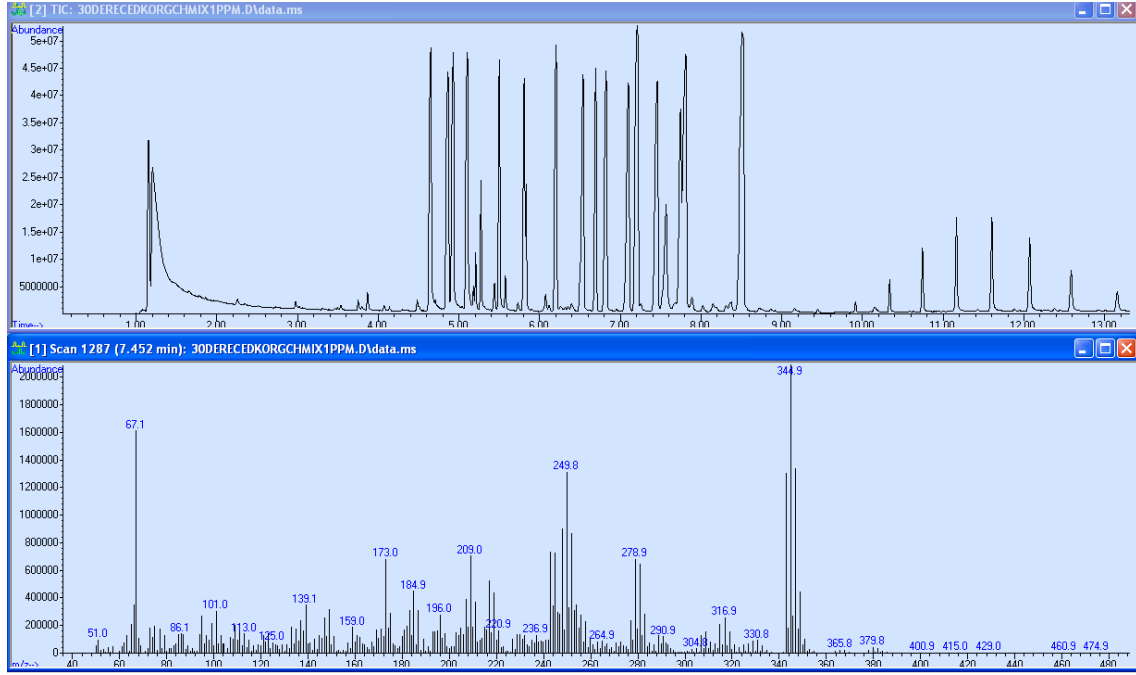
Ek.7: α -Endosulfan ve β -Endosulfan'nın Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



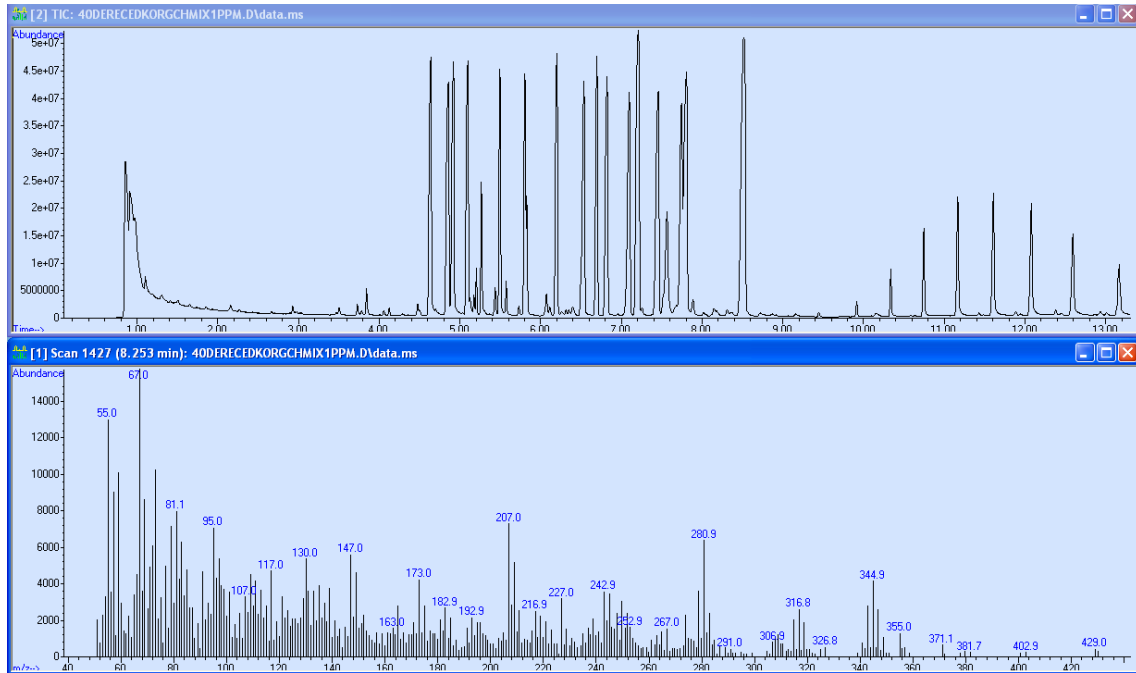
Ek.8: Endosulfan Sülfat'ın Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



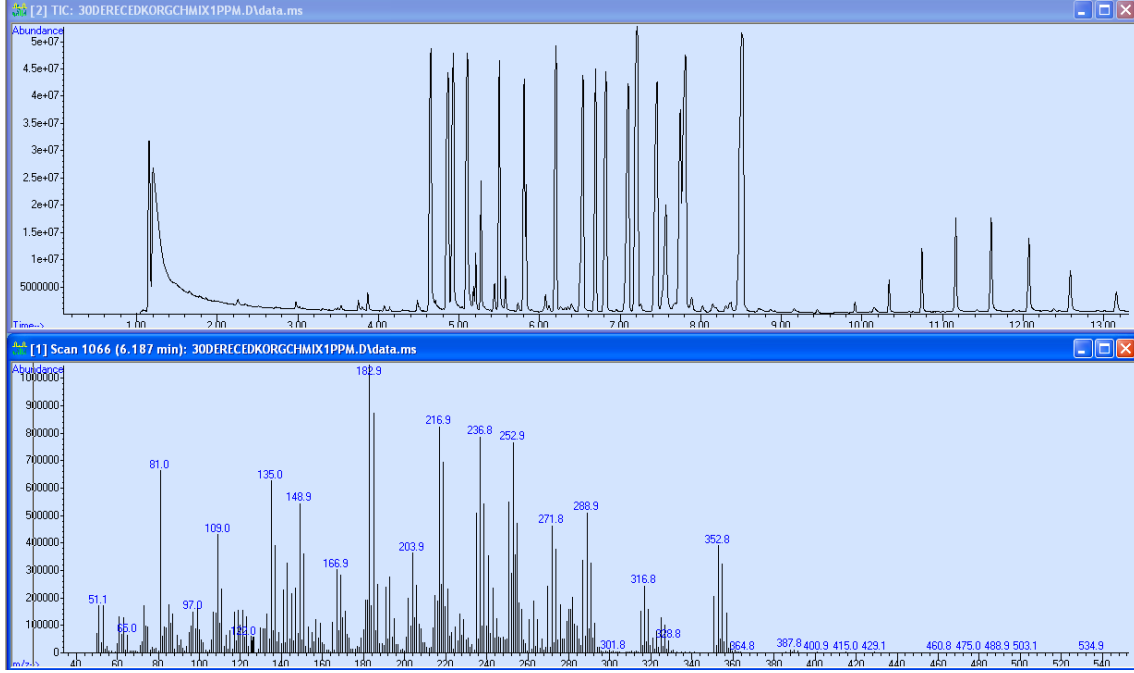
Ek.9: Endrin'in Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



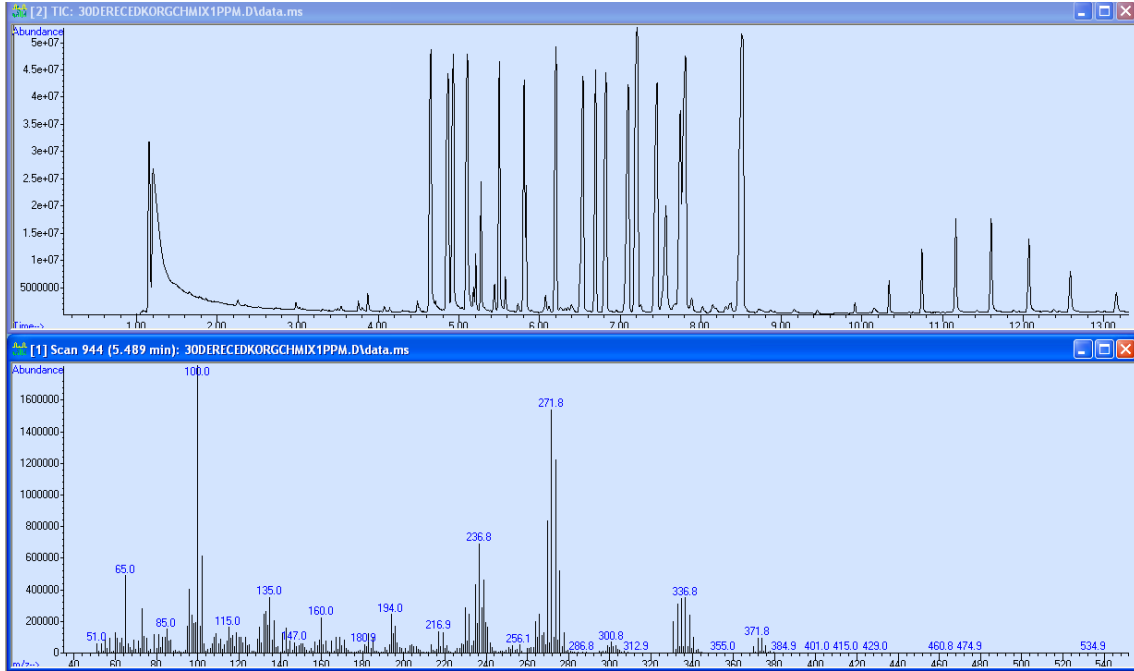
Ek.10: Endrin Aldehit'in Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



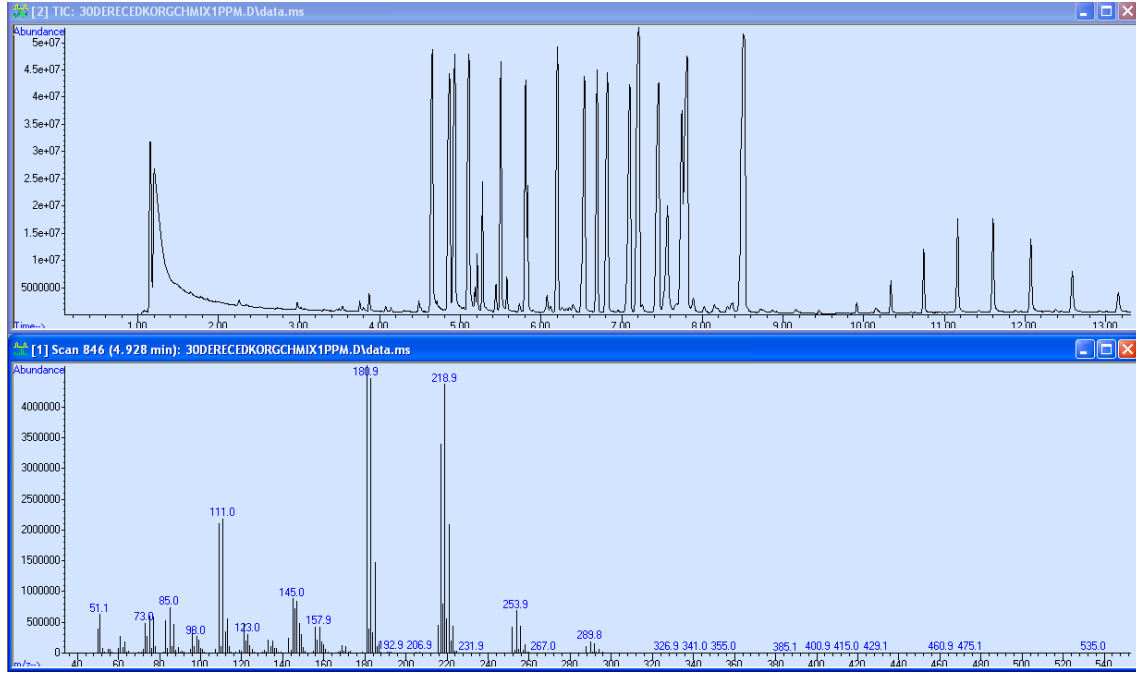
Ek.11: Endrin Keton'un Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



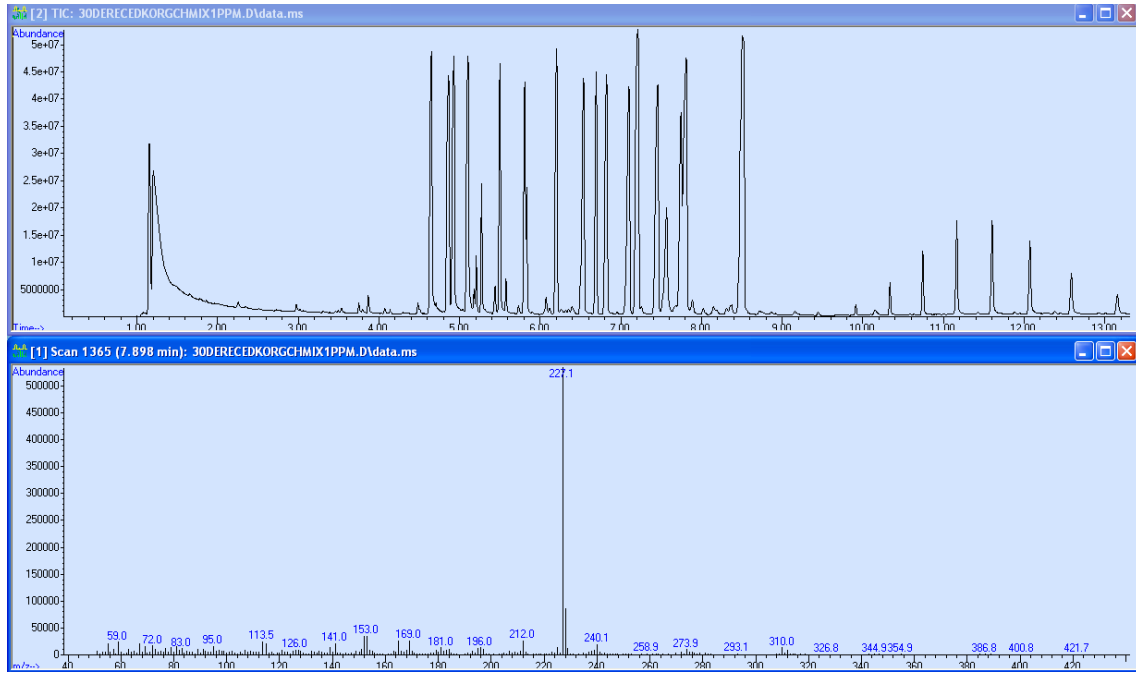
Ek.12: Heptaklor Epoksi'nin Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



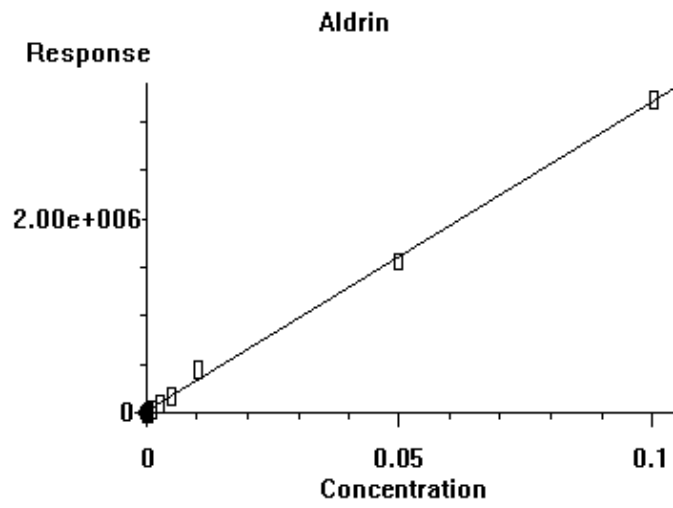
Ek.13: Heptaklor'un Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



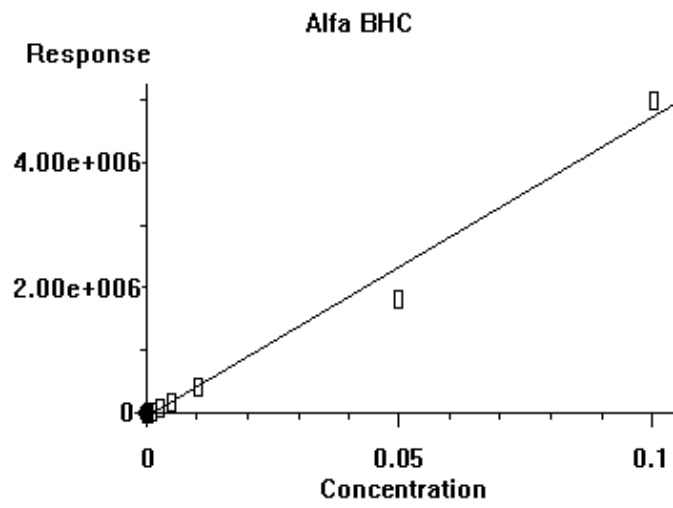
Ek.14: γ -BHC'nin Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



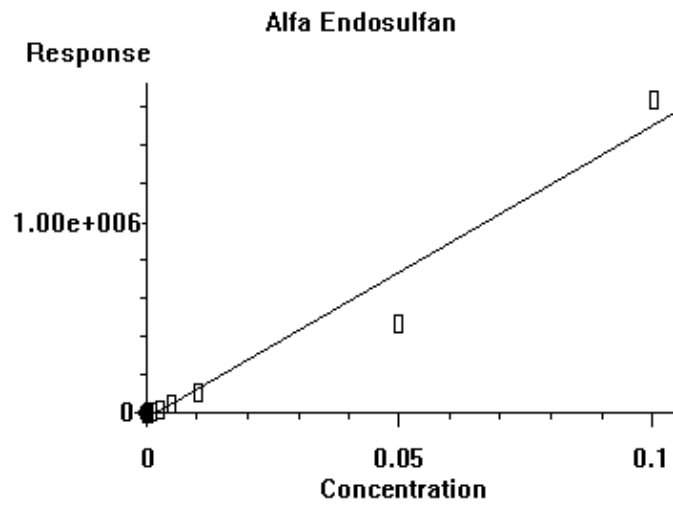
Ek.15: Metoksiklor'un Kromatogramı ve İyon Piki Grafiği



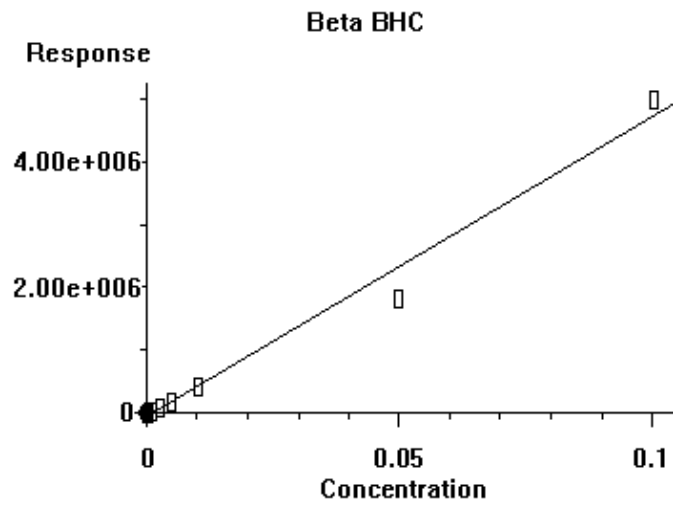
Ek.16: Aldrin'in Kalibrasyon Grafiği



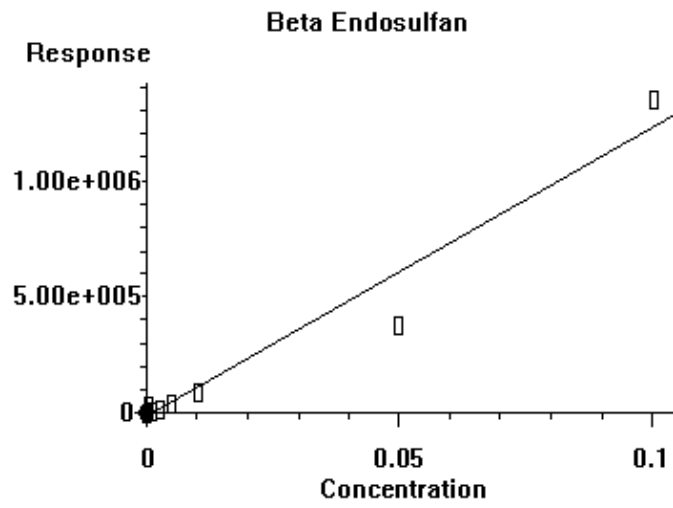
Ek.17: α -BHC'in Kalibrasyon Grafiği



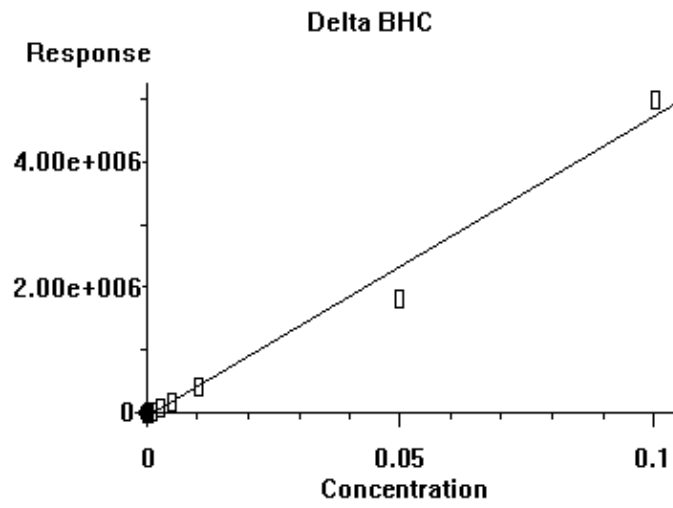
Ek.18: α -Endosulfan'in Kalibrasyon Grafiği



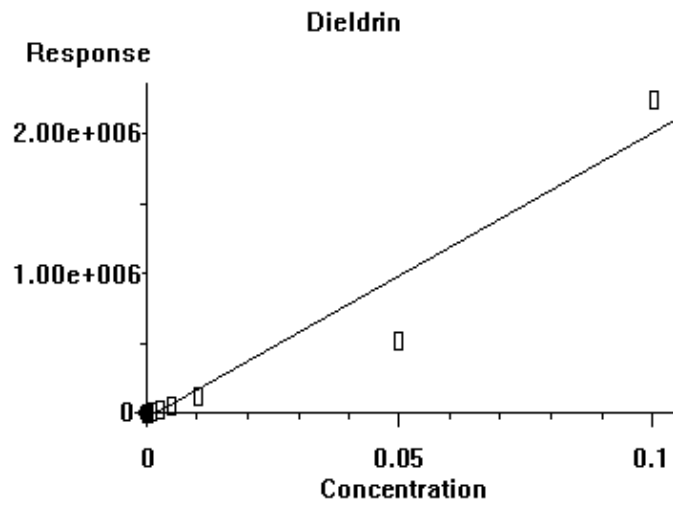
Ek.19: β -BHC'in Kalibrasyon Grafiği



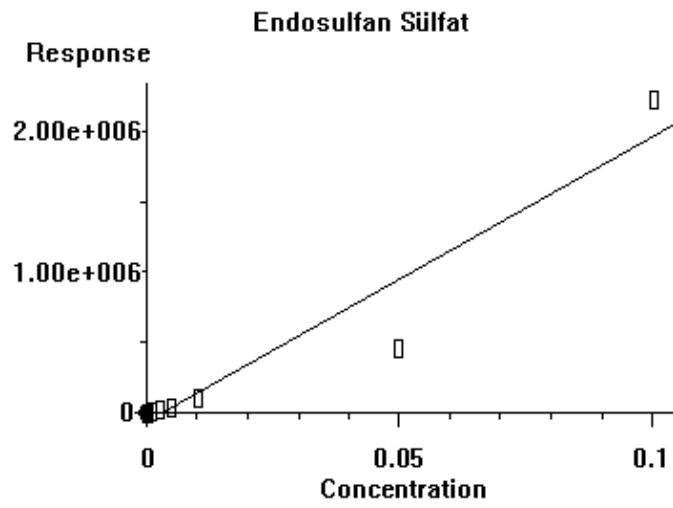
Ek.20: β -Endosulfan'nın Kalibrasyon Grafiği



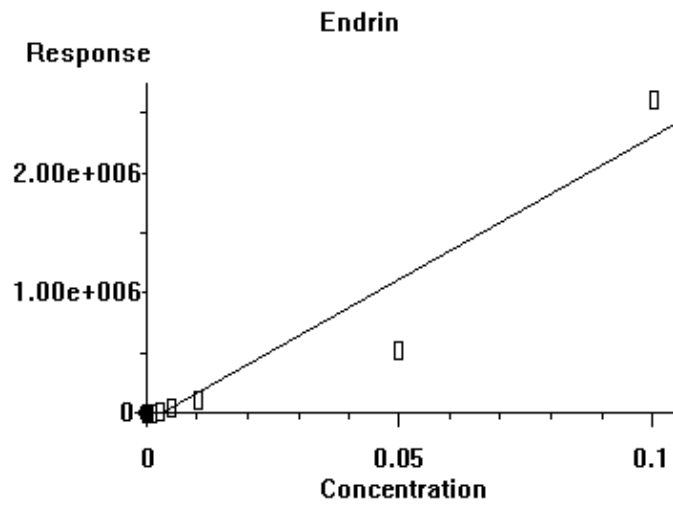
Ek.21: λ -BHC'nin Kalibrasyon Grafiği



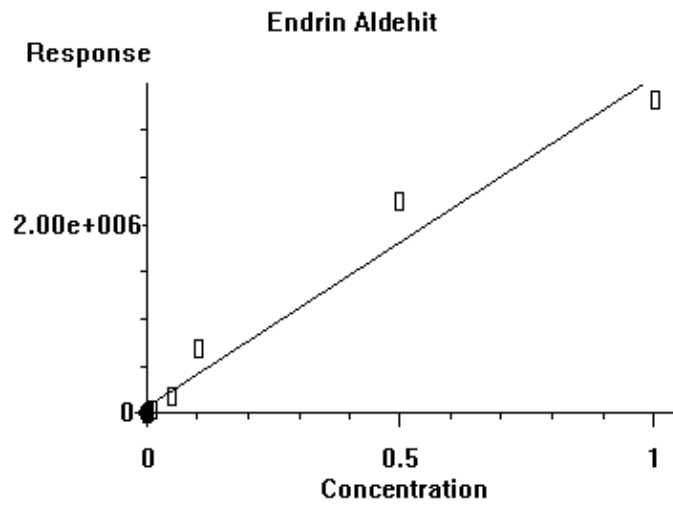
Ek.22: Dieldrin'nin Kalibrasyon Grafiği



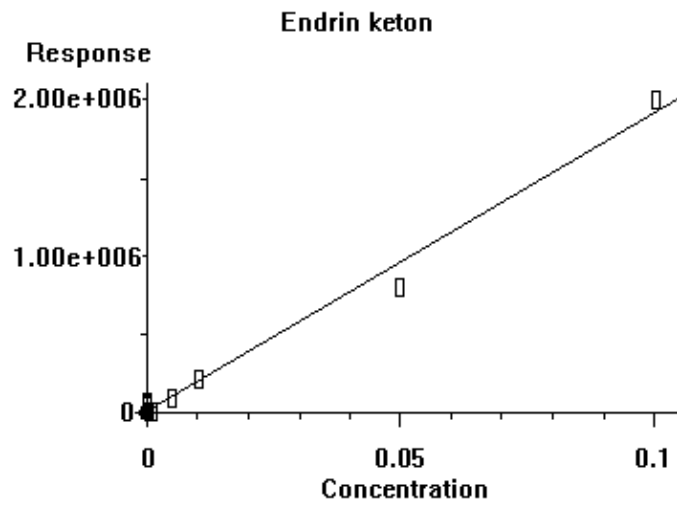
Ek.23: Endosulfan Sulfat'ın Kalibrasyon Grafiği



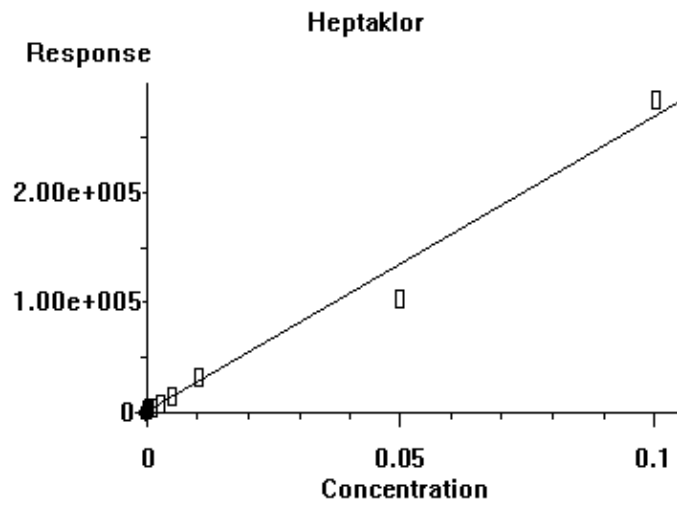
Ek.24: Endrin'in Kalibrasyon Grafiği



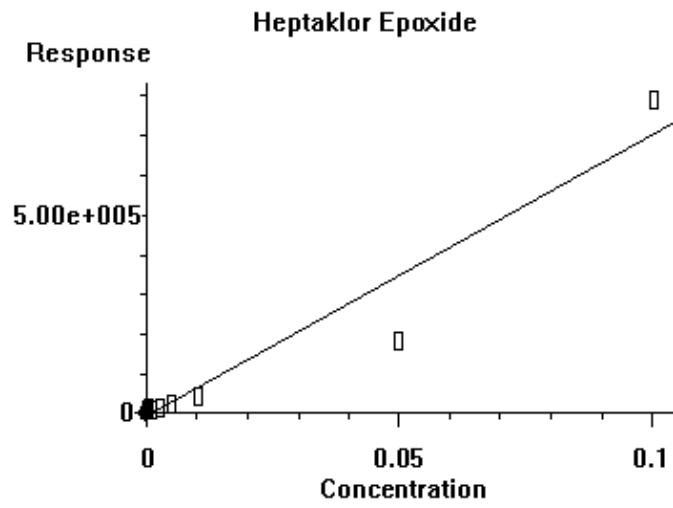
Ek.25: Endrin Aldehit'in Kalibrasyon Grafiği



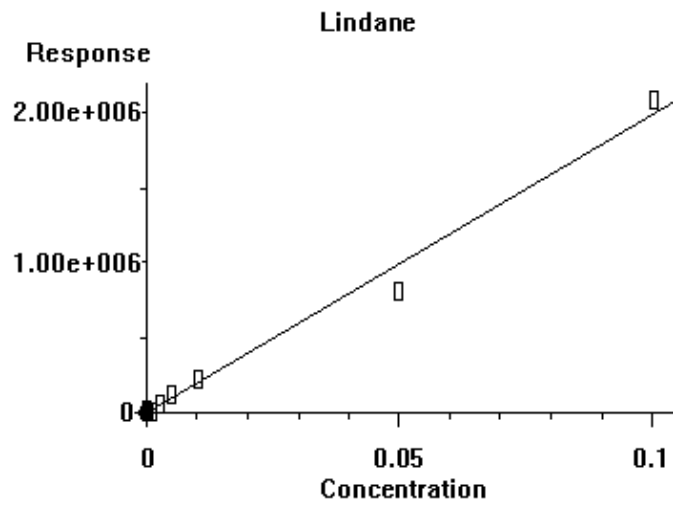
Ek.26: Endrin Keton'nun Kalibrasyon Grafiği



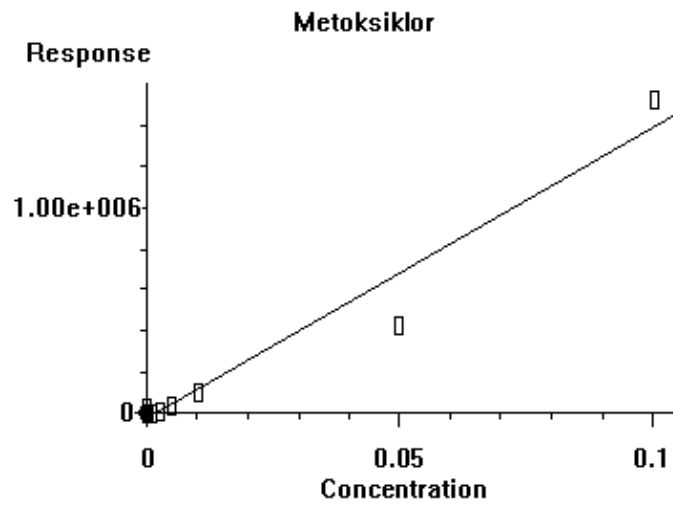
Ek.27: Heptaklor'un Kalibrasyon Grafiği



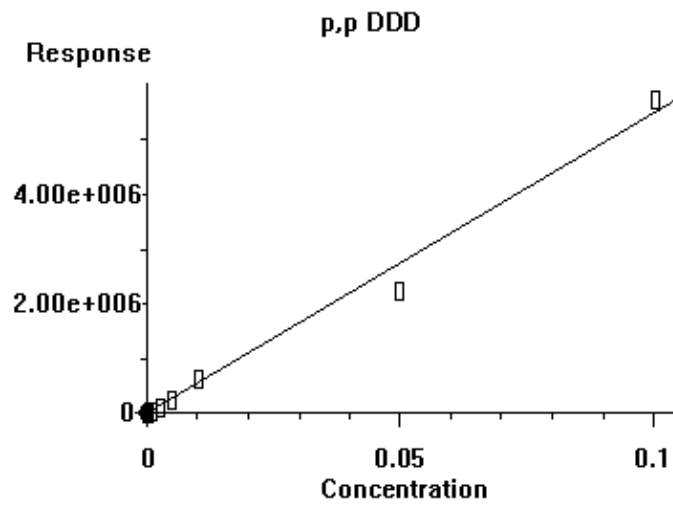
Ek.28: Heptaklor Epoksid'in Kalibrasyon Grafiği



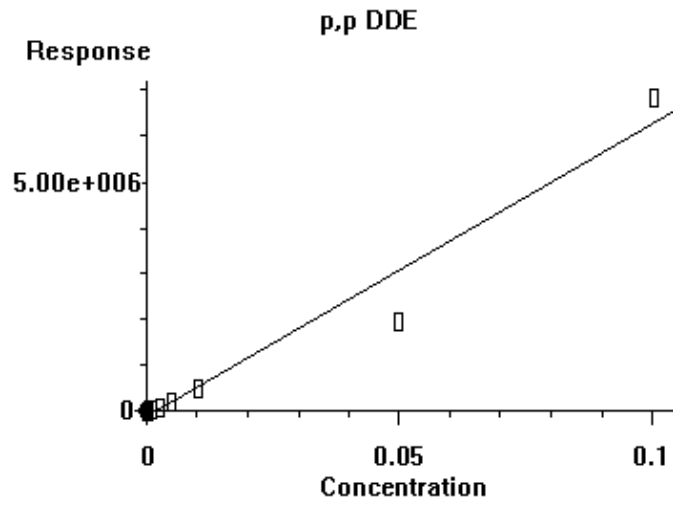
Ek.29: γ -BHC (Lindane)'nin Kalibrasyon Grafiği



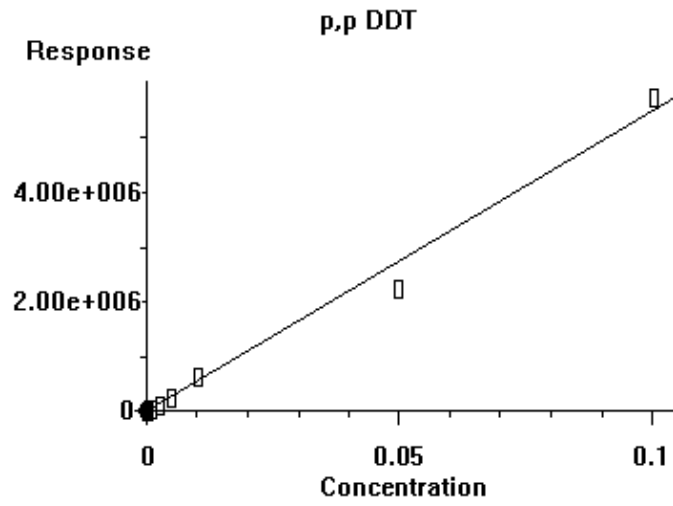
Ek.30: Metoksiklor'un Kalibrasyon Grafiği



Ek.31: p,p-DDD'nin Kalibrasyon Grafiği



Ek.32: p,p-DDE'nin Kalibrasyon Grafiği



Ek.33: p,p-DDT'nin Kalibrasyon Grafiği

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ
Doğum Yeri ve Tarihi : Üsküdar 04.01.1979
Yabancı Dili : İngilizce
E-Posta : zyurtman@marmara.edu.tr

Öğrenim Durumu

Derece	Üniversite/Lise	Mezuniyet Yılı
Lise	Üsküdar Burhan Felek Lisesi	1996
Üniversite	İstanbul Üniversitesi	2001
Y. Lisans	Marmara Üniversitesi	2005

İş Deneyimi

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2003-2004	TÜDAV	Mühendis
2004-2013	Marmara Ün. FBE	Araştırma Görevlisi

Bilimsel Eserler:

1. Z. Yurtman Gündüz, O. Aydın Urucu, E.Kök Yetimoğlu, H. Filik, “Cloud Point Extraction for the Determination of Trace Copper(II) in Environmental Samples Using New Synthesized Reagent with Flame Atomic Absorption Spectrometry”, *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 32(1),69-78, (2013).
2. O. Aydın Urucu, Z. Yurtman Gündüz, E.Kök Yetimoğlu, “Cloud point preconcentration of gold (III) and determination by flame atomic absorption spectrometry”, *Indian journal of Chemical Technology*, 20(2), 106-110, (2013).
3. E.Kök Yetimoğlu, O. Aydın Urucu, Z. Yurtman Gündüz, H. Filik, “Selective Determination of Copper in Water Samples by Atomic Absorption Spectrometry After Cloud Point Extraction”, *Analytical Letters*, 43:1846-1856, (2010).

Projelerde Yaptığı Görevler:

1. *“4,4-Difloro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indasen Türevi Moleküler Karelerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Gaz Sensör Özelliklerinin İncelenmesi”*, Cihan GÜNDÜZ (Yürütücü), **Zeynep Yurtman Gündüz (Araştırmacı)**, M.Ü. Araştırma Fonu (FEN-A-060510-0140), (2010-Devam ediyor).
2. *“Katı Faz Mikroekstraksiyon Yöntemi ile Pestisidlerin Gaz Kromatografisinde Tayini”*, Prof.Dr. Adnan AYDIN (Yürütücü), **Zeynep Yurtman Gündüz (Araştırmacı)**, M.Ü. Araştırma Fonu (FEN-DRP-200611-0212), (2011-Devam ediyor).
3. *“Sıvı-Sıvı Mikro Ekstraksiyon Yöntemi ile Yeni Bazı Schiff Bazları Kullanılarak Ağır Metal Tayini için Yöntem Geliştirilmesi”*, Dr. Oya AYDIN URUCU (Yürütücü), **Zeynep YURTMAN GÜNDÜZ (Araştırmacı)**, Cihan GÜNDÜZ (Araştırmacı), M.Ü. Araştırma Fonu (FEN-A-130612-0217), (2012-Devam ediyor).

